



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

EFFECTO NEUROPROTECTOR DEL ÁCIDO LIPOICO Y LA BIOTINA EN *Caenorhabditis elegans*

Tesis que presenta:
LBT. Katia López Torres

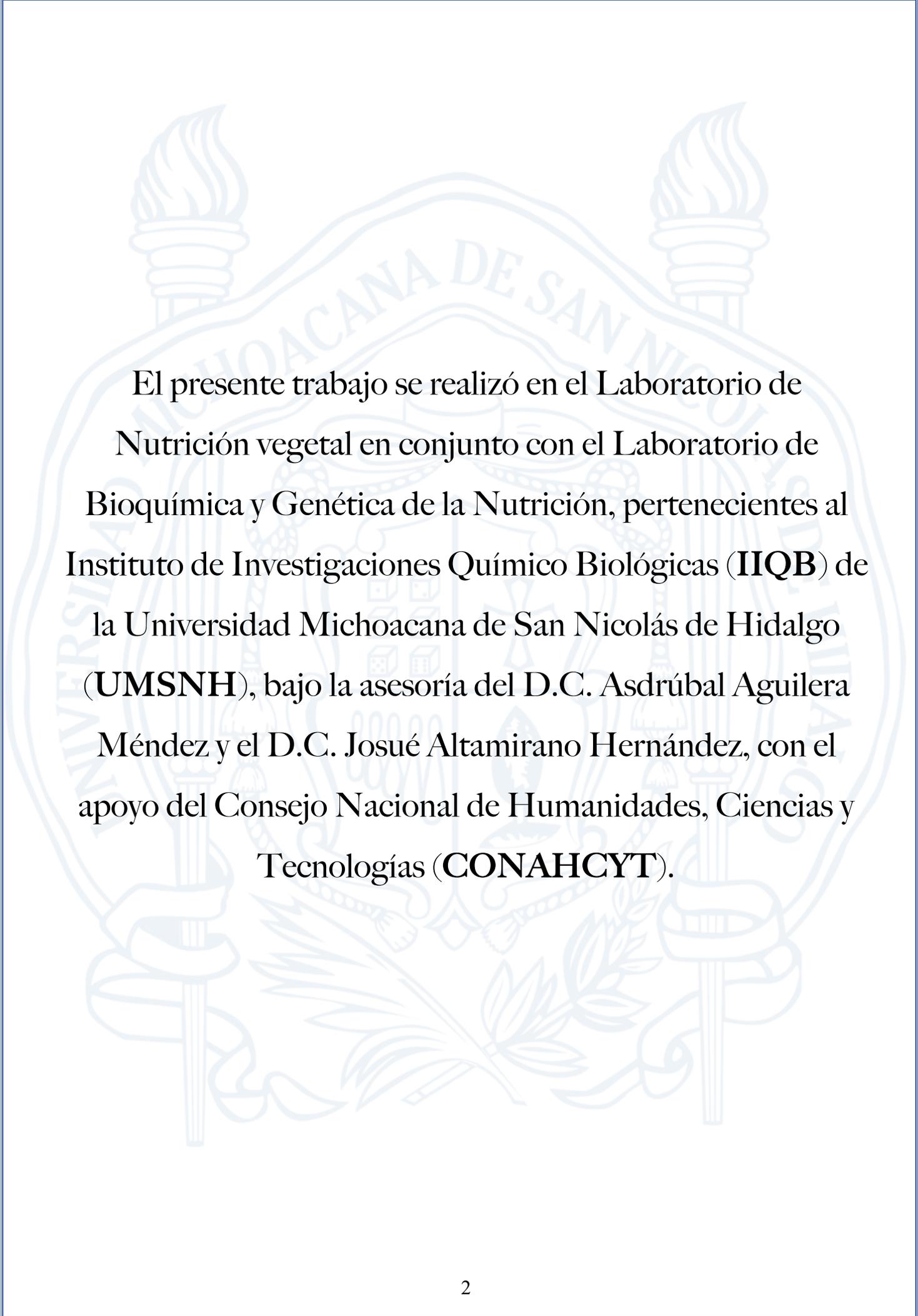
Para obtener el grado de:
Maestra en Ciencias en Biología Experimental

Director:
D.C. Asdrúbal Aguilera Méndez

Codirector:
D.C. Josué Altamirano Hernández

Morelia, Michoacán, enero, 2025.





El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Nutrición vegetal en conjunto con el Laboratorio de Bioquímica y Genética de la Nutrición, pertenecientes al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (**IIQB**) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (**UMSNH**), bajo la asesoría del D.C. Asdrúbal Aguilera Méndez y el D.C. Josué Altamirano Hernández, con el apoyo del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (**CONAHCYT**).

Dedicatoría

A Dios por obsequiarme una vida llena de oportunidades y de personas maravillosas que me permiten seguir adelante.

A mis padres, José Luis y Carmen que siempre confían en mí y me apoyan en cada momento, los amo y admiro profundamente.

A mis hermanos, Luis y Josué por siempre motivarme a ser mejor persona cada día.

A mi abuelito, Benjamín por siempre darse el tiempo de brindarme sus palabras de ánimo y cariño.

A mis Amigos, que siempre me brindan momentos increíbles en la vida.

“Una persona pequeña puede soñar el sueño más grande, pintar el cuadro más grande y hacer realidad un sinfín de posibilidades. Quitá tus manos de lo que no puedes controlar y pon tus manos en lo que puedes cambiar”

Min Yoongi-BTS

Agradecimientos

A la máxima casa de estudios, la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas y al programa de Maestría en Biología Experimental por permitirme continuar mi preparación profesional en esta área de la investigación.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (CONAHCYT) por el financiamiento de esta investigación a través de la beca otorgada.

A mi asesor, el D.C. Asdrúbal Aguilera Méndez por su paciencia y apoyo durante esta investigación, mi completa admiración, respeto y cariño, en especial en los momentos difíciles.

A mi Co-asesor, el D.C. Josué Altamirano Hernández por brindarme sus conocimientos, apoyo y confianza que desde la licenciatura me motivaron a continuar preparandome, le agradezco de todo corazón el darme la oportunidad de trabajar en este proyecto de investigación como su alumna.

A los miembros de mi comité sinodal, a la D.C. Patricia Ríos Chávez, al D.C. Alfredo Saavedra Molina y al D.C. Jesús Campos García por sus conocimientos y tiempo para la mejora de este trabajo.

A el D.C. Alfredo Saavedra Molina y al D.C. Juan José Ortiz Virgen por compartir conocimientos y su invaluable ayuda en técnicas importantes para este proyecto.

A la M.C. Marina Murillo Villicaña del laboratorio de Bioquímica, por su paciencia, apoyo, consejos y observaciones que enriquecieron este proyecto en todos los ámbitos.

Índice

| | |
|---|-----------|
| Índice de Figuras | 9 |
| Índice de tablas | 11 |
| Abreviaturas | 12 |
| Resumen | 14 |
| Abstract | 15 |
| I. INTRODUCCIÓN | 16 |
| 1.1 Enfermedades crónico degenerativas | 16 |
| 1.2 Enfermedades neurodegenerativas | 16 |
| 1.3 Principales enfermedades neurodegenerativas | 17 |
| 1.3.1 Alzheimer | 17 |
| 1.3.2 Demencia vascular y envejecimiento | 19 |
| 1.3.3 Parkinson | 22 |
| 1.3.4. Esclerosis múltiple | 25 |
| 1.3.5 Huntington | 26 |
| 1.4 Causas de las enfermedades neurodegenerativas | 28 |
| 1.4.1 Radicales libres y especies reactivas | 28 |
| 1.4.2 Estrés oxidativo | 29 |
| 1.4.3 Estrés oxidativo en el cerebro | 31 |
| 1.4.4 Daño mitocondrial | 33 |
| 1.4.5 Antioxidantes | 34 |
| 1.4.6 Balance antioxidante | 35 |
| 1.4.6.1 Sistema glutatión | 36 |
| 1.4.6.2 Glutatión peroxidasa | 36 |
| 1.4.6.3 Superóxido dismutasa (SOD) | 36 |
| 1.4.6.4 Catalasa (CAT) | 37 |
| 1.5 Modelos biológicos para el estudio de enfermedades | 37 |
| 1.5.1 Modelos biológicos en enfermedades neurodegenerativas | 38 |
| 1.5.2 Caenorhabditis elegans como modelo de estudio en enfermedades neurodegenerativas | 39 |
| 1.5.2.1 Estrés oxidativo de Caenorhabditis elegans | 41 |
| 1.6 Tratamientos para las enfermedades neurodegenerativas | 43 |
| 1.6.1 Tratamientos farmacológicos | 43 |
| 1.6.2 Estilo de vida como prevención | 44 |
| 1.6.2.1 Actividad física | 45 |
| 1.6.2.2 Alimentación | 46 |
| 1.7 Nutracéuticos en el tratamiento de enfermedades crónico degenerativas | 46 |
| 1.7.1. Clasificación | 47 |
| 1.8 Ácido lipoico | 49 |
| 1.8.1 Estructura del ácido lipoico | 49 |

| | |
|---|-----------|
| 1.8.2 Fuentes alimenticias e ingesta adecuada del ácido lipoico | 50 |
| 1.8.3 Absorción, metabolismo y eliminación del ácido lipoico | 51 |
| 1.8.4 Función del ácido lipoico como antioxidante | 52 |
| 1.8.4.1 Función del ácido lipoico en la regulación de la expresión genética a concentraciones farmacológicas..... | 53 |
| 1.8.4.2 Modulación de FOXO a través de la vía PI3K/AKT | 54 |
| 1.8.4.3 Señalización a través de la vía AMPK | 55 |
| 1.9 Biotina (Vitamina B7 / H)..... | 56 |
| 1.9.1 Estructura de la biotina..... | 56 |
| 1.9.2 Fuentes alimenticias e ingesta adecuada de biotina | 57 |
| 1.9.3 Absorción, metabolismo y eliminación de la biotina..... | 58 |
| 1.9.4 Función de la biotina como cofactor enzimático..... | 60 |
| 1.9.5 Función de la biotina en la regulación de la expresión genética a concentraciones farmacológicas | 61 |
| 1.9.5.1 Señalización a través de la vía AMPK | 63 |
| II. ANTECEDENTES DIRECTOS..... | 64 |
| III. JUSTIFICACIÓN..... | 67 |
| IV. HIPÓTESIS..... | 68 |
| V. OBJETIVOS..... | 68 |
| 5.1 Objetivo principal..... | 68 |
| 5.2 Objetivos específicos | 68 |
| VI. METODOLOGÍA | 69 |
| 6.1 Material biológico | 69 |
| 6.1.1 Cultivo y mantenimiento de la cepa OP50 de <i>Escherichia coli</i> | 70 |
| 6.1.2 Cultivo y mantenimiento de cepas de <i>C. elegans</i> | 70 |
| 6.2 Administración del ácido lipoico y la biotina en <i>C. elegans</i> | 70 |
| 6.3 Absorción de biotina y ácido lipoico en <i>C. elegans</i> | 71 |
| 6.4 Efecto del ácido lipoico y la biotina en la sobrevivencia y la longevidad en <i>C. elegans</i> | 72 |
| 6.4.1 Ensayo de sobrevivencia en <i>C. elegans</i> | 72 |
| 6.4.2 Ensayo de longevidad en <i>C. elegans</i> | 72 |
| 6.5 Ensayos en <i>C. elegans</i> de sobrevivencia al estrés oxidativo inducido por altas concentraciones de glucosa..... | 73 |
| 6.6 Efecto del ácido lipoico y la biotina en los parámetros morfológicos de <i>C. elegans</i> | 74 |
| 6.6.1 Cuantificación del volumen en <i>C. elegans</i> | 74 |
| 6.6.2 Cuantificación de proteína en <i>C. elegans</i> | 75 |
| 6.6.3 Cuantificación de triacilglicéridos en <i>C. elegans</i> | 75 |
| 6.7 Efecto del ácido lipoico y la biotina en parametro bioquimicos/ enzimáticos en <i>C. elegans</i> | 75 |
| 6.7.1 Cuantificación de especies reactivas de oxígeno | 76 |

| | |
|---|------------|
| 6.7.2 Determinación de la actividad enzimática de catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD)..... | 76 |
| 6.7.3 Determinación de glutatión total, glutatión reducido (GSH) y glutatión oxidado (GSSG)..... | 77 |
| 6.8 Efecto del ácido lipoico y la biotina en el comportamiento y motilidad de <i>C. elegans</i>..... | 78 |
| 6.8.1 Memoria condicionada por alimento (quimiotaxis)..... | 78 |
| 6.8.2 Efecto del ácido lipoico y la biotina en la motilidad en <i>C. elegans</i> | 80 |
| 6.9 Conversión de dosis de ácido lipoico y biotina equivalente en humanos . | 80 |
| 6.10 Análisis estadístico | 80 |
| VII. RESULTADOS..... | 81 |
| 7.1 Efecto del ácido lipoico en la supervivencia de <i>C. elegans</i> (CL_{10}, CL_{50} Y CL_{90})..... | 81 |
| 7.2 Efecto de la biotina en la supervivencia de <i>C. elegans</i> (CL_{10}, CL_{50} Y CL_{90}) | 82 |
| 7.3 Efecto de ácido lipoico en la supervivencia de <i>C. elegans</i> expuesto a peróxido de hidrógeno | 83 |
| 7.4 Efecto de la biotina en la supervivencia de <i>C. elegans</i> expuesto a peróxido de hidrógeno | 84 |
| 7.5 Contenido de ácido lipoico y biotina en <i>Caenorhabditis elegans</i> | 85 |
| 7.6 Efecto del ácido lipoico y la biotina en la supervivencia y longevidad de <i>Caenorhabditis elegans</i> | 87 |
| 7.7 Cambios morfológicos y de volumen de <i>C. elegans</i> tratados con ácido lipoico y biotina | 90 |
| 7.8 Cuantificación del contenido total de proteínas de <i>C. elegans</i> tratados con ácido lipoico y biotina | 92 |
| 7.9 Cuantificación del contenido total de triacilglicéridos de <i>C. elegans</i> tratados con ácido lipoico y biotina..... | 94 |
| 7.10 Cuantificación de las especies reactivas de oxígeno (ROS) en <i>C. elegans</i> tratados con ácido lipoico y biotina..... | 96 |
| 7.11 Cuantificación de la actividad de SOD en <i>C. elegans</i> tratados con ácido lipoico y biotina | 97 |
| 7.12 Cuantificación de la actividad de CAT en <i>C. elegans</i> tratados con ácido lipoico y biotina | 98 |
| 7.13 Cuantificación de glutatión en <i>C. elegans</i> tratados con ácido lipoico y biotina | 99 |
| 7.14 Cuantificación de memoria condicionada por alimento en <i>C. elegans</i>: Índice de quimiotaxis..... | 103 |
| 7.15 Evaluación de la motilidad de <i>C. elegans</i> tratados con ácido lipoico y biotina | 105 |
| 7.16 Análisis de componentes principales | 106 |
| 7.17 Dosis equivalente de ácido lipoico y biotina en humanos..... | 108 |

| | |
|--|------------|
| VIII. DISCUSIÓN..... | 109 |
| IX. CONCLUSIÓN | 117 |
| X. PERSPECTIVAS..... | 117 |
| XI. REFERENCIAS | 119 |
| XII. ANEXOS..... | 145 |
| A. Concentración de proteína en <i>C. elegans</i> (Método de Biuret)..... | 145 |
| B. Curvas de calibración de ácido lipoico y biotina para HPLC..... | 146 |
| C. Curvas de calibración para la cuantificación de actividad enzimática..... | 147 |
| D. Efecto de las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno en <i>C. elegans</i>..... | 148 |
| E. Efecto de las diferentes concentraciones de cloruro de sodio sobre el índice de quimiotaxis de <i>C. elegans</i> | 148 |

Índice de Figuras

| | |
|---|-----------|
| Figura 1. Formación de placas β-amiloide | 18 |
| Figura 2. Formación de agregados intercelulares de proteína Tau..... | 19 |
| Figura 3. Sintomatología de la enfermedad de Parkinson..... | 23 |
| Figura 4. Características neuropatológicas que conllevan a las alteraciones motoras de la enfermedad de Parkinson. | 24 |
| Figura 5. Formas clínicas de la EM | 26 |
| Figura 6. Alteración de la huntingtina y daño cerebral..... | 28 |
| Figura 7. Cambios conductuales, celulares y moleculares en las neuronas..... | 32 |
| Figura 8. El esquema muestra el flujo de electrones a través de la cadena respiratoria.. .. | 33 |
| Figura 9. Ciclo de vida de C. elegans..... | 40 |
| Figura 10 DAF-16/FOXO integra señales de diferentes vías para modular el envejecimiento y la longevidad. | 42 |
| Figura 11. Formas del ácido lipoico..... | 50 |
| Figura 12. Estructura química de la biotina | 57 |
| Figura 13. Metabolismo, función, degradación y reciclamiento de biotina en mamíferos. | 60 |
| Figura 14. Esquema de la interrelación de las reacciones catalizadas por las carboxilasas dependientes de biotina. | 61 |
| Figura 15. Múltiples acciones de la biotina..... | 62 |
| Figura 17. Diseño del ensayo de quimiotaxis. | 79 |
| Figura 18. Porcentaje de sobrevivencia en respuesta a la administración de diferentes concentraciones de ácido lipoico, CL₁₀, CL₅₀ y CL₉₀. | 82 |
| Figura 19. Porcentaje de sobrevivencia en respuesta a la administración de diferentes concentraciones de biotina, señalización de CL₁₀, CL₅₀ Y CL₉₅. | 83 |
| Figura 20. Efecto del ácido lipoico en la resistencia a estrés oxidante producido por H₂O₂..... | 84 |
| Figura 21. Efecto de la biotina en la resistencia a estrés oxidante producido por H₂O₂). | 85 |
| Figura 22. Contenido de ácido lipoico por tratamiento en C. elegans.. | 86 |
| Figura 23. Contenido de biotina por tratamiento en C. elegans..... | 87 |
| Figura 24. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la sobrevivencia de C. elegans..... | 88 |
| Figura 25. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la longevidad de C. elegans..... | 90 |
| Figura 26. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la morfología de C. elegans de la Cepa N2WT..... | 91 |
| Figura 27. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el volumen de C. elegans..... | 92 |
| Figura 28. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el contenido de proteína de C. elegans..... | 93 |
| Figura 29. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el contenido de triglicéridos de C. elegans..... | 96 |

| | |
|---|------------|
| Figura 30. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el contenido de EROs de <i>C. elegans</i>.. | 97 |
| Figura 31. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la actividad de SOD en <i>C. elegans</i>. | 98 |
| Figura 32. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la actividad de CAT en <i>C. elegans</i>. | 99 |
| Figura 33. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el nivel de glutatión total en <i>C. elegans</i>..... | 100 |
| Figura 34. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el nivel de GSH en <i>C. elegans</i>. | 101 |
| Figura 35. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la actividad de GSSG en <i>C. elegans</i>. | 102 |
| Figura 36. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la relación GSH/GSSG en <i>C. elegans</i>. | 103 |
| Figura 37. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el entrenamiento de la memoria condicionada por alimento en <i>C. elegans</i>..... | 104 |
| Figura 38. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el índice de quimiotaxis en <i>C. elegans</i>. | 105 |
| Figura 39. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la motilidad de <i>C. elegans</i>..... | 106 |
| Figura 40. Análisis de componentes principales de los diferentes parámetros evaluados en <i>Caenorhabditis elegans</i>.. | 108 |
| Figura 41. Modelo propuesto del efecto neuroprotector del ácido lipoico y la biotina en <i>Caenorhabditis elegans</i>.. | 117 |
| Figura A. Curva de calibración para la cuantificación de proteína en <i>C. elegans</i> por el método de Biuret. | 146 |
| Figura B 1. Curva de calibración para la cuantificación de ácido lipoico por HPLC. . | 146 |
| Figura B 2. Curva de calibración para la cuantificación de biotina por HPLC..... | 146 |
| Figura C 1. Curva de calibración para la cuantificación de la actividad de la enzima SOD. | 147 |
| Figura C 2. Curva de calibración para la cuantificación de la actividad de la enzima CAT..... | 147 |
| Figura D 1. Porcentaje de sobrevivencia de acuerdo a la concentración de H₂O₂..... | 148 |
| Figura E 1. Índice de quimiotaxis a partir de las diferentes concentraciones de NaCl sobre el entrenamiento de <i>C. elegans</i>. | 148 |

Índice de tablas

| | |
|---|-----|
| Tabla 1. Clasificación y abreviatura de los radicales libres | 29 |
| Tabla 2. Tratamientos farmacológicos para enfermedades neurodegenerativas. | 43 |
| Tabla 3: Requerimiento diario de ácido lipoico por edades..... | 51 |
| Tabla 4: Requerimiento diario de biotina por edades. | 57 |
| Tabla 5. Características de las cepas de <i>C. elegans</i> a utilizar. | 69 |
| Tabla 6. Concentraciones de biotina y ácido lipoico administradas en <i>C. elegans</i> | 71 |
| Tabla 7. Concentraciones de biotina y ácido lipoico administradas en <i>C. elegans</i> y su dosis equivalente en humanos | 109 |

Abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AMPK: Cinasa dependiente de Adenosin Monofosfato.

ALA: Ácido alfa lipoico.

ATP: Adenosin trifosfato.

BSA: Bovine Serum Albumin/ Albúmina de suero bovino.

CAT: Catalasa.

DAF: DAuer Anormal Formation/ Formación anormal de Dauer.

DCH-DA: Diclorofluoresceina-Diacetato.

DOC: Desoxicolato de sodio.

DNPH: 2,4-dinitrofenilhidrazina.

EA: Enfermedad de Alzheimer

EP: Enfermedad de Parkinson

EM: Esclerosis múltiple

ECD: Enfermedades crónico degenerativas.

END: Enfermedades neurodegenerativas.

FOXO: forkhead box, sub-grupo O.

FudR: Fluorodesoxiuridina.

GFP: Green Fluorescent Protein/ Proteína verde fluorescente.

GPx: Glutación peroxidasa.

GR: Glutación reductasa.

GSH: Glutación reducido.

GSSG: Glutación oxidado.

GST: Glutación-S-transferasa.

HPLC: High-Performance Liquid Chromatography / Cromatografía líquida de alta eficiencia.

hSMVT: Human Sodium/Multivitamin Transporter.

IGF: Insulinic-like Growth Factor/ Factor de crecimiento insulínico.

MDA: Malondialdehído.

NADP: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato.

NGM: Nematode Growth Medium/ Medio de crecimiento de nematodos.

NRF: Nuclear factor erythroid 2-Related Factor /Factor nuclear eritroide.

OH[·] : Radical hidroxilo.

O₂ : Radical superóxido

pH: Potencial de hidrogeniones.

PI3K: Phosphoinositide 3-Kinase/ Fosfatidil inositol-3-OH Cinasa.

Prxs: Peroxirredoxinas.

ARN: Ácido ribonucleico.

RNS: Reactive Nitrogen Species/ Especies Reactivas del Nitrógeno.

ROS: Reactive Oxygen Species/ Especies Reactivas de Oxígeno.

SKN: SKiNhead.

SOD: Superóxido dismutasa.

SOD/CuZn: Superóxido dismutasa dependiente de cobre y zinc.

SOD/Mn: Superóxido dismutasa dependiente de manganeso.

TBARS: Species reactive to thiobarbituric acid/ Sustancias reactivas al ácido Tiobarbitúrico.

TCA: Trichloroacetic acid/ Ácido Tricloroacético.

TPTZ: 2,4,6-Tri(2-pyridil)-s-triazina.

UAF: Unidades Arbitrarias de Fluorescencia.

UV: Ultravioleta.

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana.

YFP: Yellow Fluorescent Protein/ Proteína amarilla fluorescente.

8-OHdG: 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina.

Resumen

Las enfermedades neurodegenerativas son un conjunto de padecimientos que afectan al sistema nervioso central, lo que degrada la calidad de vida del paciente en diversos ámbitos (social, salud y económico). Por esta razón, se han propuesto tratamientos no farmacológicos entre los que destacan los nutraceuticos como el ácido lipoico y la biotina, los cuales a concentraciones farmacológicas, presentan efectos terapéuticos en varias enfermedades crónico degenerativas. La selección del modelo biológico del nematodo *C. elegans* permite realizar estudios bioquímicos, morfológicos y comportamentales tanto a nivel poblacional como individual. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar el efecto neuroprotector de la combinación de ácido lipoico (0.1 mM, equivalente a 613.5 mg en humanos) y biotina (150 nM, equivalente a 168 µg en humanos) en un modelo de neurodegeneración en *C. elegans*. Los nematodos se sometieron a un estrés oxidativo artificial con peróxido de hidrógeno (20 mM), evaluando el porcentaje de sobrevivencia durante 6 horas al utilizar los nutraceuticos. Posteriormente, se sometieron a un estrés oxidativo de tipo metabólico con glucosa (80 mM), donde se evaluaron parámetros morfológicos (volumen, contenido total de proteína y contenido de triglicéridos), bioquímicos (actividad de SOD, CAT, glutatión total y contenido de ROS) y comportamentales (evaluación de la memoria a corto plazo mediante una prueba de quimiotaxis y la motilidad). Se observó un aumento en la esperanza de vida de *C. elegans* con un 95.05 % de supervivencia y un incremento de 5 días en la longevidad. También se registró una disminución en el volumen (0.05 mm³) y el contenido de proteína total (0.71 mg/mL), además de la normalización en la actividad de SOD y CAT respecto al control, respecto a los niveles de glutatión total se observa una normalización de dichos niveles y una reducción en los niveles de ROS respecto al control en presencia de daño. En los estudios de motilidad se observó un comportamiento similar en los grupos control y en presencia de daño y la combinación de los nutraceuticos basado en los centroides, describiendo un comportamiento alejado del grupo sólo en presencia de daño. Asimismo, se realizó un análisis de pérdida de memoria basado en el índice de quimiotaxis que mostró un aumento al administrar ambos nutraceuticos. En conclusión, la combinación de ácido lipoico y biotina demostró un efecto neuroprotector en *C. elegans*, lo que sugiere su potencial terapéutico en el tratamiento de enfermedades independiente.

Palabras Clave: Neurodegeneración, neuroprotección, biotina, ácido lipoico, *C. elegans*.

Abstract

Neurodegenerative diseases are a group of conditions that affect the central nervous system, degrading the patient's quality of life in various areas (social, health, and economic). For this reason, non-pharmacological treatments, such as nutraceuticals like lipoic acid and biotin, have been proposed. At pharmacological concentrations, these substances show therapeutic effects in several chronic degenerative diseases. The selection of the nematode *C. elegans* as a biological model allows biochemical, morphological, and behavioral studies at both the population and individual levels. Therefore, the objective of this study is to evaluate the neuroprotective effect of the combination of lipoic acid (0.1 mM, equivalent to 613.5 mg in humans) and biotin (150 nM, equivalent to 168 µg in humans) in a neurodegeneration model in *C. elegans*. The nematodes were subjected to artificial oxidative stress with hydrogen peroxide (20 mM), and survival rates were evaluated over 6 hours with the use of nutraceuticals. Subsequently, they were exposed to metabolic oxidative stress with glucose (80 mM), where morphological parameters (volume, total protein content, and triglyceride content), biochemical parameters (SOD and CAT activity, total glutathione levels, and ROS content), and behavioral parameters (short-term memory assessment via a chemotaxis test and motility) were evaluated. An increase in the lifespan of *C. elegans* was observed, with 95.05% survival and a 5-day increase in longevity. Additionally, there was a reduction in volume (0.05 mm³) and total protein content (0.71 mg/mL), along with the normalization of SOD and CAT activity relative to the control. Regarding total glutathione levels, normalization was observed, along with a reduction in ROS levels in the presence of damage. In motility studies, a similar behavior was observed in the control and damage groups treated with the combination of nutraceuticals, showing a distinct pattern compared to the group subjected to damage only. A memory loss analysis based on the chemotaxis index revealed an increase when both nutraceuticals were administered. In conclusion, the combination of lipoic acid and biotin demonstrated a neuroprotective effect in *C. elegans*, suggesting its therapeutic potential for treating neurodegenerative diseases.

Keywords: Neurodegeneration, neuroprotection, biotin, lipoic acid, *C. elegans*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Enfermedades crónico degenerativas

Las enfermedades crónico degenerativas (ECD) son patologías de lenta evolución y no contagiosas, dentro de las que destacan la resistencia a la insulina, la dislipidemia, síndrome metabólico, la hipertensión, enfermedades neurodegenerativas, etc. Las ECD en los últimos años han tenido un aumento en México y en el mundo, siendo una de las principales causas de mortalidad y su principal característica es el deterioro progresivo de la salud del paciente (Aguilera *et al* 2020; Ibarra, 2016). Además, representan un fuerte gasto al sistema de salud de todos los países. Los principales factores para que estas enfermedades se presenten son la edad avanzada (envejecimiento) y el cambio en el estilo de vida, teniendo una disminución de la actividad física, una alimentación deficiente en donde se disminuye la calidad de los nutrientes incrementando la ingesta de harinas, azúcares y grasas (Ibarra, 2016); representando un desequilibrio en los requerimientos normales para mantener una vida sana, además de no contar con un plan de prevención óptimo (González *et al.* 2015). En los últimos años se ha visto un aumento en los casos de enfermedades neurodegenerativas, lo que provoca la muerte de más de 65 millones de personas por año alrededor del mundo (Garces, 2020).

1.2 Enfermedades neurodegenerativas

Las enfermedades neurodegenerativas (END) afectan alrededor de mil millones de personas a nivel mundial, estas comprenden alteraciones y/o muerte de las células neuronales (Van Bulck *et al.*, 2019). Se caracterizan principalmente por provocar un deterioro neurológico progresivo e irreversible, que se acompaña de una disminución de la funcionalidad e independencia de las personas, afectando el equilibrio, movimiento y promoviendo la pérdida gradual, progresiva e irremediable de la memoria a corto y largo plazo (Carreres, 2004; Kim *et al.*, 2015). La etiología de estos padecimientos abarca alteraciones genéticas, epigenéticas y malos hábitos (consumo de tabaco, alcohol, inadecuada alimentación, etc.); debido a efectos secundarios de otros padecimientos crónico degenerativos, como la hipertensión, lesiones microvasculares, tumores, diabetes, cáncer, etc., un factor muy importante es el deterioro por la edad avanzada, lo que provoca un aumento del estrés oxidante celular, sugerido como una

etiología común en las enfermedades crónico degenerativas (Micó *et al.*, 2010; Van Bulck *et al.*, 2019). Dentro de las principales enfermedades neurodegenerativas por su incidencia y prevalencia destacan: la enfermedad de Alzheimer (EA), la demencia vascular asociada a la edad, el Parkinson, la esclerosis múltiple y Huntington (Kim *et al.*, 2015).

1.3 Principales enfermedades neurodegenerativas

1.3.1 Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) se clasifica como una encefalopatía degenerativa primaria (Snowdon, 2003) la cual fue descrita por primera vez en 1906 por el psiquiatra alemán Alois Alzheimer (Snowdon, 2003), teniendo como aparición inicial y típica de trastornos de la memoria que se desarrollan gradualmente y progresan con el tiempo (Launer, 1999). A medida que avanza, la función cognitiva se ve afectada y surgen alteraciones en el comportamiento, lo que conduce eventualmente a un estado de dependencia (Boller, 1997).

Se estima que la EA se produce por una combinación de susceptibilidad genética sumada a la exposición a factores ambientales, donde interactúan factores de riesgo (Goldman, 2001) y factores protectores (Qiu, 2007). Desde el punto de vista genético se reconocen dos tipos principales de EA (Hugest, 2010): la de inicio temprano, que comienza antes de los 65 años y la de inicio tardío, que comienza después de los 65 años. Menos del 5% de los pacientes desarrollan síntomas antes de los 65 años (Goldman, 2001).

La EA se caracteriza funcionalmente por un deterioro gradual de las funciones cognitivas (Carvajal., 2016), comenzando por afectar la memoria episódica y la memoria reciente (que comprenden a la memoria a corto plazo), presenta alteraciones en la denominación y la fluidez verbal, entre otras. Además de los síntomas cognitivos, incluye síntomas neuropsiquiátricos presentándose desde las etapas iniciales de la enfermedad. Estos síntomas van desde la apatía hasta las alucinaciones (Gutiérrez *et al.*, 2017).

Dentro de los procesos moleculares patológicos destacan:

1. **Depósitos de placas extracelulares del péptido β -amiloide ($A\beta$).** Las placas neuríticas comprenden agregados de restos de axones y dendritas de neuronas dañadas, lo cuales se unen con péptidos insolubles llamado péptido β -amiloide, el cual está conformado de 42 aminoácidos ($A\beta_{42}$), pero en condiciones patológicas se ha observado que la longitud de dicho péptido varía de 39 a 43 aminoácidos (Petersen, 1999), formando de manera extracelular las placas seniles o placas amiloides (**Figura 1**)(Acosta, 2017).

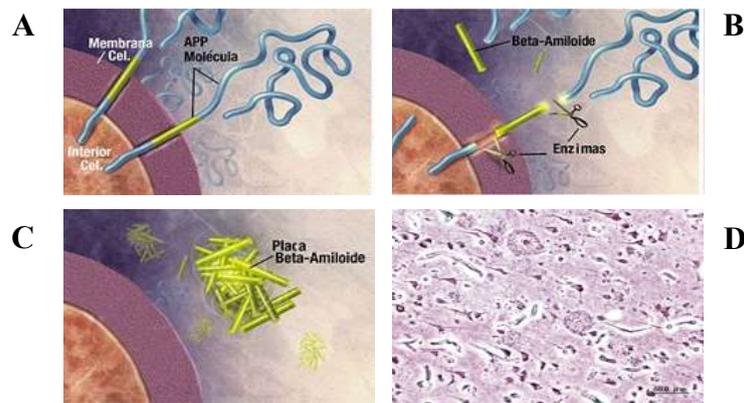


Figura 1. Formación de placas β -amiloide. A) Excreción extracelular del péptido precursor β -amiloide. B) Corte inexacto de las secretasas. C) Formación de placas β -amiloide. D) Histología de autopsia de persona con EA (Qiu, 2007).

2. **Agregados intracelulares formados por la proteína Tau hiperfosforilada (ovillos neurofibrilares).** Son proteínas cuya función es la estabilización de los micritúbulos axonales a través de la interacción con la tubulina, regulando el tráfico vesicular de las células nerviosas. En condiciones patológicas hay formación de ovillos neurofibrilares conformados por filamentos helicoidales pareados, formados principalmente de proteína Tau hiperfosforilada de manera anormal (Morris, 2005). La agregación de la proteína Tau reduce la capacidad de estabilizar a los microtúbulos, llevando así a la muerte neuronal (**Figura 2**), la aparición de los ovillos neurofibrilares sucede en etapas tempranas en la EA (Van *et al.*, 2019).

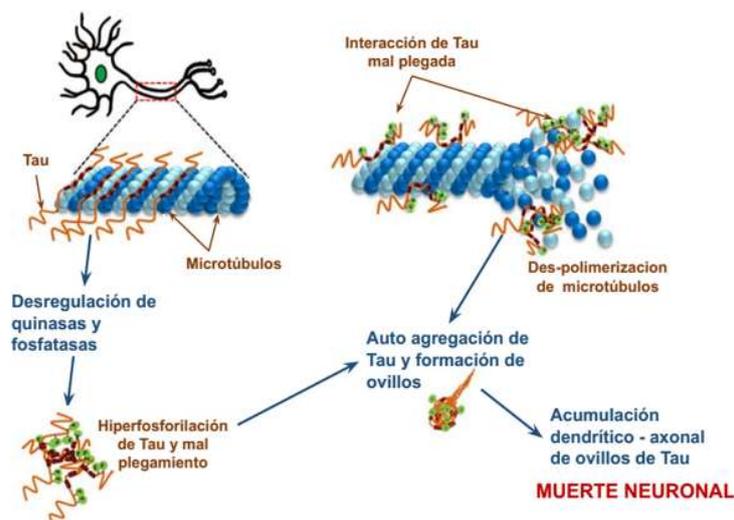


Figura 2. Formación de agregados intercelulares de proteína Tau. La proteína Tau se encarga de la estabilización de los microtubulos y el tráfico vesicular, al tener una desregulación de cinasas y fosfatasas se produce una hiperfosforilación y mal plegamiento de Tau lo que conlleva a la formación de ovillos neurofibrilares, produciendo una muerte neuronal (Van *et al.*, 2019).

Diversos autores han observado que existe una asociación en la formación de placas seniles y ovillos neurofibrilares, ya que se ha descrito que el depósito A β fibrilar induce a la fosforilación de Tau, seguida de una neurodegeneración progresiva neuronal (Mckhann, 2008). Esto sucede debido a que A β es capaz de activar cinasas para fosforilar a Tau, como son la glucógeno sintasa cinasa 3 beta y la cinasa dependiente de ciclina, provocando una neurotoxicidad, causando desintegración de los microtubulos neuronales, alterando del metabolismo de la glucosa en neuronas, teniendo una muerte selectiva de mitocondrias, además de tener una desregulación de procesos inflamatorios, perturbación de la homeostasis de calcio, produciendo así apoptosis (Acosta, 2017).

1.3.2 Demencia vascular y envejecimiento

Debido al aumento en la esperanza de vida en la población mundial, ha habido un incremento la prevalencia a padecer demencias (Molina, 2021). La demencia es un deterioro progresivo de las facultades mentales que causa graves trastornos de conducta (DRAE, 2024), en donde no se tiene conciencia de la enfermedad además de tener un juicio distorsionado de la realidad. El principal es un deterioro progresivo del

raciocinio, la etiología (tanto cerebral como sistémica) aparece en edades avanzadas (Rodríguez *et al.*, 2004). También se han descrito demencias en adultos jóvenes como efecto secundario de otros padecimientos como el VIH. La prevalencia de esta demencia aumenta con la edad en donde 1,5-2 % entre los 65-69 años; 5,5-6,5 % entre los 75-79 años y 20-22 % entre los 85-89 años (Amarista *et al.*, 2019).

Por lo anterior, se plantea al envejecimiento como un punto importante, el cual aumenta la susceptibilidad a padecer demencias. El envejecimiento es un proceso universal que aumenta la susceptibilidad a padecer demencias en donde diversos autores afirman que comienza después del nacimiento y se mantiene durante la vida (Brickkel *et al.*, 2004; Geerlings *et al.*, 2009, Gorelick *et al.*, 2013) y se caracteriza por la pérdida progresiva de funciones y capacidades de células, tejidos, órganos y moléculas (Limón *et al.*, 2006; Bermejo, 2010; Limón *et al.*, 2011). Varios estudios relacionan al envejecimiento con un desequilibrio en la homeostasis producido por el aumento del estrés oxidativo (Ray *et al.*, 2012) resaltando la relación del envejecimiento con patologías crónicas degenerativas (Oswald *et al.*, 2018; Pomatto *et al.*, 2018), que conducen a la insuficiencia de los órganos y a la muerte (Rink, 2011).

Por otra parte, se han estudiado la existencia de alteraciones metabólicas en donde un punto importante es la teoría de los radicales libres (RL) y el decremento en la tasa de vida, en donde el estrés oxidativo es crucial en el envejecimiento (de Jeager, 2018). Concordando con la noción de que en la mayoría de las especies con un metabolismo elevado tienden a envejecer más rápidamente y tener una vida más corta, atribuyendo la senescencia celular al consumo de energía. Este concepto se fundamenta en el aumento de la generación de radicales de oxígeno, conocidos como especies reactivas de oxígeno (ROS), causando daños importantes en la célula y sus componentes principalmente al DNA (Gerasymchuk *et al.*, 2020; Idda *et al.*, 2020). Además, se ha señalado que el envejecimiento a través de cambios genéticos y la inestabilidad de biomoléculas clave como el ADN, ARN, proteínas, carbohidratos y lípidos, formulando la teoría del daño del envejecimiento (DamAging por su tratado en inglés). Afirmando que estos daños contribuyen a las alteraciones y enfermedades relacionadas con la edad, llevando a una reducción en la esperanza de vida y la salud (Zampino *et al.*, 2020; Gu *et al.*, 2020). Se señala que las modificaciones en la síntesis de biomoléculas

constituyen algunos de los cambios fisiológicos en los tejidos envejecidos (Kamal *et al.*, 2020).

La respuesta celular a estímulos ambientales también está relacionada con este fenómeno, ya que las células enfrentan continuamente diferentes tipos de estrés (Schafer *et al.*, 2020). Dependiendo del tipo de célula, la naturaleza y la intensidad del estrés, la respuesta celular puede seguir tres rutas principales: reparación de organelos, apoptosis o senescencia (Li *et al.*, 2020). La senescencia se caracteriza por una pérdida prolongada y estable de la capacidad de proliferación celular, aunque la actividad metabólica y la viabilidad celular permanecen detenidas. Este estado ocurre en células sometidas a un alto nivel de estrés, pero no lo suficiente como para ser citotóxico, y que no logran reparar completamente el daño acumulado por los factores estresantes (Esteves *et al.*, 2020). Este mecanismo contribuye al envejecimiento al generar cambios tanto en la morfología como en la función celular, lo que se conoce como el Fenotipo Secretor Asociado a la Senescencia (SASP, por sus siglas en inglés) (Lulkiewicz *et al.*, 2020).

El ADN mitocondrial (ADNmt) acumula diversas mutaciones y deleciones por el deterioro de su función, intensificándose con el envejecimiento (Peters *et al.*, 2017). El ADNmt sufre daño oxidativo (Chu *et al.*, 2020), lo que representa un obstáculo a su replicación y renovación (Renson *et al.*, 2020). Teniendo así una disminución en la producción de energía celular aunado a un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS), confiriendo un fenotipo envejecido que finalmente desemboca en enfermedades crónicas degenerativas relacionadas con la edad que afectan principalmente la función cognitiva (Tuttle *et al.*, 2020).

La función cognitiva se describe como el funcionamiento integral de la percepción, atención, habilidades visuales y espaciales, orientación, memoria, lenguaje y cálculo, los cuales experimentan un deterioro variable con el paso del tiempo (Bennett *et al.*, 2006):

1. Funciones de la memoria que se mantienen relativamente estables:

a. Memoria semántica: Se define como la retención de hechos y conocimientos generales sobre el mundo permanece constante, especialmente si esa información se utiliza frecuentemente (Albert *et al.*, 2007).

b. Memoria procedural: Esta memoria se refiere a las habilidades y hábitos, en donde resaltan actividades como nadar, manejar e incluso almacenar y gestionar información de cómo realizar ciertas acciones. En términos generales, los adultos mayores suelen necesitar más tiempo para aprender nuevas tareas (Albert *et al.*, 2007; Luo, 2008).

2. Funciones de la memoria susceptibles por el envejecimiento:

a. Memoria de trabajo: Este tipo de memoria involucra la retención y manipulación de información mientras se realizan otras tareas, también abarca la velocidad de procesamiento, memoria y aprendizaje verbal y visual espacial, siendo la más afectada durante el envejecimiento (Crook *et al.*, 2006).

b. Memoria episódica: Es la memoria relacionada con los eventos de las vivencias (experiencias). En la memoria de trabajo y episódica las cuales se caracterizan por ser más sensibles al deterioro con el envejecimiento (susceptibilidad) (Albert *et al.*, 2007).

c. Memoria prospectiva: Implica la capacidad para recordar y llevar a cabo una acción futuramente (Crook *et al.*, 2006).

1.3.3 Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es la segunda enfermedad neurodegenerativa con mayor prevalencia en el mundo después de la EA (Archibald *et al.*, 2011). Es un proceso degenerativo cerebral que afecta principalmente a las neuronas dopaminérgicas, la cual utiliza la dopamina como neurotransmisor y desempeña un papel fundamental en el control del movimiento (Ávila, 2020).

El nombre "Parkinson" se debe al estudio de James Parkinson, quien describió sus síntomas principales en su ensayo "Un ensayo sobre el temblor de parálisis" de 1817. Reconoció que la enfermedad tiene componentes genéticos y ambientales, además de identificar síntomas dentro de los que se encuentran el delirio, trastornos del sueño, incontinencia urinaria y estreñimiento (Teny, 2015).

La EP es un trastorno de naturaleza multifactorial con una diversidad sintomatológica, en donde se incluyen los síntomas no motores, en donde encontramos la pérdida de

memoria, alteraciones en los ciclos de sueño y estados de ánimo, los cuales anteceden al diagnóstico de la EP (**Figura 3**) (Padilla *et al.*, 2023).

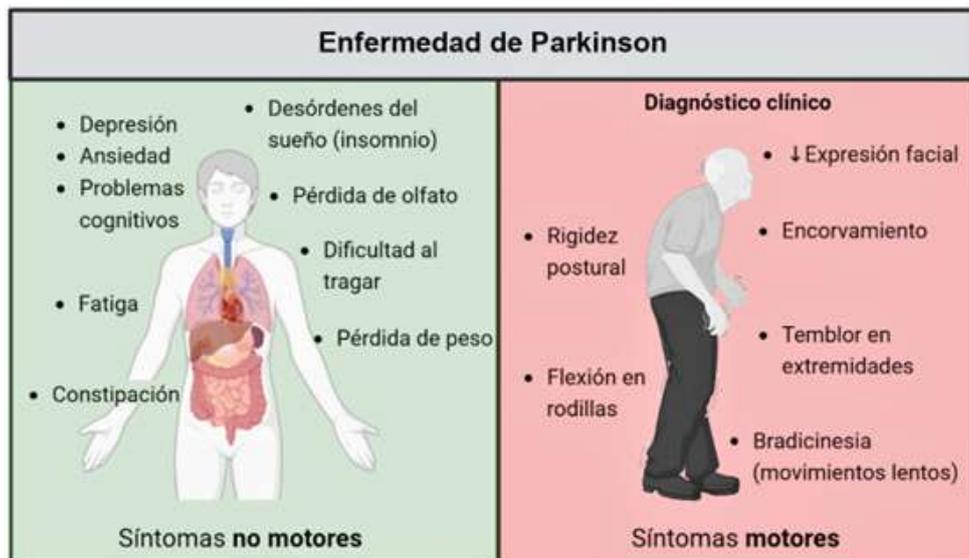


Figura 3. Sintomatología de la enfermedad de Parkinson. Varias alteraciones de tipo no motoras (izquierda), son antecedentes importantes para diagnosticar clínicamente el deterioro motor de la EP (derecha) (Padilla *et al.*, 2023).

Durante el envejecimiento se presenta la muerte de una gran parte de neuronas dopaminérgicas (48-56 %), pero en la EP su pérdida es drástica (70-87%), debido a el daño a la proteína α -sinucleína (α -sin) (Merello, 2019). La α -sin es necesaria para diversos procesos neuronales como la liberación de neurotransmisores y el funcionamiento de la sinapsis (Chaudhuri *et al.*, 2011), la α -sin puede tener plegamientos incorrectos modificando su estructura, formando agregados proteicos (**Figura 4**) (Parada *et al.*, 2012).

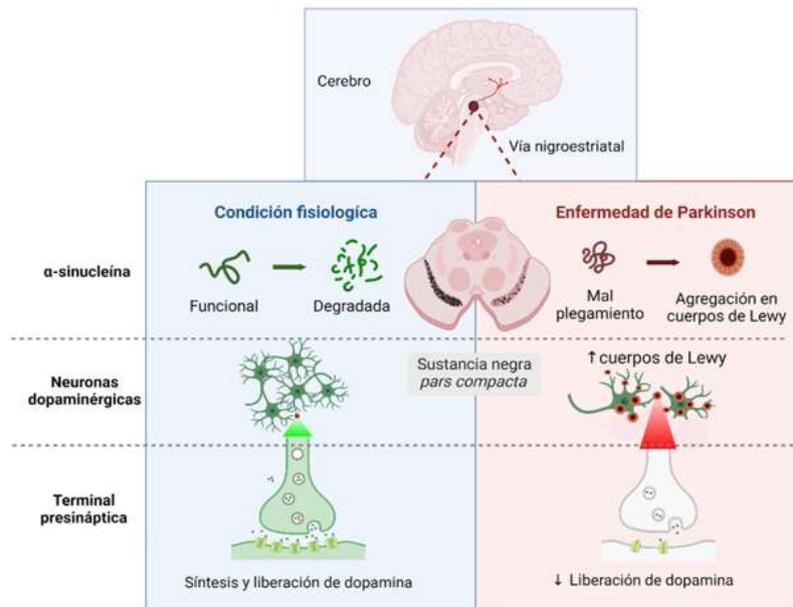


Figura 4. Características neuropatológicas que conllevan a las alteraciones motoras de la enfermedad de Parkinson. (Izquierda). Representación de la actividad de las neuronas dopaminérgicas, destacando los procesos de síntesis y liberación de dopamina, junto con el mantenimiento funcional y la degradación adecuada de la proteína α -sin. (Derecha). Bajo condiciones patológicas, como en la enfermedad de Parkinson (EP), se producen fallos en el plegamiento de α -sin, que se acumula en forma de cuerpos de Lewy, desencadenando la degeneración de las neuronas dopaminérgicas (Padilla *et al.*, 2023).

Las neuronas dopaminérgicas de la SNPC son particularmente sensibles a los agregados de α -sin en la EP (Galindo *et al.*, 2016), presentando prolongaciones llamadas arborizaciones axonales que a diferencia de células dopaminérgicas (como las del ATV), requieren mayor cantidad de energía para su funcionamiento (UNAM, 2020). Estudios *post mortem* en cerebros de pacientes con la enfermedad han revelado un aumento en los niveles de lipoperoxidación, asociado con un incremento en los niveles de hierro en la SNpc (Dexter *et al.*, 1991). Además, se ha observado una disminución en los sistemas antioxidantes y un bajo contenido de GSH en el líquido cefalorraquídeo de estos pacientes (Boll *et al.*, 2008).

1.3.4. Esclerosis múltiple

La enfermedad de Esclerosis Múltiple (EM) es referida como una enfermedad autoinmune que afecta a las células pertenecientes al sistema nervioso central y se estima que afecta a alrededor de 2.4 millones de personas en todo el mundo (MSIF, 2013). Se caracteriza por tener un curso crónico en la presencia de procesos inflamatorios y desmielinizantes, generando áreas de lesión. Estas lesiones causan deterioro en la transmisión neuronal, lo que conduce a una variedad de signos y síntomas (Lucchinetti *et al.*, 2000), incluyendo fatiga, dolor, espasticidad, disfunción vesical, déficit cognitivo, deterioro del equilibrio y la movilidad, entre otros (Sadovnick, 2009).

La causa exacta de la Esclerosis Múltiple (EM) aún no se comprende completamente, pero se cree que tanto factores genéticos como ambientales desempeñan un papel crucial en su desarrollo y progresión (Morrissey *et al.*, 1993). Se cree que estos factores desencadenan una respuesta inmune anormal que lleva a la destrucción de la mielina, la formación de lesiones inflamatorias y la degeneración neuronal (Debouverie *et al.*, 2007). Dentro de los principales factores de riesgo se han identificado infecciones virales por el virus Epstein-Barr, sexo femenino, poca disposición a la vitamina D, tabaquismo, predisposición genética, vivir en latitudes altas, e incluso nacer en mayo (Okuda *et al.*, 2009).

La EM se presenta en varias formas clínicas, que incluyen el Síndrome Clínico Aislado (SCA), la forma Remitente Recurrente (RR), la forma Secundaria Progresiva (SP) y la forma Primaria Progresiva (PP) (**Figura 5**) (Sadovnick, 2009). Debido a la variedad de síntomas y discapacidades asociadas con las áreas afectadas del sistema nervioso central, la EM puede causar discapacidades significativas en los adultos, especialmente en las mujeres (Tintoré *et al.*, 2000).

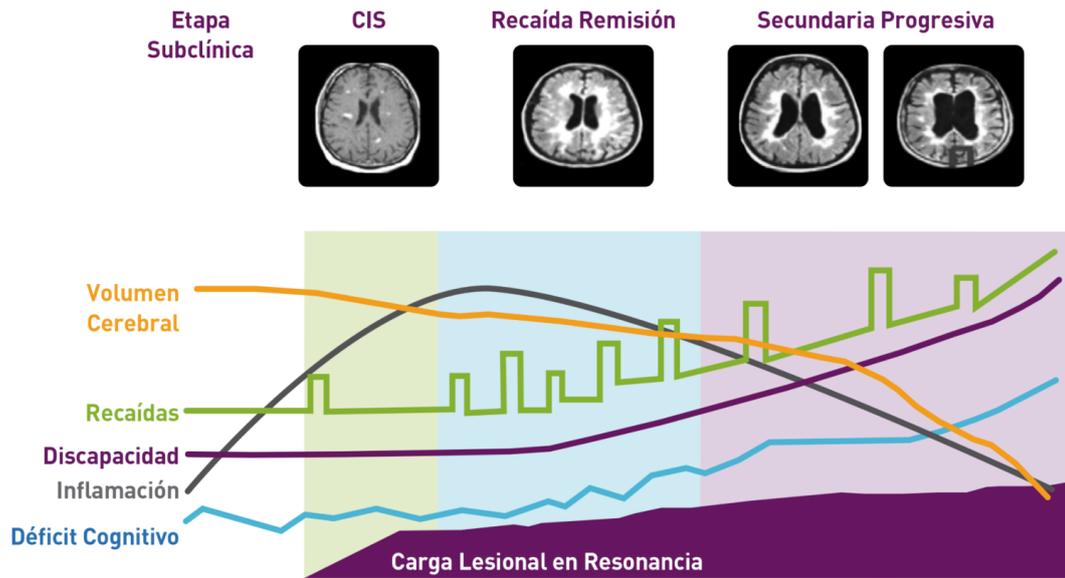


Figura 5. Formas clínicas de la EM. La EM afecta diferentes características a través del tiempo en sus diferentes formas clínicas, que van desde un decremento del volumen cerebral hasta un aumento en la discapacidad cognitiva (Sadovnick, 2009).

Debido a su diversidad etiológica, esta patología se fundamenta en tres aspectos principales: inflamación perivenosa, desmielinización y gliosis. La mielina está compuesta por varias proteínas, como la proteína básica de la mielina, el proteolípido de la mielina, la glicoproteína oligodendrocítica de la mielina y la glicoproteína asociada a la mielina. Cuando la mielina se destruye, por ejemplo, durante una infección, estas proteínas se liberan. Posteriormente, el sistema inmunológico las identifica y responde a ellas (Sadovnick, 2009).

1.3.5 Huntington

Estudiada y descrita por vez primera en el año de 1872 por el doctor George Huntington, la enfermedad de Huntington (EH) se define como un trastorno neurodegenerativo autosómico de tipo dominante hereditario (Kahlem *et al.*, 1998), cuya característica principal es la presencia de movimientos involuntarios, junto con anomalías en el movimiento voluntario. También se observa pérdida cognitiva y trastornos psiquiátricos (Bonelli *et al.*, 2006). Los síntomas suelen manifestarse normalmente entre la cuarta o quinta década de del individuo (Polidori *et al.*, 1999; Tabriz *et al.*, 1999), dentro de los principales síntomas encontramos movimientos no controlados e involuntarios, alteraciones tanto conductuales como psicológicas y

daño gradual de las funciones intelectuales (demencia) (Zádori *et al.*, 2009). Generalmente, los movimientos involuntarios en la cara, manos y hombros son uno de los primeros signos y suelen anteceder al desarrollo de esta demencia (Valdes *et al.*, 1993). Es poco común que estos movimientos falten en etapas avanzadas de la enfermedad. La progresión de la enfermedad varían ampliamente entre individuos (Roze *et al.*, 2008).

La prevalencia de EH es variante en diferentes regiones del mundo, con informes que indican que en varias poblaciones afecta a cinco a diez personas por cada 100.000 habitantes, con una incidencia que abarca a ambos sexos (Luthi *et al.*, 2003; Vasquéz *et al.*, 2011).

Se han realizado ensayos mediante electrotransferencia e inmunodetección de fracciones nucleares donde se han analizado el estriado y la corteza de pacientes con enfermedad de Huntington revelando que los agregados proteícos del núcleo y del neuropilo se componen por un N-terminal de 40 kDa (Bogdanov *et al.*, 2001; Vasquéz *et al.*, 2011). La huntingtina tiene una expresión de tipo constitutiva y es localizada de manera subcelular en diversos compartimentos, asociada con el aparato de Golgi, retículo endoplásmico y mitocondrias. La huntingtina es parte de la dinactina, el cual esta colocalizando en microtúbulos e ineractúa de manera directa con la enzima tubulina- β , sugiriendo así tener una actividad en el transporte vesicular en el citoesqueleto (**Figura 6**) (Ciencia UNAM, 2009). Por otra parte se ha estudiado y demostrado que la proteína tiene una actividad en la endocitosis, siendo mediada por clatrininas, esto en el transporte neuronal y en las vías integradas en la señalización postsináptica; además, de proteger a las neuronas del estrés que genera apoptosis, definiéndolo como factor prosupervivencia (Peña, 2004).

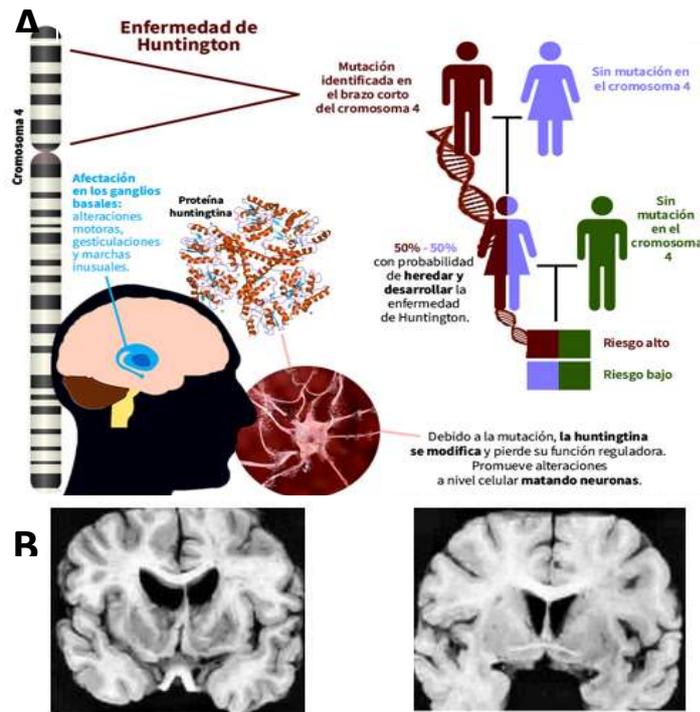


Figura 6. Alteración de la huntingtina y daño cerebral. A) Mutaciones que corresponden a la alteración de la huntingtina y probabilidad de padecer EH al tener identificada la mutación que se traducen en B) alteraciones producidas por Huntington, en un individuo con EH (imagen izquierda) se observa atrofia del núcleo caudado, la imagen derecha corresponde a un individuo control normal (Peña, 2004; Ciencia UNAM, 2019).

1.4 Causas de las enfermedades neurodegenerativas

1.4.1 Radicales libres y especies reactivas

Dentro de las principales causas de las END se encuentran los radicales libres (RL) son moléculas que se caracterizan por tener un electrón no apareado, lo que los convierte en especies de vida corta y altamente reactivas (Ames *et al.*, 1993). Esta reactividad les permite interactuar con otras moléculas, produciendo un daño oxidativo en las células. Los RL son difusibles y se producen por diferentes mecanismos entre los que destacan: la cadena respiratoria mitocondrial y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo (Adam, 2005; Turrens, 2013).

Dentro de las especies reactivas incluyen a las de oxígeno (ROS), hierro (RIS), cobre (RCS) y nitrógeno (RNS) (**Tabla 1**) (Fernández *et al.*, 2009), se forman como subproductos del metabolismo de los radicales libres. Aunque no todas son radicales libres en sí mismas, estas moléculas oxidantes tienen la capacidad de convertirse fácilmente en radicales libres, lo que las hace altamente perjudiciales para las células (Gilbert *et al.*, 2003). Los radicales libres se generan a nivel intracelular y extracelular. Entre las células relacionadas con la producción de radicales libres del oxígeno tenemos a los neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos y las células endoteliales (Halliwell, 1999).

Tabla 1. Clasificación y abreviatura de los radicales libres (Fernández *et al.*, 2009)

| Clasificación | Radical libre | Abreviatura |
|----------------------------------|---------------------------|--|
| Especies reactivas del oxígeno | Oxígeno singulete | $^1\text{O}_2$ |
| | Ión superóxido | $\text{O}_2^{\cdot-}$ |
| | Radical hidroxilo | OH^{\cdot} |
| | Peróxido de hidrógeno | H_2O_2 |
| | Radicales alcoxi y peroxi | RO^{\cdot} y ROO^{\cdot} |
| | Radical hidroperoxilo | ROOH^{\cdot} |
| Especies reactivas del nitrógeno | Óxido nítrico | NO^{\cdot} |
| | Dióxido nítrico | NO_2^{\cdot} |
| | Peroxinitrito | $\text{ONOO}^{\cdot-}$ |
| Especies radicales del azufre | Radical tiilo | RS^{\cdot} |
| Especies reactivas del cloro | Ácido hipocloroso | HOCl |

1.4.2 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se señala como una de las posibles causas en las enfermedades neurodegenerativas (Martínez *et al.*, 2010). Esto surge por a un desequilibrio en el estado redox, que surge cuando la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) supera la capacidad del sistema antioxidante necesaria para neutralizarlas, resultando así en una acumulación excesiva de ROS (Kim *et al.*, 2015). En el caso del oxígeno, se conocen varias especies reactivas que pueden causar daño oxidativo en las células y están implicadas en diversos procesos fisiopatológicos, incluyendo enfermedades neurodegenerativas.

Es vital mantener un equilibrio adecuado en la producción y eliminación de ROS manteniendo una homeostasis celular (Kim *et al.*, 2015). Las principales fuentes de

producción ROS incluyen la cadena de transporte de electrones mitocondrial, los procesos de degradación en peroxisomas, la NADPH oxidasa y el sistema del citocromo P450. A niveles moderados, las ROS son esenciales para varias funciones celulares importantes, como la producción de energía, la síntesis de compuestos esenciales para la fagocitosis (un proceso crítico para el sistema inmunológico) y la transducción de señales, que es vital para la comunicación y la función celular normal (Imlay, 2003). El daño celular producido por ROS genera una serie de reacciones que contribuyen al estrés oxidativo (McCord *et al.*, 2000) en las macromoléculas:

1. Lípidos. Son moléculas con demasiado daño a través de un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, daña las estructuras formadas por ácidos grasos poliinsaturados, alterando la permeabilidad de la membrana celular generando edema y muerte celular (Imlay, 2003; Nyström, 2003). La peroxidación lipídica o enranciamiento oxidativo presenta una forma de daño hístico que se desencadena por el oxígeno, el peróxido de hidrogeno y el radical hidroxilo. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal; sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno (Donaldson, *et al.*, 2006).
2. Proteínas. Existe la oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; formando entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y formando grupos carbonilos que proceden a acumularse como indicadores de daño (Ames *et al.*, 1993).
3. Ácido desoxirribonucleico (ADN). Se producen procesos donde se involucra mutaciones y carcinogénesis, en donde se observa disminución o pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño generado a un gen o grupo de genes específicos, modificaciones de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes. El daño se puede realizar por la alteración (inactivación/pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis). Los

genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN (Martínez *et al.*, 2010; Funk *et al.*, 1998).

Todo lo anterior produciendo un daño celular y eventualmente la muerte celular que lleva a daño tisular (Turrens, 2013). Además, las especies reactivas pueden provocar la desmielinización de las neuronas, ruptura en las dendritas y por lo tanto alteraciones en la comunicación sináptica, que compromete la funcionalidad del sistema nervioso central (Luján, 2014).

1.4.3 Estrés oxidativo en el cerebro

El cerebro es altamente sensible al estrés oxidativo, dentro de las razones principales se encuentra:

1. El cerebro tiene una alta demanda de oxígeno debido a la relación entre su tamaño y peso, constituyendo entre el 20 y 24% del consumo total de oxígeno del cuerpo (aproximadamente), lo que lo expone a un mayor riesgo de generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) debido al metabolismo aeróbico.
2. Los metales oxido-reductores activos, como el hierro y el cobre, abundan en el cerebro y participan activamente en la formación de ROS. Estos metales facilitan la producción de radicales libres a través de reacciones como la de Fenton y Haber-Weiss, aumentando el estrés oxidativo en el cerebro.
3. Las membranas pertenecientes a las células cerebrales están compuestas por altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, que son altamente sensibles a la peroxidación lipídica por ROS. Esta peroxidación daña directamente las membranas celulares, comprometiendo así la integridad estructural y funcional de las células cerebrales.

En conjunto, estos factores hacen que el cerebro sea muy susceptible al estrés oxidativo teniendo daños a nivel molecular y celular lo que se refleja a nivel conductual (**Figura 7**), contribuyendo al desarrollo y progresión de diversas enfermedades neurodegenerativas (Adams, 2005; Adams, 2010; Luján, 2014; Kim *et al.*, 2015; Bello *et al.*, 2022).

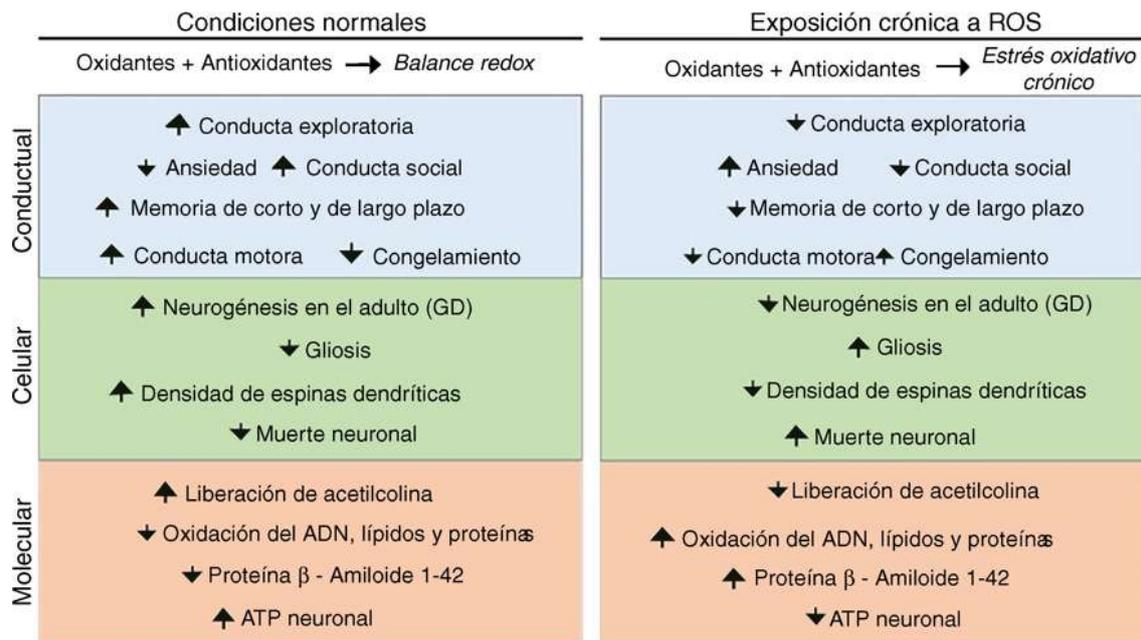


Figura 7. Cambios conductuales, celulares y moleculares en las neuronas. Los cambios a nivel molecular conducen a daño celular en donde se reflejan cambios conductuales en exposición crónica a ROS (Bello *et al.*, 2022).

En las enfermedades neurodegenerativas, como la EA (Gutiérrez *et al.*, 2017) y la EP (Parada *et al.*, 2012), se produce una ruptura en el equilibrio entre oxidantes y antioxidantes, lo que lleva a una situación de estrés oxidativo. Esta disfunción está relacionada principalmente con la alteración de la función mitocondrial, que conduce a un aumento en la producción de radicales libres en las células afectadas (Landete *et al.*, 2017).

En el caso específico de la EA y la EP, se han identificado mecanismos patológicos que contribuyen al estrés oxidativo. Por ejemplo, en la EA, la activación de las oxidasas NADPH por los péptidos β-amiloide (Aβ) conduce a una mayor producción de radicales libres por parte de esta enzima (Rink, 2011). Estos radicales libres desencadenan eventos que resultan en daño oxidativo y contribuyen al deterioro neuronal característico de la enfermedad, la disfunción mitocondrial y la activación de vías patológicas específicas, como la generada por los péptidos Aβ en la EA, contribuyen al estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas, lo que desempeña un papel importante en su progresión y patogénesis (Gutiérrez *et al.*, 2017).

1.4.4 Daño mitocondrial

Las mitocondrias son particularmente susceptibles al estrés oxidativo, ya que la acumulación de mutaciones somáticas en los genes que codifican proteínas de la cadena respiratoria mitocondrial o reguladoras resulta en un deterioro de la fosforilación oxidativa (Molina, 2021). Esto conlleva a una disminución en la producción de Adenosín Trifosfato (ATP) y una producción anormal de ROS, lo que desequilibra las defensas antioxidantes y produce estrés oxidativo. Por esta razón, la disfunción mitocondrial se considera un mecanismo central en el proceso de envejecimiento (Von *et al.*, 2021).

Durante el funcionamiento de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM), se produce la reducción tetravalente del oxígeno molecular (O_2) a agua (H_2O) (**Figura 8**). Los electrones son suministrados por el NADH o el succinato a los complejos I (NADH deshidrogenasa) y II (succinato deshidrogenasa), respectivamente (Kudryashova *et al.*, 2020).

La ubiquinona o también conocida como coenzima Q10, que acepta los electrones de estos complejos, experimenta dos reacciones de reducción para formar ubisemiquinona y ubiquinol, recibiendo un electrón a la vez (ciclo Q) (Lulkiewicz *et al.*, 2020). Estos electrones luego son transferidos al complejo III (UQ-citocromo c reductasa), al citocromo c y al complejo IV (citocromo C oxidasa), que finalmente los utiliza para reducir el O_2 a H_2O (Stroik, 2021).

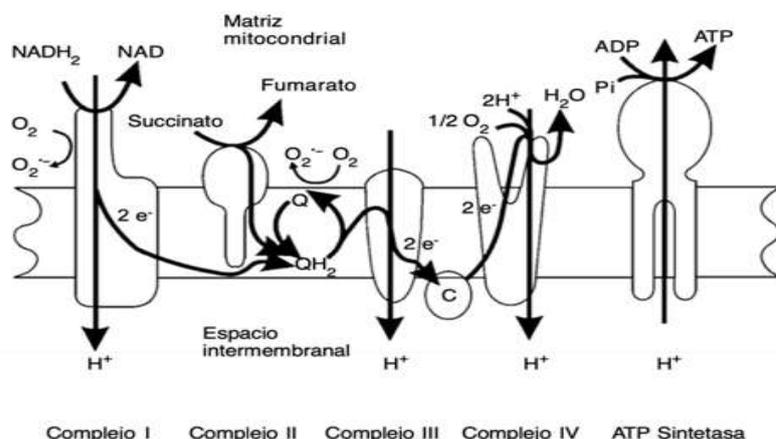


Figura 8. El esquema muestra el flujo de electrones a través de la cadena respiratoria. El flujo de protones a través de los complejos I, III y IV y la producción de

ATP por la ATPsintetasa a partir de ADP y grupos fosfato, identificando a el complejo I y la face intermedia entre el ciclo Q y el complejo III (Abundis *et al.*, 2005).

Sin embargo, la cadena respiratoria mitocondrial no es completamente eficiente y puede resultar en la reducción univalente del oxígeno (O₂), lo que genera el radical superóxido (O^{•-}). Se ha identificado que la interfaz entre el ciclo Q y el complejo III es un sitio donde se forma este radical, y más recientemente se ha señalado al complejo I como otro posible formador al transferir electrones directamente al O₂. Normalmente, entre el 2% y el 4% del oxígeno consumido por la mitocondria se convierte en O^{•-}, aunque este porcentaje puede variar significativamente en condiciones patológicas. Por este motivo, la mitocondria dispone de un sistema antioxidante importante para contrarrestar estos efectos (Kale *et al.*, 2020).

1.4.5 Antioxidantes

Los antioxidantes se definen como las moléculas que tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres y proteger las células del daño oxidativo. El equilibrio entre oxidantes y antioxidantes es crucial para mantener la homeostasis celular y prevenir el daño oxidativo que puede contribuir al desarrollo de diversas enfermedades. Las células emplean varios mecanismos para restaurar el equilibrio redox después de una exposición a niveles elevados de radicales libres (RL) (Agrawal, 2011). La exposición a especies reactivas de oxígeno (ROS) provoca la expresión de genes antioxidantes y aumenta los niveles de glutatión y aminoácidos libres para mantener la homeostasis redox (Chu *et al.*, 2020).

Dicho equilibrio intracelular entre oxidantes y antioxidantes está regulado por un sistema complejo que implica tanto la producción de radicales libres como su neutralización por antioxidantes (Rodríguez *et al.*, 2004). La producción de radicales libres puede ocurrir en varias estructuras celulares, como las mitocondrias a través de la cadena de transporte de electrones, el retículo endoplasmático, los peroxisomas y mediante diferentes enzimas como las NADPH oxidasas (NOX) y las oxidasas de xantina (Camargo *et al.*, 2018).

Las ROS participan en procesos fisiológicos como la renovación de membranas, la mitosis, la migración celular, la síntesis hormonal, la respuesta inmune y la inflamación (Rodríguez *et al.*, 2004). Niveles disminuidos de ROS promueven la proliferación celular, mientras que niveles altos tienen efectos inhibitorios (Rink, 2011). Las ROS también regulan el sistema inmunitario y activan genes específicos, como el factor de transcripción NF- κ B, que controla respuestas inmunes e inflamatorias (Kim *et al.*, 2015). Las ROS actúan como mensajeros celulares, promoviendo la expresión de factores de crecimiento y la activación de proteínas reguladoras del hierro (Turrens, 2013). La regulación de la expresión génica a través de mecanismos redox se lleva a cabo mediante OxyR, que responde al peróxido de hidrógeno, y la tioredoxina (Trx), que mantiene un ambiente intracelular reducido (Martínez *et al.*, 2010).

La apoptosis es una muerte celular activa y no inflamatoria, caracterizada por la fragmentación nuclear y la formación de cuerpos apoptóticos fagocitados por células vecinas (García *et al.*, 2016). Las ROS pueden inducir apoptosis activando caspasas y genes apoptóticos. La necrosis, en cambio, es una muerte celular pasiva e inflamatoria, provocada por lesión y exceso de calcio, que resulta en edema celular, ruptura de membranas y activación de procesos inflamatorios (De Rivero *et al.*, 2007).

1.4.6 Balance antioxidante

Los antioxidantes son sustancias, ya sean naturales o sintéticas, que previenen o retrasan el daño celular neutralizando los radicales libres (RL). Cuando un antioxidante colisiona con un RL, le cede un electrón, oxidándose y lo que le permite transformarse en un RL débil y con cero toxicidad. La mayoría de los antioxidantes no suelen actuar de esta manera; algunos enzimáticos aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que reaccionan con los RL (Fernández *et al.*, 2009). Por lo tanto, los antioxidantes pueden ser enzimáticos o no. Se clasifican en endógenos, como el glutatión (GSH), el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX), que se encuentran en el organismo y son sintetizados por sus células; y exógenos, como la vitamina C, la vitamina E y los betacarotenos, que ingresan al cuerpo a través de la dieta (Abundis *et al.*, 2005).

1.4.6.1 Sistema glutatión

El glutatión es un antioxidante clave que consiste en un tripéptido de naturaleza no proteica conformado por: glutamato, cisteína y glicina. Su concentración dentro de las células es un indicador del estrés oxidativo (Yariheygi *et al.*, 2018). Principalmente, existen dos formas importantes de glutatión dentro de las células: la forma reducida de sulfhidrilo (GSH) y la forma oxidada de disulfuro de glutatión (GSSG) (Halliwell, 1996). El glutatión desempeña una actividad importante en la neutralización de especies reactivas de oxígeno a través de una cascada coordinada de desintoxicación, que involucra a las enzimas: glutatión peroxidasas (GPx), las glutatión S-transferasas (GST) y la glutatión reductasa (GR) (Rossi *et al.*, 2002).

1.4.6.2 Glutatión peroxidasa

El glutatión se tiene actividad tanto en el citosol como en la mitocondria, lo que denota la importancia como el sistema antioxidante por excelencia en situaciones de bajo estrés oxidativo (Benner *et al.*, 2011). El glutatión peroxidasa (GPx) se refiere a una familia de diversas isoenzimas (GPx1-8) que catalizan la reducción del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a agua utilizando el glutatión como donante de electrones (Sakamoto *et al.*, 2014). En organismos como *C. elegans*, al igual que en humanos, existen múltiples genes que codifican para las diversas formas de la glutatión peroxidasa, como gpx1-8) (Vajjala *et al.*, 2012).

1.4.6.3 Superóxido dismutasa (SOD)

La superóxido dismutasa (SOD) se refiere a una importante enzima que cataliza la conversión del superóxido radical en peróxido de hidrógeno (H_2O_2), para después ser neutralizado por otras enzimas antioxidantes como la catalasa (CAT), la glutatión peroxidasa (GPx) y las peroxirredoxinas (Prxs). Dicho proceso es esencial para proteger a las células del daño oxidativo causado por los radicales libres (Gilbert *et al.*, 2003).

En *C. elegans*, existen genes que codifican para la SOD, denominados sod-1 a sod-5. De estos, SOD-1, SOD-4 y SOD-5 son isoformas de SOD que contienen tanto cobre como zinc (Cu-Zn), mientras que SOD-2 y SOD-3 son isoformas que contienen manganeso (Mn) (Jensen y Culotta, 2005; Yang *et al.*, 2007; Doonan *et al.*, 2008). Se ha observado que SOD-1 contribuye aproximadamente al 80% de la expresión total de

ARNm de SOD y al 80% de la totalidad de la actividad de SOD en *C. elegans* (Doonan *et al.*, 2008). La distribución diversa de la regulación de los niveles de superóxido y peróxido entre estas cinco isoformas de SOD, existen diferencias en las propiedades, distribuciones subcelulares y tisulares, hace que *C. elegans* sea un organismo de estudio particularmente útil para investigar los diversos roles biológicos de las SOD ((Martínez *et al.*, 2010).

1.4.6.4 Catalasa (CAT)

La catalasa divide al peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en agua y oxígeno. Estas enzimas son homotetrámeros teniendo un grupo hemo perteneciente a cada subunidad (Raynolds, 2012). En el genoma de *C. elegans*, se encuentran tres genes dispuestos en tándem que codifican para la catalasa (ctl-1, ctl-2 y ctl-3). La CTL-2 es una catalasa peroxisomal que representa aproximadamente el 80% de la actividad total de la catalasa. Además, muestra una actividad peroxidasa más elevada que las catalasas peroxisomales de mamíferos y tiene un pH óptimo más bajo para su actividad (Singh *et al.*, 2019).

1.5 Modelos biológicos para el estudio de enfermedades

Los organismos modelo son especies utilizadas para observar procesos biológicos específicos. Estos organismos comparten características genéticas bastante similares a las de los humanos y por lo que son empleados comúnmente en áreas de investigación como la genética, la biología del desarrollo y la neurociencia (Montero *et al.*, 2003). La selección de un organismo modelo se basa frecuentemente en su facilidad de mantenimiento y reproducción en laboratorios, así como en ciclos de generación cortos o la capacidad de generar mutantes para estudiar rasgos o enfermedades particulares (Fernández, 2011). Existen diversas especies de organismos modelo, cada una con su propio grado de complejidad y aplicaciones específicas (Watanabe *et al.*, 2014), dentro de los que podemos encontrar:

A. Modelos *ex vivo*. Estos modelos utilizan órganos, tejidos, células o fluidos corporales de sujetos vivos o sistemas organizados que contienen células en su interior, como los huevos que contienen gametos sin fecundar (Montero *et al.*, 2003). Estas muestras se colocan en un ambiente artificial que imita lo más posible las condiciones naturales. Este tipo de modelo tiene una duración menor a las 24

horas; de lo contrario, se consideraría un modelo *in vitro*. Los modelos *ex vivo* están en desarrollo como una alternativa antes de recurrir directamente a los modelos *in vivo* (Rodríguez, 2006).

B. Modelos *in vivo*. Estos modelos emplean animales y se basan en lo que se conoce como medicina comparada. Este enfoque fue descrito por primera vez en el siglo VI por Alcmeón de Crotona y se refiere a las similitudes en características fisiológicas y de comportamiento entre los animales y los humanos (Fernández, 2011). La selección de las especies más adecuadas para la investigación varía, pero generalmente se guía por su similitud anatómica, desarrollo social, cognitivo y la pregunta de investigación. Entre los animales más utilizados en la investigación biomédica se encuentran perros, gatos, cerdos, caballos, primates, conejos, ratas, ratones, hámsteres y más recientemente aves, peces, insectos y algunos nematodos (Ohi, 2012).

En México, existen normas que protegen el bienestar animal (Montero *et al.*, 2003), como la NOM-062-ZOO-1999 que establece especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

1.5.1 Modelos biológicos en enfermedades neurodegenerativas

Se emplean diversas estrategias para crear modelos de enfermedades neurodegenerativas (González, 2018). Estas estrategias van desde el uso de organismos de alta longevidad como modelos naturales, la exposición a sustancias químicas que generan síntomas similares a la demencia, la creación de modelos transgénicos mediante la manipulación génica, la inducción de daño cerebral y la simulación de síntomas de demencia mediante electroshocks (Gitier, 2017). Además, los avances en técnicas de cultivos celulares *in vitro* han posibilitado la generación de cultivos tridimensionales que imitan la estructura y función de tejidos humanos como el cerebro (Katki, 2011).

Los modelos celulares son utilizados como una estrategia para minimizar la variabilidad en los estudios (Tissenbaum, 2015). Su popularidad se debe a su requerimiento reducido de espacio y su mantenimiento sencillo. Además, los cultivos celulares humanos permiten un estudio de manera directa de los efectos de los fármacos en investigación. Sin embargo, una limitación importante es que sólo pueden observarse

los efectos de los compuestos en un tipo de célula o conjunto de ellas, lo que impide una evaluación completa de la respuesta fisiológica debido a la falta de interacción entre tejidos y sistemas (Centeno *et al.*, 2015; Carter *et al.*, 2017). Además, en ciertos casos, es primordial el tener que esperar hasta que el organismo envejezca para evaluar las enfermedades y su etiología, lo que puede llevar a una espera prolongada mientras se expresan las mutaciones o genes insertados en transgénicos (Neff, 2019).

1.5.2 *Caenorhabditis elegans* como modelo de estudio en enfermedades neurodegenerativas

El nemátodo *C. elegans* es un organismo que generalmente no es paracitario el cual fue utilizado por primera vez como modelo de investigación en 1963 (Brenner, 1973), ha sido un modelo experimental en múltiples experimentos que han transformado nuestra comprensión de la biología. Recientemente, las características pertenecientes a *C. elegans* han sido aplicados a enfermedades neurodegenerativas, como esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer (Bocchitto *et al.*, 2012), enfermedad de Parkinson (Orenstein *et al.*, 2013) y enfermedad de Huntington (Orr y Zoghbi, 2007).

Puesto que tiene características dentro de las que destacan: un corto ciclo de vida (25 días a 20° C) (**Figura 9**) obteniendo resultados en un corto periodo de tiempo comparado con otros organismos, contiene células neuronales (381 o un 72%) que forman un sistema nervioso primitivo permitiendo así realizar estudios de comportamiento. El *C. elegans* responde de manera sensible al tacto, al sabor, olor y a la temperatura, además de presentar comportamientos bastantes complejos como: apareamiento, comportamiento social, aprendizaje y memoria (Neff, 2019). También tiene un gran número de genes y proteínas homólogas con el ser humano (se dispone de un genoma secuenciado en su totalidad que comparte una homología de casi un 70% con el humano). Además, de una anatomía transparente permitiendo el uso de proteínas fluorescentes (como GFP)(Hammarlund *et al.*, 2018).

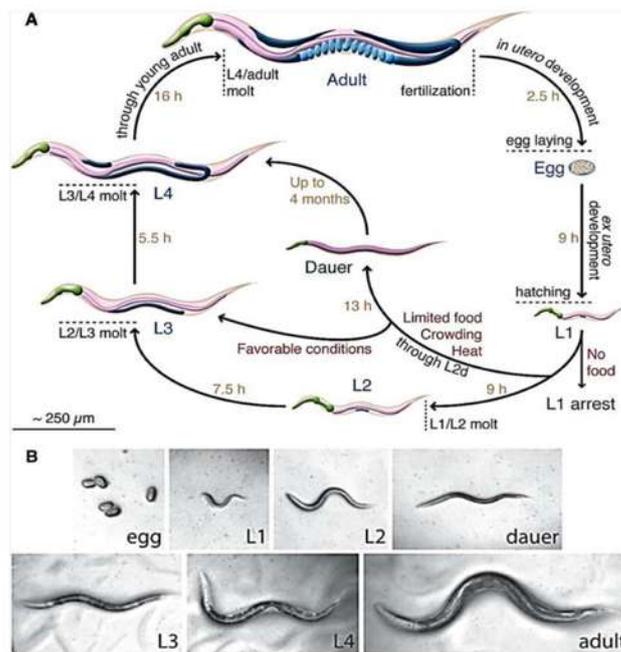


Figura 9. Ciclo de vida de *C. elegans*. A. El ciclo de vida de *C. elegans* incluye una fase embrionaria, cuatro etapas larvianas (L1-L4) y la adultez (estas fases están marcadas en gris claro). A una temperatura de 18°C, toma alrededor de 45 a 50 horas desde la eclosión hasta alcanzar la fase adulta reproductiva. El tiempo que dura cada fase de desarrollo (medido en horas) varía. Cuando se enfrenta a condiciones ambientales adversas, el gusano puede entrar en una fase reversible de supervivencia (Modificado de Altun, 2012). B. Micrografías de huevos puestos, estadios larvales y adultos (Modificado de Fielenbach, 2018).

Este organismo es utilizado como modelo para investigar enfermedades neurodegenerativas debido a la presencia de genes ortólogos al humano y a la existencia de cepas transgénicas (Shaye, 2011). Se han desarrollado modelos en los que se inhibe la función de ciertos genes asociados con la actividad mitocondrial, así como modelos transgénicos que sobreexpresan la proteínas asociadas a demencias, por ejemplo, en la cepa CL2006, la movilidad del nemátodo se ve afectada por la acumulación agregada de péptidos β -amiloide en el tejido muscular, lo que impide su movimiento sinuoso característico (McColl *et al.*, 2009; Bishop, 2010).

Como se ha destacado anteriormente, no existe un modelo de estudio perfecto. Con el aumento en los casos de demencia en todo el mundo, se sugiere emplear un modelo que permita obtener una apegación a efectos fisiológicos de los tratamientos específicos o fármacos en la enfermedad de interés (Giraldo, 2010).

1.5.2.1 Estrés oxidativo de *Caenorhabditis elegans*

El nematodo *C. elegans*, al igual que los mamíferos, cuenta con procesos de defensa contra el estrés definidos ampliamente para protegerse de productos tóxicos (Van *et al.*, 2010). Dichas vías de señalización y los mecanismos de regulación se conservan a lo largo de la evolución, al igual que sus homólogos en mamíferos (Tissenbaum, 2015). Por lo anterior, *C. elegans* es un modelo prometedor para investigar la regulación de genes involucrados en la expresión de genes de respuesta al estrés (Murphy *et al.*, 2003).

Recientemente, se ha centrado la atención en los factores de transcripción altamente conservados DAF-16 (en humanos FOXO) y SKN-1 (en humanos Nrf2) (Blackwell *et al.*, 2015) debido a su papel asociado en la respuesta al estrés oxidativo y en la prolongación de la vida en *C. elegans* (An, 2003). Dichos procesos regulan la transcripción de genes de desintoxicación esenciales como *sod-3* y *gst-4* (Wang *et al.*, 2014), que codifican para la proteína antioxidante superóxido dismutasa extracelular (Shore, 2013) y la enzima glutatión transferasa, promoviendo así la resistencia al estrés oxidativo (**Figura 10**) (Oliveira *et al.*, 2009).

La vía IIS (vía de señalización de insulina e IGF-1) es una cascada de señalización que incluye péptidos similares a la insulina (ILP), un receptor de insulina/IGF-1 (DAF-2), una fosfoinosítido 3-quinasa (AGE-1/AAP-PI3K), quinasas de serina/treonina (PDK-1, AKT-1 y AKT-2), y el factor de transcripción Forkhead Box O (DAF-16) en *C. elegans*. DAF-16/FOXO es fosforilado como resultado de la señalización mediada por las quinasas AKT, que responden a señales de insulina o IGF. Esta fosforilación permite que DAF-16 sea secuestrado en el citoplasma mediante proteínas 14-3-3, lo cual inhibe a FoxO y reduce la longevidad (Brunet *et al.*, 1999). Por lo tanto, cualquier mutación en los genes de esta vía, como en el receptor de insulina *daf-2/IGFR* o en los transductores de señal *age-1*, *pdk-1*, *akt-1* y *akt-2*, produce mutantes con una mayor esperanza de vida en comparación con el tipo salvaje. Este mecanismo depende de la actividad de

DAF-16, ya que las mutaciones nulas de *daf-16* pueden suprimir completamente el aumento de longevidad en estos mutantes. No es sorprendente, entonces, que los reguladores negativos de la vía IIS, como DAF-18/PTEN y PPTR-1/PP2A, presenten una longevidad reducida, dado que DAF-18/PTEN, como fosfatasa lipídica, antagoniza a PI3K, mientras que PPTR-1/PP2A desfosforila las quinasas AKT, afectando así la distribución de DAF-16/FOXO (Solari *et al.*, 2005; Padmanabhan *et al.*, 2009). Otros genes que actúan en etapas anteriores de la vía IIS, como *unc-31*, *unc-64*, *unc-18* y *unc-13*, también modulan la longevidad de manera dependiente de *daf-16* (Mukhopadhyay *et al.*, 2006). Cualquier situación de estrés que interrumpa la vía IIS, como la restricción alimentaria, impide que las señales lleguen a DAF-16/FOXO, lo que aumenta la actividad transcripcional de DAF-16/FOXO mediante su translocación al núcleo. Esto puede promover o reprimir la expresión de ciertos genes, activando la resistencia a diferentes tipos de estrés y prolongando la vida útil del organismo (Villa *et al.*, 2023).

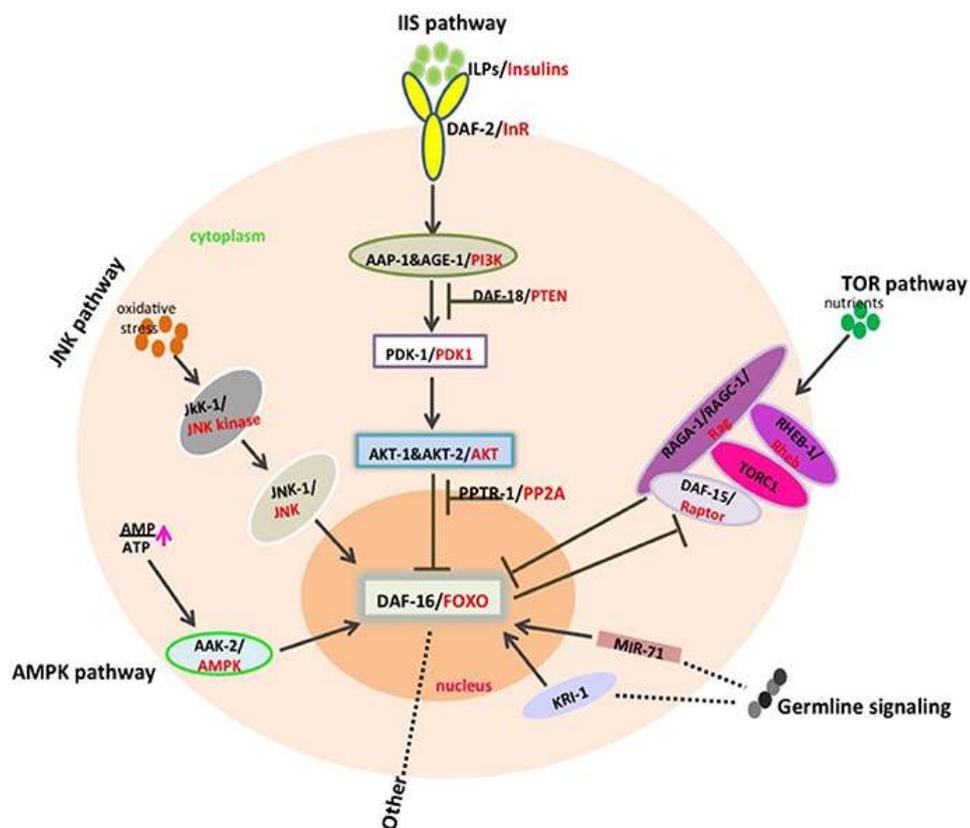


Figura 10 DAF-16/FOXO integra señales de diferentes vías para modular el envejecimiento y la longevidad. Las moléculas similares a la insulina se unen al receptor DAF-2 para conducir a la activación de la vía PI3P compuesta por AGE-1/AAP-1, PDK-1 así como AKT-1/2, que inhibe la translocación de DAF-16/FOXO al núcleo

por fosforilación. DAF-18/PTEN y PPTR-1/PP2A regulan negativamente la vía IIS mediante el antagonismo de las quinasas AGE-1/AAP-1 y AKT respectivamente. Además, la actividad de JNK aumenta bajo estrés oxidativo y AMPK se activa cuando la relación AMP/ATP es alta y ambas cinasas fosforilan posteriormente DAF-16 para promover su actividad. Las señales procedentes de la línea germinal, especialmente en ausencia de ésta, DAF-16/FOXO serían activadas por KRI-1 o por mir-7. La vía TOR es parcialmente dependiente de DAF-16 en el complejo de TORC1-DAF-15/Raptor junto con Rag GTPasas como RAGA-1/RAGC-1, RHEB-1/Rheb y a su vez, DAF-16/FOXO también podría inhibir la expresión del coactivador de TORC1 daf-15/Raptor (Valle *et al.*, 2023).

1.6 Tratamientos para las enfermedades neurodegenerativas

1.6.1 Tratamientos farmacológicos

Si bien en la actualidad no hay cura para la END, existen fármacos que pueden ayudar a controlar o retrasar la progresión de estas enfermedades. Algunos tratamientos promueven el control de la agitación, y síntomas psicóticos (alucinaciones o delirios) (Rodríguez *et al.*, 2004) que pueden ocurrir cuando la enfermedad progresa; sin embargo, estos fármacos generan efectos secundarios que perjudican la calidad de vida de los pacientes, entre estos medicamentos se encuentran los siguientes:

Tabla 2. Tratamientos farmacológicos para enfermedades neurodegenerativas.

| Medicamento | Clasificación | Uso en patologías | Efectos secundarios | Bibliografía |
|---|-------------------------|----------------------------------|---|--|
| Namenda® (Memantina clorhidrato) | Inhibidor del glutamato | Demencias, Alzheimer, Parkinson. | Vértigo, cefalea, alucinaciones, depresión, somnolencia, taquicardia, costo, etc. | Chen <i>et al.</i> , 2017, Metanálisis of Alzheimer. |

| | | | | |
|-----------------------------------|--|----------------------------------|---|---|
| Exelon® (Rivastigmina) | Inhibidor de la degradación de acetil colina | Demencias, Alzheimer, Parkinson. | Pérdida de apetito, pérdida de sueño, depresión, problemas estomacales, dificultad para orinar, costo, etc. | Williams <i>et al.</i> , 2009, Neurology. |
|-----------------------------------|--|----------------------------------|---|---|

| | | | | |
|----------------------------------|---|------------------------------------|--|---|
| Carbidopa® (Levodopa) | Dopaminérgico/ inhibidor de carboxilasa | Demencias, Parkinson, encefalítis. | Confusión, taquicardias, pérdida de sueño, nerviosismo, dolor de cabeza, costo, etc. | Colins <i>et al.</i> , 2014, Pharmacology and the Nursing Proces. |
|----------------------------------|---|------------------------------------|--|---|

Es por ello que se han buscado alternativas naturales, las cuales ayuden a retrasar la progresión de las enfermedades neurodegenerativas, sin que desencadenen efectos secundarios como los ya antes mencionado (Fernández *et al.*, 2009).

1.6.2 Estilo de vida como prevención

Se han descrito algunos pasos que favorecen la buena salud del cerebro en general, adaptables al estilo de vida y que pueden servir como prevención y/o coadyuvar a un mejor control cuando ya está presente la enfermedad y retrasarla con una mejor calidad de vida (González, 2018):

1. No fumar.
2. Tener un control en los factores de riesgo cardiovascular, idonde se toma en cuenta la hipertensión arterial, el colesterol alto y la diabetes.
3. Tener una alimentación equilibrada, que incluya gran cantidad de verduras, frutas y proteína magra, especialmente fuentes proteicas que contengan ácidos grasos omega-3.
4. Realizar actividad física, lo cual incluye realizar ejercicio aeróbico y mantenerse socialmente activo.
5. Mantener un peso saludable.
6. Usar habilidades cognitivas, como las habilidades de memoria.

7. Evitar golpes en la cabeza, pues podrían generar lesiones graves.
8. Tratar la pérdida gradual o total auditiva.
9. Limitar el ingerir de bebidas alcohólicas.
10. No dormir lo suficiente puede acarrear serias repercusiones para la salud. A corto plazo, pueden manifestarse problemas como pérdida de concentración, fatiga o dolores de cabeza. Sin embargo, los efectos a largo plazo de un sueño insuficiente o de mala calidad son aún más preocupantes. De hecho, es crucial un buen descanso para prevenir enfermedades neurológicas degenerativas como el Alzheimer o la demencia senil (Luján, 2014). La importancia del sueño radica en que, durante este período, el cerebro tiene la oportunidad de eliminar proteínas amiloides, que básicamente son desechos. Cuando no se duerme lo suficiente, estos residuos se acumulan. Aunque las consecuencias a largo plazo no están completamente claras, investigaciones recientes sugieren que puede haber un daño neuronal y, por lo tanto, un mayor riesgo de desarrollar Alzheimer (Turner *et al.*, 2014).

1.6.2.1 Actividad física

Diversos autores coinciden en que el ejercicio regular puede mejorar la función cognitiva (Moreno *et al.*, 2019), retrasar la manifestación de la demencia y otras enfermedades neurodegenerativas y mejorar la calidad de vida de los afectados (Gomes *et al.*, 2015). El ejercicio físico desencadena una serie de cambios en el cerebro, que incluyen el aumento del flujo sanguíneo cerebral, la ampliación del volumen sanguíneo en el cerebro y el proceso de angiogénesis (Eriksson *et al.*, 1998). Estos cambios en el cerebro resultan en un aumento del suministro de oxígeno y glucosa, una mayor disponibilidad de nutrientes, la promoción del crecimiento celular y la estimulación del proceso de eliminación de desechos metabólicos como la β -Amiloide, relacionada con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (Ahlskog *et al.*, 2011).

Además, el ejercicio físico impulsa un proceso de neuroplasticidad adaptativa en el cerebro. Este proceso implica la creación de nuevas conexiones neuronales (neuroplasticidad), la formación de nuevas neuronas (neurogénesis), la eliminación de conexiones neuronales antiguas y desadaptativas (apoptosis) y la creación de nuevos vasos sanguíneos en el cerebro (angiogénesis). Se ha demostrado que el ejercicio

físico es fundamental en la neurorehabilitación, ya que mejora procesos cognitivos básicos como la atención, la percepción y la memoria, así como procesos cognitivos más avanzados como el aprendizaje., (Hamer, 2009). Todo esto sugiere que el ejercicio físico podría tener efectos preventivos con respecto al deterioro cognitivo relacionado con la longevidad (Altman, 1965).

1.6.2.2 Alimentación

El tener una dieta balanceada entre los macronutrientes, rica en vitaminas y minerales previene la aparición de todo tipo de enfermedades, ya que no solo aporta nutrientes necesarios, sino que también ofrece beneficios al metabolismo, reflejándose en una buena salud. Se plantea que el ingerir una dieta baja en grasas saturadas, consumir pescados ricos en ácidos grasos omega 3 al menos 2 a 3 veces por semana y reducir la ingesta de ácido linoleico (contenido en mantequilla y productos lácteos no desnatados), han demostrado ser eficaces en el tratamiento y prevención de varias enfermedades tales como las cardiovasculares (Ortega *et al.*, 2016), neurodegenerativas (Corsi *et al.*, 2016), artritis reumatoide (De la Concepción, 2017), cáncer e Isquemias (Siverley *et al.*, 2016).

1.7 Nutracéuticos en el tratamiento de enfermedades crónico degenerativas

La palabra "nutracéutico" fue utilizada por primera vez en 1989 por el Dr. Stephen DeFelice, presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina (FIM) (Hollingworth, 1997) y es un acrónimo de los términos "nutrición" y "farmacéutico". Un nutracéutico se define como un suplemento dietético concentrado que se genera a partir de una sustancia natural bioactiva encontrada en los alimentos. Este tipo de suplemento proporciona un efecto favorable sobre la salud que supera el que tendría el alimento en su forma normal (Best, 1997). Los nutracéuticos se obtienen a partir de alimentos mediante métodos no desnaturalizantes y se presentan de diversas formas, como pastillas, cápsulas, jarabes, entre otras (Neff, 1997).

Por lo tanto, los nutracéuticos fortalecen la salud, teniendo un papel de auxiliares en el cuidado y mantenimiento de la salud, así como en la prevención de enfermedades y

en la mejora de las funciones fisiológicas del organismo (Arai, 1996), es decir, tienen como objetivo prevenir y coadyuvar en enfermedades crónicas degenerativas (Lozano, 2005).

Existen diversos estudios sobre el uso de nutracéuticos que presentan efectos neuroprotectores, como la luteína, carnitina, ácido lipoico, vitaminas (biotina), etc., además, se ha reportado que las deficiencias de vitaminas correlacionan con alteraciones metabólicas como el aumento del estrés oxidativo, la resistencia a la insulina, la disfunción endotelial y el deterioro del metabolismo de la glucosa y los lípidos, lo que conduce al desarrollo y la progresión de enfermedades crónicas degenerativas (Aguilera *et al.*, 2022).

1.7.1. Clasificación

La clasificación de los nutracéuticos está en relación con los compuestos que comparten similitudes tanto estructurales como funcionales (Biuret *et al.*, 2009):

Probióticos: Los probióticos se refieren a microorganismos vivos que consumidos en cantidades adecuadas, tiene efectos positivos en la fisiología intestinal, promoviendo así la salud. Estos microorganismos se encuentran comúnmente en alimentos lácteos, como el yogur y comprenden bacterias beneficiosas como lactobacilos y bifidobacterias. Entre los beneficios de los probióticos se incluye su capacidad para ayudar en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales infecciosas, así como enfermedades crónicas intestinales como la colitis ulcerosa, tienen actividad moduladora del sistema inmunológico, mejoran la biodisponibilidad de nutrientes y pueden contribuir a la mejora de enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo 2, obesidad, osteoporosis y cáncer (Corsi *et al.*, 2016).

Los efectos beneficiosos de los probióticos en el intestino se deben a su capacidad para regular la microbiota intestinal y su aparente acción en la respuesta inmunológica. Algunas de las bacterias responsables de estos efectos incluyen lactobacilos como *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. delbrueckii spp bulgaricus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, y bifidobacterias como *Bifidobacterium bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. breve*, entre otros (Malagón, 2017).

Vitaminas y minerales (macronutrientes): Los macronutrientes son los componentes fundamentales de los alimentos que proporcionan estructura, calorías y energía, e incluyen los carbohidratos, las grasas y las proteínas. Por otro lado, los micronutrientes, aunque se consumen en pequeñas cantidades, son esenciales para el cuerpo, ya que no pueden ser sintetizados por el organismo. Por lo tanto, deben obtenerse a través de la dieta para mantener niveles óptimos que promuevan el adecuado funcionamiento del cuerpo, ya que participan en diversas reacciones metabólicas. Entre estos micronutrientes se encuentran las vitaminas y los minerales dentro de los que destacan: Hierro, Calcio, Zinc (minerales), Complejo B (vitaminas) (Tiamina, Riboflavina, Cobalamina, Biotina, Ácido fólico, etc) (Reyna *et al*, 2005).

Los efectos benéficos de las vitaminas y minerales se deben a su participación en rutas metabólicas como cofactores enzimáticos en diversas enfermedades que van desde el cáncer hasta el Alzheimer, en conjunto, las vitaminas y minerales desempeñan un papel crucial en la prevención, manejo y tratamiento de diversas enfermedades, contribuyendo a la salud general y al bienestar del organismo (Das *et al.*, 2012; Jiménez *et al.* 2015).

Antioxidantes: son moléculas cuya función es la de bloquear la formación de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, previniendo así enfermedades cuyo causante son éstas, en donde se destacan el envejecimiento y END. Entre las sustancias antioxidantes más estudiadas y utilizadas se encuentran la vitamina C (encontrándose en cítricos), la vitamina E (siendo parte de los frutos secos y brócoli), compuestos fenólicos (contenidos en café, vino tinto, té y cacao), saponinas (se encuentran frijol, soya, ajo y avena), inulinas (se encuentran en ajos y cebollas), aceites, ácidos grasos poliinsaturados (omega 3, 6, 9, contenidos en pescados, mariscos y aguacate) y fosfolípidos (encontrados en huevo y semillas de girasol) (Hernández *et al.* 2019).

Los antioxidantes juegan un papel crucial en la protección del cuerpo frente a diversas enfermedades y en la promoción del bienestar general al reducir el estrés oxidativo, mejorar la salud del corazón, la piel, el cerebro y el sistema inmunológico (Morales, 2021).

1.8 Ácido lipoico

El alfa ácido lipoico (AAL) es cofactor de enzimas implicadas en el metabolismo energético, oxidando al ácido pirúvico mediante el complejo enzimático piruvato deshidrogenasa y en la oxidación del α -cetoglutarato. Además de ser cofactor en la oxidación de aminoácidos como la leucina, isoleucina y valina (Hernández, 2009).

Es un ácido anfipático, lo que significa que puede disolverse tanto en medios acuosos como grasos, ganándose el nombre de "antioxidante universal" (Potosinos, 2019). Esto le permite actuar a nivel intra y extracelular en cualquier parte del organismo (Sarno, 2004; Waitzberg, 2014). Diversos estudios preclínicos y clínicos han muestran que, en concentraciones farmacológicas, tiene beneficios en diversas enfermedades crónicas degenerativas y enfermedades neurodegenerativas (Molz, 2017).

El ácido lipoico se encuentra comunmente en las mitocondrias, unido a la subunidad E2 y actúa como coenzima para la piruvato deshidrogenasa y la α -cetoglutarato deshidrogenasa (McCall, 1987). Su alta reactividad se debe a la tensión del enlace S-S en el anillo disulfuro heterocíclico. Aunque es relativamente estable como sólido, el ácido lipoico polimeriza cuando se calienta por encima de su punto de fusión (47,5°C) o bajo la influencia de la luz en solución neutra.

Los humanos pueden sintetizar ácido lipoico de novo a partir de ácidos grasos y cisteína, pero en cantidades muy pequeñas, por lo que es necesario obtenerlo de fuentes externas (Lachance *et al.*, 2001). Tanto el ácido lipoico como el DHLA son moléculas anfipáticas con propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas (Caro, 2007). Los efectos biológicos del ácido lipoico están principalmente relacionados con sus propiedades antioxidantes, pero también presenta actividades antimutagénicas y anticancerígenas (Ter, 1997). Bilska y colaboradores (2001) sugieren que los efectos biológicos del ácido lipoico pueden estar vinculados a su influencia en el metabolismo del azufre y la actividad de la enzima mitocondrial rodanasa (Billska *et al.*, 2001).

1.8.1 Estructura del ácido lipoico

El ácido lipoico, de igual manera llamado ácido α -lipoico (ALA) (Lachance *et al.*, 2001), 6,8- ácido ditiocetano, es un derivado de un ácido graso octanoico. Se une covalentemente a un fragmento específico de lisina de la enzima con quien colabora;

también llamado lipoamida (García *et al.*, 2005). El LA se visualiza como un sólido de color amarillo y se encuentra estructurado por un terminal carboxílico y un anillo ditionial. Su estructura química está formada por $C_8H_{14}O_2S_2$, dos disulfuros cíclicos, dos grupos funcionales (-SH) cuando se reduce y un grupo carboxilo, como se muestra en la **Figura 11** (Goraça *et al.*, 2011).

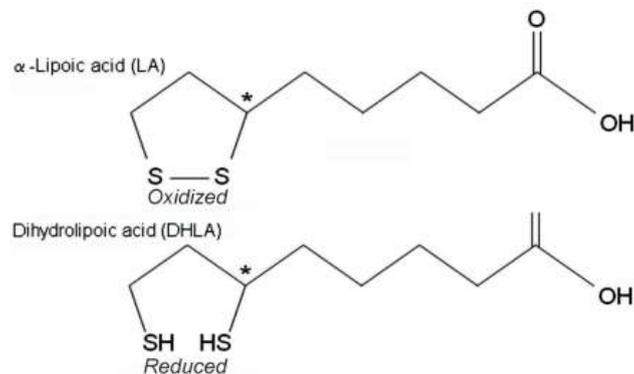


Figura 11. Formas del ácido lipoico. Estado oxidado (A) y reducido (B) del ácido lipoico (Goraça *et al.*, 2011).

Los grupos (-SH) se reducen y oxidan de forma alternativa, permitiendo así al grupo carboxilo unirse a la enzima formando una estructura de la coenzima, por lo regular se encuentra unido (por enlace covalente) a la enzima por un enlace de tipo amida entre sus grupos carboxilo y el grupo amino de la cadena lateral de una lisina (lipoamida) (Chan, 2001). Con fines terapéuticos, la forma R suele administrarse como una mezcla racémica de R-LA y S-LA (Ter, 1997), se ha estimado que es del 38% para la forma R y del 28% para la forma S (Flora, 2007). Sin embargo, no hay diferencia entre los Se observaron concentraciones plasmáticas de R- y S-LA. después de la administración intravenosa.

1.8.2 Fuentes alimenticias e ingesta adecuada del ácido lipoico

El LA se obtiene tanto de fuentes animales como vegetales, aunque se encuentra en mayor concentración en productos de origen animal. Los alimentos ricos en LA incluyen carnes rojas y órganos como hígado, corazón y riñón, donde se acumula debido a su presencia en las mitocondrias de las células animales (Goraça *et al.*, 2011). Entre las fuentes vegetales más abundantes están la espinaca, el brócoli, los guisantes, los tomates, las coles de Bruselas, las patatas y el salvado de arroz, aunque en cantidades

más bajas (McCall, 1987). En general, aunque está presente en una variedad de alimentos, la cantidad de ácido lipoico en la dieta es relativamente baja comparada con la que se obtiene mediante suplementos dietéticos (Packer, *et al.*, 2001).

Se ha observado que una ingesta diaria de AL promueve un correcto funcionamiento del metabolismo, puesto que se requiere del AL para la actividad enzimática, entre otras funciones en el cuerpo, es por eso que se tiene un requerimiento diario a partir de la edad, puesto que cada cuerpo es diferente se requiere de diferente cantidad (**Tabla 3**) (Flora, 2007).

Tabla 3: Requerimiento diario de ácido lipoico por edades.

| <i>Edad</i> | <i>Requerimiento (al día)</i> |
|-----------------------------------|-------------------------------|
| De 0 a 5 años | 20 mg |
| De 5 a 14 años | 45 mg |
| Hombres mayores de 14 años | 60 mg |
| Mujeres mayores de 14 años | 67 mg |
| Mujeres lactantes | 80 mg |
| Mayores de 65 años | 100 mg |

1.8.3 Absorción, metabolismo y eliminación del ácido lipoico

La absorción del ácido lipoico (LA) ocurre en el tracto gastrointestinal cuando se ingiere por vía oral. Su biodisponibilidad es relativamente baja por a la acción del metabolismo hepático y su limitada solubilidad en agua. Se estima que entre el 20% y el 40% del LA es absorbido, y su esta disminuye significativamente si se toma junto con alimentos. Por lo que se recomienda ingerirlo en ayunas para maximizar su efectividad. La forma R-lipoica (RLA), que es la que se encuentra de manera natural en los seres humanos y tiene una mayor tasa de absorción en comparación con la mezcla racémica (RS-LA) (Shay *et al.*, 2009; Gorąca *et al.*, 2011).

LA es metabolizado en el hígado, principalmente a través de reacciones de beta-oxidación y conjugación. Durante este proceso, el ácido lipoico es reducido a su forma activa, el ácido dihidrolipoico, que actúa como un antioxidante eficaz. Además, dentro de las células, el LA participa en reacciones de reducción y oxidación, lo que le permite

regenerar otros antioxidantes como la vitamina C y el glutatión. El metabolismo del ácido lipoico incluye la oxidación de sus grupos SH a sulfóxidos y la formación de fragmentos más pequeños que luego son eliminados (Biewenga, Haenen & Bast, 1997; Gorąca *et al.*, 2011).

El proceso de eliminación del LA se lleva a cabo principalmente por los riñones. Después de su metabolización en el hígado, los productos resultantes son excretados en la orina. Se estima que entre el 80% y el 90% del LA es eliminado en forma de metabolitos oxidados, mientras que solo una pequeña porción se excreta en su forma original. La vida media en plasma del LA es relativamente corta, que va de entre 30 minutos y una hora, lo que explica la rápida disminución de los niveles de LA en sangre después de su administración (Biewenga, Haenen & Bast, 1997; Shay *et al.*, 2009).

1.8.4 Función del ácido lipoico como antioxidante

El ácido lipoico es una coenzima clave en el metabolismo energético de las células. Se deriva del ácido graso octanoico y está unido covalentemente a la lisina de proteínas específicas, formando parte de complejos enzimáticos. Participa principalmente en procesos como la descarboxilación oxidativa de alfa-cetoácidos en el ciclo de Krebs, es responsable de la conversión de glucosa en piruvato (no directamente en la glucólisis) (Packer *et al.*, 1997). Dentro del organismo, el ácido lipoico se involucra en la transformación de la glucosa en energía para satisfacer las necesidades del cuerpo, y se observa que imita algunas funciones de la insulina, mejorando la captación de glucosa por las células (Hernández, 2009; Molz, 2017).

El ácido lipoico también es conocido como “el antioxidante universal” por su capacidad para actuar en medios acuosos y lipídicos, permitiéndole proteger tanto las membranas celulares como los compartimientos intracelulares (Durand, 2013).

En su forma reducida, el dihidrolipoato, el ácido lipoico neutraliza especies reactivas de oxígeno como los radicales superóxido y además de tener un papel en la protección de las membranas celulares por su interacción con otros antioxidantes como el glutatión y la vitamina C. Asimismo, puede reciclar la vitamina E y reducir el hierro, evitando la formación de especies reactivas más dañinas (Gorąca *et al.*, 2011).

La administración de ácido lipoico ha demostrado ser beneficiosa en varios modelos de estrés oxidativo, como la isquemia, la diabetes, la formación de cataratas, la activación del VIH y enfermedades neurodegenerativas, esto debido a su capacidad para reducir el daño oxidativo y mejorar el estado antioxidante de las células (Chan, 2001; McCall, 1987).

1.8.4.1 Función del ácido lipoico en la regulación de la expresión genética a concentraciones farmacológicas

El ácido lipoico es fundamental en la regulación genética a través de varias vías celulares, impactando en la expresión de genes relacionados con el metabolismo energético, la inflamación y la respuesta antioxidante. Uno de los mecanismos más importantes es su activación de la vía del factor nuclear eritroide 2 relacionado con el factor 2 (Nrf2), un regulador clave de los genes antioxidantes. El ácido lipoico aumenta la actividad de Nrf2, lo que induce la expresión de genes antioxidantes como la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa, lo que mejora la capacidad de la célula para manejar el estrés oxidativo (Zhang *et al.*, 2011). Por lo que, el ácido lipoico no solo actúa directamente como antioxidante, sino que también potencia las defensas celulares al aumentar la producción de enzimas antioxidantes (Sen *et al.*, 2012).

El ácido lipoico inhibe la vía de NF- κ B, el cual es un factor de transcripción asociado con la regulación de genes proinflamatorios, como las citocinas (TNF- α e IL-1 β), lo que reduce significativamente la inflamación, lo que resulta beneficioso en condiciones inflamatorias crónicas como la diabetes y las enfermedades cardiovasculares (Ziegler, 2012). Al reducir la actividad de NF- κ B, el ácido lipoico no solo mitiga la inflamación, sino que también protege contra el daño oxidativo crónico que puede derivar de esta (Sen *et al.*, 2012).

Otro mecanismo crucial es la activación de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), una enzima que regula el balance energético celular. El ácido lipoico, al aumentar la activación de AMPK, promueve la oxidación de ácidos grasos, mejora la captación de glucosa y favorece la utilización eficiente de energía. Lo que tiene un

impacto directo en la expresión de genes que controlan el metabolismo energético, reduciendo así el almacenamiento de grasa y mejora la sensibilidad a la insulina (Shay *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2013).

Varios estudios sugieren que el ácido lipoico influye en la modificación epigenética, particularmente en la acetilación y metilación de histonas, alterando así la accesibilidad del ADN y la expresión génica. Estos efectos epigenéticos podrían tener implicaciones importantes en enfermedades como el envejecimiento, el cáncer y los trastornos metabólicos, aunque esta área de investigación aún se encuentra en desarrollo (Sen *et al.*, 2012).

1.8.4.2 Modulación de FOXO a través de la vía PI3K/AKT

El ácido lipoico modula la vía PI3K/AKT, la cual, es una de las rutas de señalización intracelular más importantes para la regulación de la proliferación celular, el metabolismo y la respuesta al estrés oxidativo. Esta vía inicia con la activación de PI3K (fosfatidilinositol 3-cinasa), que convierte el fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP₂) en fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PIP₃). Este último recluta y activa AKT (proteína cinasa tipo B) al ser fosforilado por PDK1 y mTORC2. AKT, que una vez activado, fosforila factores de transcripción como FOXO, lo que los mantiene fuera del núcleo y bloqueando su capacidad para regular genes implicados en la reparación celular, la resistencia al estrés y la muerte celular programada (Zhao *et al.*, 2019; Song *et al.*, 2017).

El ácido lipoico regula esta vía ya que disminuye la fosforilación de AKT, por lo que reduce su actividad, permitiendo así la translocación nuclear de FOXO. Esto es importante en condiciones de estrés oxidativo, donde el AL actúa como antioxidante, reduciendo las especies reactivas de oxígeno (ROS) que de otro modo hiperactivarían PI3K. De esta manera, el ácido lipoico no solo controla la actividad de PI3K/AKT, sino que también aumenta la función de FOXO como un regulador de la homeostasis celular y la expresión de genes antioxidantes como SOD (superóxido dismutasa) y CAT (catalasa), claves en la defensa celular contra el daño oxidativo (Li *et al.*, 2013; Packer *et al.*, 2001).

En modelos experimentales, el ácido lipoico ha tener efectos neuroprotectores al mejorar la viabilidad celular, reducir la inflamación y restaurar la función mitocondrial en tejidos afectados por estrés oxidativo. Además, su capacidad para activar FOXO se asocia con la regulación de procesos relacionados con la longevidad, como la reparación del ADN, la autofagia y la regulación energética. Estas propiedades hacen del AL un candidato terapéutico prometedor en enfermedades neurodegenerativas y condiciones asociadas al envejecimiento (Song *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2019).

Existen evidencias experimentales que respaldan estos hallazgos, puesto que en estudios *in vitro*, el AL disminuyó la fosforilación de AKT en líneas celulares sometidas a estrés oxidativo, favoreciendo la activación nuclear de FOXO y la expresión de genes antioxidantes. En modelos animales de neurodegeneración, se observó que el AL modula eficazmente la vía PI3K/AKT, promoviendo la neuroprotección al reducir el daño oxidativo y la inflamación en el cerebro. Estos resultados subrayan la importancia del ácido lipoico como modulador de esta vía clave y como un agente potencial para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el envejecimiento y el daño celular (Li *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2019).

1.8.4.3 Señalización a través de la vía AMPK

La proteína quinasa activada por AMP (AMPK) es una enzima que se activa en situaciones de agotamiento de energía celular (Ozmen *et al.*, 2006). Cuando se activa, la AMPK aumenta la absorción de glucosa, la oxidación de ácidos grasos y la biogénesis mitocondrial (Ter Horst y Korf, 1996).

El ácido lipoico ha sido identificado como un modulador de esta vía, activando AMPK en diferentes tejidos, especialmente en el músculo esquelético y el hígado. La activación de AMPK por el ácido lipoico ocurre a través de un aumento en la relación AMP/ATP, lo que indica una baja energética en la célula. Al activar AMPK, el ácido lipoico promueve la oxidación de ácidos grasos y mejora la captación de glucosa, lo que resulta en un aumento del metabolismo energético y una mejora en la sensibilidad a la insulina (Zhang *et al.*, 2013; Shay *et al.*, 2009).

Además, la activación de AMPK por el ácido lipoico tiene efectos antioxidantes y antiinflamatorios. Se ha observado que la vía AMPK regula

indirectamente la actividad de varias enzimas antioxidantes, disminuyendo los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) y reduciendo el estrés oxidativo. Este mecanismo es relevante en la protección frente a enfermedades relacionadas con el metabolismo, como la diabetes tipo 2, la obesidad y las enfermedades cardiovasculares (Kim *et al.*, 2008; Zembron-Lacny *et al.*, 2009).

La señalización a través de AMPK también desempeña un papel en la mejora del perfil lipídico y en la reducción de los niveles de triglicéridos, lo que hace del ácido lipoico un potencial agente terapéutico en trastornos metabólicos y relacionados con el envejecimiento (Brites *et al.*, 2017).

1.9 Biotina (Vitamina B7 / H)

La biotina, se define como una vitamina hidrosoluble parte importante del complejo B, se encuentra principalmente en cereales, frutas y legumbres. En mamíferos, participa en vías metabólicas clave, teniendo la producción de azúcares (gluconeogénesis), la síntesis de los ácidos grasos y la degradación de algunos aminoácidos, actuando como grupo prostético de varias carboxilasas: piruvato carboxilasa, propionil-CoA carboxilasa, β -metilcrotonil-CoA carboxilasa y acetil-CoA carboxilasa (I y II) (Riverón y Fernández, 2017).

1.9.1 Estructura de la biotina

La biotina como molécula ($C_{10}H_{16}N_2O_3S$) se compone por anillos: un anillo imidazol (ureido) y un anillo tetrahidrotiofeno (contiene un grupo sulfuro). Este último se encuentra unido a la cadena lateral de ácido valérico, la cual a su vez esta unida al anillo tetrahidrotiofeno. La biotina tiene una masa molecular de 244.31 g/mol. Tiene un punto de fusión de 232°C y la biotina presenta específicamente átomos de carbono quirales (tres), lo que da como resultado ocho posibles estereoisómeros, aún así, solo el isómero d-biotina es biológicamente activa (**Figura 12**) (Streit, 2003).

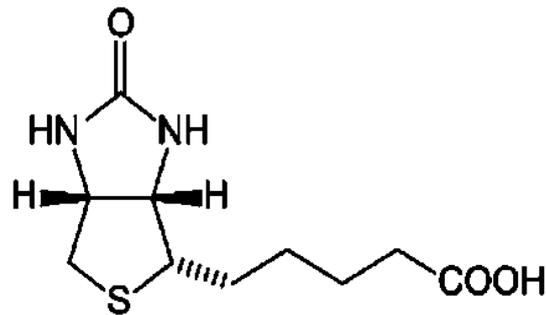


Figura 12. Estructura química de la biotina. Se observa el grupo tetrahidrotiofeno unido a una fracción de ácido valérico, como cadena lateral y un grupo carboxilo, el cual permite la interacción molecular (Tong, 2017).

La nomenclatura perteneciente a la IUPAC de la biotina es: ácido 5-[(3aS,4S,6aR)-2-oxo-1,3, 3a,4,6, 6a-hexahidrotieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanoico. El compuesto en estado puro tiene una estabilidad en soluciones moderadamente ácidas, neutras y en soluciones alcalinas (hasta pH 9). Es hidrosoluble (22 mg en 100 mL de agua a temperatura ambiente) e insoluble en solventes orgánicos (como ejemplo el cloroformo) (Streit y Entcheva, 2003; Tong, 2017).

1.9.2 Fuentes alimenticias e ingesta adecuada de biotina

En humanos, se desconocen con exactitud los requerimientos de esta vitamina, por lo tanto, se recomienda su ingesta a partir de la ingesta promedio de biotina en una población sana (aparentemente). El consumo e ingesta de biotina dependerá de la etapa del individuo esto indicado en la Tabla 4 (Zempleni *et al.*, 2012).

Tabla 4: Requerimiento diario de biotina por edades.

| <i>Edad</i> | <i>Requerimiento (al día)</i> |
|--------------------|-------------------------------|
| De 1 a 3 años | 8 µg |
| De 4 a 8 años | 12 µg |
| De 9 a 13 años | 20 µg |
| De 14 a 18 años | 25 µg |
| Mayores de 19 años | 30 µg |

| | |
|-------------------------|--------------|
| Madres lactantes | 40 µg |
| Adultos mayores | 35 µg |

Debido a su naturaleza hidrosoluble, la biotina no es almacenada en el cuerpo, es eliminada a través de la orina, es por eso que deben consumirse alimentos ricos en biotina como lo son, carnes rojas, huevo, leche, nuez, etc (Tong, 2017).

1.9.3 Absorción, metabolismo y eliminación de la biotina

La biotina que se encuentra en los alimentos se encuentra en conjunto con proteínas a través de un enlace amida conformado por el grupo carbonilo de la cola de ácido valérico de la biotina y el grupo amino del residuo de lisina en proteínas (Said, 2008). La forma unida a proteínas es transformada primeramente a la forma libre por acción de proteasas, produciendo residuos de lisina unidos covalentemente a la biotina (biocitina o biotinil-lisina) y péptidos pequeños unidos a biotina (Wolf *et al.*, 1985). Posteriormente, la biotinidasa pancreática corta el enlace semipeptídico y libera biotina libre de la biocitina y de los péptidos pequeños unidos a biotina (Said, 2008).

La biotina liberada, por lo general es absorbida por los enterocitos del duodeno (específicamente de la porción distal) y proximal del yeyuno circulando a través de un transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) el cual, se encuentra en el polo apical del enterocito. La porción de ácido valérico es reconocida por el SMVT y el grupo ureido de la biotina que en acción de un gradiente de sodio, transporta biotina en contra de un gradiente de concentración (Mock, 2013). La excreción de biotina del enterocito es por la membrana basolateral mediante un mecanismo regulado por un transportador, el cual es independiente de la concentración de sodio. En la sangre, la biotina se encuentra libre y solubilizada en la sangre o unida a proteínas (Mock, 2013).

El ingreso a las células de biotina es regulada por el SMVT, dentro de las células la biotina tiene una actividad como cofactor de carboxilasas, las cuales se sintetizan en el citosol como apocarboxilasas, estas carecen de actividad enzimática. La biotinilación (unión covalente de las apocarboxilasas y la biotina) produce su activación (Vilches y

Fernández, 2005). La holocarboxilasa sintetasa (HCLS) cataliza el proceso de biotinilación siguiendo el siguiente proceso:

Inicialmente, la hidrólisis de ATP activa a la biotina, lo que genera el compuesto biotinil-5'-AMP (B-AMP). Posteriormente, el B-AMP es usado en la transferencia de la biotina a un residuo de lisina específico, el cual se encuentra en una región altamente conservada en las carboxilasas (León, 2003). De esta manera, se produce un enlace covalente amida entre el grupo amino de un residuo de lisina específico y altamente conservado en todas las apocarboxilasas con grupo carboxilo del ácido valérico (Vilches y Fernández, 2005). La HCLS se ubica en el núcleo y en grandes proporciones en mitocondrias. Varios estudios indican que la HCLS tiene una actividad catalizadora en la biotinilación de proteínas como las histonas (Said, 2008). Cuando las carboxilasas ya no son requeridas tienen una proteólisis a liberando biotina. La biotina libre es reciclada y se usa en nuevas apocarboxilasas o se degrada formando productos derivados sin actividad y finalmente eliminarse por excreción. En mamíferos, se han observado vías importantes de catálisis de la biotina. En la ruta mayormente estudiada, la cadena de ácido valérico se degrada por la β -oxidación de ácidos grasos, lo que produce bisnorbiotina y bisnorbiotina metil cetona, que son excretados principalmente en la orina (Mock, 2013).

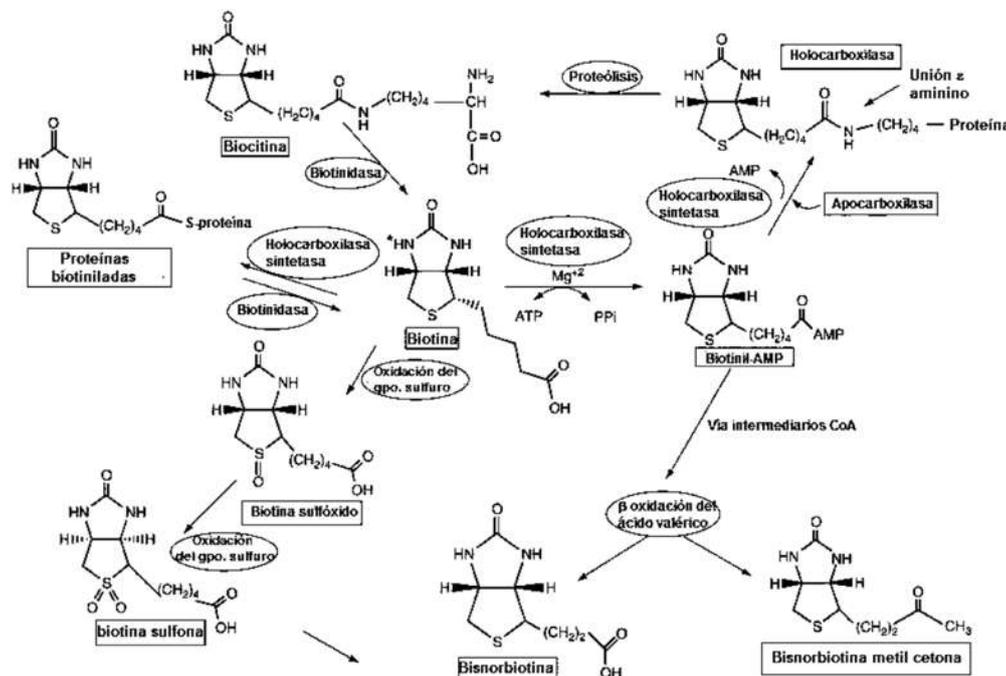


Figura 13. Metabolismo, función, degradación y reciclamiento de biotina en mamíferos. Las formas óvaladas señalan enzimas o actividades enzimáticas importantes, mientras que las formas rectangulares resaltan a la biotina y sus derivaciones, así como sustratos de otras rutas. ATP, adenosín trifosfato; AMP, adenosín monofosfato; PPI, pirofosfato inorgánico (Mock, 2013).

1.9.4 Función de la biotina como cofactor enzimático

La biotina tiene actividad como coenzima de carboxilasas (en todos los organismos), cuya actividad es vital para el mantenimiento celular y son cruciales en vías de regulación que son parte del metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos (Romero, 1999). La transferencia de un grupo carboxilo proveniente del bicarbonato a un sustrato aceptor es una característica de las reacciones mediadas por carboxilasas que dependen de biotina, ya que usan a la biotina como acarreador del grupo carboxilo (Alban *et al.*, 2000). Dichas reacciones catalizadas por las carboxilasas las cuales dependen de biotina se llevan a cabo en dos procesos, que desembocan en una catálisis conjunta (Romero, 1999; Alban *et al.*, 2000). Las carboxilasas cuya actividad depende de biotina (en mamíferos) son: la propionil-CoA carboxilasa (PCC), la metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC), la piruvato carboxilasa (PC), la acetil-CoA carboxilasa 1 (ACC1) y la acetil-CoA carboxilasa 2 (ACC2) (Mock, 2013). Tanto la ACC1 como la ACC2 catalizan la adición de bicarbonato al acetil-CoA para producir malonil-CoA. ACC1 se ubica en el citosol y genera malonil-CoA, que es el sustrato limitante de la velocidad de la lipogénesis (**Figura 14**).

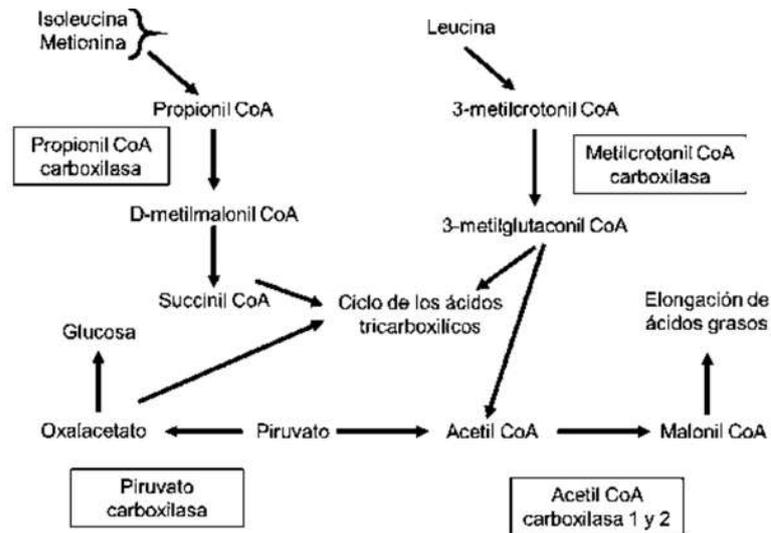


Figura 14. Esquema de la interrelación de las reacciones catalizadas por las carboxilasas dependientes de biotina. Las enzimas dependientes de biotina (carboxilasas) catalizan reacciones involucradas en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos (Mock, 2013).

ACC2 se encuentra en la membrana externa mitocondrial y regula la beta oxidación (oxidación de ácidos grasos) en la mitocondria debido a la inhibición del transporte de ácidos grasos por el malonil-CoA (Romero, 1999). La piruvato carboxilasa interviene en la adición de bicarbonato al piruvato formando así oxalacetato, el cual se considera como un intermediario del ciclo de Krebs convirtiéndose en glucosa a por acción de la gluconeogénesis en el hígado (Romero, 1999).

La MCC interviene en la degradación de la leucina. Finalmente, la PCC incorpora el bicarbonato al propionil-CoA produciendo metilmaloniCoA, para posteriormente convertirse en succinil-CoA (Mock, 2013).

1.9.5 Función de la biotina en la regulación de la expresión genética a concentraciones farmacológicas

Diversos estudios que involucran a los mamíferos han demostrado que, además de su actividad de cofactor de carboxilasas, la biotina a concentraciones farmacológicas modifica funciones biológicas importantes, incluyendo el metabolismo de carbohidratos y lípidos (Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012). También se ha señalado la

importancia del efecto de la sobre la regulación de la expresión génica (Fernández-Mejía y Lazo-de-la-Vega, 2011).

Se ha estudiado el efecto de la biotina sobre la expresión génica: a través de la regulación de la vía de señalización de la guanilato ciclasa soluble/proteína cinasa dependiente de GMPc (GCs/PKG) y la biotinilación de las histonas (**Figura 15**) (Rodríguez-Melendez y Zempleni, 2003; Vilches-Flores y Fernández-Mejía, 2005; Zempleni, 2005).

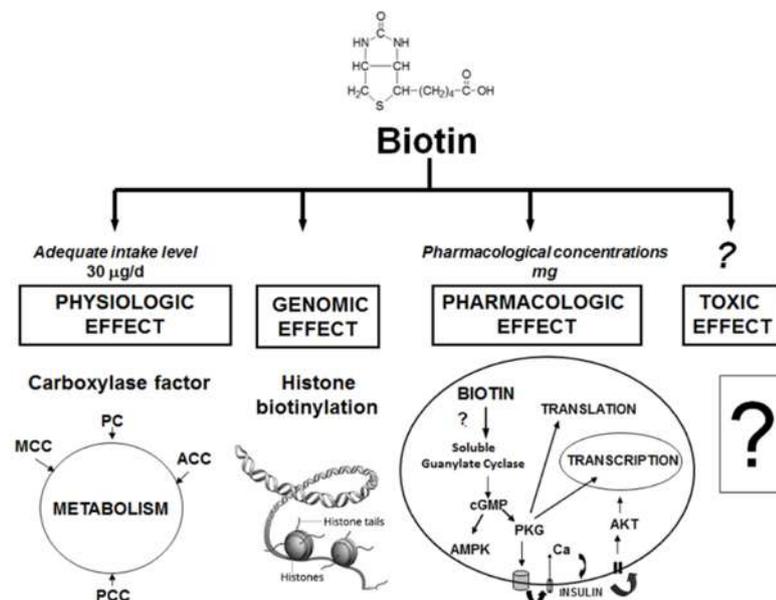


Figura 15. Múltiples acciones de la biotina. 1) La actividad metabólica de la biotina es actuar como transportador de carboxilo en las reacciones de carboxilación. 2) A nivel genómico, la biotinilación de histonas es una modificación natural, aunque rara. 3) La señalización de cGMP/PKG está involucrada en la transcripción y traducción. 4) Pocos estudios han abordado los efectos tóxicos del exceso de biotina. (Riverón y Fernández, 2017).

A) **Regulación de la vía de la guanilato ciclasa soluble:** por el momento, diversos estudios identifican como eslabones comunes del efecto de la biotina en el aumento en la actividad de la guanilato ciclasa (GCs) (Vesely, 1982), el aumento de la concentración de monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), y la actividad de la proteína cinasa G (PKG) (Solórzano *et al.*, 2002). Además, Solórzano-Vargas y colaboradores señalaron que el biotinil-5'-AMP, aumenta la actividad de la GCs por un mecanismo que aún no ha sido determinado. La activación de

la GCs genera un aumento de los niveles de GMPc y a la consiguiente activación de PKG, fosforilando e inhibiendo diversos procesos (Solórzano *et al.*, 2002).

B) La biotinylación de histonas: se refiere a la intervención (unión covalente) de la biotina a las proteínas que facilitan el empaquetamiento del ADN en los nucleosomas. Estudios en varios tipos celulares demuestran la unión de la biotina a diferentes residuos de lisina en las histonas (Peters *et al.*, 2002). Lo que sugiere que la biotinylación podría tener el potencial de modificar la expresión génica a nivel epigenético (Vilches-Flores y Fernández-Mejía, 2005). Varios estudios investigaron las vías de señalización y las acciones postranscripcionales mediante las cuales las concentraciones farmacológicas de biotina reducen la lipogénesis (Vilches-Flores y Fernández-Mejía, 2005; Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012); los resultados revelaron que la suplementación con biotina en la dieta durante 8 semanas aumentó los niveles de cGMP y AMPK activa en el hígado. En armonía con este efecto, disminuyó la abundancia de la forma madura de SREBP-1c y aumentó la forma fosforilada inactiva de acetil-CoA carboxilasa-1. De manera similar, en el tejido adiposo, tanto la forma activa de la proteína AMPK como la forma fosforilada inactiva de la acetil-CoA carboxilasa-1 aumentaron después de la suplementación con biotina (Aguilera-Méndez y Fernández, 2012).

1.9.5.1 Señalización a través de la vía AMPK

La biotina ha ganado atención en la investigación por su papel en la señalización a través de la vía AMPK, el cual es un regulador central del metabolismo energético en las células. La activación de AMPK es fundamental en condiciones de bajo suministro de energía, como el ejercicio y la restricción calórica, ya que promueve la utilización eficiente de nutrientes para la producción de energía (Zhang *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2014).

La biotina activa AMPK en varios tejidos, lo que influye en la regulación de la oxidación de ácidos grasos y la gluconeogénesis. Este proceso no solo favorece la utilización de glucosa, sino que también ayuda a reducir el almacenamiento de grasa al inhibir la síntesis de ácidos grasos y colesterol. Se ha observado que los tratamientos con biotina aumentan la expresión de proteínas involucradas en la oxidación de lípidos y la

captación de glucosa en tejidos como el hígado y el músculo esquelético (Shay *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2012).

Además de sus efectos sobre el metabolismo, la biotina contribuye a la protección celular a través de la vía AMPK. Esta vía favorece la expresión de genes antioxidantes, lo que ayuda a proteger a las células del daño oxidativo y regula la inflamación, factores implicados en el desarrollo de diversas enfermedades crónicas (Zhang *et al.*, 2012).

La señalización de la biotina a través de AMPK tiene implicaciones clínicas significativas. Su potencial para mejorar la función metabólica en condiciones de resistencia a la insulina y en trastornos metabólicos está siendo investigado, lo que sugiere que la biotina podría ser un nutriente esencial en la promoción de la salud metabólica y la prevención de enfermedades asociadas (Park *et al.*, 2014).

II. ANTECEDENTES DIRECTOS

Se han realizado diversos estudios preclínicos y clínicos que analizan los efectos de los nutraceuticos ácido lipoico y biotina en enfermedades neurodegenerativas.

En estudios realizados por Lovell *et al.* (2003), Se demostró que el ácido α -lipoico (AAL) (50 μ M) presenta propiedades antioxidantes y modula cascadas de señalización donde se presenta actividad toxicológica por exceso de hierro en pruebas realizadas *in vitro* en cultivos neuronales que presentaban una sobreexpresión del péptido β -amiloide esto producido por un exceso de cloruro ferroso (FeCl_3 a 18 μ M), esto llevó a considerar al AAL como un tratamiento potencial con efectos neuroprotectores. En 2010, Packer, Kraemer y Rimbach corroboraron, en estudios *in vivo* con células de córnea de *Mus musculus*, que el ácido lipoico tiene un efecto antioxidante significativo mediante su capacidad para eliminar radicales libres y quelar metales, participando así en diversas reacciones bioquímicas en situaciones donde el estado redox está alterado, como en enfermedades degenerativas.

En relación con enfermedades como la diabetes y la neurodegeneración, Ziegler y sus colaboradores llevaron a cabo ensayos clínicos en humanos en 2006, hallando que la administración oral o intravenosa de ácido lipoico mejora la velocidad de conducción

nerviosa y alivia síntomas neuropáticos como dolor, ardor, parestesia y entumecimiento. Hasta la fecha, el uso terapéutico del ácido lipoico en el tratamiento de polineuropatías diabéticas representa el beneficio mejor documentado y más significativo para la salud humana. Además, varias evidencias experimentales respaldan el papel del ácido lipoico como mitigador de la oxidación (Nagamatsu *et al.*, 2005).

En un estudio realizado por Nagamatsu y colaboradores, se observó que el AL protege a *C. elegans* de la toxicidad inducida por el estrés oxidativo, mejorando la supervivencia y reduciendo los marcadores de daño celular. Estas propiedades antioxidantes son esenciales para prevenir la muerte celular y mejorar la salud neuronal en condiciones de neurodegeneración (Nagamatsu *et al.*, 2005).

Investigaciones han utilizado *C. elegans* como modelo para estudiar enfermedades como el Alzheimer y el Parkinson. Por ejemplo, Zhang y colaboradores encontraron que el AL mejora la función neuronal en un modelo de Alzheimer inducido genéticamente. Los resultados mostraron que el tratamiento con AL redujo la acumulación de agregados proteicos asociados con la enfermedad, lo que sugiere que el AL puede mitigar los efectos patológicos del Alzheimer al mejorar la salud neuronal (Zhang, 2018). Además, el ácido lipoico ha mostrado beneficios en el comportamiento de los nematodos. Un estudio de Wang y colaboradores evidenció que los nematodos tratados con AL presentaban un mejor rendimiento en pruebas de memoria en comparación con los grupos de control, indicando que el AL no solo actúa como un antioxidante, sino que también tiene un impacto positivo en las funciones cognitivas (Li *et al.* 2020).

Por su parte, Gourgou y Hsu entrenaron nematodos con daño relacionado con Alzheimer en un laberinto en forma de T, evidenciando que el entrenamiento en memoria de trabajo prevenía la pérdida total de memoria (Gourgou & Hsu, 2021 A).

También se han realizado avances en potenciales tratamientos utilizando potentes antioxidantes, como el ácido lipoico de espinacas y epigallocatequina del té negro, observándose que la exposición a estos compuestos evitaba la pérdida de memoria en nematodos, manteniendo un comportamiento normal, medido por el índice de decisión mediado por la memoria a corto plazo (Lim *et al.*, 2013).

La modulación de las vías de señalización celular también juega un papel importante en los efectos neuroprotectores del ácido lipoico. Investigaciones recientes, como la de Feng y colaboradores, indican que el AL activa la vía AMPK (proteína quinasa activada por AMP) en *C. elegans*, lo que lleva a una mayor expresión de genes protectores contra el estrés oxidativo. Esta modulación puede ser clave para mejorar la resistencia celular y prevenir la neurodegeneración (Feng *et al.* 2021).

En cuanto a la biotina, un estudio realizado en 2016 por Sedel y colaboradores observó que pacientes con neuropatías ópticas y leuco encefalopatías respondieron clínicamente a la terapia con biotina. Posteriormente, a estos pacientes se les diagnosticó esclerosis múltiple progresiva secundaria, y se administraron dosis de biotina (100-300 mg/día), observando mejoras en todos los participantes. Esto sugiere que la suplementación con biotina podría representar una opción terapéutica en la esclerosis múltiple progresiva, posiblemente al aumentar la producción de mielina a través de la generación de ácidos grasos de cadena larga (p. ej., mediante sus efectos sobre ACC1) y mejorar la producción de energía a través del ciclo del ácido tricarbóxico en células neuronales (Sedel *et al.*, 2011; Sedel *et al.*, 2016).

Además, diversos estudios han demostrado que la administración de biotina en dosis farmacológicas tiene efectos hipoglucemiantes e hipotriglicéridémicos en pacientes (Revilla *et al.*, 2006; Hemmati *et al.*, 2013; Albarracín *et al.*, 2007) y en modelos murinos (Sahin *et al.*, 2013). Aguilera y sus colaboradores (2018) también evidenciaron que la biotina puede ejercer un efecto protector en algunas enfermedades asociadas al síndrome metabólico, mejorando el estrés oxidativo hepático y demostrando un potencial efecto antioxidante, especialmente ante la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS).

En 2021, Quijano y su equipo estudiaron el comportamiento de nematodos genéticamente modificados, donde se observaron daños en proteínas cerebrales, lo que resultó en pérdida de memoria y comportamiento anómalo, emulando síntomas similares a los del Alzheimer (Quijano, 2021).

La investigación sobre el uso de *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) como modelo para estudiar la neurodegeneración y el papel de la biotina ha tomado impulso en los últimos años. Este organismo modelo ha sido ampliamente utilizado debido a su

simplicidad genética y facilidad de manipulación. Estudios recientes han sugerido que los metabolitos bacterianos pueden tener efectos neuroprotectores en *C. elegans*, lo que implica que ciertos nutrientes, como la biotina, podrían ser cruciales para la salud neuronal (Sarkar *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2021).

Un aspecto crítico en muchas enfermedades neurodegenerativas es el estrés oxidativo, que causa daño celular y contribuye a la muerte neuronal. Investigaciones han utilizado *C. elegans* para entender cómo el estrés oxidativo inducido por metales pesados puede llevar a la neurodegeneración. En estos modelos, se ha observado que compuestos antioxidantes pueden atenuar el daño celular, sugiriendo que la biotina, como antioxidante, podría tener un efecto protector (Feng *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2019).

La biotina está implicada en varias vías metabólicas que son fundamentales para la salud neuronal. Se ha demostrado que mejora la producción de mielina y aumenta la generación de energía en las células neuronales. Esto es especialmente relevante en condiciones como la esclerosis múltiple, donde la mielinización es esencial para la función neuronal adecuada (Sedel *et al.*, 2016; Aguilera *et al.*, 2018). Además, estudios recientes han utilizado nematodos modificados genéticamente para replicar características de enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer. En estos modelos, se ha comprobado que la administración de biotina podría influir positivamente en la salud neuronal al mejorar la respuesta antioxidante y mitigar el daño oxidativo. La biotina también ha mostrado efectos en la regulación del metabolismo lipídico, que es crucial en la neurodegeneración (Quijano, 2021; Gourgou & Hsu, 2021 B).

Finalmente, la investigación en *C. elegans* proporciona una plataforma valiosa para evaluar el potencial terapéutico de la biotina en enfermedades neurodegenerativas. A medida que se avanza en la comprensión de sus mecanismos de acción, la biotina podría ser considerada como una opción prometedora en la prevención y tratamiento de trastornos neurodegenerativos.

III. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas son padecimientos con una alta incidencia y prevalencia en el mundo y representan un gran problema de salud y económico, por la

larga duración y la incapacidad que provoca en las personas que la padecen. Las farmacéuticas han sintetizado compuestos, que hasta el momento no son totalmente eficaces y todos a largo plazo tienen repercusiones secundarias en el paciente. Por lo que es imprescindible buscar alternativas naturales, de bajo costo y con pocos o nulos efectos secundarios que ayuden en la prevención y tratamiento eficaz de estas enfermedades. El uso de nutracéuticos puede ser un alternativa eficaz y segura, ya sea en monoterapia o como coadyuvantes en los tratamientos actuales y disminuir los efectos secundarios y el costo, destacando el ácido lipoico y la biotina, que a concentraciones farmacológicas muestran efectos terapéuticos en diversas enfermedades, lo que las convierte en moléculas de interés para la prevención y tratamiento de la neurodegeneración. El modelo biológico de *Caenorhabditis elegans*, es un excelente modelo para el estudio de enfermedades neurodegenerativas, ya que por su facilidad de manejo y su homología en una gran cantidad de genes con el ser humano y por lo tanto en procesos metabólicos, lo hacen excelente para el estudio de mecanismos neuroprotectores. Por lo que, en este trabajo se propone estudiar el efecto de la biotina y el ácido lipoico como nutracéuticos neuroprotectores, que pudieran tener un efecto benéfico potenciado, ya que hasta el momento no se ha estudiado su efecto sinérgico en enfermedades crónico degenerativas y especialmente en las neurodegenerativas.

IV. HIPÓTESIS

La combinación de ácido lipoico y biotina potencian sus propiedades neuroprotectoras en *Caenorhabditis elegans*.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo principal

Evaluar el efecto neuroprotector de la combinación del ácido lipoico y la biotina en *Caenorhabditis elegans*.

5.2 Objetivos específicos

1. Analizar los niveles de absorción del ácido lipoico y la biotina en *C. elegans*.

2. Evaluar el efecto del ácido lipoico y la biotina en la sobrevivencia y longevidad de *C. elegans*.
3. Evaluar el efecto del ácido lipoico y la biotina ante estrés oxidante en *C. elegans*.
4. Determinar el efecto neuroprotector del ácido lipoico y la biotina en la conducta y aprendizaje de *C. elegans*.

VI. METODOLOGÍA

6.1 Material biológico

Las cepas utilizadas en este proyecto de *Caenorhabditis elegans* fueron adquiridas en el Centro de Genética *Caenorhabditis* (CGC) de la Universidad de Minnesota, St. Paul.

Tabla 5. Características de las cepas de *C. elegans* a utilizar.

| <i>Cepa</i> | <i>C. elegans</i> | Actividad | Ortólogo en mamíferos |
|---------------|---|---|------------------------------------|
| N2 | Silvestre Bristol | ----- | ----- |
| CF1038 | Mutante nula en el factor transcripcional daf-16 | Disminuye la longevidad del nematodo | FOXO-1 |
| MQ1766 | Mutante nula en la actividad de superóxido dismutasa | Disminuye la actividad antioxidante respecto a SOD en el nematodo | SOD-1, SOD-2, SOD-3 Y SOD-4 |
| TJ401 | Mutante recesiva en age-1 | Incrementa la longevidad del nematodo | PI3K |

6.1.1 Cultivo y mantenimiento de la cepa OP50 de *Escherichia coli*

Para la alimentación de las cepas de *C. elegans*, se utilizó la cepa *Escherichia coli* OP50, la cual fue crecida en medio Luria Bertani líquido (NaCl, peptona de caseína y extracto de levadura a 1M) a 25°C en agitación por 24 horas. Para su almacenamiento la *E. coli* OP50 fue crecida en una placa de medio Luria Bertani sólido (NaCl, peptona de caseína, extracto de levadura y agar a 1 M) a 35°C por 12 horas, posteriormente fue pasada a 1mL de glicerol y congelada a -20°C.

6.1.2 Cultivo y mantenimiento de cepas de *C. elegans*

Se preparó el medio NGM (Nematode Growth Medium), se tomó como referencia el protocolo propuesto por el Caenorhabditis Genetics Center (CGC) de la Universidad de Minnesota (NaCl, peptona de caseína, KH₂PO₄, K₂HPO₄, Colesterol y agar a 1M) el cual se inoculó con *E. coli* OP50. Se incubaron las placas de medio NGM + *E. coli* OP50 a 18 °C por 24 horas para posteriormente colocar las cepas de *C. elegans* y dejarlas incubando a 20°C para su reproducción (Fierro *et al.*, 2017).

Los nemátodos fueron sincronizados con una solución de hipoclorito de sodio una condición en la que solo los huevecillos pueden sobrevivir, los cuales se lavaron con una solución buffer M9 (NaCl, KH₂PO₄, Na₂HPO₄, MgSO₄ a 1M). Después de la sincronización, los nematodos se pasaron placas de medio NGM + *E. coli* OP50 suplementadas con las condiciones de estrés y los tratamientos pertinentes.

6.2 Administración del ácido lipoico y la biotina en *C. elegans*

Se determinó la concentración óptima y la absorción de estos nutraceuticos en el nematodo, ya que es importante conocer la cantidad que absorben del medio. Se preparó medio NGM (sólido) y medio M9 (líquido) al cual se le adicionaron diferentes concentraciones de biotina y ácido lipoico de manera individual y en combinación, tal como se muestra en la tabla 5, los cuales partieron de concentraciones mencionadas en otros trabajos donde se utilizaron estos nutraceuticos en el nematodo con otra finalidad. Posteriormente, se colocaron aproximadamente 10,000 nematodos de la cepa N2 en ambos medios (NGM y M9), se incubaron por 48 h a 20 °C. Transcurrido este tiempo se determinó el comportamiento motriz y de respuesta a estímulos de 30

nematodos adultos de cada tratamiento, registrándose el porcentaje de sobrevivencia y morfología. El resto de los nematodos de cada tratamiento se recolectaron y lavaron al menos tres veces con agua destilada estéril, finalmente centrifugados y lisados para cuantificar la cantidad de biotina y ácido lipoico absorbidos, que se determinaron por HPLC. Los ensayos se realizaron por triplicado en un diseño aleatorio. Se seleccionaron los tratamientos con la mayor correlación positiva entre porcentaje de comportamiento normal y absorción de biotina y ácido lipoico, los cuales se utilizaron en los ensayos posteriores.

Tabla 6. Concentraciones de biotina y ácido lipoico administradas en *C. elegans*

| Tratamiento | Biotina (nM) | Tratamiento | Ácido lipoico (mM) |
|-------------|--------------|-------------|--------------------|
| T0 | 0 | T0 | 0 |
| T1 | 50 | T1 | 0.1 |
| T2 | 100 | T2 | 0.5 |
| T3 | 150 | T3 | 1.0 |

6.3 Absorción de biotina y ácido lipoico en *C. elegans*

La cuantificación de biotina se determinó por cromatografía líquida de alta eficacia (por sus siglas en inglés, HPLC, High Performance Liquid Chromatography). Para la preparación de la curva estándar se pesó 0.01 g de biotina (Sigma Aldrich®) la cual se disolvió en una solución de NaOH (1 N) en donde se tuvieron 7 concentraciones para la curva estándar (1.5 µg/mL, 3 µg/mL, 6 µg/mL, 9 µg/mL, 15 µg/mL, 20 µg/mL y 25 µg/mL). En el caso de *C. elegans* se pesaron 0.3-0.5 g por tratamiento y se aforaron a 10 mL con una solución de NaOH, se mezclaron en el vórtex, se sonicaron por 20 minutos, se centrifugaron, micro filtraron y se colocaron en 1.5 mL del sobrenadante en viales para HPLC. La cromatografía fue en una columna de C18 (150x4.6 mm), las condiciones fueron: temperatura de la columna, 25°C, el flujo 1 mL/min, longitud de onda de 200-210 nm, la inyección de 20 µL, el tiempo de corrida 25 min, la fase móvil del *buffer* de Na₂HPO₄ a 10 mM.

En el caso de la cuantificación de ácido lipoico también se determinó por HPLC. Para la preparación de la curva estándar se pesó 0.008 g de ácido lipoico (Sigma Aldrich®) la cual se disolvió en una solución de H_3PO_4 (2N) en donde se tuvieron 5 concentraciones para la curva (8 $\mu\text{g/mL}$, 16 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$, 80 $\mu\text{g/mL}$, y 560 $\mu\text{g/mL}$).

Para el *C. elegans* se pesaron 0.3-0.5 g por tratamiento y se aforaron a 10 mL con una solución de H_3PO_4 , se mezclaron en el vortex, se sonicaron por 20 minutos, se centrifugaron, micro filtraron y se colocaron en 1.5 mL del sobrenadante en viales para HPLC. Las condiciones de cromatografía fueron: una columna C18 de 150x4.6 mm, temperatura de la columna 25°C, un flujo de 1 mL/min, una longitud de onda de 335-337 nm, una inyección 20 μL , un tiempo de corrida 25 min, una fase móvil de *buffer* de Na_2HPO_4 a 10 mM.

6.4 Efecto del ácido lipoico y la biotina en la sobrevivencia y la longevidad en *C. elegans*

Se determinó el efecto del ácido lipoico y la biotina en la sobrevivencia y longevidad de *C. elegans* ante un estrés oxidativo artificial (en sobrevivencia) y metabólico (en longevidad).

6.4.1 Ensayo de sobrevivencia en *C. elegans*

Para evaluar el efecto protector ante el estrés oxidativo generado por la exposición al H_2O_2 , se estableció un diseño de dos factores, siendo el factor A los tratamientos seleccionados de biotina y ácido lipoico (ensayo descrito en el apartado 6.2) y el factor B la concentración de H_2O_2 (20 mM). Se tomaron 20 nematodos de la cepa N2, por tratamiento se colocaron en microplacas de 24 pozos y se adicionaron las diferentes concentraciones de H_2O_2 . Se registró la sobrevivencia de los nematodos cada hora por un lapso de 6 horas de acuerdo con el protocolo establecido por Rubio-Landa en 2017. Se calculó la CL_{10} , CL_{50} y CL_{90} para cada tratamiento. Se realizaron 3 ensayos independientes con tres replicas cada uno.

6.4.2 Ensayo de longevidad en *C. elegans*

Los ensayos de longevidad de *C. elegans* se llevaron a cabo siguiendo el protocolo de Shapira y colaboradores (2008) con algunas modificaciones, destacando el uso de

Fluorodeoxiuridina (FUdR) a 0.6 mM (Sigma F0503), comúnmente utilizado para esterilizar a *C. elegans* y mantener una población de nemátodos envejeciendo de forma sincronizada durante los primeros 6 días de vida (etapa L4), el cual fue adicionado en el medio NGM+ *E. coli* OP50, en donde se sembraron nemátodos sincronizados según lo descrito en el apartado 6.1, con las concentraciones seleccionadas previamente de biotina (150 nM) y ácido lipoico (0.1 mM). Se diseñó un experimento con dos factores: el factor A corresponde a los tratamientos seleccionados de biotina y ácido lipoico y el factor B a la ausencia o presencia de glucosa (80 mM). Para este ensayo, se emplearon las cepas N2, CF1038, MQ1766 y TJ401, considerándose cada una como un ensayo independiente.

Los nemátodos de las diferentes cepas y tratamientos establecidos se incubaron a 20 °C, registrándose diariamente el porcentaje de supervivencia hasta la muerte total de la población (aproximadamente 35 días). Se consideraron muertos los nemátodos que no respondían a estímulos repetidos. Se elaboraron curvas de cinética poblacional para las diferentes cepas y se realizó un análisis comparativo entre el comportamiento de la cepa silvestre N2 y las distintas mutantes.

6.5 Ensayos en *C. elegans* de sobrevivencia al estrés oxidativo inducido por altas concentraciones de glucosa

El segundo tipo de estrés oxidativo se realizó al incubar a los nematodos en un medio NGM conteniendo una concentración de 80 mM de glucosa, la cual se ha demostrado genera un estrés oxidativo metabólico al saturar a la mitocondria de sustratos generados en el catabolismo de altos niveles de glucosa (Guzmán, 2019). Se sembraron nemátodos sincronizados como se describió en el apartado 6.1 con las concentraciones de biotina y ácido lipoico seleccionadas previamente (ensayo descrito en el apartado 6.2). Se estableció un diseño de dos factores, siendo el factor A los tratamientos seleccionados de biotina y ácido lipoico y el Factor B la presencia de glucosa (0 y 80 mM). Para este ensayo se utilizaron las cepas N2, CF1038, MQ1766 y TJ401, los cuales se consideraron como ensayos independientes.

Los nematodos de las diferentes cepas y de cada uno de los tratamientos que fueron establecidos, se incubaron a 20 °C, registrándose el porcentaje de sobrevivencia de los

nematodos diariamente hasta la muerte del total de la población (35 días). Los nematodos que no se movieron después de estímulos repetidos se consideraron muertos. Se elaboraron curvas de cinética poblacional para las diferentes cepas y se realizó un análisis comparativo entre el comportamiento de la cepa silvestre N2 con respecto a las diferentes mutantes.

A partir de la cepa N2, se determinó el tiempo letal 20, 50 y 80 para los medios con y sin glucosa. Se incubaron nuevamente los nematodos de la cepa N2 y se colectaron en los tiempos calculados (TL₂₀, TL₅₀ y TL₈₀), se lavaron los nematodos colectados con medio M9 y se lisaron para la determinación de parámetros: actividad de las enzimas antioxidantes: catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión total (GLUT), glutatión oxidado (GSSG) y glutatión reducido (GSH).

6.6 Efecto del ácido lipoico y la biotina en los parámetros morfológicos de *C. elegans*

Se evaluó el efecto del ácido lipoico y la biotina en la morfología de *C. elegans* por medio de tres parámetros: volumen, contenido de proteína total y contenido de triacilglicéridos.

6.6.1 Cuantificación del volumen en *C. elegans*

Se utilizaron aproximadamente 100 nematodos adultos sincronizados de las cepas N2, CF1038, MQ1766, y TJ401, se sembraron en placas de 60 mm de medio NGM suplementado con glucosa 80 mM, además de la mezcla de tratamientos (biotina, ácido lipoico y combinación), se incubaron a 18° durante 48 horas. Se realizó un análisis morfológico utilizando el software FIJI (20 nemátodos por tratamiento), en donde se obtuvieron medidas del largo y dos medidas del ancho para tener volumen con la siguiente fórmula:

Para volumen:

$$v = \frac{(longitud)(diámetro)^2}{1.7}$$

6.6.2 Cuantificación de proteína en *C. elegans*

La concentración de proteína en los nematodos se determinó por el método de Biuret en el cual se preparó un reactivo compuesto por sulfato de cobre (CuSO₄), hidróxido de sodio (NaOH) y tartrato sódico-potasio. Se mezcló una alícuota de 10 µL de la muestra con 200 µL de desoxicolato de sodio para desnaturalizar la muestra y se dejó reaccionar durante 30 minutos a temperatura ambiente para permitir la formación del complejo violeta entre los enlaces peptídicos y los iones cúpricos en medio alcalino. Posteriormente, se midió la absorbancia de la solución a 540 nm utilizando un espectrofotómetro. La concentración de proteínas se calculó comparando la absorbancia obtenida con una curva estándar construida previamente, utilizando una proteína de referencia como la albúmina sérica bovina, la cual se representó como proteína total (mg/mL) (Gornall *et al.*, 1949). Posteriormente, se realizaron los cálculos correspondientes para ajustar el volumen empleado en la determinación de la actividad de las enzimas antioxidantes: catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), glutatión total (GLUT), glutatión oxidado (GSSG) y glutatión reducido (GSH).

6.6.3 Cuantificación de triacilglicéridos en *C. elegans*

La cuantificación de triacilglicéridos en *C. elegans* se llevó a cabo en el organismo completo, adaptando el protocolo descrito por Aguilera *et al.* (2012). Se emplearon muestras con una concentración equivalente a 50 µg de proteína por µl. A cada muestra se le adicionó 1 mL de solución de PBS con Tritón X-100 al 5%. Posteriormente, las muestras fueron sometidas a ultrasonido a 60 °C durante 5 minutos y luego enfriadas a temperatura ambiente. Para finalizar, se centrifugaron a 13,300 rpm durante 15 minutos, y el sobrenadante obtenido fue utilizado para medir la concentración de triacilglicéridos siguiendo las indicaciones del kit comercial Spinreact (Sant Esteve de Bas, España). Los resultados se expresaron en microgramos de triacilglicéridos por miligramo de proteína total (µg TAG/mg proteína total).

6.7 Efecto del ácido lipoico y la biotina en parametro bioquimicos/ enzimáticos en *C. elegans*

Se evaluó el efecto del ácido lipoico y la biotina en parámetros bioquimicos / enzimáticos en *C. elegans* como son Niveles de especies reactivas de oxígeno, actividad

de la enzima catalasa, actividad en la enzima superóxido dismutasa y niveles de glutatión (total, oxidado, reducido y la relación entre oxidado y reducido).

6.7.1 Cuantificación de especies reactivas de oxígeno

Se determinó mediante el método de la diclorofluoresceína-diacetato (H_2 -FC-DA), colorante no fluorescente permeable a la membrana. Después de la exposición en los tratamientos con los nutracéuticos y los factores correspondientes A) Factor daño (80 mM de glucosa) y B) factor de preacondicionados en los diferentes tratamientos de biotina y ácido lipoico (como se menciona en el apartado 6.2), durante 48 horas a 20°C, los nematodos se lavaron con buffer M9 ($NaCl$, KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , $MgSO_4$ 1M) tres veces para eliminar la bacteria *E. coli* OP50, después se adicionaron 50 μ L de la suspensión de nematodos y se dejó equilibrar a temperatura ambiente, inmediatamente se añadió la H_2 -FC-DA (10 mM) y buffer de fosfatos (KH_2PO_4 , K_2HPO_4) incubando durante 15 minutos a 5°C en hielo y se midió la fluorescencia basal en un espectrofotómetro UV-Vis Perkin-Elmer Lambda 18 a 520 nm. Posteriormente se mantuvieron en un agitador a 20°C durante 60 minutos y se midió nuevamente la fluorescencia y se representó en unidades de absorbancia por miligramo de proteína (UA/mg de proteína).

6.7.2 Determinación de la actividad enzimática de catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD)

La actividad de la catalasa (CAT) se evaluó mediante polarografía, midiendo la conversión de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno molecular (O_2) utilizando un electrodo de oxígeno tipo Clark conectado a un monitor biológico de oxígeno durante un lapso de 3 minutos (Zigman et al., 1998). Los resultados se expresaron en unidades de actividad de CAT, calculadas con base en una curva estándar de catalasa (Sigma 9001-05-2), siguiendo la metodología descrita por Guzmán Hernández (2019). La actividad se reportó como unidades de catalasa (U*mg de proteína).

Por otro lado, la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) se determinó empleando un kit comercial para su análisis (Sigma Aldrich, 19160). Este método se basa en la evaluación de la actividad enzimática mediante un análisis colorimétrico, utilizando la sal de tetrazolio soluble en agua WST-1 (sal monosódica (2(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolio). La sal experimenta un cambio de color al ser reducida

por el anión superóxido; sin embargo, este proceso es inhibido por la SOD, que cataliza la dismutación del anión superóxido, evitando que reaccione con la sal. Las lecturas se realizaron a una longitud de onda de 450 nm empleando un lector de microplacas Multiskan Go (Thermo Scientific). La actividad de SOD se reportó como unidades de SOD (U*mg de proteína).

6.7.3 Determinación de glutatión total, glutatión reducido (GSH) y glutatión oxidado (GSSG)

La medición de los niveles de glutatión se realizó siguiendo el protocolo descrito por Rahman *et al.* (2006). Se utilizó el reactivo de Ellman, DTNB (ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico), que reacciona con el GSH formando un producto con máxima absorción a 412 nm. Para cada experimento, se construyó una curva de calibración utilizando GSH. El procedimiento consistió en tomar 100 μ L del sobrenadante de los nematodos (según el apartado 6.6.2), los cuales se suspendieron en una solución de ácido sulfosalicílico al 0.6%, Tritón X al 0.1% y un buffer fosfato-EDTA 5 mM, pH 7.5. Las muestras fueron sometidas a sonicación en hielo tres veces y luego congeladas a -86 °C. Posteriormente, se centrifugaron a 8,000 rpm durante 10 minutos, y se tomó 100 μ L del sobrenadante que se mezcló con 700 μ L de buffer fosfato.

Para la medición, se preparó una mezcla con volúmenes iguales de DTNB (Sigma D-8130) y glutatión reductasa (GR) (Sigma G-3664), y se añadieron 120 μ L de esta mezcla a las muestras. Las muestras se incubaron durante 30 segundos para permitir la conversión de GSSG a GSH. A continuación, se agregaron 60 μ L de β -NADPH (Sigma N-7505) y se midió la absorbancia a 412 nm durante 5 minutos en un espectrofotómetro UV/Vis Perkin-Elmer Lambda 18.

Para evaluar los niveles de glutatión oxidado (GSSG), se añadieron 2 μ L de 2-vinilpiridina al 1:10 para derivatizar el glutatión reducido (GSH), permitiendo que la reacción ocurriera durante 1 hora a temperatura ambiente y en oscuridad. Luego, se añadió trietanolamina 1:6 durante 10 minutos para neutralizar la mezcla, y se procedió a medir la absorbancia de la muestra siguiendo el mismo protocolo.

La medición de los niveles de glutatión total se llevó a cabo mediante el método espectrofotométrico modificado de Griffith (1980), que es un ensayo cinético en el que las cantidades catalíticas de glutatión reducido (GSH) provocan la reducción del DTNB a ácido 5-tio-nitrobenzoico (TNB), el cual se detecta a 412 nm. Después, el GSSG formado se recicla en presencia de glutatión reductasa y NADPH. Los niveles de GSSG se calcularon por derivatización del GSH con vinilpiridina, y la diferencia entre los valores obtenidos permitió calcular los niveles de GSH. Los resultados se presentaron como (nmol/mg de proteína), incluyendo las concentraciones de glutatión total, reducido y oxidado.

6.8 Efecto del ácido lipoico y la biotina en el comportamiento y motilidad de *C. elegans*

6.8.1 Memoria condicionada por alimento (quimiotaxis)

Para evaluar el aprendizaje y la memoria asociativa de trabajo en los nematodos se realizó un análisis de la memoria a corto plazo a partir del índice de quimiotaxis a nivel poblacional de acuerdo a Munasinghe *et al.* en 2021. Se usaron 300 nematodos sincronizados en donde se tomaron en cuenta dos factores: A) Factor daño (80 mM de glucosa) y B) factor de preacondicionados en los diferentes tratamientos de biotina y ácido lipoico (como se menciona en el apartado 6.2). Tras entrar en contacto con factor A y B, se procedió a dividir en dos en grupo, donde el grupo 1 tendrá un entrenamiento que consistió en poner en contacto a diferentes concentraciones de sal (25uM, 50uM, 100uM) + *E. coli* OP50 (acondicionamiento de alimento) por 6 horas a una temperatura de 18°C. En el caso del grupo 2 solo se incubaron en placas con *E. coli* OP50 por 6 horas a una temperatura de 18°C. Transcurrido el tiempo ambos grupos fueron incubados por 1h en una caja de Petri con NGM sin alimento. Posteriormente, fueron transferidos a una caja con NGM en la cual en un extremo se coloca un disco de agar con 0 µM de cloruro de sodio y en otro extremo un disco con 150 µM de cloruro de sodio, en donde por densidad se generó un gradiente salino de acuerdo al esquema mostrado en la **Figura 12**. Se añadió 1 µL de azida de sodio (NaN₃, 2 M) a los puntos donde se encontraban los discos con sal. Los nematodos se incubaron 1h en esta caja de aprendizaje o acondicionamiento, en donde el objetivo es que asocien la

concentración salina a la que fueron entrenados con la presencia de alimento, se registrará el número de nematodos en cada extremo de la caja, lo cual representa el índice de quimiotaxis.

El índice de quimiotaxis (IQ) se calculó como:
$$IQ = \frac{[(\text{Número de nematodos en gradiente salino en un diámetro de 2cm}) (\text{Número de nematodos en extremo contrario en un radio de 2cm})]}{(\text{Número total de nematodos})}$$

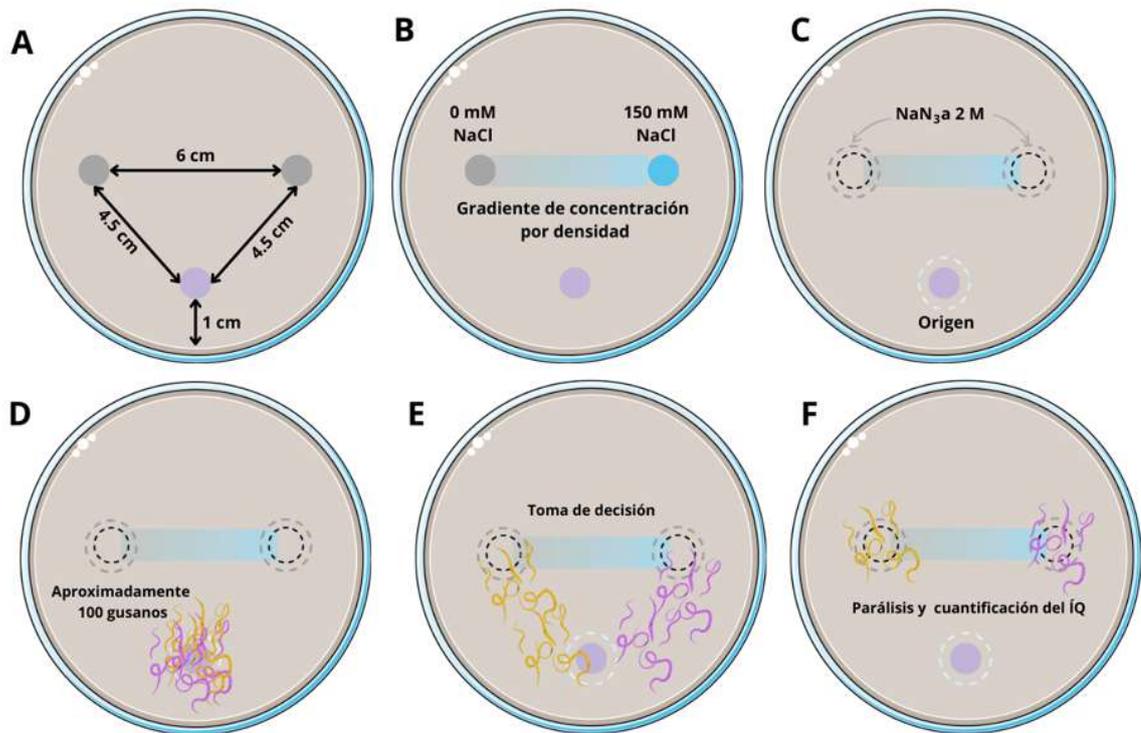


Figura 17. Diseño del ensayo de quimiotaxis. (A) caja de prueba de quimiotaxis con puntos marcados para el origen de los nematodos (abajo), Concentración salina de 0 μM y 150 μM (izquierda y derecha respectivamente). (B) Se añade 1 μl de azida de sodio (NaN_3 a 2 M) a los puntos donde se encontraban los discos con sal. (C) Se retiran los discos de sal. (D) Se agregan al origen los nematodos preacondicionados con biotina y ácido lipoico. (E) liberación de los nematodos (F) Los nematodos se mueven a lugares donde la concentración salina es similar respecto a su entrenamiento y se paralizan para realizar el conteo (modificado de Munasinghe *et al.*, 2021).

6.8.2 Efecto del ácido lipoico y la biotina en la motilidad en *C. elegans*

Cinco días después del tratamiento con glucosa, se colectaron los gusanos en solución M9 y se centrifugaron a 1500 rpm durante 1 min. Se eliminó el sobrenadante y se repitió el proceso hasta eliminar a *E. coli* OP50 de la muestra. Después del lavado, los nematodos se suspendieron en 500 µL de M9 y se transfirió 10 µl de la muestra en una placa con medio NGM a temperatura ambiente. Se dejó aclimatar a los nematodos durante 15 segundos y se contó el número de golpes por un minuto utilizando un contador manual. Se utilizaron 20 nematodos por tratamiento, con tres réplicas. Para el análisis de la velocidad y tipo de nado, se grabaron vídeos de 20 gusanos por tratamiento, registrando el movimiento de nematodos individuales en un trayecto de 5 mm de longitud. Estos videos se procesaron en Fiji ImageJ (versión 2.0.0) a una velocidad de fotogramas de 30 fps en formato.av. Se midieron la longitud y amplitud de la ondulación en este trayecto para la comparación del comportamiento de las poblaciones a partir de los centroides.

6.9 Conversión de dosis de ácido lipoico y biotina equivalente en humanos

Para saber las concentraciones equivalentes de los nutraceuticos que se utilizaron en este proyecto, se utilizó la ecuación de dosis equivalente (HED) utilizada por Morales *et al.*, 2011:

$$\text{HED (mg/kg)} = \left(\frac{\text{Dosis en animal}}{\text{mg/kg}} \right) \left(\frac{\text{Animal km}}{\text{Humano km}} \right)$$

Dónde:

$$\text{km de animal} = \frac{\text{Peso corporal del animal (kg)}}{\text{Área de superficie corporal (BSA) (m}^2\text{)}} \quad \text{km de humano (70 kg)} = 39 \text{ kg/m}^2$$

6.10 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos fueron realizados en el programa Statistica (ver 10. StatSoft, Inc. USA) e incluyen ANOVA multifactorial, prueba de medias, chi cuadrado, análisis

de correlación, análisis de componentes principales, análisis de sobrevivencia de Kaplan Meier, prueba de K-medias (motilidad), con un análisis post hoc Tuckey de una vía (P= 0.05).

El análisis de componentes principales permite simplificar datos. Toma un conjunto grande de variables y las combina en un grupo más pequeño de nuevas variables llamadas componentes principales, que resumen la mayor parte de la información importante. Esto ayuda a identificar patrones, reducir redundancias y facilitar la visualización de datos complicados en gráficos más simples.

VII. RESULTADOS

7.1 Efecto del ácido lipoico en la sobrevivencia de *C. elegans* (CL_{10} , CL_{50} Y CL_{90})

La concentración letal (CL) es un término utilizado en toxicología para describir la concentración de una sustancia que causa un efecto letal en un determinado porcentaje de organismos expuestos durante un período de tiempo específico. En el caso del ácido lipoico en la **Figura 18** se puede observar una disminución en el porcentaje de sobrevivencia a medida que se aumenta la concentración de ácido lipoico (0.1 mM, 0.5 mM y 1.0 mM), se puede observar que la CL_{10} corresponde a 1.19 mM, la CL_{50} corresponde a 2.85 mM y la CL_{90} corresponde a 4.52 mM. En las 3 concentraciones sugeridas (0.1 mM, 0.5 mM y 1.0 mM) se observa que se encuentran dentro la CL_{10} , dando un marco de seguridad para el uso de las mismas en este proyecto. En el caso del tratamiento 1 correspondiente a 0.1 mM se observa un porcentaje de sobrevivencia del 95%, para el tratamiento 2 con la concentración de 0.5 mM se observa un 93% de sobrevivencia y para el tratamiento 3 correspondiente a la concentración 1.0 mM se observa un 90.9% de sobrevivencia.

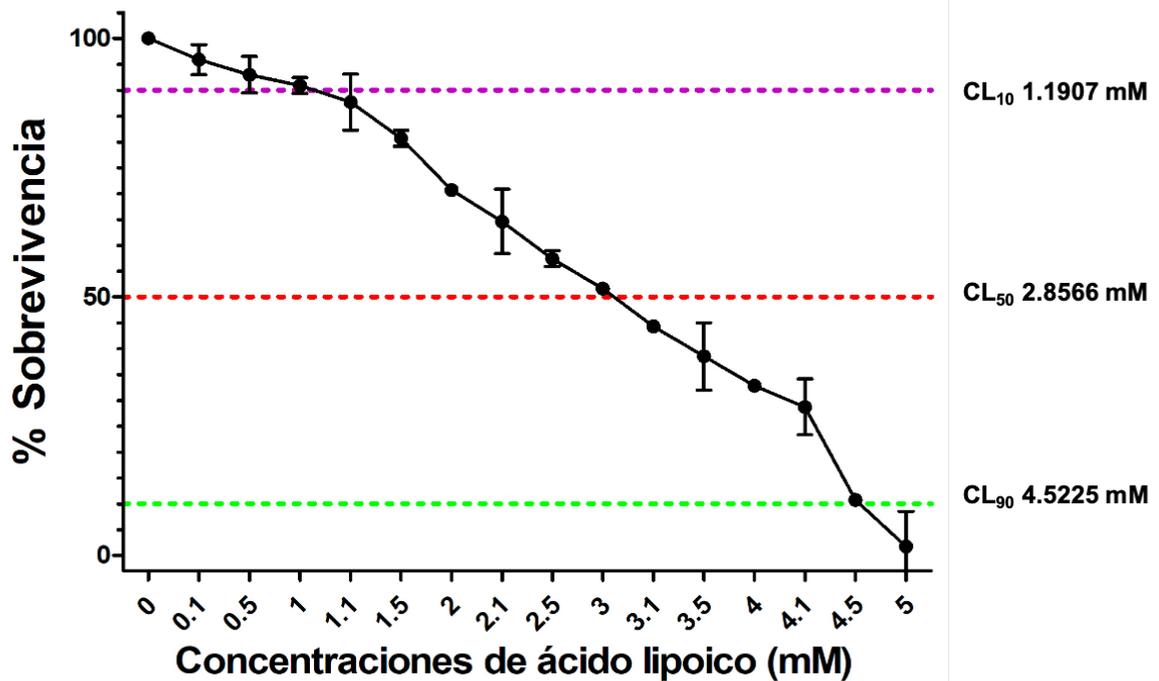


Figura 18. Porcentaje de supervivencia en respuesta a la administración de diferentes concentraciones de ácido lipoico, CL₁₀, CL₅₀ y CL₉₀. Se realizó una prueba de medias con $p=0.05$, promedio+DS (n=30 nematodos por pocillo con 3 repeticiones; 48 horas).

7.2 Efecto de la biotina en la supervivencia de *C. elegans* (CL₁₀, CL₅₀ Y CL₉₀)

En el caso de la biotina en la **Figura 19** se puede observar una disminución en el porcentaje de supervivencia a medida que se aumenta la concentración de biotina (50 nM, 100 nM y 150 nM), se puede observar que la CL₁₀ corresponde a 164.66 nM, la CL₅₀ Corresponde a 477.59 nM y la CL₉₀ corresponde a 785.52 nM. En las 3 concentraciones sugeridas (50 nM, 100 nM y 150 nM) se observa que se encuentran dentro la CL₁₀, dando un marco de seguridad para el uso de las mismas en este proyecto. En el caso del tratamiento 1 correspondiente a 50 nM se observa un porcentaje de supervivencia del 97.4%, para el tratamiento 2 con la concentración de 100 nM se observa un 94.4% de supervivencia y para el tratamiento 3 correspondiente a la concentración 150 nM se observa un 91.2% de supervivencia.

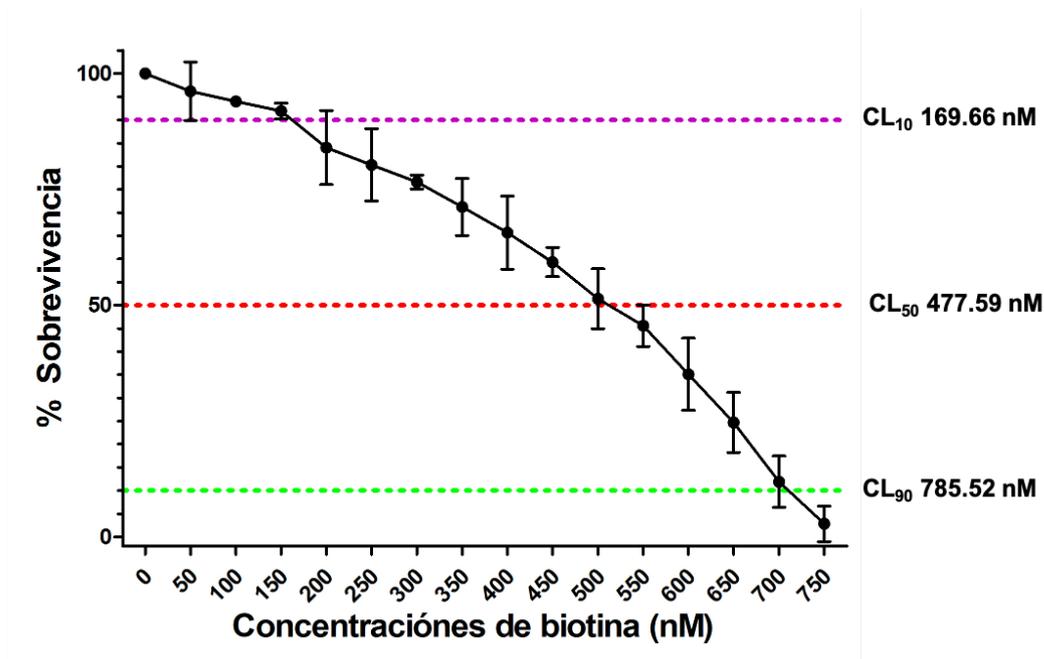


Figura 19. Porcentaje de supervivencia en respuesta a la administración de diferentes concentraciones de biotina, señalización de CL10, CL50 Y CL95, Se realizó una prueba de medias con $p=0.05$, promedio+DS (n=30 nematodos por pocillo con 3 repeticiones; 48 horas).

7.3 Efecto de ácido lipoico en la supervivencia de *C. elegans* expuesto a peróxido de hidrógeno

Posteriormente se realizaron lavados a los nemátodos y se indujo estrés oxidante con peróxido de hidrógeno a una concentración de 20 mM en medio M9. En la **Figura 20** se observa el comportamiento del porcentaje de supervivencia de los nematodos tratados con las concentraciones de ácido lipoico y en presencia de peróxido de hidrógeno por 6 horas. Se observa la supervivencia del 8.79% de la población a las 6 horas tratadas con peróxido de hidrógeno, mientras que las poblaciones aumentan la esperanza de vida a las 6 horas con los tratamientos: el tratamiento 1 (0.1mM) aumenta un 47.75% en la supervivencia, el tratamiento 2 (0.5mM) aumenta un 43.55% en la supervivencia y el tratamiento 3 (1.0mM) aumenta un 44.08% en la supervivencia, lo que nos permite seleccionar la concentración del tratamiento 1 como la concentración óptima para realizar los ensayos posteriores.

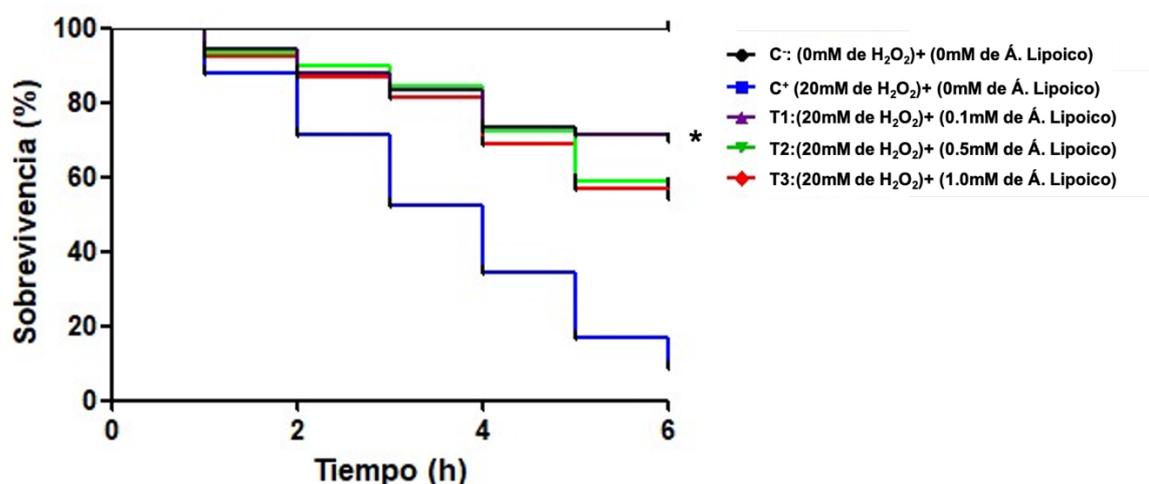


Figura 20. Efecto del ácido lipoico en la resistencia a estrés oxidante producido por H₂O₂, Porcentaje de supervivencia en respuesta a la administración de diferentes concentraciones de ácido lipoico por un periodo de 6 horas y en presencia de peróxido de hidrógeno (20 mM), por el estimador de Kaplan-Meier (n=30 nemátodos por pocillo con 3 repeticiones).

7.4 Efecto de la biotina en la supervivencia de *C. elegans* expuesto a peróxido de hidrógeno

Después de los tratamientos con biotina por 48 horas se realizaron lavados a los nemátodos y se indujo estrés oxidante con peróxido de hidrógeno (20 mM) en medio M9. En la **Figura 21** se observa el comportamiento del porcentaje de supervivencia de los nematodos tratados con las concentraciones de biotina y en presencia de peróxido de hidrógeno por 6 horas. Se observa la supervivencia del 8.79% de la población a las 6 horas tratadas con peróxido de hidrógeno, mientras que las poblaciones aumentan la esperanza de vida a las 6 horas con los tratamientos: el tratamiento 1 (50 nM) aumenta un 40.31% en la supervivencia, el tratamiento 2 (100 nM) aumenta un 43.08% en la supervivencia y el tratamiento 3 (150 nM) aumenta un 47.08% en la supervivencia, lo que nos permite seleccionar la concentración del tratamiento 3 como la concentración óptima para realizar los ensayos posteriores.

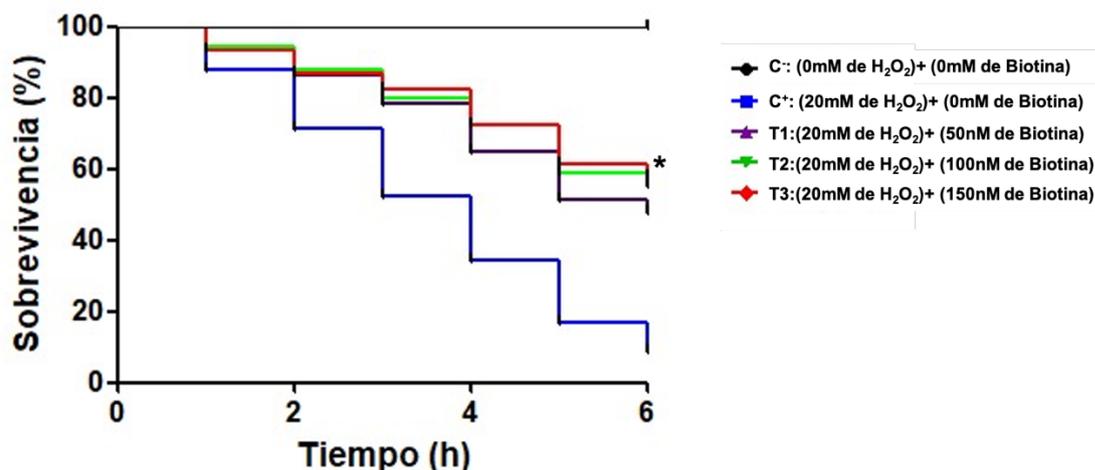


Figura 21. Efecto de la biotina en la resistencia a estrés oxidante producido por H₂O₂ Porcentaje de supervivencia en respuesta a la administración de diferentes concentraciones de biotina por un periodo de 6 horas en y presencia de peróxido de hidrógeno (H₂O₂ 20mM), por el estimador de Kaplan-Meier (n=30 nemátodos por pocillo con 3 repeticiones).

7.5 Contenido de ácido lipoico y biotina en *Caenorhabditis elegans*

Se analizó la concentración de ácido lipoico y biotina absorbidos por *C. elegans* en sus tres tratamientos por separado y en conjunto con las concentraciones de biotina y ácido lipoico que se consideraron óptimas al presentar la mayor supervivencia al ser expuestos a H₂O₂. En el caso del ácido lipoico se observa en la **Figura 22** que el nivel basal de ácido lipoico contenido en el nemátodo no tiene diferencias significativas con el ácido lipoico contenido en el tratamiento 1 (0.1 mM), al igual que su combinación con biotina. Por otra parte, se observan diferencias significativas con respecto al tratamiento 2 (0.5 mM) y 3 (1.0 mM) puesto que se observa un incremento en los niveles de ácido lipoico de hasta 3 veces en el tratamiento 3 con respecto al 1; lo que nos dice que mientras más ácido lipoico se administre, más se absorbe.

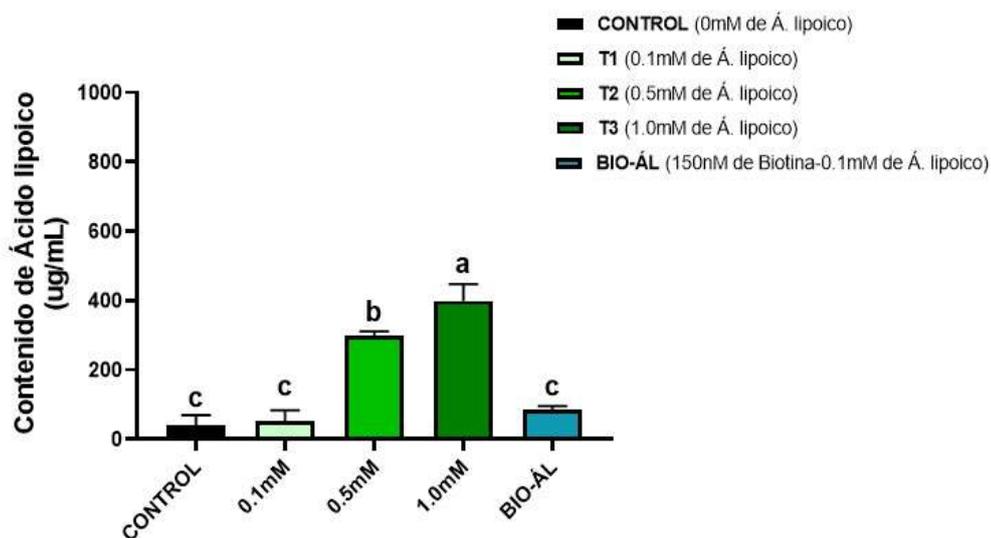
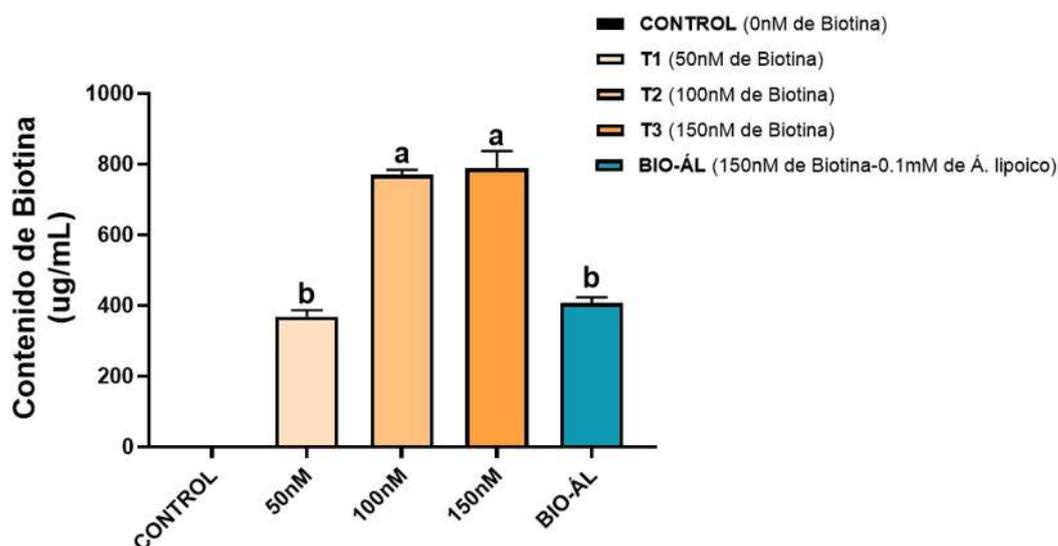


Figura 22. Contenido de ácido lipoico por tratamiento en *C. elegans*. Fue medido por HPLC a 337 nm, ANOVA, Tukey $\alpha=0.05$, Promedio+DS, n=3.

En el caso de la biotina se observa en la **Figura 23** que nivel basal de la biotina no fue detectado, mientras que el tratamiento 1 (50 nM) y la combinación de biotina (150 nM) con ácido lipoico (0.1 mM) no se observan diferencias significativas, al igual que el tratamiento 2 (100 nM) y 3 (150 nM), lo que nos demuestra que mientras más



concentración se administre, más concentración es absorbida, llegando a un punto de saturación en donde no se tienen diferencias significativas en la absorción.

Figura 23. Contenido de biotina por tratamiento en *C. elegans*. Fue medido por HPLC a 205 nm, ANOVA, Tukey $\alpha=0.05$, Promedio+DS, n=3.

7.6 Efecto del ácido lipoico y la biotina en la sobrevivencia y longevidad de *Caenorhabditis elegans*

Tras elegir y observar los efectos de la concentración seleccionada de ácido lipoico (0.1 mM) y biotina (150 nM) por separado, se indujo a un estrés oxidativo por H₂O₂ (20 mM) y se realizó una comparación en el porcentaje de sobrevivencia por separado y en combinación. Se observa que para la cepa N2 (**Figura 24 A**) la sobrevivencia es del 8.79% de la población del grupo control a las 6 horas, mientras que las poblaciones aumentan la esperanza de vida a las 6 horas en los tratamientos: con ácido lipoico (0.1 mM) aumenta un 47.75% en la sobrevivencia, con biotina (150 nM) aumenta un 47.08% y la combinación de ácido lipoico y biotina aumenta un 86.52%, por lo que a la combinación de los nutraceuticos aumenta el porcentaje de sobrevivencia en presencia de estrés oxidativo.

En el caso de la cepa mutante TJ401 (-Age1/-PI3K) (**Figura 24 B**) la sobrevivencia es del 16.56% de la población a las 6 horas, mientras que las poblaciones aumentan la esperanza de vida a las 6 horas en los tratamientos: con ácido lipoico (0.1 mM) aumenta un 44.45% en la sobrevivencia, con biotina (150 nM) aumenta un 50.34% y la combinación de ácido lipoico y biotina aumenta un 74.04% la sobrevivencia, por lo que a la combinación de los nutraceuticos aumenta el porcentaje de sobrevivencia en presencia de estrés oxidativo.

En el caso de la cepa mutante CF1038 (-Daf 16/FOXO) (**Figura 24 C**), la sobrevivencia es del 13.89% de la población a las 6 horas, mientras que para los tratamientos es: con ácido lipoico (0.1 mM) aumenta un 47.71% en la sobrevivencia, con biotina (150 nM) aumenta un 55.51% y la combinación de ácido lipoico y biotina aumenta un 75.31%, por lo que a la combinación de los nutraceuticos aumenta el porcentaje de sobrevivencia en presencia de estrés oxidativo.

Por su parte, en la cepa mutante MQ1766 (-SOD/ SOD-1, SOD-2, SOD-3 y SOD-4) (**Figura 24 D**) la sobrevivencia es del 15.61% de la población a las 6 horas, mientras que para los tratamientos: con ácido lipoico (0.1 mM) aumenta un 44.29% en la

sobrevivencia, con biotina (150 nM) aumenta un 52.59% y la combinación de ácido lipoico y biotina aumenta un 74.29%, por lo que a la combinación de los nutraceuticos aumenta el porcentaje de sobrevivencia en presencia de estrés oxidativo.

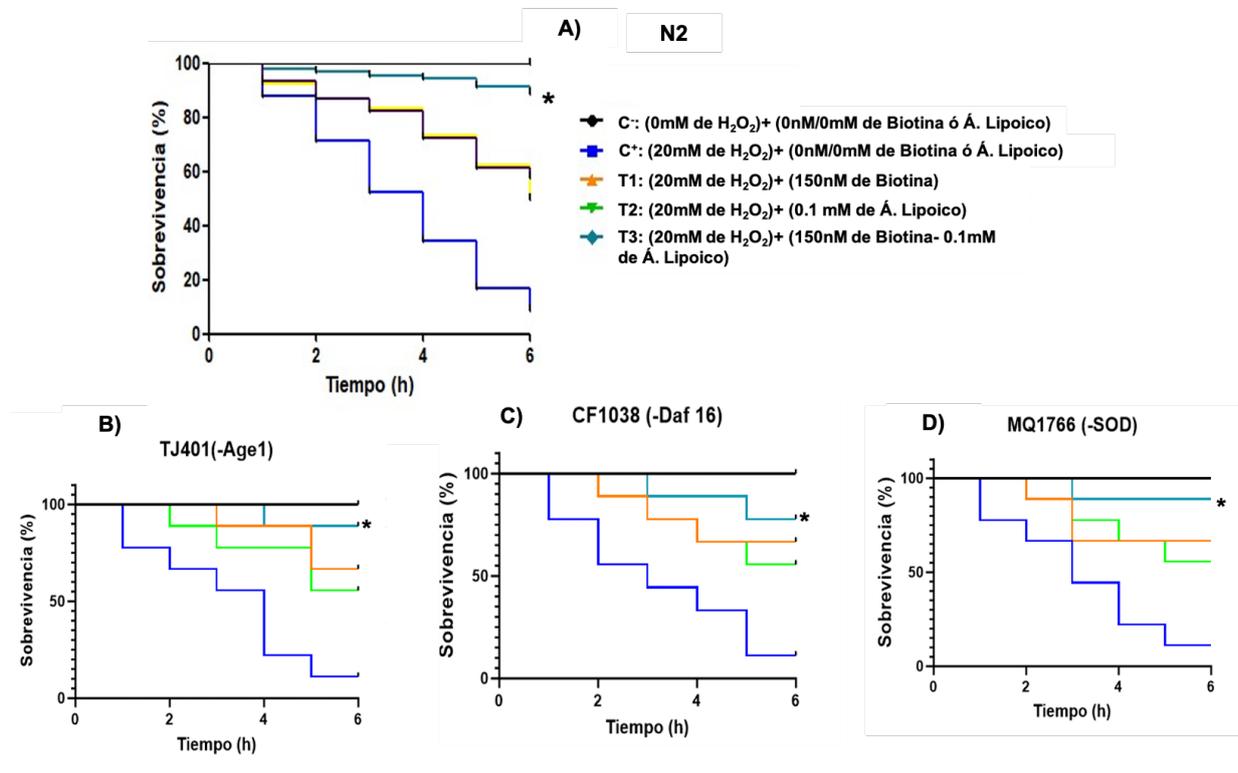


Figura 24. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la sobrevivencia de *C. elegans*. A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766 en respuesta a la administración de biotina, ácido lipoico y la combinación por un periodo de 6 horas en presencia de peróxido de hidrógeno (H₂O₂ 20mM), por el estimador de Kaplan-Maier (n=30 nemátodos por pocillo con 3 repeticiones).

De igual manera, se analizó si los tratamientos con biotina y ácido lipoico y la combinación influyen en la longevidad de *C. elegans*. Por lo que se toma en cuenta que 1 día en la vida de un nemátodo equivale a 3.6 años de vida de un humano (Guzmán, 2019). Se observa en la cepa control N2 (**Figura 25 A**) tiene 30 días de vida, mientras que la sobrevivencia disminuye 17 días al estar en un estrés oxidante inducido por 80 mM de glucosa. Por su parte, se alcanza una mayor longevidad en presencia de biotina (4 días), ácido lipoico (2 días) y su combinación (5 días) con respecto al control. En el

caso de estar sometidos a estrés oxidativo, la biotina (6 días), el ácido lipoico (4 días) y la combinación (9 días).

En el caso de las cepas mutantes se observa lo siguiente: para la cepa TJ401 (-Age 1) (**Figura 25 B**) su control tiene 37 días de vida, mientras que la esperanza disminuye 32 días al estar en un estrés oxidativo inducido por glucosa (80 mM). Por otra parte, se alcanza una mayor esperanza de vida en presencia de biotina (2 días), ácido lipoico (1 día) y su combinación (5 días) con respecto al control. En el caso de estar sometidos a estrés oxidante la biotina (13 días), el ácido lipoico (12 días) y la combinación (22 días).

Por su parte, la cepa CF1038 (-Daf 16) (**Figura 25 C**) su control tiene 23 días de vida, mientras que la esperanza disminuye 10 días al estar en un estrés oxidativo inducido por glucosa. Con los tratamientos se alcanza una mayor esperanza de vida en presencia de biotina (3 días), ácido lipoico (1 día) y su combinación (4 días) con respecto al control. En caso de estar sometidos a estrés oxidativo la biotina (3 días), el ácido lipoico (1 día) y la combinación (8 días). Para la cepa MQ1766 (-SOD) (**Figura 25 D**) su control tiene 24 días de vida, mientras que la esperanza disminuye 7 días al estar en un estrés oxidativo. Por otra parte, se alcanza una mayor esperanza de vida en presencia de biotina (3 días), ácido lipoico (1 día) y su combinación (4 días) con respecto al control. En el caso de estar sometidos a estrés oxidativo, la biotina (1 día), el ácido lipoico (1 día) y la combinación (4 días).

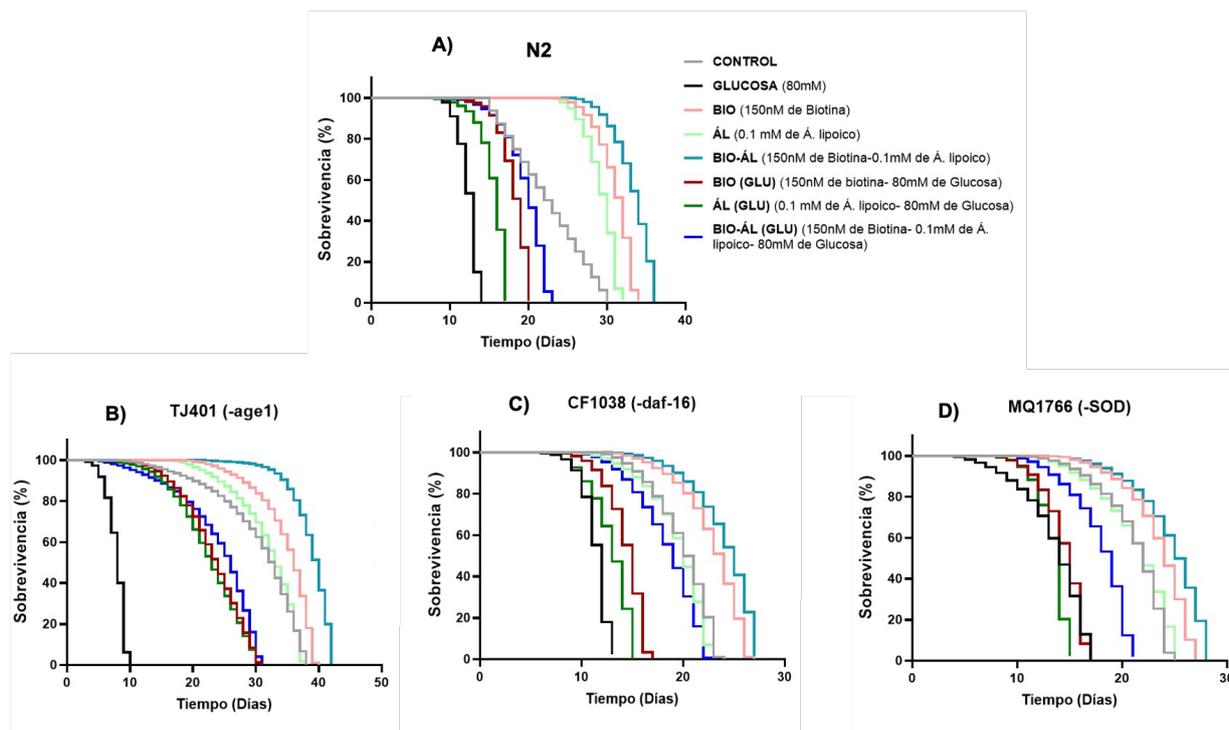


Figura 25. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la longevidad de *C. elegans*. Respuesta a la administración de biotina, ácido lipoico y la combinación de ambos por un periodo de 6 horas en presencia de por el estimador de Kaplan-Maier. A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766 (n=30 nemátodos por pocillo con 3 repeticiones).

7.7 Cambios morfológicos y de volumen de *C. elegans* tratados con ácido lipoico y biotina

El adicionar glucosa en el medio de cultivo puede inducir varios cambios morfológicos notorios en *C. elegans*. Esto incluye alteraciones en el crecimiento y desarrollo, manifestadas por cambios en el tamaño corporal y la longitud del cuerpo. En la **Figura 26** se aprecia en la cepa N2 un incremento en el tamaño del control con glucosa respecto a todos los tratamientos, es por eso que se realizó el análisis de diferentes parámetros como volumen, contenido de proteínas y contenido de triglicéridos. El volumen obtenido fue representado en mm^3 . Como se muestra en la **Figura 27 A**, en la cepa N2 existe un incremento en el volumen respecto al control y al grupo tratado con glucosa (0.049 mm^3), se observó que el control de la cepa N2 sin glucosa tiene un volumen de 0.009 mm^3 , mientras que en los tratamientos con ácido lipoico (0.1 mM), biotina (150 nM) y su combinación no se muestran cambios significativos con respecto

al control con glucosa. En el caso de la cepa TJ401 (-Age 1) (**Figura 27 B**), CF1038 (-Daf 16) (**Figura 27 C**) y MQ1766 (-SOD) (**Figura 27 D**) de igual manera se observa un incremento en el volumen respecto al control sin glucosa. Es interesante observar que los volúmenes en presencia de glucosa y de los nutraceuticos no incrementan de manera tan drástica como el que se encuentra sólo en presencia de glucosa.

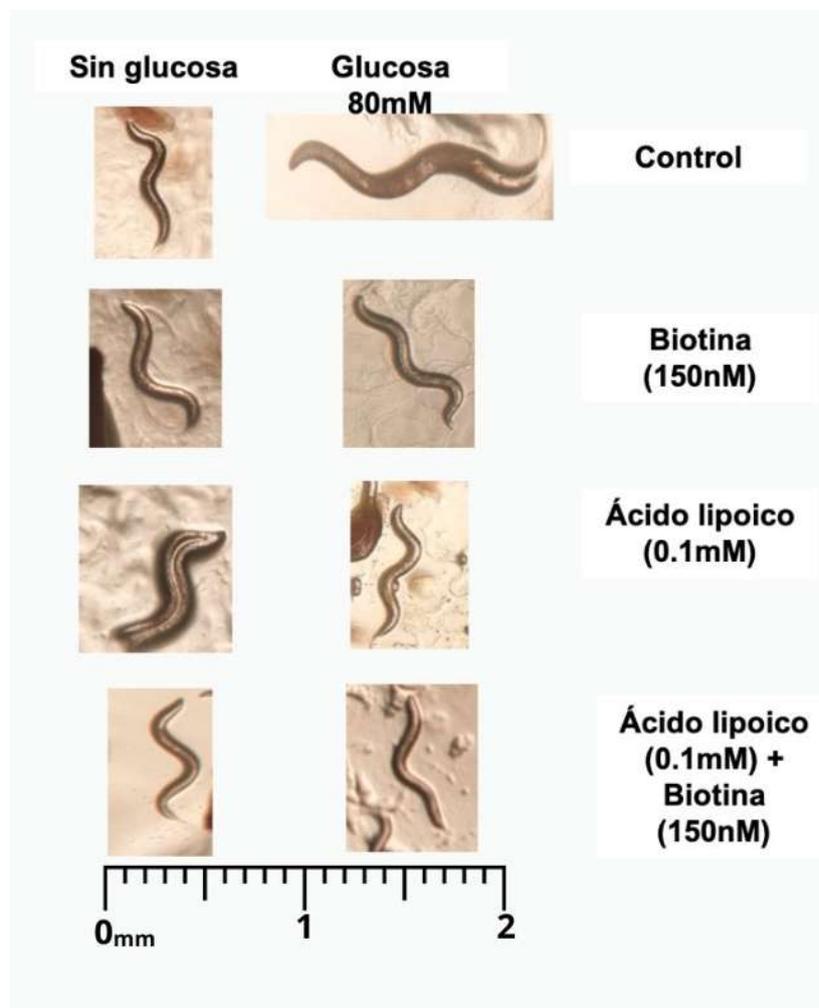


Figura 26. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la morfología de *C. elegans* de la Cepa N2. En presencia de glucosa al 80mM y en ausencia de la misma con los tratamientos de ácido lipoico (0.1 mM) y biotina (150 nM) por separado y en combinación, medido en el programa FIJI® en escala de 0 a 2 mm, con aumento de 10X en microscopio óptico.

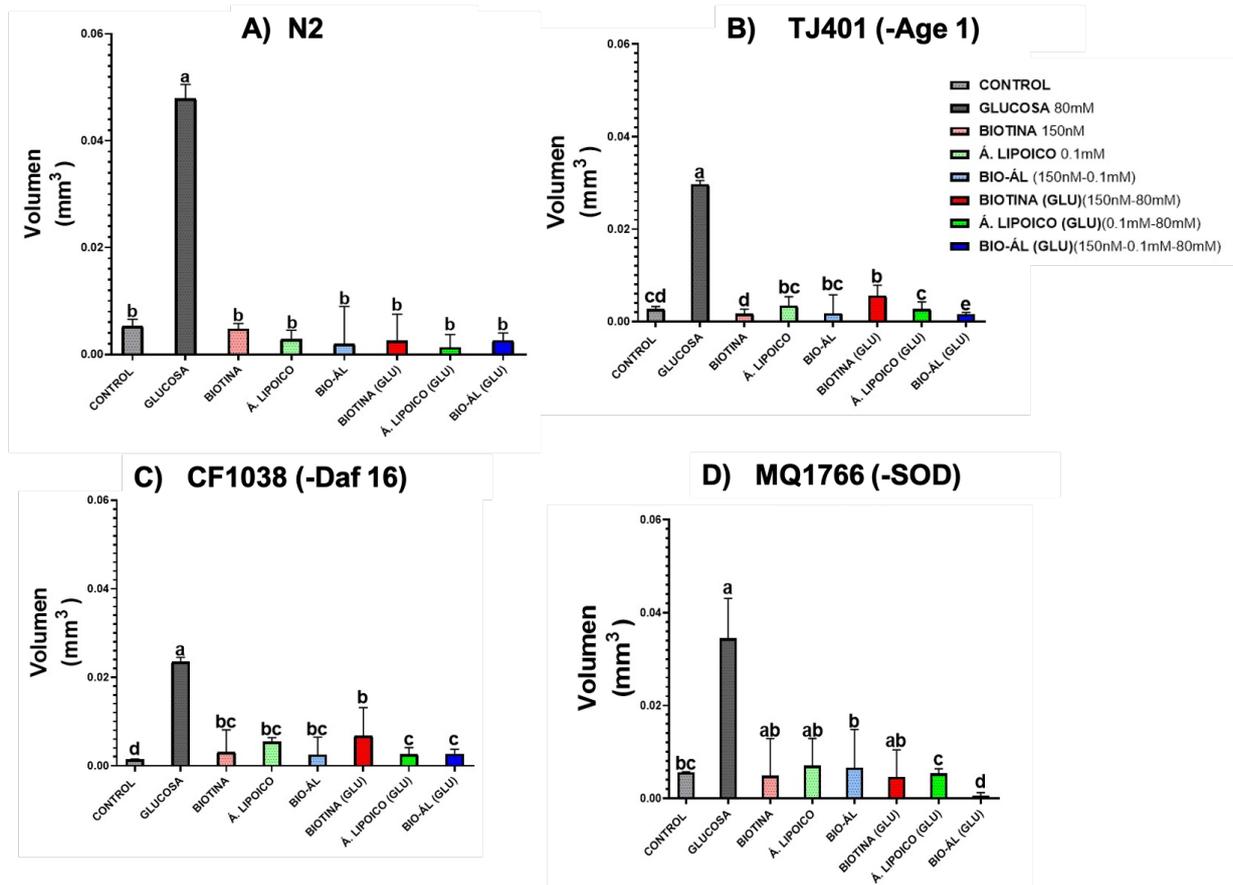


Figura 27. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el volumen de *C. elegans*. Medidas de largo y ancho tratados con factor A (daño o no daño) y B (tratamientos seleccionados). A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS (n=30 nemátodos por pocillo con 3 repeticiones).

7.8 Cuantificación del contenido total de proteínas de *C. elegans* tratados con ácido lipoico y biotina

En el caso de la cepa control N2 se observa en la **Figura 28 A** un aumento significativo en el contenido de proteína respecto al control sin glucosa (0.38 mg/mL) y al grupo con glucosa (0.83 mg/mL). En el caso de los tratamientos de ácido lipoico (0.07 mg/mL), biotina (0.09 mg/mL) y su combinación (0.05 mg/mL) se observa una disminución significativa del contenido de proteína total respecto al control sin glucosa. Por otra parte, los tratamientos con ácido lipoico (0.13 mg/mL), biotina (0.12 mg/mL) y su combinación (0.18 mg/mL) en presencia de glucosa disminuyen significativamente el contenido de proteína total (en comparación con el grupo control con glucosa).

En la cepa TJ401 se encuentra un contenido significativamente más alto de proteína total con respecto a la cepa N2 con y sin glucosa. En la **Figura 28 B** se observan los valores del contenido de proteína total, el cual difiere con un 0.08 mg/mL con el control (0.63 mg/mL) y la presencia de glucosa (0.71 mg/mL). Además, existe una disminución de la proteína total con ácido lipoico (0.2 mg/mL), biotina (0.32 mg/mL) y su combinación (0.06 mg/mL). De igual manera en la cepa CF1038 se puede apreciar en la **Figura 28 C** como su contenido de proteína total tiene una diferencia significativa al estar en presencia de glucosa (0.84 mg/mL) con respecto al control y esta disminuye al ser tratados con la combinación de los nutraceuticos (0.05 mg/mL). En la cepa MQ1766 el contenido de proteína total tiene una diferencia significativa al estar en presencia de glucosa (0.77 mg/mL) con respecto al control sin glucosa y este disminuye al ser tratados con la combinación de los nutraceuticos (0.05 mg/mL).

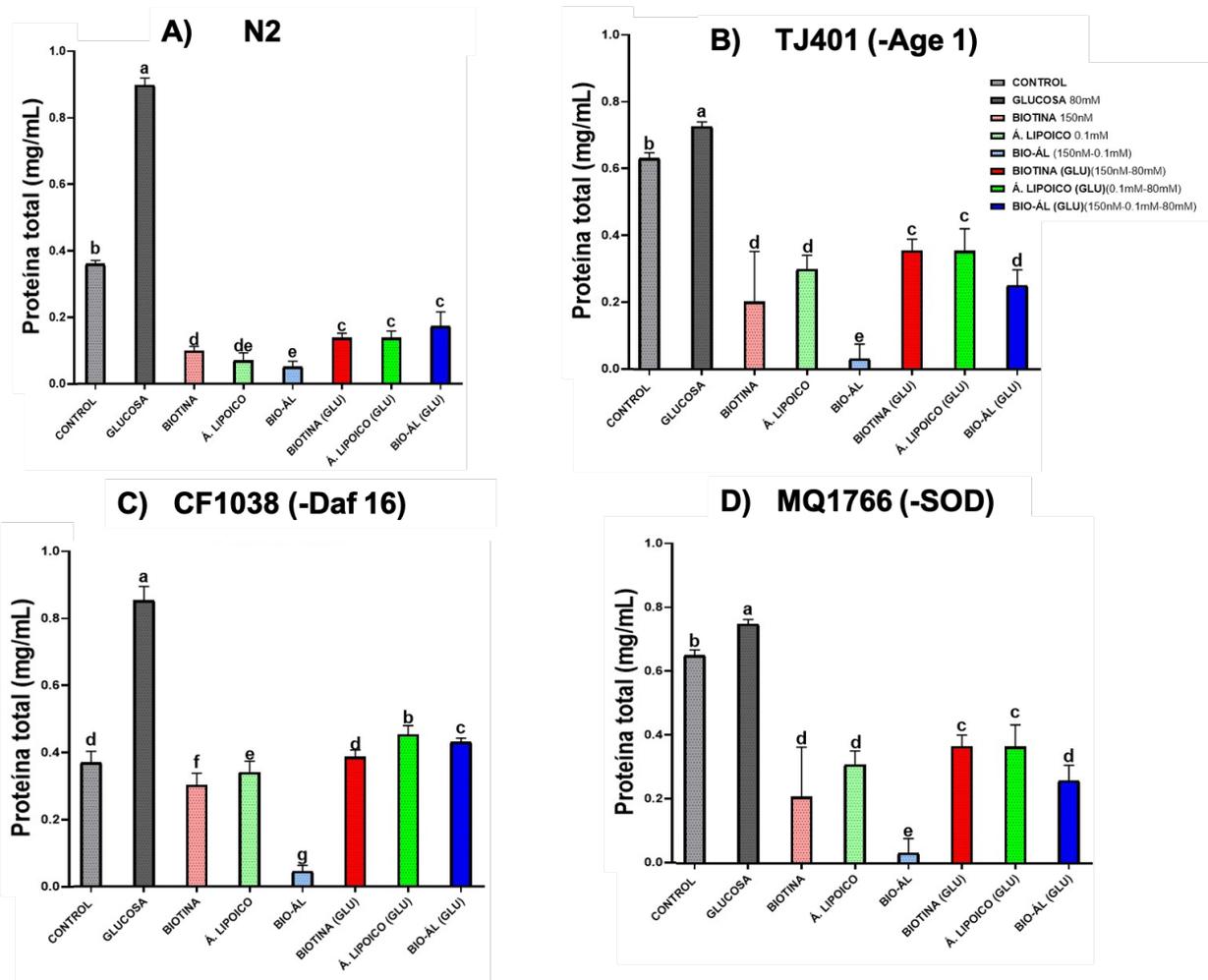


Figura 28. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el contenido de proteína de *C. elegans*. Cuantificación de proteína total por en método de biuret con factor A (daño o

no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS.

7.9 Cuantificación del contenido total de triacilglicéridos de *C. elegans* tratados con ácido lipoico y biotina

Como se muestra en la **Figura 29 A**, en los grupos control de la cepa N2 se observa un menor contenido de triacilglicéridos en el control (6.33 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) respecto al grupo con glucosa (28.46 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total), al administrar biotina se observa que en ausencia de glucosa la biotina disminuye los niveles de triacilglicéridos (2.50 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total), pero en presencia de glucosa la biotina aumenta el contenido de triacilglicéridos (15.46 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total); caso similar el del ácido lipoico en donde en ausencia de glucosa se tiene una disminución de triacilglicéridos (4.18 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) en comparación con el grupo en presencia de ácido lipoico y glucosa (17.64 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total). El grupo administrado con la combinación de ácido lipoico y biotina presenta el nivel más bajo de triglicéridos (0.50 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) (aún en presencia de glucosa 15.29 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total).

La cepa TJ401 (**Figura 29 B**) muestra en los grupos control se observa un menor contenido de triacilglicéridos en el control (7.59 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) respecto al control con glucosa (22.90 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total), al administrar biotina se observa que en ausencia de glucosa la biotina disminuye los niveles de triacilglicéridos (4.13 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total), pero en presencia de glucosa la biotina aumenta el contenido de triacilglicéridos (5.44 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total); caso del ácido lipoico en donde en ausencia de glucosa se tiene una disminución de triacilglicéridos (3.6 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) en comparación con el grupo en presencia de ácido lipoico y glucosa (6.85 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) Los grupos administrados con la combinación de ácido lipoico y biotina presentan los siguientes niveles triacilglicéridos 3.09 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total y en presencia de glucosa 4.9 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total.

Por su parte la cepa CF1038 (**Figura 29 C**) muestra en los grupos control se observa un menor contenido de triacilglicéridos en el control (7.21 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) respecto al grupo con glucosa (9.98 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total), al administrar biotina

se observa que en ausencia de glucosa la biotina disminuye los niveles de triacilglicéridos (1.68 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total), al igual que en presencia de glucosa la biotina disminuye el contenido de triacilglicéridos (3.04 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total); caso del ácido lipoico en donde en ausencia de glucosa se tiene un contenido menor de triacilglicéridos (1.86 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) en comparación con el grupo en presencia de ácido lipoico y glucosa (5.37 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) Los grupos administrados con la combinación de ácido lipoico y biotina presentan los siguientes niveles triacilglicéridos 0.84 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total y en presencia de glucosa 2.74 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total.

Por su parte la cepa MQ1766 (**Figura 29 D**) muestra en los grupos control se observa un menor contenido de triacilglicéridos en el control (9.4 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) respecto al grupo con glucosa (16.37 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total), al administrar biotina se observa que en ausencia de glucosa la biotina disminuye los niveles de triacilglicéridos (1.36 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total), al igual que en presencia de glucosa la biotina disminuye el contenido de triacilglicéridos (4.07 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total); caso del ácido lipoico en donde en ausencia de glucosa se tiene un contenido menor de triacilglicéridos (2.54 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) en comparación con el grupo en presencia de ácido lipoico y glucosa (4.91 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total) Los grupos administrados con la combinación de ácido lipoico y biotina presentan los siguientes niveles triacilglicéridos 1.31 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total y en presencia de glucosa 2.81 $\mu\text{g TAG/mg}$ proteína total.

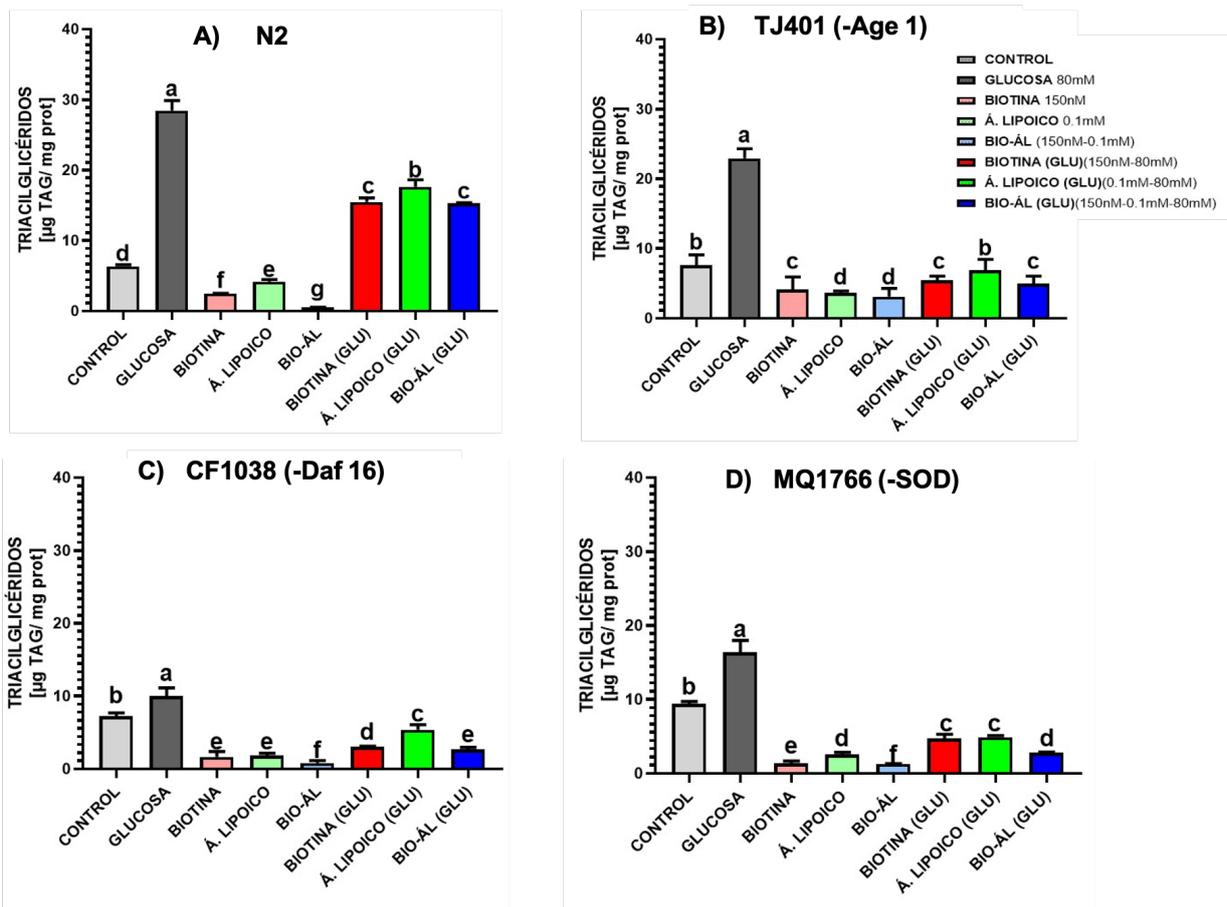


Figura 29. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el contenido de triglicéridos de *C. elegans*. Cuantificado con factor A (daño o no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS (3 repeticiones por grupo).

7.10 Cuantificación de las especies reactivas de oxígeno (ROS) en *C. elegans* tratados con ácido lipoico y biotina

Se observa en la **Figura 30** un incremento de las ROS todos los grupos tratados con glucosa al 80 mM en las 4 cepas de estudio, es importante recalcar que aun en presencia de glucosa los nutraceuticos por separado y en combinación disminuyen las ROS respecto a los dos controles con glucosa y sin glucosa. Además de resaltar que la combinación de los nutraceuticos tanto en presencia como en ausencia de glucosa tienen una reducción significativa de las ROS.

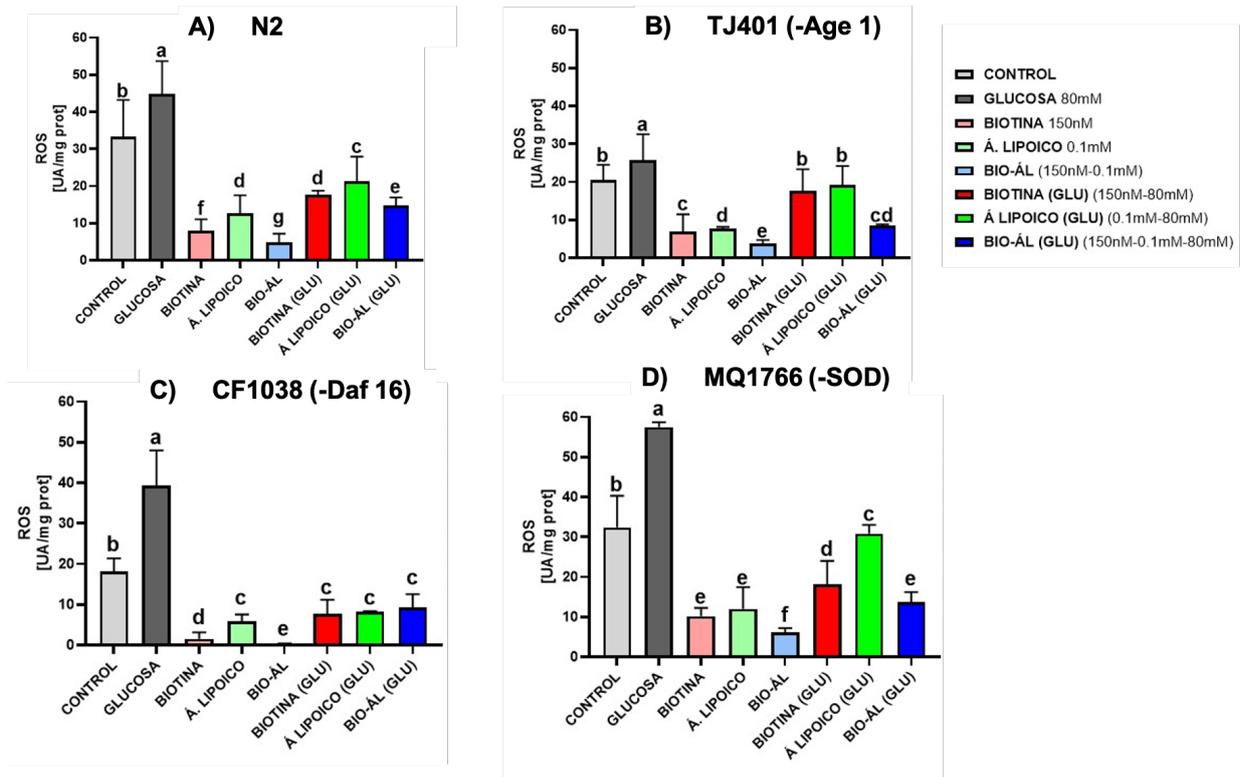


Figura 30. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el contenido de EROs de *C. elegans*. Cuantificado con factor A (daño o no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS (3 repeticiones por grupo).

7.11 Cuantificación de la actividad de SOD en *C. elegans* tratados con ácido lipoico y biotina

Como se muestra en la **Figura 31**, podemos observar que la actividad de la enzima exhibió un aumento en los grupos con glucosa al 80 mM. Por su parte la cepa N2 (**Figura 31 A**) nos muestra diferencias significativas por el aumento de la actividad de SOD respecto al control sin glucosa y al grupo tratado con la combinación de los nutraceuticos al igual que la cepa TJ401 (**Figura 31 B**). La cepa CF1038 (**Figura 31 C**) muestra diferencias significativas por el aumento de la actividad de SOD en respecto al grupo control sin glucosa. El caso de la cepa MQ1766 (**Figura 31 D**) es un caso especial puesto que presenta una supresión que evita la expresión de SOD, pero se muestra la actividad en los grupos en presencia de glucosa y los tratamientos por separado y su combinación. Cabe resaltar que existe una disminución de la actividad

de SOD respecto a los grupos expuestos a glucosa en presencia de los nutraceuticos por separado y en combinaci3n.

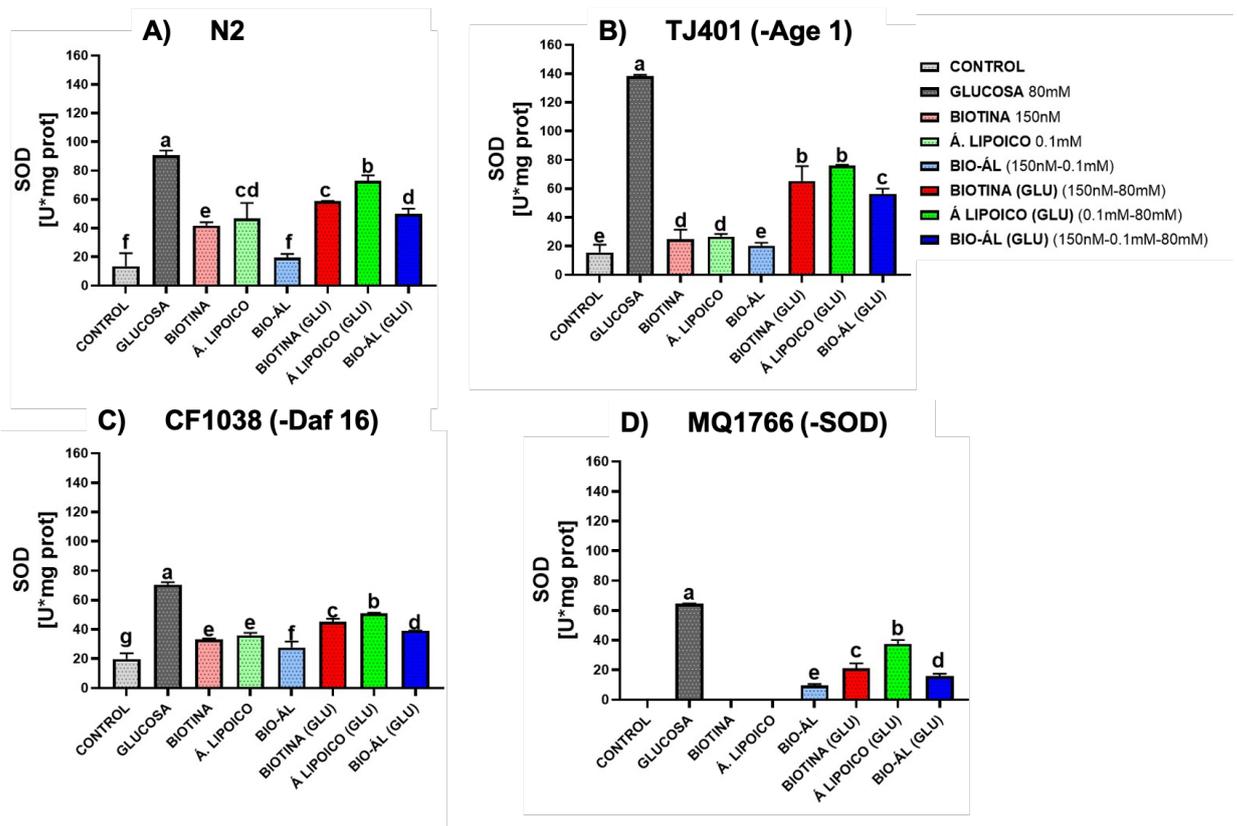


Figura 31. Efecto del 3cido lipoico y la biotina en la actividad de SOD en *C. elegans*. Cuantificado con factor A (daño o no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS (3 repeticiones por grupo).

7.12 Cuantificaci3n de la actividad de CAT en *C. elegans* tratados con 3cido lipoico y biotina

Como se muestra en la **Figura 32**, en la cepa N2 (**Figura 32 A**), TJ401 (**Figura 32 B**) y MQ1766 (**Figura 32 D**) existe un aumento en la actividad de catalasa en los grupos tratados con 3cido lipoico y la combinaci3n de biotina y 3cido lipoico en presencia de glucosa, mientras que la cepa CF1038 (**Figura 32 C**) muestra el incremento en su actividad en los grupos tratados con 3cido lipoico y la combinaci3n de 3cido lipoico con biotina en ausencia de glucosa.

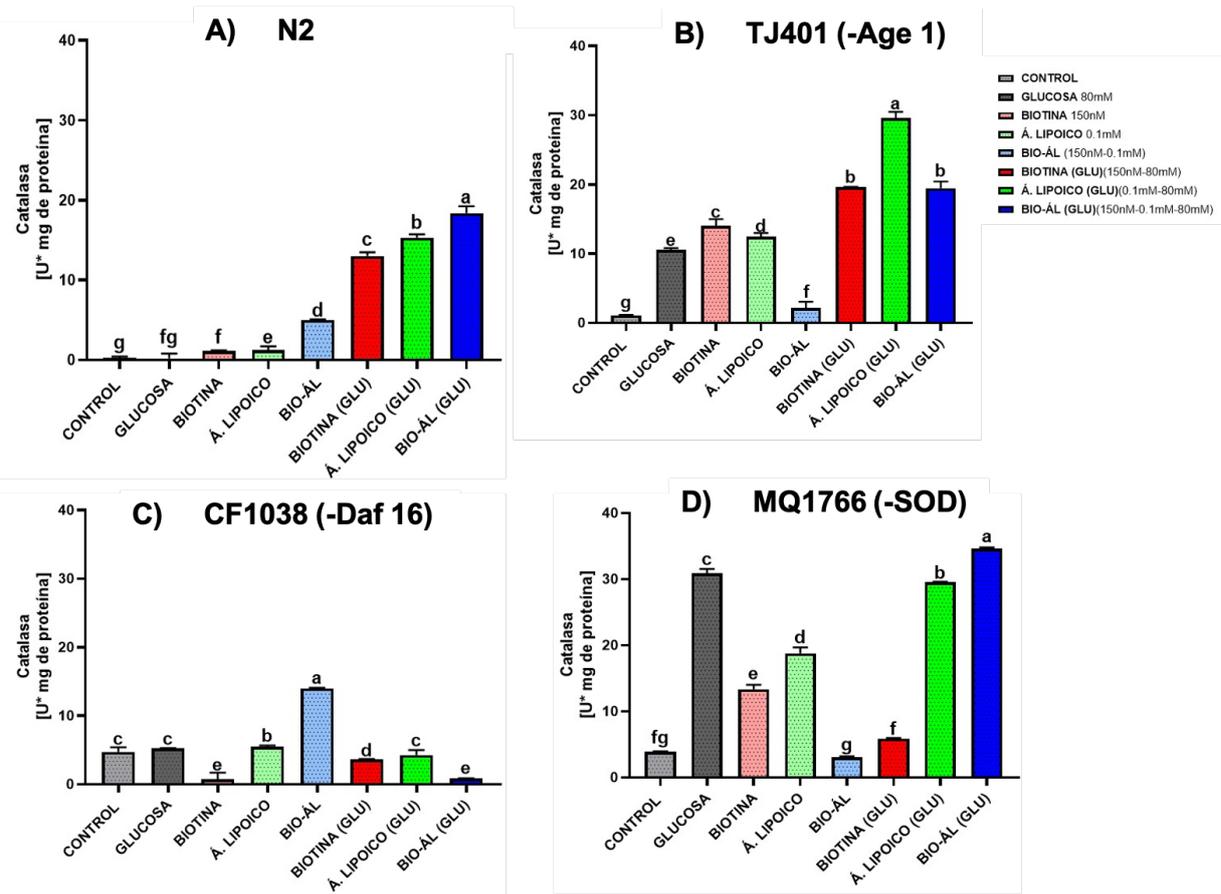


Figura 32. Efecto del ácido lipóico y la biotina en la actividad de CAT en *C. elegans*. Cuantificado con factor A (daño o no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS (3 repeticiones por grupo).

7.13 Cuantificación de glutatión en *C. elegans* tratados con ácido lipóico y biotina

Se observa en la cepa N2 (**Figura 33 A**) un mayor contenido de glutatión en los grupos tratados con glucosa, biotina, lipóico y la combinación de ambos. Por su parte la cepa TJ401 (**Figura 33 B**) muestra un aumento en el contenido en los grupos control, tratado con ácido lipóico sin glucosa, biotina y la combinación de los nutraceuticos tratados con glucosa. La cepa CF1038 (**Figura 33 C**) muestra que el contenido presente en el grupo control muestra un incremento significativo con respecto a los demás grupos. Finalmente, la cepa MQ1766 (**Figura 33 D**) muestra que el nivel presente en el grupo

tratado con biotina y glucosa tiene un aumento significativo con respecto a los dos grupos.

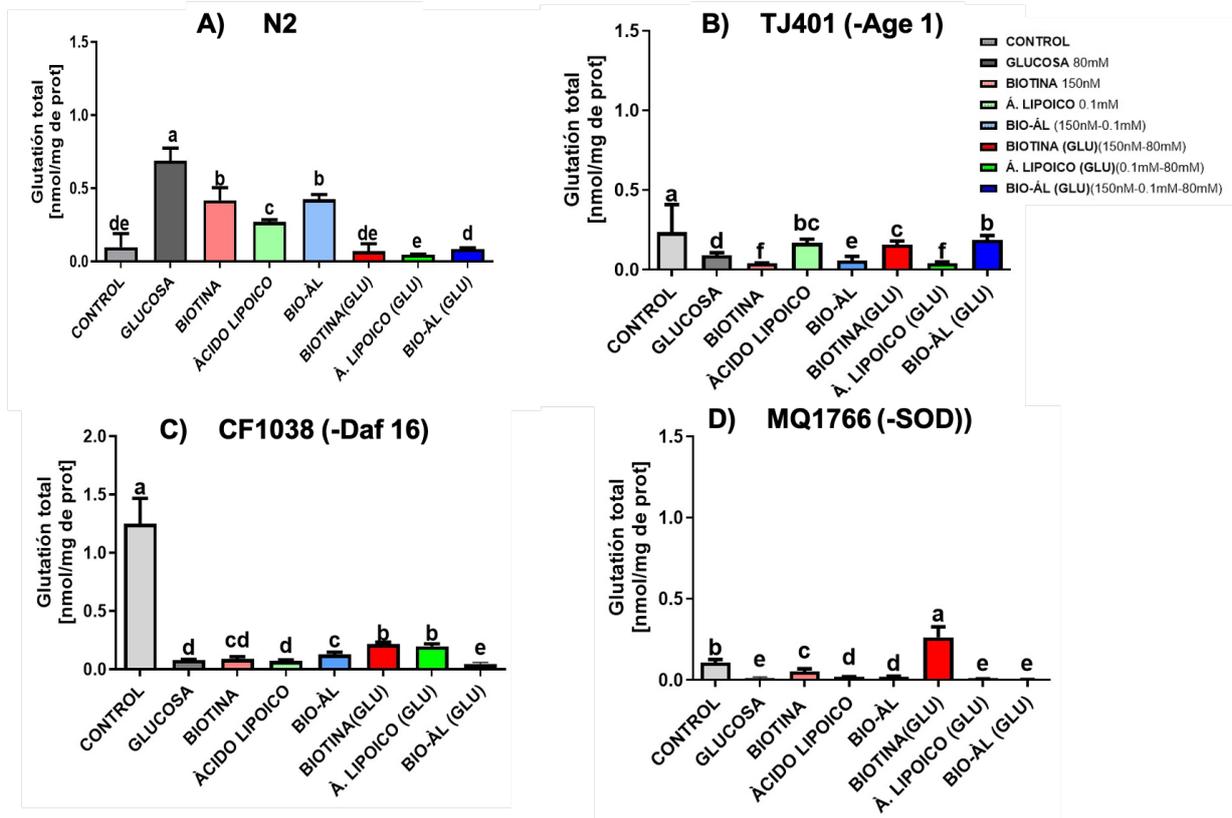


Figura 33. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el nivel de glutatión total en *C. elegans*. Cuantificado con factor A (daño o no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS (3 repeticiones por grupo).

Se observa en la cepa N2 (**Figura 34 A**) que el grupo control presenta el mayor contenido de GSH respecto a los demás grupos. La cepa TJ401 (**Figura 34 B**) muestra que el grupo tratado con ácido lipoico en ausencia de glucosa seguido del grupo tratado con la combinación de los nutraceuticos tienen el mayor contenido. En el caso de las cepas CF1038 y MQ1766 (**Figura 34 C y D**) el grupo tratado con biotina en presencia de glucosa tiene una mayor actividad con respecto a los demás grupos.

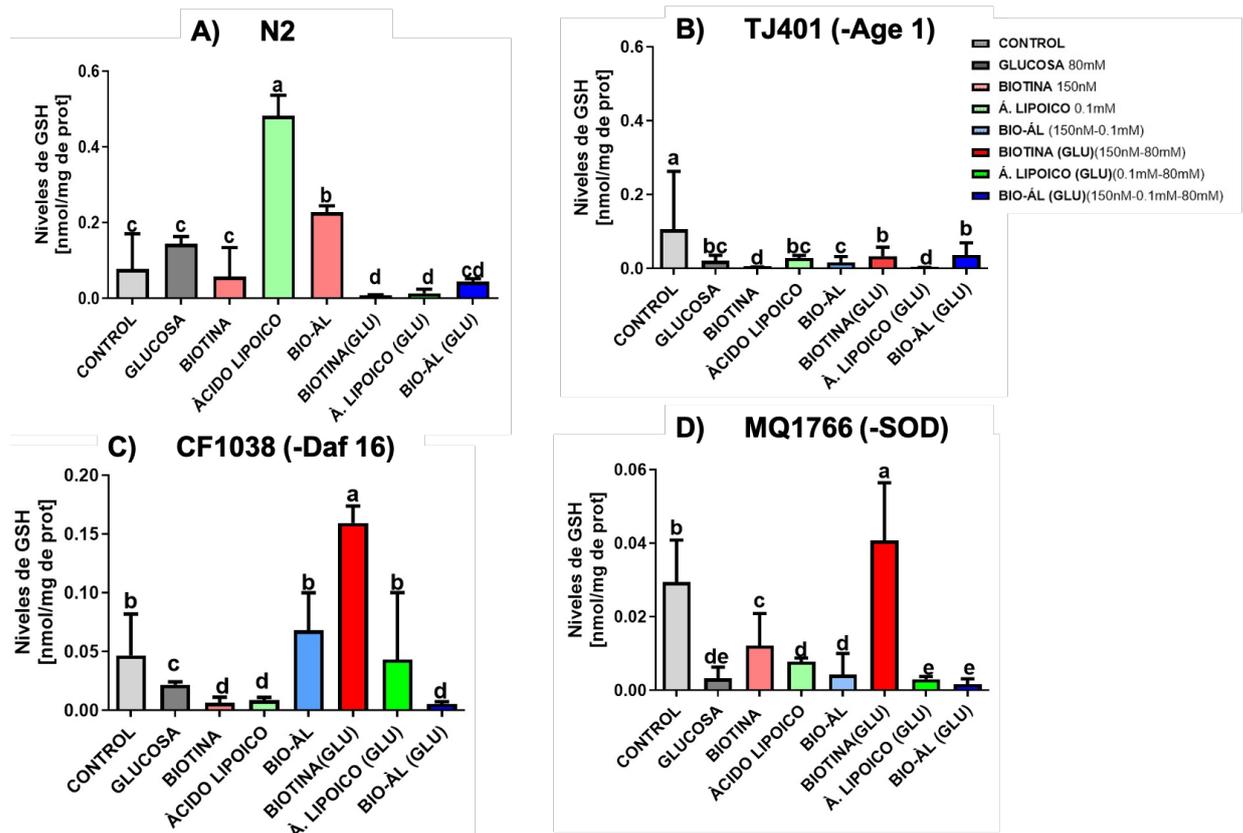


Figura 34. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el nivel de GSH en *C. elegans*. Cuantificado con factor A (daño o no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS (3 repeticiones por grupo).

Se observa en la cepa N2 (**Figura 35 A**) que el grupo en presencia de glucosa presenta un mayor contenido de GSSG respecto a los demás grupos. La cepa TJ401 (**Figura 35 B**) muestra que el grupo tratado con ácido lipoico en ausencia de glucosa seguido del grupo tratado con la combinación de los nutraceuticos en presencia de glucosa tienen el mayor contenido. En el caso de las cepa CF1038 (**Figura 35 C**) el grupo control tiene un mayor contenido de GSSG con respecto a los demás grupos. Finalmente, la cepa MQ1766 (**Figura 35 D**) presenta un mayor contenido de GSSG en el grupo tratado con biotina en presencia de glucosa.

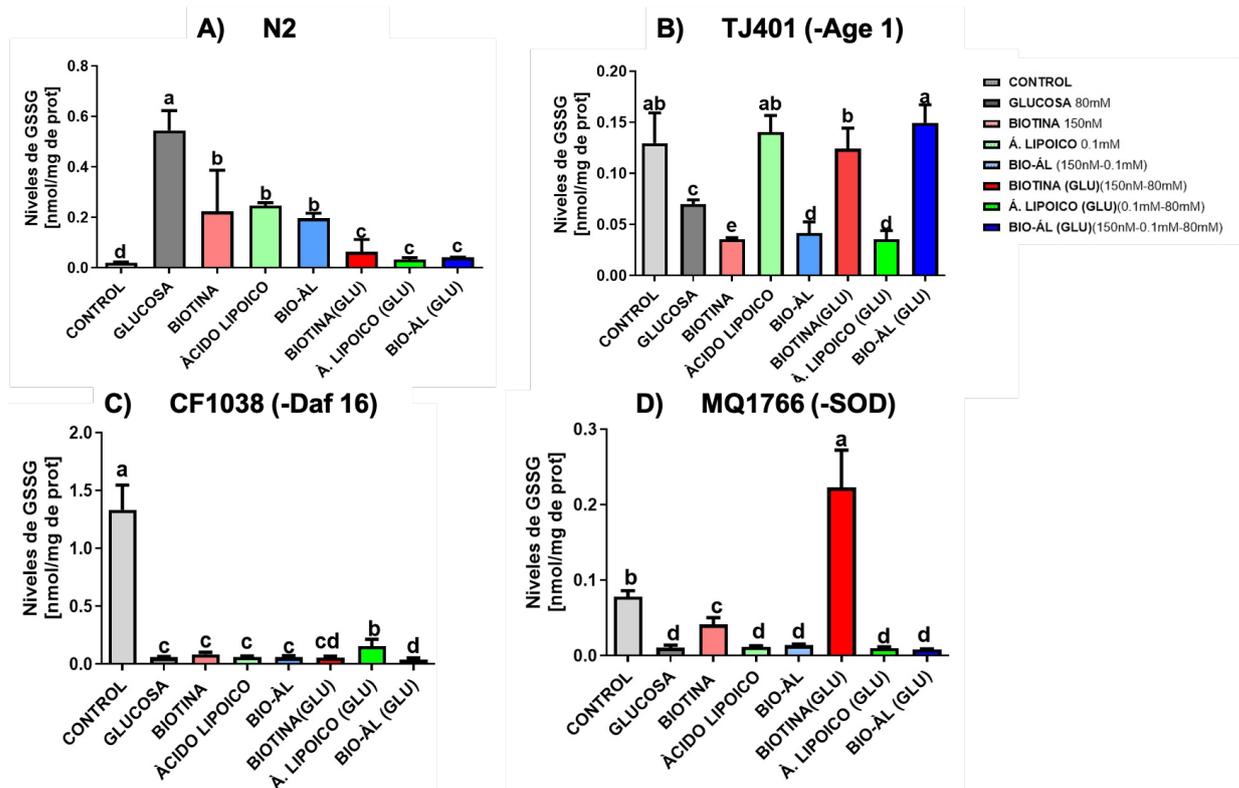


Figura 35. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la actividad de GSSG en *C. elegans*. Cuantificado con factor A (daño o no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS (3 repeticiones por grupo).

En la cepa N2 (**Figura 36 A**) se observa que la relación de glutatión oxidado/reducido es mayor en el grupo control sin glucosa y la combinación de los nutraceuticos, tanto en presencia como en ausencia de glucosa. Por su parte la cepa TJ401 (**Figura 36 B**) muestra que el grupo con la relación más alta es el grupo control sin glucosa. La cepa CF1038 (**Figura 36 C**) nos muestra que el grupo tratado con biotina en presencia de glucosa contiene el nivel más alto en la relación GSH/GSSG, seguido del grupo de la combinación en ausencia de glucosa. Finalmente, la cepa MQ1766 (**Figura 36 D**) muestra que el grupo tratado con ácido lipoico en ausencia de glucosa muestra una diferencia significativa al tener un valor de relación más alto que los demás grupos.

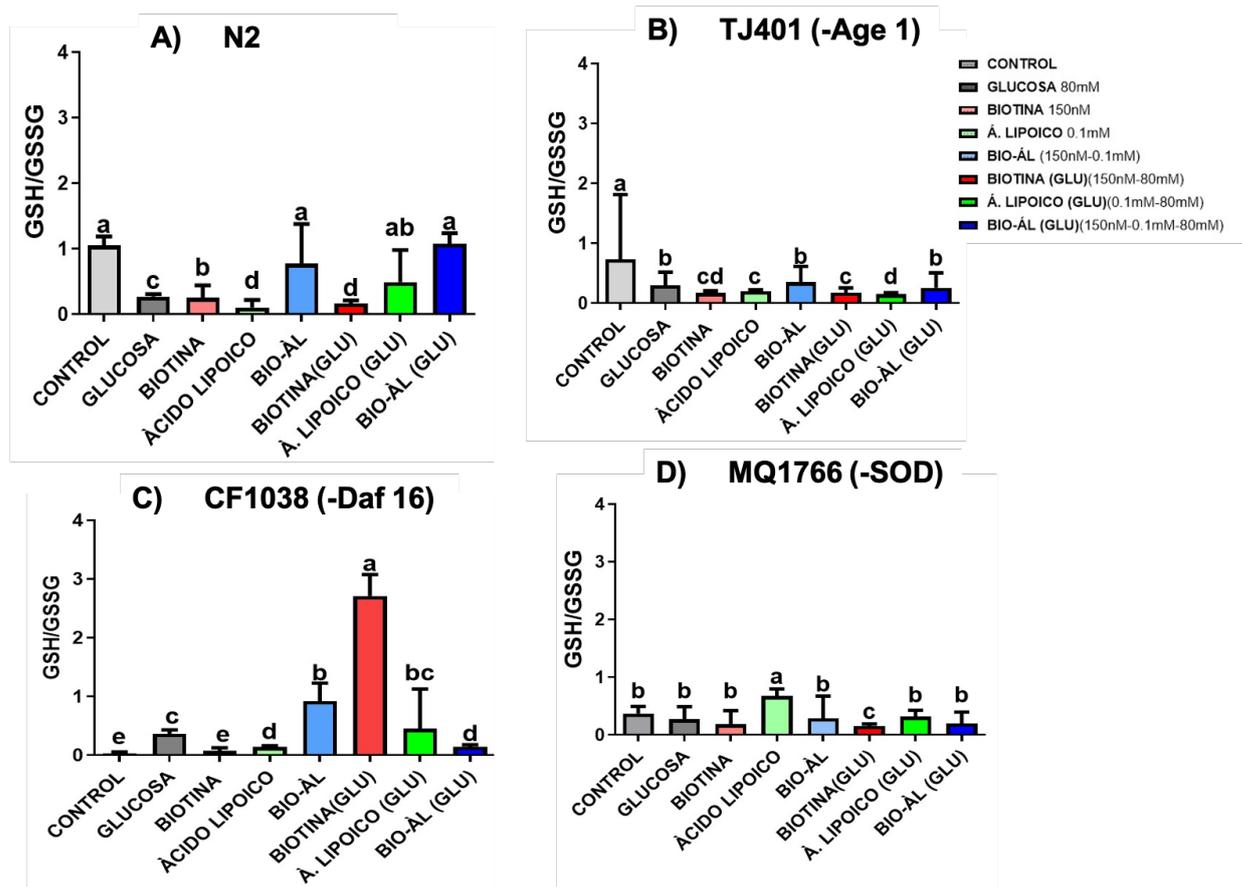


Figura 36. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la relación GSH/GSSG en *C. elegans*. Cuantificado con factor A (daño o no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766, ANOVA, Tukey con un $\alpha=0.05$, Promedio+DS (3 repeticiones por grupo).

7.14 Cuantificación de memoria condicionada por alimento en *C. elegans*: Índice de quimiotaxis

El índice de quimiotaxis en *C. elegans* es una medida utilizada para evaluar la respuesta de los nematodos a gradientes de sustancias químicas en el ambiente. Es importante tener en cuenta que lo fundamental de esta prueba es observar que el entrenamiento es esencial para la prueba. Como se observa en la **Figura 37** los IQ más altos se presentan en los grupos previamente entrenados. En los grupos tratados con la combinación de los nutraceuticos nos genera IQ elevados en presencia y ausencia de glucosa. Por otro lado, es importante mencionar que si bien *C. elegans* carece de entrenamiento previo en presencia de glucosa se observa que la combinación de los nutraceuticos presenta de igual manera el IQ más alto.

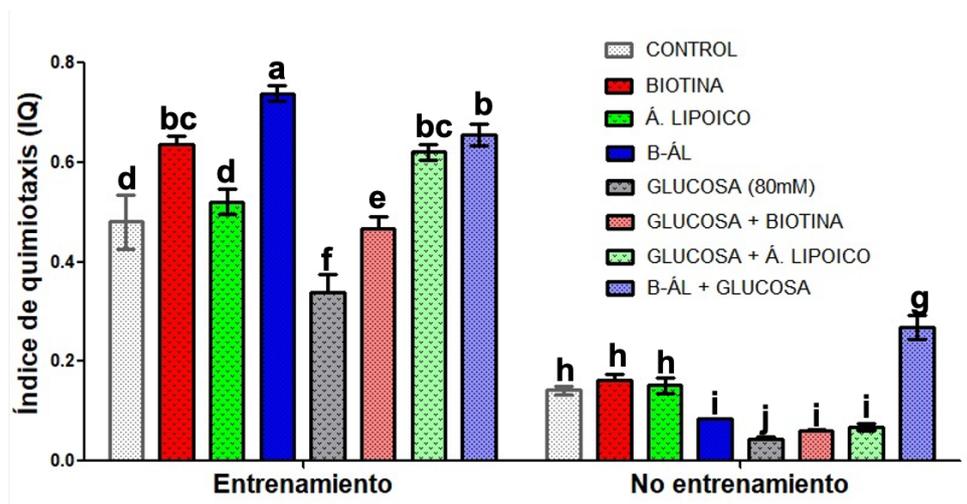


Figura 37. Efecto del ácido lipoiico y la biotina en el entrenamiento de la memoria condicionada por alimento en *C. elegans*. Cuantificación del ÍQ a partir del entrenamiento y no entrenamiento de la memoria con una concentración de 100 μ M de NaCl. Se realizó un ANOVA, Tukey $\alpha=0.05$, promedio+DS (n=100 nemátodos por caja con 3 repeticiones).

En los ÍQ de las cepas N2, TJ401 y MQ1766 (**Figura 38 A, B y D**) se observa un aumento con respecto a los controles (tanto en presencia como en ausencia de glucosa) en los grupos con los nutraceuticos por separados y en combinación, tanto en presencia de glucosa como en ausencia, siendo la combinación el tratamiento más efectivo. En el caso de la cepa CF1038 (**Figura 38 C**) se observa una diferencia significativa con respecto a los controles tanto en presencia como en ausencia de glucosa) y los demás grupos, pero de igual forma se observa un incremento del ÍQ de los grupos con nutraceuticos por separado y en combinación en presencia de glucosa.

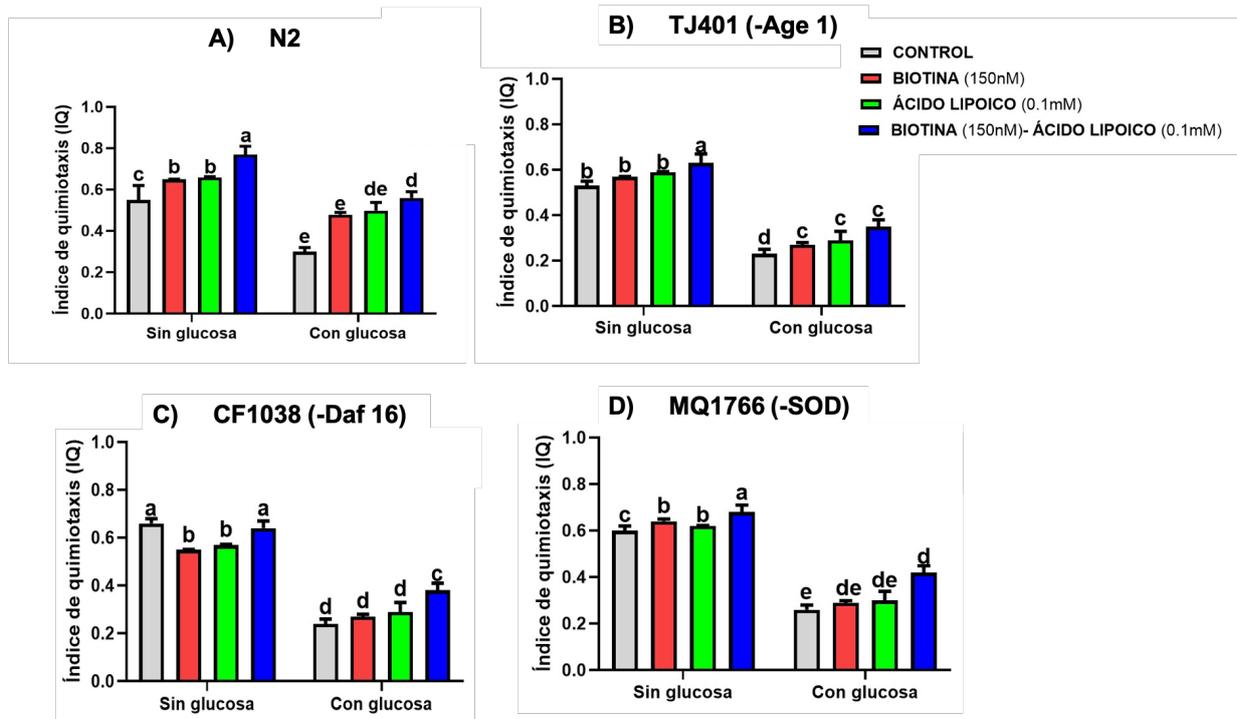


Figura 38. Efecto del ácido lipoico y la biotina en el índice de quimiotaxis en *C. elegans*. Cuantificación del IQ a partir del entrenamiento de la memoria con una concentración de 100 μ M de NaCl y de los factores A (daño o no daño) y B (Tratamientos seleccionados) en A) Cepa N2, B) Cepa TJ401, C) CF1038 Y D) MQ1766. Se realizó un ANOVA, Tukey $\alpha=0.05$, promedio+DS (n=100 nemátodos por caja con 3 repeticiones).

7.15 Evaluación de la motilidad de *C. elegans* tratados con ácido lipoico y biotina

Se observa en el estudio de motilidad en donde se obtuvieron medidas de longitud (X) y amplitud (Y) de onda para obtener las distancias euclidianas de las cuales se observa el siguiente comportamiento a partir de los centroides establecidos: La cepa N2 muestra (**Figura 39**) un comportamiento similar a los grupos control y la combinación de los nutraceuticos con glucosa por el posicionamiento de su centroide. Por su parte las cepas TJ401 y CF1038 muestran un efecto similar en el que el grupo en presencia de daño y la combinación de los nutraceuticos tienen un comportamiento similar que el control sin glucosa. Por otra parte, en la cepa

MQ1766 se observa una dispersión marcada en ambos grupos, en donde de igual forma se observa la diferencia entre el grupo con glucosa y el grupo en combinación con los nutraceuticos aún en presencia de daño.

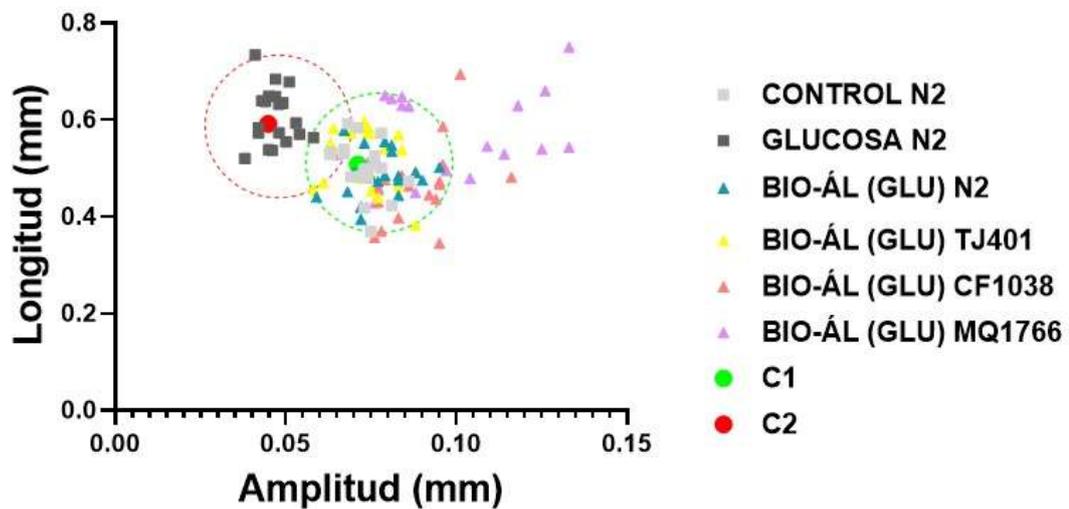


Figura 39. Efecto del ácido lipoico y la biotina en la motilidad de *C. elegans*. Análisis del comportamiento de la motilidad en los grupos CONTROL, GLUCOSA y BIO-ÁL (GLU) a partir de los centroides C1, C2 y C3 en Cepa N2, TJ401, CF1038 y MQ1766. Se realizó un análisis de K-medias (n=20 nemátodos por grupo).

7.16 Análisis de componentes principales

Es importante señalar que existe una correlación en cada parámetro evaluado, esto analizado por un ensayo de componentes principales (**Figura 40**), en donde se agrupan las siguientes características:

Grupo I: Longevidad, quimiotaxis y ROS; **Grupo II:** Glutación total, volumen y proteína; **Grupo III:** Ninguno; **Grupo IV:** SOD, CAT y triglicéridos.

Dichos grupos denotan la relación y diferencias en cada parámetro evaluado en *C. elegans* en grupos control, glucosa, ácido lipoico, biotina, combinación aun en presencia de daño. El análisis de componentes principales reduce la

dimensionalidad de las variables analizadas para así determinar cuáles contribuyen de manera significativa a la variabilidad observada en los datos. En este estudio se incluyen 9 variables relacionadas con características morfológicas (volumen, contenido total de proteína, contenido de triacilglicéridos), bioquímicas (niveles de glutatión total, actividad de SOD, actividad de CAT y el contenido de ROS) y comportamentales (Longevidad e índice de quimiotaxis) de una población experimental (Cepa N2) expuesta a diferentes condiciones en presencia y ausencia de glucosa, con biotina, ácido lipoico y la combinación de ambos nutraceuticos.

Tras la estandarización de los datos, se observan dos componentes principales (CP1 y CP2) que explican el 89.4% de variabilidad total. El CP1, que representa el 77.04% de la varianza, está altamente correlacionado con variables como el contenido de ROS, el contenido de glutatión total y actividad de SOD y CAT, lo que indica que este componente está relacionado principalmente con el estrés oxidativo y la defensa antioxidante. De igual forma se encuentran en función del CP1 el volumen, el contenido total de proteína y el contenido de triacilglicéridos lo que denota un cambio metabólico en los nemátodos.

Por otra parte se observa en el CP2 (que representa el 12.36% de la varianza) una correlación entre las características de longevidad e índice de quimiotaxis lo que denota que este componente se encuentra relacionado principalmente con la pérdida de memoria y la sobrevivencia de los nemátodos.

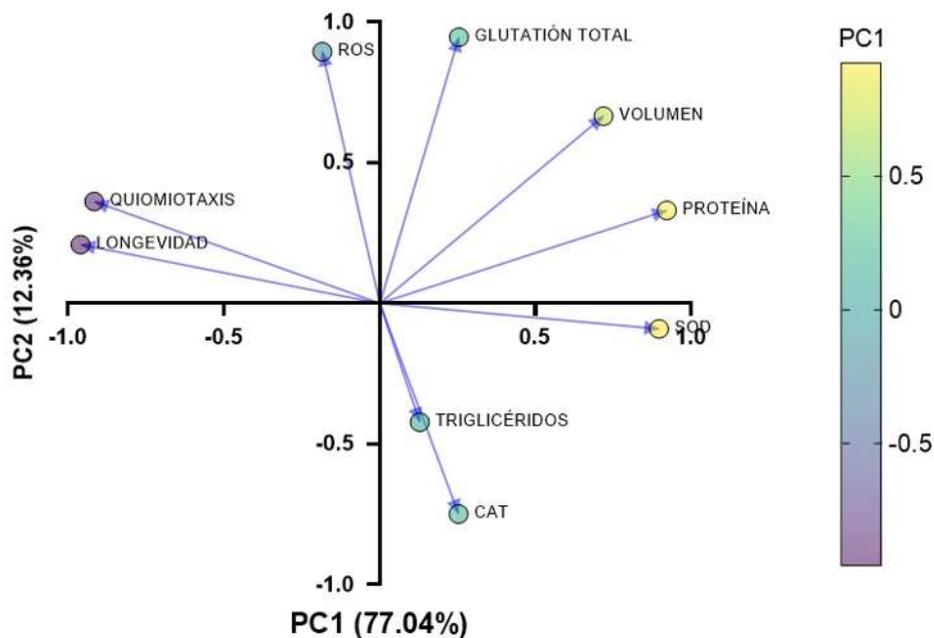


Figura 40. Análisis de componentes principales de los diferentes parámetros evaluados en *Caenorhabditis elegans*. Se evaluó la correlación existente entre la variabilidad de las diferentes características morfológicas (volumen, contenido total de proteína, contenido de triacilglicéridos), bioquímicas (niveles de glutatión total, actividad de SOD, actividad de CAT y el contenido de ROS) y comportamentales (Longevidad e índice de quimiotaxis) de una población experimental (Cepa N2), en presencia y ausencia de glucosa, biotina, ácido lipoico y la combinación de ambos nutraceuticos, esto con una variabilidad de 89.4% (CP1 77.04% y CP2 12.36%).

7.17 Dosis equivalente de ácido lipoico y biotina en humanos

Es importante resaltar que en la tabla 7 se muestran las concentraciones en nemátodos y las dosis equivalentes para un individuo de 70 kg lo que permitiría plantear estudios clínicos en investigaciones futuras, en concentraciones cuya equivalencia tiene un efecto neuroprotector en *C. elegans*.

Tabla 7. Concentraciones de biotina y ácido lipoico administradas en *C. elegans* y su dosis equivalente en humanos

| <i>Caenorhabditis elegans</i> | | Dosis equivalente en Humanos | |
|-------------------------------|-----------------|------------------------------|---------------|
| □ Biotina | □ Ácido lipoico | Biotina | Ácido lipoico |
| 50 nM | 0.1mM | 56 µg | 613.5 mg |
| 100nM | 0.5mM | 112 µg | 3067.5 mg |
| 150nM | 1.0mM | 168 µg | 6135 mg |
| Combinación | | | |
| 150nM | 0.1mM | 168 µg | 613.5 mg |

Esta investigación presenta evidencia de: 1) Los niveles absorbidos de ácido lipoico y biotina por el SMVT aumentan la esperanza de vida de *C. elegans* en presencia de 20mM de H₂O₂ o glucosa 80 mM. 2) El ácido lipoico y la biotina tiene un efecto protector ante estrés oxidativo puesto que reestablecen los niveles de SOD, CAT y GSH/GSSG permitiendo una protección endógena y exógena por las propiedades descritas de ambos nutraceuticos, visualizándose en cambios morfológicos reduciendo el volumen en conjunto con el contenido proteico, mostrando un efecto sinérgico antioxidante. 3) dicha actividad protectora se refleja en los cambios comportamentales, disminuyendo la pérdida de memoria y tendiendo a tener una motilidad más apegada a las condiciones basales de *C. elegans*, reduciendo así el daño.

VIII. DISCUSIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas, como el Alzheimer, el Parkinson y la esclerosis lateral amiotrófica, representan un desafío creciente en la salud global debido al envejecimiento poblacional y a la falta de tratamientos curativos. Estas condiciones se caracterizan por la progresiva disfunción y muerte de las neuronas, impulsadas en gran parte por el estrés oxidativo, la neuroinflamación y la disfunción mitocondrial (Halliwell, 2019; Wang *et al.*, 2014). Aunque los tratamientos farmacológicos actuales se centran en el manejo sintomático, su efectividad está limitada por efectos secundarios y baja biodisponibilidad (Dias *et al.*, 2013; Halliwell & Gutteridge, 2015).

En este contexto, los nutraceuticos, especialmente vitaminas y antioxidantes como la biotina y el ácido lipoico, han ganado atención por su potencial para modular procesos

biológicos clave implicados en la neurodegeneración. Estas moléculas no solo mejoran la función antioxidante al neutralizar especies reactivas de oxígeno y regenerar otros antioxidantes, sino que también modulan vías de señalización celular relacionadas con la inflamación y el metabolismo energético, ofreciendo una alternativa complementaria y menos invasiva para la prevención y tratamiento de estas enfermedades (Shinto *et al.*, 2014; Mock *et al.*, 2020). La creciente evidencia científica respalda el estudio de nutraceuticos como herramientas terapéuticas en la búsqueda de estrategias más efectivas para abordar los desafíos de las enfermedades neurodegenerativas.

En esta investigación se analizaron las concentraciones propuestas (apartado 6.2) de biotina y ácido lipoico observando que están dentro de la CL₁₀, al ampliar el margen de concentraciones de cada nutraceutico disminuye el porcentaje de sobrevivencia de manera mínima dentro de un 90 %, lo que permite clasificar la susceptibilidad de la población permitiendo así que sobrevivan los nemátodos que nos son susceptibles. Cuando se aumenta la concentración existe un cambio y en el caso del ácido lipoico un agente antioxidante en exceso se puede convertir en un factor prooxidante (Wang *et al.*, 2014), lo que puede desencadenar un ambiente con un estrés oxidativo elevado (Parcker *et al.*, 2010), hasta inducción de apoptosis por el daño mitocondrial desencadenando apoptosis neuronal (Wang *et al.*, 2014). En el caso de la biotina, cuando se aumenta la concentración también existe una pequeña disminución en el porcentaje de sobrevivencia, lo que puede ser debido a una sobrecarga metabólica por la desregulación del metabolismo energético, lo que genera metabolitos intermediarios que son susceptibles a la oxidación (Mock *et al.*, 2020) y también puede ser a efectos en la regulación genética por la biotilación de histonas (Fernández-Mejía y Lazo-de-la-Vega, 2011). Por lo anterior fueron seleccionadas las concentraciones de biotina (150nM) y ácido lipoico (0.1mM) las cuales mostraron un porcentaje de sobrevivencia mayor a las otras concentraciones propuestas frente a estrés oxidativo artificial.

Una parte importante para la verificación del efecto neuroprotector de los nutraceuticos es la absorción y la biodisponibilidad de los nutraceuticos, en este caso tanto el ácido lipoico como la biotina ingresan a las neuronas por el sistema de transporte multivitamínico dependiente de sodio (SMVT), este transportador especializado se encuentra en la membrana de las neuronas en el caso de *C. elegans*, lo que resalta su importancia en la regulación sistémica de moléculas esenciales (Said, 2011). En el caso

de la biotina el SMVT tiene un reconocimiento de alta afinidad, facilitando su ingreso a través de un mecanismo de transporte acoplado al sodio (Mock *et al.*, 2020). Por su parte, el ácido lipoico tiene una afinidad más baja en comparación con la biotina, es por eso que en las **Figuras 22 y 23** se observa que la combinación de ambos nutraceuticos tiende a tener niveles menores en *C. elegans* respecto a las concentraciones más altas propuestas, esto puede deberse a una saturación por competición a la afinidad del SMVT.

Por otra parte la esperanza de vida de los nemátodos se incrementó con la biotina, esto pudo ser debido a que puede regular el metabolismo energético, ya que la biotina actúa como cofactor de las carboxilasas actuando así en la gluconeogénesis, síntesis de ácidos grasos y el ciclo de Krebs, promoviendo la homeostasis energética. Además, se ha reportado que puede regular procesos energéticas a través de la vía del AMPK (Aguilera y Fernández, 2012) que en *C. elegans* optimiza el metabolismo y regula el envejecimiento (Ziegler *et al.*, 2006). La biotina modula la expresión de genes clave involucrados en la defensa contra el estrés oxidativo, como aquellos que codifican para la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT), contribuyendo a la protección celular frente al daño oxidativo acumulado (Tourbah *et al.*, 2016). Además, la biotina activa la vía DAF-16/FOXO en *Caenorhabditis elegans*, donde DAF-16, un regulador de la longevidad incrementa la expresión de genes relacionados con la respuesta antioxidante, la reparación celular y la defensa frente al estrés térmico y oxidativo (Xu *et al.*, 2017).

Por su parte, se ha reportado que el ácido lipoico puede modular la vía de señalización de la insulina, reduciendo la señalización de esta vía, promoviendo la activación de la vía DAF-16/FOXO en *C. elegans*, potenciando la expresión de genes que promueven la reparación celular, detoxificación de ROS y la resistencia al estrés (Hatzis & Varonos, 2016; Xu *et al.*, 2017). Lo anterior está en consonancia con el aumento de la esperanza de vida de *C. elegans* en las diferentes cepas (N2, TJ401, CF1038 y MQ1766), los resultados muestran una mayor tasa de supervivencia en el grupo tratado con la combinación de los nutraceuticos, en comparación con los grupos de control. Este efecto positivo se amplifica aún más cuando los nutraceuticos se administran en presencia de daño, observándose un incremento significativo en la longevidad y la supervivencia, alcanzando niveles cercanos a los del grupo de control sin daño. Esta

combinación sugiere un potencial efecto protector que no solo mejora la supervivencia general, sino que también ofrece beneficios adicionales frente al daño celular, destacando la importancia de los nutraceuticos en la modulación de la longevidad y la resistencia al estrés celular (Tourbah *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2017).

La morfología es otro parámetro evaluado en donde es notorio el aumento del volumen y proteína total en presencia de glucosa 80mM, ya que esta concentración afecta el metabolismo energético, generando subproductos que interfieren con procesos celulares normales (Zhou & Zhou, 2012). Cuando los niveles de glucosa son excesivamente altos, pueden producirse especies reactivas de oxígeno (ROS) y productos finales de glicación avanzada (AGEs). Las ROS inducen estrés oxidativo, lo que daña estructuras celulares como proteínas, lípidos y ADN. Por su parte, los AGEs se forman cuando la glucosa reacciona de manera no enzimática con proteínas, lípidos o ácidos nucleicos, alterando su funcionalidad y afectando la actividad de enzimas, receptores y otras proteínas celulares, lo que interfiere con procesos como la transducción de señales, la expresión génica y la producción de energía (Sies, 2015; Halliwell, 2006). En este contexto se observa que la administración de biotina restaura el tamaño corporal (**Figura 26**), probablemente al mejorar el metabolismo energético mediante la optimización de las carboxilasas, lo que permite la utilización de los excesos que previene la acumulación de lípidos preservando la salud metabólica además de controlar los niveles de ROS presentes (Packer *et al.*, 1997; Sedel *et al.*, 2015). También se observa la reducción del volumen (Figura 27) y contenido de proteína total (Figura 28), esto se debe a que estos reflejan alteraciones en el estado de salud y funcionamiento celular en respuesta a diversos factores, como el estrés o el tratamiento con biotina.

El volumen de los nematodos puede indicar una acumulación o pérdida de fluidos intracelulares, lo que afecta su tamaño general. En modelos de neurodegeneración o estrés, se ha observado que el volumen celular puede reducirse debido a alteraciones en el metabolismo celular, deshidratación o daño a las membranas celulares (Garg *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2014). Por otro lado, el contenido total de proteínas es un indicador directo de la capacidad biosintética y de la homeostasis celular.

Un aumento en el contenido de proteínas podría sugerir un intento de reparación celular o acumulación de proteínas mal plegadas, mientras que una disminución podría estar relacionada con la degradación celular o la disfunción metabólica (Xu *et al.*, 2017; Schapira *et al.*, 2020). En este contexto no se descarta la intervención de vías inflamatorias puesto que se observan incrementos en el contenido de triacilglicéridos (Figura 28) ya que la acumulación de estos puede activar las vías inflamatorias mediante la interacción con receptores y las vías de señalización relacionadas con la citoquina, como la vía NF- κ B. Esta activación resulta en la liberación de citoquinas proinflamatorias, como TNF- α , IL-6 e IL-1 β , que pueden alterar la homeostasis celular y contribuir a un entorno inflamatorio en el cerebro. Esta inflamación crónica es un factor clave en diversas enfermedades neurodegenerativas, como el Alzheimer y el Parkinson, ya que aumenta el estrés oxidativo y el daño neuronal. Además, el exceso de triacilglicéridos puede inducir la disfunción mitocondrial y exacerbar el daño celular al afectar la producción energética y el equilibrio redox celular, lo que contribuye a la neurodegeneración (Peters *et al.*, 2015; Halliwell & Gutteridge, 2015; Tourbah *et al.*, 2016; Birnbaum, 2017).

Por su parte la administración de ácido lipoico restaura el tamaño corporal del nematodo con respecto al control sin glucosa (Figura 26) probablemente al actuar como un potente antioxidante y modulador metabólico que reduce los niveles de ROS y protege contra el daño inducido por AGEs, restaurando la homeostasis celular y los procesos de crecimiento (Shinto *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014), preservando la salud metabólica además de controlar los niveles de ROS presentes. También se observa la reducción del volumen (Figura 27) y contenido de proteína total (Figura 28), esto se debe a que estos reflejan alteraciones en el estado de salud y funcionamiento celular en respuesta a diversos factores, como el estrés o el tratamiento con biotina.

En ambos casos se observa que en la combinación de la biotina y el ácido lipoico pueden disminuir la acumulación de triacilglicéridos en *C. elegans* en presencia de glucosa debido a su influencia sobre la síntesis de lípidos y la modulación de vías energéticas y antioxidantes, lo que promueve la acumulación de estos metabolitos como una forma de respuesta adaptativa al estrés metabólico.

La biotina por su parte modula la síntesis de ácidos grasos y el almacenamiento de lípidos. Las carboxilasas (dependen de biotina) participan en la gluconeogénesis y la síntesis de ácidos grasos, podría facilitar la acumulación de triacilglicéridos al incrementar la disponibilidad de estos metabolitos para la formación de reservas lipídicas. Cuando se introduce glucosa, que puede promover la lipogénesis, la biotina podría potenciar este proceso, favoreciendo la acumulación de triacilglicéridos (Birnbaum, 2017). Por otro lado el ácido lipoico también está implicado en la regulación de la homeostasis energética. El ácido lipoico puede aumentar la eficiencia metabólica y la capacidad de la célula para utilizar la glucosa, lo que podría aumentar la síntesis de lípidos. Además, su capacidad para reducir el estrés oxidativo puede modificar la señalización relacionada con la síntesis de triacilglicéridos, incrementando su acumulación en condiciones de alta glucosa. Esto podría estar asociado con la regulación positiva de la vía de lipogénesis y la protección contra el daño celular inducido por los ROS (Sies, 2015; Halliwell & Gutteridge, 2015).

La evaluación de los parámetros bioquímicos resalta un incremento significativo en la capacidad antioxidante, evidenciada por la actividad óptima de la superóxido dismutasa (SOD), que facilita la neutralización eficiente de los aniones superóxido (Zhou & Zhou, 2012). Además, se observa una mejora en la actividad de la catalasa (CAT), evitando su agotamiento frente al estrés oxidativo (Shinto *et al.*, 2014). Paralelamente, los niveles de glutatión reducido (GSH) se restauran, lo que se atribuye a la capacidad regeneradora del ácido lipoico y al soporte metabólico proporcionado por la biotina (Hatzis & Varonos, 2016). Estos efectos están correlacionados con una disminución de las especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que confirma una reducción en el estrés oxidativo global (Spain *et al.*, 2017).

En los resultados observados, las enzimas antioxidantes alcanzan niveles comparables a los del control, incluso en condiciones de daño oxidativo, cuando se emplea la combinación de ácido lipoico y biotina. Este fenómeno subraya la sinergia entre ambos nutracéuticos, que no solo restablecen el equilibrio redox, sino que también previenen el daño acumulativo, lo que podría tener implicaciones terapéuticas en enfermedades caracterizadas por estrés oxidativo crónico. La evidencia sugiere que esta combinación

podría ser eficaz en modelos de neurodegeneración u otros trastornos relacionados con el daño oxidativo.

La parte central de este estudio se basa en una neuroprotección, esta fue evaluada por los cambios comportamentales en los nematodos, a partir de la medición de la pérdida de memoria por el índice de quimiotaxis y el cambio en la motilidad, esto evaluado a través de la medición de la longitud y amplitud de onda en el movimiento de los nemátodos. Es importante mencionar que existen estudios clínicos recientes en donde han explorado el uso de dosis altas de biotina (300 mg/día) en la esclerosis múltiple progresiva, mostrando resultados prometedores en la reducción de la discapacidad y la mejora de la función motora (Tourbah *et al.*, 2016; Birnbaum, 2017). También se han realizado avances en tratamientos utilizando potentes antioxidantes, como el ácido lipoico y epigallocatequina del té negro, observándose que la exposición a estos compuestos evitaba la pérdida de memoria en nematodos, manteniendo un comportamiento normal, medido por el índice de decisión mediado por la memoria a corto plazo (Lim *et al.*, 2013). Por lo que se realizó una evaluación de la pérdida de memoria en donde se observa que es fundamental el entrenamiento (Figura 37) para elevar el IQ en presencia de daño o en ausencia del mismo. Se ha descrito que el entrenamiento de la memoria es esencial para prevenir o retrasar la pérdida de funciones cognitivas en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o el Parkinson, ya que fomenta la plasticidad sináptica y fortalece las redes neuronales, ayudando a compensar el deterioro asociado a estas patologías. A través de ejercicios específicos, se promueve la reorganización y creación de nuevas conexiones cerebrales, lo que mejora la resiliencia del cerebro frente a los daños neuronales progresivos. Además, el entrenamiento cognitivo puede regular factores neuroprotectores y reducir el impacto de procesos dañinos como el estrés oxidativo y la inflamación, que son comunes en estas enfermedades. Por último, este tipo de estimulación ayuda a prevenir el deterioro por desuso, preservando las capacidades cognitivas y prolongando la independencia funcional en las personas afectadas (Lövdén *et al.*, 2010; Ngandu *et al.*, 2015; Reijnders *et al.*, 2013).

En este contexto, se observa que la administración de biotina y ácido lipoico aumenta el índice de quimiotaxis respecto a los controles con glucosa y sin glucosa (Figura 38), teniendo un mayor IQ la combinación de los nutraceuticos. Por otra parte la evaluación

de motilidad muestra un comportamiento similar al control en el grupo en presencia de glucosa y la combinación de los nutraceuticos (Figura 39), dichas mejoras en el índice de quimiotaxis y motilidad en *C. elegans* con la administración de biotina y ácido lipoico está relacionada con su acción sobre rutas metabólicas y de señalización celular, como la vía DAF-16/FOXO, un factor de transcripción clave que regula genes asociados con la respuesta antioxidante, la reparación celular y la resistencia al estrés oxidativo. Estos compuestos promueven la activación de mecanismos que aumentan la resiliencia neuronal y la integridad celular, esenciales para la respuesta quimiotáctica eficiente (Xu *et al.*, 2017; Sies, 2015).

Además, la biotina y el ácido lipoico optimizan la función mitocondrial y reducen los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS), protegiendo a las neuronas del daño asociado al estrés oxidativo (Shinto *et al.*, 2014; Mock *et al.*, 2020). Esta combinación de efectos antioxidantes y neuroprotectores puede restaurar las capacidades de *C. elegans* para procesar estímulos químicos de manera más efectiva, mejorando su capacidad de orientación en comparación con los organismos sometidos a estrés sin tratamiento con estos nutraceuticos (Wang *et al.*, 2014; Peters *et al.*, 2015).

En esta investigación se propone el siguiente modelo (**Figura 41**) del efecto del ácido lipoico y la biotina en la neuroprotección, longevidad y resistencia al estrés oxidante en *Caenorhabditis elegans*:

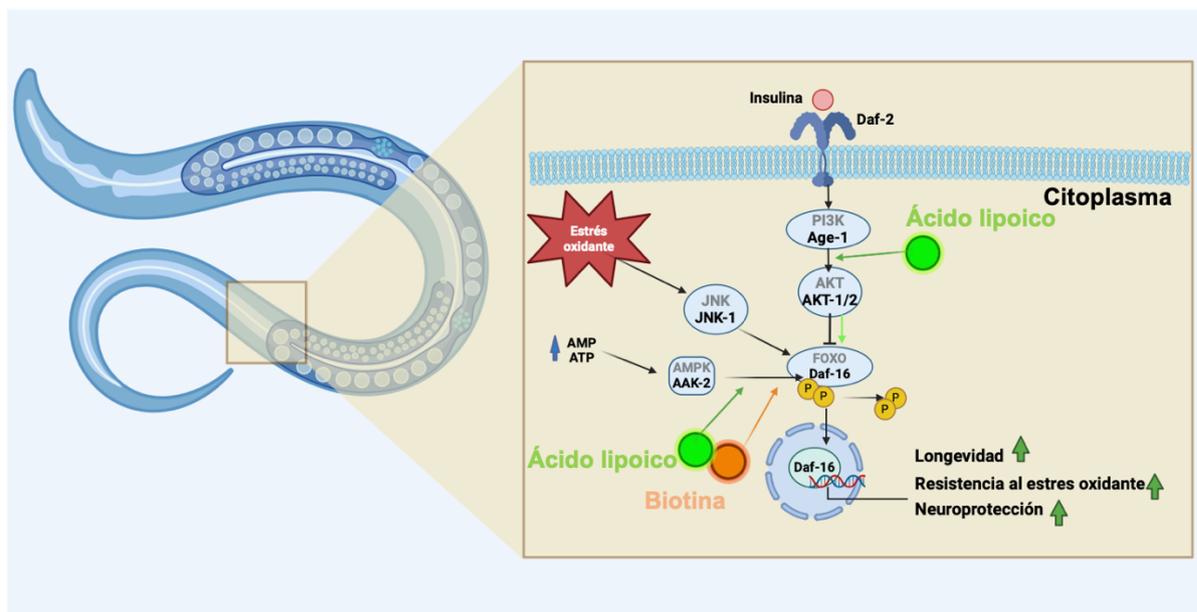


Figura 41. Modelo propuesto del efecto neuroprotector del ácido lipoico y la biotina en *Caenorhabditis elegans*. La imagen muestra un modelo de cómo la biotina y el ácido lipoico ejercen efectos neuroprotectores y de mejora en la longevidad y resistencia al estrés oxidante en *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). Estos compuestos influyen en las vías de señalización celular, como la vía PI3K-Akt, que activan el factor de transcripción Daf-16, responsable de la regulación de genes asociados con la longevidad y la protección frente al estrés oxidativo. Además, la activación de AMPK por la biotina y el ácido lipoico contribuye a mejorar la homeostasis energética, protegiendo al organismo contra daños celulares inducidos por el estrés.

Estos hallazgos sugieren que la biotina y el ácido lipoico podrían tener potencial terapéutico en la modulación de procesos relacionados con el envejecimiento y las enfermedades neurodegenerativas (Kanehisa *et al.*, 2020; Nascimento *et al.*, 2019).

IX. CONCLUSIÓN

La combinación de ácido lipoico y de biotina aumenta la longevidad y la resistencia al estrés oxidativo inducido por altas concentraciones de glucosa en *C. elegans*, modulando la actividad enzimática y disminuyendo la pérdida de memoria.

X. PERSPECTIVAS

Los datos obtenidos en este proyecto plantean nuevas perspectivas acerca del efecto neuroprotector de la biotina y el ácido lipoico.

1. Análisis de vías de señalización moduladoras de inflamación para determinar la importancia de la inflamación en un proceso del estrés oxidante.

El análisis de las vías de señalización que regulan la inflamación es crucial para entender cómo este proceso contribuye al estrés oxidante en diversas condiciones patológicas. La inflamación crónica puede actuar como un potenciador del daño celular inducido por especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que a su vez puede exacerbar el estrés oxidante y generar un círculo vicioso de daño celular. Al estudiar cómo la inflamación modula las

vías de señalización clave, como la NF- κ B y la MAPK, podemos identificar puntos de intervención para mitigar los efectos del estrés oxidante en enfermedades neurodegenerativas y metabólicas, abriendo caminos para nuevas terapias antiinflamatorias y antioxidantes.

2. Evaluación de parámetros que permitan distinguir el efecto neuroprotector del ácido lipoico y la biotina.

La evaluación de los efectos neuroprotectores del ácido lipoico y la biotina es esencial para comprender su potencial terapéutico en enfermedades neurodegenerativas. Para esto, se deben establecer parámetros específicos que permitan medir la mejora en la función neuronal, como la resistencia al daño oxidativo, la protección de las células nerviosas y la activación de rutas de señalización asociadas a la longevidad. El uso de modelos experimentales como *C. elegans* y cultivos celulares permitirá cuantificar la disminución de marcadores de estrés oxidativo, la preservación de la estructura neuronal y la mejora en la motilidad o la memoria, diferenciando así el efecto neuroprotector de estos compuestos.

3. Uso de cepas mutantes y transgénicas asociadas a las enfermedades y a las vías que se activan por el uso del ácido lipoico y la biotina.

El uso de cepas mutantes y transgénicas es fundamental para comprender los mecanismos moleculares que subyacen al efecto del ácido lipoico y la biotina en las enfermedades neurodegenerativas. Estas cepas, que presentan alteraciones en genes específicos de las vías de señalización activadas por estos compuestos, pueden proporcionar información crucial sobre las interacciones moleculares involucradas en su actividad neuroprotectora. Modelos transgénicos con mutaciones en genes clave como *daf-16* o *akt-1* en *C. elegans* podrían ayudar a identificar cómo la biotina y el ácido lipoico afectan las vías relacionadas con la longevidad, la neuroprotección y la respuesta al estrés, aportando datos relevantes para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.

XI. REFERENCIAS

Abundis, E. M., Rodríguez, M. A. S., & Bentlakder, M. E. H. (2005). Participación de la mitocondria en el desarrollo de estrés oxidativo en la obesidad. *Bioquímica*, 30(3), 82-89.

Acosta, G. B. (2013). *Misterios y realidades de la enfermedad de Alzheimer*. Recuperado de: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/8374>

Adam-Vizi, V. (2005). Production of reactive oxygen species in brain mitochondria: Contribution by electron transport chain and non-electron transport chain sources. *Antioxidants and Redox Signaling*, 7(8), 1140-1149.

Adibhatla, R. M., Hatcher, J. F., & Dempsey, R. J. (2003). Phospholipase A2, hydroxyl radicals, and lipid peroxidation in transient cerebral ischemia. *Antioxidants & Redox Signaling*, 5(5), 647-654.

Aging Biomarkers: From Functional Tests to Multi-Omics Approaches [Internet]. (2020). *Proteomics*, 20, 1900408. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pmic.201900408>

Aguilera Méndez, A. (2020). La nutrición materna y la programación metabólica: el origen fetal de las enfermedades crónicas degenerativas en los adultos. *CIENCIA ergo-sum*, 27(3).

Aguilera Méndez, A., Boone Villa, D., Nieto Aguilar, R., Villafaña Rauda, S., Molina, A. S., & Sobrevilla, J. V. (2022). Papel de las vitaminas en el síndrome metabólico y las enfermedades cardiovasculares. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 1-24.

Aguilera Méndez, A., Hernández Equihua, M. G., Rueda Rocha, A. C., Guajardo López, C., Nieto Aguilar, R., Serrato Ochoa, D., & Guzmán Nateras, J. A. (2018). Efecto protector de la suplementación con biotina contra el síndrome metabólico inducido por alta fructosa en ratas. *Nutrition Research*, 57, 86-96.

Aguilera, J., Fanjul, M., & Echeverría, V. (2018). Biotin and its role in metabolic syndrome: A review. *Molecular Metabolism*, 9, 45-56. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.01.001>

Aguilera-Méndez, A., & Fernández-Mejía, C. (2012). The hypotriglyceridemic effect of biotin supplementation involves increased levels of cGMP and AMPK activation. *Biofactors*, 38(5), 387-394.

Albarracín, C. A., Fuqua, B. C., Evans, J. L., & Goldfine, I. D. (2008). La combinación de picolinato de cromo y biotina mejora el metabolismo de la glucosa en pacientes obesos con sobrepeso no controlado tratados con diabetes tipo 2. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 24, 41-51.

Albarracín, C., Fuqua, B., Geohas, J., Juturu, V., Finch, M. R., & Komorowski, J. R. (2007). La combinación de cromo y biotina mejora los factores de riesgo coronario en la diabetes mellitus hipercolesterolémica tipo 2: un ensayo clínico

aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo. *Journal of Cardiometabolic Syndrome*, 2, 91-97.

Albert, M., Moss, M., Blacker, D., Tanzi, R., & McArdle, J. (2007). Longitudinal change in cognitive performance among individuals with mild cognitive impairment. *Neuropsychology*, 21, 158-169.

Alexander, A. G., Marfil, V., & Li, C. (2014). Use of *Caenorhabditis elegans* as a model to study Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. *Frontiers in Genetics*, 5, 279. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00279>

Alibhai, F. J., Lim, F., Yeganeh, A., DiStefano, P. V., Binesh-Marvasti, T., Belfiore, A., ... & Li, R. K. (2020). Cellular senescence contributes to age-dependent changes in circulating extracellular vesicle cargo and function. *Aging Cell*, 19(3), e13103.

Amarista, F. J., & Mata-Vallenilla, J. (2019). *Psiquiatría clínica*. Caracas: Editorial Ateproca. Recuperado de: <https://caibco.ucv.ve/caibco/vitae/VitaeDiecinueve/Articulos/Psiquiatria/ArchivosHTML/Referencias.htm>

Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 7915-7922.

Araya, H., & Lutz, M. (2003). Alimentos funcionales y saludables. *Revista chilena de nutrición*, 30(1), 8-14.

Archibald, N. K., Clarke, M. P., Mosimann, U. P., & Burn, D. J. (2011, noviembre). Pub Med Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU. Institutos Nacionales de Salud. Recuperado el 01 de enero de 2020, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21953737>

Arcos Sánchez, C., Salinas Vela, F. T., & Olmedilla González, M. N. (2011). Nuevas perspectivas en el tratamiento de la esclerosis múltiple. *Sanidad Militar*, 67(2), 108-114.

Arias, L., Pedreros, W., & Rosero, M. (2015). Acción de *Witheringia coccoloboides*.

Ávila Rivera, M. A. (s.f.). Conoce el parkinson. Recuperado en enero de 2020, de <https://conoceelparkinson.org/sintomas-no-motores/>

Bäckman, L., Small, B., & Fratiglioni, L. (2001). Stability of the preclinical episodic memory deficit in Alzheimer's disease. *Brain*, 124, 96-102.

Bates, G. P., Dorsey, R., Gusella, J. F., Hayden, M. R., Kay, C., Leavitt, B. R., ... & Tabrizi, S. J. (2015). Huntington disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 1(1), 1-21. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.11>

Beckman, K. B., & Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. *American Physiological Society*, 78, 547-581.

Belgian, M. S., Giger, S., Pfohl, D. C., & MSCN, M. (2013). Multiple Sclerosis International Federation (MSIF). Italy: Multiple Sclerosis International Federation.

Bello-Medina, P. C., Rodríguez-Martínez, E., Prado-Alcalá, R. A., & Rivas-Arancibia, S. (2022). Contaminación por ozono, estrés oxidativo, plasticidad sináptica y neurodegeneración. *Neurología*, 37(4), 277-286.

Bennett, D., Schneider, J., Arvanitakis, Z., Kelly, J., Aggarwal, N., Shah, R., & Wilson, R. (2006). Neuropathology of older persons without cognitive impairment from two community-based studies. *Neurology*, 66, 1837-1844.

Bermejo, L. (2010). *Envejecimiento activo y actividades socioeducativas con personas mayores*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Best, D. (1997). All natural and nutraceutical. *Prepared Foods*, 166(6), 32-38.

Beutler, B. (2004). Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature*, 430, 257-263.

Bickel, H., & Cooper, B. (2004). Incidence and relative risk of dementia in an urban elderly population: Findings of a prospective field study. *Psychological Medicine*, 24, 179-192.

Bieńkiewicz, M., & Craig, C. (2016, noviembre 28). *Frontiers in neurology*. Recuperado el 01 de enero de 2020, de <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2016.00216/full>

Biewenga, G. P., Haenen, G. R., & Bast, A. (1997). The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. *General Pharmacology: The Vascular System*, 29(3), 315-331.

Biruete Guzmán, A., Juárez Hernández, E., Sieiro Ortega, E., Romero Viruegas, R., & Silencio Barrita, J. L. (2009). Los nutraceuticos. Lo que es conveniente saber. *Revista Mexicana de Pediatría*, 76(3).

Bishop, N. A., Lu, T., & Yankner, B. A. (2010). Mecanismos neurales del envejecimiento y deterioro cognitivo. *Nature*, 464, 529–535. <https://doi.org/10.1038/nature08983>

Bocitto, M., Lamitina, T., & Kalb, R. G. (2012). Modificaciones de señalización Daf-2 toxicidad de SOD1 mutante en *C. elegans*. *PLoS One*, 7(e33494). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033494>

Bogdanov, M. B., Andreassen, O. A., Dedeoglu, A., Ferrante, R. J., & Beal, M. F. (2001). Increased oxidative damage to DNA in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Journal of Neurochemistry*, 79(6), 1246-1249.

Boll, M. C., Alcaraz-Zubeldia, M., Montes, S., & Rios, C. (2008). Free copper, ferroxidase and SOD1 activities, lipid peroxidation and NOx content in the CSF. A different marker profile in four neurodegenerative diseases. *Neurochemical Research*, 33, 1717-1723.

Boller, F., & Duyckaerts, C. (1997). Alzheimer disease: clinical and anatomical aspects. En T. E. Feinberg & M. J. Farah (Eds.), *Behavioral neurology and neuropsychology* (pp. xxx-xxx). New York, NY: McGraw-Hill.

Bonelli, R. M., & Wenning, G. K. (2006). Pharmacological management of Huntington's disease: an evidence-based review. *Current Pharmaceutical Design*, 12(21), 2701-2720.

Brenner, S. (1973). The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Medical Research Council Laboratory of Molecular Biology*, 77(1), 71-94.

Brites, F. D., Evelson, P. A., Christiansen, M. G., & Gianella-Borradori, A. (2017). Lipoic acid's role in metabolic control and its potential therapeutic effects. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 73(1), 97-103.

Bromfield, J., & Sheldon, M. (2011). Lipopolysaccharide initiates inflammation in bovine granulosa cells via the TLR4 pathway and perturbs oocyte meiotic progression in vitro. *Endocrinology*, 152(12), 5029-5040.

Browne, S. E., Ferrante, R. J., & Beal, M. F. (1999). *Brain Pathology*, 9, 147-163.

Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302-310.

Bustos, A. V. G., Jiménez, M. G., & Mora, R. M. S. (2017). The *Annona muricata* leaf ethanol extract affects mobility and reproduction in mutant strain NB327 *Caenorhabditis elegans*. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 282-286. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2017.04.016>

Calabrese, M., Poretto, V., Favaretto, A., Alessio, S., Bernardi, V., Romualdi, C., et al. (2012). Cortical lesion load associates with progression of disability in multiple sclerosis. *Brain*, 135(Pt 10), 2952-2961.

Camargo Rojas, A. P., Gómez López, A. M., Hernández, L. F., & Palacios Sánchez, E. (2018). Síntomas presentes en la esclerosis múltiple: serie de casos. *Acta Neurológica Colombiana*, 34(2), 108-114.

Cameron, B. M., & Robb, R. A. (2006). Virtual-reality-assisted interventional procedures. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 442, 63-73.

Campanholle, G., Mittelsteadt, K., Nakagawa, S., Kobayashi, A., Lin, S. L., Gharib, S., Heinecke, J., Hamerman, J., Altemeiers, W., & Duffield, J. (2013). TLR-2/TLR-4 TREM-1 signaling pathway is dispensable in inflammatory myeloid cells during sterile kidney injury. *PLoS One*, 8(7), e69213. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069213>

Cannon, W. D., Eckhoff, D. G., Garrett, W. E., Hunter, R. E., & Sweeney, H. J. (2006). Report of a group developing a virtual reality simulator for arthroscopic surgery of the knee joint. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 442, 21-29.

Caro, A. A., & Cederbaum, A. I. (2007). Role of intracellular calcium and phospholipase A2 in arachidonic acid-induced toxicity in liver cells overexpressing CYP2E1. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 457(2), 252-263.

Carreres, M. A., Falguera, N. T., & Figuera, R. G. (2004). Enfermedades neurodegenerativas. *Rehabilitación*, 38(6), 318-324.

Carter, S. S. D., Liu, X., Yue, Z., & Wallace, G. G. (2017). Three-dimensional neuronal cell culture: In pursuit of novel treatments for neurodegenerative disease. *MRS Communications*, 7(3), 320-331. <https://doi.org/10.1557/mrc.2017.96>

Centeno, E. G., Cimarosti, H., & Bithell, A. (2018). 2D versus 3D human induced pluripotent stem cell-derived cultures for neurodegenerative disease modelling. *Molecular Neurodegeneration*.

Cha, J. H. J. (2000). Transcriptional dysregulation in Huntington's disease. *Trends in Neurosciences*, 23(9), 387-392.

Chan, P. H. (2001). Reactive oxygen radicals in signaling and damage in the ischemic brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 21(1), 2-14.

Chaudhuri, K. R., Martinez Martin, P., Odin, P., & Antonini, A. (2011). *Manual de síntomas no motores en la enfermedad de Parkinson*. Londres: Springer Healthcare.

Chen, X., Guo, C., & Kong, J. (2012). Estrés oxidativo en enfermedades neurodegenerativas. *Regeneración Neural Responce*, 7, 376-385. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2012.05.009>

Chu, X., Wen, J., & Raju, R. P. (2020). Rapid senescence-like response after acute injury. *Aging Cell*, 19(9), e13201.

Ciencia UNAM. (2019). *Enfermedad de Huntington: Un mal que se manifiesta en la edad productiva*. Recuperado de <https://ciencia.unam.mx/leer/1189/enfermedad-de-huntington-un-mal-que-se-manifiesta-en-la-edad-productiva>

Corsi, A. K., Wightman, B., & Chalfie, M. (2015). Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 200(2), 387-407. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.176099>

Corsi, M., Di Raimo, T., Di Lorenzo, C., Rapp-Ricciardi, M., Archer, T., Ricci, S., & Businaro, R. (2016). Cognitive disability in Alzheimer's disease and its management. *Clinica Terapeutica*, 167(5), e123-e126.

Costello, J. L., & Schrader, M. (2018). Unloosing the Gordian knot of peroxisome formation. *Current Opinion in Cell Biology*, 50, 50-56.

Cree, B. A., Cutter, G., Wolinsky, J. S., Freedman, M. S., Comi, G., Giovannoni, G., ... & Yathiraj, S. (2020). Seguridad y eficacia de MD1003 (dosis altas de biotina) en pacientes con esclerosis múltiple progresiva (SPI2): un ensayo de fase 3 aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo. *The Lancet Neurology*, 19(12), 988-997.

Crook, T., Bartus, R., Ferris, S., Whitehouse, P., Cohen, G., & Gershon, S. (2006). Age-associated memory impairment: Proposed diagnostic criteria and measures of clinical change: Report of a National Institute of Mental Health Work Group. *Developmental Neuropsychology*, 2, 261-276.

Cui, X., Zuo, P., Zhang, Q., Li, X., Hu, Y., Long, J., *et al.* (2006). La exposición sistémica crónica a D-galactosa induce pérdida de memoria, neurodegeneración y daño oxidativo en ratones: efectos protectores del ácido R-alfa-lipoico. *Journal of Neuroscience Research*, 84, 647-654.

De Alfonso, C., Blanquer, I., Segrelles, D., & Hernández, V. (2002). VRSUR: Simulación quirúrgica sobre escenarios realistas. En *IX Congreso Nacional de Informática Médica. Informed 2002. Universidad Politécnica de Valencia, España. Libro de ponencias, comunicaciones y póster* (p. 101-106). ISBN 84-930487-4-7.

De Jaeger, C. (2018). Autoevaluaciones del artículo: Fisiología del envejecimiento.

De los Angeles, C. C. M. (2018). Función de vitaminas: a (liposoluble) y ácido fólico (hidrosoluble).

De Rivero, J., Lotocki, G., Marcillo, A., Dietrich, D., & Keane, R. (2008). A molecular platform in neurons regulates inflammation after spinal cord injury. *Journal of Neuroscience*, 28(13), 3404-3414.

De S, Lim, Y., Manivannan, M., & Srinivasan, M. A. (2006). Physically realistic virtual surgery using the point-associated finite field (PAFF) approach. *Presence: Teleoperators and Virtual Environments*, 15(3), 294-308.

Debouverie, M., Pittion-Vouyovitch, S., Louis, S., Guillemin, F., & LORSEP Group. (2008). Natural history of multiple sclerosis in a population-based cohort. *European Journal of Neurology*, 15(9), 916-921.

Dexter, D. T., Carayon, A., Javoy-Agid, F., Agid, Y., Wells, F. R., Daniel, S. E., ... & Marsden, C. D. (1991). Alterations in the levels of iron, ferritin and other trace metals in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases affecting the basal ganglia. *Brain*, 114(4), 1953-1975.

Dias, V., Junn, E., & Mouradian, M. M. (2013). The role of oxidative stress in Parkinson's disease. *Journal of Parkinson's Disease*, 3(4), 461-491. <https://doi.org/10.3233/JPD-130230>

Diccionario de la Real Academia Española. (2024).

Diesel, B., Kulhanek Heinze, S., Holtje, M., Brandt, B., Holtje, H. D., Vollmar, A. M., & Kiemer, A. K. (2007). Ácido alfa-lipoico como activador de unión directa del receptor de insulina: protección contra la apoptosis de los hepatocitos. *Bioquímica*, 46(8), 2146-2155.

Donaldson, K., Beswick, P. H., & Gilmore, P. S. (1996). Free radical activity associated with the surface of particles: A unifying factor in determining biological activity. *Toxicology Letters*, 88(1-3), 293-298.

Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1), 47-95.

Durand, M., & Mach, N. (2013). El ácido alfa lipoico y su poder antioxidante frente al cáncer y las patologías de sensibilización central. *Nutrición Hospitalaria*, 28(4), 1031-1038.

Esteves, K. C., Jones, C. W., Wade, M., Callerame, K., Smith, A. K., Theall, K. P., & Drury, S. S. (2020). Adverse childhood experiences: Implications for offspring telomere length and psychopathology. *American Journal of Psychiatry*, 177(1), 47-57.

Feng, J., Zhang, Y., Liu, C., & Liu, Y. (2021). Antioxidant effects of melatonin on oxidative stress-induced neurodegeneration in *C. elegans*. *Journal of Neurochemistry*, 156(4), 658-672. <https://doi.org/10.1111/jnc.15212>

Fernandez Mejia, C., & Lazo de la Vega Monroy, M. L. (2011). Biological effects of pharmacological concentrations of biotin. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 16(1), 40-48.

Fernández Slezak, D. (2010). Estimación de parámetros en modelos biológicos complejos. Aplicación a modelos de crecimiento tumoral (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales).

Fernández, J. M., Da Silva-Grigoletto, M. E., & Túnez-Fiñana, I. (2009). Estrés oxidativo inducido por el ejercicio. *Revista andaluza de medicina del deporte*, 2(1), 19-34.

Fernández, J. M., Potti, J., Illana, C., Pastor, L., Rodríguez, A., & Bayona, S. (2008). Entrenador-Simulador Avanzado para el aprendizaje y entrenamiento de la Cirugía Artroscópica insightArthroVR® Trauma. *Mapfre*, 19(1), 50-58. ISSN: 18886116.

Ferro, L. K. P., Bustos, A. V. G., & Mora, M. R. S. (2017). Caracterización fenotípica de la cepa N2 de *Caenorhabditis elegans* como un modelo en enfermedades. *Bioquímica y Biofísica*.

Finkel, T. (1998). Oxygen radicals and signaling. *Current Opinion in Cell Biology*, 10(2), 248-253.

Flora, S. J. (2007). Role of free radicals and antioxidants in health and disease. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-grand)*, 53(1), 1-2.

Friedlander, R. M. (2003). Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *New England Journal of Medicine*, 348(14), 1365-1375.

Fuentes López, A., Fuentes López, C., & García Martínez, E. M. (2018). Determinación de compuestos en café mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). *Journal of Food Chemistry*.

Gajofatto, A., & Benedetti, M. D. (2015). Treatment strategies for multiple sclerosis: When to start, when to change, when to stop? *World Journal of Clinical Cases*, 3(7), 545-555.

Galindo, J. R., & Reyes, E. N. (2016). Trastornos afectivos en la enfermedad de Parkinson. *Revista Hondureña del Postgrado de Psiquiatría*.

Garcés, M., Crespo Puras, M. D. C., Finkel Morgenstern, L., & Arroyo Menéndez, M. (2020). Estudio sobre las enfermedades neurodegenerativas en España y su impacto económico y social. *Revista Española de Salud Pública*.

García Merino, A., Ramón Ara Callizo, J., Fernández Fernández, O., Landete Pascual, L., Moral Torres, E., Rodríguez-Antigüedad Zarrantz, A. (2017). Consensus statement on the treatment of multiple sclerosis by the Spanish Society of Neurology in 2016. *Neurología*, 32(2), 113-119.

García, J. J., Martínez-Ballarín, E., Millán-Plano, S., *et al.* (2005). Effects of trace elements on membrane fluidity. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19(1), 19-22.

Garg, P., Udupa, N., & Kumar, M. (2020). *Biotin and its role in cellular defense against oxidative stress*. *International Journal of Molecular Medicine*, 45(5), 1342-1351. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2020.4527>

Geerlings, M. I., Deeg, D., Penninx, B. W., Schmand, B., Jonker, C., Bouter, L. M., & Van Tilburg, W. (2009). Cognitive Reserve and mortality in dementia: The role of cognition, functional ability and depression. *Psychological Medicine*, 29(6), 1219-1226.

Gerasymchuk, M., Cherkasova, V., Kovalchuk, O., & Kovalchuk, I. (2020). The role of microRNAs in organismal and skin aging. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5281.

Ghadge, G. D., Lee, J. P., Binodokas, V. P., Jordan, J., Ma, L., Miller, R. J., & Roos, R. P. (1997). Mutant superoxide dismutase-1-linked familial amyotrophic lateral sclerosis: Molecular mechanisms of neuronal death and protection. *Journal of Neuroscience*, 17(21), 8756-8766.

Gilbert, D. L., & Colton, C. A. (1999). Reactive oxygen species in biological systems: An interdisciplinary approach. *Kluwer Academic/Plenum Publishers*.

Ginsberg, M. D., Becker, D. A., Busto, R., Belayev, A., Zhang, Y., Khoutorova, L., ... & Belayev, L. (2003). Stilbazulenyl nitron, a novel antioxidant, is highly neuroprotective in focal ischemia. *Annals of Neurology*, 54(3), 330-342.

Giraldo, S. E. (2010). Aislamiento e identificación de metabolitos activos sobre el sistema nervioso central obtenidos de *Valeriana pavonii*. *Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia*.

Gitler, A., Dhillon, P., & Shorter, J. (2017). Neurodegenerative disease: Models, mechanisms, and a new hope. *Disease Models and Mechanisms*, 10(5), 499-502. <https://doi.org/10.1242/dmm.030205>

Goldman, W. P., & Morris, J. C. (2001). Evidence that age-associated memory impairment is not a normal variant of aging. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 15(2), 72-79.

González-Pérez, Ó., Moy-López, N. A., & Guzmán-Muñiz, J. (2008). El alfa-tocoferol y el ácido alfa-lipoico. Una sinergia antioxidante con potencial en medicina preventiva. *Revista de Investigación Clínica*, 60(1), 58-67.

González, J. L. (2018). Evaluación del efecto del extracto etanólico de *Witheringia coccoloboides* sobre agregados de α -sinucleína en la cepa NL5901 de *Caenorhabditis elegans* (Tesis de Maestría). *Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia*.

González, R. G., Hernández, A. D., & Portillo, J. A. S. (2015). Visión panorámica de las enfermedades crónico-degenerativas. *Revista Internacional de Acupuntura*, 9(2), 57-69.

Goraça, A., Huk-Kolega, H., Piechota, A., Kleniewska, P., Ciejka, E., & Skibska, B. (2011). Lipoic acid – biological activity and therapeutic potential. *Pharmacological Reports*, 63(4), 849-858.

Gorelick, P. B., Brody, J., Cohen, D., Freelees, S., Levy, P., & Dollear, W. (2013). Risk factors for dementia associated with multiple cerebral infarcts: A case-control analysis in predominantly African-American hospital-based patients. *Archives of Neurology*, 50(7), 714-720.

Gourgou, E., Adiga, K., Goettemoeller, A., Chen, C., & Hsu, A. L. (2021). Learning in *Caenorhabditis elegans* in a structured maze is a multisensory behavior. *Science*, 24(4), 102284.

Gourgou, M., & Hsu, C. (2021). Memory training in *C. elegans* to prevent neurodegeneration: A behavioral analysis. *Behavioural Brain Research*, 399, Article 112921. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112921>

Gu, Y., Han, J., Jiang, C., & Zhang, Y. (2020). Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging. *Ageing Research Reviews*, 59, 101036.

Gutierrez Sánchez, J. S., Castro Cárdenas, H. S., Giraldo Quintero, S. E., Lozano Jiménez, Y. Y., & Sánchez Mora, R. M. (2020). *Caenorhabditis elegans* como modelo de estudio de enfermedades neurodegenerativas. *Ámbito Investigativo*, 5(2), 24-33.

Guzmán Hernández, G. A. Y. (2019). Análisis de la actividad de los compuestos fenólicos del frijol en la tolerancia al estrés oxidante en *Caenorhabditis elegans*.

Halliwell, B. (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we now? *Journal of Neurochemistry*, 97(6), 1634-1658. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03907.x>

Halliwell, B. (2019). The interplay between oxidative stress and antioxidant defense mechanisms: Implications for neurodegenerative diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 131, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.11.030>

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine* (3rd ed.).

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press.

Hammarlund, M., Hobert, O., Miller III, D. M., & Sestan, N. (2018). El proyecto CeNGEN: el mapa completo de expresión génica de todo un sistema nervioso. *Neurona*, 99(3), 430-433.

Harman, D. (1986). Free radicals theory of aging: role of free radicals in the origination and evolution of life, aging, and disease processes. In *Free Radicals, Aging and Degenerative Diseases* (pp. 3-49). Alan R. Liss, Inc.

Hashimoto, T. (2000). Peroxisomal beta-oxidation enzymes. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 32(Spring), 63-72.

Hasler, C. M. (1998). Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. *Food Technology*, 52(11), 63-70.

Head, D., Rodrigue, K., Kennedy, K., & Raz, N. (2008). Neuroanatomical and cognitive mediators of age-related differences in episodic memory. *Neuropsychology*, 22, 491-507.

Hemmati, M., Babaei, H., & Abdolsalehei, M. (2013). Encuesta sobre el efecto de la biotina en el control glucémico y las concentraciones de lípidos en plasma en pacientes con diabetes tipo 1 en Kermanshah en Irán (200-2009). *Oman Medical Journal*, 28, 195–198.

Heng, P. A., Cheng, C. Y., Wong, T. T., Wu, W., Xu, Y., Xie, Y., & Chui, Y. P. (2006). Virtual reality techniques: Application to anatomic visualization and orthopaedics training. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 442, 5-12.

Hernández Heredia, F. J. (2009). Análisis de ácido lipóico en diabetes mellitus II por HPLC.

Hernández Zimbrón, L. F., & Rivas Arancibia, S. (2014). Descifrando una interacción de proteínas asociadas con amiloide β péptido 1-42 y mecanismos moleculares de la enfermedad de Alzheimer. *Reseñas en las Neurociencias*, 25(6), 773-783.

Hernández, R., Fernández, C., Baptista, P., Hernandez Sampieri, R., Fernandez Collado, C., & Baptista Lucio, M. D. P. (2011). Definición del tipo de investigación a realizar: básicamente exploratoria, descriptiva, correlacional o explicativa. En *Metodología de la investigación* (págs. 57-73). México: McGraw-Hill Interamericana Editores.

Hollingworth, P. (1997). Mainstreaming healthy foods. *Food Technology*, 51(3), 55-58.

Hughes, A. J., Ben-Shlomo, Y., Daniel, S. E., & Lees, A. J. (2001). What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease: a clinicopathologic study. *Neurology*, 57(10), S34-S38.

Hughes, T., & Ganguli, M. (2010). Factores de riesgo de demencia en la vejez modificables en las etapas medias de la vida. *Revista de Neurología*, 51(5), 259-262.

Hunt, M. C., & Alexson, S. E. (2008). Novel functions of acyl-CoA thioesterases and acyltransferases as auxiliary enzymes in peroxisomal lipid metabolism. *Progress in Lipid Research*, 47, 405-421.

Ibarra, L. S. (2016). Transición alimentaria en México. *Razón y Palabra*, 20(94), 162-179.

Idda, M. L., McClusky, W. G., Lodde, V., Munk, R., Abdelmohsen, K., Rossi, M., & Gorospe, M. (2020). Survey of senescent cell markers with age in human tissues. *Aging (Albany NY)*, 12(5), 4052.

Imlay, J. A. (2003). Pathways of oxidative damage. *Annual Review of Microbiology*, 57, 395-418.

Irwin, M. H., Moos, W. H., Faller, D. V., Steliou, K., & Pinkert, C. A. (2016). Tratamiento epigenético de trastornos neurodegenerativos: Enfermedades de Alzheimer y Parkinson. *Desarrollo de Drogas Research*, 77, 109–123.

Islam, M. T. (2017). Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurological Research*, 39, 73–82.

Jenkins, L., Myerson, J., Joerding, J., & Hale, S. (2000). Converging evidence that visuospatial cognition is more age-sensitive than verbal cognition. *Psychology and Aging*, 15, 157-175.

Jenner, P., Schapira, A. H. V., & Marsden, C. D. (1992). New insights into the cause of Parkinson's disease. *Neurology*, 42(12), 2241.

Joseph, J. A., & Cutler, R. C. (1995). The role of oxidative stress in signal transduction changes and cell loss in senescence. In *The neurobiology of NO and OH* (pp. 37-43). Annals of the New York Academy of Sciences, 738.

Kahlem, P., Green, H., & Djian, P. (1998). Transglutaminase action imitates Huntington's disease: selective polymerization of Huntingtin containing expanded polyglutamine. *Molecular Cell*, 1(4), 595-601.

Kale, A., Sharma, A., Stolzing, A., Desprez, P. Y., *et al.* (2020). Role of immune cells in the removal of deleterious senescent cells. *Immun Ageing*, 17(1), 1–9.

Kamal, N. S. M., Safuan, S., Shamsuddin, S., & Foroozandeh, P. (2020). Aging of the cells: Insight into cellular senescence and detection Methods. *European Journal of Cell Biology*, 99(6), 151108.

Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessel, T. M. (Eds.). (2000). *Principles of Neural Science*. Appleton & Lange.

Kates, S. A., Casale, R. A., Baguisi, A., Beeuwkes, R. 3. (2014). Análogos del ácido lipoico con actividad farmacológica mejorada. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(1), 505–512.

Katiki, L. M., Ferreira, J. F. S., Zajac, A. M., Masler, C., Lindsay, D. S., Chagas, A. C. S., & Amarante, A. F. T. (2011).

Katsnelson, A., De Strooper, B., & Zoghbi, H. Y. (2016). Neurodegeneration: from cellular concepts to clinical applications. *Science Translational Medicine*, 8, 364ps18.

Kawai, T., & Akira, S. (2009). The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *International Immunology*, 21(4), 317-337.

Kim, G. H., Kim, J. E., Rhie, S. J., & Yoon, S. (2015). El papel del estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas. *Experimental Neurobiology*, 24, 325–340.

Kim, M. S., Park, J. Y., Namkoong, C., Jang, P. G., Ryu, J. W., Song, H. S., ... & Lee, H. K. (2008). Anti-obesity effects of α -lipoic acid mediated by suppression of hypothalamic AMP-activated protein kinase. *Nature Medicine*, 14(5), 555-561.

Kudryashova, K. S., Burka, K., Kulaga, A. Y., Vorobyeva, N. S., & Kennedy, B. K. (2020). Aging biomarkers: from functional tests to multi-omics approaches. *Proteomics*, 20(5-6), 1900408.

Kulisevsky Bojarski, J. (s.f.). Guía terapéutica de la Sociedad Catalana de Neurología. Recuperado el 01 de 2020, de http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion/enfermedad_de_parkinson.pdf

Lachance, P. A., Nakat, Z., & Jeong, W. S. (2001). Antioxidants: an integrative approach. *Nutrition*, 17(10), 835-838.

Lagumersindez Denis, N., Oviedo Gálvez, M. E., & Martínez Sánchez, G. (2009). Esclerosis múltiple: aspectos generales y abordaje farmacológico. *Revista Cubana de Farmacia*, 43(2).

Landles, C., & Bates, G. P. (2004). Huntingtin and the molecular pathogenesis of Huntington's disease: Fourth in Molecular Medicine Review Series. *EMBO Reports*, 5(10), 958-963.

Launer, L. J., Andersen, K., Dewey, M., Letenneur, L., Ott, A., Amaducci, L. A., ... & Hofman, A. (1999). Rates and risk factors for dementia and Alzheimer's disease: results from EURODEM pooled analyses. *Neurology*, 52(1), 78.

Lavorgna, L., Bonavita, S., Ippolito, D., Lanzillo, R., Salemi, G., Patti, F., et al. (2014). Clinical and magnetic resonance imaging predictors of disease progression in multiple sclerosis: a nine-year follow-up study. *Multiple Sclerosis*, 20(2), 220-226.

Lebrun, C., Bensa, C., Debouverie, M., Wiertlevski, S., Brassat, D., de Seze, J., et al. (2009). Association between clinical conversion to multiple sclerosis in

radiologically isolated syndrome and magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid, and visual evoked potential: follow-up of 70 patients. *Archives of Neurology*, 66(7), 841-846.

Lenaz, G. (1998). Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1366, 53-67.

Li, T., Luo, Z., Lin, S., Li, C., Dai, S., Wang, H., *et al.* (2020). MiR-185 targets POT1 to induce telomere dysfunction and cellular senescence. *Aging (Albany NY)*, 12(14), 14791.

Li, Y., Pang, Y., & Chai, Y. (2013). Alpha-lipoic acid activates the FOXO pathway and reduces oxidative damage in diabetic neuropathy. *Journal of Neurochemistry*, 125(3), 461-472. <https://doi.org/10.1111/jnc.12142>

Limón, M. R., & Berzosa, G. (2006). Siglo XXI, Envejecimiento y solidaridad. *Revista galega do Ensino*, 14(48), 59- 88.

Limón, M. R., & Ortega, M. C. (2011). Envejecimiento activo y mejora de la calidad de vida en adultos mayores. *Revista de Psicología de la Educación*, 6

Liu, J., Killilea, D. W., & Ames, B. N. (2002). Deterioro oxidativo mitocondrial asociado con la edad: mejora de la afinidad y la actividad de unión al sustrato de carnitina acetiltransferasa en el cerebro mediante la alimentación de ratas viejas con acetil-L-carnitina y/o ácido R-alfa-lipoico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(3), 1876–1881.

Liu, Y., Wang, Y., & Wang, Q. (2019). The role of antioxidants in the neuroprotection of *C. elegans*. *Neurobiology of Aging*, 76, 87-98. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.12.008>

Llesuy, S. (2002). Introducción y especies activas de oxígeno. En: Estresse oxidativo e antioxidantes. *Argentina. Editora: ULBRA*, 22-32.

Lövdén, M., *et al.* (2010). *Experience-dependent plasticity of white-matter microstructure extends into old age. Neuropsychologia.*

Lovell, M. A., Xie, C., Xiong, S., & Markesbery, W. R. (2003). Protección contra el péptido beta amiloide y la toxicidad del peróxido de hierro/hidrógeno por el ácido alfa lipoico. *Journal of Alzheimer's Disease*, 5(3), 229–239.

Lozano, J. A. (2005). Ciencia y Salud. La alimentación. Nutrientes y complementos. Qué son los nutracéuticos. Recuperado de <http://canales.laverdad.es/cienciaysalud/5388.html>

Lublin, F. D., Reingold, S. C., Cohen, J. A., Cutter, G. R., Sørensen, P. S., Thompson, A. J., *et al.* (2014). Defining the clinical course of multiple sclerosis. *Neurology*, 83(3), 278-286.

Lucchinetti, C., Brück, W., Parisi, J., Scheithauer, B., Rodriguez, M., & Lassmann, H. (2000). Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Annals of Neurology*, 47(6), 707-717.

Luján, R. (2014). Bases moleculares de la señalización neuronal. *Ciencia al día Internacional*, 5(2), 1-19.

Lukas, C., Knol, D. L., Sombekke, M. H., Bellenberg, B., Hahn, H. K., Popescu, V., *et al.* (2015). Cervical spinal cord volume loss is related to clinical disability progression in multiple sclerosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 86(4), 410-418.

Lulkiewicz, M., Bajsert, J., Kopczynski, P., Barczak, W., & Rubis, B. (2020). Telomere length: how the length makes a difference. *Molecular Biology Reports*, 47, 7181-7188.

Luo, L., & Craik, F. (2008). Aging and memory: a cognitive approach. *Canadian Journal of Psychiatry*, 53, 346-353.

Luthi-Carter, R., Apostol, B. L., Dunah, A. W., DeJohn, M. M., Farrell, L. A., Bates, G. P., ... & Cha, J. H. J. (2003). Complex alteration of NMDA receptors in transgenic Huntington's disease mouse brain: analysis of mRNA and protein expression, plasma membrane association, interacting proteins, and phosphorylation. *Neurobiology of Disease*, 14(3), 624-636.

Ma, C., Agrawal, G., & Subramani, S. (2011). Peroxisome assembly: matrix and membrane protein biogenesis. *Journal of Cell Biology*, 193(1), 7-16.

Malagón Micán, M. L., Corzo Piñeros, R. J., & Manrique Ruiz, I. G. (2017). Uso potencial de fitoquímicos derivados de microalgas para la obtención de nutracéuticos.

Marino, D. J. G. (2011). Estudio teórico experimental sobre respuestas biológicas a compuestos orgánicos de relevancia ambiental (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).

Martínez Lazcano, J. C., Boll Woehrlen, M. C., Hernández Melesio, M. A., Rubio Osornio, M., Sánchez Mendoza, M. A., & Ríos, C. (2010). Radicales libres y estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas. *Mensaje Bioquim*, 34, 43-59.

Martínez Leo, E. E., & Segura Campos, M. R. (2019). Systemic oxidative stress: a key point in neurodegeneration – a review. *Journal of Nutrition, Health & Aging*, 23, 694–699.

Martinon, F., Burns, K., & Tschopp, J. (2002). The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Molecular Cell*, 10, 417-426.

McCall, J. M., Braughler, J. M., & Hall, E. D. (1987). Lipid peroxidation and the role of oxygen radicals in CNS injury. *Acta Anaesthesiologica Belgica*, 38(4), 373-379.

McCarthy, A. D., Moody, L., Waterworth, A. R., & Bickerstaff, D. R. (2006). Passive haptics in a knee arthroscopy simulator: is it valid for core skills training? *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 442, 13-20.

McCord, J. M. (2000). Evolution of Free Radicals and Oxidative Stress. *American Journal of Medicine*, 108(8), 652-659.

McDonald, W. I., Compston, A., Edan, G., Goodkin, D., Hartung, H. P., Lublin, F. D., *et al.* (2001). Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, 50(1), 121-127.

McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., & Stadlan, E. M. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group* under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*, 34(7), 939.

Merello, M. (2009). Trastornos no motores en la enfermedad de Parkinson. *Revista de Neurología*, 47(1), 261-270.

Mesa, A. P. (2019). ANTROPOLOGÍA DEL ENVEJECIMIENTO Y LA DEMENCIA. *Bioética de las demencias*, 37-56.

Micó, C. C., Oliva, S. B., & Tormo, G. S. (2010). Estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas.

Mock, D. M., *et al.* (2020). Biotin in health and disease: From metabolic mechanisms to therapeutic opportunities. *Annual Review of Nutrition*, 40, 315-341.

Mohseni Salehi Monfared, S. S., Vahidi, H., Abdolghaffari, A. H., Nikfar, S., & Abdollahi, M. (2009). Antioxidant therapy in the management of acute, chronic and post-ERCP pancreatitis: a systematic review. *World Journal of Gastroenterology*, 15(36), 4481-4490.

Molina, I., & Solórzano, E. (2021). ¿ La senescencia celular promueve el envejecimiento biológico? Scoping review. *Acta Bioclínica*, 11(22), 241-272.

Molz, P., & Schröder, N. (2017). Posibles efectos terapéuticos del ácido lipoico sobre los déficits de memoria relacionados con el envejecimiento y la neurodegeneración. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 849.

Montserrat C, López O, Meier U, Juan MC, Grau V, Gil JA, Lozano JA, Alcañiz M. GeRTiSS: Simulador quirúrgico virtual para el entrenamiento en cirugías mínimamente invasivas. En: *IX Congreso Nacional de Informática Médica. Informed 2002*. Universidad Politécnica de Valencia. España. Libro de ponencias, comunicaciones y póster. p. 87-91. ISBN 84-930487-4-7

Montero González, T., Moreno Quintana, P., Berlanga Acosta, J., Hurtado de Mendoza Amat, J., Bacardi Fernández, D., Urquiza Noa, D., & Hurtado de Mendoza Amat, J. (2003). Modelo experimental de ratón quemado en investigaciones biomédicas. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 32(2), 0-0.

Morales Peña, M. F. (2021). Revisión crítica: efecto de los nutraceuticos en el paciente con osteoartritis.

Morales, J. C., Espín de Gea, J. C., & Medina, I. (2011). Compuestos con actividad antiinflamatoria.

Morán, G. A. G. (2009). Los peroxisomas y su importancia biomédica: Un tema mal entendido y muy mistificado. *Revista Médica Sanitas*, 12(2), 30-40.

Moreira, PI, Harris, PL, Zhu, X., Santos, MS, Oliveira, CR, Smith, MA, *et al.* (2007). El ácido lipoico y la N-acetilcisteína disminuyen el estrés oxidativo relacionado con las mitocondrias en fibroblastos de pacientes con enfermedad de Alzheimer. *J. Enfermedad de Alzheimer*, 12, 195–206.

Morris, J. C. (2005). Dementia update 2005. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 19(2), 100-117.

Morrissey SP, Miller DH, Kendall BE, Kingsley DP, Kelly MA, Francis DA, *et al.* The significance of brain magnetic resonance imaging abnormalities at presentation with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. A 5-year follow-up study. *Brain*, 116(Pt 1), 135-146.

Nagamatsu M, Nickander KK, Schmelzer JD, Raya A, Wittrock DA, Tritschler H, Low PA (2005). El ácido lipoico mejora el flujo sanguíneo nervioso, reduce el estrés oxidativo y mejora la conducción nerviosa distal en la neuropatía diabética experimental. *Cuidado de la Diabetes*, 18(8), 1160–1167. <http://dx.doi.org/10.2337/diacare.18.8.1160>

Neff, J., & Holman, J. R. (1997). How the latest products toe the fine line between foods and drugs. *Food Processing*, 58(4), 23-26.

Ngandu, T., *et al.* (2015). A 2-year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): A randomised controlled trial. *The Lancet*.

Niedzielska E, Smaga I, Gawlik M, Moniczewski A, Stankowicz P, Pera J, *et al.* Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Molecular Neurobiology*, 53, 4094–125.

Nourbakhsh B, Mowry EM. Multiple Sclerosis Risk Factors and Pathogenesis. *Continuum (Minneapolis)*, 25(3), 596-610.

Nyström, T. (2003). Role of oxidative carbonilation in quality control and senescence. *The EMBO Journal*, 60, 1333-1341.

Oga Z. Fundamentos de toxicología. Segunda edición. Editora Atheneu, Sao Paulo. 2003: 39-44. [Links]

Ohl, F., & van der Staay, F. J. (2012). Animal welfare: at the interface between science and society. *Veterinary Journal*, 192(1), 13-19.

Okuda DT, Mowry EM, Beheshtian A, Waubant E, Baranzini SE, Goodin DS, *et al.* (2009). Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome. *Neurology*, 72(9), 800-805.

Olanow CA. (1993). A Radical Hypothesis for neurodegeneration. *Trends in Neurosciences*, 16, 439-444.

Orenstein, SJ, Kuo, SH, Tasset, I., Arias, E., Koga, H., Fernandez-Carasa, I., *et al.* (2013). Interacción de LRRK2 con autofagia mediada por chaperonas. *Nature Neuroscience*, 16, 394–406.

Orr, HT, & Zoghbi, HY. (2007). Trastornos por repetición de trinucleótidos. *Annual Review of Neuroscience*, 30, 575–621. doi: 10.1146/annurev.neuro.29.051605.113042

Oswald, M. C., Garnham, N., Sweeney, S. T., & Landgraf, M. (2018). Regulation of neuronal development and function by ROS. *FEBS Letters*, 592(5), 679-691.

Ou P, Tritschler HJ, Wolff SP (1995). Ácido tióctico (lipoico): ¿un antioxidante terapéutico quelante de metales? *Biochemical Pharmacology*, 50(1), 123–126.

Ozmen H, Erulas FA, Karatas F, Cukurovali A, Yalcin O. (2006). Comparison of the concentration of trace metals (Ni, Zn, Co, Cu and Se), Fe, vitamins A, C and E, and lipid peroxidation in patients with prostate cancer. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 44(2), 175-179.

Packer L, Kraemer K, Rimbach G (2010). Aspectos moleculares del ácido lipoico en la prevención de las complicaciones de la diabetes. *Nutrición*, 17(10), 888–895.

Packer L, Tritschler HJ, Wessel K. (1997). Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(1-2), 359-378.
Packer, L., Witt, E. H., & Tritschler, H. J. (2001). Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 19(2), 227–250. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)00017-r](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)00017-r)

Padilla-Godínez, F. J., Martínez-Becerril, H. A., & Guerra Crespo, M. (2023). ¿Qué hay de nuevo en la búsqueda para tratar la enfermedad de Parkinson? *Revista Digital Universitaria (rdu)*, 24(4). <http://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2023.24.4.12>

Parada Barroso, Y., Soto Lavastida, A., Lara Fernández, G. E., Santos Santos, A., Hernandez Rodriguez, T. E., & Mesa Barrera, Y. (2012). Síntomas no motores en pacientes con enfermedad de Parkinson. *Revista Cubana de Tecnología de la Salud*, 3(4), RNPS 2252.

Park, J. Y., Kim, J. H., & Kim, H. (2014). Biotin and its role in the regulation of glucose and lipid metabolism. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(7), 635-640.

Pegoretti V, Swanson KA, Bethea JR, Probert L, Eisel ULM, Fischer R. (2020). Inflammation and oxidative stress in multiple sclerosis: consequences for therapy development. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 7191080.

Peña, M., Pérez, E., & Picart, P. (2004). Enfermedad de Huntington: aspectos genéticos. *Medwave*, 4(10)

Perez Matos MC, Morales Alvarez MC, Mendivil CO (2017). Lípidos: ¿una diana terapéutica adecuada en la neuropatía diabética? *Journal of Diabetes Research*, 2017, 6943851.

Perez-Severiano, F., Rios, C., & Segovia, J. (2000). Striatal oxidative damage parallels the expression of a neurological phenotype in mice transgenic for the mutation of Huntington's disease. *Brain Research*, 862(1-2), 234-237.

Pérez, M. A., & Arancibia, S. R. (2007). Estrés oxidativo y neurodegeneración: ¿causa o consecuencia? *Arch Neurocién (Mex)*, 12(1), 45-54.

Peters, M. D., Godfrey, C., McInerney, P., Munn, Z., Tricco, A. C., & Khalil, H. (2017). Scoping reviews. Joanna Briggs Institute reviewer's manual, 2015, 1-24.

Peters, T. M., Butcher, L. M., & Hardiman, O. (2015). Role of oxidative stress in amyotrophic lateral sclerosis: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 10224-10244. <https://doi.org/10.3390/ijms161110224>

Peters, T., Hunter, D., & Simpson, M. (2015). *Biological significance of biotin in oxidative stress and neurodegeneration*. *Neurochemical Research*, 40(2), 356-366. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1631-1>

Petersen, R. C. (2005). Mild cognitive impairment: where are we?. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 19(3), 166-169.

Petersen, R. C., Smith, G. E., Waring, S. C., Ivnik, R. J., Tangalos, E. G., & Kokmen, E. (1999). Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Archives of neurology*, 56(3), 303-308.

Poirier, Y., Antonenkov, V. D., Glumoff, T., et al. (2006). Peroxisomal beta-oxidation--a metabolic pathway with multiple functions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1763(11), 1413-1426.

Polidori, M. C., Mecocci, P., Browne, S. E., Senin, U., & Beal, M. F. (1999). Oxidative damage to mitochondrial DNA in Huntington's disease parietal cortex. *Neuroscience letters*, 272(1), 53-56.

Pomatto, L. C., & Davies, K. J. (2018). Adaptive homeostasis and the free radical theory of ageing. *Free Radical Biology and Medicine*, 124, 420-430.

Potosinos, U. (2019). El ácido lipoico. Síguenos:@ revupotosinos Universitarios Potosinos, 13.

Qiu, C., De Ronchi, D., & Fratiglioni, L. (2007). The epidemiology of the dementias: an update. *Current opinion in psychiatry*, 20(4), 380-385.

Quesada, J. A. (2006). Los nutraceuticos también tienen un papel terapéutico. Recuperado de http://www.websalud.com/articulo.html?xref=20051206salwsdsal_1&type=Tes&anchor=wsdsalntc

Quijano, C. (2021). A novel *C. elegans* model for Alzheimer's disease: Memory impairment and behavioral assessment. *Cell Reports*, 34(7), Article 108689. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.108689>

Ramírez, M. E., Torres, B., Caravantes, I., De la Concha, F., Fulda, S., Rodríguez, J., & Córdova, M. A. (2006). Utilidad de un biosimulador inanimado para cirugía plástica endoscópica facial. *Revista del Hospital General Dr. M Gea González*, 7(3), 126-131.

Ratman, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., & Kumar, M. N. V. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy, a pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113, 189–207.

Ray, P. D., Huang, B. W., & Tsuji, Y. (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling*, 24(5), 981-990.

Redacción Gaceta UNAM. (2019, abril 10). Padecen Parkinson más de 7 millones de personas en el mundo. Recuperado de <https://www.gaceta.unam.mx/padecen-parkinson-mas-de-7-millones-de-personas-en-el-mundo/>

Reijnders, J. S., et al. (2013). *Effects of cognitive interventions on cognitive functioning in older adults with mild cognitive impairment and dementia: A meta-analysis. Ageing Research Reviews*.

Renson, A., Mullan Harris, K., Dowd, J. B., Gaydos, L., McQueen, M. B., Krauter, K. S., ... & Aiello, A. E. (2020). Early signs of gut microbiome aging: biomarkers of inflammation, metabolism, and macromolecular damage in young adulthood. *The Journals of Gerontology: Series A*, 75(7), 1258-1266.

Rentscher, K. E., Carroll, J. E., Cole, S. W., Repetti, R. L., & Robles, T. F. (2020). Relationship closeness buffers the effects of perceived stress on transcriptomic indicators of cellular stress and biological aging marker p16INK4a. *Aging (Albany NY)*, 12(16), 16476.

Revilla-Monsalve, C., Zendejas-Ruiz, I., Islas-Andrade, S., Baez-Saldaña, A., Palomino-Garibay, M. A., Hernández-Quiróz, P. M., et al. (2006). La suplementación con biotina reduce el triacilglicerol y las VLDL en plasma en pacientes diabéticos tipo 2 y en sujetos no diabéticos con hipertrigliceridemia. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 60, 182-185.

Reyna, R. E. R., López, M. Á. R., Sánchez, G. R., Alonso, L. G. E., Pizarro, I. P., & García, V. B. Alimentos funcionales y nutraceuticos.

Reynolds, J., Martinez, G., Chung, Y., & Dong, C. (2012). Toll-like receptor 4 signaling in T cells promotes autoimmune inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(32), 13064-13069.

Rink, C., & Khanna, S. (2011). Significance of brain tissue oxygenation and the arachidonic acid cascade in stroke. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14(10), 1889-1903.

Rivas, A. S., Colín-Barenque, L., Dorado-Martínez, C., & Fortoul, T. (2001). Estrés oxidativo y neurodegeneración en temas selectos de neurociencias II Javier Velázquez Moctezuma Coordinador UNAM-PUIS.

Riveron Negrete, L., & Fernandez Mejia, C. (2017). Efectos farmacológicos de la biotina en animales. *Mini revisiones en química médica*, 17(6), 529-540.

Rocca, M. A., Sormani, M. P., Rovaris, M., Caputo, D., Ghezzi, A., Montanari, E., ... & Filippi, M. (2017). Long-term disability progression in primary progressive multiple sclerosis: a 15-year study. *Brain*, 140(11), 2814-2819.

Rodríguez Álvarez, M., & Sánchez Rodríguez, J. L. (2004). Reserva cognitiva y demencia. *Anales de Psicología*.

Rodríguez JI, Turienzo E, Vigal G, Brea A. Formación quirúrgica con simuladores en centros de entrenamiento. *Cirugía Española*, 79(6), 342-348.

Rodríguez Meléndez, R. (2013). Actualización: Importancia del metabolismo de la biotina. *Revista de Investigación Clínica*, 65(2), 194-199.

Rodríguez-Núñez, I. (2020). Efectos biológicos protectores del ejercicio en modelos experimentales de tabaquismo: Más allá de la cesación y la abstinencia. *Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias*, 36(1), 33-40.

Rodríguez, E. I. U., Campoverde, S. D. C. M., Molina, M. J. A., & Sánchez, J. S. T. (2020). Enfermedad de Parkinson, su asociación con los síntomas no motores. *Reciamuc*, 4(1), 15-28.

Rodríguez, V. M., Cervantes-Arriaga, A., & Arellano, R. A. (2014). Estimulación cerebral profunda en enfermedad de Parkinson: importancia de un equipo multidisciplinario. *Revista Mexicana de Neurociencias*, 15(3), 157-162.

Rojas, S., Lopera, J. S., Uribe, A., Correa, S., Perilla, N., & Marín, J. S. (2015). Consumo de nutraceuticos, una alternativa en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles. *Revista Biosalud*, 14(2), 91-103.

Rosales-Reynoso, M. A., Vilatela, E. A., Ojeda, R. M., Arce-Rivas, A., Sandoval, L., Troyo-Sanroman, R., & Barros-Núñez, P. (2007). PCR approach for detection of fragile X syndrome and Huntington disease based on modified DNA: limits and utility. *Genetic Testing*, 11(2), 153-159.

Rovaris, M., Judica, E., Gallo, A., Benedetti, B., Sormani, M. P., Caputo, D., et al. (2015). Grey matter damage predicts the evolution of primary progressive multiple sclerosis at 5 years. *Brain*, 78(4), 46-89.

Roze, E., Saudou, F., & Caboche, J. (2008). Pathophysiology of Huntington's disease: from huntingtin functions to potential treatments. *Current Opinion in Neurology*, 21(4), 497-503.

Rubio Landa, M. (2017). Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro e in vivo en frijol criollo y comercial bajo diferentes métodos de cocción, (tesis de Maestría en Ciencias en Biología Experimental, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo).

Sadovnick, A. D. (2009). European Charcot Foundation Lecture: the natural history of multiple sclerosis and gender. *Journal of the Neurological Sciences*, 286(1-2), 1-5.

Sahin, K., Tuzcu, M., Orhan, C., Kucuk, O., Ozercan, I., Juturu, V., *et al.* (2013). Actividad antidiabética del picolinato de cromo y la biotina en ratas con diabetes tipo 2 inducida por una dieta rica en grasas y estreptozotocina. *British Journal of Nutrition*, 110, 197–205.

Sakhon, O., Victor, K., Choy, A., Tsuchiya, T., Eulgem, T., & Pedra, J. (2013). NSD1 Mitigates caspase-1 activation by listeriolysin O in macrophages. *PLoS One*, 8(9), 1-12.

Sarkar, S., Hossain, M. I., Firdous, S. S., & Rahman, M. M. (2018). Metabolites of gut microbiota regulate neurodegeneration: A potential therapeutic target. *Nature*, 1(1), 3-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29562-4>

Sarno, M. D. C., & Delfino, M. R. (2004). Cuantificación de ácido α -lipoico en comprimidos por coulombimetría. *Facena*, 20, 23-29.

Satava, R. M. (2006). The classic: Virtual reality surgical simulator: the first steps. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 442, 2-4.

Schafer, M. J., Zhang, X. U., Kumar, A., Atkinson, E. J., Zhu, Y. I., Jachim, S., *et al.* (2020). The senescence-associated secretome as an indicator of age and medical risk. *JCI Insight*, 5(12), 1–12.

Schapira, A. H. V., Deuschl, G., & Jenner, P. (2020). Parkinson's disease: Pathogenesis and clinical management. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 91(2), 134-142. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2019-321391>

Schapira, A. H. V., Jenner, P., & Olanow, C. W. (2020). *Neurodegeneration and the role of mitochondria in neurodegenerative diseases*. *Annals of Neurology*, 67(4), 464-472. <https://doi.org/10.1002/ana.23790>

Sedel, F., Bernard, D., Mock, D. M., & Tourbah, A. (2016). Abordaje de la desmielinización y la hipoxia virtual con dosis altas de biotina como tratamiento para la esclerosis múltiple progresiva. *Neurofarmacología*, 110, 644–653.

Sedel, F., Challe, G., Vignal, C., Assouad, R., Bellanger, A., & Galanaud, D. (2011). Una nueva leucodistrofia sensible a la biotina. *Journal of Inherited Metabolic Diseases*, 34, S267.

Sedel, F., Hupperts, M., & Stankoff, B. (2016). Biotin treatment for progressive multiple sclerosis: A retrospective study. *Multiple Sclerosis Journal*, 22(8), 1010-1018. <https://doi.org/10.1177/1352458516643216>

Sen, C. K., Khanna, S., & Roy, S. (2012). α -Lipoic acid: an antioxidant harnessing the mitochondrion for a brighter future. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1-8.

Shay, K. P., Moreau, R. F., Smith, E. J., Smith, A. R., & Hagen, T. M. (2009). Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: Molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1790(10), 1149-1160.

Shinto, L., *et al.* (2014). Oxidative stress and neuroprotection in Alzheimer's disease: Role of lipoic acid. *Current Pharmaceutical Design*, 20(32), 5147-5154.

Shiveley, L., & Connolly, P. (2000). Nutrioterapia médica en trastornos neurológicos. En K. L. Mahan & S. Escott-Stump (Eds.), *Nutrición y dietoterapia de Krause* (10a ed., pp. 1009-1046). México: McGraw-Hill.

Shoemaker, T. J., & Mowry, E. M. (2018). A review of vitamin D supplementation as disease-modifying therapy. *Multiple Sclerosis*, 24(1), 6-11.

Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180-183.

Sies, H. (2015). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180-183. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002>

Siesjo, B. K., Zhao, Q., Pahlmark, K., Siesjo, P., Katsura, K., & Folbergrova, J. (1995). Glutamate, calcium, and free radicals as mediators of ischemic brain damage. *Annals of Thoracic Surgery*, 59(5), 1316-1320.

Simonian, N. A., & Coyle, J. T. (1996). Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 36, 83-106.

Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*, 24, 1583-1602.

Sloan, E. (1996). The top 10 trends to watch and work on. *Food Technology*, 50(7), 55-71.

Smith, J. J., & Aitchison, J. D. (2013). Peroxisomes take shape. *Nature Reviews in Molecular and Cell Biology*, 14, 803-817.

Snowdon, D. A. (2003). Healthy aging and dementia: Findings from the Nun Study. *Annals of Internal Medicine*, 139(5_Part_2), 450-454.

Solorsano-Vargas S, Pacheco-Alvarez D, León-Del -Río A. Holocarboxylase synthetase is an obligate participant in biotin- mediated regulation of its own expression

and of biotin-depend carboxylases mRNA levels in human cells. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99(8): 5325-30.

Song, X., Zhu, S., & Wang, X. (2017). Alpha-lipoic acid suppresses oxidative stress-induced activation of PI3K/AKT pathway in aging cardiomyocytes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2017/5645805>

Sperling, R. A., Aisen, P. S., Beckett, L. A., Bennett, D. A., Craft, S., Fagan, A. M., *et al.* (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7(3), 280-292.

Stroik, S., & Hendrickson, E. A. (2020). Telomere replication—When the going gets tough. *DNA Repair (Amsterdam)*, 94.

Tabassum, H., Parvez, S., Pasha, S. T., Banerjee, B. D., & Raisuddin, S. (2010). Efecto protector del ácido lipoico contra Estrés oxidativo inducido por metotrexato en mitocondrias hepáticas. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1973–1979

Tabrizi, S. J., Cleeter, M. W. J., Xuereb, J., Taanman, J. W., Cooper, J. M., & Schapira, A. H. V. (1999). Biochemical abnormalities and excitotoxicity in Huntington's disease brain. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 45(1), 25-32.

Tabrizi, S. J., Workman, J., Hart, P. E., Mangiarini, L., Mahal, A., Bates, G., ... & Schapira, A. H. V. (2000). Mitochondrial dysfunction and free radical damage in the Huntington R6/2 transgenic mouse. *Annals of Neurology*, 47(1), 80-86.

Tenyí, T., Kovács, A., Hanvas, E., Szabó, Z., & Bodó-Varga, Z. (2015). Induced psychosis or psychotic relapse? – an unexpected effect of anti-parkinson treatment. *International Journal of Emergency Mental Health*, 17(2), 443-445.

Ter-Horst, G. (1997). *Clinical pharmacology of cerebral ischemia*. New Jersey: Humana Press.

Terré Boliart, R., & Orient López, F. (2007). Tratamiento rehabilitador en la esclerosis múltiple. *Revista de Neurología*, 44(07), 426.

Thompson, A. J., Baranzini, S. E., Geurts, J., Hemmer, B., & Ciccarelli, O. (2018). Multiple sclerosis. *The Lancet*, 391(10130), 1622-1636.

Thoppil, H., & Riabowol, K. (2020). Senolytics: a translational bridge between cellular senescence and organismal aging. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, 367.

Ting, L. (2013). Structure and function of biotin-dependent carboxylases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70, 863-891.

Tourbah, A., Goutman, J. D., & Bordat, C. (2016). Biotin in the treatment of neurodegenerative diseases. *Neurotherapeutics*, 13(4), 765-774. <https://doi.org/10.1007/s13311-016-0472-9>

Traynelis, S. F., & Cull-Candy, S. G. (1991). Pharmacological properties and H⁺ sensitivity of excitatory amino acid receptor channels in rat cerebellar granule neurones. *The Journal of Physiology*, 433(1), 727-763.

Tricco, A. C., Lillie, E., Zarin, W., O'Brien, K. K., Colquhoun, H., Levac, D., ... & Straus, S. E. (2018). PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): checklist and explanation. *Annals of Internal Medicine*, 169(7), 467-473.

Turner, C., Arulkumaran, N., Singer, M., Uewin, R., & Tam, F. (2014). Is the inflammasome a potential therapeutic target in renal disease? *BMC Nephrology*, 15(21), 1-13.

Turrens, J. F. (2013). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *Journal of Physiology*, 552(2), 335-344.

Tuttle, C. S., Waaijer, M. E., Slee-Valentijn, M. S., Stijnen, T., Westendorp, R., & Maier, A. B. (2020). Cellular senescence and chronological age in various human tissues: a systematic review and meta-analysis. *Aging Cell*, 19(2), e13083.

Vajjhala, P., Mirams, R., & Hill, J. (2012). Multiple binding sites on the pyrin domain of ASC protein allow self-association and interaction with NLRP3 protein. *Journal of Biological Chemistry*, 287(50), 41732-41743.

Valdes, J. M., Tagle, D. A., Elmer, L. W., Collins, F. S., Valdes, J. M., Tagle, D. A., ... & Collins, F. S. (1993). A simple non-radioactive method for diagnosis of Huntington's disease. Retrieved from [URL]

Valle-Jiménez, X., Osorio-Paz, I., & Alavez, S. (2023). Caenorhabditis elegans como modelo para el estudio del envejecimiento. *Revista Fesahancccal*, 9(1), 4-11.

Vasquez-Cerdas, M., Campos-Ramírez, D., Gutiérrez-Doña, B., Fernández-Morales, H., Morales-Montero, F., & Cuenca-Berger, P. (2011). Integral Management of Costa Rican Patients with Huntington's Disease and their Families. *Acta Médica Costarricense*, 53(3), 136-143.

Vesely, D. L. (1982). Direct effect of glibenclamide on guanylate cyclase activity in the rat in vitro. *Diabetologia*, 22, 269-272.

Vilches-Flores, A., & Fernández-Mejía, C. (2005). Efecto de la biotina sobre la expresión genética y el metabolismo. *Revista de investigación clínica*, 57(5), 716-724.

Villanueva, M. E. (2020). Revisión de Literatura: Alimentos funcionales en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles y propuesta de elaboración de chocolate funcional en la EAP, Zamorano.

Von Zglinicki, T., Wan, T., & Miwa, S. (2021). Senescence in Post-Mitotic Cells: A Driver of Aging? *Antioxidants Redox Signal*, 34(4), 308–323.

Waitzberg, D. L., & Garla, P. (2014). Contribución de los ácidos grasos Omega-3 para la memoria y la función cognitiva. *Nutrición Hospitalaria*, 30(3), 467-477.

Waldner, H., Collins, M., & Kuchroo, V. K. (2004). Activation of antigen-presenting cells by microbial products breaks self-tolerance and induces autoimmune disease. *Journal of Clinical Investigation*, 113(7), 990-997.

Wanders, R. J. (2000). Peroxisomes, lipid metabolism, and human disease. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 32(Spring), 89-106.

Wang, X., *et al.* (2014). Mitochondrial dysfunction in aging and neurodegeneration: Role of oxidative stress and damage. *Cell Metabolism*, 19(5), 770-784.

Wang, X., Su, B., & Perry, G. (2014). *The role of mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases*. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(2), 53-67. <https://doi.org/10.1038/nrn3662>

Wang, X., Su, B., Zheng, L., Perry, G., Smith, M. A., & Zhu, X. (2014). The role of abnormal mitochondrial dynamics in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 139(1), 59-64. <https://doi.org/10.1111/jnc.12317>

Watanabe, M., Fonseca, C. D. D., & Vattimo, M. D. F. F. (2014). Aspectos instrumentais e éticos da pesquisa experimental com modelos animais. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 48, 177-183.

Wierzbicki, A. S. (2007). Peroxisomal disorders affecting phytanic acid alpha-oxidation: a review. *Biochemical Society Transactions*, 35(Pt 5), 881-886.

Wong, A., Dukic-Stefanovic, S., Gasic-Milenkovic, J., *et al.* (2001). Antiinflammatory antioxidants attenuate the expression of inducible nitric oxide synthase mediated by advanced glycation endproducts in murine microglia. *European Journal of Neuroscience*, 14(12), 1961-1967.

Wood, K. A., & Youle, R. J. (1994). Apoptosis and Free Radicals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 738(1), 400-407.

Xu, L., Lin, K., & Dillin, A. (2017). Biotin regulates DAF-16/FOXO signaling in *Caenorhabditis elegans* and affects longevity. *Ageing Research Reviews*, 40, 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.07.002>

Xu, M., Wang, L., & Chang, L. (2017). *The role of DAF-16/FOXO in stress resistance and longevity in C. elegans*. *Aging Cell*, 16(4), 751-759. <https://doi.org/10.1111/acer.12623>

Xu, S., *et al.* (2017). FOXO transcription factors: Critical regulators of cell survival and longevity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1864(1), 1940-1952.

Yadav, S. K., Mindur, J. E., Ito, K., & Dhib-Jalbut, S. (2015). Advances in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Current Opinion in Neurology*, 28(3), 206-219.

Yaribeygi, H., Panahi, Y., Javadi, B., & Sahebkar, A. (2018). The underlying role of oxidative stress in neurodegeneration: a mechanistic review. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 17, 207–215.

Zádori, D., Klivényi, P., Vámos, E., Fülöp, F., Toldi, J., & Vécsei, L. (2009). Kynurenines in chronic neurodegenerative disorders: future therapeutic strategies. *Journal of Neural Transmission*, 116, 1403-1409.

Zampino, M., Ferrucci, L., & Semba, R. D. (2020). Biomarkers in the path from cellular senescence to frailty. *Experimental Gerontology*, 129, 110750.

Zapata, A. E. T. (2020). Alimentos funcionales, bases conceptuales y su aplicación en el diseño de planes de alimentación. *Biociencias*, 15(1).

Zembron-Lacny, A., Szyszka, K., & Szygula, Z. (2009). Alpha-lipoic acid: Physiological aspects and application in physical exercise. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 60(2), 103-111.

Zhang, D. D., Lo, S. C., Sun, Z., Habib, G. M., & Fisher, A. B. (2011). Regulation of the Nrf2-mediated protective response to oxidative stress. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 28(1), 5-24.

Zhang, D. D., Lo, S. C., Sun, Z., Habib, G. M., & Fisher, A. B. (2012). Regulation of the Nrf2-mediated protective response to oxidative stress. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 28(1), 5-24.

Zhang, J., & Snyder, S. H. (1995). Nitric Oxide in the Nervous System. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 35, 213-233.

Zhang, W., Zhai, X., Zhang, S., Zhao, J., & Liu, J. (2013). Alpha-lipoic acid improves abnormal energy metabolism by activating the AMPK pathway in a skeletal muscle cell model of diabetic peripheral neuropathy. *British Journal of Pharmacology*, 170(6), 1131-1140.

Zhang, Y. (2018). Brain MRI analysis for Alzheimer's disease diagnosis using an ensemble system of deep convolutional neural networks. *Brain informatics*, 5, 1-14.

Zhang, Y., Zhang, X., Jiang, H., & Zheng, D. (2021). Protective effects of metabolites from probiotics on neurodegeneration in *C. elegans*. *Frontiers in Neuroscience*, 15, Article 695479. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.695479>

Zhao, C., Ling, C., & Li, X. (2019). The role of FOXO transcription factors in cell senescence and aging. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 4(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41392-019-0064-1>

Ziegler, D. (2012). Thioctic acid: New developments in the treatment of diabetic polyneuropathy. *Current Diabetes Reports*, 12(1), 61-66.

Ziegler, D., Ametov, A., Barinov, A., Dyck, P. J., Gurieva, I., Low, P. A., ... & Samigullin, R. (2006). El tratamiento oral con ácido alfa-lipoico mejora la polineuropatía diabética sintomática: el ensayo SYDNEY 2. *Diabetes Care*, 29(11), 2365–2377.

XII. ANEXOS

A. Concentración de proteína en *C. elegans* (Método de Biuret)

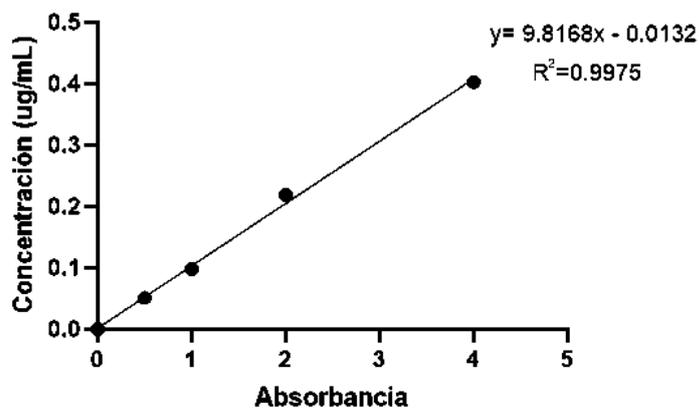


Figura A. Curva de calibración para la cuantificación de proteína en *C. elegans* por el método de Biuret.

B. Curvas de calibración de ácido lipoico y biotina para HPLC

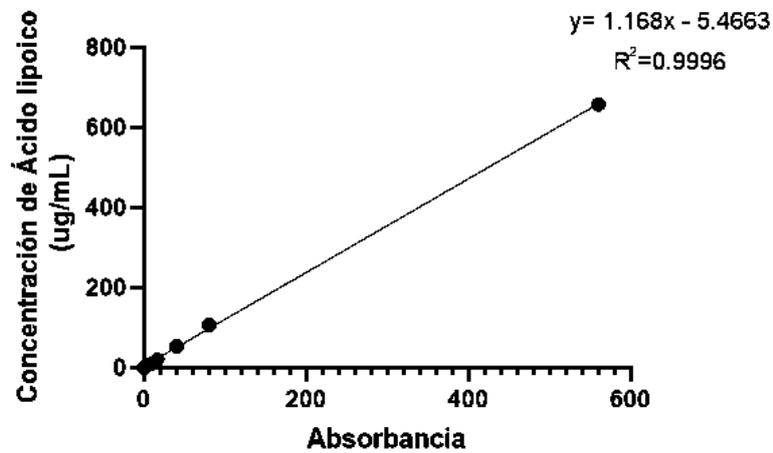


Figura B 1. Curva de calibración para la cuantificación de ácido lipoico por HPLC.

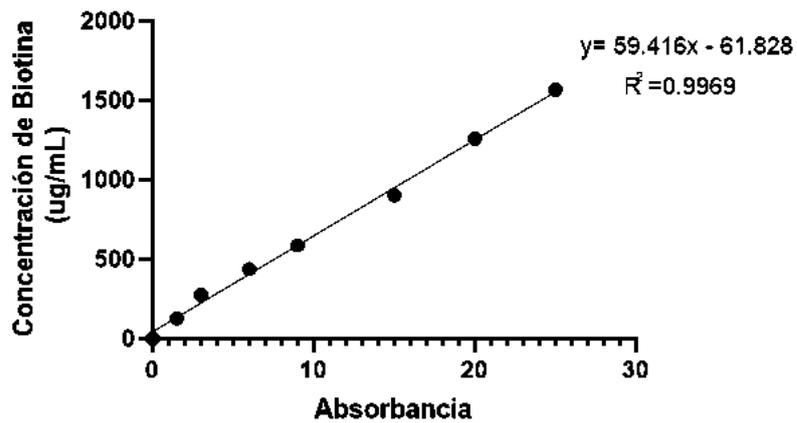


Figura B 2. Curva de calibración para la cuantificación de biotina por HPLC.

C. Curvas de calibración para la cuantificación de actividad enzimática

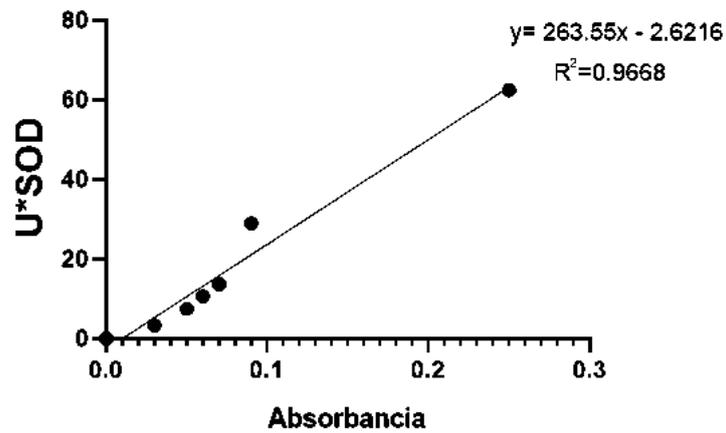


Figura C 1. Curva de calibración para la cuantificación de la actividad de la enzima SOD.

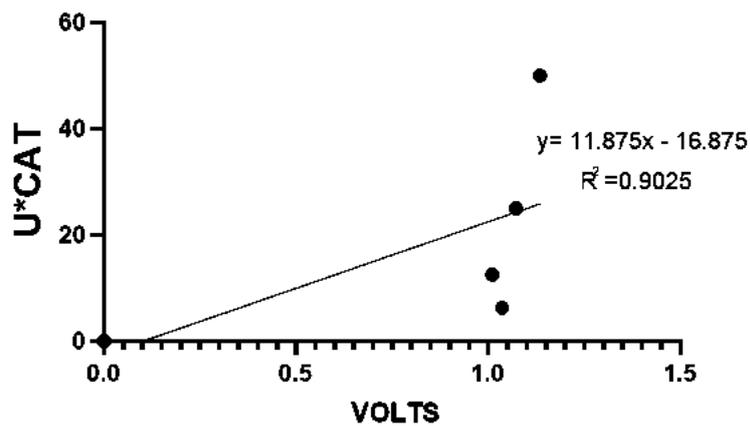


Figura C 2. Curva de calibración para la cuantificación de la actividad de la enzima CAT.

D. Efecto de las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno en *C. elegans*

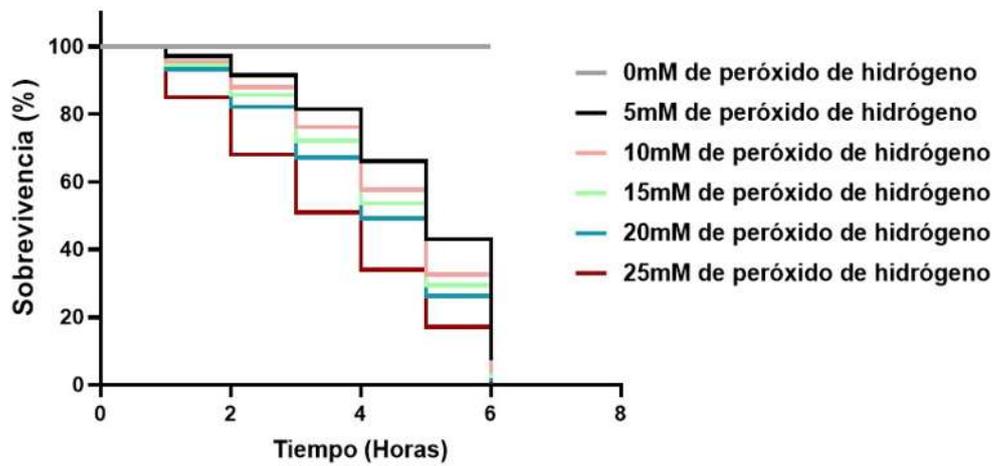


Figura D 1. Porcentaje de supervivencia de acuerdo con la concentración de H₂O₂.

E. Efecto de las diferentes concentraciones de cloruro de sodio sobre el índice de quimiotaxis de *C. elegans*

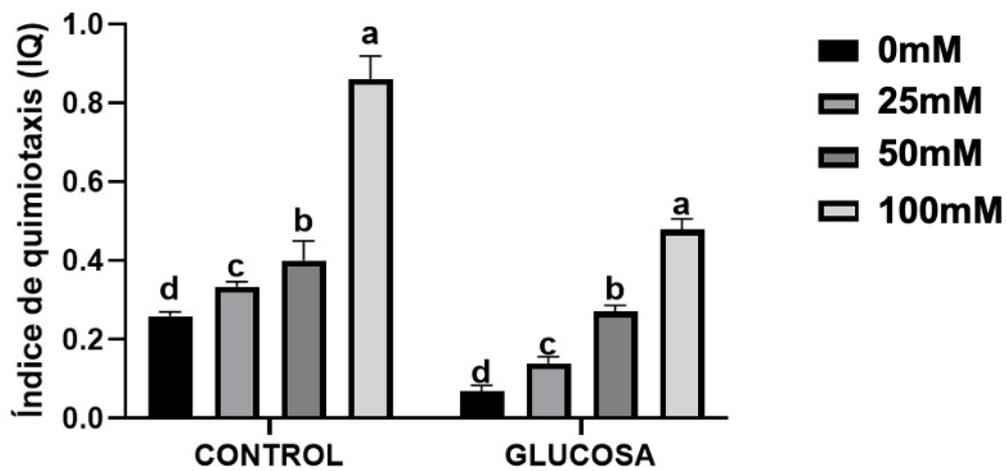


Figura E 1. Índice de quimiotaxis a partir de las diferentes concentraciones de NaCl sobre el entrenamiento de *C. elegans*.

Katia López Torres

Efecto neuroprotector del ácido lipoico y la biotina en *Caenorhabditis elegans*.

 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::3117:420602939

Fecha de entrega

13 ene 2025, 10:24 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

13 ene 2025, 10:28 a.m. GMT-6

Nombre de archivo

Efecto neuroprotector del ácido lipoico y la biotina en *Caenorhabditis elegans*.docx

Tamaño de archivo

20.8 MB

149 Páginas

40,876 Palabras

227,266 Caracteres

40% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Fuentes principales

- 39%  Fuentes de Internet
- 22%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

| Datos del manuscrito que se presenta a revisión | | |
|---|--|--|
| Programa educativo | Maestría en Ciencias en Biología Experimental | |
| Título del trabajo | "Efecto neuroprotector del ácido lipoico y la biotina en <i>Caenorhabditis elegans</i> " | |
| | Nombre | Correo electrónico |
| Autor/es | LBT. Katia López Torres | 1720345x@umich.mx |
| Director | D.C. Asdrúbal Aguilera Méndez | amendez@umich.mx |
| Codirector | D.C. Josué Altamirano Hernández | josue.altamirano@umich.mx |
| Coordinador del programa | D.C. Mauro Manuel Martínez Pacheco | Mauro.martinez.pacheco@umich.mx |

| Uso de Inteligencia Artificial | | |
|-----------------------------------|-------------|---|
| Rubro | Uso (sí/no) | Descripción |
| Asistencia en la redacción | Si | Se utilizó IA para evitar redundancias en la redacción. |

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



| Uso de Inteligencia Artificial | | |
|--|-------------|--|
| Rubro | Uso (sí/no) | Descripción |
| Traducción al español | Si | Se tradujeron investigaciones importantes para este trabajo del inglés al español. |
| Traducción a otra lengua | No | _____ |
| Revisión y corrección de estilo | Si | Se apegó a la normativa APA versión 7. |
| Análisis de datos | No | _____ |
| Búsqueda y organización de información | No | _____ |
| Formateo de las referencias bibliográficas | No | _____ |
| Generación de contenido multimedia | No | _____ |
| Otro | No | _____ |

| Datos del solicitante | |
|-----------------------|--|
| Nombre y firma | <p style="text-align: center;">_____</p> <p style="text-align: center;">LBT. Katla López Torres</p> |
| Lugar y fecha | Morelia Michoacán, a 11 de enero del 2025. |