

**INFLUENCIA DE LA *Curcuma longa* SOBRE *Caenorhabditis elegans*
SOMETIDOS A RADIACIÓN ULTRAVIOLETA.**

ANALIA MAGALI MARTINEZ CANDIA

Foz do Iguazú

2022

INFLUENCIA DE LA *Curcuma longa* SOBRE *Caenorhabditis elegans* SOMETIDOS A RADIACIÓN ULTRAVIOLETA.

ANALIA MAGALI MARTINEZ CANDIA

Trabajo de Conclusión de Curso presentado al Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y la Naturaleza de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, como requisito parcial para la obtención del título de grado en Biotecnología.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Leticia Priscilla Arantes

Foz do Iguazú

2022

**INFLUENCIA DE LA *Curcuma longa* SOBRE *Caenorhabditis elegans*
SOMETIDOS A RADIACIÓN ULTRAVIOLETA.**

Trabajo de Conclusión de Curso presentado
al Instituto Latinoamericano de Ciencias de la
Vida de la Naturaleza de la Universidad
Federal de la Integración Latinoamericana,
como requisito parcial para la obtención del
título de grado en Biotecnología

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^a Dr^a. Leticia Priscilla Arantes
UNILA

Prof^a Dr^a Tathianne Pastana de Sousa Poltronieri
UNILA

Prof. Dr. Kelvinson Fernandez Viana
UNILA

Foz do Iguazú, 2 de Agosto de 2022.

TERMO DE SUBMISSÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

Nome completo do autor(a): Analia Magali Martinez Candia

Curso: Biotecnología

Tipo de Documento	
(X) graduação	(.....) artigo
(.....) especialização	(X) trabalho de conclusão de curso
(.....) mestrado	(.....) monografia
(.....) doutorado	(.....) dissertação
	(.....) tese
	(.....) CD/DVD – obras audiovisuais
	(.....) _____

Título do trabalho acadêmico: **INFLUENCIA DE LA *Curcuma longa* SOBRE *Caenorhabditis elegans* SOMETIDOS A RADIACIÓN ULTRAVIOLETA.**

Nome do orientador(a): Leticia Priscilla Arantes

Data da Defesa: 02 / 08 / 2022

Licença não-exclusiva de Distribuição

O referido autor(a):

a) Declara que o documento entregue é seu trabalho original, e que o detém o direito de conceder os direitos contidos nesta licença. Declara também que a entrega do documento não infringe, tanto quanto lhe é possível saber, os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade.

b) Se o documento entregue contém material do qual não detém os direitos de autor, declara que obteve autorização do detentor dos direitos de autor para conceder à UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana os direitos requeridos por esta licença, e que esse material cujos direitos são de terceiros está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento entregue.

Se o documento entregue é baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não a Universidade Federal da Integração Latino-Americana, declara que cumpriu quaisquer obrigações exigidas pelo respectivo contrato ou acordo.

Na qualidade de titular dos direitos do conteúdo supracitado, o autor autoriza a Biblioteca Latino-Americana – BIUNILA a disponibilizar a obra, gratuitamente e de acordo com a licença pública *Creative Commons Licença 3.0 Unported*.

Foz do Iguaçu, 2 de Agosto de 2022.

Assinatura do Responsável

Dedico este trabajo a mi madre, por formarme desde pequeña como una mujer fuerte, capaz y valiente, por demostrarme que no hay límites de géneros y por llenar mi camino de luz.

A mi padre, que dedicó su vida a la mía sin escatimar amor y atenciones, por incentivar me a la lectura, por enseñarme a abrazar mis metas y trabajar arduamente para lograrlas, por seguir bendiciendo mi vida desde el cielo.

A Dios, por los padres que me brindó

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la fortaleza suficiente para culminar esta etapa de mi vida.

Al país que me acogió, y me permitió formarme en la carrera de mis sueños.

A la Universidad Federal de Integración Latinoamericana, al Parque tecnológico de Itaipú y a los docentes que me instruyeron a lo largo de mi formación.

A mi tutora, la Dra. Leticia Pricilla Arantes, por todo el tiempo, dedicación y predisposición con la cual acompañó el desarrollo de esta investigación.

A mis compañeros, por compartir conmigo tristezas y alegrías, por formar una segunda familia a lo largo de la carrera.

A la familia Rojas Sánchez, por acogerme y apoyarme, por brindarme hogar y afecto, en uno de los años más difíciles de mi vida.

A mi mamá y hermanos, por creer siempre en mí, por acompañarme en mis desvelos y en la aventura que fue estudiar en otro país.

A mis amigos, por hacerme ameno este caminar, y por estar en los buenos y malos momentos a mi lado.

Y a mi papá Don Óscar Martínez, por enseñarme a luchar por mis deseos y anhelos, por creer en mí y por bendecirme desde el cielo.

“Sé firme en tus actitudes y perseverante en tu ideal. Pero sé paciente, no pretendas que todo te llegue de inmediato. Haz tiempo para todo, y todo lo que es tuyo, vendrá a tus manos en el momento oportuno”

Mahatma Gandhi

MARTINEZ CANDIA, Analía Magali. **INFLUENCIA DE LA *Curcuma longa* SOBRE *Caenorhabditis elegans* SOMETIDOS A LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA.** 2022.47. Trabajo de Conclusión de Curso Biotecnología - Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, Foz de Iguazú 2022.

RESUMEN

La genotoxicidad inducida por la acumulación de alteraciones del ADN, productos de la radiación solar incidente en la tierra por el deterioro de la capa de ozono, se asocian a patologías de curso crónico e invalidantes como el desarrollo de neoplasias humanas. Por tal motivo, los estudios in vivo sobre mutagénesis son cada vez más solicitados en el ámbito científico. El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia del tratamiento con *Curcuma longa* antes (pre-UV 2, 4, 6, 8 mg/mL) y después (pos-UV 2,5, 7,5 y 10 mg/mL) de la exposición de los *Caenorhabditis elegans* a la radiación ultravioleta.

Para el desarrollo de esta investigación se emplearon *Caenorhabditis elegans* de la cepa N2 (Wild type) sincronizados en la etapa larval L1. Se realizó la evaluación del parámetro de letalidad de los *C. elegans* expuestos a diferentes tiempos (10, 15, 20, 25 min.) de exposición UV. mediante una curva dosis respuesta, para determinar el tiempo de exposición (el tiempo seleccionado fue de 15 min.). Posteriormente se realizaron un pre y postratamiento con el extracto acuoso de cúrcuma sobre los gusanos expuestos a los 15 min de la radiación UV., con el cual se determinó el índice de sobrevivencia luego de 24 h y el de desenvolvimiento luego de 48 h. Los datos resultantes se analizaron mediante el análisis de ANOVA unidireccional y el test de comparación de múltiples Tukey, considerando como significativa una $p < 0.05$. Los resultados preliminares mostraron un aumento significativo de la sobrevivencia en los gusanos pre y postratados con el extracto acuoso de cúrcuma en las diferentes concentraciones y expuestos a 15 min de radiación Ultravioleta luego de 24 h; así como el desenvolvimiento hasta la etapa larval L4 de los nematodos pretratados con el extracto acuoso de cúrcuma. Por tanto, concluimos que existe un potencial protector en los dos tipos de tratamientos sobre los *C. elegans* tratados.

Palabras- llaves: *Caenorhabditis elegans*; *Curcuma longa*; radiación Ultravioleta; pretratamiento; postratamiento.

MARTINEZ CANDIA, Analia Magali. **INFLUENCIA DA *Curcuma longa* SOBRE *Caenorhabditis elegans* SOMETIDOS À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA.**2022.47. Trabalho de Conclusão de Curso Biotecnologia - Universidad Federal de Integración Latinoamericana. Foz do Iguaçu 2022.

RESUMO

A genotoxicidade induzida pelo acúmulo de alterações de DNA, produtos da radiação solar incidente na Terra devido à deterioração da camada de ozônio, está associada a patologias crônicas e incapacitantes como o desenvolvimento de neoplasias humanas. Por esse motivo, estudos in vivo sobre mutagênese são cada vez mais solicitados no meio científico. O objetivo deste estudo foi determinar a influência do tratamento com *Curcuma longa* antes (pré-UV 2, 4, 6,8 mg/mL) e após (pós-UV 2,5, 7,5 e 10 mg/mL) exposição de *Caenorhabditis elegans* a radiação Ultravioleta (UV). Para tal, foram utilizados *Caenorhabditis* da cepa N2 (tipo Wild) sincronizados na fase larval L1. Onde foi avaliado a letalidade de *C. elegans* expostos a diferentes tempos (10, 15, 20, 25 min.) de exposição aos raios UV. usando uma curva dose-resposta, para determinar o tempo de exposição (o tempo selecionado foi de 15 min.). Posteriormente, foi realizado um pré e pós-tratamento com o extrato aquoso de cúrcuma nos vermes expostos a 15 min de radiação UV, com o qual foi determinada a taxa de sobrevivência após 24 h. e a taxa de desenvolvimento após 48 h. Os resultados foram analisados pela ANOVA de one-way e teste de comparação múltipla de Tukey, considerando-se significativo $p < 0,05$. Os resultados preliminares mostraram um aumento significativo na sobrevivência em vermes pré e pós-tratados com o extrato aquoso de cúrcuma em diferentes concentrações e expostos a 15 min de radiação UV. Após 24 horas, bem como o desenvolvimento até o estágio larval L4 dos nematode pré-tratados com o extrato aquoso de cúrcuma. Portanto, concluímos que existe um potencial protetor nos dois tipos de tratamentos sobre o *C. elegans* tratados.

Palavras-chave: *Caenorhabditis elegans*; *Curcuma longa*; radiação UV; pretratamento; postratamento.

MARTINEZ CANDIA, Analia Magali. **INFLUENCE OF *Curcuma longa* ON *Caenorhabditis elegans* SUBJECTED TO ULTRAVIOLET RADIATION**.2022.47. Final Project of Biotechnology Course - Federal University of Latin American Integration, Foz de Iguazú 2022.

ABSTRACT

The genotoxicity induced by the accumulation of DNA alterations, products of solar radiation incident on the earth due to the deterioration of the ozone layer, are associated with chronic and disabling pathologies such as the development of human neoplasms. For this reason, in vivo studies on mutagenesis are increasingly requested in the scientific field. The objective of this study was to determine the influence of *Curcuma longa* treatment before (pre-UV 2, 4, 6, 8 mg/mL) and after (post-UV 2.5, 7.5 and 10 mg/mL) exposure of *Caenorhabditis elegans* to ultraviolet radiation.

For the development of this research, *Caenorhabditis* of the N2 strain (Wild type) synchronized in the L1 larval stage were used. The evaluation of the lethality parameter of *C. elegans* exposed to different times (10, 15, 20, 25 min.) of UV exposure was carried out. using a dose-response curve, to determine the exposure time (the selected time was 15 min.). Subsequently, a pre- and post-treatment was carried out with the aqueous extract of turmeric on the worms exposed to 15 min of UV radiation, with which the survival rate was determined after 24 h and the development rate after 48 hours. The resulting data were analyzed using the one-way ANOVA analysis and the Tukey multiple comparison test, considering $p < 0.05$ as significant. Preliminary results showed a significant increase in survival in worms pre- and post-treated with the aqueous extract of turmeric at different concentrations and exposed to 15 min of UV radiation. After 24 hours; as well as the development up to the larval stage L4 of the nematodes pretreated with the aqueous extract of turmeric. Therefore, we conclude that there is a protective potential in the two types of treatments on the treated *C. elegans*.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*; *Curcuma longa*; UV radiation; pretreatment; posttreatment.

LISTA DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Características botánicas de la <i>Curcuma longa</i>	16
Figura 2. <i>Caenorhabditis elegans</i> adulto	19
Figura 3. Ciclo de vida de <i>C. elegans</i>	21
Figura 4. Longitud de onda nm.....	24
Figura 5. Intensidad de la radiación UV en la tierra	25
Figura 6. Extracto Acuoso de <i>Curcuma longa</i>	29
Figura 7. Ensayo del tratamiento previo con cúrcuma.....	33
Figura 8. Ensayo del postratamiento con cúrcuma.....	34
Figura 9. Exposición a la radiación UV	36

LISTA DE ABREVIACIONES Y SIGLAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANOVA	Análisis de varianza
CaCl ₂	Cloruro de Calcio
<i>C. elegans</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
g	Gramos
KH ₂ PO ₄	Fosfato monopotásico
KPO ₄	Fosfato de Potasio
L (1-4)	Etapas larvales 1-4
M	Molar
mM	Milimolar
mm	Milímetro
mg	Miligramos
MgSO ₄	Sulfato de Magnesio
mL	Mililitros
N2	Cepa salvaje de referencia N2
NGM	Nematode Growth Medium (Medio de crecimiento de nematodos)
NaCl	Cloruro de calcio
Na ₂ HPO ₄	Fosfato sódico
nm	Nanómetros

rpm	Rotaciones por minuto
UNILA	Universidad Federal de la Integración Latinoamericana
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
UVC	Ultravioleta C
WT	Wild Type, tipo salvaje/silvestre
[]	Concentración
%	Porcentaje

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	14
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	16
2.1 CÚRCUMA	16
2.1.1 Características generales	16
2.1.2 Cúrcuma en la industria alimentaria y gastronómica	16
2.1.3 Actividad biológica de la cúrcuma y su efecto en la salud	17
2.1.4 Actividad antioxidante de la cúrcuma	18
2.2 <i>Caenorhabditis elegans</i>	18
2.2.1 Características generales	18
2.2.2 Ciclo de vida	20
2.2.3 <i>Caenorhabditis elegans</i> como modelo animal	21
2.3 RADIACIÓN ULTRAVIOLETA (UV)	22
2.3.1 Tipos de radiación UV	22
2.3.2 Radiación UV solar	23
2.3.3 Efectos de la radiación UV en la salud	25
2.3.4 Daño genético inducido por la radiación UV	26
3. JUSTIFICACIÓN	27
4. OBJETIVOS	28
4.1 OBJETIVO GENERAL	28
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
5. METODOLOGÍA	29
5.1. MATERIAL VEGETAL	29
5.2. EXTRACTO DE CÚRCUMA	29
5.3. PREPARACIÓN DE PLACAS DE PETRI CON NGM	30
5.4. PREPARACIÓN DE <i>E. coli</i> COMO ALIMENTO	30
5.5. CULTIVO DE <i>C. elegans</i>	30
5.6. SINCRONIZACIÓN DE <i>C. elegans</i>	31
5.7. ENSAYO DEL TRATAMIENTO PREVIO CON CÚRCUMA	32
5.8. ENSAYO DEL POSTRATAMIENTO CON CÚRCUMA	33
5.9. EXPOSICIÓN A LA RADIACIÓN UV	34
5.9.1 Curva dosis respuesta	34
5.9.2 Efecto del extracto acuoso de <i>Curcuma longa</i> sobre la exposición a radiación UV.	35
5.9.3 Análisis de sobrevivencia	37
5.9.4 Análisis de desenvolvimiento	37

5.9.5	<i>Análisis estadístico</i>	37
6.	RESULTADOS	38
6.1.	EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE LETALIDAD	38
6.2	EVALUACIÓN DE LA SOBREVIVENCIA Y EL DESENVOLVIMIENTO LUEGO DEL PRE Y POSTRATAMIENTO CON CÚRCUMA	39
7.	DISCUSIONES	43
8.	CONCLUSIÓN	46
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha observado un aumento significativo en el número de estudios realizados con plantas y hierbas, con el fin de implementar prácticas terapéuticas medicinales preventivas y alternativas de fármacos asociados a productos vegetales que sean capaces de disminuir las dosis de los medicamentos prescritos. Dado el potencial antioxidante, antitumoral, antibacterial y anti inflamatorio que presentan muchos de los compuestos derivados del metabolismo secundario de las plantas y que éstos se encuentran ampliamente representados en la dieta humana, los estudios actuales buscan conocer la actividad, biodisponibilidad, metabolismo y mecanismos de acción de los compuestos presentes en las plantas investigadas. Además, ha aumentado el interés de empresas que explotan determinados subproductos para la obtención de compuestos polifenólicos con diferentes aplicaciones en los campos de la industria alimentaria, farmacológica y cosmética (DURAN BEGOÑA, 2018)

La *Curcuma longa* L. o *turmeric*, llamada popularmente como azafrán indio o especia dorada, es una planta de la Familia Zingiberaceae originaria del sudeste asiático. Su rizoma fue adoptado como producto medicinal por el Committee on Herbal Medicinal Products-HMP, el 12 de noviembre de 2009. Los responsables de la bioactividad de la cúrcuma son los curcuminoides, especialmente la curcumina (Witkin y Li, 2013), presentes en el aceite esencial y en el extracto del rizoma de esta planta. Los curcuminoides son conocidos por su capacidad de neutralizar el daño producido por las especies reactivas de oxígeno, reforzar la reparación del ADN y aliviar los problemas inflamatorios relacionados a enfermedades crónicas (Mukherjee et al 2007).

El alto desarrollo científico y tecnológico que posee el mundo moderno y el carácter no racional de las prácticas de explotación de los recursos, han propiciado la contaminación del ambiente y la disminución de la capa atmosférica por donde se filtran los rayos UV (Gonzalez- Puriega Maridel et al., 2009).

Las radiaciones UV son una parte de la energía radiante que

proviene del sol y constituye la porción más energética del espectro electromagnético que incide en la superficie de la tierra (Pierce, 2006), causante de mutaciones en los diversos organismos de nuestro planeta (Kozmin et al., 2003). Los mamíferos sometidos a una exposición crónica de radiación UV, son inducidos a varias respuestas biológicas, por ejemplo: el desarrollo de eritema, edema, quemaduras de las células, hiperplasia, inmunosupresión, daño en el ADN, fotoenvejecimiento y melanogénesis, los cuales pueden estar directa o indirectamente involucrados en el desarrollo de cáncer (Goihman-Yahr, 1996; Afaq y Mukhtar, 2002).

Con el fin de proporcionar una respuesta a la genotoxicidad inducida por las radiaciones ultravioleta, parece adecuado la implementación del *C. elegans* como organismo modelo, debido a su gran versatilidad, facilidad de uso, ciclo de vida corto y rutas metabólicas similares a los humanos. Además, este modelo presenta la ventaja de ser un organismo bien caracterizado genómicamente, con un sistema completo de órganos y tejidos, y del que se dispone una amplia colección de mutantes y cepas transgénicas, lo que permite comprobar si determinados genes, enzimas o factores de transcripción son esenciales para el mecanismo de acción de los curcuminoides derivados de la cúrcuma, en las rutas metabólicas o de señalización celular concretas (Duran Begoña, 2018)

En esta investigación se examinó la influencia de la *Curcuma Longa* para mitigar/anular los daños inducidos por la exposición de los *C. elegans* expuestos a la radiación UV.

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 CÚRCUMA

2.1.1 Características generales

La *Curcuma longa* L. es una planta Monocotiloidea del orden Zingiberales, de la Familia Zingiberaceae originaria del sudeste asiático (Saiz de Cos, 2014). Este género representa un grupo de hierbas rizomatosas perennes con raíces o tubérculos oblongo-palmeados, arrugados en el exterior, marrones por fuera y de un color naranja profundo en el interior, presenta hojas largas, lanceoladas y pecioladas de un color verde uniforme que raramente florece (Sotomayor Cordova et al., 2018). En ella no existe formación de semillas y, por tanto, la planta se reproduce vegetativamente por esquejes a partir del rizoma (Saiz de Cos, 2014). (Figura 1)

Su nombre proviene del arábico antiguo Kurkun (azafrán), por lo que se la conoce como azafrán asiático. Necesita una temperatura de entre 20° - 30° C, pluviosidad, altos niveles de luminosidad y con pH ligeramente ácidos (5 - 6) para prosperar, sobre todo en los siete a diez primeros meses de cultivo (Saiz Cos, 2014).

Figura 1. Características botánicas de la *Curcuma longa*



A. Imagen de la planta de la cúrcuma; **B.** Detalle de la flor. **C.** Detalle del rizoma anaranjado. Fuente: www.eol.org / www.ntbg.org.

2.1.2 Cúrcuma en la industria alimentaria y gastronómica

La cúrcuma es conocida en la industria alimentaria como E-100, su resina se utiliza como agente saborizante y colorante alimenticio que sirve

para aromatizar y dar color a mantequillas, quesos, diversas conservas, mostaza, palomitas de maíz de colores, cereales, sopas, caldos, productos cárnicos y lácteos (Benavides et al., 2010). Además, es incluida como una de las plantas aromáticas conocidas como especias, siendo una de las más consumidas mundialmente y la que más se exporta (Benavides et al. 2010), debido a su sabor picante y amargo, su fragancia suave y su ligero tono naranja.

2.1.3 *Actividad biológica de la cúrcuma y su efecto en la salud*

Los miembros de *Zingiberaceae* son conocidos por contener terpenoides, flavonoides, fenilpropanoides y sesquiterpenos, que tienen actividades antitumorales (Lai et al., 2004).

Las propiedades medicinales de la cúrcuma se atribuyen a la bioactividad de los componentes producidos en las rutas del metabolismo secundario: compuestos fenólicos y aceites volátiles (Jayaprakasha et al., 2005). En general, las especies de cúrcuma producen una amplia variedad de sesquiterpenos volátiles, monoterpenos y otros compuestos aromáticos (ÁNGEL et al., 2014) que los convierten en candidatos ideales para su uso en las industrias farmacéutica y cosmética.

El rizoma es la parte más utilizada de la planta, los principales componentes activos del rizoma son los derivados polifenólicos no tóxicos de los curcuminoides (curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina) (ITOKAWA et al., 2018).

El aceite esencial de la especie cúrcuma, se encuentra compuesto por sesquiterpenoides y monoterpenoides como componentes principales, que le atribuyen una amplia variedad de propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antiproliferativas, hipercolesterolémicos, antidiabéticas, anti hepatotóxicas, antidiarreicas, carminativas, diuréticas, antirreumáticas, hipotensoras, antioxidantes, antimicrobianas, antivirales, insecticidas, actividades inhibidoras de larvicida, antiveneno, antitrombótico, anti tirosinasa y ciclooxigenasa-1 (Mau et al., 2003).

2.1.4 Actividad antioxidante de la cúrcuma

Los principios activos de los polifenoles presentes en la cúrcuma, le otorgan un elevado poder antioxidante. La actividad antioxidante de los polifenoles se debe a su facilidad para reducir la producción de radicales libres, por inhibición de las enzimas que intervienen, o por quelación de metales de transición responsables de la generación de los radicales libres. Su bajo potencial redox, le otorga la posibilidad de reducir las especies de oxígeno reactivo (ROS), altamente oxidadas (Pedrola, 2020).

En 2015 un metaanálisis en el que se recogió toda la evidencia existente acerca del poder antioxidante de la cúrcuma demostró que los curcuminoides potencian la actividad de las enzimas: superóxido-dismutasa (SOD), catalasa y glutatión (GSH), y reducen la peroxidación de los lípidos séricos cruciales para el equilibrio redox (Sahebkar et al., 2015).

2.2 *Caenorhabditis elegans*

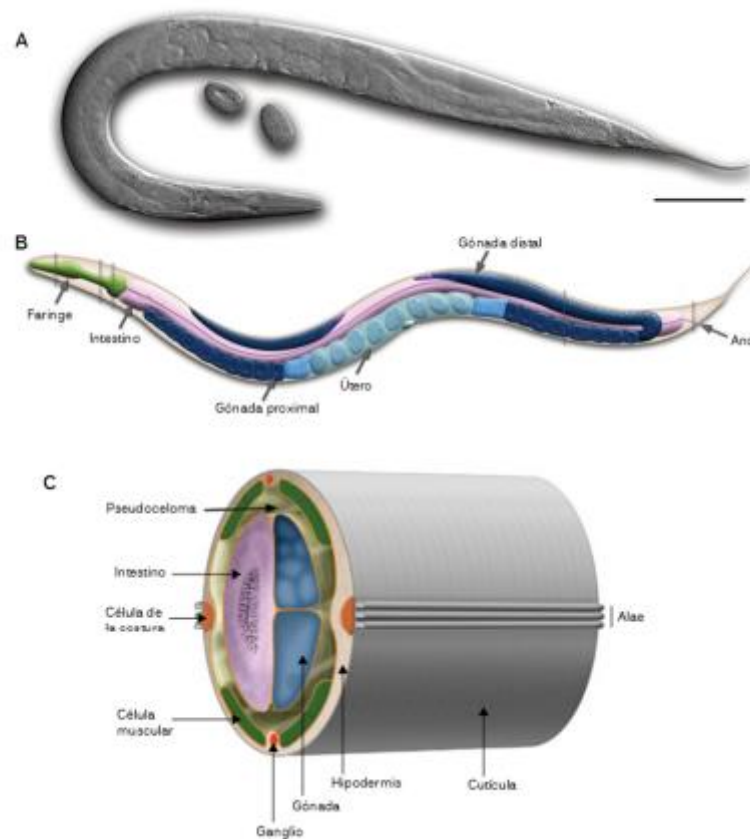
2.2.1 Características generales

Caenorhabditis elegans es un nematodo de la familia Rhabditidae que habita en el suelo y es capaz de tolerar un amplio rango de temperaturas intermedias, por lo que se encuentra en la mayoría de las regiones templadas del mundo (Begoña et al., 2018). Su dieta comprende microorganismos, en especial de bacterias como la *E. coli* y *Bacillus subtilis*. Poseen una simetría bilateral, con cuatro cordones epidérmicos y una cavidad general, entre la pared, el cuerpo y los órganos, repleta de líquido que le otorga su apariencia traslúcida. Su organización anatómica, es la habitual de todo nematodo, compuesto por un tubo exterior y uno interior separado por el pseudoceloma. El tubo exterior (pared del cuerpo) se compone de la cutícula, hipodermis, sistema excretor, neuronas y músculos; y el tubo interior comprende la faringe, intestino, y, en el adulto, las gónadas y el aparato ovopositor (Larre Borges, 2014). (Figura 2)

Este nematodo tiene un modo de reproducción muy peculiar llamado androdioecia. Puede reproducirse ya sea por hermafroditas que se

autofecundan (autofecundación) o por hermafroditas (XX) que se reproducen con machos (X0) (Ftrézal; Félix, 2015). Los hermafroditas han sido definidos como hembras capaces de autofecundarse cuyo único carácter masculino es la habilidad de producir una cantidad limitada de esperma con el solo fin de la autofertilización interna (Larre Borges, 2014). Los machos se producen por no disyunción de los cromosomas X en la meiosis o en la progenie de cruces macho-hermafrodita. La no disyunción de los cromosomas X ocurre en general con una baja frecuencia (p. ej., 0,1 %) en el laboratorio, y esta frecuencia varía con el genotipo y el ambiente (Hodgkin y Doniach, 1997; Teotonio et al., 2006).

Figura 2. *Caenorhabditis elegans* adulto



- A.** Imagen DIC de un hermafrodita adulto, vista lateral; barra de escala 0,1 mm.
B. Esquema representando las principales estructuras anatómicas, vista lateral.
C. Esquema representando las principales estructuras anatómicas, corte transversal del cuerpo.

Fuente: <https://www.wormatlas.org/.com>.

2.2.2 Ciclo de vida

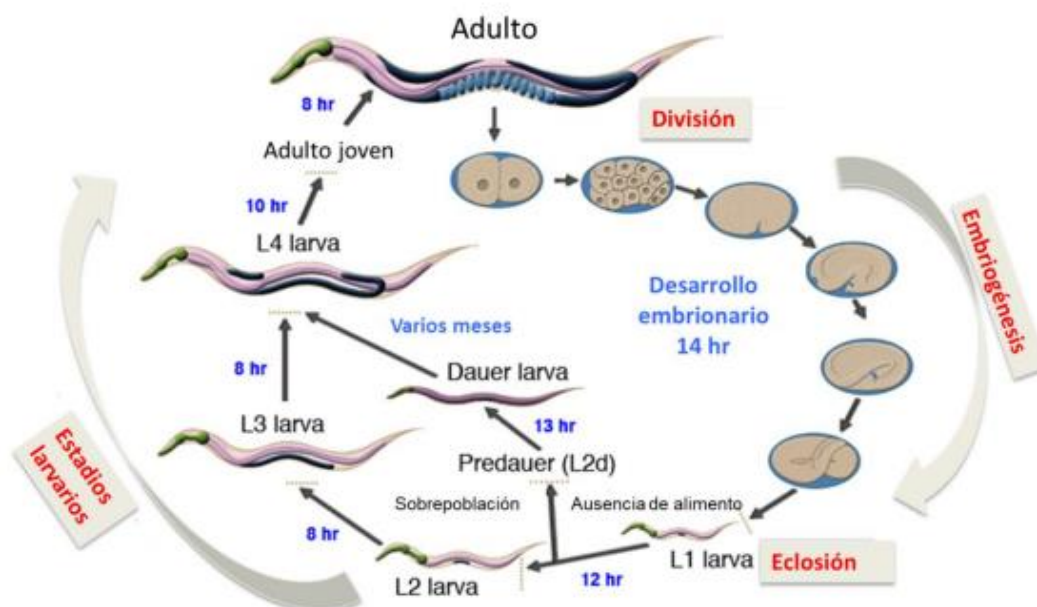
El ciclo de vida de los *C. elegans* es sumamente dependiente de su entorno. En condiciones ideales de alimentación y temperatura, los individuos recién nacidos pasan por cuatro etapas larvarias (L1, L2, L3, L4) y alcanzan la vida adulta a los 3,5 días a 20° C. Pequeñas variaciones de temperatura pueden acelerar o retrasar su desarrollo, pasando a completarse el ciclo de desarrollo larval en 3 días a 25 °C y en 6 días a 10 °C (Byerly; Russell; Cassada, 1976).

En condiciones estresantes (como hacinamiento, suministro limitado de alimentos y estrés por calor), los individuos pueden cambiar durante la etapa L1 a una ruta de desarrollo alternativa y entrar en una etapa predauer (L2d), seguida de la etapa de diapausa sin alimentación llamada dauer (una etapa L3 alternativa) (Ftrézal; Félix, 2015). La larva dauer posee una cutícula especializada que le permite sobrevivir durante varios meses bajo condiciones de estrés ambiental y reanudar su desarrollo cuando encuentra alimento o condiciones favorables, en cuyo caso comienza a alimentarse y muda a L4 recuperando el ciclo normal (Begoña, 2018).

El desenvolvimiento normal de los *C. elegans*, se encuentra constituido por dos etapas la embriogénesis y el desarrollo postembrionario. La embriogénesis se da desde la fertilización hasta la eclosión del huevo y es dividida en dos etapas; la proliferación que tiene lugar durante las primeras horas en el interior del útero del hermafrodita, en la cual ocurren las divisiones celulares con una duración aproximada de 5,5 h post-fertilización a 22 °C y la organogénesis, en la cual ocurre la diferenciación celular y dura aproximadamente 14 hs a 22 °C (Sulston et al., 1983). (Figura 3)

El desarrollo postembrionario involucra el crecimiento a través de los 4 estados larvarios (L1 - L4), finalizando cada uno de ellos con una muda y formando en la última muda el individuo adulto. El adulto hermafrodita produce oocitos durante aproximadamente 4 días; al finalizar este periodo fértil el gusano adulto vive entre 10 - 15 días más (Hodgkin; Woob 1988).

Figura 3. Ciclo de vida de *C. elegans*



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

2.2.3 *Caenorhabditis elegans* como modelo animal

El nemátodo *Caenorhabditis elegans* es un organismo no parasitario de vida libre, utilizado por primera vez como modelo de estudio en 1963 (Brenner, 1974). Los principales motivos de optar por este nemátodo como modelo de estudio son su fácil mantenimiento y su corto ciclo de vida, además de la gran variedad de características anatómicas que lo vuelven ideal para el modelado fisiológico y de movimiento.

Comenzando por sus características generales, el *C. elegans* es un organismo relativamente simple, con un tamaño aproximado de 1 mm. en su etapa adulta y 0,25 mm. en su etapa juvenil, lo que permite que sea fácilmente cultivado en cajas de Petri y lo que evita la implementación de infraestructura especializada; posee un corto ciclo de vida, que dura de dos a tres días en llegar al estado adulto y posee una longevidad de 20 a 30 días (Gutierrez Sanchez et al., 2020). Es transparente lo que permite observar sus comportamientos fisiológicos y es un organismo mayoritariamente hermafrodita en la que menos de 0,2% son machos. Esto último es de gran utilidad, ya que al ser hermafroditas se reduce la variabilidad genética, lo que permite conocer la cantidad y el tipo

celular que los constituyen (Jarrel et al., 2012)

Con relación a su mantenimiento no se requieren de muchos insumos o equipos costosos, basta con una incubadora, placas con agar NGM y bacteria *E. coli* OP50 como alimento. El hecho que de un solo gusano se pueda obtener toda una población, su resistencia a la falta de alimento como larva dauer de al menos un mes, así como su resistencia al congelamiento por periodos incluso de varios años, permiten la posibilidad de mantener las cepas por mucho tiempo a un bajo costo (Barrera; Félix, 2014).

Los *C. elegans* a pesar de su simplicidad, al ser fáciles de mantener y observar se han vuelto un organismo de alto valor para la investigación biomédica, particularmente en la caracterización funcional de nuevos objetivos farmacológicos (Kaletta; Hengartner, 2006), debido a su alta similitud con el genoma humano, ya que al menos el 83% de su proteoma presenta homología con genes humanos (Lai, Chou et al., 2000) y evolutivo pues esta especie es constituida de un conjunto de sistemas más simple de estudiar que la de los mamíferos. Este nematodo también es un excelente modelo en genética, pues resulta menos complicado desarrollar cepas mutantes, aislarlas y conseguir poblaciones homogéneas (Cors; Wigtman; Chalfie, 2015).

2.3 RADIACIÓN ULTRAVIOLETA (UV)

2.3.1 Tipos de radiación UV

Se conoce como radiación ultravioleta, toda radiación cuyos componentes se encuentran dentro de la longitud de onda más corta que la radiación visible (Caicedo, 2015). La radiación UV se puede dividir en tres intervalos, de acuerdo al efecto que esta radiación produce desde un punto de vista biológico (Cabrera et al., 2005).

UV - A (315 - 400 nm): componen el 98% de la radiación UV, es el menos dañino para los seres humanos y es muy utilizado por su capacidad de hacer que materiales fluorescentes emiten radiación electromagnética en la región visible. También se utiliza en máquinas bronceadoras y de fototerapia (Bohorquez-Ballen; Perez Mogollon, 2007).

UV - B (280 a 315 nm): Dependiente de la cantidad de ozono

atmosférico existente (Morales, 1992). Posee una energía suficiente para destruir capas biológicas. Gran parte del UV-B solar es bloqueado por la atmósfera (Bohorquez-Ballen; Perez Mogollon, 2007).

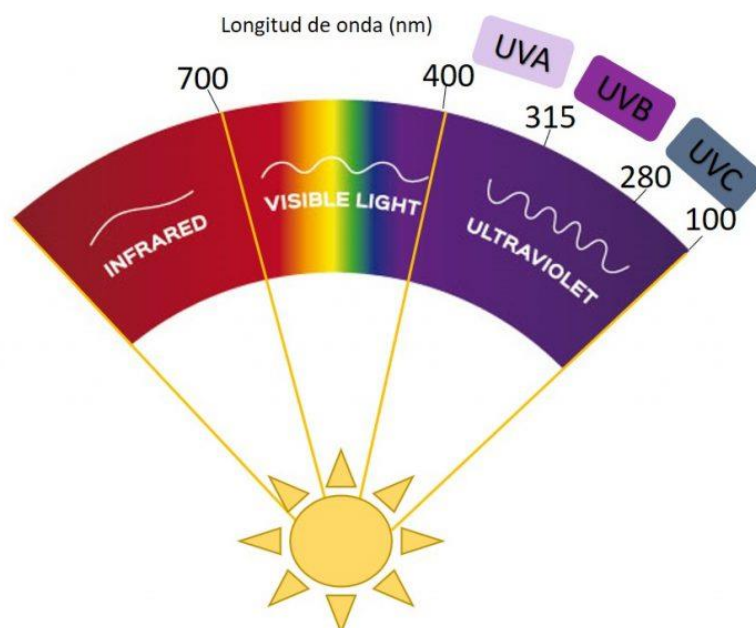
UV - C (100 a 280 nm): Ampliamente retenida sobre la Troposfera (Morales, 1992). Cuando los fotones de UV-C colisionan con los átomos de oxígeno, la energía de intercambio causa la formación de ozono, por lo que el UV-C solar es absorbido en unos cuantos cientos de metros de la capa atmosférica (Bohorquez-Ballen; Perez Mogollon, 2007), este tipo de UV prácticamente no alcanza la superficie terrestre, por lo cual no es de importancia biológica.

2.3.2 Radiación UV solar

El sol es la fuente principal de la radiación ultravioleta existente en el medio ambiente. La radiación que llega a la tierra proveniente del sol, se encuentra en las regiones del espectro electromagnético del infrarrojo, visible y ultravioleta (Bohorquez-Ballen; Perez Mogollon, 2007).

Las radiaciones del espectro en el infrarrojo (longitudes de onda mayores a 700 nm) y el visible (longitudes de onda entre 400 a 700 nm. aproximadamente) equivalen a un 92,8% de la radiación solar extraterrestre; el restante 7,2% corresponde al UV. De este porcentaje 5,1% corresponde al UV-A, 1,3% al UV-B y 0,8% al UV-C (Tena et al., 1998). (Figura 4)

Figura 4. Longitud de onda nm.

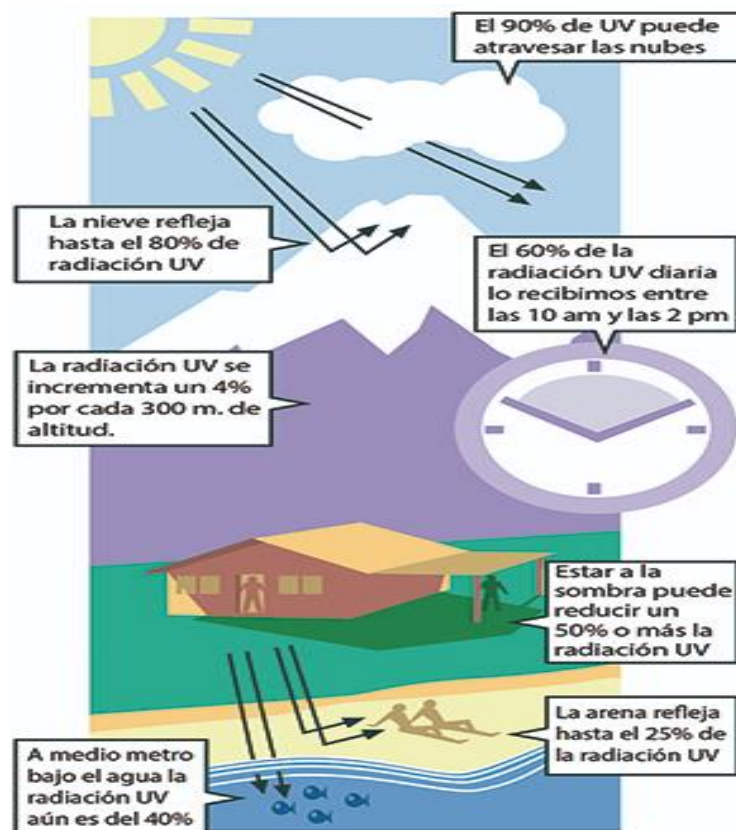


Fuente: (World Health Organization, 2002).

Cuando la luz solar atraviesa la atmósfera; el ozono, el vapor de agua, el oxígeno y el dióxido de carbono absorben toda la radiación UVC y aproximadamente el 90% de la radiación UVB (World Health Organization, 2002). Como resultado, los rayos ultravioletas que llegan a la superficie de la tierra se componen principalmente de rayos UVA que son poco absorbidos en la atmósfera y por una pequeña proporción de UVB.

Sin embargo, el nivel de radiación solar varía en función de la capa de ozono, altitud, latitud, estaciones del año, hora del día, nubosidad, capacidad de reflejo (nieve 50-80%; arena y láminas de aluminio 15-25%; agua en movimiento 20% y agua estancada 10%), incidencia de la irradiación (directa o difusa) (Coohill, 1991). (Figura 5)

Figura 5. Intensidad de la radiación UV en la tierra



Fuente: (World Health Organization, 2002).

2.3.3 Efectos de la radiación UV en la salud

La exposición a radiación UV desata una serie de reacciones bioquímicas dentro del organismo. Lleva a la depleción de enzimas oxidantes y antioxidantes, conduce a un daño del DNA por múltiples procesos, entre los que se encuentran la formación de dímeros pirimidina-ciclobutano y foto-productos pirimidina-pirimidona (Vallejo et al., 2013). En adición a esto, activa el sistema neuroendocrino causando inmunosupresión y liberación de mediadores, lo que aumenta la síntesis y liberación de sustancias pro-inflamatorias de varias células (Carrasco Malio, 2011).

Por su vez, los efectos adversos clínicos visibles, causados por la sobre exposición UV, se pueden separar en aquellos que se observan a corto plazo: eritema solar, reacción de pigmentación y alteraciones inmunológicas y

aquellas que solo se manifiestan después de muchos años de exposición solar exageradas y reiterada: fotoenvejecimiento y fotocarcinogénesis (Collantes Jara, 2015).

2.3.4 Daño genético inducido por la radiación UV

Los daños ocasionados en el ADN por las radiaciones UV, pueden ser inducidos por absorción directa de la energía de los fotones o mediante lesiones indirectas donde los cromóforos endógenos transfieren la carga a otras moléculas que son las que provocan las modificaciones en el ADN (Verschooten et al., 2006). Las lesiones principales son aquellas que forman los dímeros de pirimidinas: pirimidina cis-syn ciclobutano y pirimidina pirimidona ocasionados por la absorción directa.

Las lesiones al ADN de origen indirecto son las del tipo oxidativo, generado por la reacción con radicales de oxígeno en las zonas irradiadas, o por transferencia de cargas de cromóforos endógenos excitados (Cadet et al., 2005), como la roturas de la cadena simple y doble del ADN (SSBs y DSBs) (Jiang et al., 2007), el entrecruzamiento ADN proteína y los sitios lábiles al álcali y 8-oxo-7,8- dihidro-2,9-deoxiguanosina (Verschooten et al., 2006).

3. JUSTIFICACIÓN

Considerando el potencial bioactivo de la cúrcuma sobre los diversos procesos de reparación y mantenimiento del ADN el cual es conferido por su capacidad de neutralizar los radicales libres, en especial el hidroxilo radical, Esta investigación examinará el pretratamiento y postratamiento del extracto acuoso de *Curcuma longa* en diferentes concentraciones, buscando determinar su potencial protector o reparador del ADN, inhibiendo, anulando o mitigando el daño visible en *C. elegans*. Se espera proveer los datos iniciales para estudios más específicos referentes a la mutagénesis, teniendo en cuenta que cada día es de mayor importancia en el ámbito mundial la realización de este modelo de estudio, por el constante deterioro del hábitat del hombre moderno.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la influencia de la *Curcuma longa* en *C. elegans* inducidos a radiación UV.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el índice de letalidad en *C. elegans* expuestos a la radiación UV en diferentes periodos de tiempo;
- Cuantificar la mortalidad de *C. elegans* tratados con diferentes concentraciones de cúrcuma antes y después de ser inducidos a la radiación UV;
- Evaluar el efecto de la cúrcuma sobre el desenvolvimiento de *C. elegans* expuestos a la radiación UV;

Comparar la eficiencia entre el pretratamiento y el postratamiento con cúrcuma en *C. elegans* inducidos a la radiación UV;.

5. METODOLOGÍA

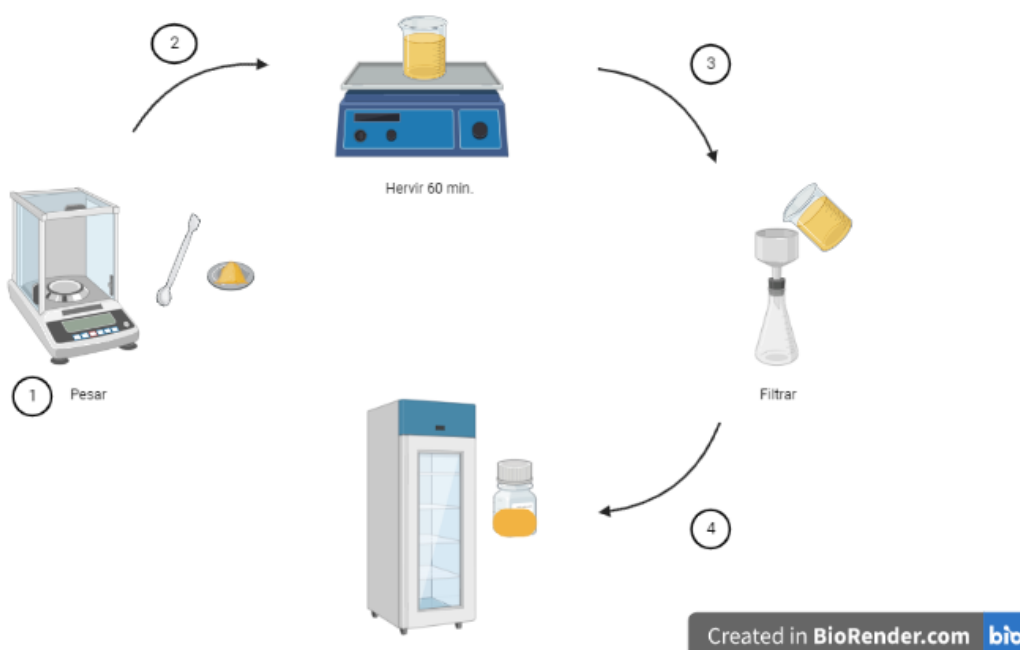
5.1. MATERIAL VEGETAL

En los ensayos realizados durante la investigación, se utilizó el polvo de Cúrcuma a granel, el cual procede del Chaco paraguayo, de lote 4321, procesado el 02/12/21 y obtenido de la tienda “Vivo y Sano” ubicada en Ciudad del Este, en el departamento de Alto Paraná / Paraguay.

5.2. EXTRACTO DE CÚRCUMA

Para preparar el extracto acuoso de cúrcuma, se disolvieron 0,50 g de polvo en 50 mL de agua destilada esterilizada y se hirvieron durante 60 minutos. Esta solución se filtró y el extracto de cúrcuma se almacenó en la heladera, teniendo en cuenta el extracto acuoso realizado por (Estemadi et al., 2021), con una pequeña modificación en la cantidad de polvo de cúrcuma disuelto. (Figura 6)

Figura 6. Extracto Acuoso de *Curcuma longa*



Fuente: Elaboración propia.

5.3. PREPARACIÓN DE PLACAS DE PETRI CON NGM

Para elaborar el medio Nematode Growth Medium (NGM) se incorporaron en un litro de agua destilada: 3 g de NaCl, 17 g de agar y 2,5 g de peptona, que fue esterilizada en autoclave durante 15 min y dejada en reposo hasta adoptar la temperatura ambiente. El medio fue enriquecido dentro del flujo laminar previamente esterilizado con: 1 ml de CaCl₂ 1M, 1 ml de colesterol (5 mg/mL etanol), 1 mL MgSO₄ 1M, 25 mL del buffer KPO₄ 1M pH 6,0 (108,3 g KH₂PO₄, 35,6 g K₂HPO₄ en 1L de H₂O), 1 mL de estreptomicina y 1 mL de nistatina, previamente esterilizados y guardados en el congelador en alícuotas de 2mL para su utilización (Sánchez Hernández, 2017), con pequeñas modificaciones.

El medio NGM enriquecido puede ser conservado en la heladera o vertido dentro del flujo laminar sobre placas de petri de Ø 60 mm, la distribución del medio dentro de las placas debe ser de 20 mL por placa de forma constante, de manera a reducir la necesidad de reenfocar el microscopio al cambiar de placa.

5.4. PREPARACIÓN DE *E. coli* COMO ALIMENTO

Para realizar el cultivo de la bacteria *E. coli* OP50 utilizada convencionalmente como el alimento bacteriano en el mantenimiento de los de *Caenorhabditis elegans* dentro de las placas con agar NGM, se realizó el cultivo de la bacteria, la cual fue inoculada en una botella con tapa rosca, previamente autoclavada, conteniendo 20 mL de medio líquido Luria Bertani (LB), 20 µL de estreptomicina y 20 µL nistatina. El medio conteniendo *E. coli* OP50 se dejó incubar a 37 °C durante 24 h. (bajo agitación constante), transcurrido ese tiempo, se toman alícuotas del medio conteniendo las bacterias *E. coli* OP50 crecidas y se las transfirió, dentro de las placas de petri con el medio NGM, en la cual se las dejó incubar nuevamente a 37°C durante 24h. teniendo en cuenta lo descrito por (SANCHEZ HERNANDEZ, 2017), con pequeñas adaptaciones.

5.5. CULTIVO DE *C. elegans*

Para los estudios realizados se utilizó la cepa silvestre N2 de *C. elegans* y la bacteria *E. coli* OP50 resistente a ampicilina como fuente de

alimento del nematodo. Los *C. elegans* fueron obtenidos a través de la Universidad Federal de Santa Maria y conservados en incubadora a 20 °C dentro de placas de agar NGM de almacenamiento con *E. coli OP50* como fuente de alimento (Ponce Maripagui, 2017).

5.6. SINCRONIZACIÓN DE *C. elegans*

El estado larval escogido para trabajar durante el experimento es el estado larvario L1, durante este estado las larvas se encuentran más sensibles a los toxicantes y se reduce el riesgo de confundir gusanos adultos de su prole, lo cual disminuye el tiempo y esfuerzo empleado durante la separación de *C. elegans*, acrecentando el desarrollo óptimo del experimento.

Para dejar todos los nematodos en el mismo estado larval, los *C. elegans* fueron dejados crecer durante 3 días dentro de las placas de agar NGM con *E. coli OP50* a 20 °C, una vez que los nematodos alcanzaron el estado de crecimiento “óptimo” con suficientes huevos y adultos hermafroditas embarazados, las placas fueron lavadas con agua destilada, hasta encontrarse libres de gusanos. La solución resultante fue recogida con pipetas Pasteur y traspasada a un tubo falcón de 15 ml.

Con el fin de concentrar los nematodos, se dejó decantar el tubo falcón durante 15 min, pasado los 15 min. los gusanos se encontraban separados del resto de la solución (formando un precipitado), el sobrenadante fue retirado con mucho cuidado hasta la marca de 2 ml del tubo y el pellet fue disuelto con 5 ml de solución bleaching (5 % Na OH 10M, 30 % hipoclorito de sodio y 65% agua destilada), con el fin de destruir las larvas y gusanos sin afectar a los huevos.

Los tubos con la mezcla se sometieron a agitación durante 10 min., alterando por minuto un ciclo de agitación en vortex y un ciclo de reposo. Luego de ser agitados se adicionaron dentro de los tubos la solución tampón M9. Para preparar esta solución de buffer se pesaron y disolvieron 3 g de KH₂PO₄, 6 g de Na₂HPO₄ y 5 g de NaCl en 1 L de Agua destilada. La solución fue esterilizada en la autoclave por 20 min, dejada reposar y una vez fría se agregó 1 ml de sulfato de magnesio 1M.

Los tubos con la solución tampón fueron centrifugados durante 3 min a 3000 rpm y lavados 3 veces con 10 mL de buffer M9, hasta eliminar todo lo que no sea huevo (restos de solución Bleaching, gusanos y *E. coli*), teniendo en cuenta la sincronización descrita por (Porta-de-la-Riva. M et al., 2012).

El remanente obtenido al final del proceso de sincronizado, fue resuspendido en placas de petri con tampón de M9 e incubado durante 1 día a 20 °C, permitiendo el desenvolvimiento de los huevos hasta el estado larvario L1.

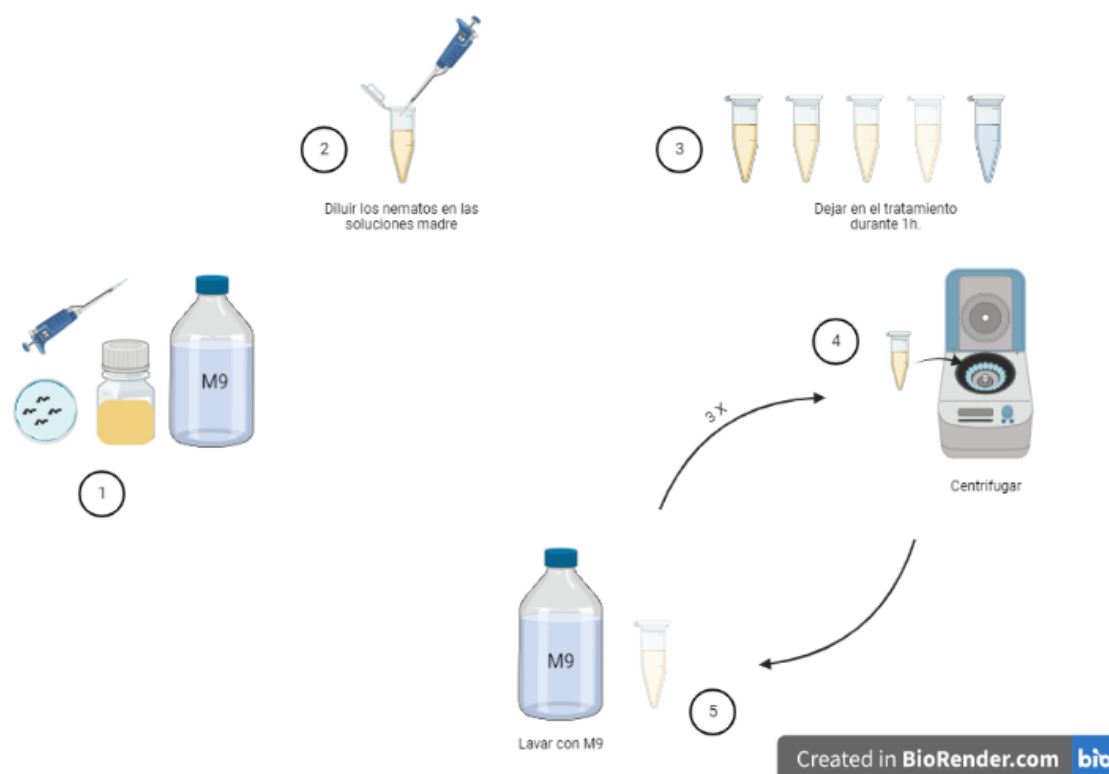
5.7. ENSAYO DEL TRATAMIENTO PREVIO CON CÚRCUMA

En el pretratamiento aproximadamente 1500 gusanos en la etapa L1, fueron expuestos a concentraciones de (2, 4, 6 y 8 mg/ml) del extracto de cúrcuma, dentro de eppendorfs con tampón M9 durante 1 hora (las concentraciones fueron escogidas, teniendo en cuenta la mayor concentración de solución de extracto que un eppendorf podría albergar); fue preparado simultáneamente un eppendorf solo con buffer M9 como control.

Los *C. elegans* sometidos al tratamiento de 1 hora con cúrcuma y los del control, contenidos en los eppendorfs fueron llevados a la centrifuga durante 2 min. a 3000 rpm y lavados tres veces con tampón M9, en este proceso el sobrenadante es extraído y 300 µl de M9 es agregado durante cada centrifugación, para retirar todo vestigio del extracto de cúrcuma. (Figura 7)

Los gusanos presentes en el pellet del eppendorf fueron trasladados a placas de petri de Ø 90 mm conteniendo 10 ml de tampón M9, para ser expuestos a la radiación UV. Este ensayo se llevó a cabo por triplicado.

Figura 7. Ensayo del tratamiento previo con cúrcuma



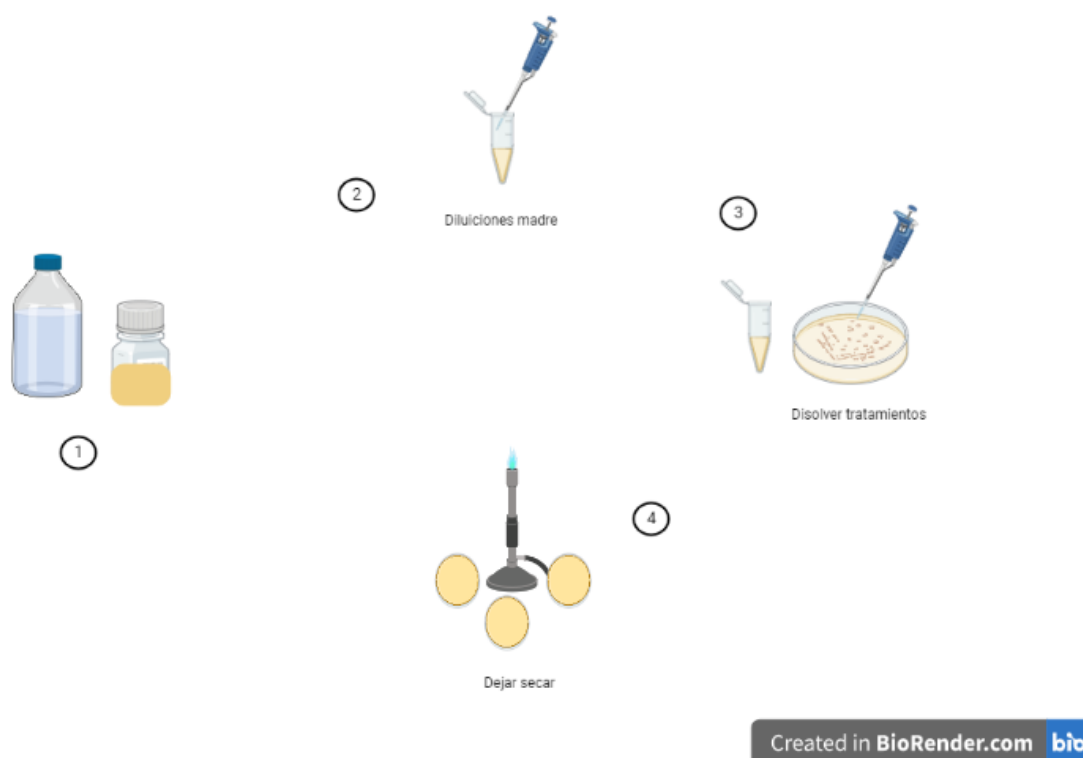
Fuente: Elaboración propia.

5.8. ENSAYO DEL POSTRATAMIENTO CON CÚRCUMA

Los ensayos de cultivo de *C. elegans* expuestos a radiación UV en presencia del extracto de cúrcuma, se realizaron diluyendo disoluciones madre del extracto de cúrcuma 10 mg/ml en tampón M9, teniendo en cuenta la mayor concentración de solución de extracto que un eppendorf podría albergar. Las disoluciones madre fueron preparadas en concentraciones de (2,5, 5, 7,5 y 10 mg/ml de extracto de cúrcuma en tampón M9) y vertidas sobre placas de agar NGM con *E. coli OP50*. (Figura 8)

Fueron preparadas simultáneamente las placas de control para el extracto de cúrcuma, con la concentración más alta del tratamiento (con el fin de determinar, si el tratamiento puede ser un estresor) y un control con agar NGM y *E. coli* sin tratamiento. En las cuales se cultivó *C. elegans* sin exposición a la radiación UV estresante. Este ensayo se llevó a cabo por triplicado.

Figura 8. Ensayo del postratamiento con cúrcuma



Fuente: Elaboración propia.

5.9. EXPOSICIÓN A LA RADIACIÓN UV

5.9.1 Curva dosis respuesta

Primeramente, se realizó una curva de dosis-respuesta para evaluar la letalidad causada por diferentes tiempos de exposición a radiación UV teniendo en cuenta lo descrito en (Campillo; Martin, 2018). Las pruebas de estrés inducido por radiación ultravioleta se realizaron según el método descrito por (Prashanth MI et al., 2016), con modificación del tiempo de exposición UV.

Para trazar la curva fueron expuestos en triplicado aproximadamente 500 gusanos en placas de petri de Ø 90 mm conteniendo 10 ml de buffer M9 durante 10, 15, 20, 25 y 30 min. Los *C. elegans* expuestos y un grupo de gusanos no expuestos (como control), fueron cultivados en placas de Ø 60 mm con medio NGM y *E. coli* OP50 como fuente de alimento durante 24 h, seguidamente fueron clasificados como vivos o muertos, bajo el aumento de 4X

del microscopio óptico. Los nematodos que no reaccionaron al estímulo mecánico con un alambre de platino fueron considerados muertos.

5.9.2 *Efecto del extracto acuoso de Curcuma longa sobre la exposición a radiación UV.*

Para la exposición a la radiación UV los nematodos sincronizados en estado larvario L1 fueron trasladados a placas de petri de Ø 90 mm conteniendo 10 ml de tampón M9 y expuestos (sin tapar las placas) a Luz UV dentro del flujo laminar de la Universidad Federal de la Integración Latinoamericana, laboratorio G011 (del cual no pudimos conseguir sus especificaciones) durante 15 min. (Figura 9)

La exposición a la radiación UV fue realizada en triplicado, sobre dos grupos de nematodos en estado larval L1:

1° grupo (para el análisis del pretratamiento): fueron expuestos considerando la pérdida de gusanos durante el lavado del extracto acuoso de cúrcuma y del control (punto 5.7), 500 nematodos de cada concentración de tratamiento realizado previamente con el extracto acuoso de cúrcuma (2, 4, 6 y 8 mg/ml) y 500 nematodos del eppendorf control, sin tratamiento.

2° grupo (para el análisis del postratamiento): con el fin de tener la cantidad suficiente de gusanos para repartir/cultivar en las placas de NGM con *E. coli* OP 50 y las concentraciones del extracto acuoso de cúrcuma (2,5, 5, 7,5 y 10 mg/ml), preparadas para el postratamiento (punto 5.8), fueron expuestos 2000 nematodos sin tratamiento previo, en una sola placa de petri de Ø 90 mm con 10 ml de buffer M9.

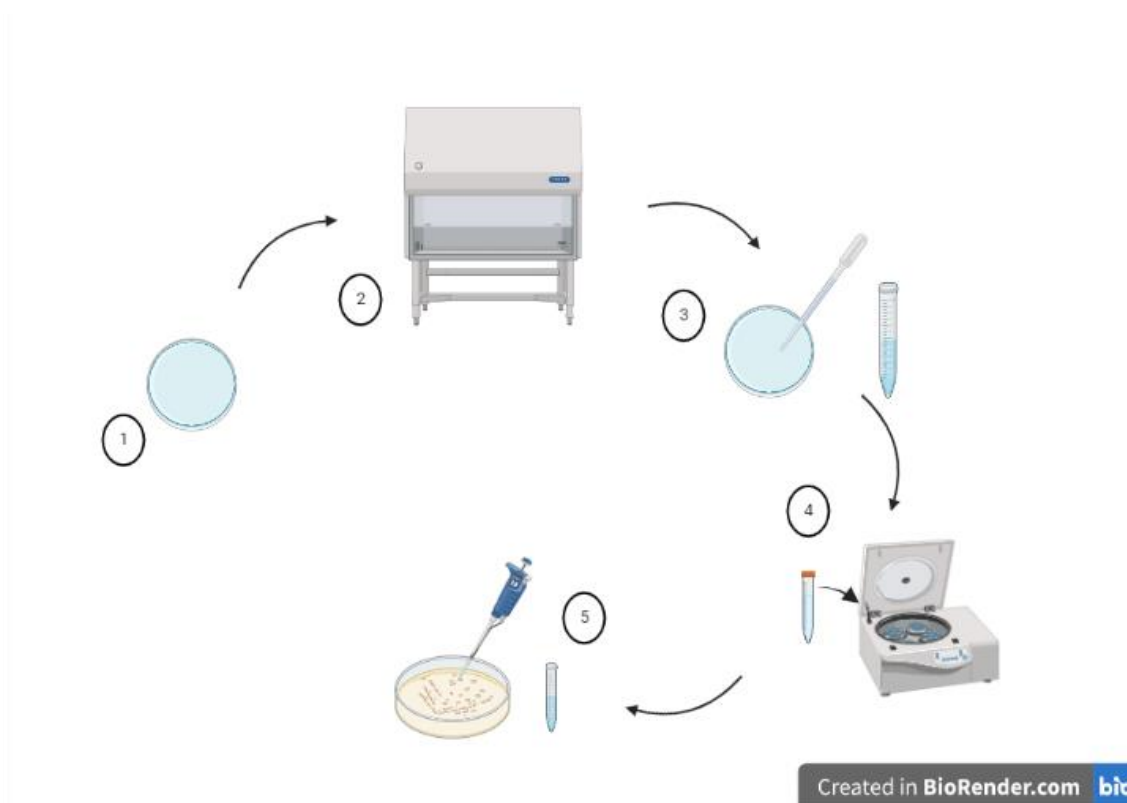
Pasados los 15 min. de exposición los nematodos fueron recogidos con una pipeta pasteur, dispuestos en tubos falcon de 15 ml y centrifugados durante 3min. a 3000 rpm. Luego del centrifugado, los gusanos precipitaron en la base del tubo y el sobrenadante fue retirado hasta alcanzar los 2 ml. Del cual se extrajo una media de los *C. elegans* presentes en el tubo falcon (la media se obtuvo contando los gusanos presentes en 3 gotas de 2 µL de solución concentrada).

Luego de la exposición a la radiación UV, fueron cultivados en triplicado (considerando las pérdidas de gusanos durante la centrifugación):

1° grupo: 100 gusanos de cada concentración pretratamiento, en placas de Ø 60 mm con agar NGM y *E. coli OP50*. Los nematodos fueron incubados a 20° durante 24 h, para la primera evaluación de vivos y muertos.

2° grupo: 100 gusanos por placa acondicionada, de Ø 60 mm con NGM, *E. coli OP50* y concentraciones (2,5, 5, 7,5 y 10 mg/ml) del extracto acuoso de cúrcuma para el postratamiento. Los nematodos fueron incubados a 20° durante 24 h, para la primera evaluación de vivos y muertos.

Figura 9. Exposición a la radiación UV



Fuente: Elaboración propia.

5.9.3 *Análisis de sobrevivencia*

El análisis de sobrevivencia de los *C. elegans* tratados con cúrcuma antes y después de ser expuestos a la radiación UV, fue evaluado después de 24 h. de incubación. Los nematodos de cada placa, incluyendo la del control UV sin tratamiento fueron contados uno a uno, bajo el aumento de 4X del microscopio óptico. Durante el conteo, fueron tomados por muertos aquellos nematodos que no responden al estímulo proporcionado por el toque con el asa de siembra. Además, es evaluado mediante observación el desarrollo larval de los sobrevivientes a las 48h. El análisis fue realizado en triplicado.

5.9.4 *Análisis de desenvolvimiento*

El análisis de desenvolvimiento de los *C. elegans* tratados con cúrcuma antes y después de ser expuestos a la radiación UV, fue evaluado pasadas las 48 h. de incubación. Los nematodos sobrevivientes de cada placa fueron observados, bajo el aumento de 10X del microscopio óptico. Durante el análisis de desenvolvimiento, son observadas las estructuras anatómicas de los nematodos sobrevivientes y comparadas a las del control de *C. elegans* crecidos en condiciones ideales, los cuales se encontraban en la etapa larval L4. El análisis fue realizado en triplicado.

5.9.5 *Análisis estadístico*

El análisis estadístico fue realizado utilizando GraphPad Prism versión 8 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA). Se realizó ANOVA unidireccional seguida de la prueba post hoc de Bonferroni para comparar concentraciones en el mismo grupo (ARANTES et al., 2016). Los resultados fueron considerados significativos en relación al control cuándo $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1. EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE LETALIDAD

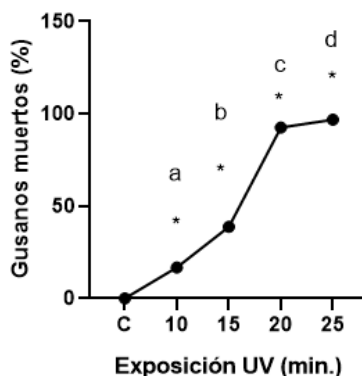
Dentro del diseño experimental clásico debemos suponer que el objeto observable de nuestro interés, la variable “y”, es una variable aleatoria continua. Ello quiere decir que, a pesar de que todos los posibles factores que pueden modificar su valor promedio se encuentren fijos y controlados, la observación repetida de “y” conduce a “ y_i ” (“y” prima), conjunto disperso de valores alrededor de otro central “y” (Campillo; Martin, 2018). En el diseño clásico experimental de este estudio, se modificaron las condiciones experimentales en “x” siendo dosis de exposición por tiempo determinado a radiación UV, manteniendo el resto constante.

Pasadas las 24 h. de incubación de los *C. elegans* expuestos a la radiación UV (punto 5.9.1), se obtuvo como resultado para los diferentes tiempos de exposición (10, 15, 20 y 25 min.), un % de muertos de 16,73; 38,77; 91,73 y 96,5 respectivamente como respuesta, de la variable “y”. Los cuales fueron comparados con el control de gusanos, el cual presentó 0% de muertos (Gráfico 1).

Los efectos medios significativos fueron determinados mediante el análisis de ANOVA unidireccional y el test de comparación de múltiples Tukey. Los resultados fueron considerados significativos en relación al control cuándo $p < 0,05$.

El tiempo escogido para la exposición a radiación UV de los *C. elegans* fue 15 min., pues en este tiempo se presentó un valor intermedio de muertes ($16,73 < 38,77 < 96,5\%$), el menor % de muertes se presenta en la exposición de 10 min.; mientras que en el mayor tiempo de exposición 25 min., se observa el rango más elevado de letalidad. Además, los 15 min. de exposición otorgan un número más significativo de nematodos vivos debilitados (movimiento prácticamente nulo) por la radiación UV, sobre los cuales se pueden probar los tratamientos pre y pos-UV con las diferentes concentraciones de cúrcuma.

Gráfico 1- Análisis de letalidad (dosis/respuesta) en *C. elegans* expuestos a radiación UV



En el gráfico se representa el % de nematodos muertos de 100 gusanos por grupo, en cada experimento de 3 ensayos independientes. * $P < 0,05$ comparado con el control *C. elegans*. a,b,c,d $P < 0,05$ en los distintos tiempos de exposición comparados entre ellos mismos (ANOVA unidireccional).

6.2 EVALUACIÓN DE LA SOBREVIVENCIA Y EL DESENVOLVIMIENTO LUEGO DEL PRE Y POSTRATAMIENTO CON CÚRCUMA

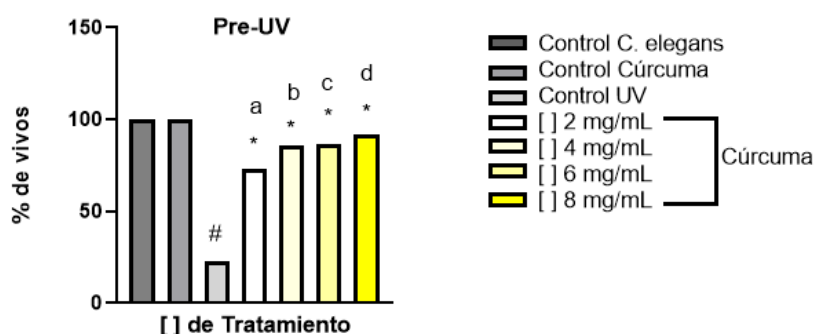
Una vez establecida la hipótesis de trabajo, así como el modelo que se pretende ajustar, debe seleccionarse el conjunto de hipótesis estadísticas adecuadas que nos permitan evaluar el riesgo de que dicho modelo no sea debido al azar o diferente a otro posible. En el caso más simple de modelo lineal, los tests estadísticos se engloban dentro del contexto del análisis de la varianza y de la regresión lineal a la media (Campillo; Martin, 2018). En esta investigación los efectos medios significativos fueron determinados mediante el análisis de ANOVA unidireccional y el test de comparación de múltiples Tukey. Los resultados fueron considerados significativos en relación al control cuándo $p < 0,05$.

La exposición de *C. elegans* sin ningún tipo de tratamiento con el extracto acuoso de cúrcuma longa (Control UV), redujo la supervivencia de los gusanos expuestos a un 22,9 %. En comparación a los nematodos dejados crecer en condiciones ideales (Control *C. elegans*, Control cúrcuma) los cuales presentaron 0% de mortalidad.

En el Gráfico 2 es posible observar la varianza clara para cada situación experimental, definida por las [] de Pretratamiento con cúrcuma de (2, 4, 6 y 8 mg/mL) adjudicado a los *C. elegans* expuestos a 15 min. de radiación

UV con relación a su sobrevivencia. Donde se demostró que la tasa de mortalidad se vio disminuida en los nematodos que recibieron un tratamiento con el extracto acuoso de *Curcuma longa* antes de ser expuestos al factor estresante. Los resultados para las [] de pretratamiento de (2, 4, 6 y 8 mg/mL) indicaron el incremento de sobrevivencia de los organismos expuestos a 73,3; 85,7; 86,8 y 91,9 % respectivamente, con relación al los nematodos del Control UV sin tratamiento.

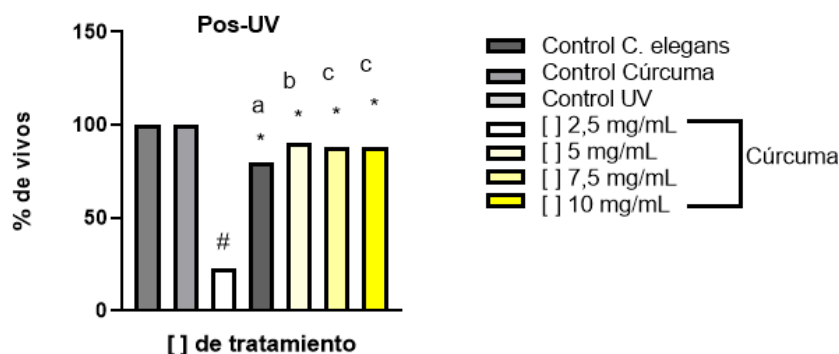
Gráfico 2- Análisis de sobrevivencia 24h. después de la exposición a radiación UV de *C. elegans* pretratados con el extracto acuoso de *Curcuma longa*



En el gráfico se representa el % de nematodos vivos de 100 gusanos por grupo, en cada experimento de 3 ensayos independientes. * $P < 0,05$ comparado con el Control UV. # $P < 0,05$ comparado con los grupos control C.elegans y Control Cúrcuma. a,b,c,d $P < 0,05$ entre las distintas [] de tratamiento comparadas entre ellas mismas ($b \neq c$) (ANOVA unidireccional).

En el Gráfico 3 se observan las variaciones significativas dentro del experimento de sobrevivencia de los *C. elegans* tratados pos-exposición a 15 min de la radiación UV. Donde se describen las [] de Postratamiento con cúrcuma de (2,5; 5; 7,5 y 10 mg/mL) atribuidos a los *C. elegans* expuestos a los 15 min. de radiación UV con relación a su sobrevivencia. En el análisis se demostró que la tasa de mortalidad se vio disminuida en los nematodos que recibieron un postratamiento con el extracto acuoso de *Curcuma longa* en comparación al control UV sin tratamiento, luego de ser expuestos al factor estresante. Los resultados para las [] de postratamiento de (2,5; 5; 7,5 y 10 mg/mL) indicaron el incremento de sobrevivencia de los organismos expuestos a 79,8; 90,5; 88,02 y 87,96 % respectivamente en relación al control UV en el cual solo el 29,9% de nematodos se encontraba con vida . Además se destaca la inexistencia significativa de varianza, entre las medias obtenidas de los tratamientos de mayor [] (7,5 y 10 mg/mL), con relación a los nematodos sobrevivientes de los otras [] de pos- tratamiento.

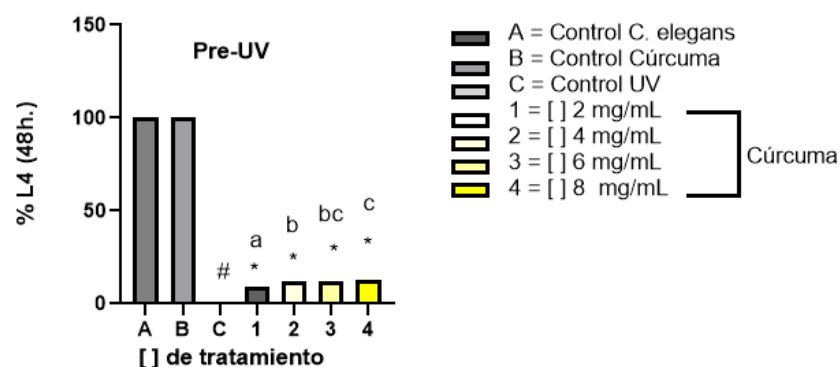
Gráfico 3- Análisis de sobrevivencia 24h. después de la exposición a radiación UV de *C. elegans* tratados con el extracto acuoso de *Cúrcuma longa* pos-exposición



En el gráfico se representa el % de nematodos vivos de 100 gusanos por grupo, en cada experimento de 3 ensayos independientes. * $P < 0,05$ comparado con el Control UV. # $P < 0,05$ comparado con los grupos control *C. elegans* y Control Cúrcuma. a,b,c $P < 0,05$ entre las distintas [] de tratamiento comparadas entre ellas mismas (ANOVA unidireccional).

En el Gráfico 4 se observan las diferencias representativas de los resultados experimentales, referentes a las [] de Pretratamiento con cúrcuma de (2, 4, 6 y 8 mg/mL) sobre los *C. elegans* expuestos a 15 min. de radiación UV con relación a su desenvolvimiento, hasta la etapa larval L4. Donde se demostró la existencia de un pequeño grupo de nematodos en estado larval L4, resultantes del pretratamiento con el extracto acuoso de *Curcuma longa* antes de la exposición al estresor. Los resultados para las [] de pretratamiento de (2, 4, 6 y 8 mg/mL) indicaron el desenvolvimiento de los organismos expuestos en 9,5; 11,8; 12,4 y 12,7 % respectivamente comparadas con el control UV sin tratamiento. Destacando la inexistencia significativa de varianza, entre las medias obtenidas de los tratamientos de 4 y 6 mg/mL; así como en las [] de 6 y 8 mg/mL, con relación al desenvolvimiento de los nematodos de las demás [] de pre-UV.

Gráfico 4- Análisis de desarrollo 48h. después de la exposición a radiación UV de *C. elegans* pretratados con el extracto acuoso de *Curcuma longa*



En el gráfico se representa el % de nematodos vivos en L4 de 100 gusanos por grupo, en cada experimento de 3 ensayos independientes. * $P < 0,05$ comparado con el Control UV. # $P < 0,05$ comparado con los grupos control *C. elegans* y Control *Curcuma*. a, b, bc, c $P < 0,05$ entre las distintas [] de tratamiento comparadas entre ellas mismas (ANOVA unidireccional).

7. DISCUSIONES

Ya se han establecido varios modelos animales de longevidad, incluido los *C. elegans*, que tienen una vida útil relativamente corta, y son susceptibles a varias modificaciones genéticas y ambientales (Kaletta T; Hengartner, 2006). Con respecto a los efectos de la radiación en los nematodos, se han realizado estudios detallados a nivel molecular, celular e individual durante casi tres décadas (Sakashita et al., 2010). La radiación puede dañar el ADN y producir ROS. Varios estudios han demostrado que la radiación y el estrés oxidativo son capaces de alterar el proceso normal de regulación de la proliferación celular, inhibiendo el crecimiento celular y la síntesis del ADN, lo que provoca la muerte de los nematodos. (Zhou et al., 2018).

Los resultados demostraron el efecto protector del tratamiento con cúrcuma ante el factor estresor UV en los gusanos salvajes (WT) expuestos.

Nuestros datos indicaron que la exposición durante 15 min. a la radiación UV, induce la muerte en los gusanos WT de la etapa larval L1. Sin embargo, en nuestra referencia (Prashanth MI et al., 2016), los daños inducidos por la radiación UV afectaron el comportamiento habitual de los gusanos (movimientos faríngeos y el tamaño de la cría) y se necesitaron tiempos mayores de exposición UV. Esta discrepancia puede deberse a la diferencia de intensidad de la radiación UV, ya que en el caso de este experimento se utilizó la UV del flujo laminar del laboratorio de la Universidad Federal de Integración Latinoamericana G011, del cual no se pudo conocer sus especificaciones; por una mala praxis durante alguna etapa del experimento, por las diferencias en la densidad de los medios, o la contaminación de la bacteria utilizada como fuente de alimento.

El extracto acuoso de *Curcuma longa* protegió parcialmente a los gusanos WT, de la muerte inducida por la radiación UV. Sin embargo, ninguno de los gusanos WT tratados luego de la exposición UV logró sobrevivir 48h; no obstante, un pequeño grupo de los gusanos del tratamiento previo a la exposición, lograron desenvolverse hasta la L4. Por lo tanto, el extracto acuoso

de *Curcuma longa* podría disminuir la letalidad al aumentar la tasa de reparación celular en gusanos estresados (Liao et al., 2011). A pesar de ello, en este experimento la curuma solo consiguió proteger parcialmente a los *C. elegans* del estrés, permitiéndoles sobrevivir durante algunas pocas horas, debido al daño irreparable causado al ADN que detuvo el ciclo celular, al no conseguir pasar el sistema de vigilancia p53 impulsando la apoptosis celular y posterior muerte de los nematodos. No obstante, considerando los resultados observados y enfatizando nuestra atención en los resultados obtenidos del pretratamiento con el extracto acuoso de *Cúrcuma longa* es probable que aumentado la concentración del extracto se podría aumentar la prevención de las lesiones provocadas en el ADN de los *C. elegans* expuestos a la radiación UV, evitando la muerte de estos pasadas las 48 h. De manera análoga en el postratamiento el incremento en la concentración del extracto acuoso de la planta podría permitir el desenvolvimiento de los nematodos hasta la L4.

Las lesiones más comunes inducidas en el ADN por la radiación UV son los dímeros de pirimidina cis-syn ciclobutano (CPD) y el fotoproducto pirimidin (6-4) pirimidona (6-4PP). Además de provocar estos daños directos, la radiación UV incrementa los niveles de radicales libres de oxígeno (RLO) en la célula, desencadenando una cascada de eventos que derivan en un progresivo deterioro estructural y funcional de elementos celulares como las proteínas y el DNA (Gonzales Puriega et al., 2019). Varios estudios han descrito que la radiación interfiere sobre las vías de señalización celular, inhibiendo el proceso de síntesis del ADN conduciendo a las células a la apoptosis y provocando la muerte de nematodos (Sakashita et al., 2010).

La cúrcuma posee una amplia gama de efectos beneficiosos y quimioprotectores sobre los sucesos mutagénicos. Su bioactividad es atribuida a los compuestos polifenólicos derivados del metabolismo secundario de la planta, los cuales pueden intervenir en la metabolización de los agentes mutagénicos, o de sus precursores, de dos formas. Por un lado, pueden inducir la síntesis de enzimas metabólicas, y, por otro lado, pueden interferir en la actividad enzimática directamente. Parte de su actividad benéfica sobre las células alteradas, se asocia con la regulación de mecanismos epigenéticos, capaces de modular las diferentes vías de señalización celular, las cuales

contribuyen en la reparación de los daños en el ADN permitiéndoles la progresión normal del ciclo celular y evitando la apoptosis (Cardona Echeverry; Uribe yunda; Cortes-Mancera, 2016). Además, muchas líneas de evidencia indican que la cúrcuma puede modular varios factores de transcripción, crecimiento, citoquinas inflamatorias, proteínas quinasas y otras enzimas (Hatcher et al., 2018).

Algunos estudios demuestran que los flavonoides que se encuentran omnipresentes en las plantas, como producto del metabolismo secundario, y que abundan en los géneros *Poligonaceae*, *Rutaceae*, *Leguminosae*, *Umbelliferae* y *Compositae* (Zi et al.,1998). También poseen el potencial de inhibir quinasas como son las proteínas tirosina quinasas (PTK), la proteína quinasa C (PKC) y las enzimas de la ruta de metabolización del ácido araquidónico, las cuales están implicadas en la regulación de la proliferación celular promoviendo el reparo del ADN y la progresión en el ciclo celular (Ferry et al., 1996).

8. CONCLUSIÓN

La cúrcuma posee una amplia gama de efectos beneficiosos y quimioprotectores sobre los sucesos mutagénicos. Los cuales son atribuidos a sus metabolitos derivados del metabolismo secundario que le confieren un potencial bioactivo sobre diversos componentes celulares.

Los compuestos polifenólicos obtenidos de esta especie, interactúan a nivel estructural con las proteínas reguladoras del ADN, las cuales al sufrir defectos causan las alteraciones en el ADN que provocan la muerte de los nematodos expuestos a la radiación UV. Es por ello que el tratamiento con el extracto de esta planta, puede ser utilizado como un complemento medicinal. No obstante, sería interesante estudiar más a fondo el mecanismo protector de la cúrcuma ante la radiación UV. En condiciones más amenas de exposición y dosis menores a lo largo de la vida del nematodo, simulando las condiciones reales de exposición que sufrimos los humanos.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFAG, F; MUKHTAR, H. Effects of solar radiation on cutaneous detoxification Cyclobutylpyrimidine dimer base flipping by DNA photolyase. J. Biol. Chem, [s. l.], 2001.

ÁNGEL, G. R; MENÓN, N; VIMALA, B; NAMBISAN, B. Composición del aceite esencial de ocho especies de cúrcuma con almidón. Ind. Cultivos Prod, [s. l.], n. 60, p. 233–238, 2014.

ARANTES, LETICIA PRISCILA et al. Guarana (Paullinia cupana Mart.) attenuates methylmercury-induced toxicity in *Caenorhabditis elegans*. Toxicology Research , [S. l.], v. 5, n. 6, p. 1629-1638, 12 set. 2016.

BARRERA, ANTOINE; FELIX, MARIE-ANNE. Isolation of *C. elegans* and related nematodes. WormBook, [s. l.], n. 2, p. 1-19, 2014.

BEGOÑA, AYUDA DURAN. Mecanismos de acción implicados en la actividad biológica de compuestos fenólicos de la dieta: Evaluación en el organismo *Caenorhabditis elegans*. 2018. 247 f. TFG (Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología) - UNIVERSIDAD DE SALAMANCA – FACULTAD DE FARMACIA, [S. l.], 2018.

BEGOÑA, A. D; GONZALES MANZANO, S; MIRANDA VIZUELE, A; DUEÑAS, MONTSERRAT. La epicatequina modula la resistencia al estrés en *C. elegans* a través de la vía de señalización de insulina/IGF-1. Biorxiv, [s. l.], 21 jul. 2018.

BOHORQUEZ-BALLEN, JAIME; PEREZ MOGOLLON, JOSE FERNANDO. Radiacion Ultravioleta. Ciencia y Tecnología para la Salud Visual y Ocular, [s. l.], n. 9, p. 97-104, 2007.

BENAVIDES, A; HERNÁNDEZ, R. E; RAMIREZ, H; SANDOVAL, A. Tratado de Botánica Económica Moderna. Buenavista, Saltillo, Coah., México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 2010.

BRENNER, S. The Genetics of CAENORHABDITIS ELEGANS. Genetics, [s. l.], v. 1, n. 77, p. 71–94., 1974.

BYERLY, L; RUSSELL, R. L; CASSADA, R. C. The life cycle of the nematode *Caenorhabditis elegans*. I. Wild-type growth and reproduction. Dev Biol, [s. l.], n. 51, p. 23-33, 1976.

CABRERA, S; LISSI, E; HONEYMAN, J. Radiación ultravioleta y salud. Editorial universitaria, [s. l.], n. 3, p. 293, 2005.

CADET, J; SAGE, E; DOUKI, T. Ultraviolet radiation-mediated damage to cellular DNA. Mutat. Res, [s. l.], ed. 571, p. 3-17, 2005.

CAMPILLO, M; MARTIN, M.L. Análisis estadístico de la curva dosis-respuesta en farmacología: conceptos generales. Laboratorio de Bioestadística y Epidemiología. Facultad de Medicina, [s. l.], 2018.

CARDONA ECHEVERRY, A. H; URIBE YUNDA, D. F; CORTES-MANCERA, F. M. Actividad antitumoral de la curcumina asociada a la regulación de mecanismos epigenéticos: implicaciones en la vía Wnt/-catenina. Rev Cubana Plant Med, [s. l.], v. 21, n. 4, 2016.

CARRASCO MALIO, AMANDA L. ESTRÉS OXIDATIVO INDUCIDO POR RADIACIÓN UV-B EN CONDICIONES DE LABORATORIO PARA EL “BAUNCO” *Girella laevis* (PISCES: KYPHOSIDAE). 2011. 79 f. TFG (Biología Marina) - UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR Y DE RECURSOS NATURALES, [S. l.], 2011.

COOHILL, T. P. Coohill TP. Action spectra again?. Photochem Photobiol, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 70- 859, 22 jul. 1991.

COLLANTES JARA, JULIA M. Efectos de la radiación solar en la piel. Rev.Ec.Med.Eugenio Espejo, [s. l.], v. 4, n. 5, 2015.

CORSI, ANN K; WIGHTMAN, BRUCE; CHALFIE, MARTIN. A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. WormBook: The Online Review of *C. elegans* Biology, [s. l.], 22 jul. 2015.

DURAN, BEGOÑA AYUDA. Mecanismos de acción implicados en la actividad biológica de compuestos fenólicos de la dieta: Evaluación en el organismo *Caenorhabditis elegans*. 2018. TCC (Lic. en Farmacia) - Dpto. de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia (Universidad de Salamanca), [S. l.], 2018.

ESTEMADI, S; BERHAGHI, M. HS; LEYLABADLO, S. E; MEMORIA, M. Y; MOHAMMADI, A. B; GHOTASLOU, R. The synergistic effect of turmeric aqueous extract and chitosan against multidrug-resistant bacteria. *New Microbes and New Infections*, [s. l.], v. 41, 2021.

FERRY, D.R., SMITH, A., MALKHANDI, J., FYFE, D.W., deTAKATS, P.G., ANDERSON, D., BAKER, J. and KERR, D.J. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Clin Cancer Res*, [s. l.], v. 2, p. 68-659, 1996.

FTRÉZAL, LISE; FÉLIX, MARIE-ANNE. The Natural History of Model Organisms: *C. elegans* outside the Petri dish. *Elifesciences*, [s. l.], 2015.

GOIHMAN-YAHR, M. Skin Aging and Photoaging: An Outlook. *Clin Dermatol*, [s. l.], p. 14: 153-160, 1996.

GUITIERRES SÁNCHEZ, JOAN SEABASTIAN; CASTRO CARDENAS, H. S; GIRALDO QUINTERO, S. E; LAZANO JIMENEZ, Y. Y; SANCHEZ MORA, R. M. *Caenorhabditis elegans* como modelo de estudio de enfermedades neurodegenerativas. *Ciencia.lasalle*, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 1- 12, 20/12/2020.

HATCHER, H; PLANALP, R; CHO, J; TORTI, F. M; TORTI, S. V. Curcumina: de la medicina antigua a los ensayos clínicos actuales. *Célula Mol Life Sc.*, [s. l.], v.

65, p. 1631-1652, 2018.

HODGKIN, J; WOOD, W. B. The nematode *Caenorhabditis elegans*. Cold Spring Harbor: Sexual dimorphism and sex determination. Cold Spring Harbor, New York, p. 243–280, 1988.

HODGKIN, J; DONIACH, T. Natural variation and copulatory plug formation in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, [s. l.], n. 1, p. 64 - 149, 1997.

ITOKAWA, H; SHI, Q; AKIYAMA, T; MORRIS-NATSCHKE, S. L; LEE, K. H. Avances recientes en la investigación de los curcuminoides. *Barbilla. Medicina*, [s. l.], 2018.

JARRELL, T. A; WANG, Y; BLONIAZ, A. E; BRITTIN, C. A; XU, M; THOMSON, J. N; ALBERTSON, D. G; HALL, D. H; EMMONS, S. W. The connectome of a decision-making neural network. *Science*, [s. l.], v. 27, p. 44-437, 2012.

JAYAPRAKASHA , G. K; JAGAN, L; RAO, M; SAKARIAH, K. K. Química y actividad biológica de cúrcuma longa. *Ciencia de la comida de tendencia. Tecnología*, [s. l.], n. 16, p. 54-533, 2005.

JIANG, Y; KE, C; MIECZKOWSKI, P. A; MARSZALEK, P. E. Detecting ultraviolet damage in single DNA molecules by atomic force microscopy. *Biophysical Journal*, [s. l.], ed. 93, p. 1758-1767, 2007.

KALETTA, TITUS; HENGARTNER, MICHAEL O. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. *Nature Reviews Drug Discovery*, [s. l.], n. 5, p. 387–399, 2006.

Kaletta T, Hengartner MO. Encontrar función en nuevos objetivos: *C. elegans* como organismo modelo. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006; 5 (5):387–399, KOZMIN, S. G; PAVLOV, Y. I; KUNKEL, T. A; SAGE, E. Roles of *Saccharomyces cerevisiae* DNA polymerases Pol η and Pol ζ in response to irradiation by simulated sunlight. *Nucleic Acids Research*, [s. l.], n. 15, ed. 31, p. 4541- 4552,

2003.

KHAIDAKOV, M; BISHOP, M. E; MANJANATHA, M. G; LYN-COOK, L. E; DESAI, V. G; CHEN, J. J; AIDOO, A. Khaidakov M, Bishop ME, Manjanatha MG, Lyn-Cook LE, Desai VG, Chen JJ, Aidoo A. Influence of dietary antioxidants on the mutagenicity of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene and bleomycin in female rats. *Mutat Res*, [s. l.], p. 480-481:163-70, 1 set. 2001.

LAI, CH; CHOU, C. I; CH'ANG, L. Y; LUI, C. S; LIN, W. Identification of novel human genes evolutionarily conserved in *Caenorhabditis elegans* by comparative proteomics. *Genome Res*, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 13-703, 2000.

LAI, E. Y; CHYAU, C. C; MAU, J. L; CHEN, C. C; LAI, Y. J; SHIH, C. F; LIN, L. L. Antimicrobial activity and cytotoxicity of the essential oil of *Curcuma zedoaria*. *Am J Chin Med*, [s. l.], v. 32, n. 2, 2004.

LIAO VH, YU CW, CHU YJ, LI WH, HSIEH YC, WANG TT. Curcumin-mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans*. *Mech Ageing Dev*, [s. l.], v. 132, n. 10, p. 7- 480. 2011.

LARRE BORGES, LUCIA OTERO. Uso del modelo experimental *Caenorhabditis elegans* para el estudio de incorporación de selenocisteína en proteínas. 2014. 132 p. TESIS (DOCTORADO EN QUÍMICA) - FACULTAD DE QUÍMICA. UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA, [S. l.], 2014.

MACIEJ. Effect of curcuminoids on oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Functional Foods*, [s. l.], v. 18, n. B, p. 898-909, 2015.

MAU, J. L; LAI, Y. J; WANG, N. P; CHEN, C. C; CHYAU, C. C. Composición y actividad antioxidante del aceite esencial de *Curcuma zedoaria*. *Química alimentaria*, [s. l.], p. 583–591, 2003.

MARIBEL, GONZALEZ PÚRIEGA; VERNHES TAMAYO, MARIOLY; SANCHEZ

LAMAR, ÁNGEL. ULTRAVIOLET RADIATION AND ITS INCIDENCE IN THE HUMAN HEALTH. *Theoria*, [s. l.], v. 18, ed. 2, p. 69-80, 2009.

MORALES, R. Efectos desconocidos de un problema ya identificado. *Creces*, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 54-57, 1992.

MUKHERJEE, Sutapa; ROY, Madhumita; DEY, Subhabrata; BHATTACHARYA, Rathindra K. A Mechanistic Approach for Modulation of Arsenic Toxicity in Human Lymphocytes by Curcumin, an Active Constituent of Medicinal Herb cúrcuma longa Linn. *J Clin Biochem Nutr.*, [s. l.], 2007.

PEDROLA, ISABEL ESTELLA. Polifenoles y sus propiedades antioxidantes. *Infoalimenta*, [s. l.], 2020.

PIERCE, B. A. Mutaciones génicas y reparación del DNA. Pierce B A, *Genética. Un enfoque conceptual*, Segunda Edición, Editorial Médica Panamericana, 816 p., [s. l.], p. 473-508, 2006.

PORTA-DE-LA-RIVA, M; FONTRDONA, L; VILLANUEVA, A; CERON, J. Basic Caenorhabditis elegans methods: synchronization and observation. *WormBase*, [s. l.], 2012.

PONCE MARIPANGUI, Daniela Fernanda. Efectos de la dieta sobre el Desarrollo, la Fertilidad y la Integridad Neuronal en el nematodo *Caenorhabditis Elegans*. 2017. TCC (Ingeniería Civil En Biotecnología) - Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Departamento de Ingeniería Química y Biotecnología, [S. l.], 2017.

PRASANTH, M. I; SANTOSHRAM , G. S; BHASKAR, J. P; BALAMURUGAN, K. Ultraviolet-A triggers photoaging in model nematode *Caenorhabditis elegans* in a DAF-16 dependent pathway. *Age (Dordr)*, [s. l.], 2016.

SAKASHITA T, TAKANAMI T, YANASE S, HAMADA N, SUZUKI M, KIMURA T, KOBAYASHI Y, ISHII N, HIGASHITANI A. *Biología de la radiación de*

Caenorhabditis elegans: respuesta de células germinales, envejecimiento y comportamiento. Revista de Investigación de Radiación. [s.l.], v. 51, n 2, p. 107–121. 2010.

SAHEBKAR, AMIRHOSSEIN; SERBAN, MARIA- CORINA; URSONIU, SORIN; BANACH, MACIEJ. Effect of curcuminoids on oxidative stress: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Journal of Functional Foods, [s. l.], v. 18, n. B, p. 898-909, 2015.

SAIZ DE COS, PAULA. Cúrcuma I (cúrcuma longa L.). 2014. TFM (Máster en Biología vegetal aplicada por la Universidad Complutense de Madrid) - Departamento Biología Vegetal, [S. l.], 2014.

SANCHEZ HERNANDEZ, Eva. “Estudio en un modelo in vivo de los mecanismos de acción implicados en la actividad biológica de polifenoles.”. 2017. TCC (Biología) - Universidad de Salamanca, [S. l.], 2017.

SOTOMAYOR CORDOVA, IVAN; HUANES TOVAR, LUIS ANTONIO; RODRIGUEZ HERRERA, CARLOS; IBÁÑEZ OJEDA, JULIO; LEON YUCRA, CARLOS ALBERTO. Caracterización morfológica del palillo (cúrcuma longa L.) en Selva Central. 2018. Trabajo de Investigacion (Biodiversidad, biotecnología, sanidad, producción vegetal.) - UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN INSTITUTO CENTRAL DE INVESTIGACIÓN, [S. l.], 2018.

SULSTON, J. E; SCHIERENBERG, E; WHITE, J. G; THOMSON, J. N. The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. Dev Biol, [S. l.], v. 100, n. 1, p. 64-119, 1 nov. 1983.

TENA, F; MARTINEZ-LOZANO, J. A; UTRILLAS, M. P. Radiación solar Ultravioleta y prevención del eritema. Revista española de física, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 18- 24, 1998.

TEOTONIO, ENRIQUE; CARVALHO, SARA; MANOEL, DIOGO; ROQUE,

MIGUEL; CHELO, IVO M. Natural variation and copulatory plug formation in *Caenorhabditis elegans*. *Journals.plos*, [s. l.], 2012.

VALLEJO, E. O; VARGAS, N; MARTINEZ, L. M; AGUDELO, C. A; ORTIZ, I. C. Genetics perspective of UV rays and new alternatives for sun protection. *Revista argentina de dermatología*, [s. l.], v. 94, n. 3, 2013.

VERSCHOOTEN, L; CLAERHOUT, S; VLAETHEM, A; AGOSTINIS, P; GARMYN, M. New strategies of photoprotection. *Photochemistry and Photobiology*, [s. l.], ed. 82, p. 1016-1023, 2006.

WITKIN, JEFFREY M; LI, XIA. Curcumin, an active constituent of the ancient medicinal herb *cúrcuma longa* L.: some uses and the establishment and biological basis of medical efficacy. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, [s. l.], v. 12, ed. 4, p. 487-97, junio 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, (WHO). Global Solar UV Index. WHO sites (WHO/SDE/OEH/02.2), [s. l.], p. 1-32, 2002.

ZHOU, L; WANG, L; ZHANG, J; LI, J; BAI, S; MA, J; FU, X. Didymin improves UV irradiation resistance in *C. elegans*. *PeerJ*, [s. l.], v. 6, 2019.

ZI, X., FEYES, D.K. and AGARWAL, R. Anticarcinogenic effect of a flavonoid antioxidant, silymarin, in human breast cancer cells MDA-MB 468: induction of G1 arrest through an increase in Cip1/p21 concomitant with a decrease in kinase activity of cyclin-dependent kinases and associated cyclins. *Clin Cancer Res*, [s. l.], v. 4, p. 64- 1055, 1998.