

Papel de la curcumina como ansiolítico en depresión y como promotor de neurogénesis en cultivos de progenitores neurales de la zona subventricular bajo excitotoxicidad.

José Luis Cidón Madrigal y José Joaquín Merino Martín

Resumen

En el presente estudio hemos evaluado la posibilidad de que la curcumina pudiera reducir la sintomatología depresiva, medido en el test de Beck, y su posible relación con una producción disminuida de la hormona del estrés a través del cortisol, dado que existe una relación directa entre estrés crónico y depresión en humanos. Para ello, los pacientes tomaron por vía oral curcumina (400 mg. diarios) durante 3 meses consecutivos y el último día se les tomó una muestra de saliva para la determinación del cortisol. Los resultados indican que los depresivos tratados de forma crónica con curcumina durante 3 meses consecutivos muestran una reducción del grado de depresión de moderada a leve en el test de Becks, asociada a una disminución de los niveles de cortisol.

Por otro lado, dado que la corticosterona en ratas induce daño neuronal en el hipocampo sometidas a estrés crónico junto al hecho de que la curcumina induce neuroprotección, analizamos en cultivos de progenitores neurales (neuroesferas) procedentes de la zona subventricular la posibilidad de que pudiese promover neurogénesis. Los resultados finales, indican que la curcumina

protege frente a la neurotoxicidad del glutamato y aumenta los niveles de Nestina (marcador de células madre) bajo excitotoxicidad. Perspectivas futuras, analizarán la posibilidad de que la curcumina promueva una correcta integración de los circuitos neuronales en los neuroblastos que migran.

Estrés y depresión: daño neuronal por corticosterona/cortisol en estrés crónico y/o depresión.

La depresión es un desorden que afecta al 21% de la población mundial, y se asocia con varios signos de inflamación y alteraciones en los niveles de neurotransmisores y hormonas, como el cortisol (Saban et al., 2012). El uso de antidepresivos, tales como inhibidores de la monoaminoxidasa o inhibidores de la recaptación de la serotonina, han sido ampliamente usados para paliar la sintomatología de la depresión (Shishkina et al., 2012). Sin embargo, el 30% de los pacientes no responden al tratamiento convencional y muestran una serie de efectos secundarios como consecuencia de la interacción con diferentes drogas antidepresivas. Por tanto, la búsqueda de posibles productos naturales con acción antidepresiva, objeto del presente estudio con la curcumina, podría abrir nuevas vías terapéuticas de intervención clínica. La depresión produce desbalances en el sistema nervioso central a nivel simpático y altera la liberación neuroendocrina de cortisol (hormona del estrés) por el eje hipotálamo adrenal y aumenta la liberación de citoquinas proinflamatorias como IL-6 (Gray SM, Bloch MH 2012). En este sentido, un estrés crónico mantenido, junto a diversos estresores psicosociales pueden conducir y potenciar episodios de depresión (Kendler et al, 1999 O'Keane et al., 2012), ya que el estrés crónico mantenido puede ser

un importante desencadenante de episodios depresivos en pacientes (McTeague LM, Lang PJ., 2012) y promueven la liberación de especies reactivas del oxígeno (ROS), que contribuyen a la pérdida neuronal en el hipocampo (Venkateshappa et al., 2012). De hecho, varios estudios han puesto de manifiesto la asociación entre episodios de estrés y depresión (Nilson et al., 2012), de forma que el estrés, y concretamente la hormona cortisol agravan el daño neuronal a través de la producción de glutamato (un neurotransmisor excitatorio), en el hipocampo (Sapolsky., 2001).

El estrés constituye una mala respuesta adaptativa y produce disregulaciones del eje hipotálamo adrenal en diversos desórdenes neuropsiquiátricos (Taber and Hurley., 2009, 2010). Así mismo, el estrés altera la liberación de neurotransmisores en el Sistema Nervioso Central, en varias áreas límbicas afectadas por la depresión y/o por el estrés en humanos (Shin and Liberzon, 2010). Factores estresantes que conducen a la activación del eje hipotálamo-adrenal provocan efectos deletéreos en el cerebro, y afectan la conducta y la cognición en estrés y/o depresión (Shin and Liberzon, 2010). Varios estudios han puesto de manifiesto que el estrés crónico contribuye a la degeneración de las dendritas apicales del área CA3 del hipocampo (Sandi et al., 2003; Merino et al., 2004) y promueve remodelamiento estructural en el hipocampo bajo daño inducido por hormonas del estrés (McEwen et al., 2002; Sandi et al., 2003; Merino et al. 2000, 2011). De hecho, el estrés crónico, actúa como un importante desencadenante de depresión e inhibe la neurogénesis en el giro dentado, un área del sistema límbico con neurogénesis permanente. Además, tanto la corticosterona en ratas como el cortisol en humanos reducen la

formación del árbol dendrítico bajo daño inducido por hormonas (Sandi et al., 2003; Sapolsky et al., 2003; Merino et al., 2000; 2011; Leuner B, Shors., 2012). Así mismo, también se han observado una reducción del volumen en la formación del hipocampo en pacientes con un elevado grado de estrés crónico y/o en depresivos (Sapolsky et al., 2010), ya que el hipocampo es una de las principales estructuras del cerebro humano afectada por las hormonas del estrés (Leuner B, Shors., 2012; Munhoz et al. ,2010). La pérdida de volumen hipocampal ha sido puesta de manifiesto en patologías donde se observa una elevada producción sistémica de la hormona del estrés (cortisol) como acontece en el Síndrome de Cushing, en estrés postraumático y/o en depresión (Frodl and O'Keane. 2012). El daño neuronal asociado a la depresión por estrés crónico mantenido es consecuencia de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), que dañan las membranas neuronales junto a la liberación de citoquinas proinflamatorias en el hipocampo (Sorrels et al., 2009) y otras áreas límbicas como la amígdala cerebral (Mitra et al., 2012). De hecho, la producción mantenida de citoquinas proinflamatorias y/o citoquinas quimiotácticas (quimiocinas) contribuyen a la degeneración neuronal en procesos patológicos del Sistema Nervioso Central (Merino et al., 2011 a,b; Fiala et al., 2012) y en la patogénesis de la depresión (Eyre H, Baune., 2012; Moyle et al., 2012; Farooq et al., 2012).

El estrés crónico predispone a la progresión de la depresión y perpetúa la sobreactivación del eje hipotálamo adrenal. También, decrece la neurogénesis y la proliferación celular en el hipocampo de pacientes depresivos y con ansiedad, siendo reducidos dichos efectos por la administración de antidepresivos y reguladores de la

síntesis del cortisol (Frodl T, O'Keane., 2012; Farooq et al., 2012). En este sentido, el hipocampo es un área límbica que controla las respuestas de emoción y motivación (Eyre H, Baune., 2012), y actúa en procesos de aprendizaje y memoria (Merino et al., 2000). Niveles alterados de neurotransmisores en dicha área cerebral contribuyen en la patogenia de la depresión en el hipocampo (Farooq et al., 2012).

Por tanto, en base a los mecanismos celulares implícitos al daño celular por hormonas en estrés crónico y/o depresión, en el presente estudio evaluamos la posibilidad de que tratamientos crónicos con curcumina pudieran proteger frente a la neurotoxicidad del cortisol en pacientes depresivos tratados crónicamente durante 3 meses. Esta hipótesis se basa en el hecho de que el cortisol potencia la excitotoxicidad del glutamato en neuronas y/o astroglia (Chen et al., 2000) junto al hecho de que la curcumina protege frente a la excitotoxicidad del glutamato en el sistema nervioso central de las ratas (Wang et al., 2008).

Dado que la depresión altera la neurogénesis hipocampal (Curtis et al., 2012) y que la curcumina es capaz de promover efectos neurogénicos en la línea celular inmortalizada de progenitores neurales en la línea celular inmortalizada C2.1 (Kim et al., 2008), en el presente estudio analizamos también la posibilidad de que la curcumina pudiera promover neurogénesis asociada a un aumento de los niveles de Nestina (marcador celular de progenitores neurales) en cultivos de neuroesferas procedentes de la zona subventricular (según protocolo descrito en materiales y métodos) bajo excitotoxicidad mediada por glutamato. Dada que no es posible disponer de cerebros post-mortem de pacientes depresivos para el

presente estudio, evaluaremos en cultivos de progenitores neurales la posibilidad de que la curcumina pudiera promover neurogénesis dependiente de los niveles de Nestina en cultivos de progenitores neurales de la zona subventricular tratados con dos dosis de curcumina (1 microM y 10 microM) bajo tratamiento de concentraciones neurotóxicas de glutamato (2 mM, 24 horas), que inducen pérdida del número de neuroesferas en el cultivo celular (ver sección de resultados). El uso de glutamato como señal neurotóxica se justifica por el hecho de que la corticosterona (hormona del estrés en rata) y/o cortisol (humanos) es capaz de promover un aumento del daño neuronal asociado a la liberación de glutamato (Chen et al., 2000, Nonaka et al.,2009; McEwen et al., 2000), un neurotransmisor excitatorio, que en altas concentraciones promueve atrofia de las dendritas apicales del área CA3 hipocampal, la principal área cerebral afectada por estrés crónico (Merino et a., 2000; Sandi et al. 2003; Sapolsky et al., 2010).

Así mismo, el uso de progenitores neuronales (cultivos de neuroesferas) como modelo “in vitro” de neuroesferas procedentes de la zona subventricular se justifica por el hecho de que el estrés reduce la neurogénesis, lo que contribuye a la vulnerabilidad neuronal y al daño mediado por glutamato (McEwen et al., 2000), neurotransmisor cuya liberación es potenciada, como ya se ha indicado, por la acción de la corticosterona en rata y/o cortisol en humanos.

**Antecedentes y estado actual del trabajo de investigación:
Implicaciones de la neurogénesis en la zona subventricular
(SVZ) y su relación con el proceso de depresión y/o estrés.**

La neurogénesis en la SVZ es un proceso continuo que genera neuroblastos que se desplazan a través la zona rostral hacia el bulbo olfativo, en donde se diferencian a interneuronas. Sin embargo, la proliferación, migración y diferenciación de las células madre puede verse alterada por lesiones (como la isquemia) o excitotoxicidad, que afecta la conectividad neuronal (Curtis et al., 2012). Diferentes estudios, tanto in vitro como in vivo sugieren que los neuroblastos responden a estímulos emitidos desde la corteza y el cuerpo estriado lesionado y migran hacia estas estructuras donde posteriormente se diferencian a interneuronas (Curtis et al., 2012). En humanos, la SVZ está formada por cuatro capas perfectamente organizadas y tres tipos de células que participan en la neurogénesis de la SVZ (Curtis et al, 2012). Las células tipo B son astrocitos inmunoreactivos para GFAP, nestina y vimentina. Durante el proceso de división, parte de estas células generan células tipo C, que tienen una alta tasa de proliferación y se caracterizan por la expresión de nestina. A partir de las células tipo C se diferencian las células tipo A, que son los neuroblastos que irán migrando por el cinturón glial a lo largo de la corriente migratoria rostral (RMS). Las células A, se caracterizan por la expresión de la beta-3-tubulina (B3T), PSA-NCAM (forma polisializada de la molécula de adhesión celular) (Merino et al., 2011) y otras moléculas neurogénicas. Una vez los neuroblastos alcanzan el bulbo olfativo y se diferencian a interneuronas (Curtis et al., 2012). En los últimos años se ha realizado un gran esfuerzo por desentrañar los mecanismos que controlan la migración de los neuroblastos a través de la zona rostral (Theus et al., 2012).

Estudios desarrollados durante la última década han empezado a poner de manifiesto la importancia de neurotransmisores como el

GABA y glutamato, serotonina, dopamina o acetilcolina en la regulación de la neurogénesis. Sin embargo, es relevante considerar que una elevada concentración de glutamato en el medio, puede promover daño neuronal (Chen et al., 2000), a diferencia de su papel neurogénico a bajas concentraciones (Boveti et al., 2011).

En la SVZ (zona subventricular, de la que proceden los neuroblastos del presente estudio) se produce la liberación de GABA y de glutamato, mediante un mecanismo dependiente de Ca^{2+} , por el transportador VGLUT1 desde los astrocitos que rodean la corriente de neuroblastos (Curtis et al., 2012). Por tanto, y dada la imposibilidad de estudiar las posibles implicaciones neurogénicas de la curcumina en pacientes depresivos, en el presente estudio “in vitro”, hemos analizado la posibilidad de que dos diferentes concentraciones de cúrcuma, pudiera promover neurogénesis asociada a un aumento de los niveles de nestina en cultivos de progenitores neurales procedentes de la zona subventricular, bajo tratamientos con concentración excitotóxica de glutamato durante 24 horas en presencia de 1 microM y 10 microM de curcumina en el medio de cultivo.

Abordaje clínico: Utilización de la Cúrcuma en pacientes con depresión-ansiedad y su valoración con el Test de Beck.

Básicamente, la depresión no es prerrogativa de cierta edad o género; por el contrario, para definirla no debe hacerse exclusiones, sino pretender hallar un concepto que permita abarcar la importancia que tiene y describir objetivamente el trastorno. Así, Mateu (2000), menciona algunas definiciones:

- Es un trastorno del ánimo que involucra y afecta a todo el organismo: cuerpo, mente y conducta. Afecta los sentimientos, emociones, pensamientos y relaciones con su medio cambiante físico, familiar y social.
- Es un trastorno mental caracterizado por un bajo estado de ánimo y sentimientos de tristeza, asociados a alteraciones del comportamiento, del grado de actividad y del pensamiento.
- Es una enfermedad de naturaleza psicológica, matizada como trastorno del estado de ánimo. Se relaciona con una disminución energética de algunos componentes de la persona, energía vital y afectividad.

Freden (1986) habla de la depresión como un estado de desánimo que dura al menos varios días y hace difícil que la persona deprimida lleve a cabo sus actividades cotidianas normales.

El Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV (1995), la describe dentro de los “Trastornos del estado de ánimo”, en el cual el sujeto deprimido se caracteriza por la pérdida del interés y/o del placer en casi todas las actividades que venía realizando y toma en cuenta que estas manifestaciones tendrían que estar presentes por al menos durante un periodo de dos semanas para que se pueda establecer el diagnóstico. La afección ocurre entonces en las esferas psíquica, somática y conductual, mostrándose en lo social, donde se pierde el interés de interactuar con el grupo social al que pertenece la persona y donde se pueden presentar datos principalmente de abatimiento del humor, la aflicción, el pesimismo,

la desesperanza y la pérdida de interés (Revista de Epidemiología, 2001).

La escala de depresión de Beck, es un mecanismo fiable para medir el estado de ánimo. Con este se detecta la presencia de depresión, ansiedad y se mide exactamente su gravedad.

El Inventario de Depresión de Beck (Beck Depression Inventory, BDI) (Beck et al. 1961) fue desarrollado inicialmente como una escala heteroaplicada de 21 ítems para evaluar la gravedad (intensidad sintomática) de la depresión, conteniendo cada ítem varias fases autoevaluativas que el entrevistador leía al paciente para que éste seleccionase la que mejor se adaptase a su situación; sin embargo, con posterioridad su uso se ha generalizado como escala autoaplicada. Beck et al. (1979) da a conocer una nueva versión revisada de su inventario, adaptada y traducida al castellano por Sanz, Navarro et al. (2003), siendo ésta la más utilizada en la actualidad.

Es un cuestionario autoaplicado de 21 ítems que evalúa un amplio espectro de síntomas depresivos. Se sistematizan 4 alternativas de respuesta para cada ítem, que evalúan la gravedad/intensidad del síntoma y que se presentan igualmente ordenadas de menor a mayor gravedad. El marco temporal hace referencia al momento actual y a la semana previa. Ni la numeración de las alternativas de respuesta, ni los enunciados de los distintos ítems deben aparecer en el formato de lectura del cuestionario, ya que al dar una connotación clínica objetiva a las frases pueden influir en la opción de respuesta del paciente y de esta manera alterar los resultados.

Su contenido enfatiza más en el componente cognitivo de la depresión, ya que los síntomas de esta esfera, representan en torno al 50% de la puntuación total del cuestionario, siendo los síntomas de tipo somático/vegetativo el segundo bloque de mayor peso; de los 21 ítems, 15 hacen referencia a síntomas psicológicos-cognitivos, y los 6 restantes a síntomas somáticos vegetativos.

Rutina de aplicación clínica: Test de Beck

Diga al paciente: "Esto es un cuestionario; en él hay grupos de afirmaciones; leeré uno de estos grupos. Después quiero que elija la afirmación en ese grupo que describa mejor como se ha sentido en la última semana incluyendo hoy".

En ese momento alcance una copia del cuestionario al paciente y dígame: "Aquí tiene una copia para que pueda seguirme mientras leo". Lea el grupo entero de afirmaciones en la primera categoría; luego diga: "Ahora elija una de las afirmaciones que describa mejor como se ha sentido en la última semana, incluyendo hoy"

Si el paciente indica su elección respondiendo mediante un número, vuelva a leer la afirmación que corresponda con el número dado por el paciente, con el fin de evitar confusión sobre cual de las afirmaciones elegida. Cuando el paciente dice "la primera afirmación", puede querer decir 0 ó 1. Después que se haga evidente que el paciente entiende el sistema de numeración, será suficiente la respuesta numérica para indicar su elección.

Instrucciones adicionales

- Verifique que cada elección sea efectivamente la elección del paciente y no palabras que usted haya repetido. Haga que el paciente exprese, por su cuenta, cual afirmación ha elegido.
- Si el paciente indica que hay dos o más afirmaciones que se ajustan a la forma en que se siente, entonces anote el mayor de los valores.
- Si el paciente indica que la forma en que se siente está entre 2 y 3, siendo más que 2, pero no justamente 3, entonces anote el valor al cual se acerque más, ó 2.
- Generalmente el entrevistador debe leer en voz alta las afirmaciones que se encuentran en cada categoría. A veces el paciente toma la iniciativa y empezará a leer en silencio las afirmaciones en una categoría, adelantándose al entrevistador, y empieza a dar las afirmaciones elegidas. Si el paciente está atento y parece inteligente, deje que lea en silencio las afirmaciones y que haga su elección. Dígale al paciente que, si está seguro de leer todas las afirmaciones en cada grupo antes de elegir, entonces podrá leer en silencio. Sea diplomático y tenga tacto para alentar al paciente y que reflexione suficientemente antes de elegir.
- El puntaje de depresión obtenido debe asentarse en la hoja de registro. Simplemente corresponde a la suma de las mayores cargas de respuestas seleccionadas en cada grupo de afirmaciones.

INTERPRETACION

El Inventario de Depresión de Beck-Segunda Versión, BDI-II; es un instrumento de autoaplicación de 21 ítems. Ha sido diseñado para evaluar la gravedad de sintomatología depresiva en adultos y adolescentes con una edad mínima de 13 años. En cada uno de los ítems, la persona tiene que elegir, entre un conjunto de cuatro alternativas ordenadas de menor a mayor gravedad, la frase que mejor describe su estado durante las últimas dos semanas, incluyendo el día en que completa el instrumento. En cuanto a la corrección, cada ítem se valora de 0 a 3 puntos en función de la alternativa escogida y, tras sumar directamente la puntuación de cada ítem, se puede obtener una puntuación total que varía de 0 a 63. Así mismo, los resultados relativos a los niveles neuroendocrinos de cortisol en el presente estudio, indican que la curcumina reduce los niveles de cortisol en saliva en pacientes depresivos (ver gráfica).

Los puntos de corte usualmente aceptados para graduar la intensidad/ severidad son los siguientes:

No depresión	0-9 puntos
Depresión leve	10-18 puntos
Depresión moderada	19-29 puntos

Depresión grave >30 puntos

Fiabilidad

Sus índices psicométricos han sido estudiados de manera casi exhaustiva, mostrando una buena consistencia interna (alfa de Crombach 0.76-0.95). La fiabilidad del test oscila alrededor de $r = 0.8$.

Trabajo de investigación

En la presente investigación se realizó un estudio de las propiedades psicométricas del Inventario de Depresión de Beck, específicamente de la última versión de este instrumento, conocida como BDI-II.

Tomando como base estos estudios de versiones en español del BDI-II, la presente investigación evalúa las propiedades psicométricas del instrumento en 30 pacientes.

Muestra Clínica: *pacientes depresivos tratados con curcumina vs depresivos y controles*

Pacientes que presentaban síndromes o trastornos emocionales depresivos y/o ansiosos, según la evaluación clínica realizada por

profesionales de salud mental. Este grupo clínico estuvo compuesto de 30 personas de ambos sexos, 20 mujeres y 10 hombres, con edades comprendidas entre 20 y 72 años. Así mismo, se incluyó una muestra de pacientes controles sin indicio alguno de estrés, ansiedad y depresión, con objeto de medir en dicha población control (n=65) los niveles de la hormona del estrés cortisol en plasma de tales controles.

Previamente, se excluyeron de esta muestra a los pacientes que informaron haber recibido tratamiento por algún problema de salud mental durante los últimos dos años, como criterio de exclusión.

La ansiedad es siempre un proceso reactivo a algo que ocurre en nuestro mundo, es una forma de adaptación que pone en marcha nuestro cerebro cuando se encuentra en una situación que él interpreta como peligrosa.

Lo peor de todo y lo más triste es que la ansiedad no se elimina con medicación alopática. Con medicamentos químicos, se eliminan sólo los síntomas mientras esa persona siga tomando la dosis, pero la ansiedad sigue existiendo. Los intereses comerciales de las grandes empresas farmacéuticas tienen mucho que ver con este disparate. Las grandes industrias farmacéuticas han creado el bulo, sobre todo entre los propios médicos, de que con ansiolíticos, es posible eliminar la ansiedad y eso es completamente falso.

La mayor parte de los médicos recetan tranquilizantes o, lo que es peor, mezclas de psicodélicos con psicoanalépticos (sedantes y estimulantes), que lo único que consiguen es crear un doble problema: al problema de la ansiedad se le añade la dependencia a

una sustancia tóxica. Los tranquilizantes, además de dependencia crean tolerancia, es decir, cada vez se necesita más dosis para conseguir los mismos resultados. A veces, mezclan ansiolíticos con antidepresivos, convirtiendo a esas personas en una verdadera coctelera humana. Por tanto, el posible uso terapéutico de la curcumina en depresión y/o desórdenes bipolares podría conducir a nuevas terapias naturales frente a la depresión y/o desórdenes de ansiedad, ya que nuestros datos indican que la administración crónica de la misma durante varios meses consecutivos es capaz de reducir los niveles de la hormona del estrés (cortisol) en los pacientes, normalizando los valores al rango que muestran los pacientes controles sin ansiedad y/o depresión (ver figura indicada abajo).

Cada año varios millones de personas se enganchan a los ansiolíticos y no pueden vivir sin ellos. Esto genera millones de dólares, beneficios incalculables a costa de mantener a las personas dependientes de un fármaco. Pero es que, además, ese fármaco no cura la ansiedad. Por tanto, el presente estudio piloto abre una importante vía terapéutica de la curcumina frente al estrés, la ansiedad, y sobre todo la depresión en humanos.

Tratamiento fitoterápico con curcumina

En el presente estudio, hemos dado a nuestros pacientes que colaboraron en el trabajo de investigación, 400 mg. de cúrcuma longa durante 3 meses consecutivos y fueron informados mediante

consentimiento informado. El uso crónico de curcumina durante 3 meses se justifica por el hecho de que la reducida biodisponibilidad de la curcumina, que es potenciada al 2.000% por la presencia de pimienta y la ausencia de efectos tóxicos en humanos observada en el presente y en otros estudios. Además, una dosis de hasta 12.000 mg. mantenida, muestra niveles detectables de curcumina en plasma a dosis de 57.6 ng/ml (datos sin publicar), lo que justifica el uso mantenido durante varios meses en los pacientes depresivos.

La cúrcuma longa esta considerada como uno de los antioxidante más potentes, capaz de neutralizar y eliminar los radicales libres, principales responsables de la peroxidación de los lípidos celulares y del desencadenamiento de procesos degenerativos como la Enfermedad de Alzheimer, así lo afirmarían un grupo de investigadores de la Universidad de California (USA), en un artículo publicado en *Proceedings of the National Academy of Science*, según el cual uno de los principios activos de la cúrcuma (la bisdemetoxicurcumina) previene la acumulación de proteínas beta amiloides en el cerebro que son las que terminan formando placas y llevando a la muerte de las neuronas. Así mismo, la presencia de pimienta favorece la absorción de la curcumina al 2.000%.

Por otro lado, la curcumina tiene un marcado efecto antiinflamatorio, lo que contribuye a controlar la inflamación silenciosa (Low Grade Inflammation). Esta actividad se debe a los “curcuminoides”, ya que logra modular el metabolismo de ácido araquidónico e inhibe la vía inflamatoria de la ciclooxigenasa que da lugar a la formación de prostaglandinas y tromboxanos. En 1994, los investigadores B. Joe y B. R. Lokesh demostraron que la “curcumina” inhibe la incorporación del ácido araquidónico a las membranas lipídicas

evitando la liberación de eicosanoides mediadores de la inflamación, prostaglandinas E2, leucotrienos B4, así como de enzimas hidrolíticas (colagenasa, elastasa e hialuronidasa) secretadas por los macrófagos. Por otra parte, la curcumina protege frente a la excitotoxicidad del glutamato en el hipocampo de ratas (Wang et al.2008).

La Medicina -sobre todo la Ayurvédica- tiene amplio uso en hepatitis A, B y otras, en casos de trombocitopenia, como regulador de la inmunidad y coadyuvante en inmunodeficiencias, incluidas ciertas formas de cáncer como el carcinoma de mama y el hepatocarcinoma.

En las últimas décadas se han llevado a cabo estudios, principalmente por el Dr. Bharat Aggarwal y su equipo de investigadores en el hospital M.D. Anderson (Houston, Texas), para establecer las actividades biológicas y farmacológicas de la cúrcuma. Los efectos anticáncer parecen derivar de la habilidad de la cúrcuma de inducir apoptosis en células cancerígenas, sin producir efectos citotóxicos en células sanas. La cúrcuma puede interferir con la actividad del factor de transcripción NF- κ B, que ha sido ligado a través de múltiples estudios científicos, a un número de enfermedades inflamatorias, incluyendo cáncer.

1. Resultados del estudio clínico: análisis del Test de Becas y niveles de cortisol en saliva (ng/ml)

El Inventario de Depresión de Beck, permite obtener cuatro categorías o niveles de depresión: baja, leve, moderada y severa. A continuación se mostrarán tablas que muestran la prevalencia de la depresión en la población de estudio:

Con respecto a la prevalencia en la muestra por nivel de depresión, observamos la siguiente distribución:

Nivel de depresión reportado	%
Baja	27.6
Leve	15.3
Moderada	42.7
Severa	14.4

Como puede observarse en la tabla, el nivel predominante de depresión en la muestra de estudio, fue el de moderada.

Con respecto al género, a continuación se presenta la distribución de la depresión reportada en ambos sexos:

SEXO	Baja	Leve	Mode rada	Severa
Hombres	6.9	3.1	16.8	8.3
Mujeres	10.7	12.2	26	16

Se establece que el sexo femenino presenta mayor depresión, en todos los niveles respecto a los hombres. Esto concuerda con diferentes hallazgos en otras investigaciones.

Después de 3 meses de tratamiento, tomando una dosis de 400 mg. de cúrcuma, los resultados de la gráfica muestran una gran mejoría posiblemente por el efecto neuroprotector que la “curcumina” tiene.

Nivel de depresión reportado (últimos 3 meses)	%
Baja	39.9
Leve	27.5
Moderada	22.4
Severa	10.2

Deberíamos continuar investigando para conocer algunos aspectos que la cúrcuma nos ofrece en los trastornos depresivos-ansiosos.

Resultados del estudio clínico: análisis de los niveles de cortisol en saliva de pacientes tratados con cúrcuma vs depresivos y controles sin estrés.

Nivel de depresión reportado	%
------------------------------	---

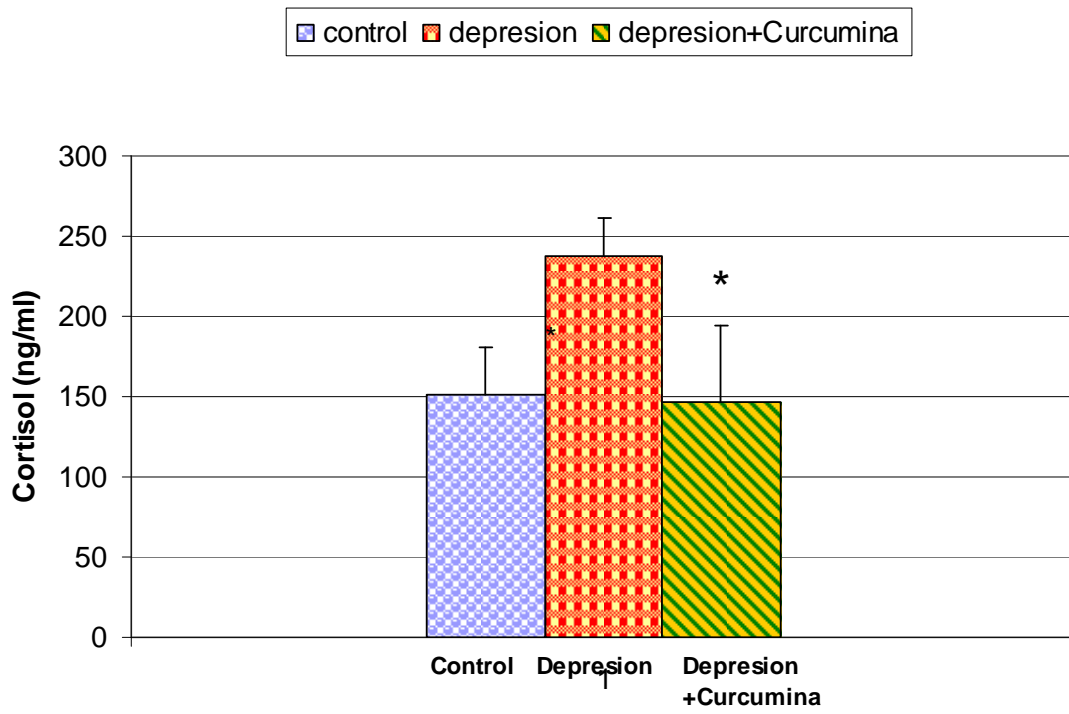
(últimos 3 meses)	
Baja	39.9
Leve	27.5
Moderada	22.4
Severa	10.2

Análisis de los niveles de cortisol en saliva (ng/ml) en pacientes depresivos tratados con curcumina

Especialmente relevante es la consideración de que el análisis T de Student en depresivos tratados con curcumina durante 3 meses consecutivos fue capaz de reducir los niveles de cortisol en pacientes depresivos (n=12) en comparación a los altos niveles mostrados por pacientes depresivos (n=20, $p<0.05$). Por otro lado, los pacientes depresivos mostraban niveles de cortisol en saliva significativamente más elevados (n=20) en comparación a los pacientes controles sin estrés/ansiedad ni depresión (n=65, $p<0.05$). En la siguiente gráfica se indican los valores medios de cortisol en saliva medidos mediante kit (Materlab) que determina específicamente los niveles de cortisol en saliva (ng/ml) y el error relativo de cada uno de los grupos experimentales indicados en los pacientes.

Por tanto, la curcumina reduce los signos de depresión y reduce los niveles de cortisol en saliva en depresivos que tomaron por vía oral la curcumina durante 3 meses consecutivos en comparación a los depresivos no tratados.

La curcumina reduce los niveles de cortisol en pacientes depresivos al nivel de los controles sin estrés



* P<0.05 VS pacientes depresivos

Estudio de la posible capacidad neurogénica de la curcumina en cultivos de neuroesferas procedentes de la zona subventricular de rata.

Cultivos celulares: medios de cultivo

Las células se mantuvieron en una incubadora a 37°C y en una atmósfera de 95% aire 5% CO₂. La tripsina-EDTA procedía de GIBCO BRL- Life Technologies (Eggenstein, Alemania). El medio de disección fue Hank's Basal Saline Solution (HBSS) con 1% de antibiótico. El medio de cultivo utilizado para neuronas, astrocitos y neuroesferas fue DMEM/F12 con Glutamax, 1% antibiótico-antifúngico, 1% B27, A este medio se añadieron 20 ng/mL de EGF como factor de crecimiento exclusivamente en la fase de formación de neuroesferas. En los cultivos de neuronas y astrocitos se utilizó temporalmente 10% de suero fetal de ternera (FCS) y antibiótico al 1 %. Las células fueron sembradas en placas o cristales pretratados con 20 µg/µl de poli-D-lisina a las densidades indicadas.

Cultivo de células precursoras neurales (CPNs) de la Zona Subventricular (SVZ)

El cultivo de células progenitoras de la SVZ se realizó de acuerdo al método descrito por Agasse et al. (2004). Brevemente, se obtuvieron camadas de ratas entre la etapa postnatal p0-p3. Las ratas fueron sacrificadas por decapitación y los cerebros fueron colocados en medio de disección. Se retiraron las meninges y se procedió a realizar secciones coronales de 500 µm. Se disecó la SVZ, se trituró con unas tijeras de disección y se realizó un tratamiento con tripsina al 0,025% durante 10 minutos a 37°C. La reacción fue detenida por centrifugación (1 min, 10.000 rpm) y sucesivos lavados en medio de disección. Las células fueron resuspendidas en medio de cultivo con 20 ng/mL de EGF (Epidermal Growth Factor, del inglés) como factor de crecimiento y sembradas en flotación en placas sin polilisina a una densidad de

3.000 células/cm², permitiéndose posteriormente la formación de neuroesferas durante 7-10 días. Este método evita la adhesión de las células a la placa, por lo que aquellas células que no tengan capacidad proliferativa morirán. Al cabo de este tiempo inicial, las neuroesferas se sembraron en placas de 6 cm. o en cristales de 6 mm. de diámetro tratados con polilisina en el mismo medio de cultivo sin factores de crecimiento para iniciar la fase de diferenciación a neuronas y/o células gliales. Los tratamientos con glutamato (2 mM) y con la curcumina comienzan a los 10 días “in vitro” (ver protocolo).

Análisis de la inmunoreactividad de Nestina en cultivos de neuroesferas procedentes de la zona subventricular bajo excitotoxicidad (glutamato 2 mM) a diferentes concentraciones neuroprotectoras de curcumina (1 microM y 10 microM).

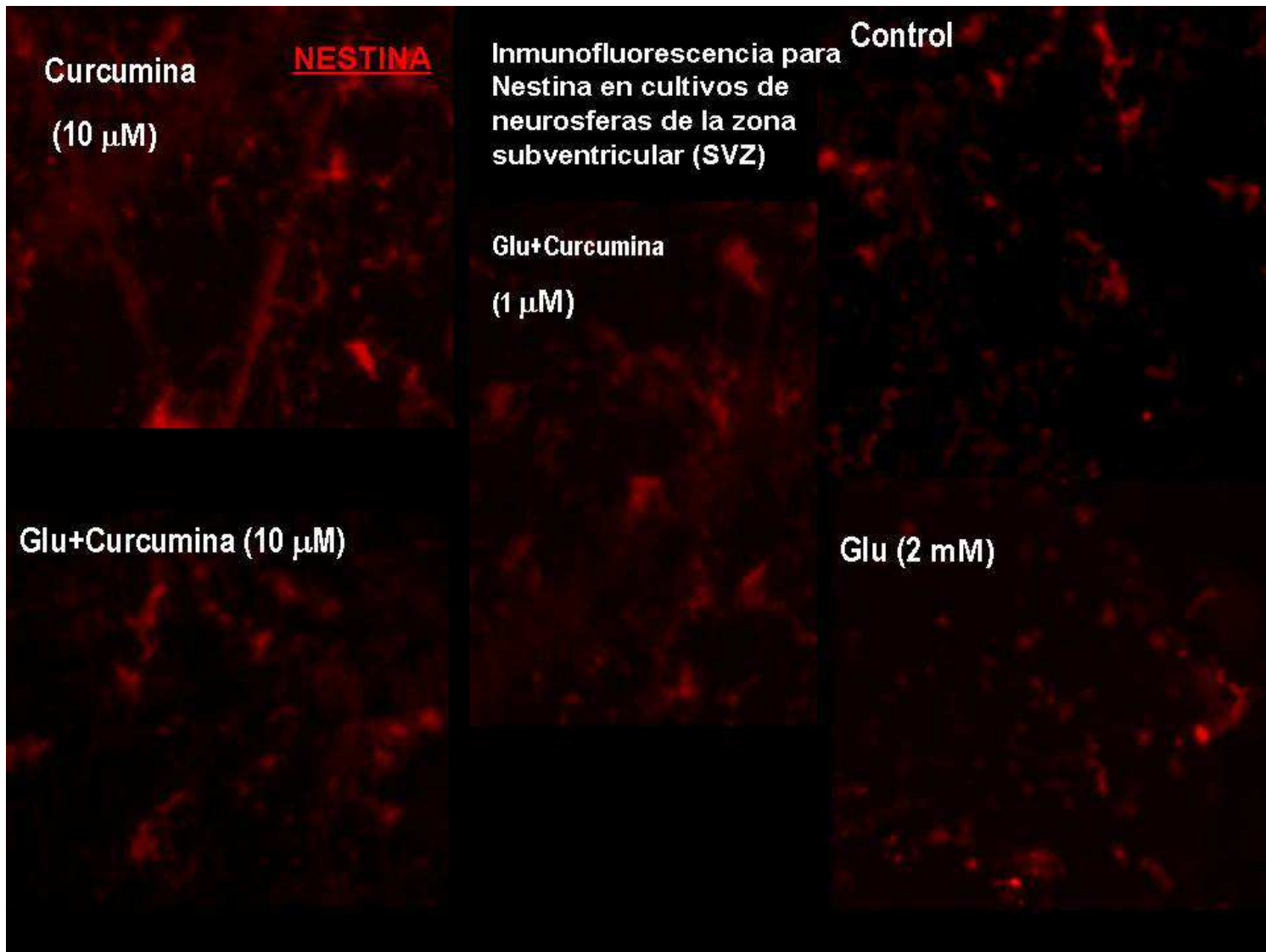
Abreviaturas

Glu=Glutamato.

NPC=Células progenitoras neurales procedentes de neuroesferas de la zona subventricular.

Glu= 2 Mm, Concentración neurotóxica de glutamato.

Curcumina= 1 microM y 10 microM.



En la foto se muestra la inmunofluorescencia para el marcador de progenitores neurales denominado, Nestina. Las neuroesferas se aislaron de la zona subventricular de la rata. Los grupos experimentales siguen un diseño bifactorial 2x2, analizándose la neurotoxicidad del glutamato (2 mM) y el posible efecto neuroprotector y/o neurogénico a dos concentraciones de curcumina testadas bajo excitotoxicidad (1 microM y 10 microM). Para ello, se consideró un grupo de neuroesferas sin tratar (controles), y tratadas bajo excitotoxicidad con glutamato (2 mM), junto los grupos tratados solo con curcumina a 1 microM y con dos

grupos de neuroesferas se trataron con curcumina (1 microM y 10 microM) en presencia de glutamato durante 24 horas en el medio de cultivo a una concentración de 2 Mm. Asimismo, la curcumina permaneció en el medio de cultivo durante las 24 horas de aplicación del glutamato y se adicionó 15 minutos antes.

Tras los trataminentos indicados, las neuroesferas se fijaron con 4 % de paraformaldehido y se estimó la media de la intensidad de fluorescencia para Nestina y el error relativo para cada uno de los grupos experimentales indicados. La Nestina se identificó mediante un anticuerpo monoclonal que reconoce dicho marcador de neuroesferas de la zona subventricular en la rata (ver fotos representativas en rojo). Para ello, tras los tratamientos indicados, todas las neuroesferas se fijaron con 4% de paraformaldehido y tras dos lavados en PBS 1X se bloqueó la unión inespecífica con 5% de Normal Goat Serum. Tras 3 lavados en PBS1X, se incubaron durante 24 horas con un anticuerpo monoclonal que reconoce específicamente la Nestina en los neuroblastos. Finalmente, se incubó durante 2 horas con el anticuerpo secundario Alexa-Fluor 595 y tras montar los portas, se cuantificó la inmunofluorescencia para Nestina en microscopio de fluorescencia (Leyca), evaluándose la intensidad de fluorescencia en los grupos experimentales considerados (ver foto representativa)

c) Después de 3 meses de tratamiento, tomando una dosis de 400 mg. de Cúrcuma, los resultados de la gráfica muestran una gran mejoría posiblemente por el efecto neuroprotector que la “curcumina” tiene.

d) Pacientes tratados con curcumina de forma crónica durante 3 meses muestran niveles reducidos de cortisol en plasma en comparación a los pacientes depresivos no tratados y dichos niveles se normalizan al nivel de pacientes controles sin estrés y/o depresión.

2. Cultivos de neuroesferas (progenitores neurales) procedentes de la zona subventricular tratados con curcumina promueven un aumento de la neurogénesis en la zona subventricular de rata y protegen frente a la excitotoxicidad del glutamato a través de un aumento de los niveles del marcador de células madre denominado Nestina.

Perspectivas futuras

1. Por tanto, el posible papel de la curcumina como regulador o movilizador de células madre (inmunoreactivadas para Nestina) podría constituir un nuevo e importante modulador natural frente al daño neuronal en las enfermedades neurodegenerativas (Saha et al, 2012). Sin embargo, varias preguntas pueden plantearse en el posible efecto terapéutico de la curcumina en dicho proceso. ¿Cuántos neuroblastos sobreviven al proceso de migración y cuantos se diferencian a neuronas? ¿Existe una correcta integración neuronal de los nuevos contactos sinápticos por parte de los neuroblastos que migran? ¿Es capaz la curcumina de

promover un correcto contactamiento sináptico? ¿Es capaz de promover la curcumina la migración de neuroblastos (células madre neurales) a la zona lesionada del hipocampo o cortex para promover angiogénesis y/o plasticidad neuronal?

2. A nivel clínico, evaluaremos con posterioridad si el tratamiento crónico con curcumina es capaz de promover un balance protector en las respuestas Th-2 (IL-4/IL-10) vs Th-1 proinflamatorias (IL-6), así como un efecto protector reduciendo a nivel sistémico los niveles excitotóxicos de glutamato en pacientes tratados con crónicamente con curcumina.

Bibliografía

Agasse F, Roger M, Coronas V. Neurogenic and intact or apoptotic non-neurogenic areas of adult brain release diffusible molecules that differentially modulate the development of subventricular zone cell cultures. *Eur J Neurosci.* 2004 Mar;19(6):1459-68.

Bhutani MK, Bishnoi M, Kulkarni SK. Anti-depressant like effect of curcumin and its combination with piperine in unpredictable chronic stress-induced behavioral, biochemical and neurochemical changes. 2009 Mar;92(1):39-43. Epub 2008 Oct 25.

Bovetti S, Gribaudo S, Puche AC, De Marchis S, Fasolo A. From progenitors to integrated neurons: role of neurotransmitters in adult olfactory neurogenesis. *J Chem Neuroanat.* 2011 Dec;42(4):304-16. Epub 2011 May 27.

Chen CJ, Liao SL, Kuo JS. Gliotoxic action of glutamate on cultured astrocytes. *J Neurochem.* 2000 Oct; 75(4):1557-65.

Curtis MA, Low VF, Faull RL. Neurogenesis and progenitor cells in the adult human brain: a comparison between hippocampal and

subventricular progenitor proliferation. *Dev Neurobiol.* 2012 Apr 27. doi: 10.1002/dneu.22028.

Eyre H, Baune BT. Neuroplastic changes in depression: A role for the immune system. *Psychoneuroendocrinology.* 2012 Apr 21. [Epub ahead of print].

Fiala M, Avagyan H, Merino JJ, Bernas M, Valdivia J, Espinosa-Jeffrey A, Witte M, Weinand M. Chemotactic and mitogenic stimuli of neuronal apoptosis in patients with medically intractable temporal lobe epilepsy. *Pathophysiology.* 2012 Mar 21.

Farooq RK, Isingrini E, Tanti A, Le Guisquet AM, Arlicot N, Minier F, Leman S, Chalon S, Belzung C, Camus V. Is unpredictable chronic mild stress (UCMS) a reliable model to study depression-induced neuroinflammation? *Behav Brain Res.* 2012 May 16;231(1):130-7.

Frodl T, O'Keane V. How does the brain deal with cumulative stress? A review with focus on developmental stress, HPA axis function and hippocampal structure in humans. *Neurobiol Dis.* 2012 Mar 9.

Gray SM, Bloch MH. Systematic Review of Proinflammatory Cytokines in Obsessive-Compulsive Disorder. *Curr Psychiatry Rep.* 2012 Apr 4.

Kendler KS, Karkowski LM, Prescott CA. The assessment of dependence in the study of stressful life events: validation using a twin design *Psychol Med.* 1999. Nov;29(6):1455-60.

Kim SJ, Son TG, Park HR, Park M, Kim MS, Kim HS, Chung HY, Mattson MP, Lee J. Curcumin stimulates proliferation of embryonic neural progenitor cells and neurogenesis in the adult hippocampus. 2008 May 23;283(21):14497-505. Epub 2008 Mar 24.

Leuner B, Shors TJ. Stress, Anxiety, and Dendritic Spines: What are the Connections? *Neuroscience.* 2012 Apr 19.

McEwen BS, Magarinos AM, Reagan LP. Structural plasticity and tianeptine: cellular and molecular targets. *Eur Psychiatry*. 2002 Jul;17 Suppl 3:318-30. Review.

McTeague LM, Lang PJ. The anxiety spectrum and the reflex physiology of defense: from circumscribed fear to broad distress. *Depress Anxiety*. 2012 Apr;29(4):264-81.

Merino JJ, Cordero MI, Sandi C. Regulation of hippocampal cell adhesion molecules NCAM and L1 by contextual fear conditioning is dependent upon time and stressor intensity. *Eur J Neurosci*. 2000 Sep;12(9):3283-90.

Merino JJ, Gutiérrez-Fernández M, Rodríguez-Frutos B, Alvarez-Grech J, Alcalde ME, Vallejo-Cremades MT, Díez-Tejedor E. CXCR4/SDF-1 α -chemokine regulates neurogenesis and/or angiogenesis within the vascular niche of ischemic rats; however, does SDF-1 α play a role in repair? *International Journal of Stroke*. 2011 Oct;6(5):466-69.

Merino JJ, Largo C, Caz V, Ibarra L, Posadas S, de Miguel E. Growth hormone increases neural cell adhesion polysialylation state in the dentate gyrus of γ -irradiated rats. *Synapse*. 2011 Nov;65(11):1239-43.

Merino JJ, Montes ML, Blanco A, Bustos MJ, Oreja-Guevara C, Bayon C, Cuadrado A, Lubrini G, Cambron I, Munoz A, Cebolla S, Gutierrez-Fernandez M, Bernardino JI, Arribas JR, Fiala M. [HIV-1 neuropathogenesis: therapeutic strategies against neuronal loss induced by gp120/Tat glycoprotein in the central nervous system]. *Rev Neurol*. 2011 Jan 16;52(2):101-11.

Mitra R, Adamec R, Sapolsky R. Resilience against predator stress and dendritic morphology of amygdala neurons. *Behav Brain Res*. 2009 Dec 28;205(2):535-43. Epub 2009 Aug 15.

Moylan S, Maes M, Wray NR, Berk M. The neuroprogressive nature of major depressive disorder: pathways to disease evolution and resistance, and therapeutic implications. *Mol Psychiatry*. 2012 Apr 24. doi: 10.1038/mp.2012.

Munhoz CD, Sorrells SF, Caso JR, Scavone C, Sapolsky RM. Glucocorticoids exacerbate lipopolysaccharide-induced signaling in the frontal cortex and hippocampus in a dose-dependent manner. *J Neurosci.* 2010 Oct 13;30(41):13690-8.

Nilsson JE, Lundh LG, Viborg G. Effects of Analytical and Experiential Self-focus on Rumination After a Stress Induction in Patients with Social Anxiety Disorder: A Pilot Study. *Cogn Behav Ther.* 2012 Apr 27.

Nonaka S, Hough CJ, Chuang DM. Chronic lithium treatment robustly protects neurons in the central nervous system against excitotoxicity by inhibiting N-methyl-D-aspartate receptor-mediated calcium influx. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Mar 3;95(5):2642-7.

O'Keane V, Frodl T, Dinan TG. A review of Atypical depression in relation to the course of depression and changes in HPA axis organization. *Psychoneuroendocrinology.* 2012 Apr 10.

Packard MG, Goodman J. Emotional arousal and multiple memory systems in the mammalian brain. *Front Behav Neurosci.* 2012;6:14. Epub 2012 Mar 27.

Saban KL, Mathews HL, Bryant FB, O'Brien TE, Witek Janusek L. Depressive Symptoms and Diurnal Salivary Cortisol Patterns Among Female Caregivers of Stroke Survivors. *Biol Res Nurs.* 2012 Apr 23.

Saha B, Jaber M, Gaillard A. Potentials of endogenous neural stem cells in cortical repair. *Front Cell Neurosci.* 2012;6:14. Epub 2012 Apr 9.

Sandi C, Merino JJ, Cordero MI, Touyarot K, Venero C. Effects of chronic stress on contextual fear conditioning and the hippocampal expression of the neural cell adhesion molecule, its polysialylation, and L1. *Neuroscience.* 2001;102(2):329-39.

Sapolsky RM. Cellular defenses against excitotoxic insults. *J Neurochem.* 2001 Mar;76(6):1601.

Shin LM, Liberzon I. The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2010 Jan;35(1):169-91. Epub . Review.

Shishkina GT, Kalinina TS, Dygalo NN. Effects of Swim Stress and Fluoxetine on 5-HT_{1A} Receptor Gene Expression and Monoamine Metabolism in the Rat Brain Regions. *Cell Mol Neurobiol*. 2012 Mar 29.

Sorrells SF, Caso JR, Munhoz CD, Sapolsky RM. The stressed CNS: when glucocorticoids aggravate inflammation *Neuron*. 2009 Oct 15;64(1):33-9.

Taber KH, Hurley RA, Yudofsky SC. Diagnosis and treatment of neuropsychiatric disorders. *Annu Rev Med*. 2010;61:121-33. Review.

Taber KH, Hurley RA. Endocannabinoids: stress, anxiety, and fear. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2009 Spring;21(2):iv, 109-13. Review. No abstract.

Theus MH, Ricard J, Liebl DJ. Reproducible expansion and characterization of mouse neural stem/progenitor cells in adherent cultures derived from the adult subventricular zone. *Curr Protoc Stem Cell Biol*. 2012 Mar;Chapter 2:Unit 2D.8.

Venkateshappa C, Harish G, Mahadevan A, Srinivas Bharath MM, Shankar SK. Elevated Oxidative Stress and Decreased Antioxidant Function in the Human Hippocampus and Frontal Cortex with Increasing Age: Implications for Neurodegeneration in Alzheimer's Disease. *Neurochem Res*. 2012 Mar 30. [Epub ahead of print].

Wang R, Li YB, Li YH, Xu Y, Wu HL, Li XJ. Curcumin protects against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons by increasing brain-derived neurotrophic factor level and activating TrkB. *Brain Res*. 2008 May 19;1210:84-91. Epub 2008 Apr 16.