



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

“ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA SUPRIMIR LA NEUROINFLAMACIÓN EN
UN MODELO DE TUBERCULOSIS PULMONAR”.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

Doctora en Ciencias

PRESENTA:

DRA. (C) JACQUELINE VIRIDIANA LARA ESPINOSA

TUTOR PRINCIPAL

DR. ROGELIO HERNÁNDEZ PANDO

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DRA. PERLA D. MALDONADO JIMÉNEZ

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez

DR. LUIS B. TOVAR Y ROMO

Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

DR. RAÚL MANCILLA JIMÉNEZ

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Ciudad Universitaria, CD. MX., abril 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

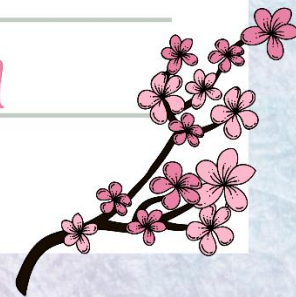
- Quiero agradecer al doctor **Rogelio Hernández Pando** por la oportunidad que me dio hace muchos años de trabajar y aprender en su laboratorio.
- A la doctora **Dulce Mata**, la doctora **Brenda Marquina** y el doctor **Jorge Barrios** por su apoyo técnico durante todos estos años. A **Erecita** por todo su apoyo y cariño.
- A todos mis compañeros de patología experimental, en especial a **Rafa, Su, Vasti, Mafer y Jacque Barrios**.
- A **Enrique Becerril** por todos estos años de amistad y por todo el apoyo que siempre me has dado.
- A mi **abuelita** y al **señor Juan**, por su cariño y recibirme en su casa.
- A **mis gatos** por mantener mi salud mental un poquito estable.


Dedicatoria

- Este trabajo se lo quiero dedicar a **mis padres**, por todo su apoyo y cariño. En especial a **mi mamá**, por enseñarme a soñar y ser perseverante en mi trabajo, para lograr todos mis objetivos. Por ser la persona que más me conoce y a pesar de mi mal carácter siempre estar ahí. Por comprender, que lo que hacía en el laboratorio si es un trabajo.

TQM

Gracias de todo corazón





Hay una terrible enfermedad que prepara a su víctima, por así decirlo, para la muerte. Que lo refina tanto en su aspecto más grosero, y arroja alrededor de miradas familiares indicios sobrenaturales del cambio que se avecina. Una terrible enfermedad, en la que la lucha entre el alma y el cuerpo es tan gradual, tranquila y solemne, y el resultado tan seguro, que día a día, y grano a grano, la parte mortal se desgasta y se marchita, de modo que el espíritu se vuelve ligero y sanguíneo con un destello luminoso y, sintiendo la inmortalidad en la mano, lo considera como un nuevo término de la vida mortal. Una enfermedad en la que la muerte y la vida están tan extrañamente mezcladas, que la muerte toma el brillo y el matiz de la vida, y la vida la forma demacrada y espantosa de la muerte. Una enfermedad que la medicina nunca curaba, la riqueza nunca evitaba, o la pobreza podía jactarse de estar exenta; que a veces se mueve a pasos agigantados, y a veces a un ritmo lento y tardío, pero, lento o rápido, es siempre segura y certera.



Charles Dickens



“ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA SUPRIMIR LA NEUROINFLAMACIÓN EN UN MODELO DE TUBERCULOSIS PULMONAR”.

RECONOCIMIENTOS

El presente trabajo de investigación se realizó bajo la dirección del **Dr. Rogelio Hernández Pando** en el Laboratorio de Patología Experimental, Departamento de Patología en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

El comité tutorial que supervisó el desarrollo de la presente tesis está conformado por:

- **Dr. Luis B. Tovar y Romo**

Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

- **Dra. Perla D. Maldonado Jiménez**

Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez

- **Dr. Raúl Mancilla Jiménez**

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

La autora recibió apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) para la realización de sus estudios de Doctorado en el Programa de Doctorado en Ciencias Bioquímicas, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) con el número de CVU 630838.

Se agradece al Programa de Apoyo a los Estudios del Posgrado (PAEP) por la ayuda otorgada para asistir a congresos y cursos.

Se agradece al jurado de examen asignado, por cada observación y sugerencia para mejorar este trabajo:

- **Dra. Gohar Geyorgyan**
- **Dra. Silvia Andrea Moreno Mendieta**
- **Dra. Claudia González Espinosa**
- **Dra. Clara Inés Espitia Pinzón**
- **Dr. Martín Gustavo Pedraza Alva**

Asunto: jurado de examen

Lara Espinosa Jacqueline Viridiana
Estudiante de Doctorado en Ciencias Bioquímicas
Presente

Los miembros del Subcomité Académico en reunión ordinaria del 22 de noviembre del presente año, conocieron su solicitud de asignación de **JURADO DE EXAMEN** para optar por el grado de **Doctorado en Ciencias**, con la réplica de la tesis **"Estrategias terapéuticas para suprimir la neuroinflamación en un modelo de Tuberculosis pulmonar"**, dirigida por el Dr. **Hernández Pando Rogelio Enrique**.

De su análisis se acordó nombrar el siguiente jurado integrado por los doctores:

PRESIDENTE	Gohar Gevorgyan (IIB)
VOCAL	Silvia Andrea Moreno Mendieta (IIB)
VOCAL	Claudia González Espinosa (CINVESTAV)
VOCAL	Clara Inés Espitia Pinzón (IIB)
SECRETARIO	Martín Gustavo Pedraza Alva (IBT)

A LOS MIEMBROS DEL JURADO:

Es obligación de los tutores de este programa participar en éstas y otras actividades académicas encomendadas por nuestro Comité Académico. Sin embargo, en caso de que tenga un impedimento académico o de salud para cumplir con esta encomienda, es muy importante contar con su respuesta (Formato anexo) en un plazo no mayor a una semana.

Tome en cuenta que usted tiene **30 días** hábiles para emitir su voto con las rondas de revisión que considere necesarias.

Sin otro particular por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA, HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 22 de noviembre
de 2021 COORDINADORA



Dra. Claudia Lydia Treviño Santa Cruz

ÍNDICE

	Página
Abreviaturas	I
Índice de figuras y cuadros	III
Abstract	VIII
Resumen	X
CAPITULO 1	
I. INTRODUCCIÓN	1
1. Tuberculosis	1
1.1 Agente Causal	1
1.2 Epidemiología	3
1.3 Transmisión de la TB	5
1.4 Características clínicas de la TB	6
1.5 Respuesta inmune en la TB	8
2. Modelo murino de Tuberculosis Pulmonar Experimental	19
2.1 Etapa temprana	19
2.2 Etapa progresiva	19
3. Inflamación	21
3.1 Generalidades de la respuesta inflamatoria	21
3.2 Inflamación aguda	22
3.3 Inflamación crónica	22
3.4 Inflamación crónica sistémica	23
4. Respuesta inmune en el Sistema Nervioso Central	25
4.1 Generalidades de la respuesta inmune en el SNC	25
4.2 Inflamación sistémica y comunicación con el cerebro	26
5. Neuroinflamación y Neurodegeneración	28
5.1 Componentes de la neuroinflamación	28
5.2 Neurodegeneración	33
6. Agentes antiinflamatorios	33
6.1 Glucocorticoides	34
6.2 Dexametasona (DEX)	38
6.3 Componente A (CpdA)	39
6.4 Curcumina (CUR)	40

CAPITULO 2

II. ANTECEDENTES	41
1. Relación de la TB con enfermedades mentales comunes	41
2. Respuesta inmune en el SNC durante TB Pulmonar Experimental	46
3. El uso de glucocorticoides en la TB	52
4. Administración intranasal de glucocorticoides para el tratamiento de enfermedades del SNC	53
5. Tratamiento con CpdA en enfermedades inflamatorias	53
6. Efecto antiinflamatorio de la Curcumina	54
7. Efecto antimicrobiano de la Curcumina	55
8. El uso de la Curcumina en la TB	56

CAPITULO 3

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	57
--	-----------

IV. JUSTIFICACIÓN	57
--------------------------	-----------

V. HIPÓTESIS	57
---------------------	-----------

CAPITULO 4

VI. OBJETIVOS	58
----------------------	-----------

6.1 General	58
-------------	----

6.2 Particulares	58
------------------	----

VII. ESQUEMA METODOLÓGICO	58
----------------------------------	-----------

7.1 Efecto de la administración de dexametasona, CpdA y curcumina sobre la TB pulmonar experimental	58
---	----

7.2 Efecto de la administración de dexametasona, CpdA y curcumina sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar	59
--	----

7.3 Modalidad terapéutica en contra de la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar	59
---	----

CAPITULO 5

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	60
-----------------------------------	-----------

8.1 Ubicación	60
---------------	----

8.2 Reactivos	60
---------------	----

8.3 Animales	60
--------------	----

8.4 Modelo murino de TB Pulmonar	61
----------------------------------	----

8.5 Tratamientos	61
------------------	----

8.6 Determinación de UFC en Pulmón y cerebro	62
--	----

8.7 Preparación de Tejido Pulmonar para Análisis Morfométrico.	63
8.8 Pruebas de conducta	63
8.9 Expresión de citocinas evaluada por RT-PCR	68
8.10 Evaluación de Nrf2 y BDNF por Western Blot	69
8.11 Análisis estadístico	70
CAPITULO 6	
IX. RESULTADOS	71
9.1 Efecto del Componente A sobre la TB pulmonar experimental	71
9.2 Efecto de la Dexametasona sobre la TB pulmonar experimental.	72
9.3 Efecto de la administración intranasal de dexametasona sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar.	74
9.4 Efecto de la administración intranasal de dexametasona en combinación con antibióticos sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar en la etapa avanzada de la enfermedad	80
9.5 Efecto de la Curcumina sobre la TB pulmonar experimental	88
9.6 Efecto de la administración de la curcumina sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar	90
9.7 Efecto de la administración de la curcumina en combinación con antibióticos sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar en la etapa avanzada de la enfermedad.	98
X. RESUMEN DE RESULTADOS	108
XI. DISCUSIÓN	111
CAPITULO 7	
XII. CONCLUSIÓN	122
XIII. PERSPECTIVAS	122
XIV. LIMITANTES DEL ESTUDIO	122
CAPITULO 8	
XV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124
XIV. ANEXOS	I
Artículo de Revisión: <i>Psychiatric Problems in Pulmonary Tuberculosis: Depression and Anxiety</i>	I
Artículo Original: <i>Experimental Pulmonary Tuberculosis in the Absence of Detectable Brain Infection Induces Neuroinflammation and Behavioural Abnormalities in Male BALB/c Mice</i>	Ii

Artículo Original: <i>The Therapeutic Effect of Intranasal Administration of Dexamethasone in Neuroinflammation Induced by Experimental Pulmonary Tuberculosis</i>	Ii
Artículo Original: <i>Effect of Curcumin in Experimental Pulmonary Tuberculosis: Antimycobacterial Activity in the Lungs and Anti-Inflammatory Effect in the Brain</i>	Iv

Abreviaturas

AGE	Productos finales de glicación avanzada
APC	Células presentadoras de antígeno
AR	Artritis reumatoide
BALB/c	Cepa de la especie <i>Mus musculus</i> utilizada en la investigación
BBB	Barrera hematoencefálica
BCG	Bacilo de Calmette-Guérin
CLR	Receptores de lectina tipo C
COVID-19	Enfermedad por coronavirus de 2019
CpdA	Componente A
CUR	Curcumina
DC	Células dendríticas
DCSIGN	Nonintegrina capturadora de ICAM específica de CD
DEX	Dexametasona
GC	Glucocorticoides
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos
HHP	Eje Hipotálamo-hipófisis-adrenales
H37Rv	Cepa prototipo de laboratorio de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
IFN- γ	Interferón Gamma
IL	Interleucina
ILCS	Células linfoides innatas
LES	Lupus eritematoso sistémico
LTBI	Infección latente
M ϕ s	Macrófagos
Mas	Macrófagos alveolares
M1	Macrófagos tipo 1
M2	Macrófagos tipo 2
MDSC	Células supresoras derivadas mieloides
MSC	Células supresoras mieloides
MIP-1 α /CCL3	Proteína inflamatoria de M ϕ s-1 α
MHC	Moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad
MMP	Metaloproteinasa de la matriz
MR	Receptores de manosa
MTBC	Complejo <i>Mycobacterium Tuberculosis</i>

<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NCR	Receptor de citotoxicidad natural
NK	Células asesinas naturales
NLR	Receptores tipo Nod
NTM	Micobacterias no tuberculosas
PAMP	Patrones moleculares asociados a patógenos
PE	Prolina-Ácido Glutámico
PPE	Prolina-Prolina-Ácido Glutámico
PGE2	Prostaglandina E2
PRR	Receptores de reconocimiento de patrones
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
SNC	Sistema Nervioso Central
TB	Tuberculosis
T CD4 ⁺	Linfocitos T CD4 ⁺
T CD8 ⁺	Linfocitos T CD8 ⁺
TGF- β	Factor de crecimiento transformante beta
TLR	Receptores tipo Toll
TNF	Factor de necrosis tumoral
Tregs	Células T reguladoras
UFC	Unidades formadoras de colonias
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana

Índice de figuras y cuadros

FIGURAS

		Página
<i>Figura 1</i>	Taxonomía y clasificación de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3
<i>Figura 2</i>	Situación actual de la TB en el mundo.	4
<i>Figura 3</i>	Situación actual de TB en México.	5
<i>Figura 4</i>	Cascada de transmisión de la tuberculosis	6
<i>Figura 5</i>	Evolución natural y espectro de TB.	8
<i>Figura 6</i>	Respuesta inmune durante la infección pulmonar con <i>M. tuberculosis</i> .	18
<i>Figura 7</i>	Modelo murino de TB pulmonar experimental.	20
<i>Figura 8</i>	Causas y consecuencias de la inflamación crónica sistémica.	25
<i>Figura 9</i>	Comunicación entre la respuesta inflamatoria sistémica y el SNC.	27
<i>Figura 10</i>	Regulación de la secreción de glucocorticoides por el eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal en respuesta al estrés.	35
<i>Figura 11</i>	Mecanismo de acción de los glucocorticoides.	36
<i>Figura 12</i>	Estructura química de la dexametasona, CpdA y curcumina.	40
<i>Figura 13</i>	Asociación entre depresión, ansiedad y TB.	43
<i>Figura 14</i>	Efecto de <i>M. tuberculosis</i> en el SNC.	47
<i>Figura 15</i>	Neurodegeneración y muerte neuronal en animales con TB.	48
<i>Figura 16</i>	Cambios bioquímicos inducidos por <i>M. tuberculosis</i> en el SNC.	49
<i>Figura 17</i>	Cambios conductuales en animales con TB.	50
<i>Figura 18</i>	<i>M. tuberculosis</i> induce procesos neuroinflamatorios durante la infección pulmonar.	51
<i>Figura 19</i>	Esquema metodológico del trabajo de investigación.	59
<i>Figura 20</i>	Esquema representativo del laberinto elevado en forma de I.	65

<i>Figura 21</i>	Efecto de 50 o 150 µg de CpdA en la TB pulmonar experimental.	71
<i>Figura 22</i>	Efecto de la administración IN de DEX (B, M y A) sobre la evolución de la TB pulmonar experimental.	73
<i>Figura 23</i>	Efecto de la administración IN de DEX (B, M y A) sobre la neumonía en la TB pulmonar experimental.	74
<i>Figura 24</i>	Efecto de la administración IN de B/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) sobre citocinas proinflamatorias del hipocampo e hipotálamo de ratones con TB.	75
<i>Figura 25</i>	Efecto de la administración IN de B/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) sobre citocinas proinflamatorias del cerebelo y corteza frontal de ratones con TB.	76
<i>Figura 26</i>	Efecto de la administración IN de L/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) en la conducta de enfermedad de ratones con TB.	77
<i>Figura 27</i>	Efecto de la administración IN de L/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) sobre la conducta similar a la ansiedad de ratones con TB evaluada en el laberinto elevado en forma de I.	78
<i>Figura 28</i>	Efecto de la administración IN de L/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) en la depresión, daño neurológico y miedo no condicionado de ratones con TB.	79
<i>Figura 29</i>	Efecto de la administración IN de L/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) sobre el daño en la memoria corto y largo plazo de ratones con TB.	80
<i>Figura 30</i>	Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre la TB pulmonar avanzada.	81
<i>Figura 31</i>	Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre la neumonía en TB pulmonar avanzada.	82
<i>Figura 32</i>	Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos en la expresión de TNF e IL-12 del hipotálamo, hipocampo y corteza frontal en TB pulmonar avanzada.	83

<i>Figura 33</i>	Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos en la conducta de enfermedad en TB pulmonar avanzada.	84
<i>Figura 34</i>	Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre la conducta similar a la ansiedad en TB pulmonar avanzada evaluada en el laberinto elevado en forma de I.	85
<i>Figura 35</i>	Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre la conducta similar a la depresión y daño neurológico en TB pulmonar avanzada.	87
<i>Figura 36</i>	Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre el daño en la memoria en TB pulmonar avanzada.	88
<i>Figura 37</i>	El efecto de la CUR (16 o 32 μ g) sobre la TB pulmonar experimental.	89
<i>Figura 38</i>	Efecto de la CUR (16 o 32 μ g) sobre la neumonía en la TB pulmonar experimental.	90
<i>Figura 39</i>	Efecto del tratamiento con CUR (16 μ g) sobre citocinas proinflamatorias del hipocampo e hipotálamo de ratones con TB.	91
<i>Figura 40</i>	Efecto del tratamiento con CUR (16 μ g) sobre citocinas proinflamatorias del cerebelo y la corteza frontal de ratones con TB.	92
<i>Figura 41</i>	Efecto del tratamiento con CUR (16 μ g) sobre la conducta de enfermedad en ratones con TB.	93
<i>Figura 42</i>	Efecto del tratamiento con CUR (16 μ g) sobre la conducta similar a la ansiedad en ratones con TB.	94
<i>Figura 43</i>	Efecto del tratamiento con CUR (16 μ g) sobre el daño neurológico, la conducta similar a la depresión y el miedo no condicionado de ratones con TB.	95
<i>Figura 44</i>	Efecto del tratamiento con CUR (16 μ g) en el daño en la memoria de ratones con TB.	96

<i>Figura 45</i>	Efecto del tratamiento con CUR (16 µg) sobre los niveles de Nrf2 y BDNF en la corteza frontal e hipocampo de ratones con TB.	97
<i>Figura 46</i>	Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre la TB pulmonar avanzada.	99
<i>Figura 47</i>	Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre la neumonía en TB pulmonar avanzada.	100
<i>Figura 48</i>	Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos en la expresión de TNF e IL-12 del hipotálamo, hipocampo y corteza frontal en TB pulmonar avanzada.	101
<i>Figura 49</i>	Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos en la conducta de enfermedad en TB pulmonar avanzada.	103
<i>Figura 50</i>	Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre la conducta similar a la ansiedad en TB pulmonar avanzada evaluada en el laberinto elevado en forma de I.	104
<i>Figura 51</i>	Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre la conducta similar a la depresión y daño neurológico en TB pulmonar avanzada.	106
<i>Figura 52</i>	Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre el daño en la memoria en TB pulmonar avanzada.	107
<i>Figura 53</i>	Resumen de resultados del tratamiento con CpdA.	108
<i>Figura 54</i>	Resumen de resultados del tratamiento con DEX IN.	109
<i>Figura 55</i>	Resumen de resultados del tratamiento con CUR.	110
<i>Figura 56</i>	Posibles mecanismos por el que el tratamiento con CpdA causo una disminución en la supervivencia en los animales con TB pulmonar.	113
<i>Figura 57</i>	Posibles mecanismos por el cual el tratamiento con dosis B/DEX disminuyó la carga bacilar y los cambios conductuales en el modelo murino de TB pulmonar.	116

<i>Figura 58</i>	Posibles mecanismos por el cual el tratamiento con dosis CUR disminuyó la carga bacilar y los cambios conductuales en el modelo murino de TB pulmonar	121
------------------	---	-----

CUADROS

		Página
<i>Cuadro 1</i>	Características generales de los miembros del MTBC	2
<i>Cuadro 2</i>	Resumen de la investigación que examina la asociación entre depresión, ansiedad y tuberculosis entre 1981 y principios de 2023.	44
<i>Cuadro 3</i>	Neurological Severity Score (NSS) en ratones.	66
<i>Cuadro 3</i>	Secuencias de los primers utilizados para evaluar la expresión génica	68

Abstract

Tuberculosis is an important infectious disease and a public health problem. The organs most frequently affected by tuberculosis are the lungs; despite this, it has been reported that tuberculosis patients suffer from depression and anxiety that have been attributed to social factors such as perception of illness severity, social stigma, poverty, social isolation, and habits like alcoholism, smoking and drug addiction. Previously in our laboratory, we observed that the extensive pulmonary inflammation characteristic of tuberculosis with high cytokine production induces neuroinflammation and behavioural abnormalities in the absence of brain infection. In the present work, we observed that this was related to an increase in the levels of p38 and JNK, and neuronal death and neurodegeneration. Therefore, then we aimed to reduce the neuroinflammation and avoid the psycho-affective disorders shown during pulmonary tuberculosis. Glucocorticoids are the first-line treatment for neuroinflammation; however, their systemic administration generates various side effects, mostly aggravating pulmonary tuberculosis due to immunosuppression of cellular immunity. Intranasal administration is a route that allows drugs to be released directly into the brain through the olfactory nerve, reducing their doses and side effects. Compound A (CpdA) is a selective glucocorticoid receptor activator, which retains the therapeutic potential of glucocorticoids, but with fewer adverse effects. Curcumin is a natural product with antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities. In the present work, dexamethasone's intranasal administration was evaluated in BALB/c mice infected with drug-sensitive mycobacteria (strain H37Rv) comparing three different doses (0.05, 0.25 and 2.5 mg/kg BW) on lung disease evolution, neuroinflammation and behavioural alterations. Low doses of dexamethasone significantly decreased neuroinflammation, improving behavioural status without aggravating lung disease. The results obtained in this experimental study demonstrated the effectiveness of low doses of glucocorticoids intranasal administration as a new therapy to control neuroinflammation in chronic infectious diseases, such as pulmonary tuberculosis. When evaluating the effect of intranasal treatment with CpdA on pulmonary tuberculosis, we observed an increase in the bacillary load in the lung and in the brain and a decrease in the survival of the animals, so it was no longer used to treat neuroinflammation. Furthermore, using a TB mice model, we evaluated curcumin's effect on mycobacteria's growth control and the anti-inflammatory effect in the brain. The results have shown that curcumin decreased lung bacilli load and pneumonia and improved the survival of infected animals. Finally, curcumin significantly decreased

neuroinflammation, and increased the nuclear factor erythroid 2-related to factor 2 and the brain-derived neurotrophic factor levels, improving behavioural status. These results suggest that curcumin has a bactericidal effect and can control pulmonary mycobacterial infection and reduce neuroinflammation. It seems that curcumin has a promising potential as adjuvant therapy in tuberculosis treatment.

Resumen

La tuberculosis es una importante enfermedad infecciosa y un problema de salud pública actual. Los órganos más frecuentemente afectados por la tuberculosis son los pulmones; aunado a esto, se ha documentado que los pacientes con tuberculosis sufren de depresión y ansiedad, padecimientos que se han atribuido a factores sociales, como el estigma social, la pobreza, el aislamiento social, la percepción de la severidad de la enfermedad y hábitos como el alcoholismo, el tabaquismo y drogadicción. Previamente, en nuestro laboratorio observamos que la extensa inflamación pulmonar característica de la tuberculosis induce neuroinflamación y anomalías conductuales en ausencia de infección cerebral. En el presente trabajo observamos que esto estaba relacionado con un aumento en los niveles de p38 y JNK, y muerte neuronal y neurodegeneración. Debido a esto, posteriormente evaluamos tres diferentes estrategias experimentales para disminuir la neuroinflamación y evitar los trastornos conductuales que se presentan en un modelo murino de tuberculosis pulmonar experimental. Los glucocorticoides son el tratamiento de primera línea para la neuroinflamación; sin embargo, su administración sistémica genera diversos efectos secundarios, principalmente el agravamiento de la tuberculosis pulmonar por inmunosupresión de la inmunidad celular. La administración intranasal es una vía que permite liberar los fármacos directamente en el Sistema Nervioso Central a través del nervio olfativo, reduciendo sus dosis y efectos secundarios. El compuesto A (CpdA) es un activador selectivo del receptor de glucocorticoides, que conserva el potencial terapéutico de los glucocorticoides, pero con menos efectos adversos. La curcumina es un producto natural con actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antibacterianas. En el presente trabajo se evaluó la administración intranasal de dexametasona en ratones BALB/c infectados con *Mycobacterium tuberculosis* sensible a fármacos (cepa H37Rv) comparando tres dosis diferentes (0.05, 0.25 y 2.5 mg/kg de peso corporal) sobre la evolución de la enfermedad pulmonar, la neuroinflamación y las alteraciones conductuales. Las dosis bajas de dexametasona administradas de forma intranasal redujeron significativamente la neuroinflamación, mejorando el estado conductual sin agravar la enfermedad pulmonar de los animales. Los resultados obtenidos en este estudio indican la efectividad de la administración de dosis bajas de glucocorticoides de manera intranasal como una nueva terapia para controlar la neuroinflamación en enfermedades infecciosas crónicas, como la tuberculosis pulmonar. Al evaluar el efecto del tratamiento intranasal con CpdA sobre la tuberculosis pulmonar observamos aumento de carga bacilar en el pulmón y en el cerebro y una disminución de

la supervivencia de los animales, por lo que ya no se utilizó para tratar la neuroinflamación. Por otro lado, evaluamos el efecto de la curcumina en el control del crecimiento de micobacterias y el efecto antiinflamatorio en el Sistema Nervioso Central en el mismo modelo experimental. Los resultados mostraron que el tratamiento con curcumina disminuyó la carga de bacilar en el pulmón y el área afectada por neumonía y mejoró la supervivencia de los animales infectados. Finalmente, la curcumina disminuyó significativamente la neuroinflamación, aumentó los niveles del factor nuclear Nrf2 y el factor neurotrófico BDNF, mejorando el estado conductual de los animales infectados. Estos resultados sugieren que la curcumina tiene un efecto bactericida y puede controlar la infección micobacteriana pulmonar y reducir la neuroinflamación.

**ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA
DISMINUIR LA NEUROINFLAMACIÓN
EN UN MODELO DE TUBERCULOSIS
PULMONAR**

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

***DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOQUÍMICAS***

I. INTRODUCCIÓN

1. TUBERCULOSIS

La Tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa causada principalmente por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, un patógeno que afecta los pulmones, lo que lleva al desarrollo de TB pulmonar. Además, todos los demás órganos y tejidos, incluidos los ganglios linfáticos, el cerebro, los riñones y la columna vertebral, pueden verse afectados (Rahlwes *et al.*, 2023). La TB es de gran importancia para la humanidad por la magnitud de la morbilidad y la mortalidad que ha generado desde el comienzo de la civilización humana (Migliori *et al.*, 2022). La TB es la principal causa de muerte en la historia de la humanidad. Se estima que ha causado 1.000.000.000 de muertes en los últimos 200 años (Cardona *et al.*, 2022).

Es una infección granulomatosa crónica, a menudo asociada con una condición médica subyacente, como desnutrición, cáncer, diabetes, daño renal, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) o coinfecciones virales como coronavirus. Se presenta en adultos y niños. Los niños menores de 5 años tienen un alto riesgo de progresión de la enfermedad (Rahlwes *et al.*, 2023). Es una enfermedad con alta prevalencia en países de bajos y medianos ingresos y la mortalidad por TB se concentra en los niños, con el 80% de las muertes por TB infantil en menores de 5 años (Holmberg *et al.*, 2019).

La TB es causada por bacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), en particular *M. tuberculosis* y *M. africanum*. El origen de contagio son los individuos con TB activa, que expulsan micobacterias en sus secreciones respiratorias (González-Martin, 2014).

1.1 Agente causal

1.1.1 Género *Mycobacterium*

El agente etiológico de la TB fue descrito en 1882 por el alemán Robert Koch y lo designó *Tuberkelbazillus* (Grange, 2009). Posteriormente, fue nombrado *M. tuberculosis* en 1896 por Lehmann y Neumann (Grange, 2009). El orden de los Actinomycetales incluye la familia *Mycobacteriaceae*, *Actinomycetaceae*, *Streptomycetaceae* y *Nocardiaceae*. La familia *Mycobacteriaceae* contiene el género *Mycobacterium*. El género *Mycobacterium* alberga un total de 169 especies distintas, se divide en tres grupos principales que son el MTBC, *M. leprae* y micobacterias no tuberculosas (NTM) (Dorransoro *et al.*, 2007). Las bacterias

pertenecientes al género *Mycobacterium* son bacilos aerobios con crecimiento lineal o ramificado (González-Martin, 2014). *Mycobacterium* significa hongo-bacteria debido a la apariencia de los cultivos, que asemejan a los hongos. En su morfología, cuentan con una pared celular de naturaleza lipídica que contiene lípidos y glucolípidos, como el ácido micólico; los cuales les confieren acidorresistencia, es decir, la capacidad para retener colorantes después del tratamiento con ácido y alcohol (Grange, 2009). Los lípidos de la pared celular comprenden el 40 % de la masa total de la célula (Koch & Mizrahi, 2018).

1.1.2 Complejo *Mycobacterium Tuberculosis*

El MTBC lo forman un grupo de micobacterias con >95% de homología en su DNA. Está compuesto por *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettii*, *M. pinnipedii*, *M. caprae*, *M. orygis* y *M. mungi*. Es probable que todos los miembros modernos del complejo *M. tuberculosis* hayan evolucionado a partir de un ancestro común hace 15.000-20.000 años (Kanabalan *et al.*, 2021). En el Cuadro 1 se muestra una descripción general de las características de los miembros de MTBC (Kanabalan *et al.*, 2021).

Cuadro 1. Características generales de los miembros del MTBC, los cuales afectan a una variedad alta de anfitriones (Kanabalan *et al.*, 2021).

Espece MTBC	Característica
<i>M. tuberculosis</i>	Especie más común. Infecta a más de 1/4 de la población humana. Capaz de infectar animales que están en contacto con humanos
<i>M. canettii</i>	Estrecha relación con <i>M. tuberculosis</i> .
<i>M. africanum</i>	También puede causar TB humana. Generalmente aislada de pacientes africanos
<i>M. bovis</i>	Muestra el espectro más amplio de infección del anfitrión. Afecta a cabras domésticas o salvajes, bovinos y humanos.
<i>M. bovis var BCG</i>	Forma mutante seleccionada de <i>M. bovis</i> en laboratorio. Única vacuna utilizada para la prevención de la TB durante la primera infancia
<i>M. caprae</i>	Aislada de cabras.
<i>M. microti</i>	Patógeno de roedores. Generalmente aislado de topillos (roedores del género <i>Microtus</i> o géneros relacionados). Puede provocar enfermedad, especialmente en pacientes humanos inmunodeprimidos.
<i>M. pinnipedii</i>	Infecta focas.
<i>M. mungi</i>	El agente causante de la TB en la mangosta anillada (<i>Mungo Mungo</i>).
<i>M. orygis</i>	Afecta a los mamíferos más grandes, como los antílopes, el antílope acuático, los orixes y las gacelas del continente africano.

1.1.3 *Mycobacterium Tuberculosis*

M. tuberculosis es el agente etiológico de la TB en humanos, es una bacteria intracelular facultativa de crecimiento lento, aerobio obligado; que infecta células fagocíticas, incluidos macrófagos y neutrófilos. *M. tuberculosis* es una bacteria no gram-positiva ni gram-negativa, es acidorresistente identificable por tinción de Ziehl-Neelsen (Figura 1) (Koch & Mizrahi, 2018). Aproximadamente el 10% del genoma comprende genes de las familias Prolina-Ácido Glutámico (PE) y Prolina-Prolina-Ácido Glutámico (PPE) que codifican antígenos implicados en la evasión inmunitaria y la inmunopatogénesis. *M. tuberculosis* evita la eliminación por los macrófagos deteniendo el proceso de activación de los macrófagos (Koch & Mizrahi, 2018).

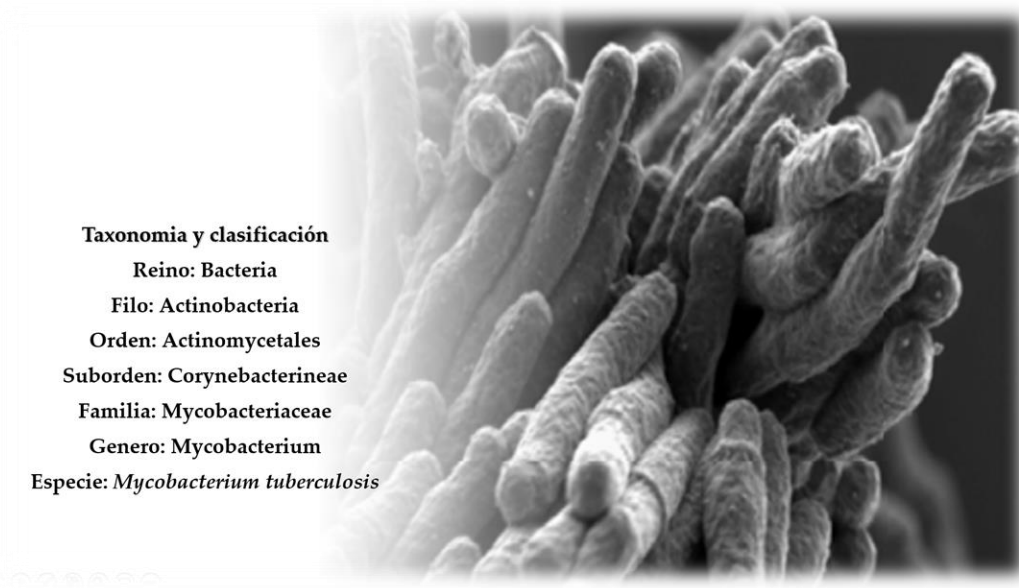


Figura 1. Taxonomía y clasificación de *Mycobacterium tuberculosis*. *M. tuberculosis*, el agente causal de la TB en humanos, pertenece al género *Mycobacterium* de la familia *Mycobacteriaceae*. La imagen de la derecha muestra una fotografía de *M. tuberculosis* adquirida con un microscopio electrónico de barrido. Se observa la forma cilíndrica de los bacilos (Modificado de Koch & Mizrahi, 2018).

1.2 Epidemiología

1.2.1 *Panorama mundial*

Actualmente, después de más de un siglo del descubrimiento de su agente causal, seguimos ante una epidemia mundial y enfrentamos el reto de detenerla. Antes de la pandemia causada por el SARS-Cov2 en 2019 (COVID-19), la TB era la principal causa de muerte por un solo agente infeccioso, ubicándose por encima del VIH/SIDA (Organización Mundial de la Salud, 2022). Se considera que aproximadamente una

cuarta parte de la población mundial está infectada por *M. tuberculosis*; cada individuo con TB infecciosa no tratada, puede en promedio, infectar a 10 personas cada año (Watt *et al.*, 2009). Es importante mencionar que la pandemia de COVID-19 ha revertido años de progreso en la prestación de servicios esenciales de TB, lo cual ha derivado en una disminución mundial en el número de personas recién diagnosticadas con TB y la continuidad de los tratamientos anti-TB. El acceso reducido al diagnóstico y tratamiento de la TB ha dado lugar a un aumento de las muertes por esta enfermedad, ya que en el año 2021 se presentaron 1,6 millones de muertes por TB (Figura 2) (Organización Mundial de la Salud, 2022).

En el 2021 10.6 millones de personas se enfermaron con TB, la mayoría se encontraban en las regiones del Sudeste Asiático (45 %), África (23 %) y el Pacífico Occidental (18 %). Los países con mayor incidencia de TB fueron: India (28 %), Indonesia (9,2 %), China (7,4 %), Filipinas (7,0 %), Pakistán (5,8 %), Nigeria (4,4 %), Bangladesh (3,6 %) y República Democrática del Congo (2,9 %) (Organización Mundial de la Salud, 2022).

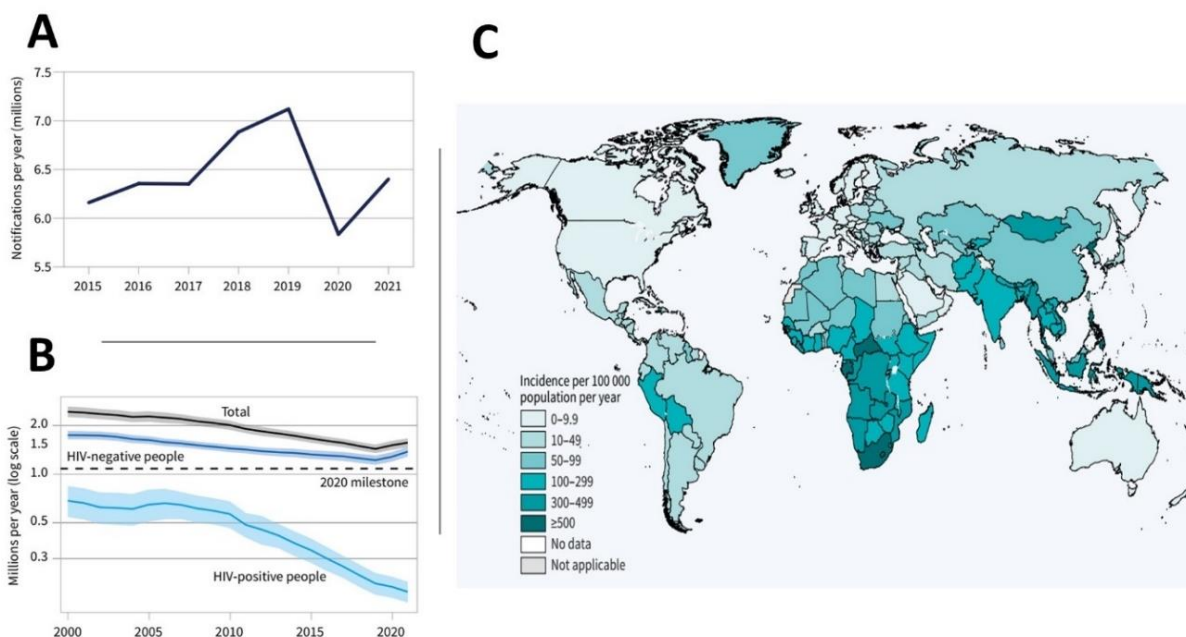


Figura 2. Situación actual de la TB en el mundo. **(A)** Tendencia en las notificaciones de casos de personas con diagnóstico reciente de TB del año 2016 al 2021. **(B)** Tendencia mundial en el número estimado de muertes causadas por TB y VIH, 2000-2021. **(C)** Incidencia mundial de TB (Organización Mundial de la Salud, 2022).

1.2.2 Situación en México

Similar al resto del mundo, en México, hasta octubre de 2020, cerca del 30% de los casos de TB no fueron detectados (Sánchez-Pérez *et al.*, 2021). En el año 2021 hubo 32,000 casos nuevos de TB, con una tasa de 25 casos por 100,000 habitantes y una mortalidad de 4,800 personas (Organización Mundial de la Salud, 2023) (Figura 3).

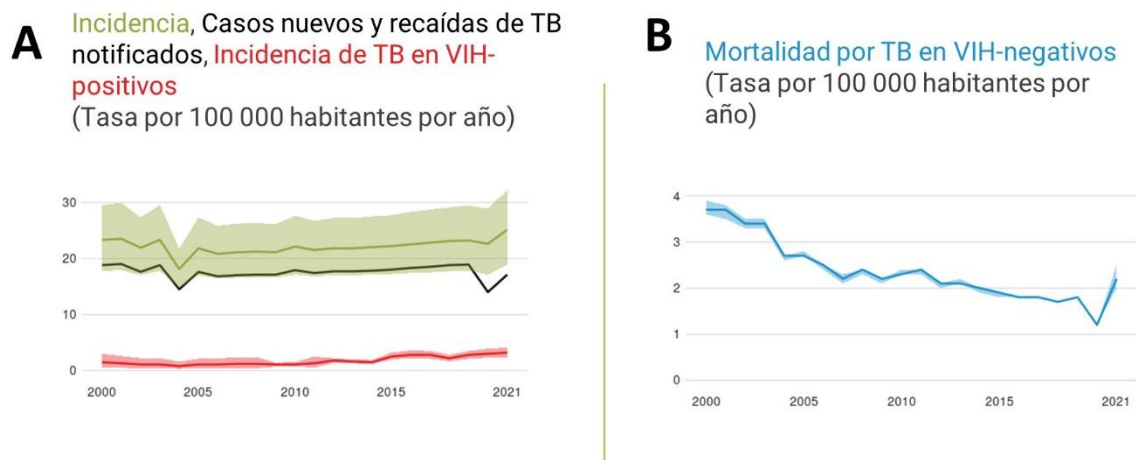


Figura 3. Situación actual de TB en México. (A) Casos registrados de TB pulmonar en México entre el 2000 y el 2021. (B) Mortalidad de la TB en México en el 2021 (Organización Mundial de la Salud, 2023).

1.3 Transmisión de la TB

La TB es una enfermedad transmitida por vía aérea: los bacilos se transmiten a los individuos cuando estos inhalan núcleos de gotitas de dimensiones que oscilan entre 1 y 5 μm provenientes de las personas contagiosas que tosen, hablan, cantan o estornudan (Migliori *et al.*, 2019), siendo la tos la más eficaz para generar aerosoles infecciosos (Churchyard *et al.*, 2017). Los contactos cercanos de casos de TB son susceptibles de infectarse y, de progresar a TB activa, particularmente durante el primer año después de la exposición (Migliori *et al.*, 2021). El proceso de transmisión de la TB consta de una serie de acontecimientos en cascada. (1) Un caso fuente de TB (2) genera partículas infecciosas (3) que sobreviven en el aire y (4) son inhaladas por un individuo susceptible (5) que puede infectarse y (6) que luego tiene el potencial de desarrollar TB (Figura 4) (Churchyard *et al.*, 2017). En la mayoría de los casos se produce la eliminación de *M. tuberculosis*, o se controla dando como resultado una infección latente (LTBI) sin síntomas visibles de enfermedad activa (Kolloli & Subbian, 2017). Sin embargo, puede producirse una infección que progrese a la forma activa de TB (Migliori *et al.*, 2021).

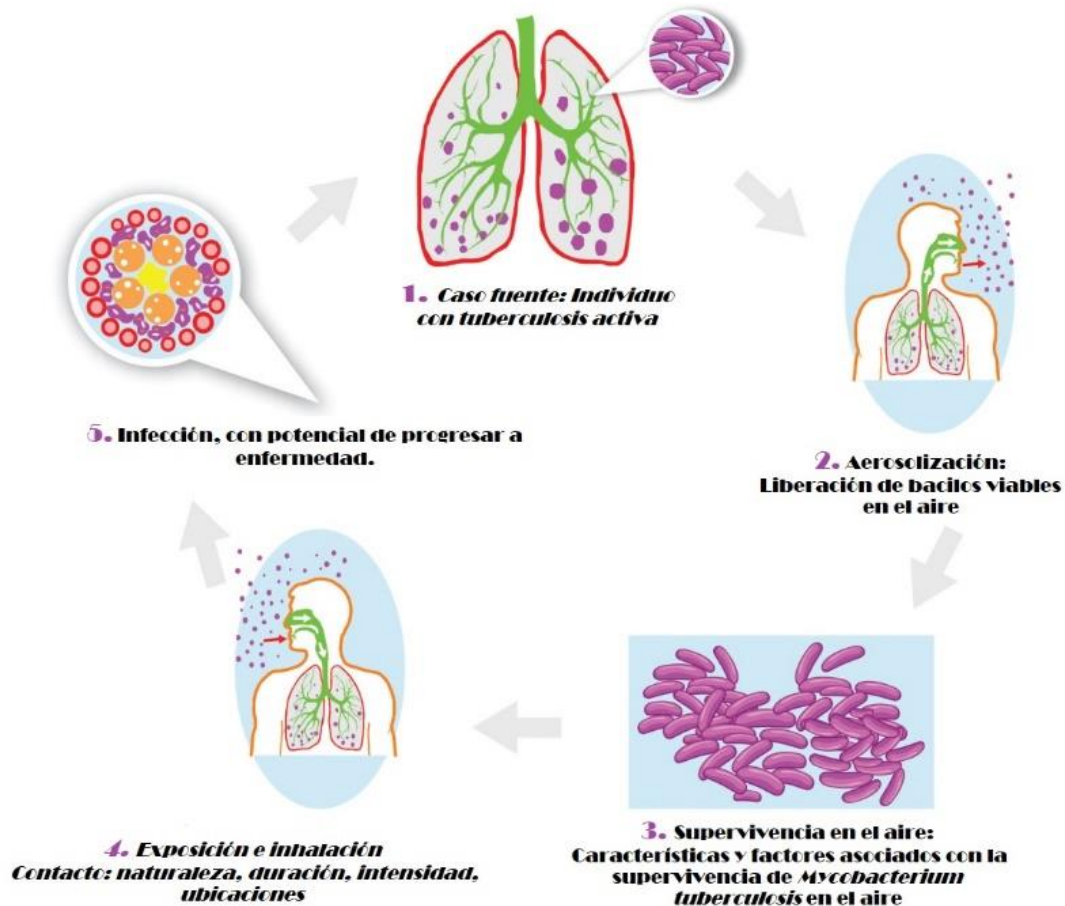


Figura 4. Cascada de transmisión de la TB (Modificado de Churchyard *et al.*, 2017). La transmisión de la infección comienza en un individuo con TB activa que libera aerosoles con bacilos viables que infectan a un anfitrión susceptible.

1.4 Características clínicas de la TB

La TB clínica se clasifica en dos importantes entidades fisiopatológicas: TB «primaria», que es la que aparece en un anfitrión no inmunizado, y TB «secundaria», que es la que afecta a anfitriones ya inmunes a *M. tuberculosis* (Figura 5) (Kumar *et al.*, 2015).

1.4.1 TB Primaria

La TB primaria se presenta en un individuo no expuesto previamente a *M. tuberculosis* y por tanto, no sensibilizado. Aproximadamente un 5% de las personas infectadas por primera vez desarrollan la enfermedad de forma clínicamente activa (Kumar *et al.*, 2015). En la TB primaria, *M. tuberculosis* proviene de una fuente exógena. La infección primaria es controlada por la mayoría de los individuos, aunque en algunos la TB primaria es progresiva. El diagnóstico de la TB primaria progresiva en adultos puede resultar difícil.

La TB primaria progresiva se asemeja a una neumonía bacteriana aguda, con consolidación lobular, adenopatía hiliar y derrame pleural. La diseminación linfohematógena que sigue a la infección primaria puede provocar meningitis tuberculosa y TB miliar (cuando la infección se ha diseminado a otros órganos del cuerpo a través de la sangre o linfa) (Kumar *et al.*, 2015).

1.4.2 TB Secundaria

La TB secundaria se presenta en un anfitrión previamente sensibilizado. Puede manifestarse poco tiempo después de la TB primaria, pero es más frecuente que aparezca años después de la infección inicial, por lo general cuando los mecanismos de defensa del anfitrión se ven debilitados, en individuos de edad avanzada o inmunodeprimidos (Kumar *et al.*, 2015). Por lo general, es consecuencia de la reactivación de infección latente (en zonas de baja prevalencia), pero también puede ser debida a una reinfección de origen exógeno (zonas en que los contagios son más frecuentes) en la que *M. tuberculosis* aprovecha la debilidad inmunitaria del anfitrión, así como a un inóculo muy grande de bacilos virulentos capaces de sobrepasar la respuesta inmune del anfitrión (Kumar *et al.*, 2015).

La TB pulmonar secundaria afecta típicamente al vértice de los lóbulos superiores de uno o ambos pulmones. Al existir hipersensibilidad previa, los bacilos desencadenan una respuesta tisular rápida y contundente dirigida a tabicar el foco de infección. En consecuencia, los ganglios linfáticos regionales no desempeñan un papel tan destacado en las primeras fases de la enfermedad secundaria como en el caso de la TB primaria (Kumar *et al.*, 2015). Por el contrario, en la forma secundaria, la cavitación aparece rápidamente. De hecho, la cavitación es característica en la TB secundaria no tratada, y la apertura de las cavidades a las vías aéreas hace que el paciente se convierta en un importante foco de infección, ya que los esputos que expulsa a partir de ese momento contendrán bacterias (Kumar *et al.*, 2015).

La TB secundaria localizada puede ser asintomática. Cuando no es así, las manifestaciones clínicas se presentan de forma gradual. En las primeras fases suelen aparecer síntomas sistémicos (malestar, anorexia, pérdida de peso y fiebre), relacionados con las citocinas secretadas por los macrófagos activados (Factor de necrosis tumoral [TNF] e IL-1) (Kumar *et al.*, 2015). Habitualmente, la fiebre es baja e intermitente (apareciendo a última hora cada tarde y luego remitiendo), y el paciente presenta sudoración nocturna. Al agravarse el daño del pulmón, se expulsa más esputos,

inicialmente mucoides y luego purulentos. En aproximadamente la mitad de los casos de TB pulmonar se observa hemoptisis. Se presenta dolor pleurítico debido a la extensión de la infección a las superficies pleurales (Kumar *et al.*, 2015).

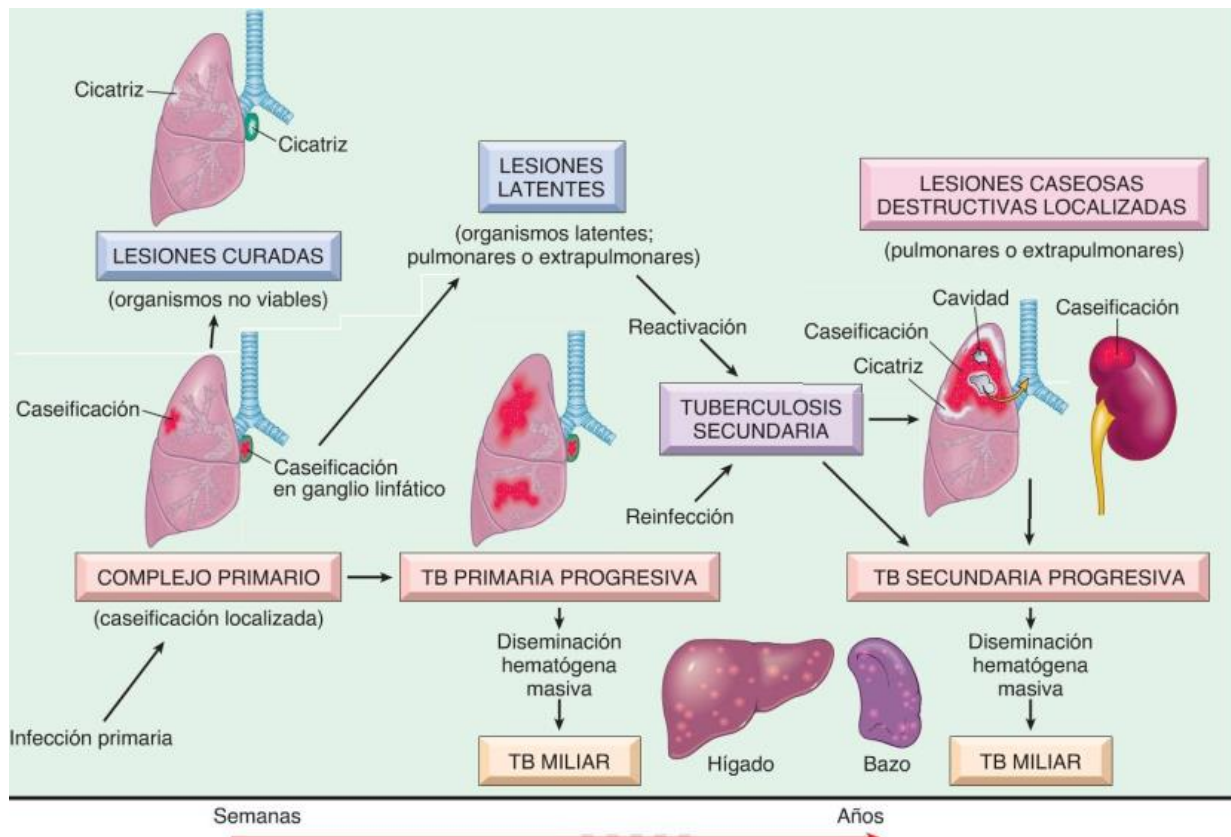


Figura 5. Evolución natural y espectro de TB (Kumar *et al.*, 2015). La TB clínica se clasifica en TB primaria (primer encuentro con *M. tuberculosis*) y TB secundaria (reactivación o reinfección).

1.5 Respuesta inmune en la TB

La respuesta inmunológica en la TB pulmonar es el resultado de la compleja interacción entre diversas células y moléculas de la respuesta inmune innata y adaptativa, misma que está influenciada por factores genéticos y ambientales tanto de la bacteria como del anfitrión (Figura 6) (Ramos-Espinosa *et al.*, 2018).

1.5.1 Respuesta inmune innata

El establecimiento exitoso de la infección por *M. tuberculosis* depende en gran medida de la interacción temprana con las células inmunes innatas del anfitrión, como los macrófagos (Mφs), las células dendríticas (DC), los neutrófilos y las células asesinas naturales (NK) (Liu *et al.*, 2017). Estas células inmunes expresan una variedad de

receptores de reconocimiento de patrones (PRR), como los receptores tipo Toll (TLR), los receptores tipo Nod (NLR), los receptores de lectina tipo C (CLR) y GMP-AMP sintasa cíclica (cGAS)/estimulador de genes de interferón (STING), los cuales han sido implicados en el reconocimiento e internalización de *M. tuberculosis* (Killick *et al.*, 2013; Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021). Estos receptores participan en el inicio de diversos mecanismos celulares innatos asociadas a la defensa inmunitaria, como la fagocitosis, la autofagia, la apoptosis y la activación del inflamasoma (Lerner *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2016).

1.5.1.1 Células inmunes innatas en el control de la TB

Los principales tipos de células inmunitarias innatas implicadas en la infección por *M. tuberculosis* son Mφs, DC, neutrófilos y células NK (Liu *et al.*, 2017).

- Mφs

Los Mφs están programados para detectar patógenos invasores, activar mecanismos microbicidas y coordinar la respuesta inmune subsecuente (Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021). Los Mφs tienen una función central en la patogénesis de las micobacterias, ya que son el nicho celular principal de *M. tuberculosis* tanto en la infección temprana y como en la crónica (McClean & Tobin, 2016). Los Mφs pueden eliminar a *M. tuberculosis* a través de múltiples mecanismos, que incluyen la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y citocinas, producción de péptidos antimicrobianos, la acidificación del fagosoma y la autofagia de *M. tuberculosis* intracelular (Liu *et al.*, 2017).

M. tuberculosis es fagocitado por los Mφs alveolares (MAs), que son las primeras células en encontrar el patógeno y reclutar diferentes tipos de Mφs, como los Mφs derivados de monocitos, durante la infección temprana (Liu *et al.*, 2017). Los Mφs activados de las vías respiratorias desempeñan una función crucial en el control temprano de *M. tuberculosis* (Morrison & McShane, 2021). El reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) de *M. tuberculosis* (como glicolípidos, lipoproteínas y carbohidratos) por los PRR de los Mφs (como TLR, NLR y CLR) induce vías de señalización coordinadas que conducen a una diversa expresión génica (Interferon Gamma [IFN-γ], Interleucina-12, IL-1β y la proteína inflamatoria de Mφs-1α (MIP-1α/CCL3) como respuesta defensiva contra la infección de *M. tuberculosis* (Killick *et al.*, 2013).

En un tejido sano como la mucosa pulmonar, los macrófagos residentes son principalmente anti-inflamatorios. Dependiendo del microambiente celular, se pueden

presentar diferentes subpoblaciones de Mφs, las cuales tienen funciones distintas en el control de la infección de *M. tuberculosis*. En este contexto, los Mφs tipo 1 (M1), inducidos por estímulos microbianos (LPS) o citocinas (IFN-γ, TNF y el Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos [GM-CSF]), son efectores clave de la respuesta del anfitrión contra infecciones por bacterias intracelulares y producen citocinas inmunoestimuladoras (Liu *et al.*, 2017). Por el contrario, los Mφs M2 activados alternativamente, que son células presentadoras de antígenos deficientes y supresores de las respuestas Th1, son inducidos por IL-4 e IL-13, así como por IL-10 y el factor de crecimiento transformante beta (TGF-β). Los Mφs M2, mantienen el equilibrio entre la patología exacerbada y el control del crecimiento de micobacterias (Liu *et al.*, 2017). Otras células inmunitarias que exhiben una función supresora y regulan la infección e inflamación asociada con la TB son las células mieloides supresoras (MDSC), que representan una población de células inmunitarias innatas CD15+G-MDSC granulocíticas y CD14+M-MDSC monocíticas que suprimen las respuestas de las células T a través de la secreción de IL-10 y TGF-β (Morrison & McShane, 2021).

- DC

Las DC son las células presentadoras de antígenos profesionales más potentes para activar las células T vírgenes, una fuente importante de IL-12 y son células altamente eficientes para inducir respuestas inmunitarias antimicrobianas y antitumorales (Mihret, 2012). Las DC desempeñan un papel central en la presentación de antígenos de *M. tuberculosis* y, por lo tanto, son fundamentales para unir la inmunidad innata y adaptativa. Las DC incrementan la respuesta inmunitaria celular contra la infección por micobacterias (Mihret, 2012). En la etapa temprana de la respuesta inflamatoria contra *M. tuberculosis*, DC inmaduras presentes en la mucosa pulmonar están especializadas para la captación y procesamiento de antígenos. Las DC humanas derivadas de monocitos expresan receptores de manosa (MR) y la nonintegrina capturadora de ICAM específica de CD (DCSIGN), que son capaces de reconocer ligandos de *M. tuberculosis* (Liu *et al.*, 2017). Después de interactuar con los patógenos, maduran y migran a los ganglios linfáticos regionales donde activan las células T CD4⁺ y CD8⁺ a través de la expresión en la superficie celular de moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) y moléculas coestimuladoras y la secreción de citocinas inmunorreguladoras como IL-12 (Mihret, 2012; Kolloli & Subbian, 2017).

- Neutrófilos

Los neutrófilos son las primeras células que se infiltran en los pulmones después de la infección por *M. tuberculosis* y son el tipo celular más abundante que aparece en el lavado bronco alveolar y el esputo de los pacientes con TB pulmonar activa (Liu *et al.*, 2017). Estas células tienen una función muy compleja en la patología de la TB. Su reclutamiento al pulmón y sus funciones patológicas están reguladas por diversas citocinas, quimiocinas, alarminas (como las proteínas S100A8/A9) y micro ARNs (miARN) expresados intrínsecamente (como el miR-223). Los factores liberados por los neutrófilos durante el estallido respiratorio, como la elastasa, la colagenasa y la mieloperoxidasa, dañan indiscriminadamente tanto las células bacterianas y como las del anfitrión. Por tanto, los neutrófilos constituyen una potente población de células efectoras que pueden mediar tanto en la actividad antimicrobiana como en la inmunopatología durante la infección por *M. tuberculosis* (Liu *et al.*, 2017). El potencial de los neutrófilos para liberar enzimas que conducen a la destrucción del parénquima pulmonar, como la arginasa y la metaloproteínasa de la matriz 9 (MMP-9/ gelatinasa B), es compartido por otras células inmunes innatas y células epiteliales afectadas por *M. tuberculosis*. Además, los neutrófilos participan en la inducción de la inmunidad adaptativa y son fundamentales para la cavitación del granuloma durante la infección por *M. tuberculosis*. Igualmente, los neutrófilos apoptóticos y los gránulos de neutrófilos, los cuales contienen péptidos antimicrobianos activos, pueden ser internalizados por Mφs y conducir a la inhibición de la replicación bacteriana (Liu *et al.*, 2017).

- Células asesinas naturales (NK)

Las células NK son linfocitos innatos granulares con capacidad citolítica. Las células NK actúan temprano durante la infección y no están restringidas por MHC (Liu *et al.*, 2017). Varios componentes de la pared celular de *M. tuberculosis*, como los ácidos micólicos, son ligandos directos del receptor de citotoxicidad natural (NCR) NKp44 en las células NK. Las células NK tienen la capacidad de lisar monocitos infectados y reducir el crecimiento intracelular de *M. tuberculosis* (Liu *et al.*, 2017). Las células NK son necesarias para la resistencia a las micobacterias en individuos con deficiencia de células T, lo que sugiere un papel importante de las células NK en la lucha contra la infección por *M. tuberculosis* en individuos inmunodeprimidos (Liu *et al.*, 2017). Estas células controlan el crecimiento de micobacterias indirectamente a través de la activación de Mφs y directamente a través de mecanismos citotóxicos, incluida la producción de gránulos citoplasmáticos que

contienen perforina, granulicina y granzima. Además, las células NK pueden producir IFN- γ e IL-22, que pueden inhibir el crecimiento intracelular de *M. tuberculosis* al mejorar la fusión fagolisosómica (Liu *et al.*, 2017).

- Células linfoides innatas

Las células linfoides innatas (ILCS) median la inmunidad protectora en una variedad de tejidos, incluidos los pulmones. Las ILC activadas proliferan en los pulmones después de la vacunación con el Bacilo de Calmette-Guérin (BCG) en las mucosas y provocan un aumento de los niveles de producción de IFN- γ (Morrison & McShane, 2021).

Las ILC del grupo 3 (ILC3) tienen una funcionalidad similar a las células Th-17, incluida la producción de IL-17 e IL-22 (Morrison & McShane, 2021). Se ha demostrado que las ILC3 regulan positivamente la IL-22 y el GM-CSF después de una infección por *M. tuberculosis* y mejoran la fusión fagolisosómica que conduce a la inhibición del crecimiento de las micobacterias (Morrison & McShane, 2021). Las ILC3 proliferan en los pulmones de individuos infectados con *M. tuberculosis*, lo que conduce a una acumulación temprana de MAs. La pérdida de ILC3 conduce a una disminución en el reclutamiento de MAs dentro del pulmón y una mayor carga micobacteriana durante la infección por *M. tuberculosis* (Morrison & McShane, 2021).

1.5.1.2 Citocinas de la inmunidad innata

La respuesta de citocinas innatas es fundamental para determinar la respuesta inmune adquirida posterior, que es esencial para el control de patógenos una vez que se establece la infección (Divangahi, 2013).

- TNF

El TNF fue una de las primeras citocinas asociadas con la TB y es crucial para el control de la infección. Los M ϕ s y las DC son los principales productores de TNF durante la infección; aunque también es producido abundantemente por las células T CD4⁺ (Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021). El TNF es importante para la formación, estructura e integridad de los granulomas, sin embargo, el exceso de TNF puede conducir a un aumento de la muerte celular de los M ϕ s, lo que promueve la hiperinflamación y la muerte del anfitrión (Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021).

- GM-CSF

El GM-CSF estuvo originalmente implicado en la diferenciación de células mieloides y granulocitos. Sin embargo, los ratones que carecen del gen GM-CSF, *Csf2*, presentan mielopoyesis normal, pero carecen de MAs (Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021). Se ha observado que los niveles de GM-CSF aumentan en los pulmones al menos 60 días después de la infección por *M. tuberculosis*, y en ausencia de *Csf2* hay mayor susceptibilidad a la infección por *M. tuberculosis*, aumento en la mortalidad del anfitrión. Esto debido a un defecto en la producción de citocinas y quimioquinas inflamatorias en respuesta a la infección, lo que da como resultado un reclutamiento deficiente de células mieloides y células T en los pulmones y, por ende, un aumento en la carga bacteriana en el pulmón, lo que sugiere un posible papel antibacteriano del GM-CSF (Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021).

- IL-1

IL-1 α e IL-1 β , miembros de la familia IL-1, son producidas durante la infección por *M. tuberculosis* por M ϕ s, DC y neutrófilos. Desempeñan funciones protectoras críticas y no redundantes en las primeras etapas de la infección, a pesar de la señalización a través del mismo receptor (Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021). Estas dos citocinas tienen un papel importante en la protección contra la infección por *M. tuberculosis*, ya que la ausencia de IL-1 α e IL-1 β tiene un impacto en la morbilidad después de la infección, aumenta la susceptibilidad a la infección y se presenta una mayor carga bacteriana en los pulmones (Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021). Por lo tanto, la producción inicial de IL-1 tras la infección por *M. tuberculosis* es esencial para establecer las respuestas inmunitarias protectoras necesarias para el control de la enfermedad. Por otro lado, IL-1 se ha relacionado con la gravedad de la TB y la inflamación (Winchell *et al.*, 2020). Un exceso de IL-1 se ha relacionado con una mayor afluencia de neutrófilos e inflamación pulmonar, lo que da como resultado una alta carga bacteriana y mortalidad (Divangahi, 2013).

- IL-12

IL-12 es una citocina producida principalmente por DC, crítica para la generación de células T productoras de IFN- γ , esenciales para el control bacteriano (Divangahi, 2013). Deficiencias en las vías de señalización de IL-12 se han asociado con la susceptibilidad humana a la TB, lo que corresponde a una reducción significativa en el número de células T productoras de IFN- γ específicas de antígeno en el pulmón (Divangahi, 2013).

- IL-10

IL-10 es una citocina antiinflamatoria que regula negativamente las respuestas inmunitarias tanto innatas como adaptativas. Los pacientes con TB pulmonar tienen niveles elevados de IL-10 en plasma. La IL-10 tiene un papel dependiente del contexto en la infección; ya que puede contribuir a contener la inflamación perjudicial en el contexto de una posible respuesta hiperinflamatoria, pero también puede dañar al anfitrión al suprimir las respuestas efectoras (Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021).

- TGF- β

El TGF- β es una citocina inmunosupresora que desempeña un papel crucial en la homeostasis inmunitaria y la tolerancia periférica. El TGF- β tiene un efecto supresor sobre las células que desempeñan un papel clave en la regulación de la infección por *M. tuberculosis*, incluidos los M ϕ s, las DC, los neutrófilos y las células T. Durante la infección con *M. tuberculosis* se encuentran niveles altos de TGF- β , y los niveles séricos de TGF- β se correlacionan con la gravedad de la enfermedad. Aunque la producción de TGF- β es crucial para prevenir la hiperinflamación y la autoinmunidad, varias líneas de evidencia sugieren que el TGF- β suprime las respuestas inmunes efectivas a *M. tuberculosis* en detrimento del anfitrión (Ravesloot-Chávez *et al.*, 2021).

1.5.2 Respuesta inmune adaptativa

Después de la infección intracelular, se genera inmunidad adaptativa contra los patógenos invasores mediante la activación de las células T CD4⁺ y las células T CD8⁺. La producción de IFN- γ y quimiocinas recluta células inmunes como neutrófilos, linfocitos T asesinos naturales, linfocitos T CD4⁺ y linfocitos T CD8⁺ en el sitio de la infección, las cuales producen quimiocinas que mejoran el reclutamiento adicional de estas células. La inducción de la respuesta inmunitaria adquirida contra *M. tuberculosis* suele ser lenta y, en muchos casos, cuando se induce una respuesta adaptativa completa, la infección ya está establecida (Kolloli & Subbian, 2017).

1.5.2.1 Células T CD4⁺

Como se mencionó previamente, las DC alveolares participan en el transporte de los antígenos de *M. tuberculosis* al ganglio linfático de drenaje donde activan a las células T CD4⁺ vírgenes. Cuando se presentan antígenos en el contexto del MHC de clase II a las células T CD4⁺ se producen células de tipo Th1, productoras de citocinas proinflamatorias

como IFN- γ y TNF que ayudan a restringir el crecimiento de los bacilos (Kolloli & Subbian, 2017). Por otra parte, los linfocitos Th17/Th22 producen las interleucinas 17A (IL-17A) /IL-17F, IL-21, IL-22 e IL-23 que son cruciales en inducir una respuesta inmunológica celular funcional (García Jacobo *et al.*, 2014). La IL-17A está involucrada en la formación y estabilidad de los granulomas y en la producción de péptidos antimicrobianos, mientras que la IL-17F y la IL-23 ayudan a la expansión local de poblaciones celulares innatas, además de prevenir el agotamiento inmunológico en ellas. Por el contrario, las células T CD4⁺ de tipo Th2 que proliferaron en respuesta a la presentación de péptidos mediada por MHC de clase II producen principalmente citocinas IL-4, IL-5 e IL-10 e inducen una respuesta inmune de tipo antiinflamatorio. Estas citocinas y factores como TGF- β y la prostaglandina E2 (PGE2), producidos por células Th2, células T reguladoras (Tregs), células Th3 y macrófagos, juegan un papel importante en la inducción de inmunosupresión para favorecer la persistencia de *M. tuberculosis*. El efecto de la PGE2 puede deberse, al menos en parte, a la inducción del tipo de macrófago M2 (Hussain & Mukhopadhyay, 2015; Kolloli & Subbian, 2017). Muchos estudios indican que los bacilos de *M. tuberculosis* suprimen las citocinas proinflamatorias como IL-12 e IFN- γ y activan la producción de citocinas antiinflamatorias y desvían la respuesta inmune antimicrobiana de la protección Th1 a la no protectora de tipo Th2 (Kolloli & Subbian, 2017).

1.5.2.2 Células T CD8⁺

Las células T CD8⁺ activadas por las células presentadoras de antígenos (APC) que presentan antígenos en el contexto del MHC de clase I participan en la eliminación de *M. tuberculosis* durante las primeras etapas de la infección. Se ha demostrado que la presentación cruzada de antígenos de *M. tuberculosis* junto con moléculas del MHC de clase I da como resultado la activación de las células T CD8⁺. Poco después de la exposición a *M. tuberculosis*, las células T CD8⁺ migran al tejido infectado para producir IFN- γ donde participan en la inducción del proceso de apoptosis en células infectadas por *M. tuberculosis*, a través de la liberación de sus gránulos que contienen perforina, granzimas y granulosidad, así como por la interacción de su ligando de Fas con el receptor Fas de las células infectadas (Lin & Flynn, 2015). Al igual que los linfocitos T CD4⁺, los linfocitos T CD8⁺ son capaces de producir IL-2, IFN- γ y TNF, citocinas críticas en la activación de macrófagos, por lo que la migración de estas células es característica de la formación de granulomas (Hussain & Mukhopadhyay, 2015).

1.5.2.3 Linfocitos B

La evidencia emergente sugiere que las células B y la inmunidad humoral pueden regular la respuesta inmune a varios patógenos intracelulares, incluido *M. tuberculosis*. Las células B pueden moldear la respuesta inmune modulando las células T a través de una serie de mecanismos basados en la presentación de antígenos y la producción de anticuerpos y citocinas (Kozakiewicz *et al.*, 2013). La producción de anticuerpos específicos contra *M. tuberculosis* puede mediar en la formación de complejos inmunes que pueden modular las funciones de las células efectoras, como las DC y los Mφs. Las células B pueden actuar como células presentadoras de antígenos para participar en la activación, polarización y funciones efectoras de las células T y en el establecimiento de la memoria de las células T (Divangahi, 2013). Recientemente se ha reconocido que tiene un papel crucial protector ya que participan en la formación de granulomas, y sintetizan citocinas y anticuerpos que ayudan a la respuesta celular protectora. Además, los anticuerpos producidos por las células plasmáticas (entre los que destacan la IgG en sangre y la IgA secretora en la mucosa del tracto respiratorio, son capaces de neutralizar directamente a la micobacteria e inducir una respuesta de memoria protectora (Choreño-Parra *et al.*, 2020). En conjunto, estas funciones independientes y dependientes de anticuerpos de las células B desempeñan un papel importante en el control y la eliminación de la micobacteria, así como en el desarrollo de daño tisular y promover la diseminación (Divangahi, 2013).

1.5.2.4 Formación de granulomas

La inflamación granulomatosa es una forma de inflamación crónica caracterizada por cúmulos de macrófagos activados, a menudo con linfocitos T, y a veces asociada a necrosis central (Kumar *et al.*, 2015). En la fase de linfocitos T de la TB pulmonar, se induce una respuesta de hipersensibilidad retardada en el pulmón que conduce a la formación de granulomas. El granuloma se caracteriza morfológicamente por contener un centro de macrófagos infectados el cual es rodeado por un aro intermedio de macrófagos epitelioides, que contiene en menor medida linfocitos NK, células dendríticas, fibroblastos y neutrófilos, así como un aro externo de linfocitos T y B. Al ser una estructura dinámica, las poblaciones celulares pueden ingresar o salir del granuloma generando un alto grado de variabilidad en su morfología (Ramakrishnan, 2012).

La TB se caracteriza por granulomas que contienen un amplio espectro de Mφs transformados, como células gigantes multinucleadas, células epitelioides y células

espumosas (Liu *et al.*, 2017). Los M ϕ s espumosos, que exhiben una capacidad atenuada para mediar en la fagocitosis acompañada de una capacidad de procesamiento de antígenos reducida y una mayor secreción de TGF- β , pueden ser inducidos por múltiples componentes de *M. tuberculosis*, incluidos los ácidos micólicos, los lipopéptidos y el antígeno secretor temprano-6 (ESAT-6) (Liu *et al.*, 2017). En la formación de los granulomas, los MAs tienen un papel crucial, ya que se ha demostrado que ratones a los cuales se les han eliminado los MAs muestran una formación defectuosa de granulomas, sin embargo, se presenta un mayor reclutamiento de otras células fagocíticas y citotóxicas en los pulmones, eliminando de una forma más eficiente a *M. tuberculosis* (Morrison & McShane, 2021).

La función de los granulomas no está clara, pero parece estar ligada con su morfología, así como con los fenotipos de las poblaciones inmunológicas que los conforman, los cuales a su vez se encuentran asociados con el grado de enfermedad en el anfitrión, así como con el microambiente local de citocinas producidas por los linfocitos de la capa externa (Ramos-Espinosa *et al.*, 2018). Un anfitrión infectado puede presentar diferentes tipos de granulomas en el pulmón (Ramakrishnan, 2012). En la mayoría de los casos, esta estructura genera la contención de los bacilos infecciosos y se asocia con un microambiente local conformado por citocinas del fenotipo Th1, Th17 o Th22 (Shen & Chen, 2018). Además, los M ϕ s pueden fusionarse tras la inducción de citocinas como GM-CSF, IFN- γ e (IL)-1, -3, -4 y -6 y formar células gigantes multinucleadas gracias a factores como el calcio y las integrinas. Estas células son una fuente activa de citocinas inflamatorias, contribuyen a la iniciación y al mantenimiento del granuloma, y presentan mayor actividad fagocítica que permite restringir la proliferación de la micobacteria (Rogelio Hernandez-Pando *et al.*, 2000; Lay *et al.*, 2007). Los granulomas con un fenotipo protector son dependientes del estado inmunológico del anfitrión y su morfología e integridad puede alterarse si este desarrolla una inmunodeficiencia secundaria, lo que resultará en la pérdida de contención del bacilo (O'Garra, 2013).

Los granulomas pueden también favorecer la proliferación y propagación de la micobacteria cuando están asociados con marcadores de vulnerabilidad como son una mayor vascularización, así como una reducción en su tamaño y en el grado de fibrosis que presentan (Hernández-Pando *et al.*, 1996; Moreira *et al.*, 1997; Cyktor *et al.*, 2013; Oehlers *et al.*, 2015). Estos fenotipos "no protectores" presentan un microambiente local en el cual predominan citocinas asociadas con la respuesta Th2, y T reguladora como la IL-4 y la IL-10 (Hernández-Pando *et al.*, 1996; Hernández-Pando *et al.*, 2006). Bajo este

microambiente, los M ϕ s se diferencian en macrófagos espumosos los cuales presentan un alto contenido de lípidos y son incapaces de eliminar al bacilo generando un incremento en la proliferación bacteriana (Russell *et al.*, 2009; Genoula *et al.*, 2018). *M. tuberculosis* induce la necrosis de M ϕ s espumosos y sus detritos celulares y lípidos son liberados en el centro del granuloma para degenerar en una necrosis caseosa con la cual (Saunders & Britton, 2007). Las células gigantes multinucleadas están presentes en estos granulomas y se consideran una manifestación de la eliminación ineficiente de la micobacteria (Hernández-Pando *et al.*, 2000). Aunado a esto, se reclutan fagocitos no infectados, como monocitos, M ϕ s y neutrófilos, para ayudar a diseminar el bacilo a otras regiones anatómicas del anfitrión (Nguyen & Pieters, 2005).

1.5.2.5 Efecto de la inflamación en el daño tisular inducido por TB

La etapa avanzada de la TB se caracteriza por disfunción pulmonar extensa debido al daño tisular causado por la inflamación regulada ineficientemente y no resuelta alrededor de los granulomas en los pulmones. Por lo tanto, las terapias dirigidas al anfitrión destinadas a reducir la inflamación y minimizar el daño tisular, han ganado un interés como complemento de la quimioterapia en el tratamiento de la TB (Tiwari & Martineau, 2023).

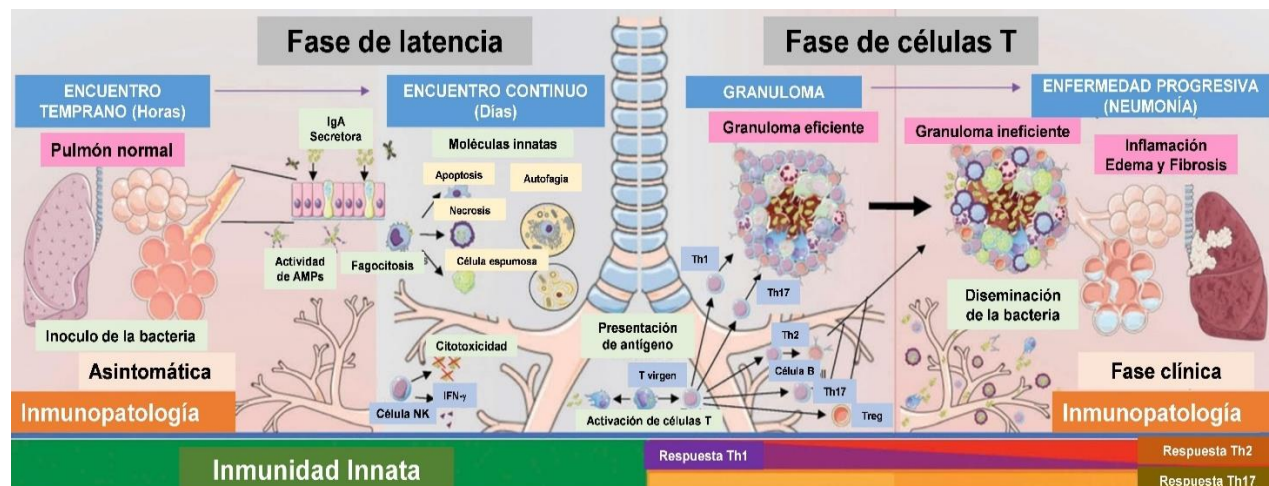


Figura 6. Respuesta inmune durante la infección pulmonar con *M. tuberculosis*. La respuesta inmune se divide en dos fases: la respuesta inmune innata (fase de latencia) y la respuesta inmune adaptativa (fase de células T). En la fase de latencia, el aspecto macroscópico del pulmón es normal, ya que el recuento de bacterias es bajo; se presenta una respuesta inflamatoria temprana, diferenciación fagocítica e inducción de la muerte celular (apoptosis), así como producción de péptidos antimicrobianos. Durante la fase de células T, la proliferación bacteriana induce cambios macroscópicos e histológicos en los pulmones, incluyendo la formación de granulomas, inflamación crónica extensa, necrosis y fibrosis. Inicialmente, se forman pocos

granulomas, sin embargo, a medida que la infección progresa hay un predominio de granulomas ineficientes que se relaciona con una menor actividad protectora de la respuesta adaptativa Th1, lo que conduce al crecimiento y diseminación de la bacteria (Modificado de Ramos-Espinosa *et al.*, 2018).

2. MODELO MURINO DE TB PULMONAR EXPERIMENTAL

El modelo experimental de TB pulmonar progresiva desarrollado por el grupo de investigación del Dr. Hernández-Pando, se fundamenta en el uso de una cepa de ratones genéticamente idénticos (BALB/c) de 6 a 8 semanas de edad, que son infectados vía intratraqueal con bacterias vivas y virulentas de la cepa prototipo de *M. tuberculosis* H37Rv a una dosis elevada de 2.5×10^5 UFC ya que los ratones no son anfitriones naturales de las micobacterias (Figura 7). Este modelo se caracteriza por el establecimiento de dos fases principales durante el desarrollo de la enfermedad (Hernández-Pando *et al.*, 1996), a saber, la fase temprana y la progresiva. A continuación, se describen las principales características de cada una de ellas.

2.1 Etapa temprana

Corresponde al primer mes de infección y se caracteriza histológicamente por la presencia en pulmón de infiltrado inflamatorio constituido por linfocitos y Mφs en el intersticio alveolo-capilar, alrededor de vénulas y bronquios. Dos semanas después de la infección el tejido pulmonar muestra la formación de numerosos granulomas de pequeño y mediano tamaño, constituidos principalmente de linfocitos y algunos Mφs. En el modelo, el día clave corresponde el día 21, cuando los granulomas alcanzan un mayor tamaño y están conformados por un mayor número de Mφs, organizados en estructuras redondas u ovoides de límites precisos para contener a las bacterias. Dichos granulomas están constituidos principalmente por linfocitos T CD4⁺ productores de citocinas tales como IFN-γ e IL-2 y Mφs activados productores de TNF, IL-1 y gran cantidad de iNOS (Figura 7) (Hernández-Pando *et al.*, 1996).

2.2 Etapa progresiva

La segunda fase de la enfermedad corresponde a la etapa avanzada o progresiva, la cual se caracteriza por un incremento en el número de bacterias vivas a nivel pulmonar, así como por áreas de consolidación neumónica con focos de necrosis y extensa fibrosis intersticial. Durante esta fase se incrementa significativamente la presencia y actividad de los linfocitos Th2, que se caracterizan por producir IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13. En particular, la IL4 es una citocina fundamental en la inducción de la diferenciación de los

linfocitos B productores de anticuerpos; además, la IL-4 al igual que la IL-10 y la IL-13 son eficientes antagonistas de las células Th1 y de esta manera se desvía la inmunidad celular hacia la inmunidad humoral, contribuyendo así a favorecer la progresión de la enfermedad. Los Mφs disminuyen significativamente la producción de TNF, IL-1 e iNOS, e incrementan su capacidad productora de citocinas antiinflamatorias y supresoras de la inmunidad celular, como el TGF-β y la IL-10. El TGF-β es también una eficiente citocina inductora de la proliferación fibroblástica y de la síntesis de colágena, contribuyendo así a generar fibrosis (Hernández-Pando *et al.*, 1996).

Existe predominio de células positivas para IL-2 durante la fase temprana de la enfermedad (14-28 días post infección), mientras que durante la fase progresiva de la enfermedad (días 60 y 120 post infección) hay un balance mixto de células productoras de IL-2 e IL-4 (Figura 7) (Hernández-Pando *et al.*, 1996).

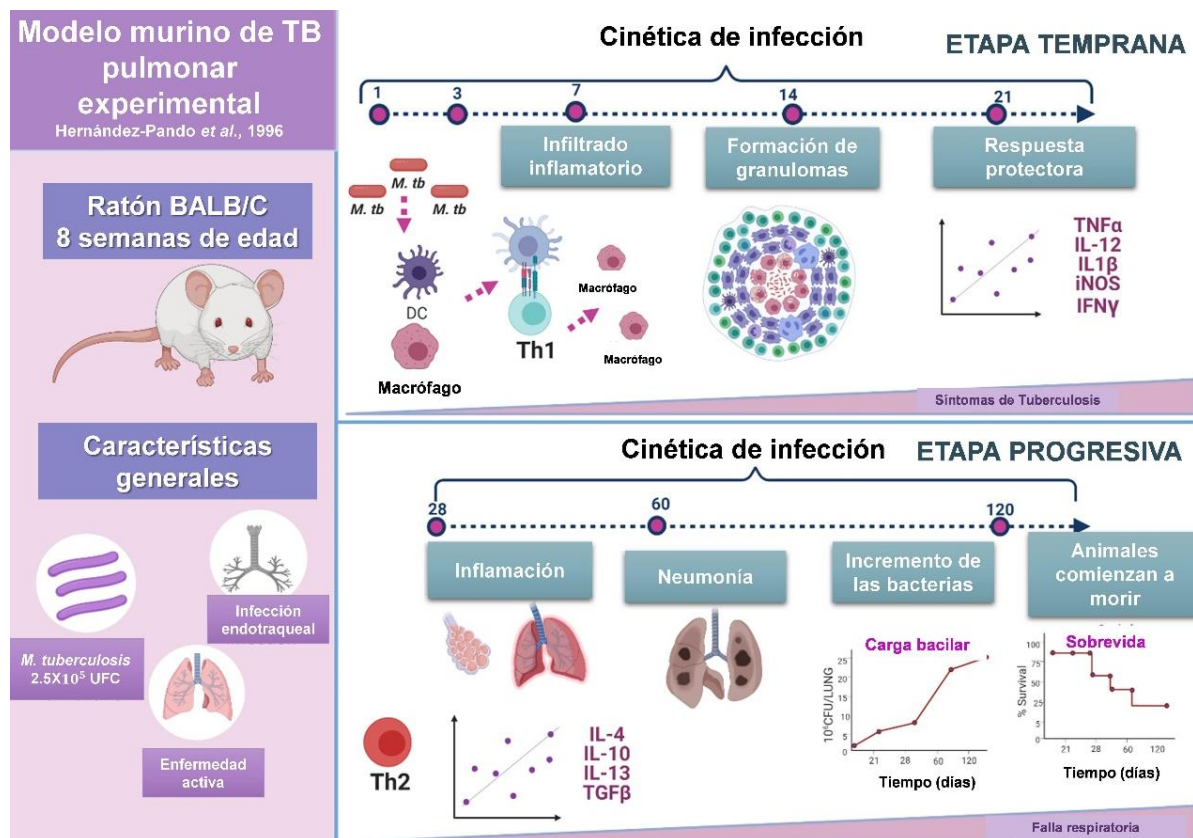


Figura 7. Modelo murino de TB pulmonar experimental (Hernández-Pando *et al.*, 1996). En este modelo se realiza la infección de ratones BALB/C por vía endotraqueal con 2.5*10⁵ unidades formadoras de colonias (UFC) de la cepa H37Rv. Mediante una cinética de sacrificio en los días 1, 3, 7, 14, 21, 28, 60 y 120 post infección se establecen dos etapas. La primera corresponde a la etapa de protección (días 1-21), durante la cual la carga bacilar se mantiene baja y los animales no presentan daño por neumonía pulmonar ni eventos

de mortalidad. Esta etapa se encuentra relacionada con una alta producción de citocinas de tipo Th1, principalmente IFN- γ , las cuales producen mediante activación de diversas poblaciones celulares el control de las micobacterias. En segunda instancia se presenta la etapa progresiva de la enfermedad (días 28- 120), la cual se caracteriza por elevada carga bacilar pulmonar, intenso daño por neumonía y una elevada mortalidad de los ratones infectados. Esta etapa se relaciona con una disminución en las citocinas tipo Th1 para dar lugar a un aumento de citocinas tipo Th2, avanzando hacia una enfermedad progresiva y culminando en la muerte de los animales por falla respiratoria (Realizado con BioRender.com)

3. INFLAMACIÓN

La inflamación es un proceso de los tejidos vascularizados en respuesta a una lesión traumática, infecciosa, postisquémica, tóxica o autoinmune, que se caracteriza por la activación de células inmunitarias y no inmunitarias y una compleja interacción entre factores solubles y células que protegen a los tejidos del anfitrión y promueven la reparación y recuperación de los tejidos. Se trata de una respuesta esencial para la supervivencia durante la cual las células y moléculas encargadas de la defensa del anfitrión pasen de la circulación a localizaciones en las que son necesarias, a fin de eliminar los agentes causantes de la agresión (Nathan, 2002; Kumar *et al.*, 2015; Furman *et al.*, 2019). Una respuesta inflamatoria normal se caracteriza por la regulación restringida de la actividad inflamatoria que ocurre cuando una amenaza está presente y que se resuelve una vez que la amenaza ha pasado, sin embargo, si la destrucción dirigida y la reparación asistida no se realizan de forma adecuada, la inflamación puede provocar un daño tisular persistente por parte de los leucocitos y los linfocitos (Nathan, 2002; Furman *et al.*, 2019).

3.1 Generalidades de la respuesta inflamatoria

Entre los mediadores de la defensa inflamatoria se cuentan leucocitos fagocíticos, anticuerpos y proteínas del complemento. La mayoría de ellos circulan normalmente en la sangre, aunque pueden ser reclutados con rapidez a partir de ella en cualquier parte del cuerpo. Además, las células del sistema inmune innato residentes en cada tejido son las células que responden primero a cualquier insulto (Kumar *et al.*, 2015). El proceso de inflamación hace que estas células y proteínas lleguen a los tejidos dañados o necróticos y a los organismos invasores, por ejemplo, microbios, y que se activen para actuar contra las sustancias nocivas o no deseadas. Además de las células inflamatorias, los componentes de la inmunidad innata comprenden otras células, como los linfocitos NK, las DC y las células epiteliales, así como factores solubles, como las proteínas del sistema del complemento. En conjunto, tales componentes de la inmunidad innata conforman la

primera línea de respuesta ante la infección e intervienen en la eliminación de células dañadas y cuerpos extraños (Kumar *et al.*, 2015).

3.2 Inflamación aguda

La rápida respuesta inicial a las infecciones y a la lesión tisular se conoce como inflamación aguda. Suele desarrollarse en minutos u horas y es de duración breve, de unas horas a pocos días. Se vuelve grave en poco tiempo y los síntomas pueden durar unos días, por ejemplo, celulitis o neumonía aguda (Pahwa *et al.*, 2021). Cuando un anfitrión se enfrenta a un agente lesivo, como un microorganismo infeccioso o células muertas, los fagocitos presentes en todos los tejidos intentan eliminarlo. Al mismo tiempo, los fagocitos y otras células del anfitrión reaccionan a la presencia de la sustancia extraña o anómala liberando citocinas, mensajeros lipídicos y otros mediadores de la inflamación. Algunos de ellos actúan sobre los vasos sanguíneos pequeños de áreas próximas y favorecen la extravasación del plasma y el reclutamiento de leucocitos circulantes para dirigirlos hacia el sitio en el que se localiza el agente causal. Los leucocitos reclutados son activados por el agente lesivo y por mediadores producidos a nivel local, y los leucocitos activados intentan eliminar el agresor mediante fagocitosis. Una vez eliminado el agente causal y activados los mecanismos antiinflamatorios, el proceso remite y el anfitrión recupera su estado de salud normal. La inflamación aguda se manifiesta a través de cambios vasculares, edema e infiltración predominantemente neutrófila (Kumar *et al.*, 2015).

3.3 Inflamación crónica

La inflamación crónica es una respuesta de duración prolongada (semanas o meses) en la que la inflamación, la lesión de los tejidos y los intentos de reparación coexisten, con combinaciones variables (Kumar *et al.*, 2015). En general, la extensión y los efectos de la inflamación crónica varían según la causa de la lesión y la capacidad del cuerpo para reparar y superar el daño (Pahwa *et al.*, 2021).

La inflamación crónica puede resultar de lo siguiente:

- 1) Fracaso en la eliminación del agente que causa una inflamación aguda, como organismos infecciosos que incluyen *M. tuberculosis*, protozoos, hongos y otros parásitos que pueden resistir las defensas del huésped y permanecer en el tejido durante un período prolongado.

- 2) Exposición a un nivel bajo de un irritante particular o material extraño que no puede eliminarse por descomposición enzimática o fagocitosis en el cuerpo, incluidas sustancias o productos químicos industriales que pueden inhalarse durante un período prolongado, por ejemplo, polvo de sílice.
- 3) Un trastorno autoinmune en el que el sistema inmunitario reconoce el componente normal del cuerpo como un antígeno extraño y ataca el tejido sano dando lugar a enfermedades como la artritis reumatoide (AR) y el lupus eritematoso sistémico (LES).
- 4) Un defecto en las células responsables de mediar la inflamación que conduce a una inflamación persistente o recurrente, como los trastornos autoinflamatorios (fiebre mediterránea familiar).
- 5) Episodios recurrentes de inflamación aguda. Sin embargo, en algunos casos, la inflamación crónica es una respuesta independiente y no una secuela de la inflamación aguda, por ejemplo, enfermedades como la TB y la AR.
- 6) Los inductores inflamatorios y bioquímicos están causando estrés oxidativo y disfunción mitocondrial, como una mayor producción de moléculas de radicales libres, productos finales de glicación avanzada (AGE), cristales de ácido úrico (urato), lipoproteínas oxidadas, homocisteína y otros.

La inflamación crónica se caracteriza por infiltración por células mononucleares, como Mφs, linfocitos y células plasmáticas; destrucción de los tejidos, inducida por el agente causal persistente o por células inflamatorias e intentos de curación mediante reposición del tejido conjuntivo dañado, desarrollada mediante angiogenia (proliferación de pequeños vasos sanguíneos) y, en particular, fibrosis (Kumar *et al.*, 2015). Es mediada por citocinas producidas por Mφs y linfocitos (sobre todo, linfocitos T): las interacciones bidireccionales entre estas células tienden a amplificar y prolongar la reacción inflamatoria (Kumar *et al.*, 2015). La inflamación crónica está relacionada con diversas enfermedades crónicas como la hipertensión, diabetes, aterosclerosis, el cáncer, enfermedades pulmonares y desordenes psiquiátricos como el desorden de depresión mayor (Sanada *et al.*, 2018; Fischer *et al.*, 2015; Arulselvan *et al.*, 2016).

3.4 Inflamación crónica sistémica

El sistema inmunitario y los procesos inflamatorios están implicados en una amplia variedad de problemas de salud mental y física que dominan la morbilidad y la mortalidad actual (Slavich, 2015). La inflamación crónica generalmente causa inflamación

persistente de bajo grado, lo que provoca degeneración tisular. La inflamación crónica de bajo grado tiene un papel fundamental en el desarrollo de diversas enfermedades, como cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular, cáncer, diabetes mellitus, enfermedad de insuficiencia renal crónica, enfermedad del hígado graso no alcohólico y enfermedades autoinmunes y neurodegenerativas (GBD, 2018).

Según el grado y la extensión de la respuesta inflamatoria, incluso si es sistémica o local, pueden ocurrir cambios metabólicos y neuroendocrinos para conservar la energía metabólica y asignar más nutrientes al sistema inmunitario activado (Straub, 2017). Las citocinas en la sangre envían señales al cerebro a través de rutas neuronales y humorales, lo que puede provocar cambios en el estado de ánimo y el comportamiento. Por lo tanto, los efectos conductuales específicos de la inflamación incluyen una variedad de conductas encaminadas al ahorro de energía comúnmente conocidos como “*sickness behaviors*” (comportamientos de enfermedad). El *sickness behaviour* incluye trastornos conductuales como la tristeza, anhedonia, fatiga, reducción de la libido y la ingesta de alimentos, sueño alterado y aislamiento social, y cambios fisiológicos como aumento de la presión arterial, resistencia a la insulina y dislipidemia. Estas alteraciones son críticas para la supervivencia en presencia de daño físico y amenaza microbiana (Straub *et al.*, 2010). Las consecuencias clínicas del daño provocado por la inflamación crónica sistémica (ICS) pueden ser graves e incluyen un mayor riesgo de síndrome metabólico, que incluye la tríada de hipertensión, hiperglucemia y dislipidemia; diabetes tipo 2; enfermedad del hígado graso no alcohólico; hipertensión; enfermedad cardiovascular; enfermedad renal crónica; varios tipos de cáncer; depresión; enfermedades neurodegenerativas y autoinmunes; osteoporosis y sarcopenia (Furman *et al.*, 2019) (Figura 8). Los estudios de neurodegeneración sugieren que la infección e inflamación periférica podrían estar relacionadas con el inicio y la progresión de la neurodegeneración por envejecimiento (Kölliker-Frers *et al.*, 2021).

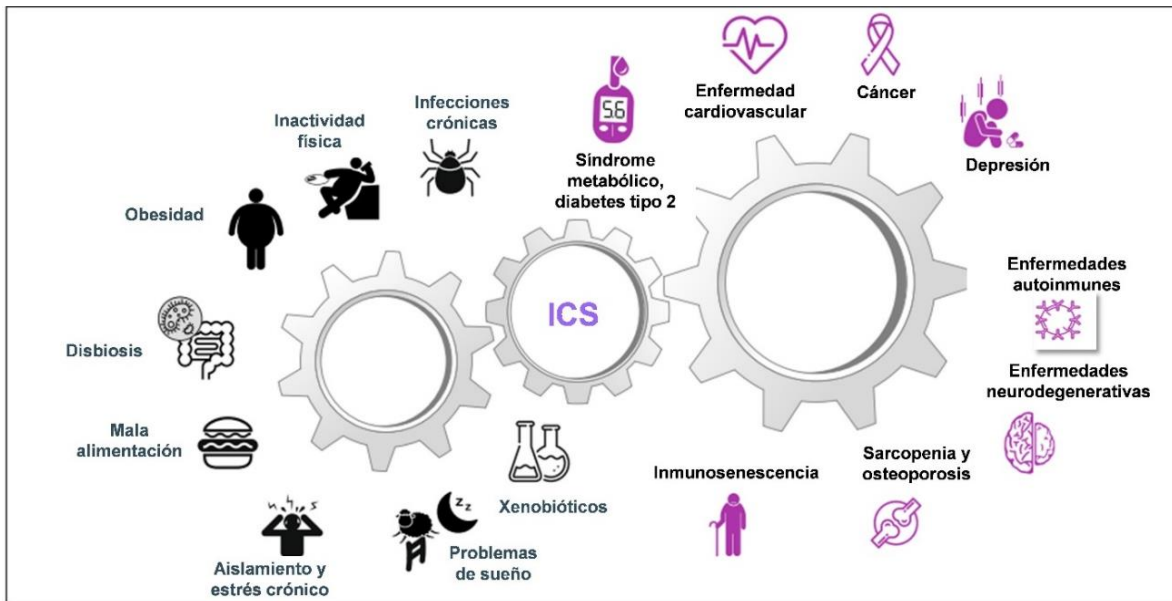


Figura 8. Causas y consecuencias de la inflamación crónica sistémica. Se han identificado varias causas de inflamación crónica sistémica (ICS) de bajo grado y sus consecuencias. Los desencadenantes más comunes de ICS incluyen infecciones crónicas, inactividad física, obesidad (visceral), disbiosis intestinal, dieta, aislamiento social, estrés psicológico, sueño alterado y ritmo circadiano interrumpido, y exposición a xenobióticos como contaminantes del aire, productos de desecho peligrosos, productos químicos industriales y tabaquismo. Las consecuencias de ICS incluyen síndrome metabólico, diabetes tipo 2, enfermedad del hígado graso no alcohólico, enfermedad cardiovascular, cáncer, depresión, enfermedades autoinmunes, enfermedades neurodegenerativas, sarcopenia, osteoporosis e inmunosenescencia (Modificado de Furman *et al.*, 2019).

4. RESPUESTA INMUNE EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

El sistema nervioso central (SNC) en los vertebrados superiores influye y controla las actividades de todo el cuerpo. El SNC ha evolucionado de una manera compleja para integrar entradas sensoriales y producir las salidas requeridas para comunicaciones intercelulares rápidas (Alves de Lima *et al.*, 2020).

4.1 Generalidades de la respuesta inmune en el SNC

El SNC ha sido considerado un órgano inmunológicamente inactivo en comparación con otros tejidos periféricos (Yang & Zhou, 2019), debido a que existen barreras entre la circulación y el SNC, las cuales se encargan del desarrollo y la modulación de la respuesta inmunológica dentro del SNC (Mastorakos & McGravern, 2019). Los sistemas inmunológico y nervioso interactúan en varios niveles durante el desarrollo embrionario, en la homeostasis y en la enfermedad (Chu *et al.*, 2020). Las citocinas y sus receptores se expresan, aunque en niveles bajos, en el cerebro sano. Las células inmunes y los

mediadores juegan un papel regulador en el SNC, participando en la plasticidad sináptica del neurodesarrollo y la eliminación y plasticidad sináptica en la edad adulta (Kölliker-Frers *et al.*, 2021).

El tejido cerebral es un objetivo particular de las reacciones inflamatorias inmunes (Kölliker-Frers *et al.*, 2021). Las neuronas (además de la glía) producen y responden a las citocinas inflamatorias, y la actividad neuronal puede regular la producción y secreción de citocinas, actuando como neuromoduladores en el cerebro (Yirmiya & Goshen). Las neuronas detectan ligandos de patógenos y se comunican con Mφs, neutrófilos, DC e ILC para modular las respuestas antimicrobianas (Chu *et al.*, 2020). De igual manera los neurotransmisores y los neuropéptidos pueden afectar directamente la función de las células inmunitarias, incluida la regulación de las respuestas inmunitarias a los patógenos y al daño tisular (Chu *et al.*, 2020).

Las células del sistema nervioso central son reactivas a los factores inflamatorios periféricos y las células inmunitarias periféricas pueden infiltrarse en el cerebro (Kölliker-Frers *et al.*, 2021). Los astrocitos y la microglía son las principales células que median la inmunidad innata en el SNC. Los PRR expresados por los astrocitos y la microglía, detectan los ligandos endógenos o derivados de patógenos liberados por las células dañadas e inician la respuesta inmunitaria innata (Li *et al.*, 2021).

Las respuestas inmunitarias del SNC difieren según la ubicación anatómica, y existe una clara distinción entre las respuestas que se desarrollan en los espacios líquidos y las meninges en relación con el parénquima (Lyman *et al.*, 2014). El desarrollo de respuestas inmunitarias contra antígenos presentes en el parénquima depende de su entrada en los espacios líquidos, lo que promueve su salida hacia los ganglios linfáticos de drenaje (Mastorakos & McGravern, 2019). Aunque el parénquima del SNC no tiene un sistema de drenaje linfático, existen vasos linfáticos en la duramadre y el hueso del cráneo es un importante punto de entrada al SNC. Las variaciones estructurales en estas barreras influyen en la ubicación y el desarrollo de las respuestas inmunitarias del SNC que ingresan a través de la vasculatura, ya que controlan la entrada de células inmunitarias en el SNC (Mastorakos & McGravern, 2019).

4.2 Inflamación sistémica y comunicación con el cerebro

La respuesta inflamatoria sistémica da como resultado la producción de citocinas, como IL-1β, IL-6 y TNF, que circulan en la sangre y se comunican con neuronas dentro del

cerebro a través de varias rutas (Konsman *et al.*, 2002). La primera de estas rutas involucra los órganos circunventriculares, regiones del cerebro que carecen de barrera hematoencefálica (BBB). En estos órganos, las citocinas se difunden libremente desde la sangre hacia el parénquima cerebral. La segunda vía es a través de la barrera hematoencefálica. Las citocinas activan el endotelio, que a su vez envía señales a los macrófagos perivasculares ubicados adyacentes a las células endoteliales: estos macrófagos perivasculares a su vez se comunican con la microglía, los astrocitos y las neuronas. La tercera ruta implica las aferencias sensoriales del nervio vago que se comunican con poblaciones neuronales dentro del tronco encefálico tras la inflamación inducida de manera periférica. Finalmente, una cuarta ruta involucra el transporte activo directo de altas concentraciones de citocinas a través de la barrera hematoencefálica. Todos estos mecanismos estimulan la liberación de mediadores inflamatorios y permiten la migración de leucocitos al cerebro, lo que da como resultado un deterioro sináptico, muerte neuronal y una exacerbación de varias patologías dentro del cerebro (Lyman *et al.*, 2014), y al hacerlo pueden afectar los procesos cognitivos (Figura 9).

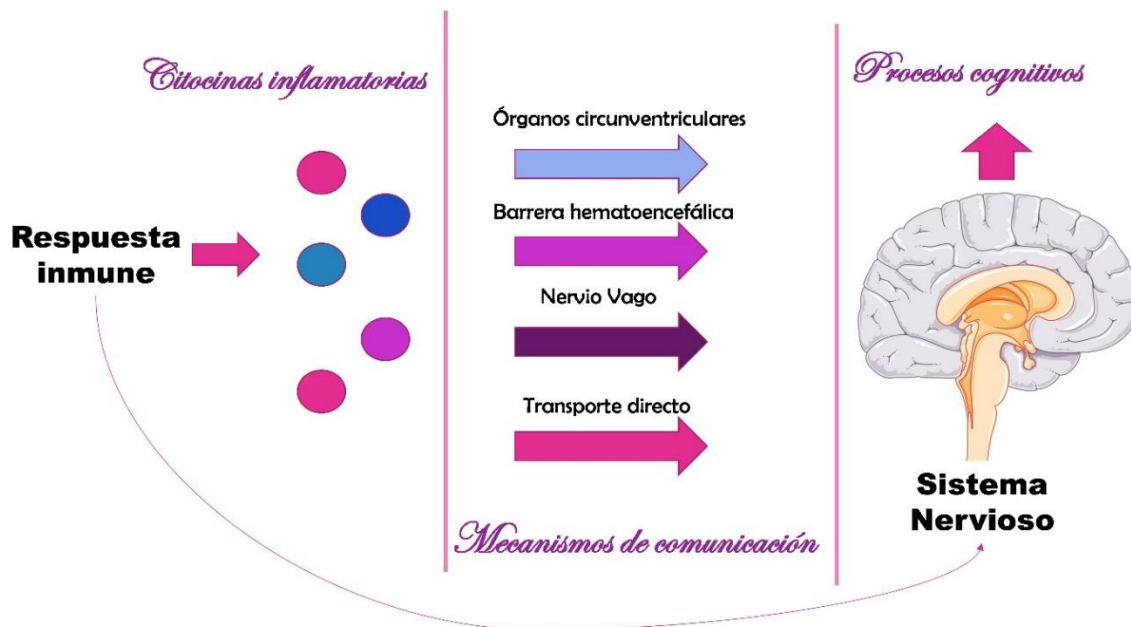


Figura 9. Comunicación entre la respuesta inflamatoria sistémica y el SNC. El SNC y el sistema inmunológico mantienen comunicación a través de diversas vías. Existe comunicación directa entre la respuesta inmune periférica y el SNC a través de los órganos circunventriculares, los cuales carecen de barrera hematoencefálica. Las citocinas periféricas también unirse a los receptores de la superficie del endotelio vascular en el cerebro, incrementando la síntesis y la secreción de prostaglandinas y el óxido

nítrico que se difunden en el parénquima cerebral para modular la actividad de neuronas lo que se asocia con la aparición de fiebre y la activación del eje Hipotálamo-hipófisis-adrenales (HHA).

5. NEUROINFLAMACIÓN Y NEURODEGENERACIÓN

La neuroinflamación es la respuesta inmunitaria del tejido neural para frenar la infección y eliminar patógenos, desechos celulares y proteínas mal plegadas (Lyman *et al.*, 2014). Ambos componentes del sistema inmunitario (inmunidad innata y adaptativa) juegan un papel crucial en la generación de la neuroinflamación (Kumar, 2019). Los astrocitos, la microglía, los oligodendrocitos y las células gliales sirven como células inmunitarias innatas centinelas locales del cerebro, y la activación de estas células en diversas condiciones conduce al desarrollo de neuroinflamación (Shabab *et al.*, 2017; Kumar, 2019); la cual se caracteriza por cambios moleculares y celulares de manera diferencial en respuesta a diferentes estímulos inflamatorios que van desde lesiones cerebrales inducidas externamente, como infecciones, traumatismos y accidentes cerebrovasculares, hasta cambios sistémicos que incluyen anomalías metabólicas, infecciones y envejecimiento (Cai, 2013). La respuesta inmune en el SNC tiene como función la reparación del tejido después de una lesión o estado patológico. Sin embargo, esta respuesta puede persistir durante un largo período de tiempo como una reacción crónica (Kempurak *et al.*, 2021).

La neuroinflamación conduce a la neurodegeneración, defectos cognitivos y enfermedades neurodegenerativas (enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple y esclerosis lateral amiotrófica) (Kempurak *et al.*, 2021). La activación de la microglía, la infiltración de células inmunitarias, la generación de especies de estrés oxidativo y las citocinas proinflamatorias son mecanismos importantes en las respuestas neuroinflamatorias y neuroinmunes (Kölliker-Frers *et al.*, 2021).

5.1 Componentes de la neuroinflamación

5.1.1 Células endoteliales

Los capilares que se encuentran en el SNC son distintos de los que se encuentran en el resto del cuerpo debido a la presencia de BBB, un filtro importante que protege el cerebro (Freeman *et al.*, 2012). La BBB contiene proteínas de unión estrecha entre las que se encuentran la ocludina, las claudinas y las moléculas de unión de adhesión (JAM) que unen las células endoteliales cerebrales (Freeman *et al.*, 2012). Para mantener el ambiente homeostático requerido para la función adecuada de las neuronas del SNC, las células

endoteliales de la microvasculatura del SNC regulan el movimiento de iones y moléculas entre la sangre y el SNC (Marchetti & Engelhardt, 2020). Los niveles de citocinas modulan la permeabilidad de la BBB al alterar la resistencia de las uniones estrechas en las células endoteliales de la vasculatura cerebral (Wong *et al.*, 2004). El daño a la BBB facilita la entrada al cerebro de productos, células y patógenos neurotóxicos derivados de la sangre y está asociada con respuestas inflamatorias e inmunitarias, y el desencadenamiento de múltiples vías neurodegenerativas (Sweeney *et al.*, 2018). La disfunción cerebrovascular y la patología vascular contribuyen al deterioro cognitivo y la pérdida neuronal (Sweeney *et al.*, 2018). De manera importante, las células endoteliales tienen la capacidad de captar antígenos de patógenos, lo que sugiere que tienen un potencial para la presentación de antígenos y la modulación de procesos infecciosos (Combes *et al.*, 2012).

5.1.2 Mastocitos

La neuroinflamación es distinta a otros tipos de respuesta inflamatorias debido a las características del SNC. En primer lugar, no hay células dendríticas involucradas. En cambio, la microglía, los astrocitos y los mastocitos son las células inmunes innatas del SNC (Hendriksen *et al.*, 2017). Los mastocitos residen en el cerebro y son una fuente importante de moléculas inflamatorias. Están presentes en el parénquima cerebral y las meninges, adyacentes a los vasos sanguíneos del cerebro. Actúan como células efectoras y sensoras, y son la respuesta inmune primaria del SNC, reclutando otras células inmunitarias que inician, amplifican y mantienen la respuesta inmunitaria y neuronal después de su activación (Hendriksen *et al.*, 2017). Los mastocitos son la primera respuesta celular después de una lesión cerebral, traumatismo o accidente cerebrovascular para proteger el cerebro y restaurar la homeostasis mediante la liberación de citocinas y citocinas neuro protectoras y antiinflamatorias (Kempurak *et al.*, 2021). Sin embargo, la activación y acumulación excesivas de mastocitos genera sobre activación de astrocitos, microglía y neuronas mediante la liberación de diversas moléculas inflamatorias. Las interacciones de los mastocitos con las células gliales y las neuronas dan como resultado la liberación de mediadores como citocinas, proteasas y especies reactivas de oxígeno (ROS) que inducen y exacerban la neuroinflamación, la muerte neuronal y el deterioro cognitivo (Hendriksen *et al.*, 2017). Durante la neuroinflamación, los niveles excesivos de estos mediadores pueden influir en la neurogénesis, la neurodegeneración y la permeabilidad de la BBB. Las células gliales activadas, a su vez, liberan mediadores inflamatorios adicionales que pueden activar los

mastocitos y las propias células gliales para secretar más citocinas proinflamatorias en un círculo vicioso (Kempurak *et al.*, 2021).

5.1.3 Microglia

La microglía son las células inmunitarias residentes del SNC, actúan como célula presentadora de antígenos (APC), contribuyen a mantener la homeostasis del SNC, proporcionan la defensa innata contra los microbios invasores y tienen una función crucial en el proceso de neuroinflamación (Kölliker-Frers *et al.*, 2021). Son las células clave en la inflamación cerebral y enfermedades neurodegenerativas inflamatorias (Shabab *et al.*, 2017). Además de expresar varios receptores inmunitarios, la microglía expresa varios TLR, incluidos TLR-1, TLR-2, TLR-3, TLR-4, TLR-5, TLR-7, TLR-8, TLR-9 y el correceptor CD14. Estas microglías con diversas expresiones de TLR están presentes en diferentes áreas del cerebro, principalmente en las áreas contiguas a la circulación sanguínea, incluidas las meninges y los órganos circunventriculares, por lo que tienen una función crucial en el desencadenamiento de la neuroinflamación (Kumar, 2019). En respuesta a citocinas, moléculas de señalización de la inflamación aguda, patógenos, daño tisular, estimulación anormal, neurotoxinas, infección o lesión, la microglía pasa de un estado inactivo ramificado a uno fagocítico activado, tipo proinflamatorio (activación clásica o M1) liberando mediadores proinflamatorios en el proceso (Kölliker-Frers *et al.*, 2021). Estas células activadas proliferan, fagocitan y presentan antígenos a células T (Shabab *et al.*, 2017). La microglía activada es la principal fuente de ROS, especies de nitrógeno, glutamato y citocinas proinflamatorias los cuales son neurotóxicos cuando son liberados en altas concentraciones causando disfunción neuronal y muerte celular (González & Pacheco, 2014; Mizuno, 2015). En términos de neuroinflamación crónica, estas células pueden permanecer activadas durante períodos prolongados, liberando cantidades de citocinas y moléculas neurotóxicas que contribuyen a la neurodegeneración a largo plazo (Shabab *et al.*, 2017; Lyman *et al.*, 2014). La microglía activada puede inducir la muerte de neuronas (neurodegeneración). Sin embargo, también tienen un papel fundamental en la remoción o muerte de patógenos o partículas extrañas del SNC (Shabab *et al.*, 2017).

5.1.4 Astrocitos

Los astrocitos son las células más abundantes del SNC (Yang & Zhou, 2019). Desempeñan dos funciones principales en el SNC en reposo: integran señales y mantienen la homeostasis entre los componentes nervioso, inmunitario y vascular. Los astrocitos son reguladores cruciales de la respuesta inmunitaria innata y adaptativa en el SNC lesionado

y su actividad puede exacerbar la respuesta inflamatoria y el daño tisular o puede promover la inmunosupresión o la reparación tisular según la duración y la situación del contexto en el que se activan mediante la producción de varias citocinas y quimiocinas (Kumar, 2019). Los astrocitos tienen la capacidad de reconocer estructuras pertenecientes a varios tipos de patógenos (PAMPs), por lo que pueden ser dañados o infectados directamente (Combes *et al.*, 2012).; además de que expresan TLR-2, TLR-3, TLR-4 y TLR-9. Estas células producen moléculas que atraen a las células inmunitarias a la región lesionada y facilitan su infiltración desde la vasculatura hacia el tejido del SNC (Cekanaviciute & Buckwalter, 2016). Los astrocitos reactivos muestran diferentes fenotipos y se han clasificado en fenotipos A1 y A2. El fenotipo A1 tiene propiedades proinflamatorias y neurotóxicas, mientras que los astrocitos A2 muestran características neuroprotectoras. Los astrocitos A1 contribuyen a la muerte de neuronas y oligodendrocitos, mientras que los astrocitos A2 participan en la promoción de la supervivencia neuronal y la reparación de tejidos. Las citocinas, incluidas IL-1 α , TNF y C1q, secretadas por la microglía activada son necesarias y suficientes para la inducción de astrocitos “A1”, lo que sugiere los efectos sinérgicos de la microglía y los astrocitos en enfermedades relacionadas con la neuroinflamación. El número de astrocitos A1 aumenta drásticamente en enfermedades neurodegenerativas. La astrogliosis reactiva es el proceso celular fundamental que inicia la formación de una cicatriz glial alrededor de las lesiones traumáticas del SNC (Li *et al.*, 2021).

5.1.5 Neuronas

La interacción homeostática entre las neuronas y la microglía contribuye al desarrollo, maduración y mantenimiento del SNC. La microglía promueve la poda sináptica en el cerebro en desarrollo y el mantenimiento de la actividad neuronal en el cerebro maduro. Las neuronas regulan la función de la microglía a través de la producción de varias citocinas y quimiocinas (Mizuno, 2015). La neuroinflamación inducida por la microglía activada contribuye a la interrupción de esta interacción homeostática entre las neuronas y la microglía. La activación de microglía y astrocitos genera muerte neuronal por necrosis, necroptosis, piroptosis y ferroptosis. Estos tipos de muerte neuronal están asociados con la liberación de DAMPs proinflamatorios (HMGB1, HSP y ácidos nucleicos), los cuales pueden iniciar y perpetuar la respuesta inflamatoria de las células gliales o directamente contribuir al daño neuronal (Mangalmurti & Lukens, 2022). De esta manera, las neuronas tienen un papel importante en la estimulación constante inflamatoria. Durante el proceso neuroinflamatorio, las neuronas son el blanco y a su vez,

promotores de la inflamación (Mangalmurti & Lukens, 2022). Sin embargo, las neuronas dañadas tienen también la capacidad de suprimir la activación de la microglía por medio de la inducción de citocinas y quimiocinas antiinflamatorias (TGF- β , IL-10 e IL-34), reduciendo la neuroinflamación (Mizuno, 2015).

5.1.6 Linfocitos T

Las células T están presentes en estructuras y fluidos cerebrales sanos (meninges y líquido cefalorraquídeo) y también pueden infiltrarse en el tejido del SNC en respuesta a una lesión o enfermedad autoinmune y participan en la activación de la microglía y el daño neuronal (Engler-Chiurazzi *et al.*, 2020). En presencia de IL-12, las células T CD4⁺ infiltradas se diferencian hacia un fenotipo Th1 productor de IFN- γ , especializado en la eliminación de patógenos intracelulares y está asociado con neuroinflamación y daño neuronal (González & Pacheco, 2014). Otro fenotipo asociado a neuroinflamación y neurodegeneración es el Th17 productoras de IL-17 e IL-22, el cual es favorecido por la presencia de IL-23. En presencia de IL-4 se diferencian a un perfil Th2, productoras de IL-13, IL-5 e IL-4. Las células Th2 son fundamentales en la respuesta inmune contra helmintos y en los procesos alérgicos; en el SNC estas células disminuyen el proceso neuroinflamatorio y en condiciones homeostáticas participan en el proceso de consolidación de la memoria espacial. Las células T CD4⁺ también pueden adquirir un fenotipo antiinflamatorio y diferenciarse en células Treg productoras de IL-10, las cuales suprimen la función inflamatoria de las células T efectoras, disminuyendo la neuroinflamación y la neurodegeneración. La activación diferencial de las células microgliales constituye un punto central de regulación en la neuroinflamación, lo que puede resultar en entornos neurotóxicos o neuroprotectores que son críticos para el destino de las neuronas. En este sentido, las células Th1, Th17, las células T CD4⁺ productoras de GM-CSF y las células T $\gamma\delta$ contribuyen a la neuroinflamación crónica, perpetuando así los procesos neurodegenerativos. Por el contrario, las células Treg y Th2 disminuyen las funciones inflamatorias en las células microgliales y promueven un microambiente de protección neuronal (González & Pacheco, 2014).

5.1.7 Linfocitos B

Al igual que las células T, los linfocitos B modulan la función cerebral en estado normal o en enfermedad. Las células B se encuentran en muy baja cantidad en las meninges, el fluido cerebroespinal y posiblemente el parénquima cerebral en condiciones normales. Sin embargo, infiltran en grandes cantidades el tejido del SNC en respuesta a daño o

enfermedad. Las células B en el SNC tienen la capacidad de actuar como células presentadoras de antígenos, que promueven la activación y expansión de las células Th1 y Th17 (Engler-Chiurazzi *et al.*, 2020).

5.2 Neurodegeneración

El término neurodegeneración describe la condición clínica en la cual las neuronas son dañadas y su posterior inducción de muerte por algún daño al SNC. Este proceso puede ser agudo o crónico (Mangalmurti & Lukens, 2022). El SNC tiene una muy limitada, o casi nula, capacidad regenerativa. Por lo tanto, es muy importante limitar la muerte celular en esta región. La muerte de las células neuronales no es un evento autónomo, sino que es desencadenado a través de interacciones con células neuronales y gliales vecinas. La microglía activada puede matar neuronas al liberar TNF, glutamato, catepsina B y/o ROS y NOS, que pueden causar muerte apoptótica, excitotóxica y necrótica de las neuronas circundantes o pueden estresarlas e inducir la liberación de moléculas (fosfatidilserina, calreticulina, UDP) que provocan la fagocitosis microglial de las neuronas estresadas pero viables, lo que resulta en la destrucción celular y la inducción de muerte por fagocitosis (Fricker *et al.*, 2018).

6. AGENTES ANTI-INFLAMATORIOS

Como se ha mencionado, la inflamación involucra al sistema inmune innato y adaptativo y es una respuesta homeostática de los tejidos a un daño. Sin embargo, cuando no se regula, la inflamación puede provocar trastornos autoinmunes o autoinflamatorios, enfermedades neurodegenerativas o cáncer. Debido a esto, existen una variedad de agentes antiinflamatorios seguros y efectivos, incluida la aspirina y otros antiinflamatorios no esteroideos (Dinarello, 2010). La aspirina inhibe las enzimas ciclooxigenasa (COX) COX-1 y COX-2, que sintetizan prostaglandinas y tromboxanos. En segundo lugar, están los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINES), que tiene como blanco a la COX-2 y, por lo tanto, a la síntesis de prostaglandinas, particularmente PGE2. Las formas sintéticas de cortisol (glucocorticoides) se usan ampliamente para tratar muchas enfermedades inflamatorias y, a pesar de sus efectos secundarios, los glucocorticoides son el principal agente utilizado para reducir la inflamación (Dinarello, 2010).

6.1 Glucocorticoides

Los corticosteroides son hormonas endocrinas esenciales involucradas en la regulación de casi todos los procesos fisiológicos. Se pueden dividir en glucocorticoides (cortisol en humanos, corticosterona en roedores) y mineralocorticoides (aldosterona, desoxicorticosterona). Los glucocorticoides y los mineralocorticoides ejercen sus efectos a través de la unión a los receptores de glucocorticoides (GR) y los receptores de mineralocorticoides (MR) (Odermatt & Gumy, 2008), que actúan como factores de transcripción inducibles por ligandos. El receptor de mineralocorticoides es activado por la aldosterona y promueve la retención renal de sodio y la excreción de potasio, aunque también es activado por glucocorticoides endógenos (Frey *et al.*, 2004).

Los glucocorticoides son fármacos antiinflamatorios, antialérgicos e inmunosupresores derivados del cortisol o hidrocortisona, hormona producida por la corteza adrenal esencial para la adaptación al estrés físico o emocional (Serra *et al.*, 2012). El cortisol y la cortisona son los glucocorticoides humanos. La secreción diaria de cortisol está controlada por el eje HHA. Tras la exposición al estrés, se estimula el hipotálamo para que libere la hormona liberadora de corticotropina (CRH), que luego actúa sobre la hipófisis anterior para estimular la síntesis de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) (Cruz-Topete & Cidlowski, 2015). La ACTH luego actúa sobre la corteza suprarrenal para inducir la secreción de glucocorticoides. Una vez en circulación, el cortisol puede convertirse en la forma inactiva, cortisona, por la deshidrogenasa 11 β -hidroxiesteroide tipo 2. Por el contrario, la deshidrogenasa 11 β -hidroxiesteroide tipo 1 convierte la cortisona en cortisol (Cruz-Topete & Cidlowski, 2015). Si bien los glucocorticoides se llamaron así debido a su influencia sobre el metabolismo de la glucosa, en la actualidad se definen como esteroides que ejercen sus efectos al unirse a receptores citosólicos específicos que median las acciones de estas hormonas (Carrol *et al.*, 2012). Los glucocorticoides ejercen sus efectos uniéndose a su receptor (GR), el cual se expresa en prácticamente todos los tipos de células y tejidos por lo que, actúan en casi todos los tejidos del cuerpo y son importantes reguladores del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas y además pueden afectar a casi todas las células del sistema inmunitario, según la diferenciación o el estado de activación (Cruz-Topete & Cidlowski, 2015; Busillo & Cidlowski, 2013). Por lo tanto, la señalización de GR juega un papel importante en la modulación de un gran número de funciones biológicas en las células inmunes y en varios órganos y tejidos, incluidos el cerebro, el hígado, el corazón, los

pulmones, el tejido adiposo, el sistema reproductivo, el estómago y los músculos (Cruz-Topete & Cidlowski, 2015) (Figura 10).

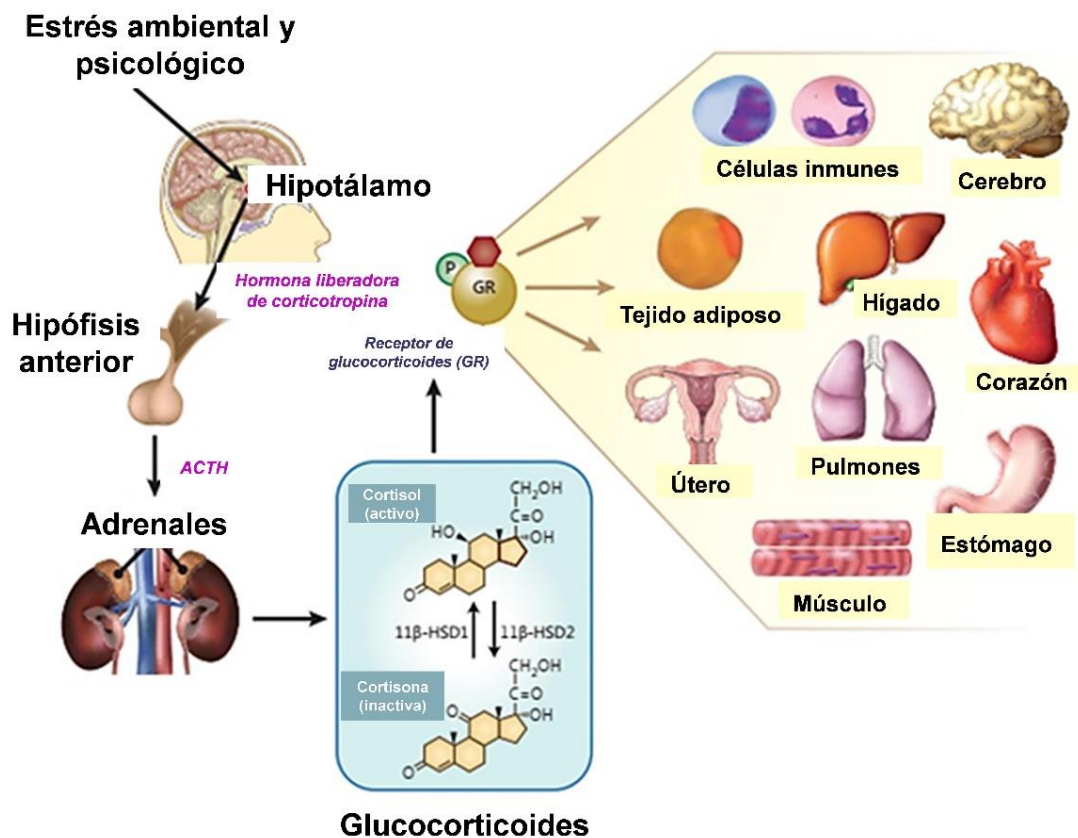


Figura 10. Regulación de la secreción de glucocorticoides por el eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal en respuesta al estrés (Modificado de Cruz-Topete & Cidlowski, 2015). Tras la exposición al estrés ambiental o psicológico, el hipotálamo se estimula para liberar la hormona liberadora de corticotropina (CRH). Luego, la CRH estimula la glándula pituitaria anterior para que secrete ACTH. A su vez, la ACTH se dirige a la corteza de las glándulas suprarrenales para liberar cortisol en el torrente sanguíneo. Una vez en circulación los glucocorticoides viajan a su órgano blanco incluyendo el cerebro, el hígado, el corazón, los pulmones, el tejido adiposo, el sistema reproductivo, el estómago y los músculos, y ejercen una variedad de efectos específicos de tejido.

6.1.1 Mecanismos moleculares de acción de los glucocorticoides

La acción de los glucocorticoides se inicia por la entrada del esteroide a la célula y la unión a las proteínas receptoras de glucocorticoide (Carrol *et al.*, 2012). El GR es un factor de transcripción inducido por ligando y miembro de la superfamilia de receptores nucleares. En condiciones basales, GR reside en el citoplasma en un complejo con proteínas chaperonas hsp90, hsp70 y p23 e inmunofilinas FKBP51 y FKBP52 (Cruz-

Topete & Cidlowski, 2015). Una vez que el glucocorticoide se une a GR, todas las proteínas de choque térmico se liberan para formar un complejo GR dimérico activado, que se traslada al núcleo (Cruz-Topete & Cidlowski, 2015). En el núcleo, los dominios de unión a ADN dirigen al complejo GR a una secuencia palindrómica de ADN conocida como elementos de respuesta a glucocorticoides (GRE) para activar transcripcionalmente genes (transactivación) o para reprimir transcripcionalmente genes (transrepresión). Otro mecanismo involucra la regulación negativa de otros factores de transcripción sin interactuar con los GRE. Existe una regulación compuesta, donde el complejo GR se une a GRE e interactúa con factores de transcripción vecinos para promover o suprimir la transcripción. También se ha propuesto que GR ejerza acciones no genómicas al modular directamente las vías de transducción de señales (MAPK, PI3K, AKT) (Figura 11) (Newton & Holden, 2007; Cruz-Topete & Cidlowski, 2015). De manera importante, los efectos secundarios de los glucocorticoides están directamente relacionados con la transactivación (diabetes, glaucoma) o la transrepresión (supresión del eje HHA) de genes a través de los GRE (Schäcke *et al.*, 2002).

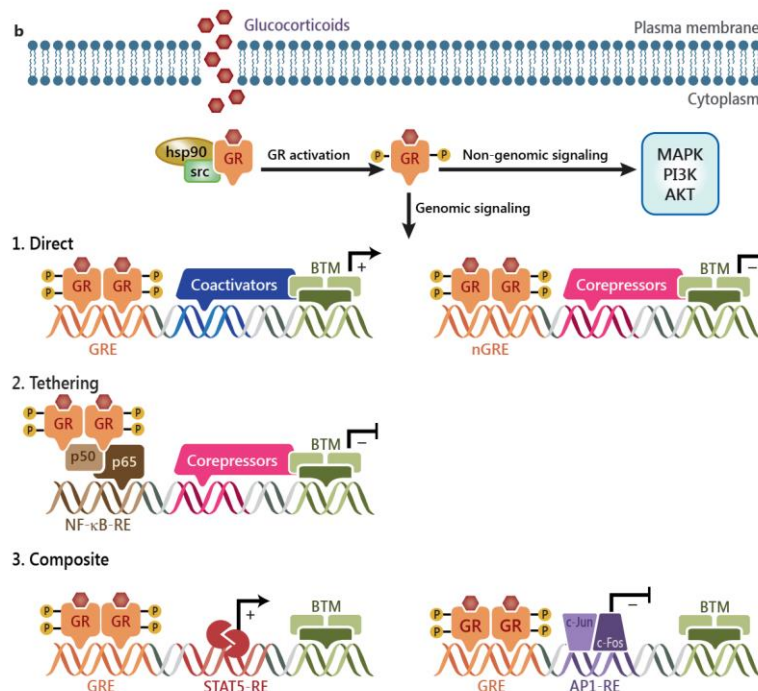


Figura 11. Mecanismo de acción de los glucocorticoides. El complejo GR puede actuar directamente uniéndose a GRE y promover o suprimir la transcripción de genes. También puede anclarse a factores de transcripción y regularlos negativamente. En el mecanismo compuesto, el complejo GR se une a GRE y regula factores de transcripción vecinos para promover o suprimir la transcripción de diversos genes. El

complejo GR también tiene efecto no genómico, interactuando con proteínas relacionadas con diversas vías de señalización (Modificado de Cruz-Topete & Cidlowski, 2015).

6.1.2 Efecto antiinflamatorio clásico de los glucocorticoides

Los glucocorticoides regulan la respuesta inmune tanto a nivel celular como transcripcional. La principal acción antiinflamatoria de los glucocorticoides es reprimir genes proinflamatorios que codifican citocinas, quimiocinas, moléculas de adhesión celular, enzimas inflamatorias y receptores para resolver el proceso inflamatorio y restaurar la homeostasis (NFκB y AP-1). Sin embargo, la actividad antiinflamatoria del GR también puede resultar de interacciones no específicas de los glucocorticoides con los componentes de la membrana o del GR unido a la membrana y de las interacciones de GR con cinasas (p38 y JNK) afectando las vías de señalización inflamatorias independientemente de la transcripción de genes (MAPK, PI3K, AKT). A nivel celular, los glucocorticoides pueden inducir la apoptosis de los linfocitos T, neutrófilos, basófilos y eosinófilos para reducir la inflamación. Los glucocorticoides también pueden reprimir el proceso inflamatorio indirectamente a través de la inducción de moléculas antiinflamatorias (Cruz-Topete & Cidlowski, 2015).

6.1.3 Efecto proinflamatorio de los glucocorticoides

El tipo de exposición a los glucocorticoides y el estado basal del sistema inmunitario son factores importantes que influyen en los efectos de los glucocorticoides. La exposición crónica a los glucocorticoides es inmunosupresora, mientras que la exposición aguda mejora la respuesta inmune periférica (Cruz-Topete & Cidlowski, 2015). Los glucocorticoides pueden inducir la expresión de varios genes relacionados con la inmunidad innata, incluidos varios miembros de la familia de TLRs en células mononucleares. Sin embargo, en las mismas células, los glucocorticoides tienen un efecto inhibitorio sobre la expresión de genes proinflamatorios de la respuesta inmune adaptativa. Los glucocorticoides inducen la expresión de TLR-2 y TLR-4 en células epiteliales pulmonares y aumentan la expresión de TLR-2 inducida por *Haemophilus influenzae*. De igual manera, la dexametasona incrementa la inducción de TLR-2 causada por TNF a través de la activación de GR y su reclutamiento en la región promotora proximal de TLR-2. Los glucocorticoides inducen la expresión de la familia de receptores tipo NOD, principalmente de NLRP3, lo que sensibiliza a los macrófagos a ATP extracelular, y promueve la secreción de citocinas proinflamatorias IL-1β, TNF e IL-6. También inducen la expresión del receptor purinérgico P2Y2R, lo cual promueve la

secreción de IL-6 por las células endoteliales en respuesta a ATP. Por lo tanto, los glucocorticoides pueden trabajar sinérgicamente con mediadores proinflamatorios para reforzar los mecanismos de defensa para asegurar la eliminación y remoción de patógenos (Cruz-Topete & Cidlowski, 2015).

6.1.3 Glucocorticoides sintéticos

Las alteraciones de la estructura de los glucocorticoides han llevado a la creación de compuestos sintéticos con mayor actividad glucocorticoide (Carrol *et al.*, 2012). Los compuestos sintéticos presentan mayor potencia glucocorticoide, pierden actividad mineralocorticoide y tienen mayor vida media y, así, no originan retención de sodio, hipertensión e hipopotasemia (Serra *et al.*, 2012). La actividad aumentada de estos compuestos se debe a incremento de la afinidad por los receptores de glucocorticoide, y retraso de la depuración plasmática, lo cual aumenta la exposición de tejido (Carrol *et al.*, 2012). Tanto los glucocorticoides naturales como los sintéticos son uno de los medicamentos antiinflamatorios más administrados en todo el mundo (Busillo & Cidlowski, 2013).

6.1.4 Vía nasal para la administración de glucocorticoides

Los glucocorticoides se pueden administrar por vía tópica, intralesional, oral, intramuscular e intravenosa (Botargues *et al.*, 2011). Sin embargo, en circunstancias normales, la BBB evita que el 98 % de las moléculas alcancen sus objetivos terapéuticos en SNC. Un enfoque alternativo es la administración intranasal dirigida, donde el objetivo es evitar, en lugar de cruzar, la BBB (Djupesland *et al.*, 2014). Los filamentos nerviosos del primer nervio craneal (el nervio olfatorio) se extienden directamente desde el bulbo olfatorio en la región límbica del cerebro hasta los segmentos superiores posteriores de la nariz, penetran el revestimiento de la mucosa y permiten el contacto directo con el ambiente sin necesitar un receptor sensorial periférico. Esto ofrece un acceso directo de medicamentos al SNC en concentraciones terapéuticas (Djupesland *et al.*, 2014).

6.2 Dexametasona (DEX)

La dexametasona (DEX) es un miembro de la familia de los corticosteroides y análogo de la prednisona (Reátegui-Navarro *et al.*, 2019). Es un glucocorticoide sintético que ejerce su acción agonista uniéndose a receptores de esteroides nucleares específicos y a los receptores glucocorticoides membranales. Su fórmula química es 9-fluoro-11 β ,17,21-

trihidroxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona (Figura 12). Presenta 10 a 20 veces más actividad glucocorticoide que el cortisol, y actividad mineralocorticoide insignificante. Es metabolizada por el citocromo P450 (CYP) 3A4 dentro del hígado y tiene una vida media de 3 horas (Chu *et al.*, 2014-, Ciobotaru *et al.*, 2019). Se utiliza en el tratamiento de numerosas enfermedades, incluida la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, alergias graves, problemas reumáticos, el asma, varias enfermedades de la piel, la inflamación del cerebro y en conjunto con antibióticos en la TB (Ahmed & Hassan, 2020). La DEX ejerce un efecto inhibitor sobre los factores inflamatorios. Es aproximadamente 25 veces más efectiva que otros compuestos corticosteroides. La DEX presenta un efecto antiinflamatorio mayor que los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) como el ibuprofeno y la aspirina. La DEX es tanto antiinflamatoria como inmunosupresora, mientras que los AINES solo inhiben la etapa vascular de la inflamación. Puede inhibir la producción de citocinas proinflamatorias como la interleucina IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF, IFN- γ , VEGF y prostaglandinas (Ahmed & Hassan, 2020).

6.3 Componente A (CpdA)

Debido a los efectos secundarios del tratamiento prolongado con glucocorticoides (osteoporosis, atrofia muscular, hipertensión, alteraciones del comportamiento y trastornos del metabolismo de la glucosa y los lípidos), en los últimos años se han desarrollado activadores selectivos del GR, que mantienen la actividad terapéutica de los glucocorticoides, pero con pocos efectos secundarios (Lesovaya *et al.*, 2005; Schäcke *et al.*, 2007).

Un ligando no esteroideo del GR es el Componente A (CpdA), cloruro de 2-((4-acetoxifenil)-2-cloro-N-metil) etilamonio, un análogo sintético de un precursor de la hidroxifenilaziridina (Figura 12) encontrado en el arbusto africano *Salsola tuberculatiformis* Botschantzev (De Bosscher *et al.*, 2005). Tiene actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora (Saksida *et al.*, 2014). Presenta una afinidad de unión 4 veces mayor que la de la DEX al GR (Lesovaya *et al.*, 2015). El CpdA a diferencia de los glucocorticoides, no provoca la dimerización de GR inducida por ligando, por lo que induce una modesta translocación nuclear del complejo GR y no genera la transactivación de genes a través de los GRE (Robertson *et al.*, 2010). Sin embargo, si tiene la capacidad de inhibir factores de transcripción como NF- κ B, AP-1, Ets-1, Elk-1, SRF y NFATc por anclaje directo (Gossye *et al.*, 2010).

6.4 Curcumina (CUR)

Los medicamentos naturales obtenidos de plantas han sido usados terapéuticamente desde la antigüedad debido a su baja toxicidad. La Curcumina (CUR) o diferuloilmetano (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenol)-1,6-heptadieno-3,5-diona) (Figura 12) es un compuesto polifenólico obtenido de los rizomas de *Curcuma longa* (Avila-Rojas *et al.*, 2018) una planta rizomatosa nativa del sur y sureste de Asia que pertenece a la familia Zingiberaceae (Hatcher *et al.*, 2008). La CUR es una especia y un colorante natural utilizado en la industria alimenticia (Subhashini *et al.*, 2013) y tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, antimutagénicas, antimicrobianas, antivirales, hepatoprotectoras, inmunomoduladoras, neuroprotectoras, antiartríticas, antihipertensivas, antiangiogénicas, antiagregación plaquetaria, antidiabéticas, antiobesidad, hipolipemiantes, analgésicas, antidepresivas y antiisquémicas. (Hatcher *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2011; Izui *et al.*, 2016; Bassani *et al.*, 2017; Saifi *et al.*, 2022). La CUR controla la respuesta inflamatoria al suprimir la actividad de las enzimas ciclooxigenasa-2 (COX-2), lipoxigenasa y óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). Además, CUR suprime la activación de NF- κ B; inhibe la producción de las citocinas inflamatorias TNF, interleucina (IL)-1, -2, -6, -8 y -12, proteína quimiotáctica de monocitos (MCP) y proteína inhibidora de la migración; y disminuye las MAPK y Janus (Jurenka, 2009). La CUR puede cruzar la BBB, por lo que se ha propuesto como tratamiento de diferentes enfermedades del SNC (Dong *et al.*, 2018)

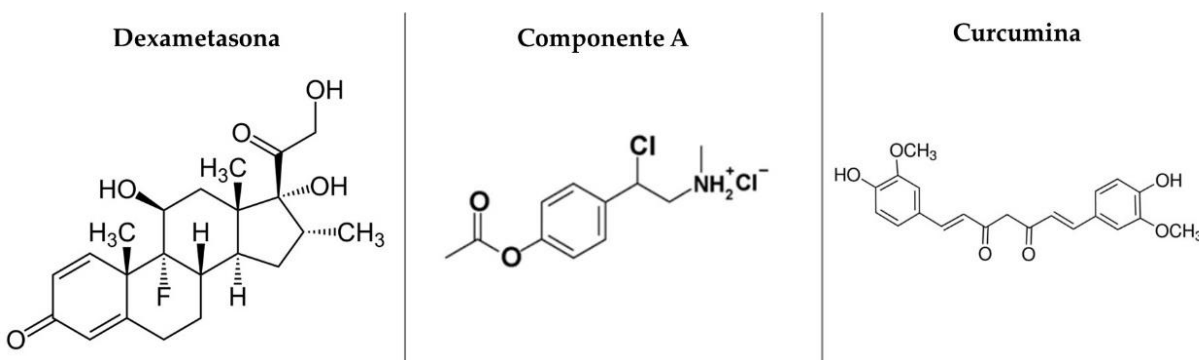


Figura 12. Estructura química de la DEX, CpdA y CUR. Moléculas con propiedades antiinflamatorias utilizadas para el desarrollo experimental de la presente tesis.

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA
DISMINUIR LA NEUROINFLAMACIÓN
EN UN MODELO DE TUBERCULOSIS
PULMONAR

CAPITULO 2

ANTECEDENTES

*DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOQUÍMICAS*

II. ANTECEDENTES

1. RELACIÓN DE LA TB CON ENFERMEDADES MENTALES COMUNES

Los trastornos mentales se encuentran entre los principales problemas a nivel mundial relacionados con la salud. El Estudio de Incidencia Global de Enfermedades, Lesiones y Factores de Riesgo (GBD, por sus siglas en inglés) en 2019 mostró que los dos trastornos mentales más incapacitantes son la depresión y la ansiedad (Santomauro *et al.*, 2021). Además, en 2020 se presentó un aumento sustancial en la prevalencia del trastorno depresivo mayor y los trastornos de ansiedad como resultado de la pandemia de COVID-19 (Santomauro *et al.*, 2021).

La depresión es un trastorno mental que se manifiesta con un estado de ánimo melancólico, pérdida de interés o placer, disminución de la energía, sentimiento de culpa o baja autoestima, trastornos del sueño o del apetito y mala concentración (Paykel, 2008; Marcus *et al.*, 2012). Los trastornos depresivos afectan a más de 320 millones de personas en todo el mundo (Ross *et al.*, 2023). En su forma más grave, la depresión puede conducir al suicidio, que representa el 1,5 % de las muertes en todo el mundo (Ross *et al.*, 2023). Además, la depresión se asocia frecuentemente con síntomas de ansiedad, siendo la depresión ansiosa (comorbilidad de ansiedad y depresión) un síndrome común (Choi *et al.*, 2020). La incidencia de depresión es alta entre las personas con enfermedades crónicas como la enfermedad coronaria, el cáncer o la diabetes, y se asocia con un mal pronóstico de la enfermedad física y con mayor mortalidad (Boing *et al.*, 2012; Uhlenbusch *et al.*, 2019).

La ansiedad es un sentimiento vago, subjetivo e inespecífico de inquietud, aprensión, tensión, nerviosismo excesivo y una sensación de muerte inminente, tendencia a evitar irracionalmente objetos o situaciones, y ataques de ansiedad (GBD, 2017). La ansiedad se asocia con una disminución del funcionamiento y la calidad de vida, y puede ocurrir en el contexto de una enfermedad. Es una de las reacciones más frecuentes que acompañan el inicio o la recurrencia de una enfermedad respiratoria (Bystritsky *et al.*, 2013; Kelly *et al.*, 2022). Sin embargo, la mayoría de las personas con problemas de salud mental no son diagnosticadas o tratadas de manera eficaz en países de ingresos bajos y medios (Wang *et al.*, 2018).

Tanto las enfermedades mentales comunes (EMC) como la TB son problemas de salud pública que comparten factores de riesgo entre los que se encuentran la pobreza, la

adicción a las drogas, y la falta de vivienda (Lara-Espinosa & Hernández-Pando, 2021). Las enfermedades pulmonares se encuentran entre las condiciones crónicas que están estrechamente relacionadas con trastornos como la ansiedad y la depresión (Wells *et al.*, 1988). La ansiedad y la depresión disminuyen el control de la infección y aumentan la severidad y variedad de los síntomas presentes en los pacientes. Generan mayor uso de los servicios de salud, baja adherencia al tratamiento, tratamiento más extenso y desarrollo de resistencia antimicrobiana, lo que contribuye a un incremento en el número de muertes (Van den Heuvel *et al.*, 2013; Ruiz-Grosso *et al.*, 2020; Kumpuangdee *et al.*, 2022).

En países de ingresos altos, medianos y bajos existe una incidencia alta de ansiedad y depresión en los pacientes que TB. Países con una alta prevalencia de TB como la India (Mathai *et al.*, 1981; Singh *et al.*, 2015; Kumar *et al.*, 2016; Shyamala *et al.*, 2018; Salodia *et al.*, 2019; Katare & Harsha, 2022; Kumpuangdee *et al.*, 2022), Pakistán (Husain *et al.*, 2008; Aamir & Aisha, 2010; Sulehri *et al.*, 2010; Rubeen *et al.*, 2014; Amreen & Rizvi, 2016; Walker *et al.*, 2018; Jat & Juseja, 2022; Razzaq *et al.*, 2022), Etiopia (Duko *et al.*, 2015; Dasa *et al.*, 2019; Ambaw *et al.*, 2020; Mohammedhussein *et al.*, 2020) y China (Chen *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2018; Gong *et al.*, 2018; Qiu *et al.*, 2018) han informado de la presencia de depresión y ansiedad en pacientes con TB (Figura 13) (Cuadro 2). El promedio de depresión entre los pacientes con TB es del 50 % y de ansiedad del 40 % al 50% (Figura 13). Estos hallazgos demuestran que el vínculo entre la TB y las EMC es mayor que entre las EMC y otras enfermedades crónicas, como el cáncer o la obesidad, que oscila entre el 20 % y el 36 % (Pitman *et al.*, 2018; Fulton *et al.*, 2022).

Los pacientes con una duración más prolongada de TB tienen una mayor incidencia de depresión y ansiedad (Singh *et al.*, 2015), y la depresión es mayor en pacientes con TB pulmonar que extrapulmonar (Shymala *et al.*, 2018). Aunado a que, a pesar de recibir tratamiento, los pacientes con TB continúan con depresión y ansiedad (Kruijshaar *et al.*, 2010; Rubeen *et al.*, 2014), siendo los pacientes adultos más propensos a la depresión (Kumar *et al.*, 2016). Los pacientes con TB multidrogorresistente (TB-MDR) presentan niveles más altos de depresión, lo cual se ha relacionado con la presencia de efectos secundarios causados por la medicación para tratar la TB-MDR y al efecto negativo financiero del tratamiento (Javaid *et al.*, 2017; Aghanwa & Erhabor, 1998; Vega *et al.*, 2004; Walker *et al.*, 2019; Susanto *et al.*, 2023). Además, los pacientes con TB presentan tasas bajas a moderadas de ideas suicidas (9,0%) y antecedentes de intento de suicidio (3,1%) (Yen *et al.*, 2015) (Cuadro 2).

La incidencia de depresión y ansiedad en los pacientes con TB se han relacionado con factores sociales como el estigma social, la percepción de la gravedad de la enfermedad, la pobreza, el aislamiento social, el abuso de drogas, la dependencia del alcohol, el tabaquismo y los bajos niveles educativos (Aamir & Aisha, 2010).

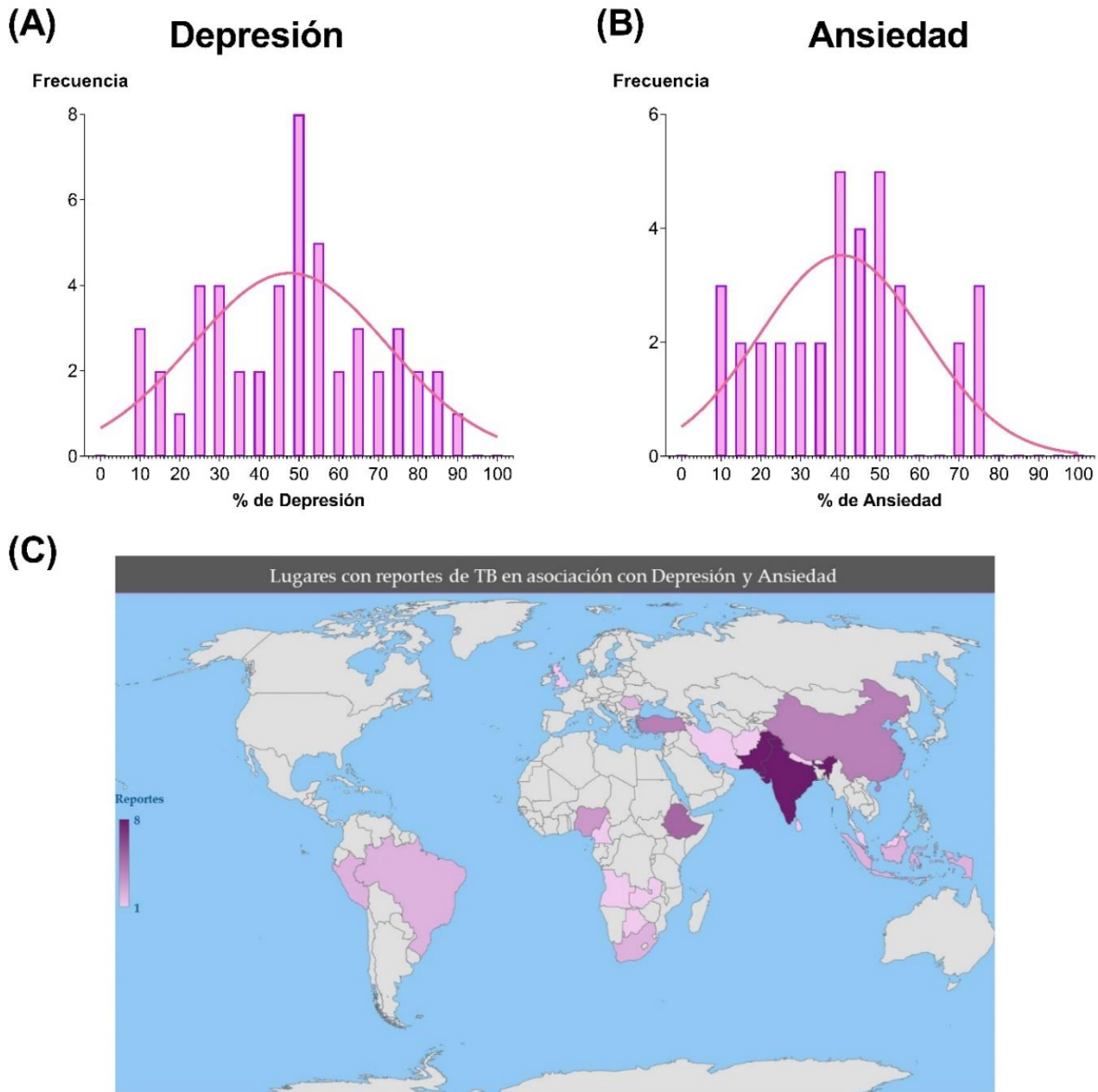


Figura 13. Asociación entre depresión, ansiedad y TB. **(A)** Porcentaje de depresión en pacientes con TB descrito en diversos estudios. **(B)** Porcentaje de ansiedad en pacientes con TB descrito en diversos estudios **(C)** Lugares con reportes de TB en asociación con depresión y ansiedad. Existe una asociación entre depresión, ansiedad y TB en países de ingresos altos y bajos y medios. Países con alta prevalencia de TB como India, Pakistán y China han reportado una asociación de la enfermedad con depresión y ansiedad (Modificado de Lara-Espinosa & Hernández-Pando, 2021).

Cuadro 2. Resumen de la investigación que examina la asociación entre depresión, ansiedad y tuberculosis entre 1981 y principios de 2023. Hay espacios en blanco cuando el artículo citado solo reporta los datos de depresión o ansiedad (Modificado de Lara-Espinosa & Hernández-Pando, 2021).

Lugar	Cita	Pacientes	Escala	Depresión	Ansiedad
<i>India</i>	Mathai <i>et al.</i> , 1981	70 y 70 controles	ICD-9	15.71 %	7.14%
<i>Nigeria</i>	Aghanwa & Erhabor, 1998	53	ICD-10/ GHQ-30	30.2%	
<i>Turquia</i>	Aydin & Uluşahin, 2001	119	CIDI, ICD-10, DSM-IV and GHQ-12	21%	20.3 %
<i>Peru</i>	Vega <i>et al.</i> , 2004	75	DSM-IV	52.2%	8.7%
<i>Pakistan</i>	Husain <i>et al.</i> , 2008	108	HAD	46.3%	47.2%
<i>Nigeria</i>	Issa <i>et al.</i> , 2009	65	PHQ-9	27.7 %	
<i>Inglaterra</i>	Kruijshaar <i>et al.</i> , 2010	61	SF-36/EQ-5D	48%	22%
<i>Pakistan</i>	Aamir & Aisha, 2010	65	HAD	72.2%	72.2%
<i>Pakistan</i>	Sulehri <i>et al.</i> , 2010	60	BDI-II	80%	
<i>Nigeria</i>	Ige & Lasebikan, 2011	88	HAD	45.5%	
<i>Rumania</i>	Adina <i>et al.</i> , 2011	60	BDI/STAI	78%	42%
<i>Sudáfrica</i>	Peltzer & Louw, 2013	4900	Kessler-10	81.1%	32.9 %
<i>Peru</i>	Ugarte-Gil <i>et al.</i> , 2013	325	CES-D	37%	
<i>Zambia</i>	Van den Heuvel <i>et al.</i> , 2013	231	DSM-IV/ICD-10	9.3 %	27.9%
<i>Pakistan</i>	Rubeen <i>et al.</i> , 2014	70 y 70 controles	HAD	37.1%	37.1%
<i>Malasia</i>	Atif <i>et al.</i> , 2014	336	SF-36	67.1%	
<i>Las Filipinas</i>	Masumoto <i>et al.</i> , 2014	561	PHQ-9	16.8 %	
<i>Turquia</i>	Kibrisli <i>et al.</i> , 2015	94 y 99 controles	LSAS		68.4%
<i>India</i>	Singh <i>et al.</i> , 2015	100 y 100 controles	ICD-10/TMAS/BDI	44%	38%
<i>Etiopia</i>	Duko <i>et al.</i> , 2015	424	HAD	43.4 %	41.5 %
<i>Iran</i>	Emami <i>et al.</i> , 2015	146	SCL-90	52.7 %	41.1 %
<i>Taiwan</i>	Yen <i>et al.</i> , 2015	4629	ICD-9-CM	1.71%	
<i>India</i>	Kumar <i>et al.</i> , 2016	100	GHQ-12/BDI-II/HARS	47.29 %	52.71 %

Lugar	Cita	Pacientes	Escala	Depresión	Ansiedad
<i>Sri Lanka</i>	Galhenage <i>et al.</i> , 2016	430	HAD	25.2 %	14.7 %
<i>China</i>	Chen <i>et al.</i> , 2016	1105	SDS/ SAS	29.8%	13.5%
<i>Turquia</i>	Yilmaz & Dedeli, 2016	208	HAD	60.5 %	26%
<i>Pakistan</i>	Amreen & Rizvi, 2016	100	PHQ-9/ GAD-7	56%	65%
<i>Camerún</i>	Kehbila <i>et al.</i> , 2016	265	PHQ-9	61.1 %	
<i>Angola</i>	Paulo & Peixoto, 2016	81	HAD	49.4%	38.3%
<i>Brasil</i>	Dos Santos <i>et al.</i> , 2017	86	HAD	31.4%	38.4 %
<i>Afganistan</i>	Javid <i>et al.</i> , 2017	289	DSM-IV/HAM-D	87.5 %	
<i>India</i>	Shyamala <i>et al.</i> , 2018	262	PHQ-9	80.37 %	74%
<i>China</i>	Wang <i>et al.</i> , 2018	1252	HAD/ PHQ-9	18.13%	18.37%
<i>China</i>	Gong <i>et al.</i> , 2018 Qiu <i>et al.</i> , 2018	1342	CES-D	48%	
<i>Pakistan</i>	Walker <i>et al.</i> , 2018	1279	PHQ-9	42.8%	74%
<i>India</i>	Salodia <i>et al.</i> , 2019	106	PHQ-9	23.6%	
<i>Brasil</i>	De Castro-Silva <i>et al.</i> , 2019	260	PHQ-9	60.2%	
<i>Etiopia</i>	Dasa <i>et al.</i> , 2019	403	PHQ-9	51.9%	
<i>Nepal</i>	Walker <i>et al.</i> , 2019	135	HSCL-25	22.2%	15.6 %
<i>Etiopia</i>	Ambaw <i>et al.</i> , 2020	648	PHQ-9	73.6%	
<i>Etiopia</i>	Mohammedhussein <i>et al.</i> , 2020	410	HAD	55.9%	54.6%
<i>Turquia</i>	Bozkuş <i>et al.</i> , 2021	45 y 48 controles	HAD	44%	40%
<i>Rumania</i>	Stoichita <i>et al.</i> , 2021	46	HAD	46%	43%
<i>Pakistan</i>	Jat & Juseja, 2022	112	HAD	46.3%	47.2%
<i>Pakistan</i>	Razzaq <i>et al.</i> , 2022	400	HAD	56%	55%
<i>India</i>	Katara & Harsha, 2022	73	HAD	58.5%	21.9 %
<i>India</i>	Kumpuangdee <i>et al.</i> , 2022	103	HAD	7.8%	6.8%
<i>Indonesia</i>	Sunjaya <i>et al.</i> , 2022	74	ZSRAS	71.6%	48.7%

Lugar	Cita	Pacientes	Escala	Depresión	Ansiedad
República de Botswana	Jones-Patten <i>et al.</i> , 2023	180	PHQ-9/ ZSRAS	26.1 %	47.2%
Etiopia	Assefa <i>et al.</i> , 2023	418	HAD	55.9 %	39.5 %
Indonesia	Susanto <i>et al.</i> , 2023	102	ZSRDS/ZSRAS	68.6%	86.3%

30-item General Health Questionnaire (GHQ-30). Beck Depression Inventory-II (BDI-II). Beck's depression inventory (BDI). Center for Epidemiological Studies Depression Scale (CES-D). Composite international di-agnostic interview (CIDI). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV). European Quality of Life-5 Dimensions (EQ-5D). General Health Questionnaire-12 (GHQ-12). Generalised Anxiety Disorder Questionnaire (GAD-7). Hamilton Anxiety Rating Scale (HARS). Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D). Hopkins Symptom Checklist (HSCL-25). Hopkins Symptom Checklist-25 (HSCL-25). Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD). International Classification of Disease, tenth edition (ICD-10). International Classi-fication of Diseases, Ninth Edition, Clinical Modification (ICD-9-CM). Kessler Psychological Distress Scale (Kessler -10). Liebowitz Social Anxiety Scale (LSAS). Riker Sedation-Agitation Scale (SAS). Sheehan Disability Scale (SDS). Short Form 36 Health Survey (SF-36). State-Trait Anxiety Inventory (STAI). Symptom Check-list-90 (SCL-90). Taylor's Manifest Anxiety Scale (TMAS). The Patient Health Questionnaire (PHQ-9). The Zung Self-Rating Depression Scale (ZSRDS). The Zung Self-Rating Anxiety Scale (ZSRAS).

2. RESPUESTA INMUNE EN EL SNC DURANTE TB PULMONAR EXPERIMENTAL

En el modelo murino de TB pulmonar experimental se observó que, en ausencia de bacterias cultivables en el cerebro, se presentó un aumentó en la producción de citocinas proinflamatorias TNF, IFN- γ e IL-12, de las enzimasIDO e iNOS y de IL-10, IL-4 y TGF- β en el hipotálamo, hipocampo y cerebelo (Figura 14). Degeneración neuronal en la etapa temprana de la infección y muerte neuronal en el hipocampo durante la etapa avanzada (Figura 15). Con aumento en los niveles de p38, JNK y reducción de los niveles de BDNF, aumento en la permeabilidad de la BBB y modificaciones en los niveles de epinefrina, norepinefrina, dopamina y serotonina (Figura 16). Estos cambios están relacionados con la presencia de conducta de enfermedad, conducta similar a la depresión, conducta similar a la ansiedad, daño en la consolidación de la memoria a corto y a largo plazo, daño neurológico y miedo condicionado (Figura 17). Estos datos proponen que la extensa inflamación pulmonar y producción de citocinas local está asociada con el desencadenamiento de procesos neuroinflamatorios y modificaciones en los neurotransmisores que podrían ser los causantes de la muerte neuronal y de las anormalidades conductuales presentes en los animales con TB pulmonar en ausencia de bacterias cultivables en el cerebro (Lara-Espinosa *et al.*, 2020) (Figura 18).

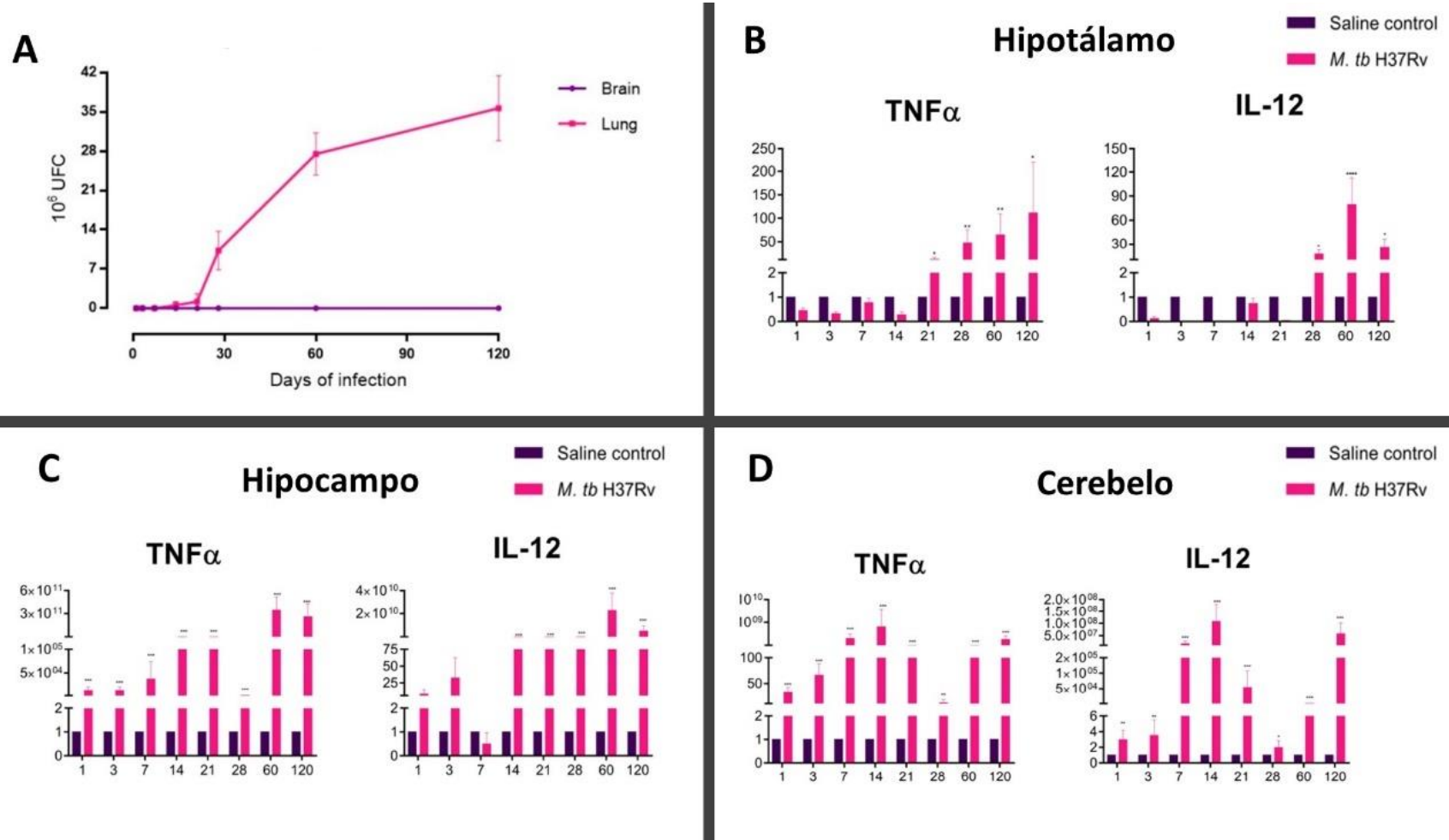
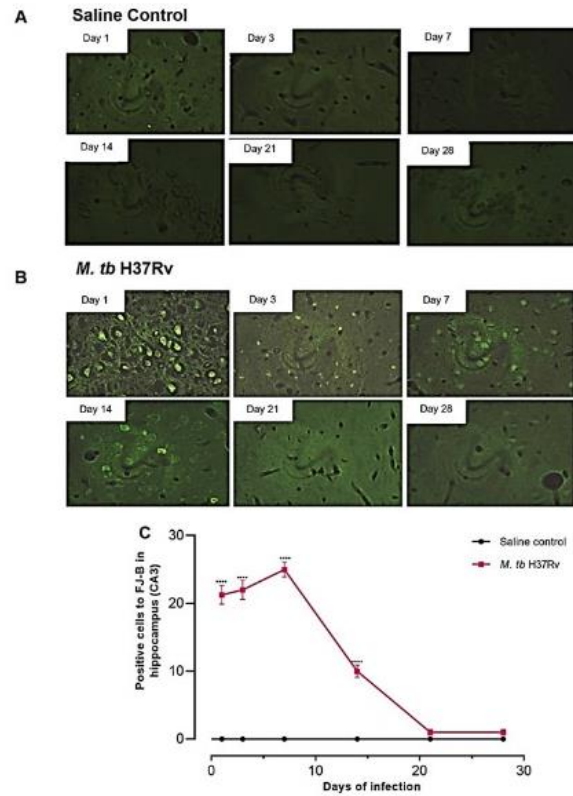


Figura 14. Efecto de *M. tuberculosis* en el SNC. (A) Carga bacilar en pulmón y cerebro de ratones BALB/c infectados con 2.5×10^5 UFC de *M. tuberculosis H37Rv* y expresión de TNF e IL-12 en (B) el hipotálamo, (C) hipocampo y (D) cerebelo (Imágenes representativas, modificado de Lara-Espinosa *et al.*, 2020).

A Neurodegeneración



B Muerte neuronal

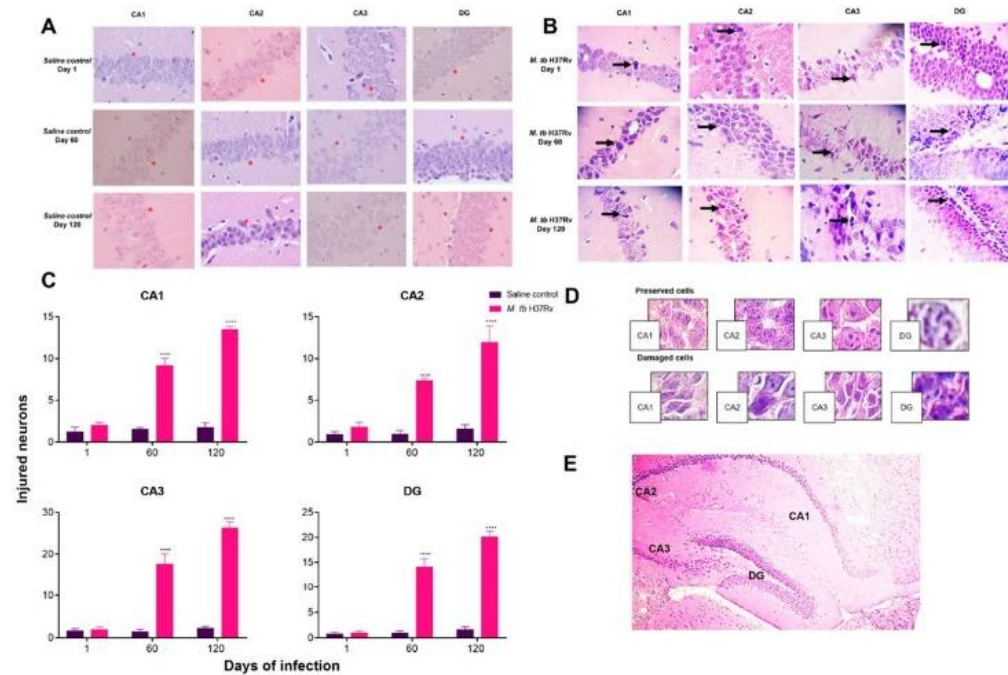


Figura 15. Neurodegeneración y muerte neuronal en animales con TB. La infección pulmonar con *M. tuberculosis* indujo (A) neurodegeneración en el hipocampo en la fase temprana de la infección y (B) muerte neuronal en la etapa avanzada (Imágenes representativas, modificado de Lara-Espinosa *et al.*, 2020).

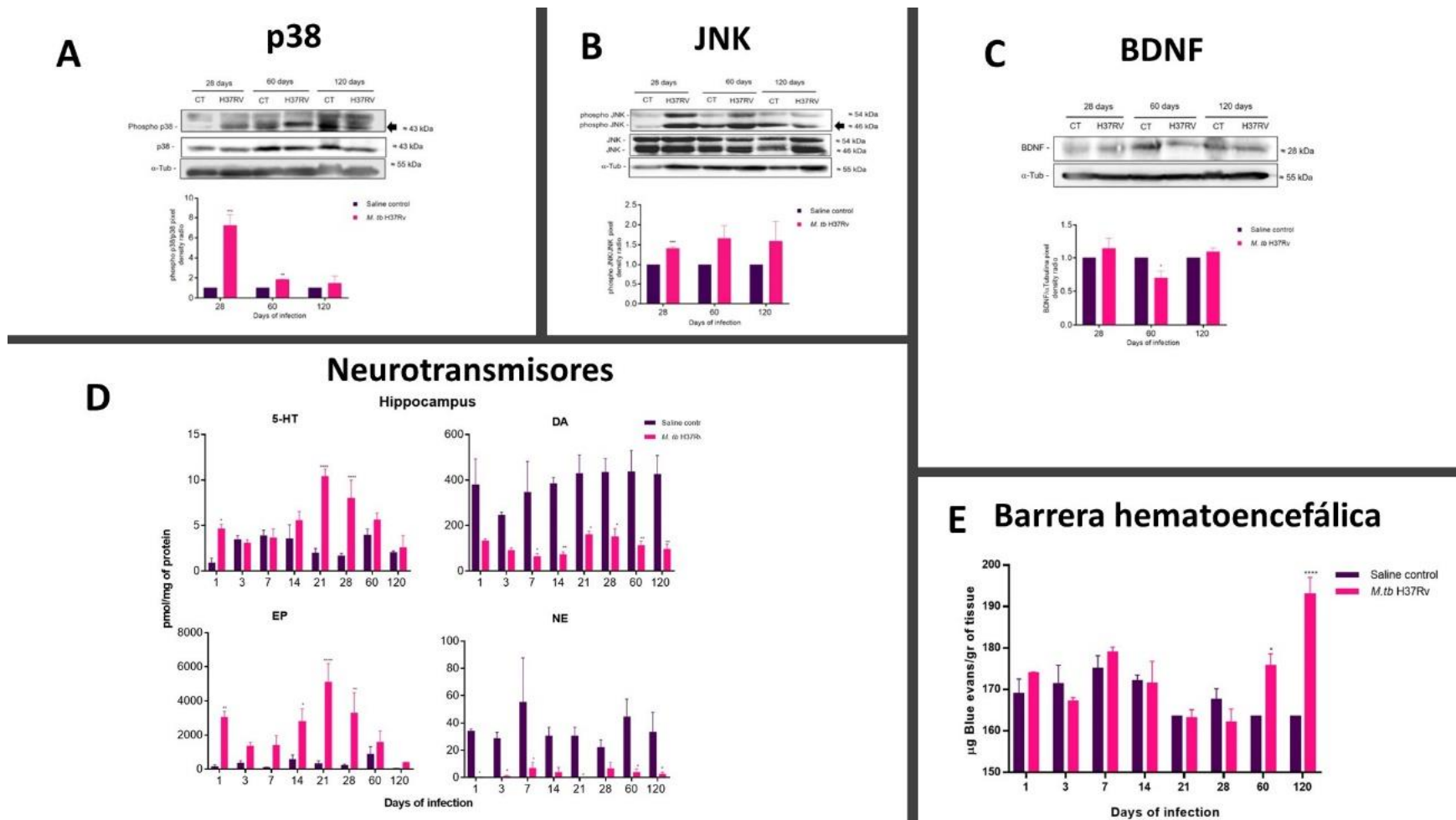
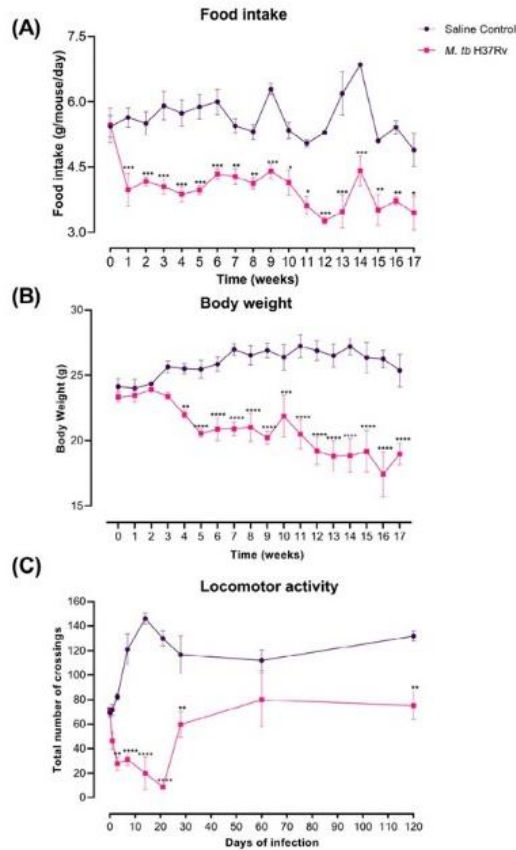


Figura 16. Cambios bioquímicos inducidos por *M. tuberculosis* en el SNC. La infección pulmonar con *M. tuberculosis* aumentó la producción de (A) JNK y de (B) p38 y disminuyó los niveles de (C) BDNF. (D) Se presentaron cambios importantes en los niveles de serotonina, dopamina, epinefrina y norepinefrina. (E) En la etapa avanzada de la infección incrementó la permeabilidad de la BBB (Imágenes representativas, modificado de Lara-Espinosa *et al.*, 2020).

A Conducta de enfermedad



B Cambios conductuales

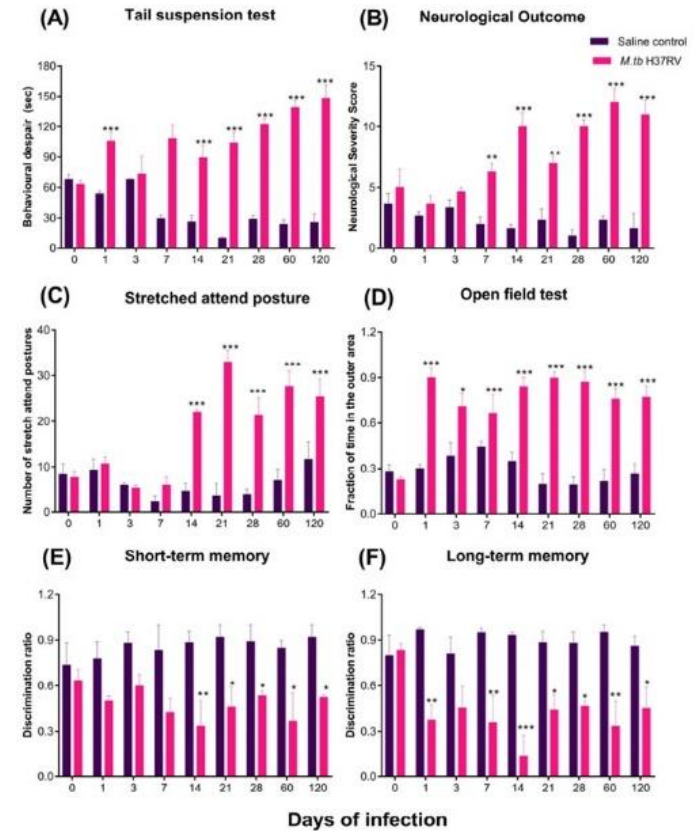


Figura 17. Cambios conductuales en animales con TB. La infección pulmonar con *M. tuberculosis* provocó (A) conducta de enfermedad y (B) diversos cambios conductuales, como depresión, ansiedad y daño en la memoria (Imágenes representativas, modificado de Lara-Espinosa *et al.*, 2020).

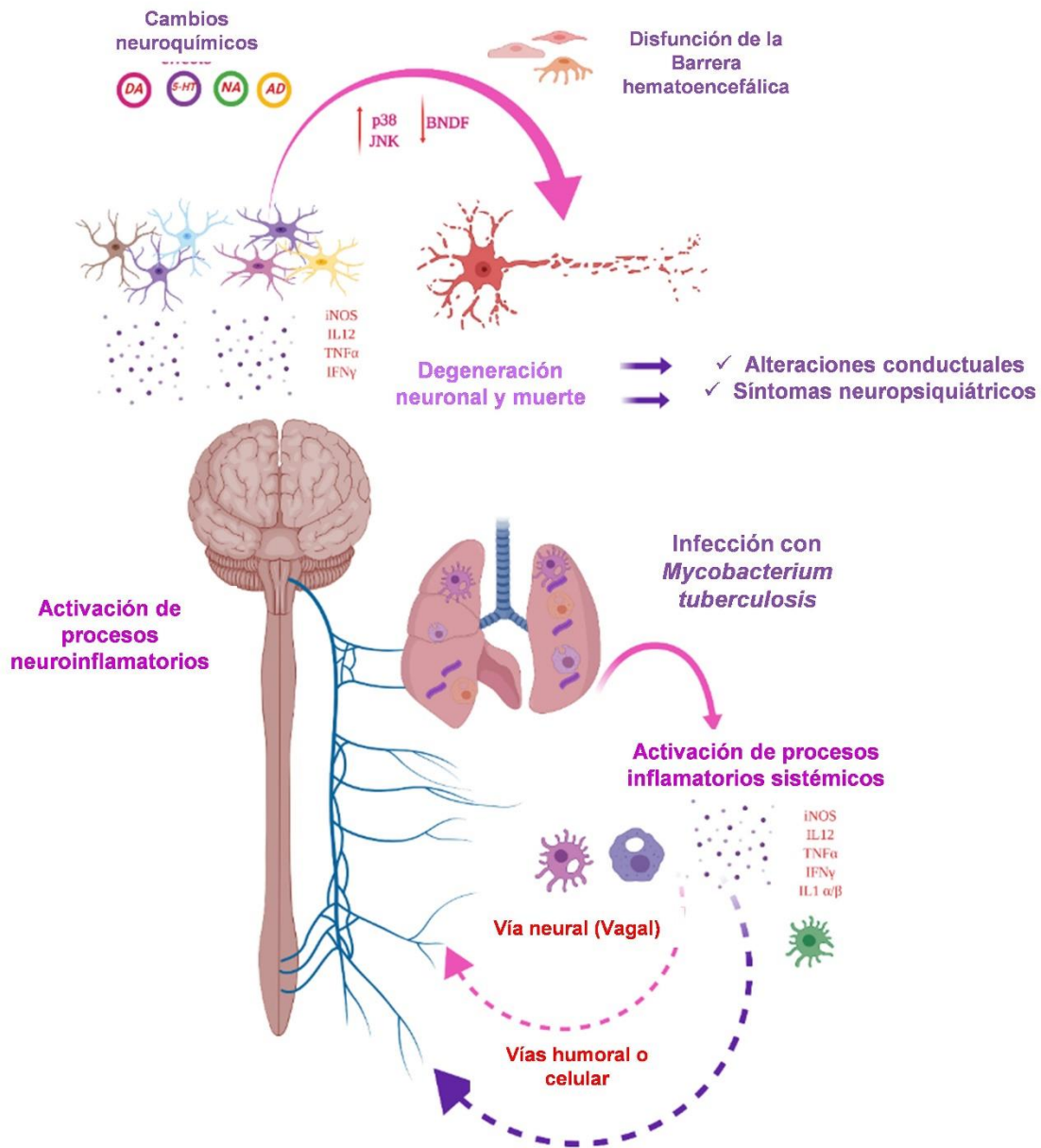


Figura 18. *M. tuberculosis* induce procesos neuroinflamatorios durante la infección pulmonar. La respuesta inmune contra la micobacteria genera inflamación local que afecta al cerebro por las vías neural y humoral. La inflamación activa procesos neuroinflamatorios con la producción de citocinas proinflamatorias que perturban la respuesta central y altera la producción de neurotransmisores. La respuesta inflamatoria central induce la activación de p38 y JNK y disminuye los niveles de BDNF. Todo esto provoca degeneración neuronal, muerte y aumenta la permeabilidad de la BBB. En conjunto, estos hallazgos podrían estar causando las alteraciones de comportamiento que se presentaron en los ratones infectados (Lara-Espinosa *et al.*, 2020).

3. EL USO DE GLUCOCORTICOIDES EN LA TB

La inflamación crónica contribuye a la muerte por TB. El uso de agentes antiinflamatorios adyuvantes como los corticosteroides para el tratamiento de la TB pulmonar se ha investigado desde la década de 1960 (Schutz *et al.*, 2018). Los corticosteroides disminuyen significativamente la mortalidad en todas las formas de TB. En meningitis y pericarditis tuberculosas, los glucocorticoides reducen la respuesta inflamatoria del anfitrión y la fibrosis, lo que mejora la supervivencia de los pacientes y limita la incidencia de secuelas crónicas como la hidrocefalia y la constricción pericardial. En TB pulmonar reactivada, pleuritis tuberculosa e infección primaria de TB pulmonar con linfadenopatía (inflamación de los ganglios linfáticos) la terapia con glucocorticoides disminuye los síntomas de manera eficaz (Smego & Ahmed, 2003). En el caso de TB pulmonar el uso de glucocorticoides ha mostrado resultados contradictorios. Por un lado, el uso de los glucocorticoides en pacientes con enfermedad avanzada genera un beneficio temprano y sostenido, ya que disminuye las características clínicas (reducción de la fiebre, aumento de peso, reducción de la hospitalización) y radiológicas de la TB pulmonar (Smego & Ahmed, 2003). La terapia con prednisolona (2.75 mg/Kg/diario) se ha asociado con una eliminación más rápida de *M. tuberculosis* del esputo en pacientes coinfectados por VIH y con TB (Mayanja-Kizza *et al.*, 2005). Un ensayo clínico evaluó el uso de prednisolona, como profilaxis para el síndrome inflamatorio de reconstitución inmune a la TB (TB-IRIS) en pacientes infectados por el VIH que reciben terapia antirretroviral, lo que resultó en una menor incidencia de IRIS en el grupo de tratamiento (Meintjes *et al.*, 2010). En pacientes con TB pulmonar ingresados con insuficiencia respiratoria aguda los glucocorticoides disminuyen la mortalidad de los pacientes (Yang *et al.*, 2016). Por otro lado, existen trabajos que no encuentran ningún efecto beneficioso del uso de corticoides en la TB pulmonar (Smego & Ahmed, 2003). En un estudio realizado en Corea del Sur se observó que pacientes con uso prolongado de corticoides inhalados incrementa el riesgo de desarrollar TB pulmonar (Lee *et al.*, 2013). En otro estudio se observó que pacientes con TB pulmonar en ventilación mecánica que recibieron corticoides tuvieron una mayor tasa de mortalidad que los que no recibieron corticoides (Lemos *et al.*, 2022).

En un modelo animal de conejos infectados vía aerosol con *M. tuberculosis* CDC1551, la administración intramuscular de 10 mg/Kg/día de DEX aumentó la carga bacilar en el pulmón; sin embargo, el número de tubérculos visibles fue menor. Esta disminución en el daño tisular coincidió con una disminución de linfocitos T CD4⁺ y aumento de linfocitos B y células CD11b⁺ en el pulmón (Kesevan *et al.*, 2005). Además, un estudio

encontró que los glucocorticoides como la DEX evitan la muerte celular necrótica de las células infectadas con *M. tuberculosis* al promover la desfosforilación de p38 dependiente de la proteína cinasa fosfatasa 1 activada por mitógeno (MKP-1) (Gräb *et al.*, 2019).

4. ADMINISTRACIÓN INTRANASAL DE GLUCOCORTICOIDES PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DEL SNC

Desde la perspectiva terapéutica, la administración IN de medicamentos es más efectiva para el tratamiento de trastornos inflamatorios del SNC que vías de administración sistémicas, como se ha demostrado en múltiples estudios (Upadhyay *et al.*, 2014). En un modelo murino de neuroinflamación inducido por una inyección sistémica de LPS, la administración IN de DEX disminuyó el porcentaje de células cerebrales positivas a la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), redujo la presencia de neutrófilos en el cerebro y disminuyó la expresión de IL-6. La disminución de estos marcadores inflamatorios fue menor cuando la DEX se administró vía intravenosa (IV), demostrando la eficacia de la vía de administración IN (Meneses *et al.*, 2017). En un modelo de accidente cerebrovascular inducido por oclusión de la arteria cerebral media por 60 minutos, la administración IN de DEX redujo el daño del tejido cerebral isquémico, redujo la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, disminuyó la mortalidad, disminuyó el déficit neurológico y aumento el peso de los animales (Espinosa *et al.*, 2020). Otro estudio mostró que la administración IN de metilprednisolona a ratones con encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) redujo la respuesta neuroinflamatoria y disminuyó la infiltración de células inmunitarias y la desmielinización, de manera similar a la administración intravenosa (Rassy *et al.*, 2020). Finalmente, en un modelo murino de exposición crónica a tolueno se observó que una sola administración IN de metilprednisolona disminuyó los niveles de TNF, ON y la expresión de GFAP. Además, disminuyó el daño histológico a nivel central (Giraldo-Velásquez *et al.*, 2022).

5. TRATAMIENTO CON CpдA EN ENFERMEDADES INFLAMATORIAS

El efecto antiinflamatorio del CpдA ha sido estudiado en diversos modelos de enfermedades inflamatorias. En un modelo de inflamación en el cojinete plantar de ratón inducido por zimozan, el CpдA disminuyó la actividad de NF- κ B y la expresión de IL-6 e IL-8, así como también evitó la hinchazón de la pata (De Bosscher *et al.*, 2005). También se ha observado el efecto antiinflamatorio del CpдA en diversos modelos de artritis reumatoide inducidos por colágeno, donde el tratamiento con CpдA disminuye la producción de TNF, IL-1 β e IL-6 lo que se relaciona con una disminución en la severidad

de la enfermedad (Dewint *et al.*, 2008; Rauner *et al.*, 2013). Resultados similares se encontraron en un modelo de EAE, donde el tratamiento con CpdA disminuyó la inflamación, la desmielinización, la infiltración inflamatoria en la espina vertebral y la expresión de IFN- α , IL-1 β , TNF, IL-23, IL-17 (van Loo *et al.*, 2010; Wüst *et al.*; 2009). En un modelo de neuritis autoinmune experimental (NAE) el tratamiento con CpdA inhibió la paraparesia; disminuyó la infiltración de linfocitos y macrófagos en los nervios ciáticos y disminuyó la progresión del dolor neuropático. Estos cambios se presentaron con una disminución de la desmielinización y un cambio de la respuesta inmunológica Th1/Th17 a una respuesta T reguladora Foxp3+/CD4+ Treg) (Zhang *et al.*, 2009) En un modelo murino de Diabetes Mellitus tipo 1 inducida por múltiples dosis bajas de estreptozotocina, el tratamiento con CpdA disminuyó la respuesta inflamatoria M1/Th1/Th17 y promovió una respuesta M2/Th2/Treg evitando el daño en las células beta pancreáticas y promovió disminución de la hiperglicemia (Saksida *et al.*, 2014)

6. EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LA CURCUMINA

La CUR disminuye la respuesta inflamatoria al regular la producción de moléculas inflamatorias en modelos *in vitro* e *in vivo*. La CUR reduce la inflamación similar a la psoriasis inducida por imiquimod (IMQ) y la hiperplasia epidérmica en un modelo de ratón al regular el eje IL-23/IL-17A al inhibir IL-1 β e IL-6 (Sun *et al.*, 2013). En un modelo de inflamación de la mucosa gástrica inducida por la infección con *Helicobacter pylori*, el tratamiento con CUR disminuyó los agregados linfoides en la mucosa gástrica y la expresión de citocinas inflamatorias como TNF, IFN- γ , IL-6 e IL-1 β (Santos *et al.*, 2015). Un marco tetraédrico de ácidos nucleicos unido a CUR disminuyó los niveles de iNOS, TNF, IL-1 β e IL-6 de células RAW264.7 estimuladas con LPS. Además, disminuyó la inflamación en el tobillo de un modelo murino de artritis de gota de manera similar a la colchicina (Zhang *et al.*, 2022). Recientemente se observó que el tratamiento con 240 mg/día de nanocurcumina en pacientes con COVID-19 moderado disminuyó la expresión de TNF e IFN γ y los pacientes mostraron una recuperación más rápida (Asadirad *et al.*, 2022). En la línea celular epitelial intestinal humana Caco-2 tratadas con TNF, un nanoportador de almidón reticulado unido a CUR disminuyó la expresión de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6 e IL-8 (Salah *et al.*, 2022). En un modelo animal de rata Wistar con daño renal y hepático inducido con nano partículas de cobre, el tratamiento con nano partículas de CUR disminuyó las alteraciones conductuales presentes en los animales, el daño renal y hepático, la expresión de iNOS, TNF e IL1- β , disminuyó apoptosis y aumentó los niveles de enzimas antioxidantes (Tahamy *et al.*, 2022). En modelo de estrés

crónico moderado en rata Sprague Dawley, el tratamiento con CUR disminuyó los niveles de cortisol y de ACTH, el estrés oxidativo, la inflamación y el daño muscular de los animales (Miao *et al.*, 2022).

En el SNC, el tratamiento con CUR en un modelo murino de EAE inhibió la activación de la microglía en la médula ósea, disminuyó la severidad de la enfermedad, disminuyó los niveles de TNF e IL-6 en suero y de IL-1 β e iNOS en la médula ósea. En este mismo trabajo se observó que el tratamiento con CUR en células de microglia BV-2 estimuladas con LPS disminuyó los niveles de TNF e IL-6 (Sun *et al.*, 2022). En un modelo de enfermedad de Alzheimer inducida por inyección intracerebroventricular de estreptozotocina en rata Wistar, el tratamiento con nanopartículas de CUR mejoró los parámetros conductuales de los animales, disminuyó el estrés oxidativo y los niveles de TNF en la corteza y el hipocampo (Noor *et al.*, 2022). En un modelo de infección crónica con *Toxoplasma gondii*, el tratamiento con CUR disminuyó la conducta similar a la depresión y la conducta similar a la ansiedad, disminuyó el estrés oxidativo y las citocinas inflamatorias IL-1 β , IL-6, IL-18 y TNF en el hipocampo (Moradi *et al.*, 2023). En un modelo con rata Wistar de dependencia a morfina, el tratamiento con CUR atenuó significativamente los síntomas del síndrome de abstinencia de morfina. La CUR también redujo la concentración de TNF e IL-6 en la corteza prefrontal. Además, la CUR disminuyó el número de células positivas para Iba1 y GFAP y la expresión de los receptores opioides μ (Sheikholeslami *et al.*, 2023)

7. EFECTO ANTIMICROBIANO DE LA CURCUMINA

La CUR tiene actividad antimicrobiana contra varios patógenos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, y *Klebsiella pneumoniae* (Negi *et al.*, 1999; Yun & Lee, 2016; Tyagi *et al.*, 2015; Izui *et al.*, 2016; Pourhajibagher *et al.*, 2018; Asadpour *et al.*, 2018; Sundaramoorthy *et al.*, 2020). La actividad antimicrobiana de la CUR se ha relacionado con daño en la membrana de las bacterias y la inhibición de la formación de biopelículas (Tyagi *et al.*, 2015; Izui *et al.*, 2016). El uso de CUR en nanopartículas poliméricas tuvo mayor efecto antimicrobiano contra *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. saprophyticus* que la CUR sola (Agel *et al.*, 2019; Shajari *et al.*, 2022)

8. EL USO DE LA CURCUMINA EN LA TB

Estudios farmacológicos sugieren que la CUR tiene capacidad protectora contra la TB (Mangwani *et al.*, 2020). La CUR inhibió el crecimiento de *M. abscessus* a una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 128 $\mu\text{g}/\text{mL}$; presentó sinergia con amikacina, ciproflaxacino, claritromicina y linezolid, además de que inhibió la formación de biopelículas (Marini *et al.*, 2018). Contra *M. tuberculosis*, la CUR presentó una CMI de 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Singh *et al.*, 2017). La CUR moduló la eliminación de *M. tuberculosis* por los M ϕ s a través de la inducción de apoptosis. La preincubación de monocitos humanos THP-1 y macrófagos alveolares humanos con CUR a una concentración de 10, 30 y 50 μM durante 1 h antes de la infección con *M. tuberculosis* H37Rv disminuyó la carga bacteriana intracelular (Bai *et al.*, 2016). Resultados similares se encontraron utilizando aislados clínicos de *M. tuberculosis* multidrogoresistentes, donde M ϕ s Raw 264.7 eliminaron la carga bacilar intracelular después del tratamiento con CUR (Gupta *et al.*, 2013). En un modelo murino de TB pulmonar, infectado con *M. tuberculosis* H37Rv vía aerosol, se observó que el tratamiento de nanopartículas de CUR en conjunto con isoniazida disminuye la carga bacilar en el pulmón de forma más rápida que la isoniazida sola, además de que protegió a los animales de la reactivación y de reinfección, promovió una respuesta inmune Th1 y disminuyó la hepatotoxicidad generada por la isoniazida (Tousif *et al.*, 2017). En otro trabajo se observó que las nanopartículas de CUR mejoraron la eficacia de la vacuna BCG en un modelo de TB pulmonar murino. La administración subcutánea de la vacuna BCG y el tratamiento subsiguiente con nanocurcumina durante 30 días, seguido de un período de descanso de 30 días, provocó una reducción de la carga bacteriana y de las regiones granulomatosas de los ratones. También se observó que las nanopartículas de CUR mejoraron la capacidad de BCG para inducir células TCM de los linajes Th1 y Th17 (Ahmad *et al.*, 2019).

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA
DISMINUIR LA NEUROINFLAMACIÓN
EN UN MODELO DE TUBERCULOSIS
PULMONAR

CAPITULO 3

PLANTEAMIENTO DEL
PROBLEMA
JUSTIFICACIÓN
HIPÓTESIS

*DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOQUÍMICAS*

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años se ha observado que los pacientes con TB pulmonar presentan desórdenes mentales. La explicación a estas alteraciones mentales se ha relacionado con factores sociales. No obstante, hemos observado que la extensa inflamación pulmonar y producción de citocinas periféricas está asociada con cambios neuroinflamatorios, muerte neuronal y anormalidades conductuales en animales con TB pulmonar.

La prevención de la aparición de los procesos neuroinflamatorios observados representa una gran oportunidad para anticiparse a los eventos que propician la degeneración neuronal y los cambios conductuales en los pacientes con TB, sin embargo, hacen falta acciones terapéuticas que logren detener el avance sintomático de este proceso.

IV. JUSTIFICACIÓN

Es necesaria la exploración de estrategias terapéuticas novedosas que reduzcan la respuesta inflamatoria en el Sistema Nervioso Central de animales con TB con el fin de reducir la degeneración neuronal y en consecuencia los cambios conductuales presentes en los animales infectados. Debido a sus diversas propiedades, la dexametasona, el componente A y la curcumina son candidatos ideales para el tratamiento de la neuroinflamación en este modelo de TB pulmonar.

V. HIPÓTESIS

La neuroinflamación desarrollada en el modelo murino de TB pulmonar disminuirá con la administración de dexametasona, Componente A y Curcumina lo que evitará el desencadenamiento de cambios conductuales en los animales infectados.

**ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA
DISMINUIR LA NEUROINFLAMACIÓN
EN UN MODELO DE TUBERCULOSIS
PULMONAR**

CAPITULO 4

**OBJETIVOS
ESQUEMA
METODOLÓGICO**

***DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOQUÍMICAS***

VI. OBJETIVOS

6.1 General

Evaluar tres diferentes estrategias terapéuticas para disminuir la neuroinflamación en un modelo murino de TB pulmonar experimental sin infección cerebral.

6.2 Particulares

- A. Determinar el efecto de la administración de dexametasona vía intranasal, CpdA vía intranasal, y Curcumina vía intraperitoneal, en la supervivencia, carga bacilar y daño histológico pulmonar en ratones BALB/C infectados con *M. tuberculosis* H37Rv.
- B. Evaluar si la administración de dexametasona vía intranasal, CpdA vía intranasal y Curcumina vía intraperitoneal disminuyen la neuroinflamación presente en los animales infectados con *M. tuberculosis*
- C. Establecer el efecto del tratamiento contra la neuroinflamación con dexametasona, CpdA y Curcumina durante el curso del tratamiento con antibióticos convencionales en TB avanzada.

VII. ESQUEMA METODOLÓGICO

7.1 Efecto de la administración de dexametasona, CpdA y curcumina sobre la TB pulmonar experimental

En la primera etapa de este proyecto se evaluó el efecto de dexametasona, CpdA y curcumina sobre la progresión de la TB en el modelo murino. Se infectaron ratones BALB/C con 2.5×10^5 micobacterias de la cepa tipo H37Rv vía intratraqueal y en el día 14 post infección se inició el tratamiento de dexametasona vía intranasal con tres dosis diferentes: 0.05, 0.25 y 2.5 mg/Kg de peso, con curcumina vía intraperitoneal con dos cantidades: 16 y 32 μg y con CpdA vía intranasal con dos cantidades: 50 y 150 μg . Los tratamientos fueron administrados tres veces a la semana de lunes a viernes. Posteriormente se realizaron sacrificios a los días 21, 28, 60 y 120 post infección para evaluar el daño histológico en el pulmón, la carga bacilar en el pulmón y cerebro. Durante todo el experimento se monitoreó la supervivencia de los animales con el fin de evaluar si los tratamientos mostraban un efecto nocivo sobre la enfermedad pulmonar (Figura 19).

7.2 Efecto de la administración de dexametasona, CpdA y curcumina sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar

En la segunda etapa del proyecto, las dosis de dexametasona, y las cantidades de CpdA y curcumina que no agravaron la TB pulmonar fueron utilizadas para evaluar su efecto sobre la inflamación en el SNC. Se siguió el mismo esquema de tratamiento y sacrificios, solo que en esta etapa se evaluó el efecto de dexametasona, CpdA y curcumina sobre la neuroinflamación al cuantificar las citocinas proinflamatorias en el SNC y los cambios conductuales (Figura 19).

7.3 Modalidad terapéutica en contra de la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar

La modalidad terapéutica consistió en administrar los tratamientos con dexametasona, curcumina y componente A en conjunto con la terapia convencional contra la TB durante la fase progresiva de la enfermedad. Los tratamientos comenzaron en el día 60 post infección y se realizaron sacrificios al día 90 y 120 post infección (1 y 2 meses post tratamiento) con el fin de evaluar el efecto de los tratamientos sobre la neuroinflamación, así como sobre la enfermedad a nivel pulmonar (Figura 19).

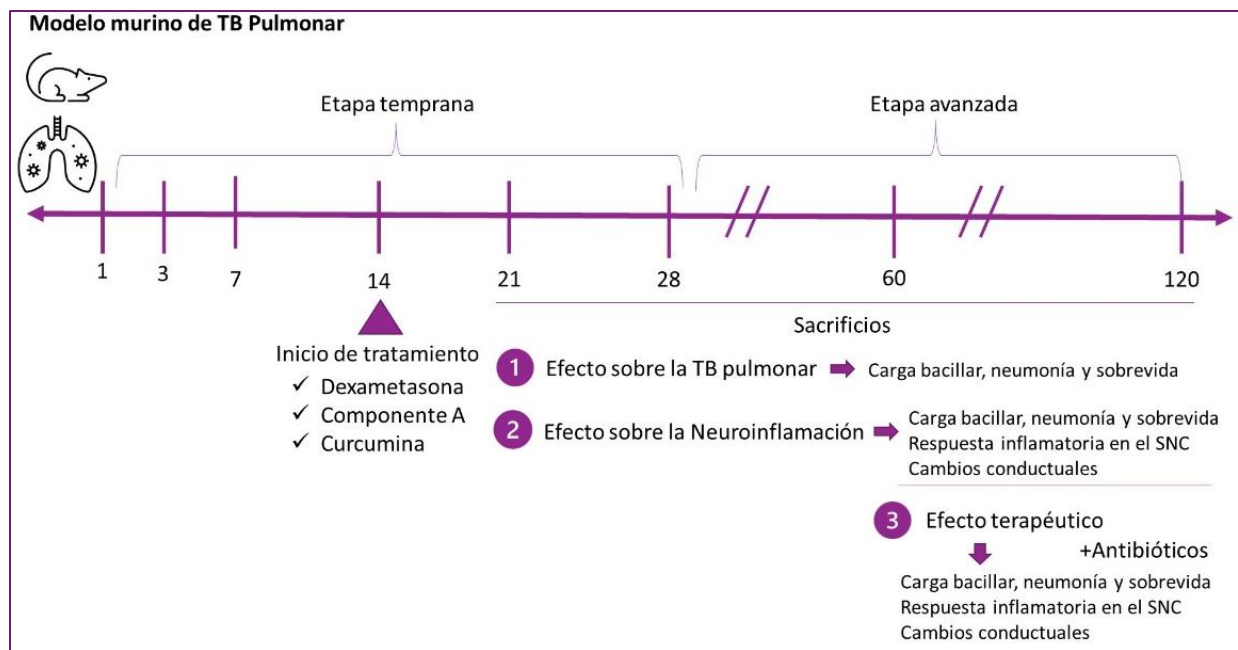


Figura 19. Esquema metodológico del trabajo de investigación. El trabajo se dividió en tres etapas, en la primera se evaluó el efecto de los tratamientos sobre la TB pulmonar, la segunda sobre la respuesta inflamatoria en el SNC y la tercera en conjunto con antibióticos en la etapa avanzada de la TB.

**ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA
DISMINUIR LA NEUROINFLAMACIÓN
EN UN MODELO DE TUBERCULOSIS
PULMONAR**

CAPITULO 5

MATERIALES Y MÉTODOS

***DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOQUÍMICAS***

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Ubicación

La parte experimental del presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Patología Experimental del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ). Algunos experimentos se realizaron en el laboratorio de Patología Vascular Cerebral del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”.

8.2 Reactivos

Los medios Middlebrook 7H9 y 7H10 y el OADC (ácido oleico, albúmina, dextrosa y catalasa) se obtuvieron de Becton-Dickinson (Detroit MI, EE. UU.). El mini kit Rneasy® para extracción de ARN, el equipo de transcripción inversa Omniscript® para obtener ADN complementario y el QuantiTect™ SYBR® para RT-PCR se obtuvieron de Qiagen (Germantown, MD, EE. UU.). Los primers de las citocinas analizadas se obtuvieron de Invitrogen™ Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, EE. UU.). La DEX y la CUR se obtuvieron de Sigma Aldrich (Zwijndrecht, Países Bajos). El CpdA se obtuvo de Santa Cruz Biotechnology (Dallas, Texas, EE.UU.). Todos los demás reactivos fueron de grado analítico y se obtuvieron de fuentes comerciales conocidas. Se utilizó agua desionizada obtenida con un sistema Milli-Q de Millipore (Bedford, MA, USA) para preparar las soluciones.

8.3 Animales

Se obtuvieron ratones macho BALB/c libres de patógenos, de 6 a 8 semanas de edad, del Departamento de Investigación Experimental y Bioterio (DIEB) del INCMNSZ. El trabajo se realizó de acuerdo con los lineamientos de la NOM 062-200-1999, y la aprobación del Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) del INCMNSZ, número de protocolo PAT-1865-16/19-1 (aprobado el 7 de agosto de 2016). Los animales se monitorearon diariamente y ante la presencia de signos de insuficiencia respiratoria, caquexia acentuada o inmovilización total, se les indujo eutanasia por medio de pentobarbital (Nembutal, 400 mg/kg). Todos los protocolos, incluyendo el manejo de ratones y de sus muestras se llevaron a cabo en campanas de flujo laminar bajo condiciones de esterilidad en instalaciones de bioseguridad nivel III.

8.4 Modelo murino de TB Pulmonar

El modelo murino de TB pulmonar ha sido descrito anteriormente (Hernández-Pando *et al.*, 1996). Para la infección de los animales se utilizó la cepa de referencia H37Rv, crecida en medio selectivo 7H9 enriquecido con OADC. Los ratones fueron anestesiados previo a la inoculación con vapor de sevoflurano al 2% y se infectaron con 2.5×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC) de *M. tuberculosis* en 100 μ L de solución salina (SS) vía intratraqueal. Los animales se mantuvieron en posición vertical hasta que presentaron reflejos y contracción muscular. Los ratones fueron agrupados en jaulas de cinco ratones equipadas con microaisladores y conectadas a presurizadores negativos dentro de una instalación animal de bioseguridad nivel III. Durante todos los experimentos se monitoreó la supervivencia de los animales.

8.5 Tratamientos

8.5.1 Administración de dexametasona

La DEX se obtuvo de Sigma-Aldrich (CAS 2392-39-4). Después de 14 días de infección, grupos de 6 ratones por tiempo de sacrificio en dos experimentos independientes fueron tratados con 0.05 mg/kg (Baja/DEX), 0.25 mg/kg (Media/DEX) o 2.5 mg/kg (Alta/DEX) de dexametasona administrada por vía intranasal (IN) tres días a la semana. Los ratones recibieron 10 μ L en cada fosa nasal de la solución de DEX ajustada al peso de cada ratón. Los ratones control recibieron 10 μ L de SS en cada fosa nasal. El tratamiento IN se aplicó con una micropipeta, con el ratón boca arriba en la palma de la mano, se colocó la punta en la fosa nasal y se liberó lentamente la solución. Se aseguró que la dosis se absorbiera por completo antes de devolver el ratón a la caja. En el experimento crónico se contó con un grupo que recibió 0.05 mg/kg (B/DEX) de manera intratraqueal (IT) en 100 μ L.

8.5.2 Administración de curcumina

La CUR se obtuvo de Sigma-Aldrich (CAS 458-37-7). La CUR se disolvió en SS con 0.5% de DMSO. Pasados 14 días de infección, grupos de 6 ratones por tiempo de sacrificio en dos experimentos independientes fueron tratados con 16 μ g o 32 μ g de CUR administrados por vía intraperitoneal (100 μ L) tres días a la semana. Los ratones control recibieron 100 μ L de SS con 0.5% de DMSO.

8.5.3 Administración de Componente A

El CpdA se obtuvo de Santa Cruz Biotechnology (CAS 14593-25-0). El CpdA se solubilizó en SS con 0.05% de DMSO. Pasados 14 días de infección, grupos de 6 ratones por tiempo de sacrificio en dos experimentos independientes fueron tratados con 50 y 150 μg de CpdA administrado por vía IN (10 μL en cada fosa nasal) tres días a la semana. Los ratones control recibieron 10 μL de SS con 0.05% de DMSO en cada fosa nasal. El procedimiento de administración IN se realizó como se describió previamente.

8.5.4 Tratamiento con antibióticos de primera línea

En una variante del experimento se administró, en ratones infectados con la cepa H37Rv, los tratamientos en conjunto con el tratamiento de primera línea para cepas drogo sensibles. Los antibióticos (AB) empleados fueron: Rifampicina (10 mg/kg), Isoniazida (10 mg/kg) y Pirazinamida (30 mg/kg) disueltos en SS. Se administraron 100 μL /ratón del conjunto de antibióticos por la vía intragástrica de lunes a viernes. El esquema de tratamiento es similar al administrado en humanos y las dosis utilizadas se determinaron después de tres experimentos independientes realizados previamente en nuestro modelo de estudio (Rodríguez-Flores *et al.*, 2019; Ramos-Espinosa *et al.*, 2021).

8.6 Determinación de UFC en Pulmón y cerebro

Para la determinación de las UFC se obtuvo el pulmón derecho y el cerebro de cada ratón por cada día de sacrificio de cada grupo experimental. Las muestras se homogenizaron con una perla de silicato de zirconio de bordes afilados y 1 mL de PBS + Tween 20 en un homogeneizador de tejidos FastPrep (MP Biomedicals, EUA). Del homogenizado de cada pulmón, se tomaron 30 μl para realizar diluciones decrecientes (1:10, 1:100, 1:1000 y 1:10000) en medio líquido 7H9. De cada dilución, así como de la muestra concentrada (1:1) se sembraron 10 μL por duplicado en placas de medio de cultivo sólido Middlebrook 7H10 (Difco Labs, Detroit, EUA) enriquecido con OADC. Las placas fueron almacenadas a 37°C, con 25% de humedad y CO₂ al 5% por 21 días. Se realizó el conteo de UFC bajo un microscopio estereoscópico a los 10, 14 y 21 días de incubación. Se reportó el número de UFC de cada pulmón o cerebro por ratón, el cual fue obtenido multiplicando el conteo de las UFC por el factor de dilución y realizando un promedio entre replicados biológicos.

8.7 Preparación de Tejido Pulmonar para Análisis Morfométrico.

Los pulmones izquierdos de 6 ratones de cada grupo de tratamiento de dos experimentos independientes se fijaron con 2 ml de etanol absoluto perfundido por vía intratraqueal y fijados en 30 mL de etanol absoluto por 72 horas. Los pulmones se deshidrataron de acuerdo con la técnica histológica y fueron embebidos en bloques de parafina. Se realizaron cortes sagitales de 5µm de espesor. Los cortes fueron teñidos con hematoxilina y eosina para su análisis morfométrico. El estudio morfométrico se realizó con un microscopio de luz digital y un analizador de imágenes (Q-Win Leica 500, Milton Keynes, cámara Olympus DP70) a partir de un conjunto de micrografías (tomadas con el objetivo 20x) de la sección pulmonar completa, que correspondía al 100% del área pulmonar. Se determinó el porcentaje de la superficie pulmonar afectada por la neumonía. Las mediciones se realizaron a ciegas con respecto al tratamiento experimental al que pertenecía cada pulmón.

8.8 Pruebas de conducta

Para las pruebas conductuales los animales se habituaron al entorno de prueba 24 h antes de su elaboración. Cada animal fue analizado solamente una vez por tiempo de sacrificio después del tratamiento para evitar habituación a la prueba. Todos los ensayos de conducta se realizaron durante las primeras 4 h de la fase oscura del ciclo de luz. Las pruebas fueron analizadas y documentadas por un observador ciego a partir de estas grabaciones.

8.8.1. Conducta de enfermedad

La respuesta de conducta de enfermedad se analizó a través de la actividad locomotora espontánea (ALM), ingesta de alimento y la pérdida de peso (Lasselin *et al.*, 2020). La ALM espontánea se evaluó en un campo abierto cuantificando el tiempo de movimientos ambulatorios de los ratones durante 10 minutos. Los datos se representaron como el porcentaje de movimiento total durante los 10 min. Dos veces a la semana se pesó la cantidad de alimento administrada a los ratones para determinar la ingesta de alimentos y se calculó la ingestión total de alimentos de los ratones. Los datos se expresan como g / ratón / día. La pérdida de peso de los animales infectados se estimó desde el día uno después de la infección hasta el día 120. Cada semana se pesaron los animales y se registró su pérdida de peso. Los datos se representan como g de peso corporal.

8.8.2. Conducta similar a la depresión

Evaluamos la conducta similar a la depresión con la prueba de suspensión de la cola (Nestler & Hyman, 2010; Can *et al.*, 2012) Para esta prueba, los animales se suspendieron de la cola 6 min en un trípode de 30 cm de altura y se registró su actividad, centrándose en el tiempo que los ratones pasaban en desesperación conductual (inmovilidad), característica de la conducta similar a la depresión. Se registró el tiempo de inmovilidad que el animal presentó durante los 6 min.

8.8.3. Conducta similar a la ansiedad

La conducta similar a la ansiedad se evaluó en el laberinto elevado en forma de I, el cual es una modificación del laberinto elevado en forma de cruz utilizado para evaluar ansiedad en ratones (Gilhotra *et al.*, 2015). El diseño del laberinto en forma de I comprende un pasaje recto de madera, parecido a la letra inglesa "I", dividido en tres áreas; dos áreas cerradas (brazos cerrados) en ambos extremos del "laberinto" y un área abierta en el centro de las dos áreas cerradas (Figura 20). Los animales se observaron durante 5 minutos y se cuantificó el porcentaje de tiempo en el área abierta (%TA), inmersiones de la cabeza desde el brazo cerrado (ICBC), inmersiones de cabeza sin protección (ICSP) y postura de estiramiento atento (PEA). El %TA denota el tiempo que pasan los animales en el área abierta. Se consideró que los animales estaban en el área abierta, cuando las cuatro patas del animal estaban en el brazo abierto (Figura 20B). El aumento del tiempo que se pasa en el área abierta es indicativo de un bajo nivel de ansiedad (Gilhotra *et al.*, 2015). Se determinó de la siguiente manera:

$$\%TA = 100 * \frac{\text{tiempo total en el área abierta (segundos)}}{300 \text{ segundos (5 minutos de tiempo de observación)}}$$

La PEA se caracteriza por una elongación del cuerpo hacia adelante exhibida cuando el animal está parado o moviéndose lentamente hacia adelante, característica de una conducta de ansiedad (Figura 20C). Las ICBC denotan la exploración por animal sobre los lados del laberinto hacia el piso desde el brazo cerrado protegido, indicativo de conducta ansiosa (Figura 20D). Las ICSP denotan la exploración por animal sobre los lados del laberinto hacia el piso desde el brazo abierto descubierto (Figura 20E); un aumento en las ICSP es indicativo de un bajo nivel de ansiedad (Gilhotra *et al.*, 2015).

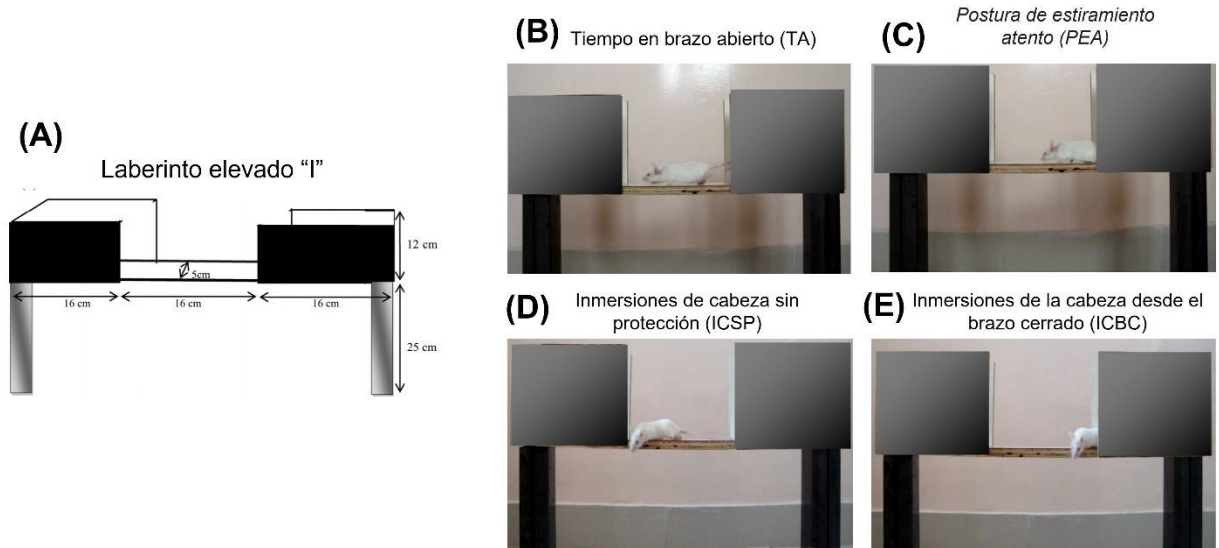


Figure 20. Esquema representativo del laberinto elevado en forma de I. **(A)** Diagrama del laberinto. **(B)** Posición del animal en el área abierta (TA). **(C)** Postura de estiramiento atento (PEA). **(D)** Inmersión de la cabeza sin protección (ICSP). **(E)** Inmersión de la cabeza desde el brazo cerrado (ICBC) (Modificado de Gilhotra *et al.*, 2015).

8.8.4. Daño neurológico

El déficit neurológico en ratones se determinó con la escala de valoración sensitivo-motora, que tiene una puntuación máxima de 31 puntos (Puntuación de gravedad neurológica) (Stahel *et al.*, 2000). En esta prueba se cuantifican parámetros del comportamiento como la actividad motora y la orientación. Cuenta con una serie de valoraciones que abarcan las funciones motora y sensorial, la prueba de equilibrio de viga y la medida de ausencia de reflejos (Bonilla *et al.*, 2012). Los animales se habituaron a las cajas donde se realizaron las pruebas durante 30 min por la mañana y por la tarde, 24 h antes de que se realizara la prueba. Durante la primera filmación se colocó al animal en una caja de plástico de 45 x 20 x 20 cm y se grabó su comportamiento durante 30 s. En la segunda filmación se acercó la cámara hacia los costados, la cabeza y la cola procurando que los movimientos de la cámara fueran lentos prestando más atención en los ojos. En la tercera grabación se cubrió al animal con la mano sin impedir su escape, posteriormente con los dedos pulgar e índice se presionó los costados de la zona abdominal (parte baja del abdomen y la pelvis). Un abdomen firme se consideró como normal, mientras que un abdomen flácido se considera como anormal. Después, el animal se levantó por la cola y se descendió lentamente hasta que tocó el tapete, procurando que su nariz apuntara a la cámara, posteriormente se colocó sobre una rejilla y jaló suavemente de la cola, a continuación, se trató de poner de espaldas en dos

ocasiones. En seguida se colocó al ratón sobre un palo de madera a 45° y en posición horizontal a 15-20 cm del suelo. Se pinzó moderadamente la cola a 1 cm de la base por 2 s. Finalmente, se tocó con un hisopo las vibrisas del animal, se empujó el costado izquierdo y se movió el hisopo hacia los lados enfrente a la cabeza del ratón sin tocarlo y a una distancia entre 1-2 cm y se roció el hisopo con alcohol al 70% acercándolo a la nariz del ratón. Cada punto de la prueba fue valorado con respecto a ausentes (0) o presentes (1), excepto la hipomovilidad, deterioro motor y equilibrio que fueron calificados como débiles (1), moderados (2) o fuertes (3). La puntuación máxima fue 31 (que indica daño neurológico). La puntuación normal, de 3 a 6. En el cuadro 3 se describe cada uno de los parámetros evaluados.

Cuadro 3. Puntuación de gravedad neurológica en ratones. Modificado de Stahel *et al.*, 2000.

Prueba	Descripción	Puntos	
		Acierto	Fallo
Hipomovilidad	Menor movilidad espontánea del ratón experimental en comparación con el control externo cuando se coloca en la parte superior de la mesa (30 s). Puntuado 1, 2 o 3 en cuanto a locomoción, velocidad y vigor de los movimientos.	0	1,2,3
Postura lateralizada	Posición anormal del cuerpo caracterizada por una tendencia persistente a reclinarse hacia un lado	0	1
Postura aplanada	Posición anormal del cuerpo caracterizada por movimientos lentos y arrastre del cuerpo sobre la mesa	0	1
Espalda encorvada	La presencia persistente de una postura agachada o encorvada	0	1
Piloerección	Levantamiento persistente del pelo de la espalda.	0	1
Ataxia	La tendencia a balancearse, mecerse o inclinarse hacia un lado a medida que el animal avanza.	0	1
Vueltas	Caminado constantemente hacia un lado Espontáneo o forzado (empujando suavemente con un dedo)	0	1
Temblores	Presencia de movimientos finos, repetitivos y oscilatorios observados durante el movimiento.	0	1
Sacudidas	Sacudidas bruscas del cuerpo.	0	1
Convulsiones	Sacudidas repetitivas seguidas de extensiones de las extremidades posteriores.	0	1
Respiración agitada	Presencia de movimientos respiratorios aumentados e irregulares acompañados de sonidos respiratorios.	0	1
Pasividad	Caracterizado por la disminución de la respuesta conductual (lucha y escape) cuando los animales se cubren con la mano para restringir el movimiento.	0	1
Hiperreactividad	Caracterizado por la respuesta de comportamiento exagerada (lucha y escape) cuando los animales están cubiertos con una mano para restringir el movimiento.	0	1
Irritabilidad	Caracterizado por la postura agresiva y el comportamiento de morder exhibido por los animales cuando se cubre con una mano para restringir el movimiento.	0	1
Ptosis	Caída de los párpados	0	1
Urinación	Una cantidad excesiva de orina en el cuerpo del animal y la mesa	0	1
Decremento del tono corporal	Caracterizado por una resistencia relativamente menor a la compresión o flacidez de los músculos abdominales, determinada por una suave compresión de los costados del animal entre la parte inferior del tórax y la pelvis con los dedos pulgar e índice.	0	1
Flexión de las extremidades	Fallo al extender completamente las patas delanteras cuando el animal se sujeta por la cola a una altura de 10 cm y se baja lentamente para observar la simetría en la extensión de ambas extremidades anteriores.	0	1
Decremento de la fuerza muscular	Caracterizado por la disminución de la resistencia cuando el animal se coloca en una rejilla y se tira suavemente hacia atrás por la cola.	0	1
Rotación del cuerpo	Rotación a lo largo del eje del cuerpo cuando el animal está sujeto por la cola.	0	1

Incoordinación motora	Caracterizado por disminución de la capacidad de moverse y permanecer por lo menos 10 s en el plano inclinado (45°) o agarrar la cuerda (30 cm por encima de la mesa) con las extremidades y la cola, y permanecer allí por lo menos 10 s.	0	1,2,3
Ausencia de equilibrio	Caracterizado por una capacidad disminuida para permanecer al menos 10 s en una barra horizontal (1 cm de ancho). Las cuatro patas tienen que estar en la barra.	0	1,2,3
Hipoalgesia	Falta de respuesta cuando se coloca una pinza de agarre a 1 cm de la base de la cola del animal.	0	1
Hiperalgnesia	Respuesta conductual exagerada (vocalización y mordeduras desproporcionadas) cuando se coloca una pinza de agarre a 1 cm de la base de la cola del animal.	0	1
Sensibilidad en las vibrisas	Respuesta conductual cuando se tocan las vibrisas del animal con un hisopo	0	1
Sensibilidad en el abdomen	Respuesta de comportamiento cuando el animal es tocado suavemente en el abdomen.	0	1
Sensibilidad olfatoria	Respuesta conductual cuando se coloca un hisopo con alcohol en las vías olfatorias del animal	0	1
Puntuación total		31	

8.8.5. Memoria a corto y largo plazo

La memoria y el aprendizaje se evaluaron con la prueba de reconocimiento de objetos (Ennaceur *et al*, 1997). Con esta prueba se evalúa la memoria a corto y largo plazo. En la primera fase de la prueba el ratón se colocó en un campo abierto sin ningún objeto durante 10 min para la habituación con el entorno. A las 24 h, se colocaron dos objetos idénticos (objetos A) en diferentes posiciones, y el animal se dejó dentro de la caja durante 3 min para la exploración de los objetos. 30 min después, se midió la memoria a corto plazo; para ello, se colocó un objeto A (objeto familiar) y un nuevo objeto (objeto B), las interacciones con ambos objetos (el animal olfatea o toca el objeto con las patas delanteras) se contabilizaron durante 3 min. A las 24 h se midió la memoria a largo plazo, para lo cual se cambió el objeto B por un objeto nuevo (C), y se siguió el mismo procedimiento. Los resultados se presentan como el índice de discriminación, que es la diferencia en las interacciones expresada como una proporción de las interacciones totales de los dos objetos en ambas tareas, como se indica a continuación:

$$\text{Índice de discriminación: } \frac{\# \text{ de interacciones de B ó C}}{\# \text{ de interacciones de B ó C} + \# \text{ de interacciones de A}}$$

8.8.6 Miedo no condicionado

Para medir el miedo y la ansiedad no condicionado se utilizó la prueba de campo abierto, que compara el temor intrínseco de estar en el área abierta central con el deseo de explorar diferentes entornos (Multani *et al.*, 2014). Se utilizó un campo abierto dividido en un área externa y un área interna y se grabó desde la parte superior en una sesión de 5 minutos.

Se analizó el tiempo que cada animal pasó en el área exterior. Los datos se presentaron como el porcentaje del tiempo total que los ratones estuvieron en el área externa.

8.9 Expresión de citocinas evaluada por RT-PCR

De 6 ratones por tiempo de sacrificio se extrajo ARN del hipocampo, hipotálamo, corteza frontal y cerebelo de los animales tratados con DEX ó CUR y los animales control. Cada segmento anatómico se colocó en un tubo MP y se homogenizó de forma mecánica con perlas de sílice y zirconia en un equipo MP fast prep24. Una vez que se homogenizó el tejido, la extracción prosiguió conforme a las especificaciones del Kit Mini RNeasy (Qiagen). El ARN obtenido se cuantificó por espectrofotometría (A 260/280) en un lector de microplacas para absorbancia y cuantificación de ADN/ARN y proteínas EPOCH2 (Biotek) y mediante un gel de agarosa al 1% se verificó su integridad. Se ocuparon 100 ng de ARN para la producción de cDNA mediante una reacción de retro-transcripción (RT) siguiendo las indicaciones del kit Omniscript (Qiagen). Con el producto se realizó una PCR de punto final para amplificar el gen constitutivo de la deshidrogenasa gliceraldehído 3-fosfato (GAPDH), bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95°C por 15 min, seguido de 40 ciclos a 95°C por 30s, 60°C por 30s, 72°C por 60s y extensión final a 72°C por 10 min.

Para la PCR en Tiempo Real se utilizó el sistema PCR-TR 7500 (Applied Biosystems), y el kit Quantitect SYBR Green Mastermix (Qiagen), incluyendo en cada corrida un control negativo. Primers específicos (Invitrogen) se diseñaron con el programa BLAST (Pubmed) para TNF, IFN- γ , IL-12, y el gen constitutivo GAPDH (Cuadro 4). La reacción se efectuó con un paso inicial de desnaturalización a 95°C por 10 min, seguido de 40 ciclos a 95°C por 20 s, 60°C por 20 s y 72°C por 35 s. Cada muestra se analizó por duplicado. El cambio en la expresión génica se analizó por la técnica $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ (Schmittgen & Livak, 2008). El cambio de expresión génica se normalizó a los niveles de expresión de los controles sanos. Los resultados se presentan como el Log_2 de $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ (Kumar *et al.*, 2011).

Cuadro 4. Secuencias de los primers utilizados para evaluar la expresión génica

Gen	Forward	Reverse
GAPDH	5'-CATTGTGGAAGGGCTATGA-3'	5'-GGAAGGCCATGCCAGTGAGC-3'
TNF	5'-GCCGAGAAAGGCTGCTTG-3'	5'-TGTGGCTTCGACCTCTACCTC-3'
IFN- γ	5'-CCTCAACTTGGCAATCTCATGA-3'	5'-GGTGACATGAAAATCCTGCAG-3'
IL-12	5'-GGATGGAAGAGTCCCCCAA-3'	5'-GCTCTGCGGGCATTAAACAT-3'

8.10 Evaluación de Nrf2 y BDNF por Western Blot

Para estudiar si Nrf2 y BDNF están involucrados en la protección del cerebro mediada por CUR de ratones con TB, los niveles de estas proteínas se determinaron mediante Western Blot. El hipocampo y la corteza frontal se homogeneizaron en buffer HB (20 mM HEPES pH 7,4, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, 1 mM PMSF, 1 µg/mL de pepstatina A, 1 µg/mL de aprotinina, 1 µg/mL de leupeptina e inhibidor de fosfatasa) más Nonidet P40 al 0,5% e incubado en hielo durante 15 min. Los homogenizados se centrifugaron a $850 \times g$ durante 10 min a 4 °C. Se recuperaron los sobrenadantes, ya que formaban parte de la fracción citoplasmática (F1), y los sedimentos se resuspendieron en buffer HB, se incubaron en hielo durante 10 min, se añadió 15 µL de Nonidet P40 al 10 % y se incubaron durante 5 min. Las muestras se centrifugaron a $14\ 000 \times g$ durante 2 min a 4 °C, se recuperaron los sobrenadantes y se agregaron a la fracción citoplasmática (F2) y los pellets se lavaron tres veces con 300 µL de buffer HB resuspendido en buffer completo de lisis (20 HEPES mM, MgCl₂ 1,5 mM, EDTA 0,2 mM, glicerol al 20 %, NaCl 420 mM y DTT 1 mM) más PMSF 1 mM, pepstatina A 1 µg/mL, aprotinina 1 µg/mL, leupeptina 1 µg/mL e inhibidor de fosfatasa 1X, agitado en vórtex sobre hielo e incubado durante 30 min a 150 rpm. Las muestras se agitaron en vórtex durante 30 s y se centrifugaron a $14\ 000 \times g$ durante 10 min a 4 °C, y se recuperó el sobrenadante (fracción nuclear). La cuantificación de proteínas en las fracciones citoplasmáticas se determinó por el método de Lowry. 80 µg de proteína de la fracción citoplasmática se cargaron y separaron en electroforesis en gel de poliacrilamida SDS al 10 % y se transfirieron a membranas de fluoruro de polivinilideno (PVDF) (Millipore, Bedford, MA, EE. UU.). Las membranas se bloquearon utilizando leche descremada al 5 % en TBS más Tween 20 al 0,1 % (TBS-T) durante 2 h a temperatura ambiente en agitación ligera. Luego, las membranas se incubaron con anti-Nrf2 (1: 500), anti-BDNF (1: 500) o anti-β-tubulina (1: 15, 000) a temperatura ambiente durante la noche. Las membranas se lavaron tres veces (10 min) con TBS-T. A continuación, se añadió un anticuerpo policlonal secundario anti-conejo (1:10.000), anti-cabra (1:10.000) y anti-ratón (1:10.000) conjugado con peroxidasa de rábano durante 2 h a temperatura ambiente y después de un lavado extenso con TBS-T. Las bandas se detectaron con el kit Immobilon Western (Millipore Co, Billerica, MA, EE. UU.) Las imágenes se obtuvieron con el sistema de imágenes Fusion Solo S (Eberhard-zell, Biberach, Alemania). Para detectar dos o más proteínas, las membranas se lavaron con una solución de stripping (que contenía glicina 0,2 M, SDS al 0,1 % y Tween 20 al 1 %, pH 2,2). Los valores de área se obtuvieron de la relación de densidades de píxeles (PD) de

cada banda. Los valores del área de cada grupo se estandarizaron al valor del área del grupo de control (valor=1). Los datos se expresan como densidad óptica relativa utilizando el software Image J.

8.11 Análisis estadístico

Los datos se representan como la media y el error estándar de la media (SEM) de dos experimentos independientes. La recopilación de los datos se realizó en orden aleatorio. Se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de los datos. La curva de supervivencia se analizó mediante la prueba de Logrank. El análisis estadístico de la carga bacilar, el peso corporal, la actividad locomotora y las pruebas de comportamiento se determinó mediante Análisis de varianza (ANOVA) de dos vías, seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett o la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (comparación de cada grupo con el control de SS), descrito en el texto relacionado. La expresión de proteínas por Western Blot se analizó por la prueba t no pareada. La expresión de citocinas se analizó con el modelo de efectos mixtos. Para todos los experimentos, la significancia estadística se estableció en $p < 0,05$. Se utilizó GraphPad Prism para realizar el análisis estadístico. (v. 9.1.1.225) (GraphPad, San Diego, CA, EE.UU.)

**ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA
DISMINUIR LA NEUROINFLAMACIÓN
EN UN MODELO DE TUBERCULOSIS
PULMONAR**

CAPITULO 6

**RESULTADOS
RESUMEN DE
RESULTADOS
DISCUSIÓN**

***DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOQUÍMICAS***

IX. RESULTADOS

9.1 Efecto del Componente A sobre la TB pulmonar experimental

Con el fin de evaluar el efecto del CpdA sobre la TB pulmonar, se administraron por vía intranasal la cantidad de 50 o 150 μg de CpdA en 20 μL de SS con DMSO al 0.05 % a partir del día 14 post infección. Los resultados mostraron que ambas cantidades de CpdA incrementaron la carga bacilar en el pulmón en los días 60 y 120 post infección en comparación con el grupo que recibió SS con DMSO. Este incremento en la carga bacilar pulmonar fue más evidente en el grupo que recibió la cantidad de 150 μg (Figura 21A). El tratamiento con CpdA promovió el crecimiento de micobacterias en el cerebro en ambas cantidades utilizadas (Figura 21B), así como una disminución importante de la supervivencia de los animales tratados (Figura 21C). Estos resultados indican que el CpdA en las cantidades utilizadas presenta un efecto deletéreo en los animales con TB. Debido al efecto negativo observado en los animales tratados con CpdA, este compuesto fue descartado en los consecutivos experimentos.

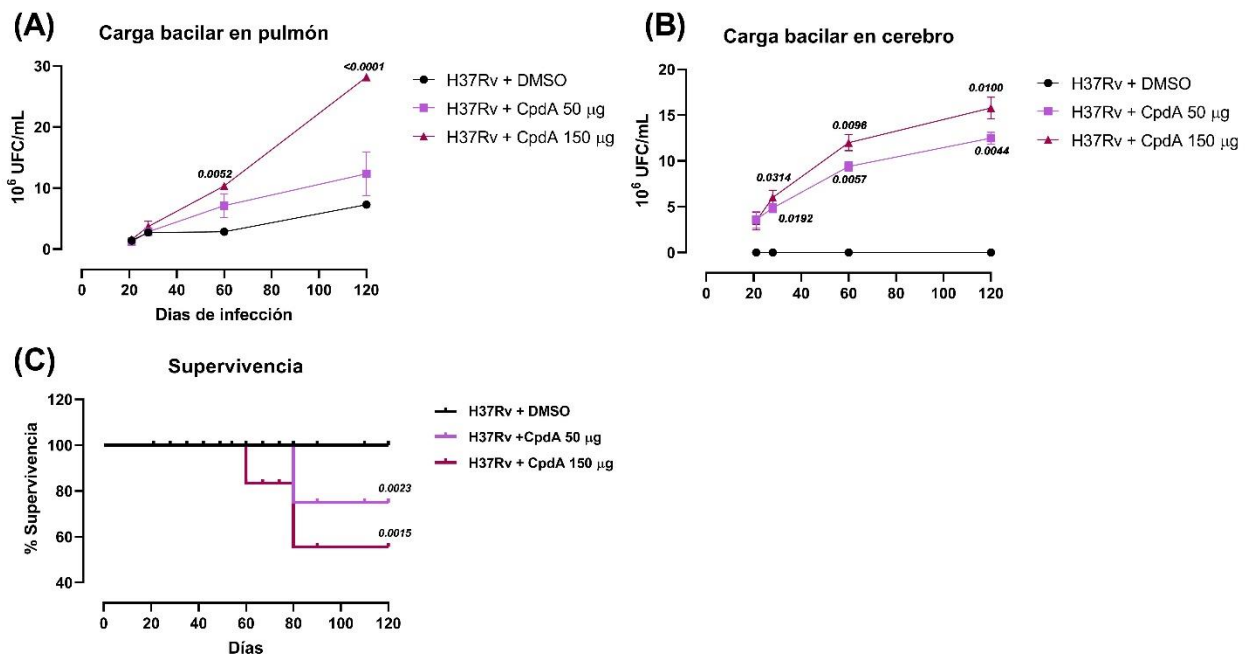


Figura 21. Efecto de 50 o 150 μg de CpdA en la TB pulmonar experimental. **(A)** Carga bacilar en el pulmón de animales control que recibieron SS y animales tratados con IN CpdA. **(B)** Carga bacilar en el cerebro de animales control que recibieron SS y animales tratados con IN CpdA. **(C)** Tasas de supervivencia de ratones de control tratados con SS y tratados con IN CpdA. Prueba de *t* de *student* contra el control de DMSO, $n=6$.

9.2 Efecto de la Dexametasona sobre la TB pulmonar experimental

Un efecto secundario importante de la administración de GCs en la TB es el agravamiento de la enfermedad pulmonar debido a la supresión de la inmunidad celular, por lo que en el presente trabajo evaluamos el efecto de la administración intranasal (IN) de tres dosis de DEX: dosis baja (B/DEX) de 0.05 mg/kg de peso corporal, dosis media (M/DEX) de 0.25 mg/kg de peso corporal y dosis alta (A/DEX) de 2.5 mg/kg de peso corporal, durante las fases temprana (a partir del día 14 post-infección) y tardía de la enfermedad (día 60 post-infección). La dosis A/DEX aumentó significativamente la carga bacilar en el pulmón en los días 60 y 120 post-infección cuando se administró a partir del día 14, mientras que la dosis M/DEX no aumentó la carga bacilar pulmonar. La dosis de B/DEX disminuyó la carga bacilar pulmonar en comparación con los animales de control el día 120 post-infección (Figura 22A). La dosis A/DEX incrementó la carga bacilar en el cerebro y disminuyó la supervivencia de los animales en comparación con el grupo de control no tratado (Figura 22B-C). El tratamiento con DEX disminuyó el área del pulmón afectada por neumonía en todas las dosis utilizadas, principalmente en los días 28 y 60 post-infección (Figura 23). Cuando la DEX se administró a partir del día 60 post-infección no se observó incremento en la carga bacilar pulmonar, y no se presentó carga bacilar en el cerebro con ninguna de las dosis analizadas. La dosis M/DEX evitó el incremento en la carga bacilar a los 2 meses de tratamiento en comparación con la carga bacilar a 1 mes de tratamiento del mismo grupo. Estos resultados sugieren que las dosis B/DEX y M/DEX no agravan la enfermedad pulmonar, mientras que la dosis de A/DEX causó agravamiento de la enfermedad pulmonar cuando se administró desde etapas tempranas de la infección. Por lo tanto, las dosis de B/DEX y M/DEX fueron efectivas para su administración en animales infectados con *M. tuberculosis*, tanto en la etapa temprana como en la avanzada de la enfermedad, y en los siguientes experimentos solo se usaron las dosis B/DEX y M/DEX.

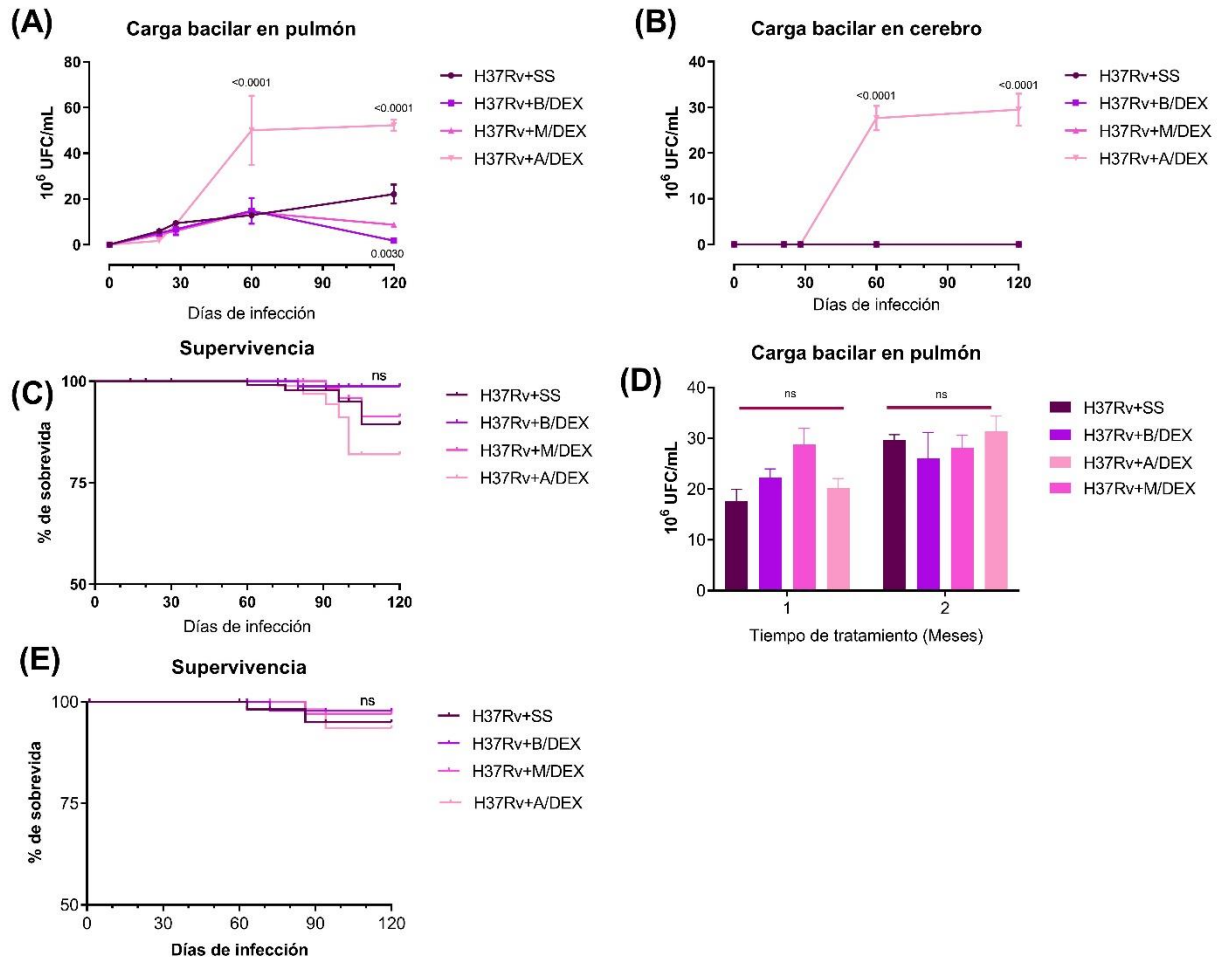


Figura 22. Efecto de la administración IN de DEX (B, M y A) sobre la evolución de la TB pulmonar experimental. **(A)** Carga bacilar en el pulmón de animales control que recibieron SS y animales tratados con DEX. **(B)** Carga bacilar en el cerebro de animales control que recibieron SS y animales tratados con DEX. **(C)** Tasas de supervivencia de ratones de control tratados con SS y tratados con IN DEX. **(D)** Carga bacilar en el pulmón de animales control que recibieron SS y animales tratados con DEX a partir del día 60. **(E)** Tasas de supervivencia de ratones de control tratados con SS y tratados con IN DEX a partir del día 60. Los datos se presentan como media +/- SEM. Análisis de varianza de dos vías (ANOVA). Test de comparación múltiple de Tukey.

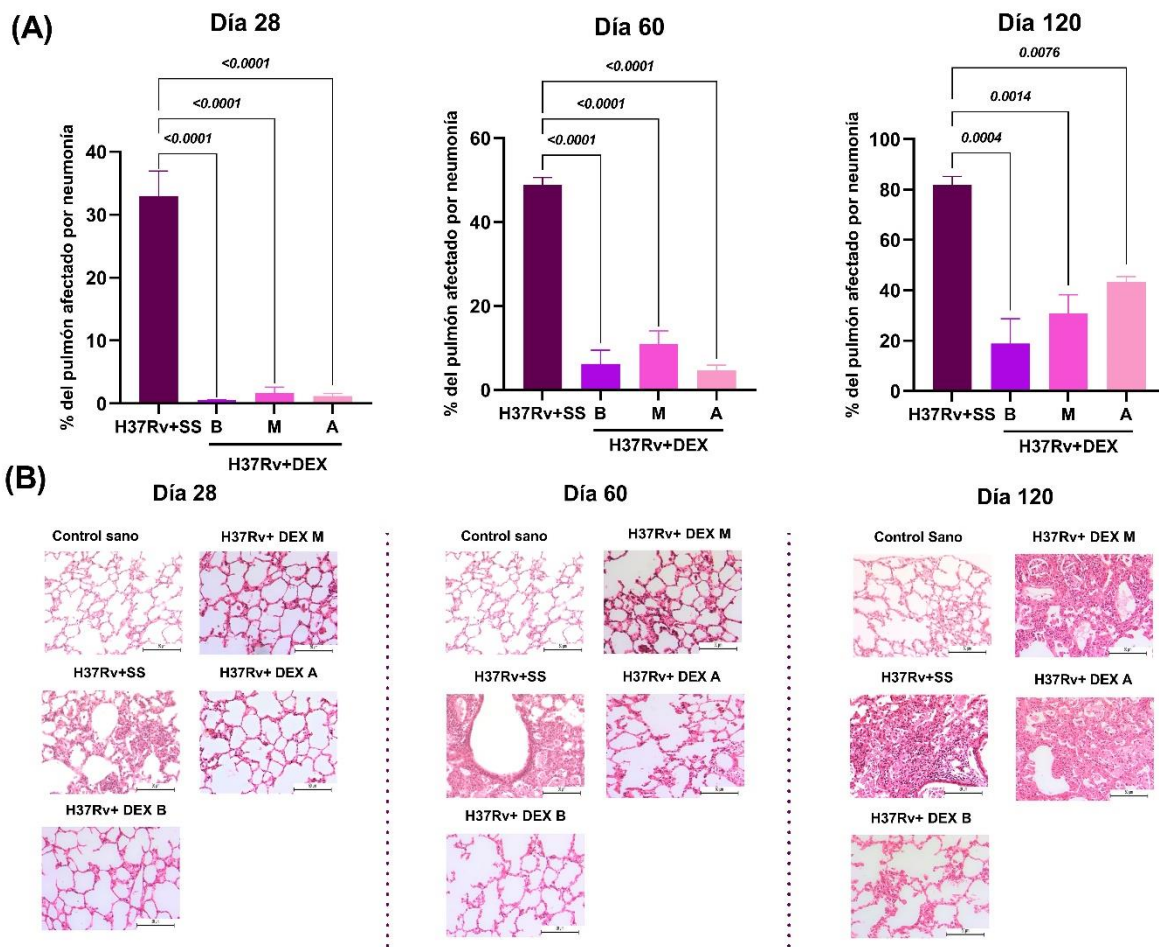


Figura 23. Efecto de la administración IN de DEX (B, M y A) sobre la neumonía en la TB pulmonar experimental. **(A)** Porcentaje del área neumónica en los días 28, 60 y 120 post-infección. **(B)** Micrografías representativas a los 28, 60 y 120 días post-infección de animales infectados que recibieron DEX, ratones control que solo recibieron SS y ratones sanos sin infección. Todas las micrografías se muestran a 20 aumentos, tinción con hematoxilina/eosina. Los datos se presentan como media \pm SEM (n=6). ANOVA de una vía. Prueba de comparación múltiple de Dunnett.

9.3 Efecto de la administración intranasal de dexametasona sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar

9.3.1 Efecto del tratamiento con DEX intranasal en la expresión de citocinas en distintas áreas del cerebro de ratones con TB.

En el presente trabajo determinamos el efecto de la administración IN de DEX en la expresión de TNF, IFN- γ e IL-12 del hipocampo, hipotálamo, cerebelo y corteza frontal de ratones con TB. La administración IN de 0.05 y 0.25 mg/kg de peso de DEX disminuyó significativamente la expresión de estas citocinas en el hipocampo y el hipotálamo

(Figura 24) de ratones infectados con *M. tuberculosis*, en comparación con el grupo que recibió SS. En el cerebelo observamos una disminución de estas citocinas proinflamatorias, aunque menor que en el hipocampo y el hipotálamo (Figura 25). En la corteza frontal, ambas dosis de DEX disminuyeron significativamente la expresión de estas citocinas proinflamatorias, aunque se observó un efecto mayor con la dosis de 0.25 mg/Kg de peso (Figura 25).

En conjunto, estos resultados sugieren que la administración IN de L/DEX y M/DEX reduce la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar experimental.

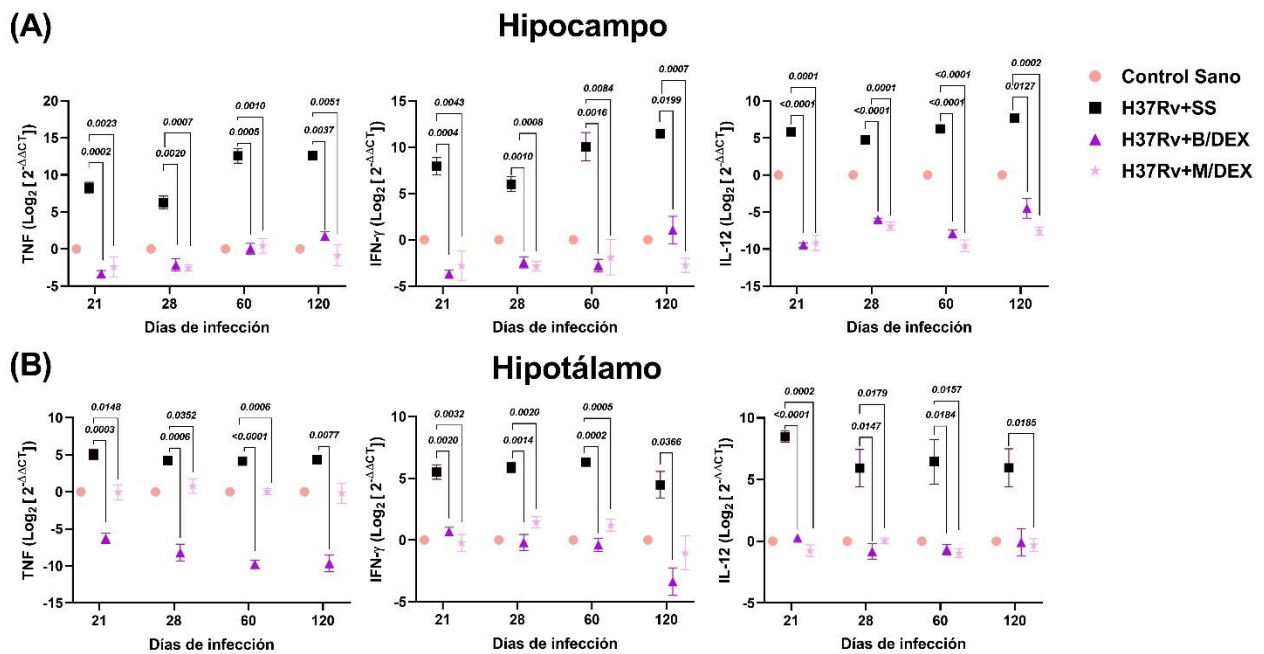


Figura 24. Efecto de la administración IN de B/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) sobre citocinas proinflamatorias del hipocampo e hipotálamo de ratones con TB. **(A)** Expresión de TNF, IFN-γ e IL-12 en el hipocampo. **(B)** Expresión de TNF, IFN-γ e IL-12 en el hipotálamo. Los datos se presentan como media ± SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control SS.

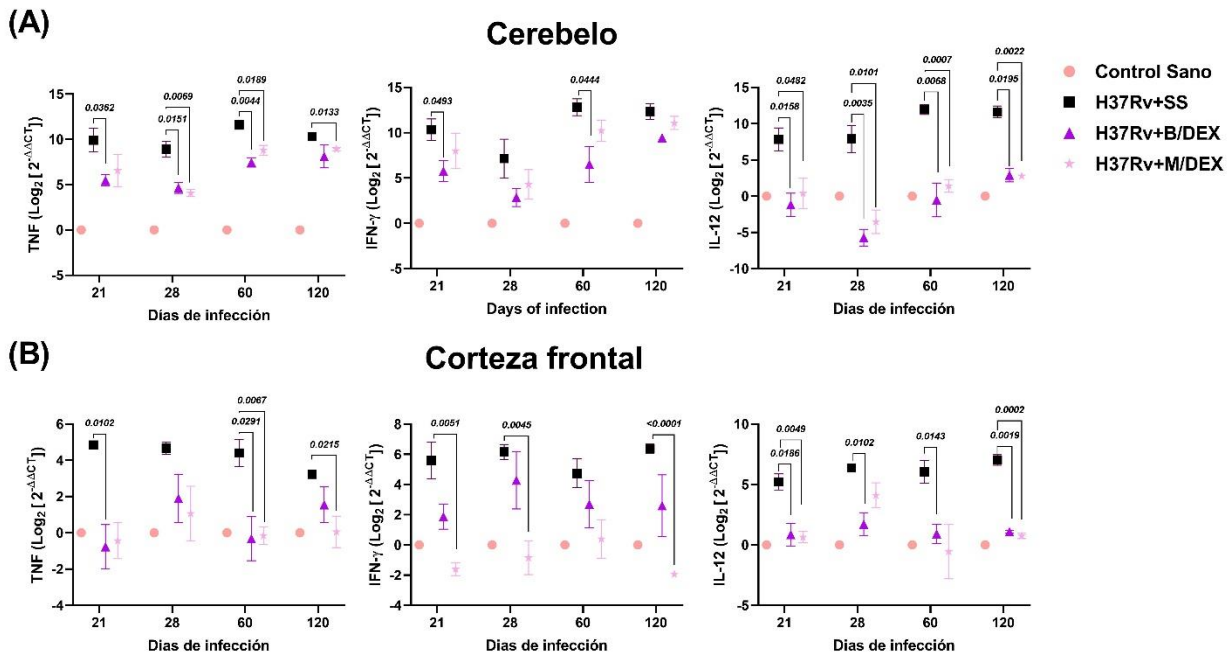


Figura 25. Efecto de la administración IN de B/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) sobre citocinas proinflamatorias del cerebelo y corteza frontal de ratones con TB. **(A)** Expresión de TNF, IFN- γ e IL-12 en el cerebelo. **(B)** Expresión de TNF, IFN- γ e IL-12 en la corteza frontal. Los datos se presentan como media \pm SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control SS.

9.3.2 Efecto del tratamiento con DEX intranasal sobre la conducta de enfermedad

En el presente trabajo determinamos el efecto de la administración IN de L/DEX y M/DEX durante la infección temprana de *M. tuberculosis* sobre la conducta de enfermedad. Los resultados mostraron que el tratamiento con L/DEX y M/DEX disminuyó la conducta de enfermedad de los ratones con TB (Figura 26). La administración IN de DEX disminuyó la carga bacilar como en el experimento previo y mejoró ligeramente la supervivencia de los animales. Hubo una ligera mejora en el peso corporal, principalmente a los 90 y 120 días después de la infección y la actividad locomotora (LMA) mejoró significativamente después de una semana de tratamiento (Figura 26).

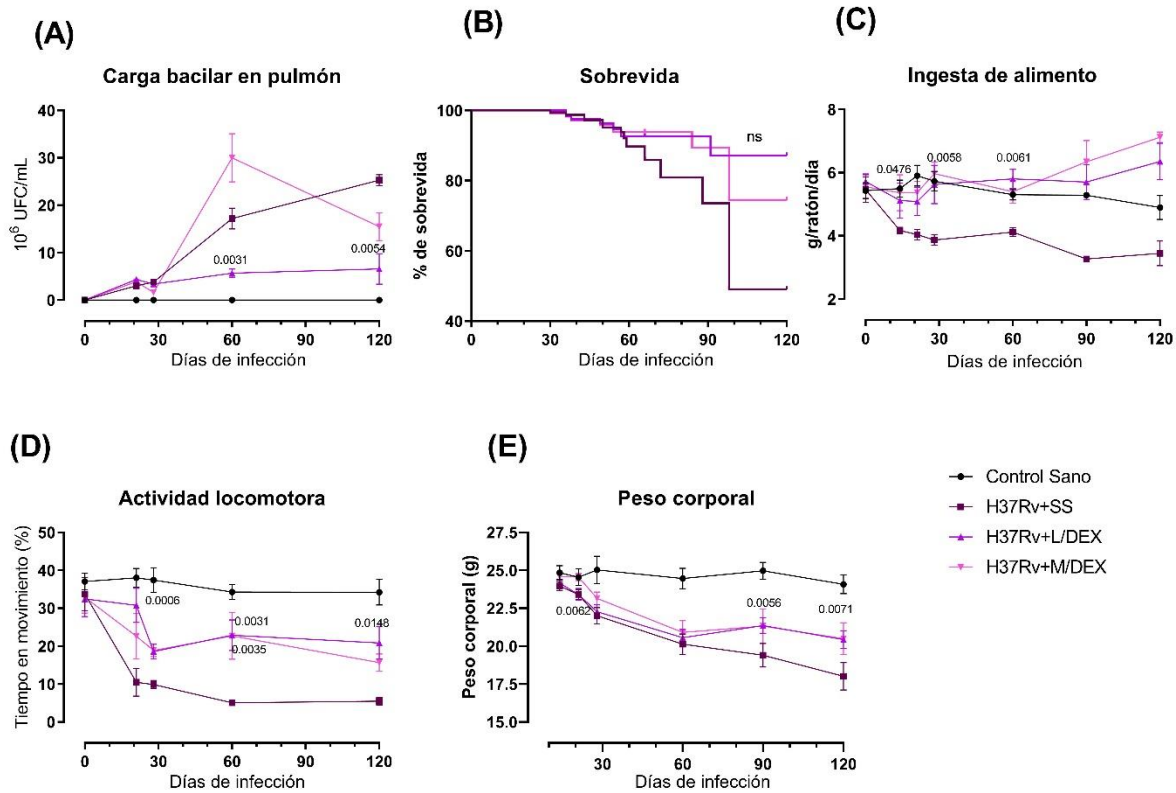


Figura 26. Efecto de la administración IN de L/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) en la conducta de enfermedad de ratones con TB. **(A)** Carga bacilar en el pulmón. **(B)** Supervivencia de los animales infectados. **(C)** Ingesta de alimento. **(D)** Actividad locomotora. **(E)** Peso corporal. Los datos se presentan como media \pm SEM ($n = 6/\text{día}/\text{grupo}$). ANOVA de dos vías. Prueba de comparación múltiple de Dunnett.

9.3.3 Efecto del tratamiento con DEX intranasal sobre la conducta similar a la ansiedad

En el presente trabajo evaluamos el efecto del tratamiento IN con L/DEX y M/DEX en animales infectados con *M. tuberculosis* en la conducta similar a la ansiedad utilizando el laberinto elevado en forma de I. Observamos que el tratamiento con L/DEX y M/DEX aumentó el tiempo de los ratones en el brazo abierto (TA) y las ICSP a las 60 y 120 post-infección en ratones TB, y disminuyó las ICBC y la PEA (Figura 27). Por lo tanto, el tratamiento con IN DEX mostró una actividad de tipo ansiolítico en ratones TB.

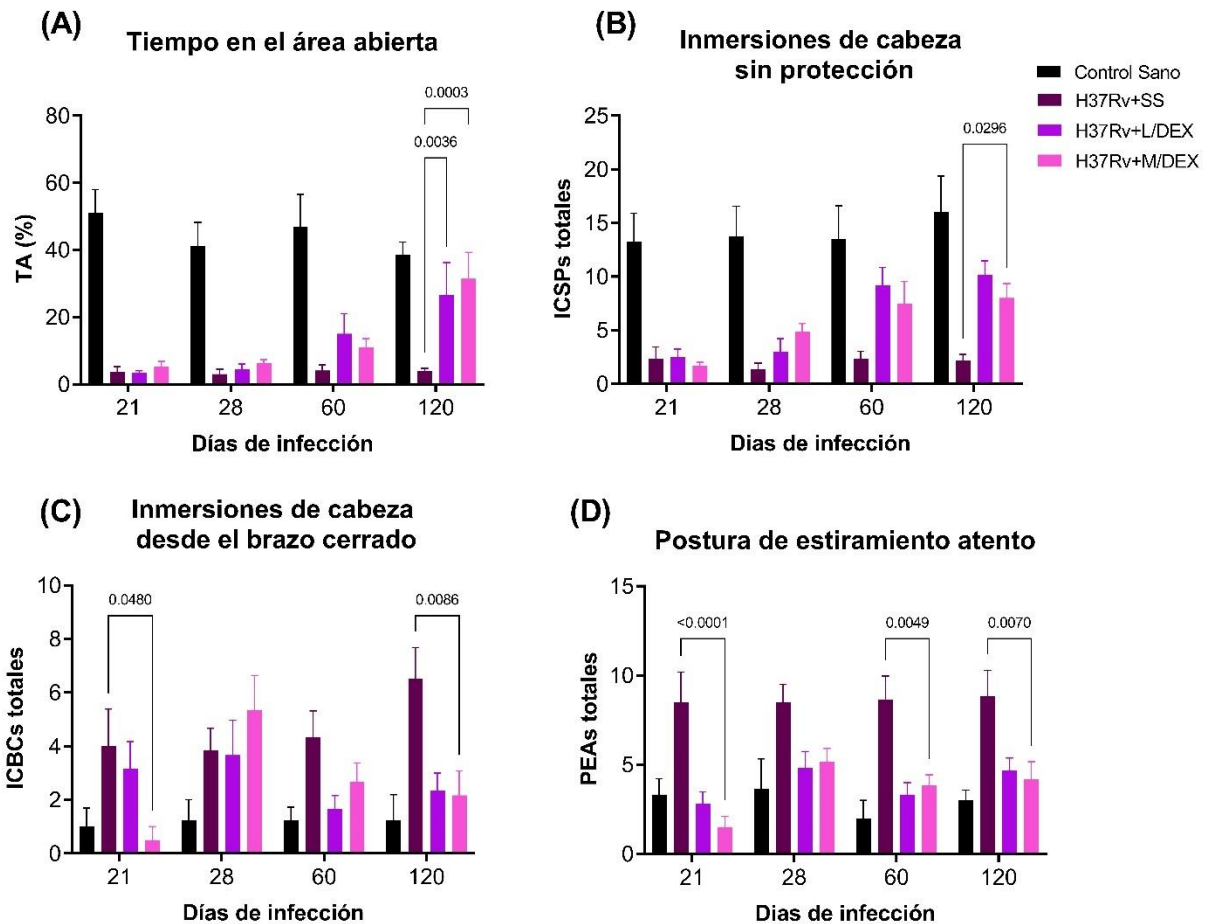


Figura 27. Efecto de la administración IN de L/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) sobre la conducta similar a la ansiedad de ratones con TB evaluada en el laberinto elevado en forma de I. **(A)** Tiempo en el brazo abierto (% TA). **(B)** Inmersiones de cabeza sin protección (ICSP). **(C)** Inmersiones de cabeza desde el brazo cerrado (ICBC). **(D)** Postura de estiramiento atento (PEA). Los datos se presentan como media +/- SEM. ANOVA de dos vías. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (n = 6).

9.3.4 Efecto del tratamiento con DEX intranasal sobre la conducta similar a la depresión, daño neurológico y miedo no condicionado

En el presente trabajo evaluamos el efecto de la administración IN con DEX sobre estos cambios. Los resultados mostraron que el tratamiento IN con DEX disminuyó la conducta similar a la depresión en la prueba de suspensión de cola desde el día 21 después de la infección (Figura 28B). Resultados similares se observaron en la evaluación del daño neurológico, el cual disminuyó a partir del día 28 post-infección (Figura 28A). El miedo no condicionado disminuyó en el día 120 post-infección (Figura 28C). El tratamiento IN

con DEX tuvo un efecto antidepresivo y produjo un efecto benéfico sobre el resultado neurológico de los animales infectados.

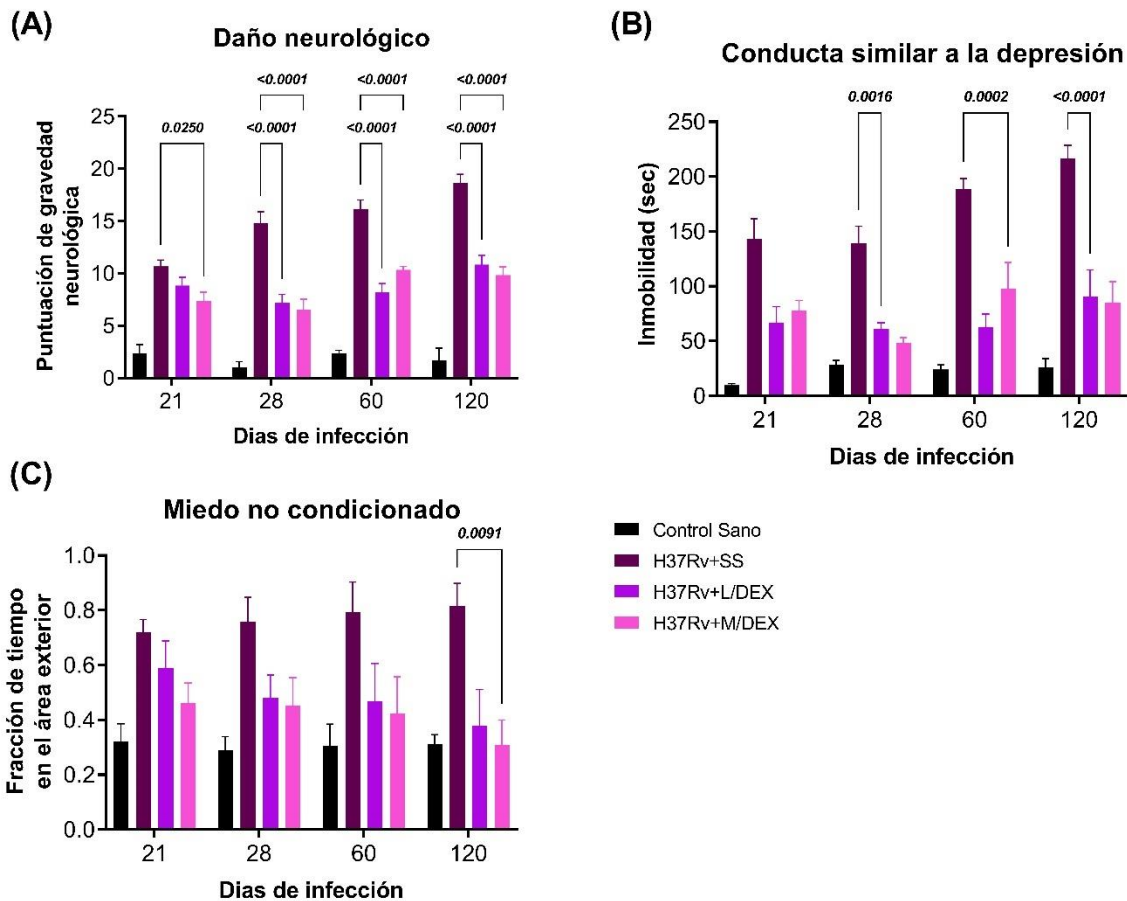


Figura 28. Efecto de la administración IN de L/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) en la depresión, daño neurológico y miedo no condicionado de ratones con TB. **(A)** Daño neurológico. **(B)** Conducta similar a la depresión **(C)** Miedo no condicionado. Los datos se presentan como media +/- SEM. ANOVA de dos vías. Prueba de comparación múltiple de Tukey (n = 6).

9.3.5 Efecto del tratamiento con DEX intranasal sobre la memoria a corto y largo plazo

Previamente, observamos que la infección pulmonar con *M. tuberculosis* induce daño en la memoria a corto plazo desde el día 14 post-infección y en la memoria a largo plazo desde el día 1 post-infección (Lara-Espinosa *et al.*, 2020). El tratamiento IN DEX mejoró la memoria a corto y largo plazo en la prueba de reconocimiento de objetos de ratones TB (Figura 29).

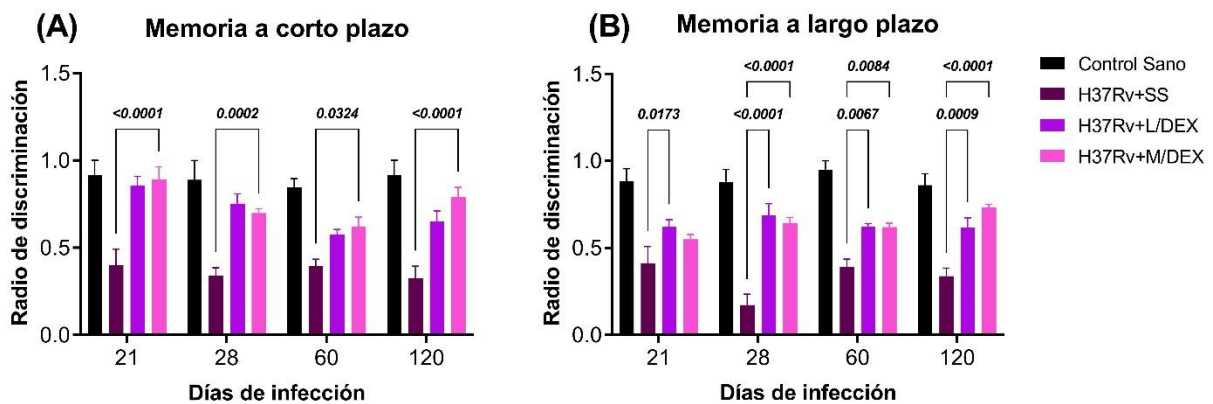


Figura 29. Efecto de la administración IN de L/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) sobre el daño en la memoria corto y largo plazo de ratones con TB. (A) Memoria a corto plazo. (B) Memoria a largo plazo. Los datos se presentan como media \pm SEM. ANOVA de dos vías. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (n = 6).

9.4 Efecto de la administración intranasal de dexametasona en combinación con antibióticos sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar en la etapa avanzada de la enfermedad

En la última parte del trabajo, evaluamos el efecto terapéutico de la administración IN e IT de DEX en conjunto con antibióticos de primera línea (rifampicina, isoniazida y pirazinamida) sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar en la etapa avanzada de la enfermedad (60 días post-infección).

9.4.1 Efecto de la administración IN e IT de DEX en conjunto con antibióticos sobre la TB pulmonar avanzada.

Los resultados mostraron que la administración de L/DEX IT e IN en combinación con antibióticos disminuyó la carga bacteriana pulmonar en comparación con el grupo que solo recibió antibióticos después de uno y dos meses de tratamiento. El tratamiento con M/DEX IN disminuyó más la carga bacteriana en el pulmón después de dos meses de tratamiento (Figura 30A). También se evaluó la supervivencia de los animales. No hubo diferencia en la supervivencia entre el grupo que solo recibió antibióticos y los grupos que recibieron DEX (Figura 30B). El tratamiento con L/DEX IT en conjunto con antibióticos disminuyó el área pulmonar afectada por neumonía de 30,38 % a 18,68 % en contraste con el grupo que solo recibió antibióticos después de dos meses de tratamiento. El tratamiento con M/DEX IN en conjunto con antibióticos disminuyó del 30,38 % al 25,85

% en contraste con el grupo que solo recibió antibióticos después de dos meses de tratamiento (Figura 31). La diferencia en el área del pulmón afectada por neumonía entre los grupos DEX y el control SS fue mayor que entre el control SS y el control de antibióticos. Estos resultados mostraron que el tratamiento terapéutico con DEX en combinación con antibióticos tiene un efecto benéfico mayor sobre la disminución de la enfermedad pulmonar que solo la administración de antibióticos.

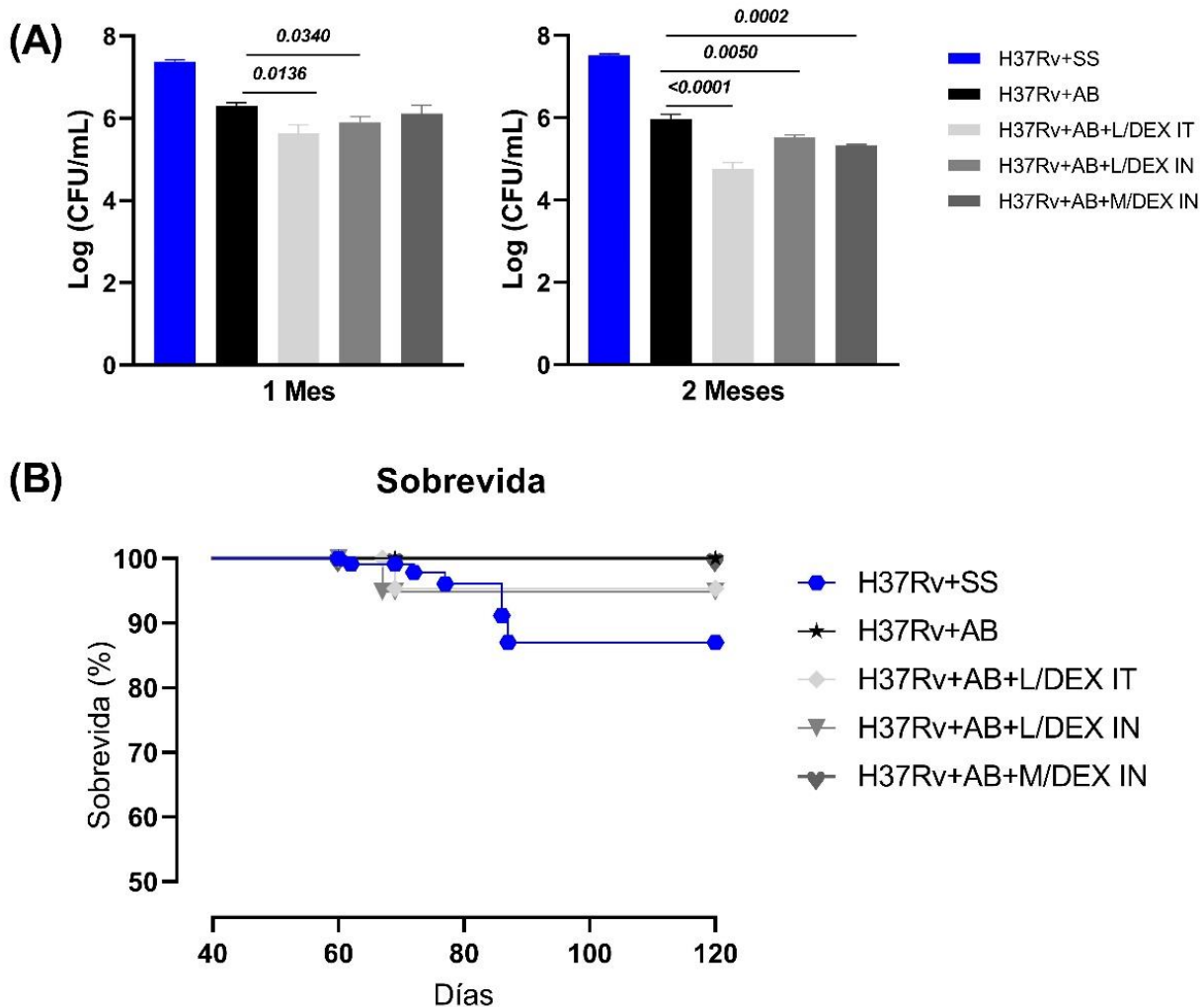


Figura 30. Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre la TB pulmonar avanzada. (A) Carga bacilar en el pulmón después de 1 o 2 meses de tratamiento con DEX intratraqueal (IT) o intranasal (IN) en combinación con antibióticos (AB). (B) Supervivencia de los animales después de uno o dos meses de tratamiento con DEX intratraqueal o intranasal en combinación con antibióticos. Los datos de la carga de bacilos pulmonares se presentan como la media \pm SEM del Log (CFU/mL) y representan dos experimentos diferentes ($n=6$). Prueba t no pareada contra el control tratado con AB.

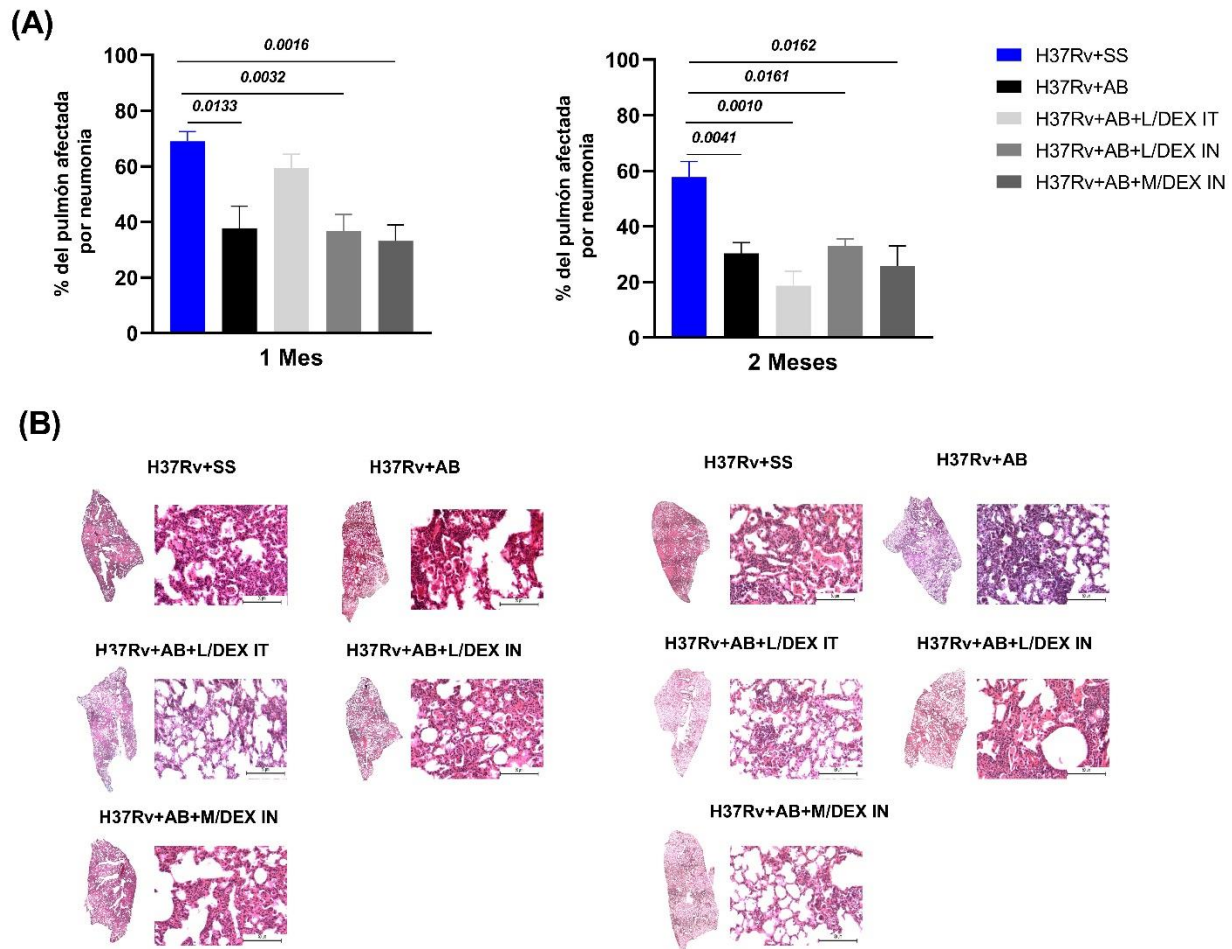


Figura 31. Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre la neumonía en TB pulmonar avanzada. **(A)** Análisis histológico de pulmones de ratones infectados con H37Rv y tratados con DEX y AB durante uno y dos meses expresado como el porcentaje de superficie pulmonar afectada por neumonía. **(B)** Micrografías representativas de pulmones completos y un área representativa 20X después de uno y dos meses de administración de DEX.. Los datos de las áreas pulmonares afectadas por neumonía se presentan como la media +/- SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control tratado con SS.

9.4.2 Efecto de la administración IN e IT de DEX en conjunto con antibióticos en la expresión de citocinas en distintas áreas del cerebro de ratones con TB avanzada.

En el presente trabajo evaluamos el efecto del tratamiento con DEX en combinación con antibióticos en la expresión de TNF e IL-12 en hipotálamo, hipocampo y corteza frontal de ratones con TB avanzada. Los resultados mostraron que el TNF disminuyó en las áreas del cerebro estudiadas después del tratamiento con DEX IN e IT. Este cambio fue más evidente en los grupos de DEX en conjunto con antibióticos que en el grupo que solo

recibió antibióticos (Figura 32). En el caso de la IL-12 observamos que la administración de antibióticos sola no disminuyó la expresión de esta citocina en hipotálamo, hipocampo y corteza frontal. En cambio, la administración de antibióticos en combinación con DEX IT o IN disminuyó la expresión de IL-12, siendo mayor la disminución en el hipocampo (Figura 32).

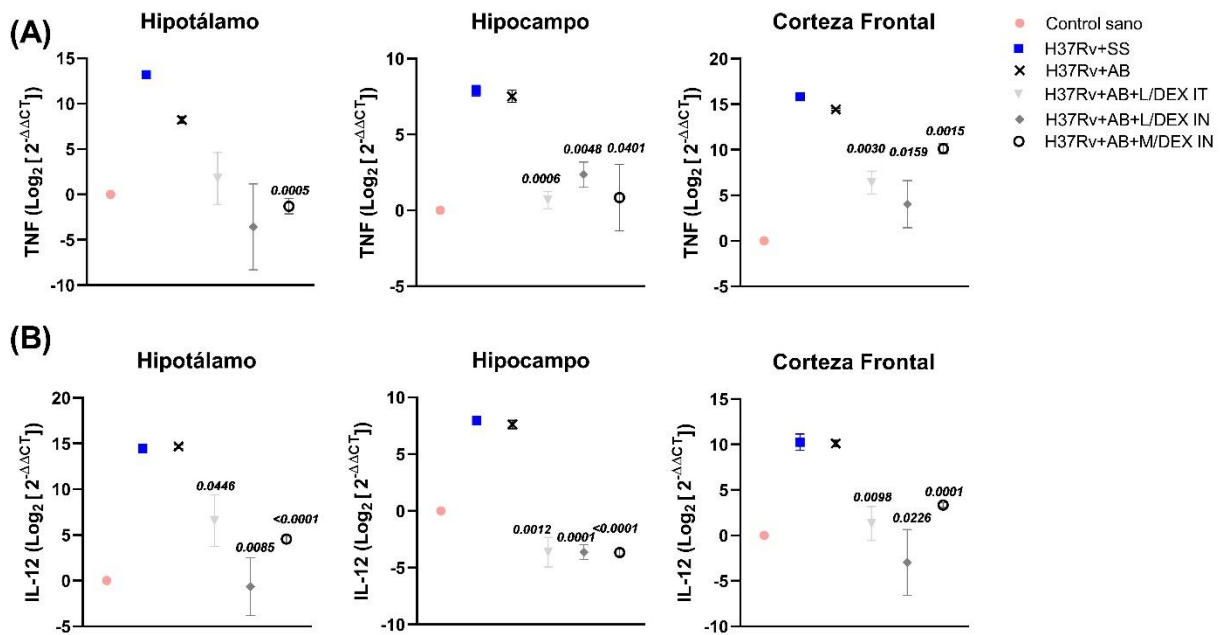


Figura 32. Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos en la expresión de TNF e IL-12 del hipotálamo, hipocampo y corteza frontal en TB pulmonar avanzada. **(A)** Expresión de TNF en el hipotálamo, hipocampo y corteza frontal. **(B)** Expresión de IL-12 en el hipotálamo, hipocampo, corteza frontal. Los datos se presentan como media \pm SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control de AB.

9.4.3 Efecto de la administración IN e IT de DEX en conjunto con antibióticos en la conducta de enfermedad de ratones con TB avanzada.

En el presente trabajo se evaluó el efecto del tratamiento con DEX en conjunto con antibióticos sobre la conducta de enfermedad de ratones con TB avanzada. Para ello, evaluamos el cambio en el peso corporal y la actividad locomotora después de uno y dos meses de tratamiento. Después de un mes de tratamiento, no hubo diferencia en el peso corporal entre los grupos DEX-antibióticos y el grupo control de antibióticos (Figura 33A). Sin embargo, después de dos meses de tratamiento, el grupo que recibió L/DEX IT en conjunto con antibióticos aumentó ligeramente el peso corporal en comparación con el grupo control de antibióticos (Figura 33B). La actividad locomotora mejoró desde un

mes de tratamiento hasta dos meses de tratamiento en los grupos que recibieron DEX en combinación con antibióticos (Figura 33C,D). Estos resultados sugieren que el tratamiento con DEX más antibióticos tiene un mejor efecto en la reducción de la conducta de enfermedad que el uso de solo antibióticos.

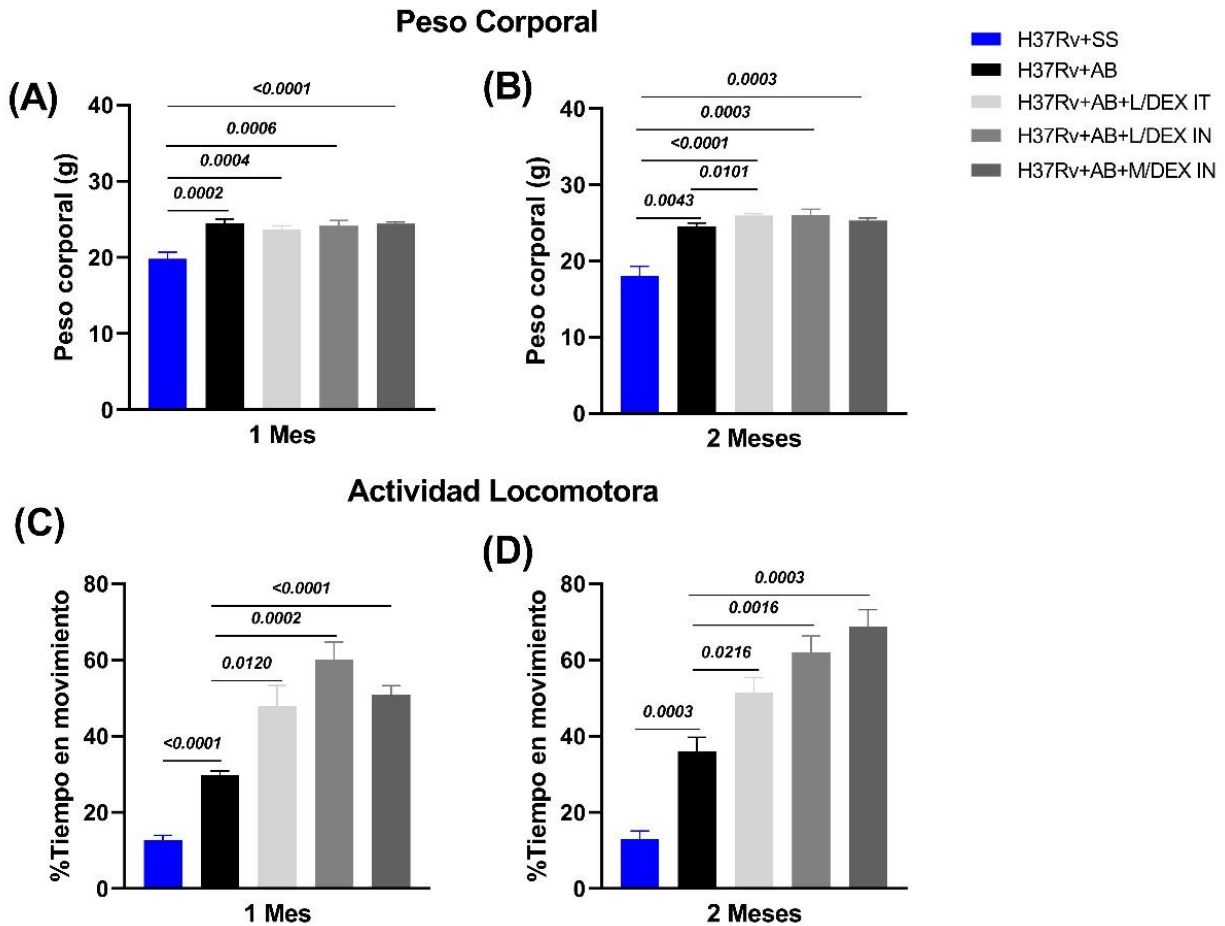


Figura 33. Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos en la conducta de enfermedad en TB pulmonar avanzada. **(A)** Peso corporal de ratones infectados con H37Rv y tratados con DEX y AB durante un mes. **(B)** Peso corporal de ratones infectados con H37Rv y tratados con DEX y AB durante dos meses. **(C)** Actividad locomotora de ratones infectados con H37Rv y tratados con DEX y AB durante un mes. **(D)** Actividad locomotora de ratones infectados con H37Rv y tratados con DEX y AB durante dos meses. Los datos se presentan como la media +/- SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control AB.

9.4.4 Efecto de la administración IN e IT de DEX en conjunto con antibióticos en la conducta similar a la ansiedad de ratones con TB avanzada.

En el presente trabajo se evaluó el efecto del tratamiento con DEX IN e IT en conjunto con antibióticos sobre la conducta similar a la ansiedad, la cual se evaluó después de uno y dos meses de tratamiento con un laberinto elevado en forma de I. Los resultados mostraron que los animales tratados con DEX IN y TI permanecieron más tiempo en el brazo abierto del laberinto (%TA) y tuvieron más ICSP que los animales que solo recibieron antibióticos, ambos parámetros indican un efecto ansiolítico. Por otro lado, el tratamiento disminuyó las ICBC y las PEA, parámetros que indican actividad ansiogénica (Figura 34). En general, podemos decir que el tratamiento con DEX en combinación con antibióticos tiene un mejor efecto en la reducción de la conducta similar a la ansiedad que la administración de antibióticos solos.

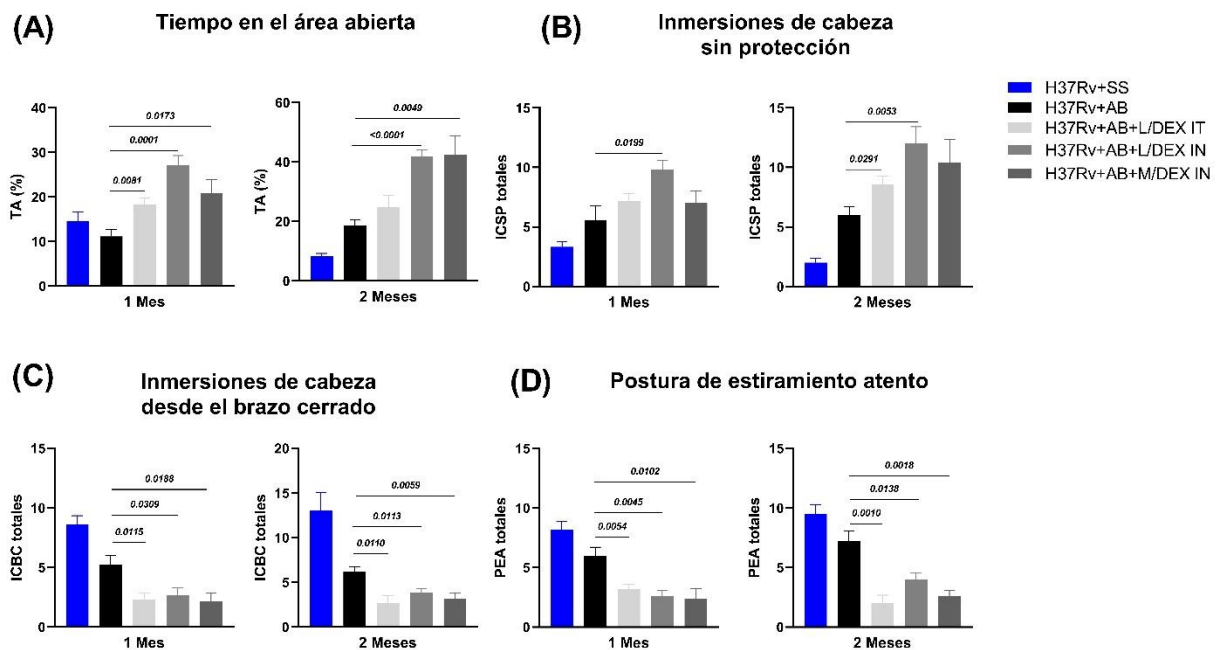


Figura 34. Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre la conducta similar a la ansiedad en TB pulmonar avanzada evaluada en el laberinto elevado en forma de I. **(A)** Tiempo en el área abierta (% TA). **(B)** Inmersiones de cabeza sin protección (ICSP). **(C)** Inmersiones de cabeza desde el brazo cerrado (ICBC). **(D)** Postura de estiramiento atento (PEA). Los datos se presentan como la media +/- SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control AB.

9.4.5 Efecto de la administración IN e IT de DEX en conjunto con antibióticos en la conducta similar a la depresión y el daño neurológico de ratones con TB avanzada.

En el presente trabajo evaluamos el efecto del tratamiento con DEX en combinación con antibióticos en la conducta similar a la depresión y el daño neurológico de ratones con TB avanzada. Los resultados mostraron que el tratamiento con DEX en combinación con antibióticos tuvo un mejor efecto antidepresivo que la administración de antibióticos solos después de uno y dos meses de tratamiento. El tratamiento L/DEX IT fue el más efectivo para disminuir la conducta similar a la depresión, aunque la vía de administración IN también fue efectiva (Figura 35A). Resultados similares se encontraron en el daño neurológico. El tratamiento de DEX en conjunto con antibióticos disminuyó el daño neurológico desde el primer mes de tratamiento en comparación del grupo control de antibióticos, siendo más efectiva la vía de administración IN (Figura 35B).

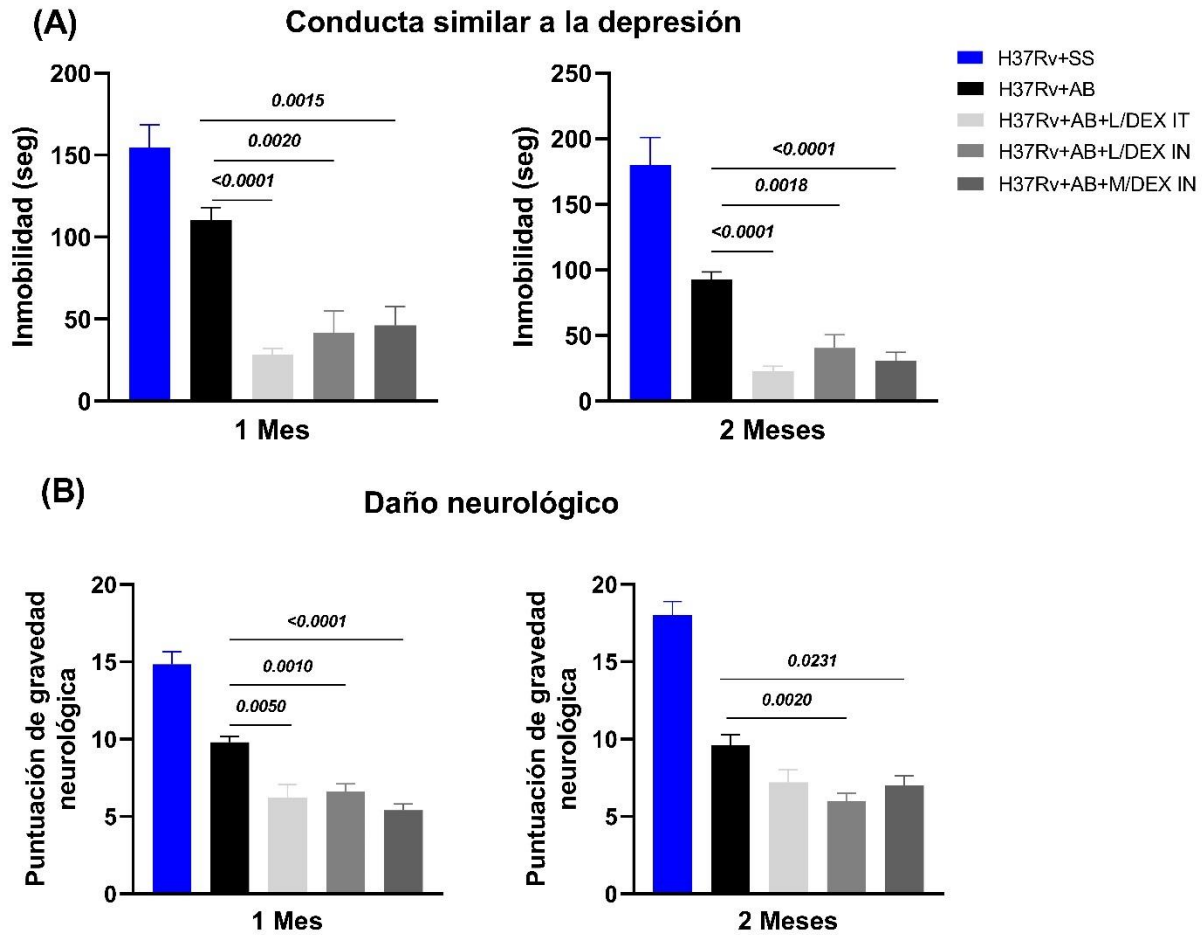


Figura 35. Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre la conducta similar a la depresión y daño neurológico en TB pulmonar avanzada. **(A)** Conducta similar a la depresión. **(B)** Daño neurológico. Los datos se presentan como la media \pm SEM y representan dos experimentos diferentes ($n=6$). Prueba t no pareada contra el control AB.

9.4.6 Efecto de la administración IN e IT de DEX en conjunto con antibióticos sobre la memoria a corto y largo plazo de ratones con TB avanzada.

Al evaluar el efecto de la administración de DEX en combinación con antibióticos en animales infectados de forma crónica con *M. tuberculosis* en la memoria a corto y largo plazo observamos que el tratamiento DEX-antibióticos mejoró la memoria a corto plazo después de 1 y 2 meses de tratamiento en comparación con el grupo control que recibió antibióticos (Figura 36A). Resultados similares se observaron en la memoria a largo plazo, principalmente después de 2 meses de tratamiento se presentaron diferencias entre el grupo DEX-antibióticos y el grupo de antibióticos (Figura 36B). Estos datos sugieren

que el tratamiento terapéutico DEX-antibióticos tiene un efecto benéfico mayor en la memoria de ratones con TB que la sola administración de antibióticos.

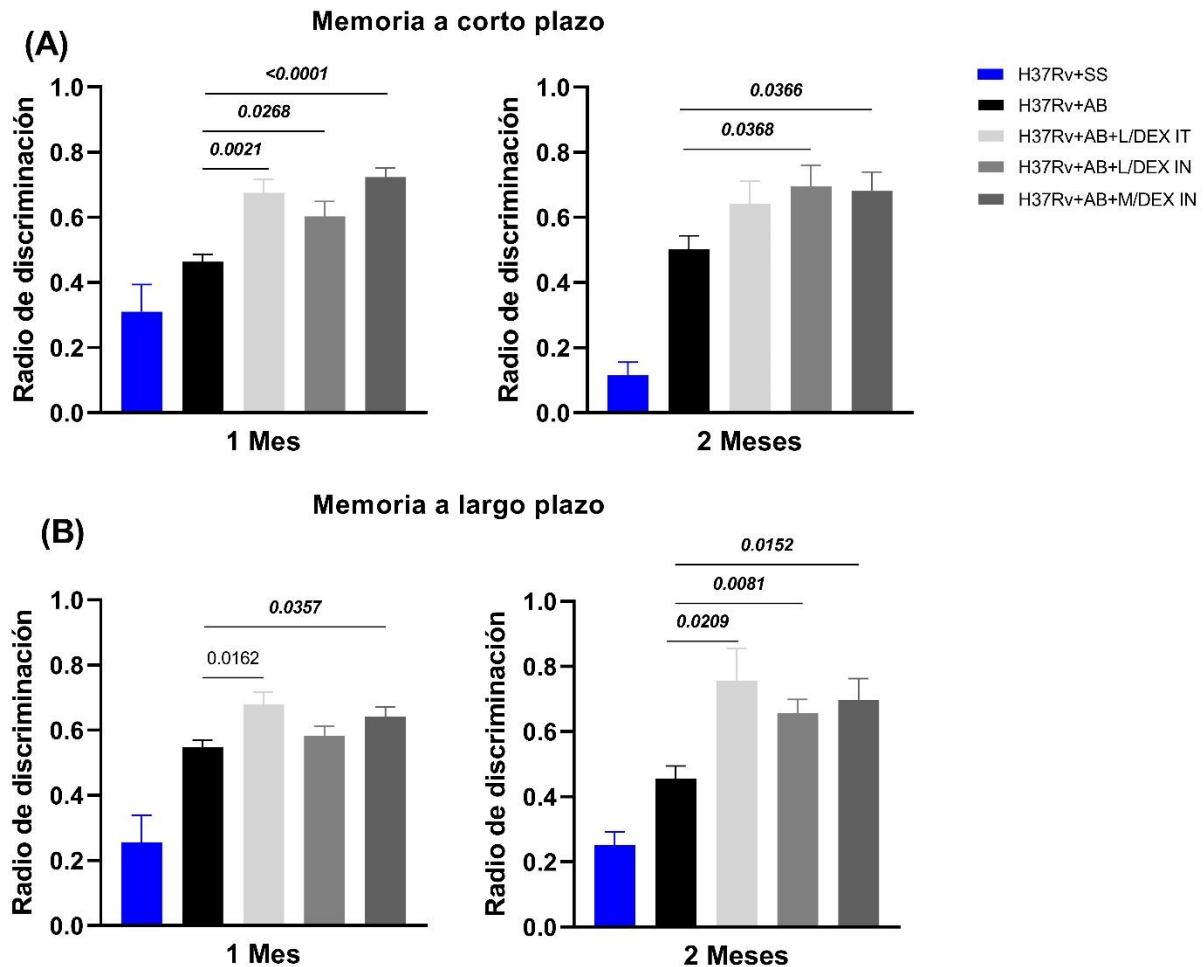


Figura 36. Efecto de la administración de DEX en conjunto con antibióticos sobre el daño en la memoria en TB pulmonar avanzada. **(A)** Memoria a corto plazo. **(B)** Memoria a largo plazo. Los datos se presentan como la media \pm SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control AB

9.5 Efecto de la Curcumina sobre la TB pulmonar experimental

A los animales con TB se les administró CUR (16 o 32 μ g) por vía intraperitoneal a partir del día 14 post infección para evaluar su efecto sobre el progreso de la enfermedad pulmonar. Ambas cantidades disminuyeron la carga bacilar pulmonar desde el día 21 post-infección en comparación con los animales que recibieron SS con 0.5% de DMSO. La cantidad de 16 μ g disminuyó más la carga de bacilar pulmonar (Figura 37A). No se observó crecimiento de micobacterias en el cerebro de los ratones tratados con CUR.

Además, la tasa de supervivencia de los animales que recibieron CUR mejoró ligeramente en comparación con el grupo control (Figura 37B). Estos resultados coincidieron con el análisis morfométrico del área pulmonar, ya que se presentó una disminución en el área pulmonar afectada por neumonía en los ratones tratados con CUR en comparación con el grupo de control (Figura 38). También se contó con un grupo de animales a los cuales se les administró la CUR en la etapa avanzada de la enfermedad pulmonar, es decir, a partir del día 60 post infección. El tratamiento con CUR disminuyó la carga bacilar 1 y 2 meses postratamiento en comparación con el grupo de control y aumentó el porcentaje de supervivencia (Figura 37C-D).

Estos resultados sugieren que la CUR no agrava la enfermedad pulmonar; por el contrario, tiene un efecto benéfico, por lo que fue efectivo administrarlo en animales infectados con *M. tuberculosis*. Además, observamos que la cantidad de 16 µg fue más efectiva que la cantidad de 32 µg en la disminución de la enfermedad pulmonar. Por lo tanto, en el resto de los experimentos, solo usamos la cantidad de 16 µg.

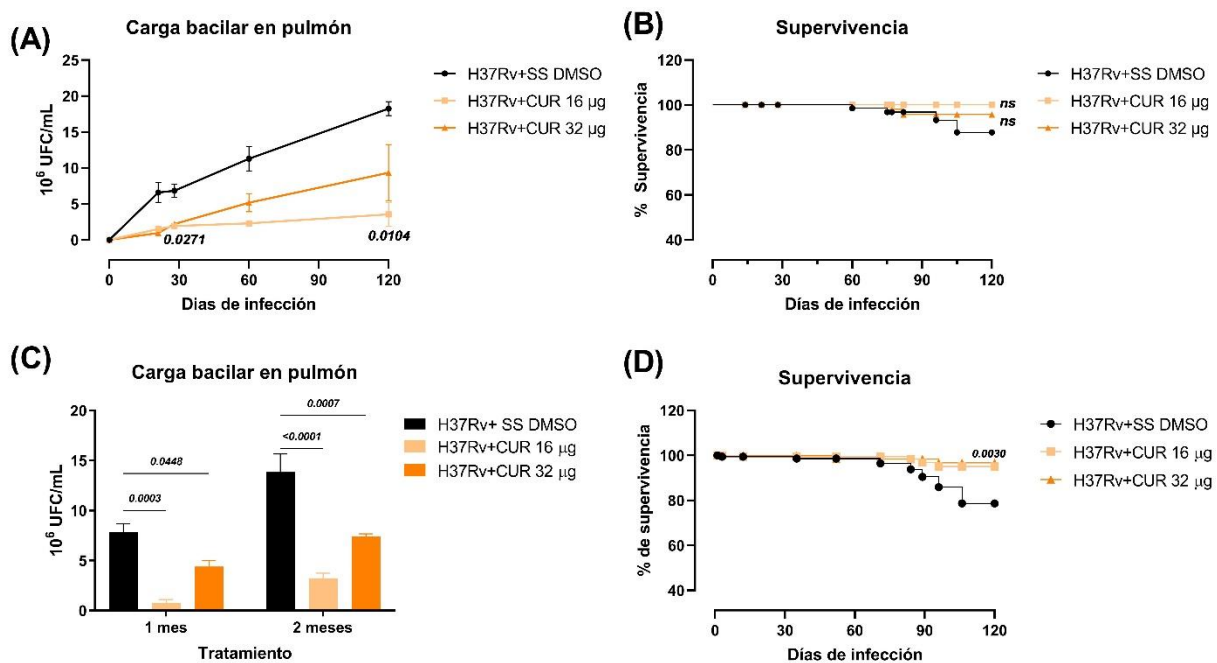


Figura 37. El efecto de la CUR (16 o 32 µg) sobre la TB pulmonar experimental. (A) Carga bacilar en el pulmón de animales tratados con CUR desde el día 14 post infección. (B) Supervivencia de animales tratados con CUR desde el día 14 post-infección. (C) Carga bacilar en el pulmón de animales tratados con CUR desde el día 60 post infección (D) Supervivencia de animales tratados con CUR desde el día 60 post-infección. Los datos se presentan como media ± SEM. ANOVA de dos vías. Comparación múltiple de Tukey's, n=6.

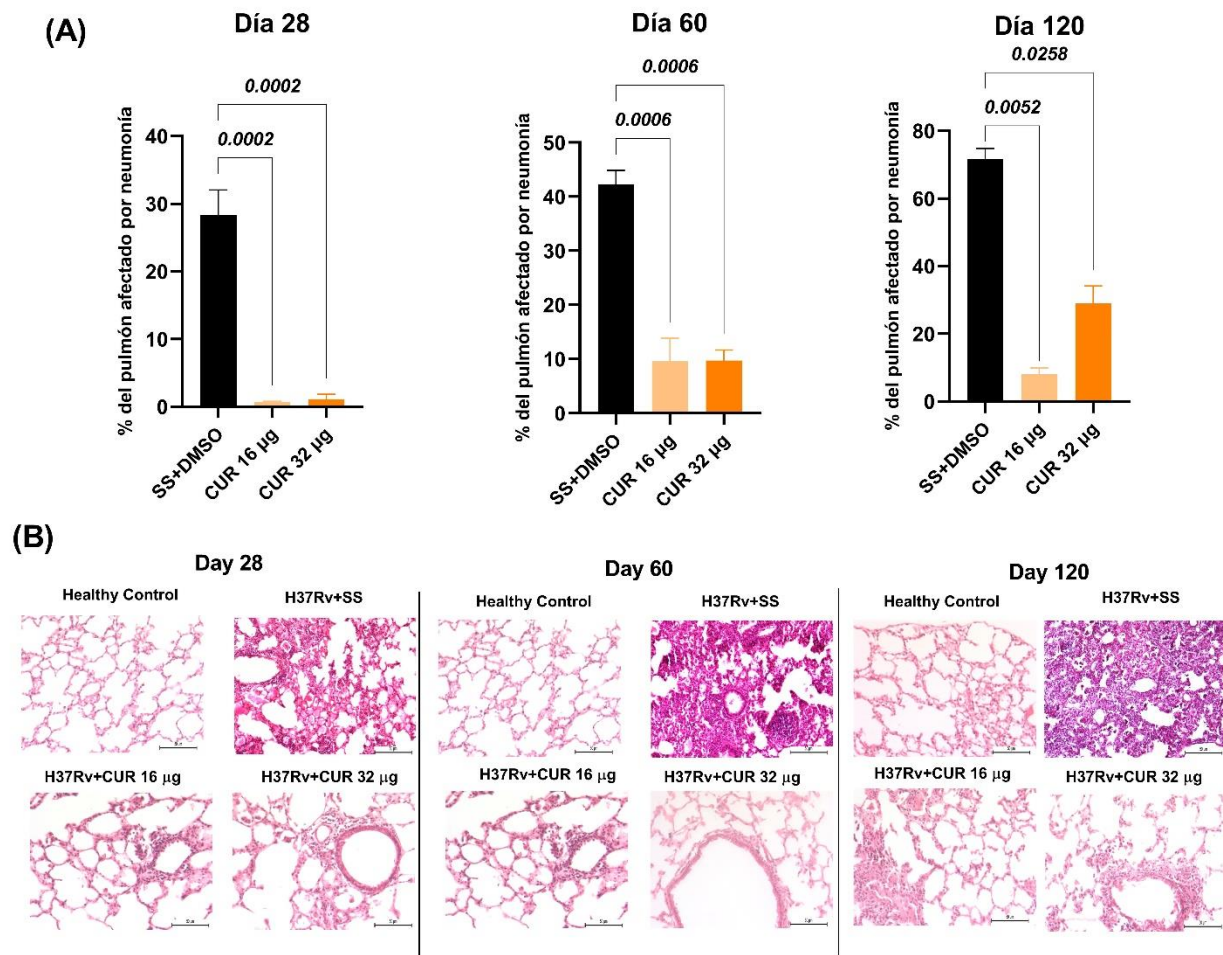


Figura 38. Efecto de la CUR (16 o 32 µg) sobre la neumonía en la TB pulmonar experimental. **(A)** Porcentaje del área neumónica en los días 28, 60 y 120 post-infección. **(B)** Micrografías representativas a los 28, 60 y 120 días post-infección de animales infectados que recibieron CUR, ratones de control que solo recibieron SS y ratones sanos sin infección. Todas las micrografías se muestran a 20 aumentos, tinción con hematoxilina/eosina. Los datos se presentan como media ± SEM (n=6). ANOVA de una vía. Prueba de comparación múltiple de Dunnett.

9.6 Efecto de la administración de la curcumina sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar

9.6.1 Efecto del tratamiento con CUR en la expresión de citocinas en distintas áreas del cerebro de ratones con TB.

En un experimento previo, observamos que, en ausencia de carga bacteriana en el cerebro, hay un aumento de citocinas proinflamatorias en distintas áreas del cerebro en el modelo murino de TB progresiva (Lara-Espinosa *et al.*, 2020). En el presente trabajo evaluamos el efecto de la CUR sobre la expresión de TNF, IFN- γ e IL-12 en el hipocampo,

el hipotálamo, el cerebelo y la corteza frontal de ratones infectados con *M. tuberculosis* mediante RT-PCR. Los resultados mostraron que en los animales tratados con CUR disminuyó considerablemente la expresión de estas citocinas en el hipocampo a los 60 y 120 días post-infección (Figura 39A). En el hipotálamo, el tratamiento con CUR disminuyó levemente la expresión de citocinas proinflamatorias a partir del día 21 posterior a la infección (Figura 39B). En el cerebelo, la expresión de IFN- γ e IL12 disminuyó en los días 60 y 120 posteriores a la infección, mientras que el TNF se mantuvo alto (Figura 40A). Finalmente, en la corteza frontal, CUR redujo significativamente la expresión de estas citocinas proinflamatorias a partir del día 21 post-infección. El efecto antiinflamatorio más notorio de la CUR se observó en la corteza frontal a partir del día 21 después de la infección (Figura 40B). Por el contrario, en el hipocampo, el hipotálamo y el cerebelo, el efecto antiinflamatorio se observó en la fase avanzada de la infección pulmonar.

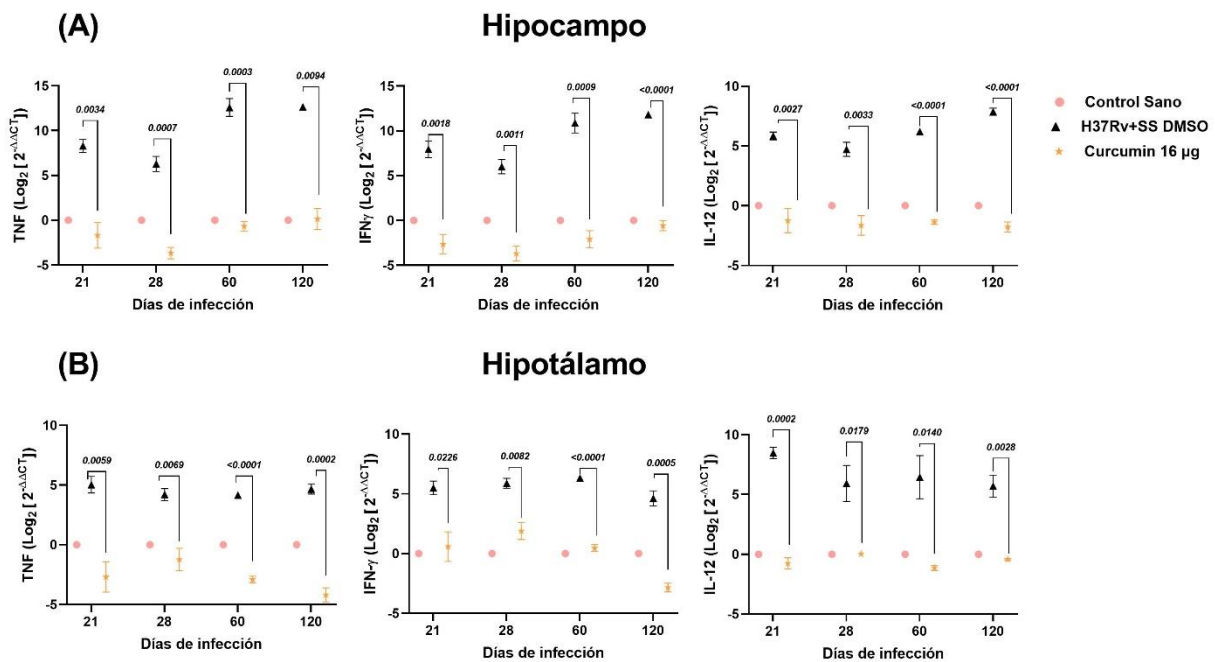


Figura 39. Efecto del tratamiento con CUR (16 μ g) sobre citocinas proinflamatorias del hipocampo e hipotálamo de ratones con TB. **(A)** Expresión de TNF, IFN- γ e IL-12 en el hipocampo. **(B)** Expresión de TNF, IFN- γ e IL-12 en el hipotálamo. Los datos se presentan como media \pm SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control SS DMSO.

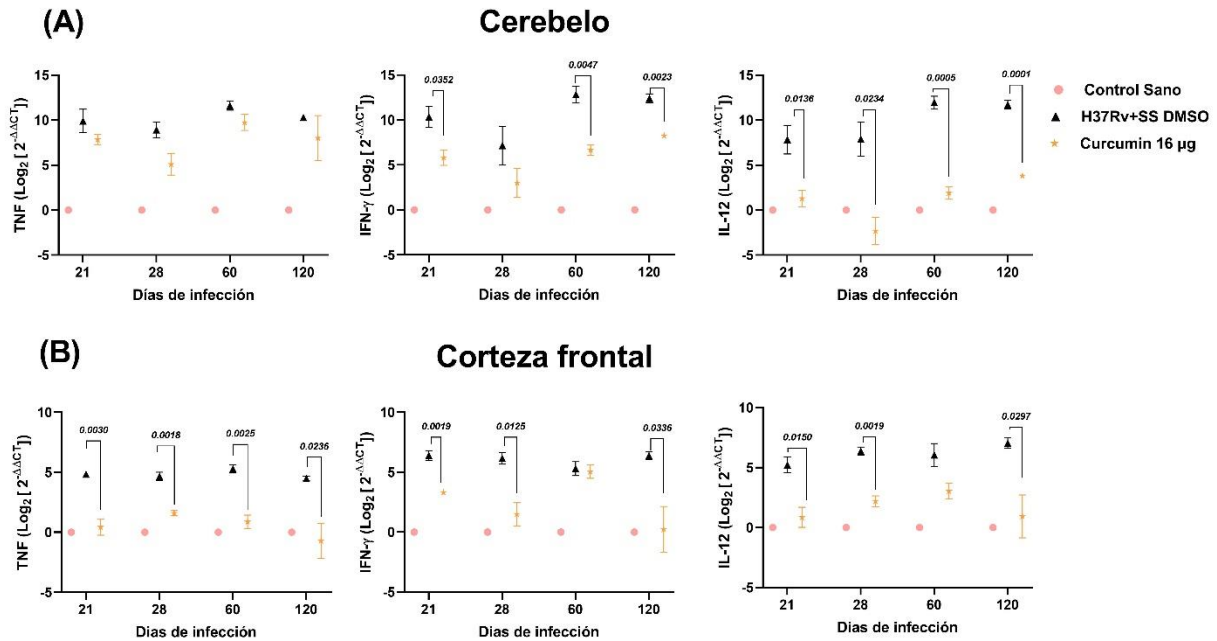


Figura 40. Efecto del tratamiento con CUR (16 µg) sobre citocinas proinflamatorias del cerebelo y la corteza frontal de ratones con TB. **(A)** Expresión de TNF, IFN-γ e IL-12 en el cerebelo. **(B)** Expresión de TNF, IFN-γ e IL-12 en la corteza frontal. Los datos se presentan como media ± SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control SS DMSO.

9.6.2 Efecto de la administración de CUR sobre la conducta de enfermedad

En experimentos previos observamos que la infección pulmonar con *M. tuberculosis* induce conducta de enfermedad (*sickness behaviour*), caracterizada por reducción significativa en el peso corporal, la actividad locomotora y la ingesta de alimento. La conducta de enfermedad es una respuesta fisiológica asociada con el proceso inflamatorio. En el presente trabajo determinamos el efecto de la administración de CUR durante la infección temprana con *M. tuberculosis* sobre la conducta de enfermedad. El tratamiento con CUR disminuyó de manera significativa la conducta de enfermedad de los ratones con TB (Figura 41). La carga bacilar disminuyó de manera similar al experimento previo y la supervivencia de los animales fue mayor en comparación con la del grupo control (Figura 41 A-B). El tratamiento con CUR atenuó la pérdida de peso, principalmente en los 28, 60 y 90 días después de la infección. La actividad locomotora (LMA) y la ingesta de alimento aumentaron considerablemente después de una semana de tratamiento (Figura 41 C-E).

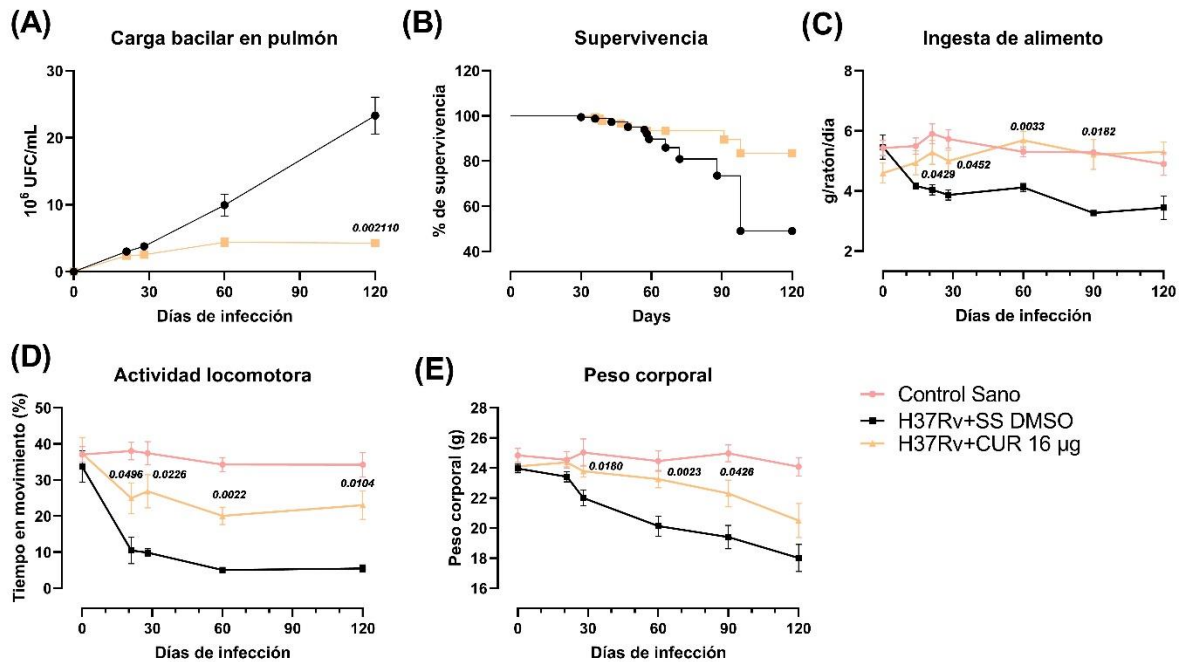


Figura 41. Efecto del tratamiento con CUR (16 µg) sobre la conducta de enfermedad en ratones con TB. (A) Carga bacilar del pulmón. (B) Supervivencia de los animales. (C) Ingesta de alimento. (D) Actividad locomotora. (E) Peso corporal. Los datos se presentan como media ± SEM (n = 6/día/grupo). ANOVA de dos vías. Prueba de comparación múltiple de Dunnett.

9.6.3 Efecto de la administración de CUR sobre la conducta similar a la ansiedad

La ansiedad es otro factor común en pacientes con TB. Previamente demostramos que la inflamación pulmonar causada por la infección pulmonar con *M. tuberculosis* genera conducta similar a la ansiedad en el modelo de TB pulmonar murino (Lara-Espinosa *et al.*, 2020). Por lo tanto, en el presente trabajo evaluamos el efecto del tratamiento CUR en la conducta similar a la ansiedad usando el laberinto elevado en forma de I (Gilhotra *et al.*, 2015). El tratamiento con CUR aumentó el tiempo de los ratones en el brazo abierto (TA) en el día 120 post-infección (Figura 42A), aumentó las inmersiones de cabeza sin protección (ICSP) desde el día 28 post-infección (Figura 42B), disminuyó las inmersiones de cabeza desde el brazo cerrado (ICBC) el día 120 post-infección (Figura 42C) y disminuyó la postura de estiramiento atento (PEA) en los días 60 y 120 post-infección (Figura 42D). El tratamiento con CUR disminuyó la conducta similar a la ansiedad de los ratones con TB, es decir, presentó una actividad de tipo ansiolítico en ratones TB, principalmente en la fase tardía de la infección.

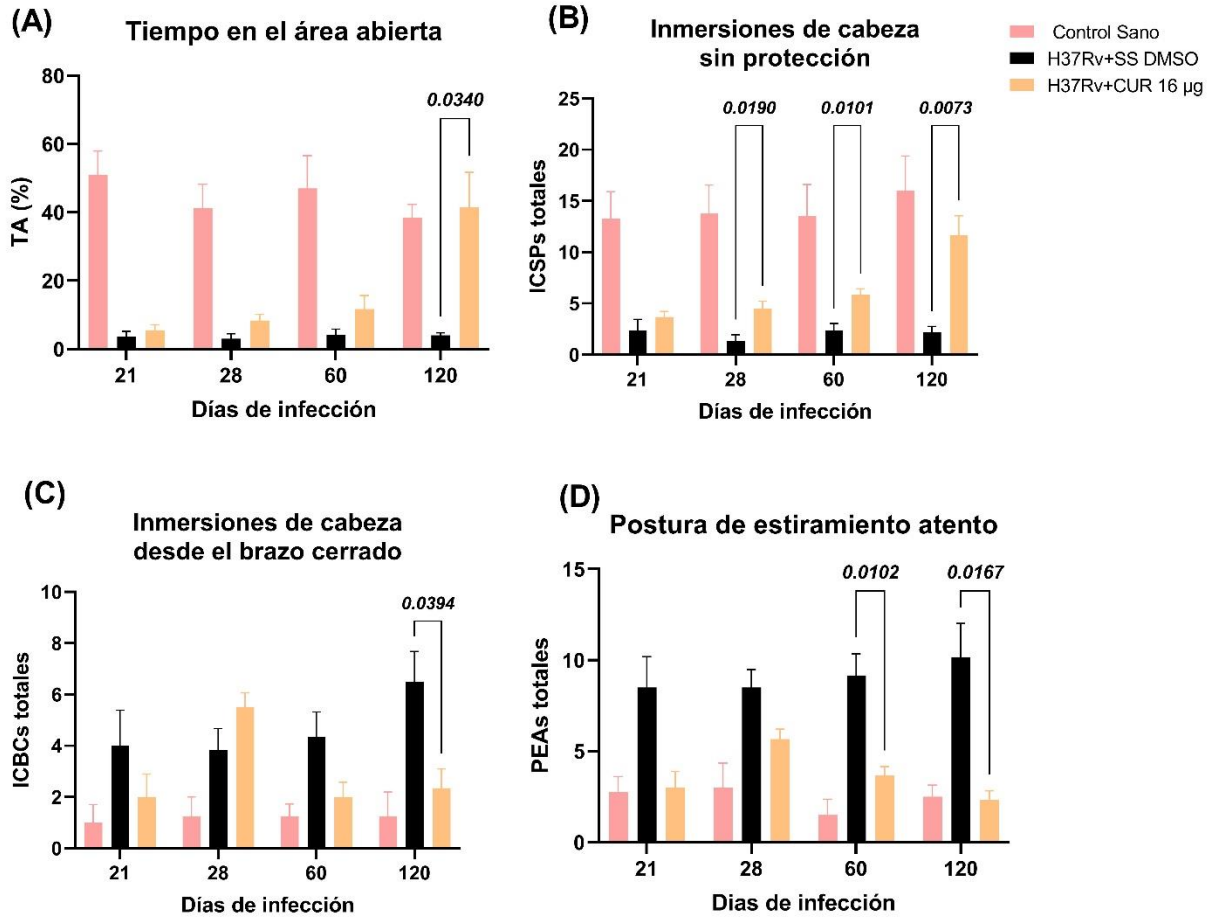


Figura 42. Efecto del tratamiento con CUR (16 µg) sobre la conducta similar a la ansiedad en ratones con TB. **(A)** Tiempo en el brazo abierto (% TA). **(B)** Inmersiones de cabeza sin protección (ICSP). **(C)** Inmersiones de cabeza desde el brazo cerrado (ICBC). **(D)** Postura de estiramiento atento (PEA). Los datos se presentan como media ± SEM (n = 6/día/grupo). ANOVA de dos vías. Prueba de comparación múltiple de Tukey.

9.6.4 Efecto de la administración de CUR sobre la conducta similar a la depresión, daño neurológico y miedo no condicionado

En un estudio previo observamos que la infección pulmonar con *M. tuberculosis* induce conducta similar a la depresión, daño neurológico y miedo no condicionado (Lara-Espinosa *et al.*, 2020). En el presente trabajo, evaluamos el efecto del tratamiento con CUR sobre estos cambios conductuales. La CUR disminuyó el daño neurológico a partir del día 21 post-infección (Figura 43A). Se observaron resultados similares en la conducta similar a la depresión, que disminuyó desde el día 28 post-infección (Figura 43B). El miedo no condicionado disminuyó a partir del día 21 post-infección (Figura 43C). Estos

resultados sugieren que CUR tiene un efecto antidepresivo, reduce el miedo no condicionado, y mejoró el estado neurológico de los animales infectados.

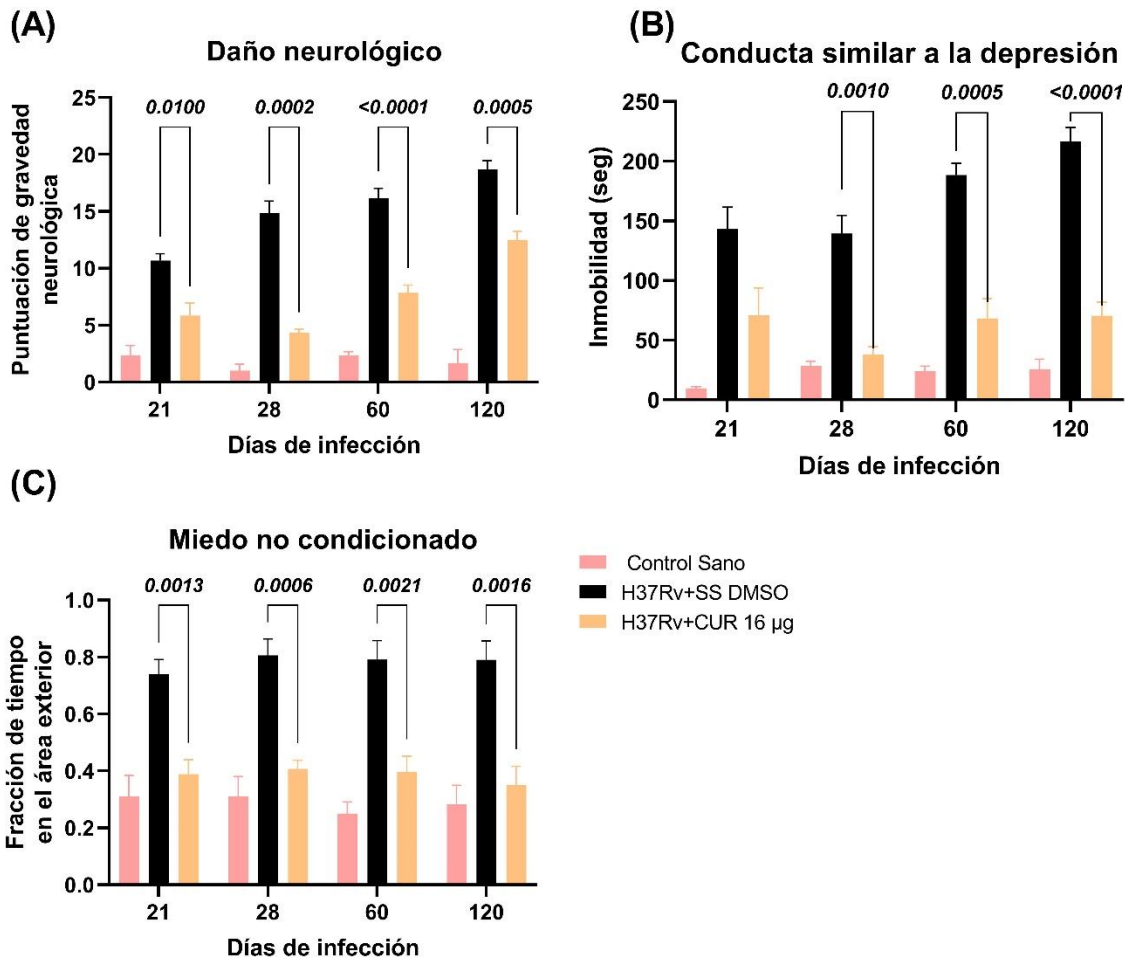


Figura 43. Efecto del tratamiento con CUR (16 µg) sobre el daño neurológico, la conducta similar a la depresión y el miedo no condicionado de ratones con TB. **(A)** Daño neurológico. **(B)** Comportamiento similar a la depresión **(C)** Miedo no condicionado. Los datos se presentan como media ± SEM (n = 6/día/grupo). ANOVA de dos vías. Prueba de comparaciones múltiples de Dunnett.

9.6.5 Efecto de la administración de CUR sobre la memoria a corto y largo plazo

Experimentos anteriores mostraron que la infección pulmonar con *M. tuberculosis* induce daño en la memoria a corto plazo desde el día 14 después de la infección y en la memoria a largo plazo desde el día 1 después de la infección (Lara-Espinosa *et al.*, 2020). El tratamiento con CUR mejoró la memoria a corto plazo desde el día 28 post-infección (Figura 44A) y la memoria a largo plazo desde el día 21 post-infección (Figura 44B). Estos

resultados indican un efecto benéfico en la memoria de ratones infectados con TB y tratados con CUR.

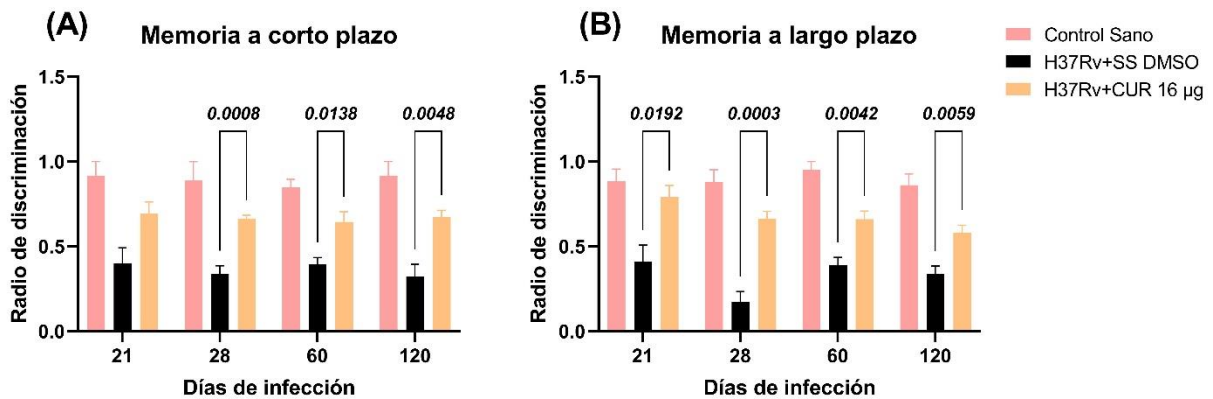


Figura 44. Efecto del tratamiento con CUR (16 µg) en el daño en la memoria de ratones con TB. **(A)** Memoria a corto plazo. **(B)** Memoria a largo plazo. Los datos se presentan como media ± SEM (n = 6/día/grupo). ANOVA de dos vías. Prueba de comparaciones múltiples de Dunnett.

9.6.6 El efecto del tratamiento con CUR en los niveles de Nrf2 y BDNF en la corteza frontal y el hipocampo de ratones con TB

El estrés oxidativo y la neuroinflamación están relacionados con el deterioro cognitivo y el daño neuronal (Solleiro-Villavicencio & Rivas-Arancibia, 2018). Varias enzimas antioxidantes están reguladas por Nrf2, que protege a las células del daño oxidativo y la inflamación (Singh *et al.*, 2021). Por lo tanto, en el presente trabajo evaluamos el efecto del tratamiento con CUR sobre la expresión de Nrf2 en la corteza frontal y el hipocampo de ratones con TB, dos áreas donde observamos una disminución significativa de citocinas proinflamatorias y que están relacionadas con procesos cognitivos y conductuales. Los resultados mostraron que el tratamiento con CUR aumentó los niveles de Nrf2 en la corteza frontal, de manera importante en el día 21 después de la infección, y hubo una tendencia creciente en los días 60 y 120 después de la infección. Además, el tratamiento con CUR aumentó ligeramente los niveles de Nrf2 en el hipocampo desde el día 21 después de la infección (Figura 45A). Estos resultados sugieren que el tratamiento con CUR protege a las células de la corteza y del hipocampo del daño oxidativo y la inflamación, lo que podría estar relacionado con la mejora en el estado conductual de los animales con TB.

Dado que el BDNF se ha relacionado con los efectos antidepresivos y la mejora de la memoria producidos por varios fármacos (Björkholm & Monteggia, 2016; Zhang *et al.*,

2015), evaluamos los efectos de CUR sobre los niveles de BDNF en la corteza frontal y el hipocampo de ratones con TB. Previamente observamos que la infección pulmonar con *M. tuberculosis* disminuye los niveles de BDNF, principalmente en el hipocampo (Lara-Espinosa *et al.*, 2021). Nuestros resultados mostraron que el tratamiento con CUR aumentó ligeramente los niveles de BDNF en la corteza frontal desde el día 21 después de la infección. Además, el tratamiento con CUR aumentó significativamente los niveles de BDNF en el hipocampo en los días 21, 28, 60 y 120 después de la infección (Figura 45B). Estos resultados podrían estar relacionados con el efecto benéfico que la CUR presentó sobre los cambios de conducta de los animales con TB.

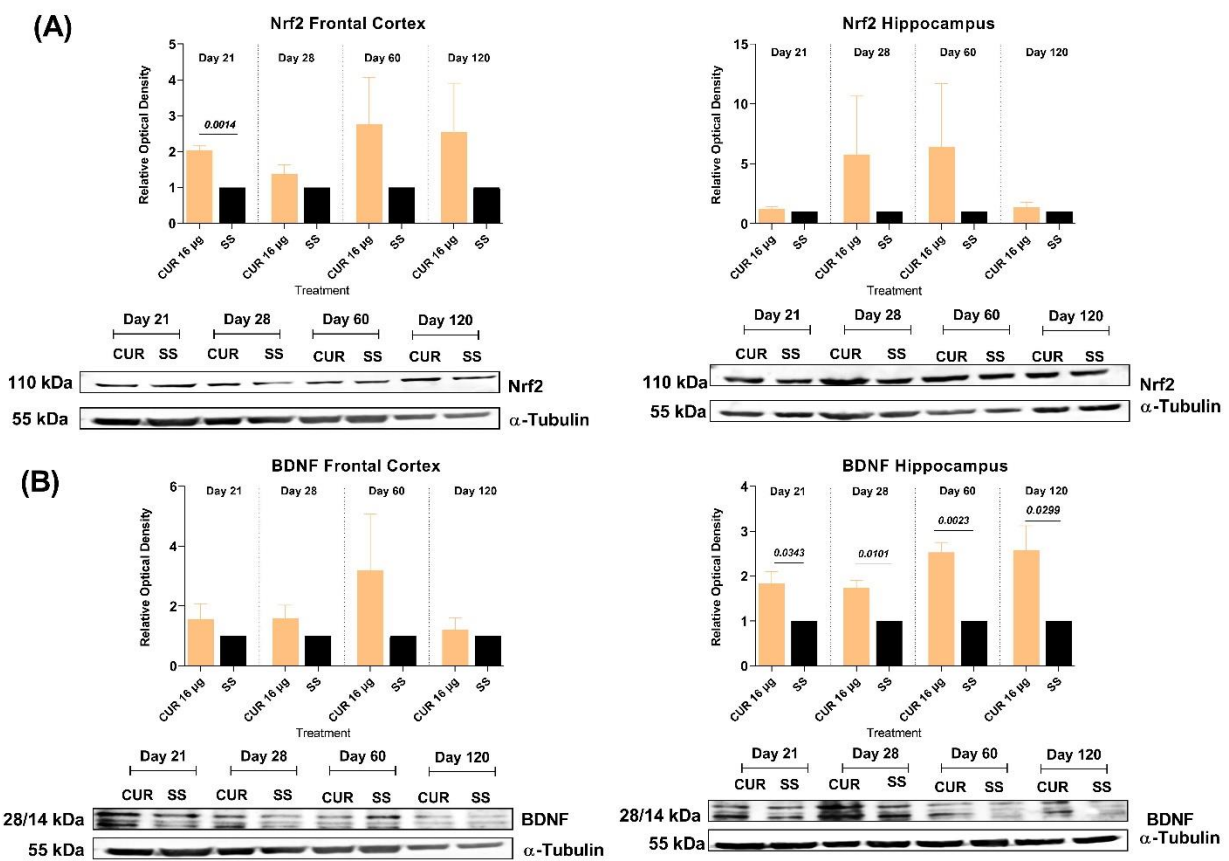


Figura 45. Efecto del tratamiento con CUR (16 µg) sobre los niveles de Nrf2 y BDNF en la corteza frontal e hipocampo de ratones con TB. **(A)** Cuantificación de la densidad óptica relativa de Nrf2 en la corteza frontal y en el hipocampo. **(B)** Cuantificación de la densidad óptica relativa de BDNF en la corteza frontal y en el hipocampo. Los paneles inferiores muestran imágenes representativas del western blot a los 21, 28, 60 y 120 días después de la infección. Los datos se presentan como media ± SEM (n = 6/día/grupo). Prueba de *t* de student contra el grupo control de SS.

9.7 Efecto de la administración de la curcumina en combinación con antibióticos sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar en la etapa avanzada de la enfermedad.

En la última parte del trabajo, evaluamos el efecto terapéutico de la administración de CUR en conjunto con antibióticos de primera línea (rifampicina, isoniazida y pirazinamida) sobre la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar en la etapa avanzada de la enfermedad (60 días post-infección).

9.7.1 Efecto de la administración de curcumina en conjunto con antibióticos sobre la TB pulmonar avanzada.

Primero, evaluamos el efecto de la CUR en conjunto con antibióticos en animales infectados con *M. tuberculosis* H37Rv. Los tratamientos se administraron a partir del día 60 post-infección y se evaluó la carga bacilar después de 1 y 2 meses de tratamiento. Los resultados mostraron que la combinación de CUR con antibióticos no disminuyó en mayor medida la carga bacilar después de 1 mes de tratamiento en comparación con el grupo control que solamente recibió antibióticos. Sin embargo, después de 2 meses de tratamiento la combinación de CUR y antibióticos presentó una mayor disminución que el grupo control de antibióticos (Figura 46A). En la supervivencia no se observaron cambios entre el grupo control de antibióticos con el grupo que recibió antibióticos con CUR (Figura 46B). Similares resultados se observaron en el área del pulmón afectada por neumonía, ya que no hubo diferencias importantes entre el grupo de CUR-antibióticos con el grupo de antibióticos después de 1 y 2 meses de tratamiento (Figura 47).

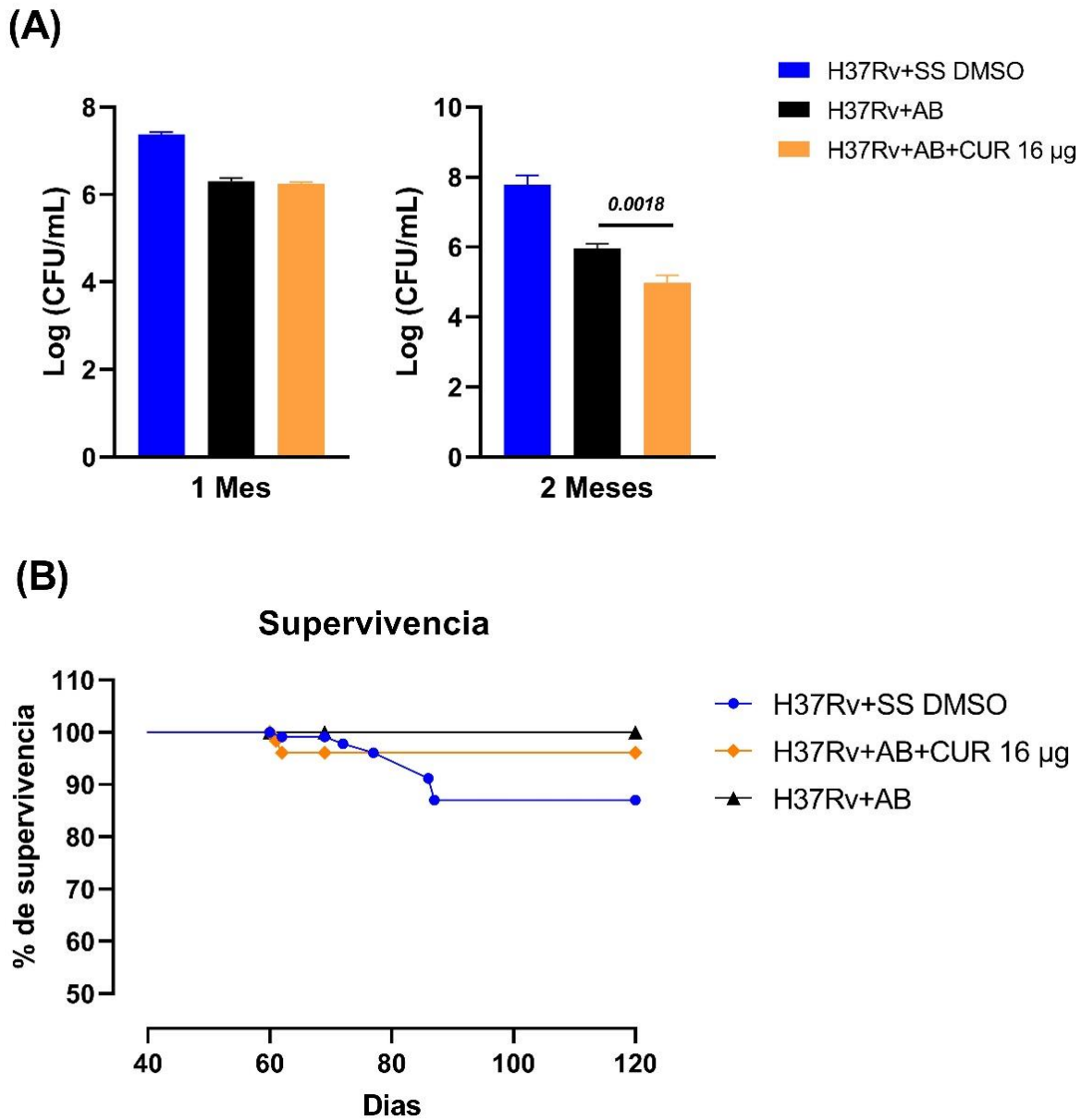


Figura 46. Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre la TB pulmonar avanzada. **(A)** Carga bacilar en el pulmón después de 1 y 2 meses de tratamiento. **(B)** Supervivencia de los animales. Los datos se presentan como media \pm SEM. Prueba de *t* de *student* contra el control que recibió antibióticos.

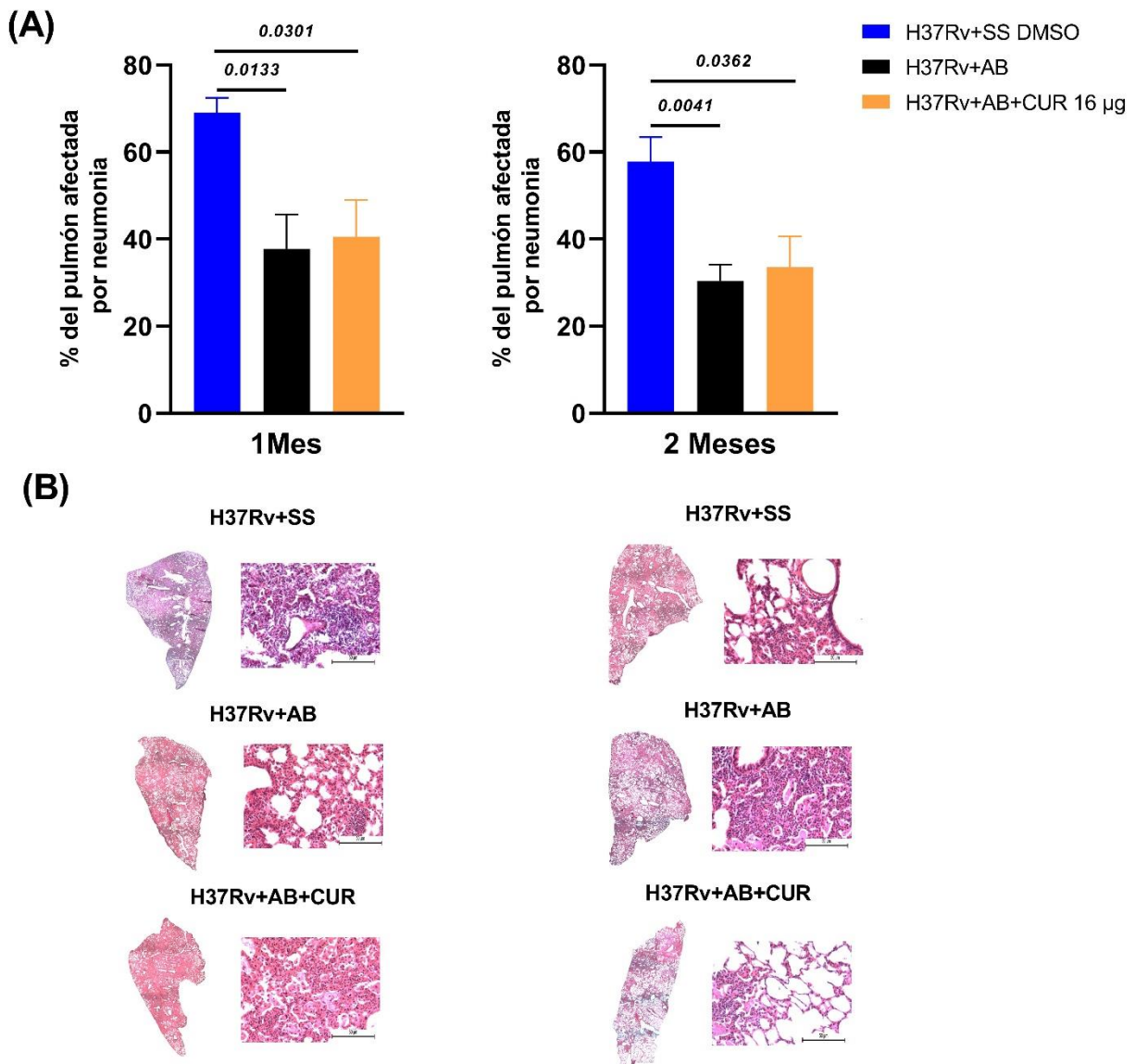


Figura 47. Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre la neumonía en TB pulmonar avanzada. **(A)** Análisis histológico de pulmones de ratones infectados con H37Rv y tratados con CUR y AB durante uno y dos meses expresado como el porcentaje de la superficie pulmonar afectada por neumonía. **(B)** Micrografías representativas de pulmones completos y un área representativa 20X después de uno y dos meses de administración de CUR. Los datos se presentan como media \pm SEM. Prueba de *t* de *student* contra el control que recibió antibióticos.

9.6.2 Efecto de la administración de curcumina en conjunto con antibióticos en la expresión de citocinas en distintas áreas del cerebro de ratones con TB avanzada.

Posteriormente evaluamos el efecto del tratamiento de CUR en combinación con antibióticos sobre la expresión de TNF e IL-12 en el hipotálamo, hipocampo y corteza frontal de ratones con TB pulmonar avanzada después de dos meses de tratamiento. Los resultados mostraron que la combinación CUR-antibióticos disminuyó levemente la expresión de TNF en el hipocampo y la corteza frontal en comparación con el grupo control que recibió antibióticos. La expresión de IL-12 disminuyó en mayor grado en los animales que recibieron la combinación CUR-antibióticos, siendo mayor la disminución en el hipocampo. A diferencia de TNF, la expresión de IL-12 no disminuyó en el grupo que solo recibió antibióticos en comparación con el grupo control que recibió SS (Figura 48). Estos datos sugieren que a pesar de que no se presentaron diferencias a nivel pulmonar entre el grupo control de antibióticos y la combinación CUR-antibióticos, si disminuyó la respuesta inflamatoria en el SNC, principalmente en el hipocampo y la corteza frontal, siendo más evidente en la expresión de IL-12.

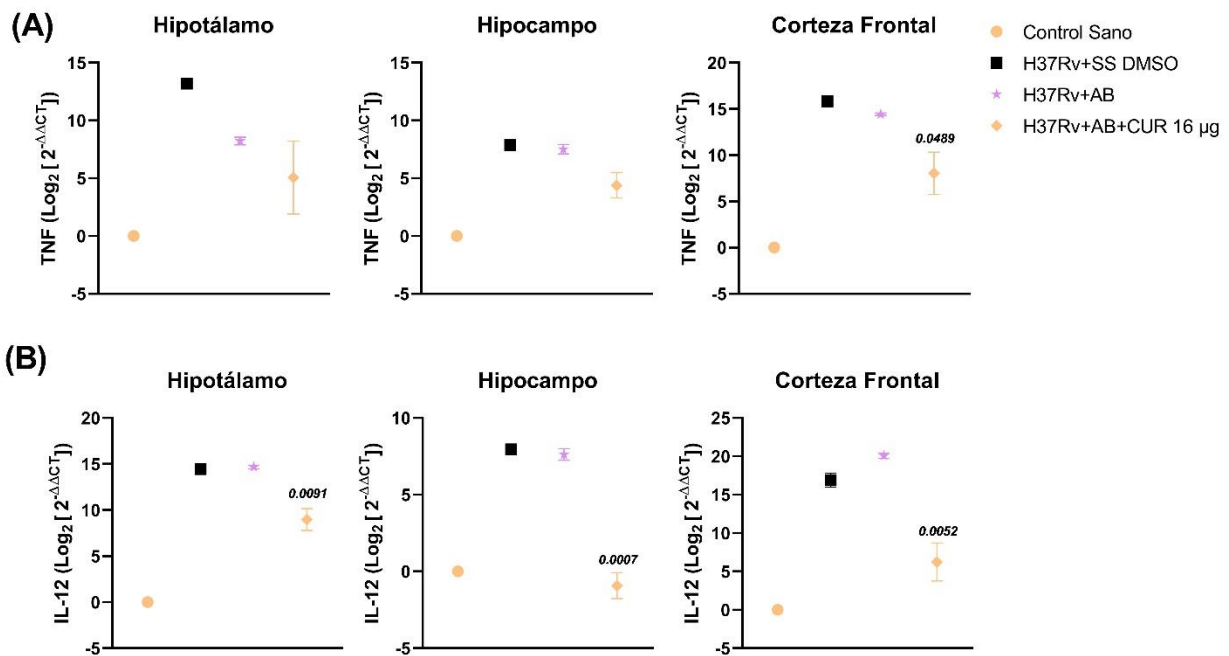


Figura 48. Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos en la expresión de TNF e IL-12 del hipotálamo, hipocampo y corteza frontal en TB pulmonar avanzada. **(A)** Expresión de TNF en el hipotálamo, hipocampo y corteza frontal. **(B)** Expresión de IL-12 en el hipotálamo, hipocampo, corteza frontal. Los datos se presentan como media +/- SEM. Prueba de *t* de *student* contra el control que recibió antibióticos.

9.6.3 Efecto de la administración de curcumina en conjunto con antibióticos en la conducta de enfermedad de ratones con TB avanzada.

En relación con los cambios conductuales, al evaluar el efecto de la administración de CUR en combinación con antibióticos sobre la conducta de enfermedad de animales con TB pulmonar avanzada, observamos que después de 2 meses de tratamiento los animales que recibieron la combinación CUR-antibióticos presentaron ligeramente mayor peso corporal que el grupo control que solamente recibió antibióticos. En la actividad locomotora se presentó una mejora desde un mes de tratamiento en el grupo que recibió CUR-antibióticos (Figura 49). Estos resultados sugieren que la administración de CUR en conjunto con antibióticos tiene un efecto mayor disminuyendo la conducta de enfermedad que solamente la administración de antibióticos convencionales.

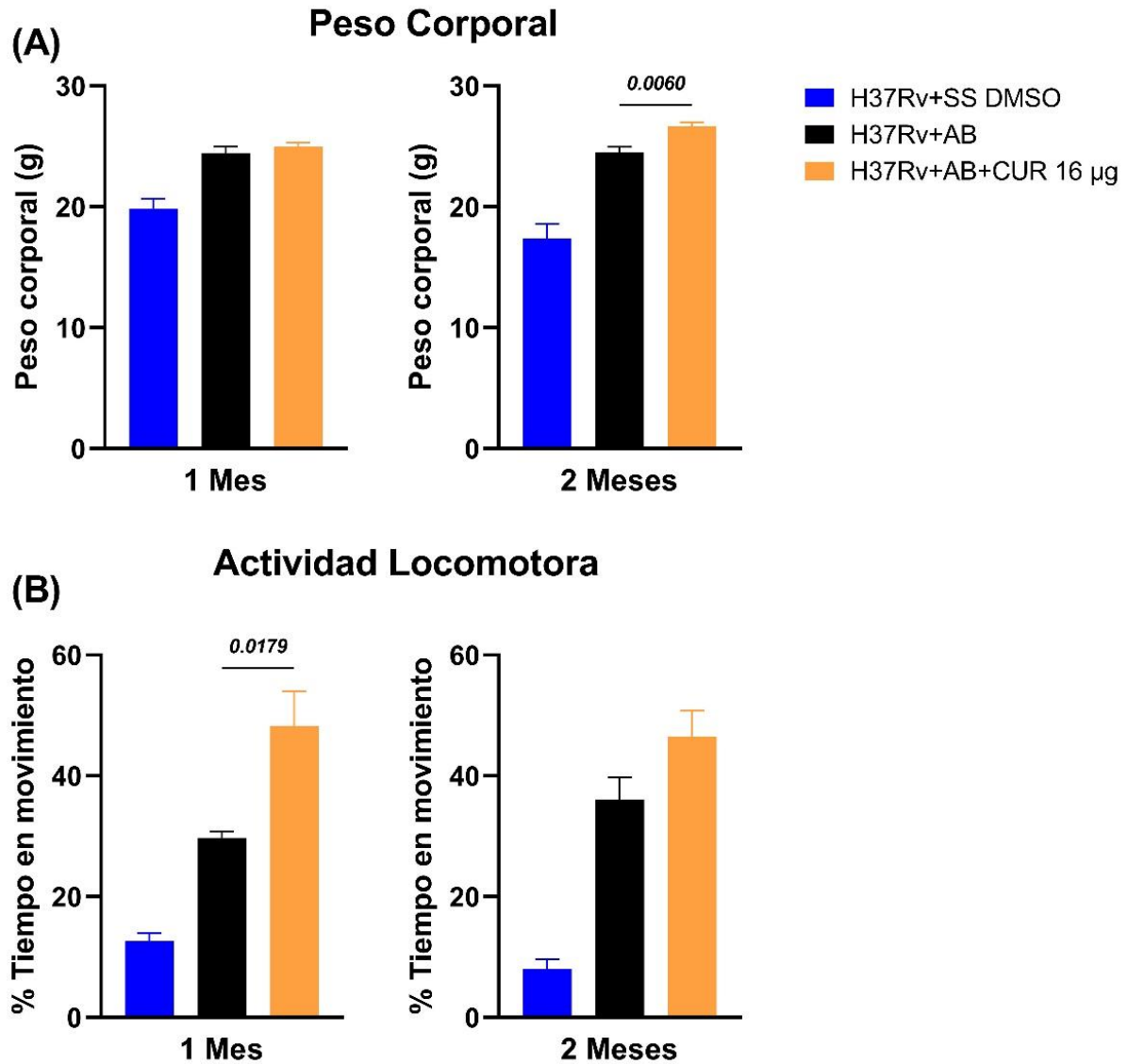


Figura 49. Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos en la conducta de enfermedad en TB pulmonar avanzada. **(A)** Peso corporal de ratones infectados con H37Rv y tratados con CUR y AB durante uno o dos meses. **(B)** Actividad locomotora de ratones infectados con H37Rv y tratados con CUR y AB durante uno y dos meses. Los datos se presentan como la media +/- SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control AB.

9.6.4 Efecto de la administración de curcumina en conjunto con antibióticos en la conducta similar a la ansiedad de ratones con TB avanzada.

En el presente trabajo evaluamos el efecto de la administración de CUR en combinación con antibióticos en animales infectados de forma crónica con *M. tuberculosis* en la conducta similar a la ansiedad utilizando el laberinto elevado en forma de I. Observamos que la combinación CUR-antibióticos aumentó el tiempo de los ratones en el brazo abierto (TA) y las ICSP después de 1 y 2 meses de tratamiento, y disminuyó las ICBC y las PEA en comparación del grupo que solamente recibió antibióticos (Figura 50). Por lo tanto, el tratamiento con CUR-antibióticos mostró una actividad de tipo ansiolítico en ratones TB.

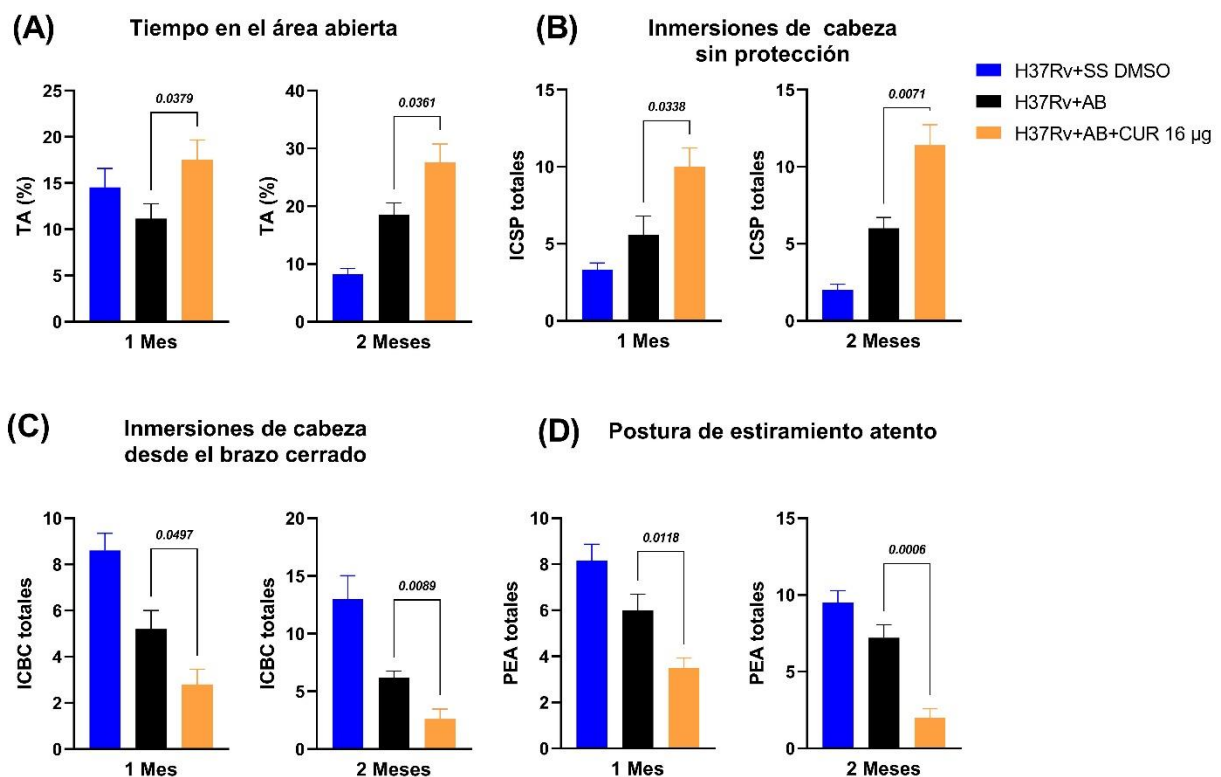


Figura 50. Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre la conducta similar a la ansiedad en TB pulmonar avanzada evaluada en el laberinto elevado en forma de I. **(A)** Tiempo en el brazo abierto (% TA). **(B)** Inmersiones de cabeza sin protección (ICSP). **(C)** Inmersiones de cabeza desde el brazo cerrado (ICBC). **(D)** Postura de estiramiento atento (PEA). Los datos se presentan como la media +/- SEM y representan dos experimentos diferentes (n=6). Prueba t no pareada contra el control AB.

9.6.5 Efecto de la administración de curcumina en conjunto con antibióticos en la conducta similar a la depresión y el daño neurológico de ratones con TB avanzada.

En el presente trabajo evaluamos el efecto de la administración de CUR en combinación con antibióticos en animales infectados de forma crónica con *M. tuberculosis* en la conducta similar a la depresión y el daño neurológico. Los resultados mostraron que el tratamiento en conjunto CUR-antibióticos disminuyó la conducta similar a la depresión en la prueba de suspensión de cola después de 1 y 2 meses de tratamiento en comparación con el grupo control de antibióticos (Figura 51A). Sin embargo, no se presentaron diferencias en el daño neurológico, ya que el grupo CUR-antibióticos presentó niveles de daño neurológico similares al grupo control que solamente recibió antibióticos en los dos tiempos evaluados (Figura 51B). El tratamiento CUR-antibióticos tuvo un mayor efecto antidepressivo en comparación con el grupo de antibióticos.

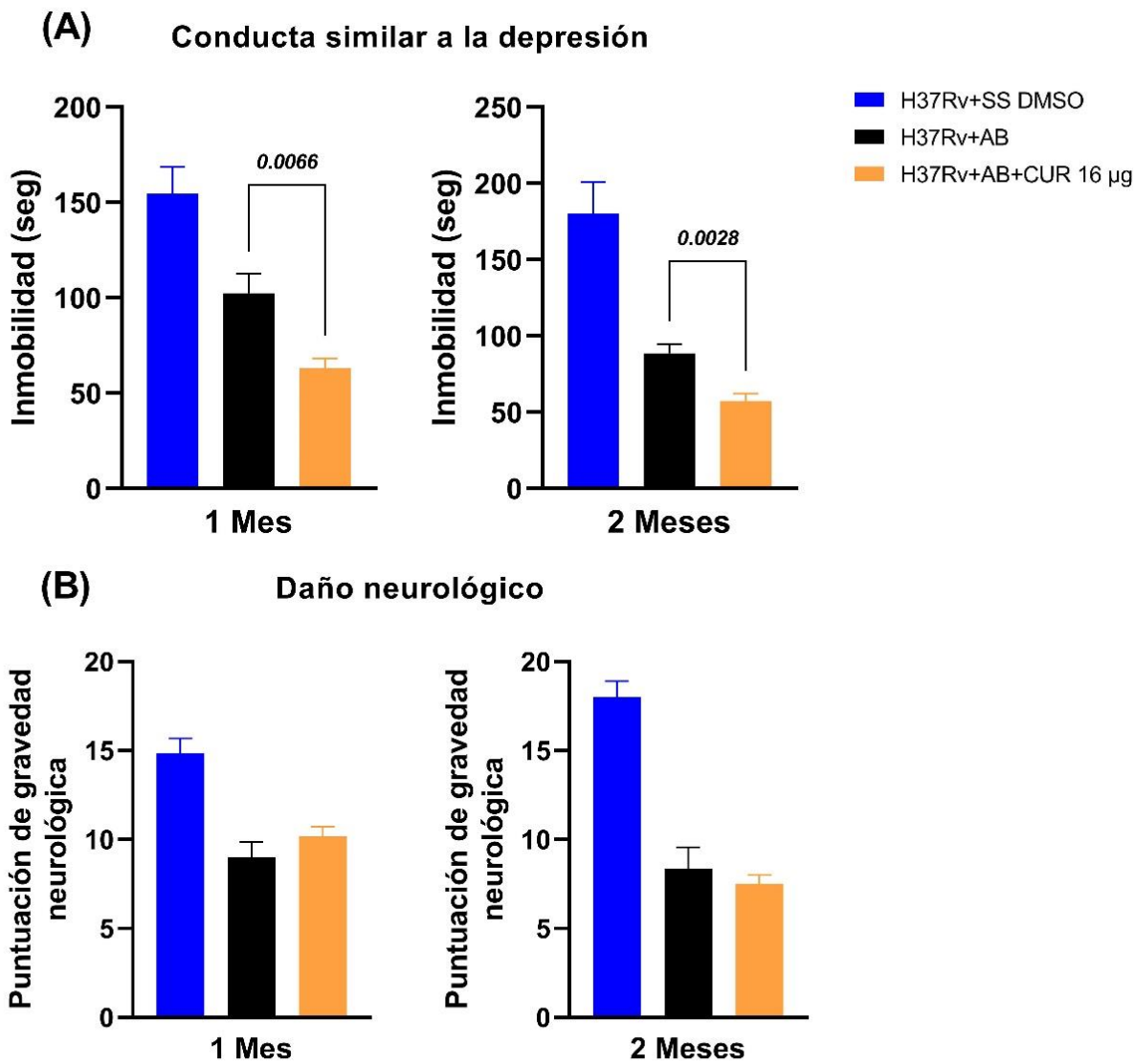


Figura 51. Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre la conducta similar a la depresión y daño neurológico en TB pulmonar avanzada. **(A)** Conducta similar a la depresión. **(B)** Daño neurológico. Los datos se presentan como la media \pm SEM y representan dos experimentos diferentes ($n=6$). Prueba t no pareada contra el control AB.

9.6.6 Efecto de la administración de curcumina en conjunto con antibióticos sobre la memoria a corto y largo plazo de ratones con TB avanzada.

Al evaluar el efecto de la administración de CUR en combinación con antibióticos en animales infectados de forma crónica con *M. tuberculosis* en la memoria a corto y largo plazo observamos que el tratamiento CUR-antibióticos mejoró la memoria a corto plazo después de 1 y 2 meses de tratamiento en comparación con el grupo control que recibió

antibióticos (Figura 52A). Sin embargo, al evaluar la memoria a largo plazo, no se presentaron diferencias entre el grupo CUR-antibióticos y el grupo de antibióticos, aunque si hubo una tendencia a mejorar en el grupo CUR-antibióticos (Figura 52B). Estos datos sugieren que el tratamiento terapéutico CUR-antibióticos tiene un efecto benéfico mayor en la memoria de ratones con TB que la sola administración de antibióticos.

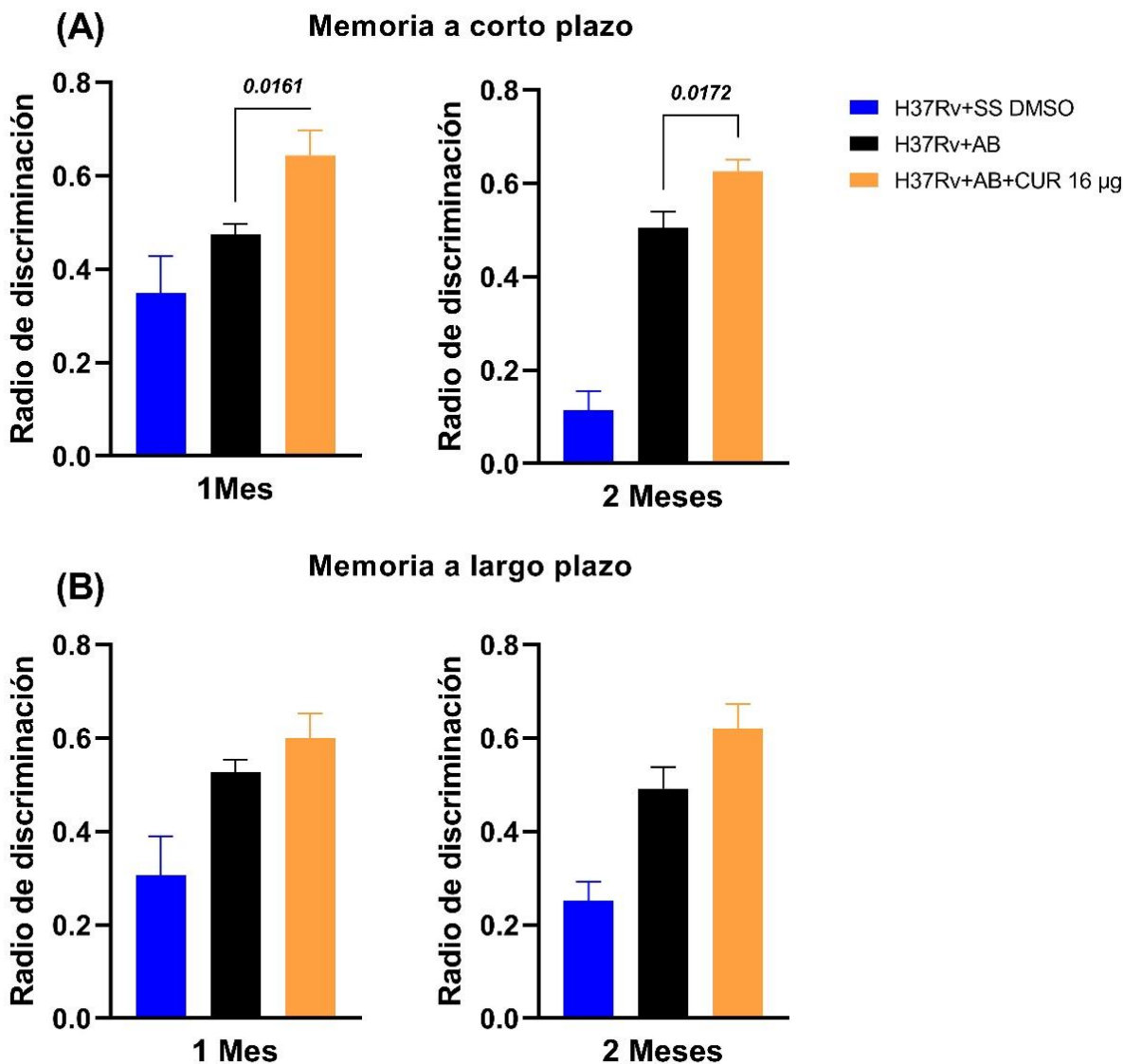


Figura 52. Efecto de la administración de CUR en conjunto con antibióticos sobre el daño en la memoria en TB pulmonar avanzada. **(A)** Memoria a corto plazo. **(B)** Memoria a largo plazo. Los datos se presentan como la media \pm SEM y representan dos experimentos diferentes ($n=6$). Prueba t no pareada contra el control AB.

X. RESUMEN DE RESULTADOS

- El tratamiento con CpdA aumentó de forma importante la carga bacteriana en el pulmón y en el cerebro de los animales con TB, lo que se relacionó con una disminución de la supervivencia de los animales, por lo que no se utilizó para tratar la neuroinflamación en el modelo murino de TB experimental (Figura 53).

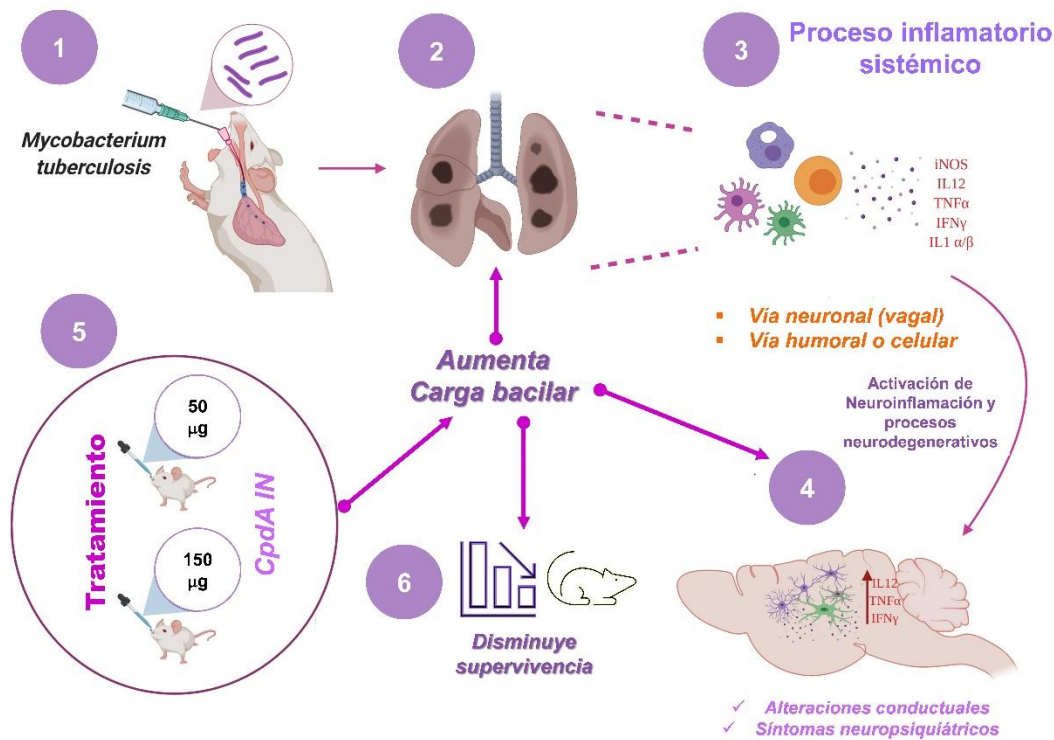


Figura 53. Resumen de resultados del tratamiento con CpdA. La administración intranasal de CpdA agravó la enfermedad pulmonar. (1) La infección pulmonar con *M. tuberculosis* en un modelo murino (2) promueve el desarrollo de la enfermedad activa en los animales. (3) Inflamación intensa debido a la respuesta inmune contra las micobacterias en los pulmones induce neuroinflamación por vía humoral, celular y neuronal, (4) manifestada por alta producción de diferentes citocinas, induce alteraciones conductuales y síntomas neuropsiquiátricos como depresión y ansiedad. (5) La administración IN de 50 o 150 μg de CpdA aumentó la carga bacilar en el pulmón y el cerebro. (6) Por lo que la tasa de supervivencia de los animales con TB disminuyó.

- En conjunto, nuestros resultados demostraron que la administración intranasal de L/DEX y M/DEX en un modelo de ratón con TB pulmonar no agravó la enfermedad pulmonar. En cambio, disminuyó la expresión génica de TNF, IFN- γ e IL-12 en el hipocampo, el hipotálamo, el cerebelo y la corteza frontal de los animales infectados. El comportamiento de enfermedad, la ansiedad y el

comportamiento similar a la depresión disminuyeron, y hubo una mejora en la memoria a corto y largo plazo (Figura 54).

- El tratamiento con DEX en conjunto con antibióticos disminuyó la enfermedad pulmonar en ratones con TB avanzada. Disminuyó la neuroinflamación y los cambios conductuales.

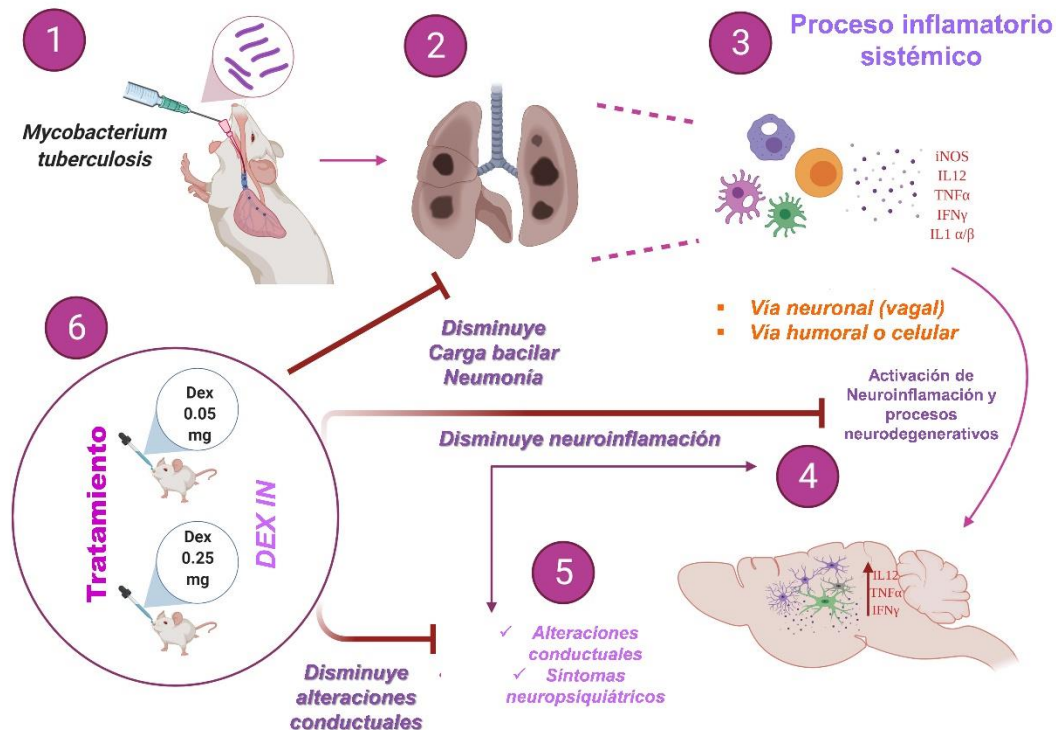


Figura 54. Resumen de resultados del tratamiento con DEX IN. La administración intranasal de DEX disminuye la neuroinflamación y los síntomas conductuales y neuropsiquiátricos en un modelo murino de TB pulmonar sin agravar la enfermedad pulmonar. (1) La infección pulmonar con *M. tuberculosis* en un modelo murino (2) promueve el desarrollo de la enfermedad activa en los animales. (3) Inflamación intensa debido a la respuesta inmune contra las micobacterias en los pulmones induce neuroinflamación por vía humoral, celular y neuronal, (4) manifestada por alta producción de diferentes citocinas (5), induce alteraciones conductuales y síntomas neuropsiquiátricos como depresión y ansiedad. (6) La administración IN de dosis bajas de DEX disminuyó la producción de citocinas en el cerebro y las alteraciones conductuales de los animales infectados. También disminuyó la carga bacilar en el pulmón y el área del pulmón afectada por neumonía.

- La administración de CUR redujó la carga bacilar en el pulmón, la neumonía, la neuroinflamación y las anomalías de conducta, y aumentó ligeramente Nrf2 y BDNF en el modelo murino de TB pulmonar experimental (Figura 55).

- El tratamiento de CUR en combinación con antibióticos no presentó un efecto importante sobre la enfermedad pulmonar en ratones con TB avanzada, sin embargo, disminuyó la neuroinflamación, la conducta similar a la ansiedad, la conducta similar a la depresión y mejoró la memoria a corto plazo.

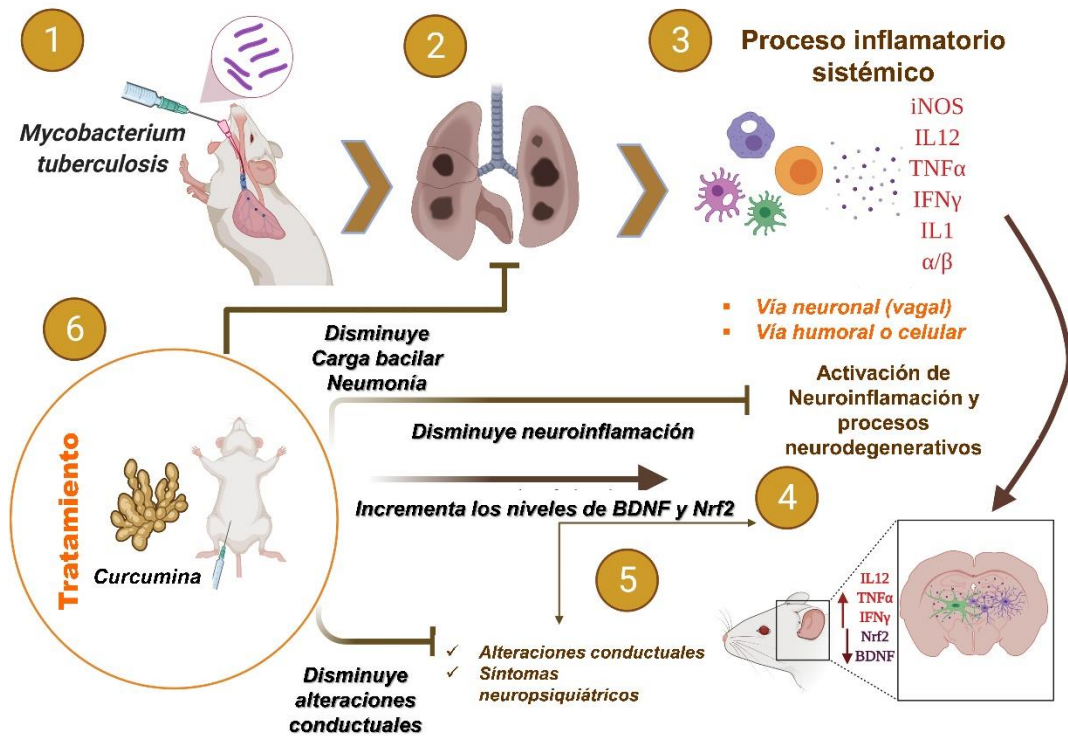


Figura 55. Resumen de resultados del tratamiento con CUR. El tratamiento con CUR disminuye la neuroinflamación y los síntomas conductuales y neuropsiquiátricos en un modelo murino de TB pulmonar. (1) La infección pulmonar con *M. tuberculosis* en un modelo murino (2) promueve el desarrollo de la enfermedad activa en los animales. (3) Inflamación intensa debido a la respuesta inmune contra las micobacterias en los pulmones induce neuroinflamación por vía humoral, celular y neuronal, (4) manifestada por alta producción de diferentes citocinas (5), induce alteraciones conductuales y síntomas neuropsiquiátricos como depresión y ansiedad. (6) Debido a las acciones antiinflamatorias, antioxidantes y antibacterianas de la CUR, el tratamiento disminuyó la enfermedad pulmonar y la generación de citocinas en el cerebro, aumentó ligeramente los niveles de Nrf2 en la corteza frontal y el hipocampo y aumentó los niveles de BDNF en el hipocampo. Todos estos cambios redujeron las anomalías de comportamiento en los animales con tuberculosis.

XI. DISCUSIÓN

La TB es una causa importante de mortalidad en los países en desarrollo. La incidencia de esta enfermedad sigue aumentando (Pai *et al.*, 2016). La TB se caracteriza por un estado proinflamatorio generalizado el cual contribuye a la enfermedad grave. Además, existe evidencia de que los pacientes con TB sufren trastornos mentales comunes, como las depresión y ansiedad (Lara-Espinosa & Hernández-Pando, 2021). Previamente, hemos demostrado que, en ausencia de bacterias cultivables en el cerebro, *M. tuberculosis* induce neuroinflamación, daño neuronal y cambios conductuales durante la infección pulmonar, manifestadas por una alta producción de diferentes citocinas, principalmente TNF, IFN- γ y IL-12 (Lara-Espinosa *et al.*, 2020). Esto produce muerte neuronal, por lo que se requieren abordajes terapéuticos que modulen esta respuesta proinflamatoria para evitar lesiones neuronales y alteraciones de conducta. En este trabajo evaluamos tres moléculas antiinflamatorias, la DEX, el CpdA y la CUR, como moléculas candidatas para disminuir la neuroinflamación en un modelo murino de TB pulmonar experimental.

Los GCs son hormonas esteroides producidas por la glándula suprarrenal y reguladas por el eje HPA y son los agentes antiinflamatorios e inmunomoduladores actualmente más utilizados. Los GCs se han utilizado ampliamente para tratar trastornos autoinmunes, alergias, rechazo de aloinjertos, neuroinflamación y enfermedades neoplásicas (Ayroldi *et al.*, 2012).

Desde la perspectiva terapéutica, la administración de fármacos por vía IN es una alternativa ventajosa para el tratamiento de trastornos del SNC, como se ha demostrado en múltiples estudios (Upadhyay, 2014). Recientemente se demostró que la administración IN de GCs controla la neuroinflamación experimental en un modelo experimental de sepsis inducida por la inyección de LPS de forma sistémica (LPS) (Meneses *et al.*, 2017). La administración IN de DEX disminuyó el porcentaje de células cerebrales positivas a GFAP, la cual aumentó después de la administración de LPS, redujo la presencia de neutrófilos en el cerebro y disminuyó la expresión de IL-6. Los efectos antiinflamatorios de la DEX fueron menos pronunciados cuando se administró DEX en la misma dosis por vía intravenosa (IV) (Meneses *et al.*, 2017). Se han observado resultados similares en un modelo de accidente cerebrovascular de oclusión de la arteria cerebral media por 60 minutos. El tratamiento IN con DEX disminuyó el daño tisular cerebral isquémico, redujo la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, disminuyó la mortalidad, disminuyó el déficit neurológico y aumentó el peso de los animales (Espinosa *et al.*, 2020). Otro estudio

mostró que la administración IN de metilprednisolona a ratones con encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) suprimió la respuesta neuroinflamatoria y redujo la infiltración de células inmunitarias y desmielinización, de manera similar a la administración intravenosa (Rassy *et al.*, 2020). Por lo tanto, estos resultados sugieren que la administración IN de GCs podría ofrecer una alternativa más efectiva y práctica que la administración sistémica para tratar la neuroinflamación en diversas enfermedades, lo que coincide con nuestros resultados.

El CpdA, un activador selectivo del GR, es una molécula altamente antiinflamatoria. En el presente trabajo evaluamos el efecto de la administración IN del CpdA sobre la evolución de la enfermedad pulmonar en un modelo murino de TB pulmonar. Los resultados mostraron que las cantidades de 50 y 150 μg de CpdA provocaron un aumento en la carga bacilar en el pulmón e indujeron crecimiento de micobacterias en el cerebro, por ende, una disminución en la tasa de supervivencia de los animales con TB. El CpdA disminuye las respuestas Th1, M1 y Th17 y promueve una respuesta Th2, M2 y regulación por células T reg (Zhang *et al.*, 2009; Lesovaya *et al.*, 2015). Las células Th1 contribuyen a la protección contra la TB al secretar IFN- γ y activar la acción antimicobacteriana en los M ϕ s (Lyadova & Panteleev, 2015). Debido a esto, es posible que el aumento en la carga bacilar en los animales con TB que recibieron CpdA esté relacionado con la supresión de la respuesta inmunológica de tipo Th1, M1, aunque se necesitan más estudios para dilucidar esto. Por otro lado, se ha observado que cuando el CpdA se disuelve en soluciones amortiguadoras estándar como PBS, solución salina o Tris-HCl se descompone en sus derivados de aziridina e induce apoptosis generalizada, incluyendo células nerviosas, independiente del GR (Wüst *et al.*, 2009). Cuando el CpdA se disuelve en agua es químicamente estable, sin embargo, cuando se administra a animales, al pH fisiológico de 7.4 también se descompone en aziridinas tóxicas, lo que se ha relacionado con letalidad en los animales (Wüst *et al.*, 2009). En el presente trabajo el CpdA disolvió en SS con DMSO al 0.05%, y al ser administrado vía IN llega directamente al sistema nervioso y existe la posibilidad de que un porcentaje puede llegar al pulmón, por lo que la formación de aziridinas tóxicas en el pulmón y el cerebro también podría estar relacionado con el efecto deletéreo que observamos en los animales con TB (Figura 56). Es necesario realizar más estudios para determinar la cantidad adecuada para ser administrada en animales, así como la forma de preparación y administración.

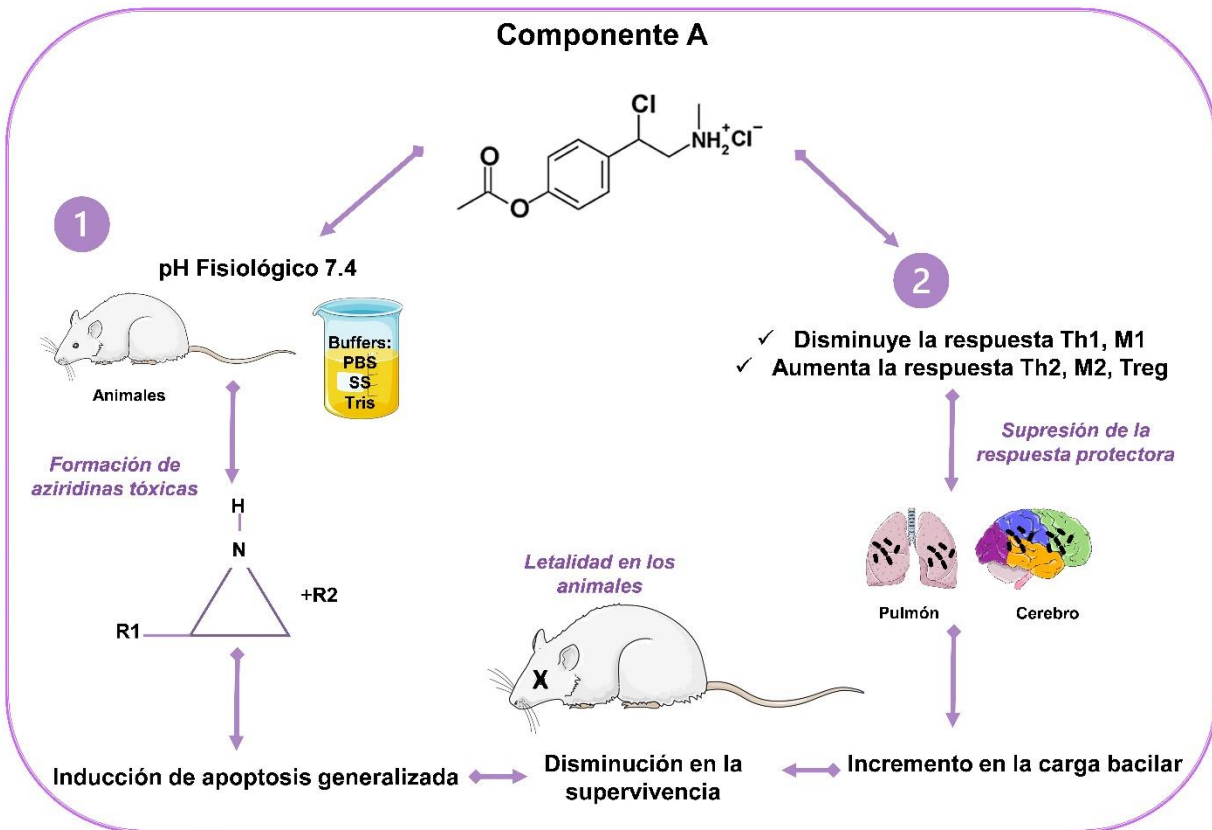


Figura 56. Posibles mecanismos por el que el tratamiento con CpdaA causó una disminución en la supervivencia en los animales con TB pulmonar. **(1)** Se ha demostrado que el CpdaA en soluciones amortiguadoras como PBS, SS o TRIS, así como en el pH fisiológico de los animales, se descompone en aziridinas tóxicas e inducen apoptosis generalizada, lo cual se ha relacionado con letalidad en los animales (Wüst *et al.*, 2009). **(2)** Diversos estudios demuestran que el CpdaA disminuye la respuesta M1 y Th1 y aumenta la respuesta M2, Th2 y Treg (Zhang *et al.*, 2009; Lesovaya *et al.*, 2015). Al ser crucial la respuesta Th1-M1 para el control de *M. tuberculosis*, la supresión de esta respuesta protectora por parte del CpdaA podría estar relacionada con el incremento de la carga bacilar en los animales con TB.

La DEX, un potente GCs sintético, se ha utilizado para reducir la inflamación en diferentes afecciones neuroinflamatorias (Espinosa *et al.*, 2020; Meneses *et al.*, 2017; Pang *et al.*, 2012). En el presente estudio, demostramos que el tratamiento IN con B/DEX (0.05 mg/kg) y M/DEX (0.25 mg/kg) en el modelo murino de TB pulmonar disminuyó significativamente la neuroinflamación, mejorando el estado conductual sin agravamiento de la enfermedad pulmonar.

Los resultados mostraron que el tratamiento desde la etapa temprana (dos semanas después de la infección) con B/DEX y M/DEX por vía IN mejora la supervivencia en ratones con TB, mientras que A/DEX (2.5 mg/kg) no mostró ningún beneficio en la

supervivencia y aumentó la carga de bacilar en el pulmón y diseminación con crecimiento bacteriano en el cerebro. El tratamiento con B/DEX se asoció con una carga de bacilos pulmonares significativamente menor el día 120 después de la infección. Se han encontrado resultados similares durante sepsis temprana en ratones, donde el tratamiento con B/DEX mejoró significativamente la supervivencia y redujo significativamente la bacteriemia en comparación con los ratones control, mientras que el tratamiento con concentraciones más altas de DEX no lo hizo (Van Den Berg *et al.*, 2011). En los últimos años, se ha observado que los GCs refuerzan el sistema inmunitario innato y reprimen el sistema inmunitario adaptativo para ayudar a resolver la inflamación y restaurar la homeostasis (Busillo *et al.*, 2011). Los GCs inducen la expresión del inflammasoma, TLR-2, NLRP3 y el receptor purinérgico P2Y2 (P2Y2R), todos estos receptores participan en la inmunidad innata (Chinenov & Rogatsky, 2007; Ding *et al.*, 2010). El tipo de exposición a los glucocorticoides y el estado basal del sistema inmunitario son factores esenciales que influyen en el efecto antiinflamatorio o proinflamatorio de los GCs (Ayroldi *et al.*, 2012). El sistema inmunitario innato es fundamental para la respuesta inmunitaria inicial tras la infección con *M. tuberculosis* (Ferraz *et al.*, 2006), por lo que podría ser posible que la disminución de bacilos pulmonares en el modelo murino de TB esté relacionada con el refuerzo de la inmunidad innata mediada por el tratamiento IN con B/ DEX. Recientemente se observó que los glucocorticoides como la DEX evitan la muerte celular necrótica de las células infectadas con *M. tuberculosis* al promover la desfosforilación de p38 dependiente de la proteína MKP-1 y de esta manera controlan la diseminación de la micobacteria (Gräb *et al.*, 2019). Este podría ser otro mecanismo por el cual las dosis B/DEX disminuyeron la carga bacilar, aunque es necesario realizar más estudios con el fin de dilucidar este proceso.

A pesar de que la dosis A/DEX indujo aumento en la carga bacilar de los animales, las tres dosis utilizadas redujeron el área del pulmón afectada por neumonía. Esto ha sido reportado previamente en un modelo animal de conejos infectados con *M. tuberculosis*, donde la administración intramuscular de 10 mg/Kg/día de DEX aumentó la carga bacilar en el pulmón; sin embargo, el número de tubérculos visibles y daño tisular fue menor (Kesevan *et al.*, 2005). Esto demuestra que la DEX disminuye la hiperinflamación causada como respuesta a la infección por *M. tuberculosis*, sin embargo, es necesario utilizar dosis que permitan el correcto control de la infección, así como el control de la respuesta inflamatoria. En este sentido, la administración IN es idónea, ya que permite controlar la inflamación con menores dosis.

Nuestros resultados mostraron que el tratamiento con IN B/DEX y M/DEX disminuyó la conducta de enfermedad, disminuyó la conducta similar a la ansiedad, redujo el comportamiento similar a la depresión, produjo un efecto beneficioso sobre el resultado neurológico y mejoró la memoria a corto y largo plazo de los ratones con TB pulmonar. La TB activa comienza como un proceso inflamatorio exudativo pulmonar. Los linfocitos Th1 median la respuesta inmune adaptativa protectora contra la TB con una alta producción de IFN- γ y células T citotóxicas CD8⁺ en animales y humanos (Ábrahám *et al.*, 2006). Las citocinas proinflamatorias como IFN- γ y TNF inducen el trastorno depresivo al afectar la excitabilidad neuronal, la transmisión sináptica, la plasticidad sináptica y la supervivencia neuronal. Estos cambios son producidos por la inflamación cerebral, que induce depresión por diversos procesos fisiopatológicos, como alteraciones en la neurotransmisión monoaminérgica, inducir daño oxidativo y daño neuronal hipocampal. La DEX se ha utilizado para reducir la inflamación en diversas afecciones neuroinflamatorias (Espinosa *et al.*, 2020, Meneses *et al.*, 2017). Diferentes estudios han demostrado que los efectos antiinflamatorios de los GCs como la DEX están relacionados con una disminución de IL-1 β , IL-2, TGF- β y TNF (Ding *et al.*, 2010). Los GCs tienen una función dual a nivel neuronal, ya que regulan tanto la supervivencia como la muerte de las neuronas tanto en procesos neurodegenerativos como neuroprotectores, este proceso en el cerebro depende de los niveles de GCs y el tiempo de exposición (Ábrahám *et al.*, 2006). Esto coincide con nuestros resultados, donde observamos que los efectos B/DEX y M/DEX sobre los cambios conductuales están asociados con una marcada disminución en la respuesta inflamatoria. Las dosis bajas de GCs tienen un efecto benéfico preservando el metabolismo fisiológico de las neuronas y el eje HPA (Ábrahám *et al.*, 2006). Se ha demostrado que la administración de dosis bajas de DEX (1 mg/kg, inyección intraperitoneal) atenúa la inflamación y disminuye las células positivas para ED1 y tres marcadores de activación inflamatoria de microglía/macrófagos en modelos murinos de lesión cerebral traumática (LCT) (Zhang *et al.*, 2007; Holmin & Mathiesen, 1996). Se encontraron resultados similares con la administración local de DEX mediada por hidrogel, la cual disminuyó la neuroinflamación y mejoró la recuperación motora funcional en el modelo de LCT (Jeong *et al.*, 2021). Otro estudio informó que la DEX sola (0.025 mg/kg) y la coadministración de melatonina y DEX 24 h después de la lesión cerebral en el modelo de LCT mejoraron la función locomotora y disminuyeron la lesión cerebral (Campolo *et al.*, 2013). Por lo tanto, DEX tiene un efecto protector sobre la neuroinflamación.

A pesar de que el uso de GCs en TB es controversial, en el presente trabajo observamos la administración IN de bajas dosis de DEX es una terapia novedosa ya que permite tratar los cambios en el SNC, sin efectos a nivel sistémico en el modelo murino de TB (Figura 57), además de que tuvo un efecto disminuyendo la enfermedad a nivel pulmonar sola y en conjunto con antibióticos.

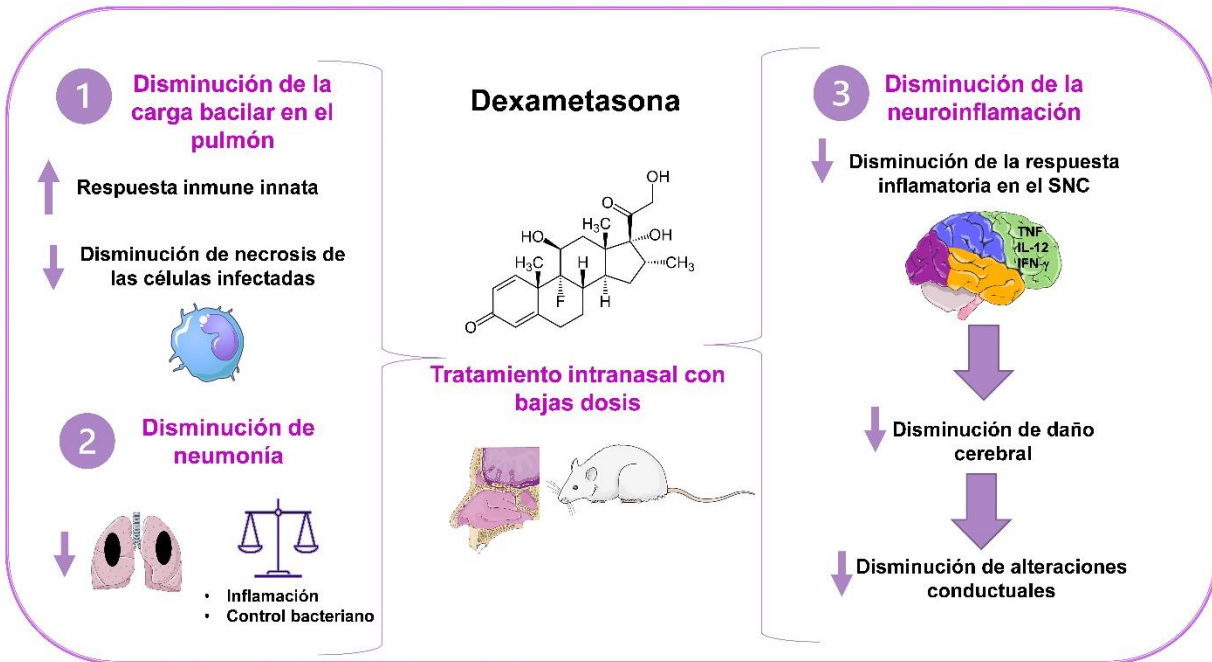


Figura 57. Posibles mecanismos por el cual el tratamiento con dosis B/DEX disminuyó la carga bacilar y los cambios conductuales en el modelo murino de TB pulmonar. (1) El tratamiento IN con dosis bajas de DEX disminuyó la carga bacilar de los animales con TB. Los glucocorticoides tienen la capacidad de promover un aumento de la respuesta inmune innata (Ayroldi *et al.*, 2012) y evitan la necrosis en células infectadas con *M. tuberculosis* (Gräb *et al.*, 2019). Estos procesos podrían estar relacionados con la disminución de la carga bacilar. (2) El tratamiento IN con DEX disminuyó el área del pulmón afectada por neumonía. El tratamiento IN permite utilizar bajas dosis que controlan eficientemente la hiperinflamación y la carga bacilar. (3) El tratamiento IN con DEX disminuyó la respuesta inflamatoria en el SNC. Diversos estudios mencionan que la DEX disminuye el daño cerebral al disminuir la respuesta inflamatoria y esto se relaciona con disminución de diversas alteraciones conductuales.

El surgimiento de cepas de *M. tuberculosis* resistentes a múltiples fármacos (MDR) es un problema en aumento que requiere nuevas opciones de tratamiento (Marathe *et al.*, 2011). Nuestros resultados mostraron que el tratamiento con 16 o 32 μg de CUR disminuyó la carga bacilar pulmonar de ratones infectados con *M. tuberculosis* H37Rv. La disminución de la carga bacilar pulmonar se relacionó con una reducción del área del pulmón afectada por neumonía y un aumento en la supervivencia de los animales. Estos resultados

coinciden con estudios previos que demuestran que la CUR es un potencial agente antimicobacteriano (Marathe *et al.*, 2011). La CUR tiene una CMI de 16 µg/mL contra *M. tuberculosis* sensible a fármacos H37Rv, *M. tuberculosis* H37Rv resistente a isoniazida, H37Rv resistente a rifampicina, H37Rv resistente a estreptomycin y H37Rv resistente a etambutol (Singh *et al.*, 2016). El efecto de la CUR contra *M. tuberculosis* puede ser directo, ya que los compuestos presentes en la CUR afectan el metabolismo de los lípidos de *M. tuberculosis*, los cuales son críticos para la infección micobacteriana, patogenicidad y persistencia en el hospedero (Singh *et al.*, 2016). También se ha observado que la CUR inhibe el crecimiento intracelular de la micobacteria y promueve la eliminación de esta, como se demostró en monocitos THP-1, macrófagos primarios alveolares humanos y células Raw 264.7 infectadas con *M. tuberculosis* H37Rv o MDR, al promover apoptosis dependiente de caspasa 3 y autofagia (Gupta, 2013; Bai *et al.*, 2016).

En células presentadoras de antígeno (APC) infectadas con H37Rv, nanopartículas de CUR indujeron autofagia y promovieron la generación de citocinas inflamatorias y otros mediadores (Ahmad *et al.*, 2019). En ratones infectados con H37Rv, la nanocurcumina mejora la eficacia de la vacuna BCG al inducir células T de memoria central (MTC) de los linajes Th1 y Th17 (Ahmad *et al.*, 2019). Las propiedades antiinflamatorias de CUR también se han utilizado para aumentar la eficacia de fármacos antimicrobianos a través de efectos sinérgicos (Zorofchian Moghadamtousi *et al.*, 2014). En otro estudio se observó que la CUR disminuyó la inflamación pulmonar inducida por *Klebsiella pneumoniae* en ratones BALB/c (Bansal & Chhibber, 2010), lo cual coincide con nuestros resultados donde se observó una disminución significativa en el área del pulmón afectada por neumonía de los ratones con TB tratados con CUR. Todo esto indica que la CUR puede dañar directamente a *M. tuberculosis*, promover la muerte intracelular bacteriana en macrófagos, y tiene un efecto inmunomodulador, lo que concuerda con nuestros resultados referentes a la eliminación eficiente de la micobacteria en los pulmones de ratones con TB después del tratamiento con CUR.

La neuroinflamación puede ser causada por un aumento de la respuesta inflamatoria periférica y estrés oxidativo, activando la microglía que contribuye a la patología cerebral (Réus *et al.*, 2015). Por lo tanto, en el presente trabajo evaluamos el efecto de CUR en la respuesta inflamatoria en el hipocampo, hipotálamo, cerebelo y corteza frontal. Los resultados mostraron un efecto significativo de la CUR en los niveles de expresión de ARNm de las citocinas proinflamatorias TNF, IL-12 e IFN-γ, los cuales fueron

considerablemente más bajos en el grupo tratado que en el grupo control de TB no tratado. Por lo tanto, la CUR tiene un efecto antiinflamatorio y neuroprotector sustancial en el cerebro. Estos resultados concuerdan con varios estudios que han demostrado el efecto antiinflamatorio de la CUR en el SNC, ya sea como tratamiento o como terapia adyuvante en varias enfermedades (Kaufmann *et al.*, 2016). En crías de ratas expuestas a etanol se observó que la CUR previene el déficit cognitivo inducido por el etanol a través de la modulación del estrés oxidativo-nitrosativo y la disminución de los niveles de citocinas proinflamatorias (TNF, IL-1), NFκB y caspasa 3 en diferentes regiones del cerebro (Tiwari & Chopra, 2012). En un modelo de lesión por isquemia-reperfusión retiniana la CUR disminuyó los niveles de IL-23 e IL-17 en el SNC (Zhang *et al.*, 2015). En un modelo de isquemia cerebral el tratamiento con CUR redujo el tamaño del infarto y los niveles de IL-1, TNF, ciclooxigenasa-2 (COX-2) y PGE-2 mediante la activación del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPARγ) (Liu *et al.*, 2013). En ratas con isquemia cerebral persistente y localizada, la administración con CUR bloquea a los TLR-2/4 y NF-κB disminuyendo la respuesta inflamatoria (Tu *et al.*, 2014). En enfermedades neurodegenerativas, el tratamiento con CUR disminuyó los depósitos de péptido β-amiloide (Aβ) en el cerebro y mejoró la función cognitiva y sináptica en pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA) (Venigalla *et al.*, 2015). En otro estudio, el tratamiento con CUR disminuyó el número de astrocitos hipertróficos en el hipocampo de los ratones Aβ(1-40), disminuyó la expresión de la proteína ácida fibrilar glial (GFAP) y disminuyó los trastornos de la memoria espacial (sintomático en la EA) (Wang *et al.*, 2013). En un modelo de rata con EA la demetoxicurcumina, un derivado de CUR, redujo la expresión en el hipocampo de IL-1 y GFAP (Ahmed & Gilani, 2011). La CUR afecta el metabolismo de Aβ y la agregación de las fibrillas de amiloide β (fAβ) (Ono *et al.*, 2004) e inhibe sustancialmente la producción de IL-1, IL-6 y TNF en la microglía expuesta a Aβ a través de la vía de señalización de la proteína quinasa activada por mitógeno (MEK1/MEK2) p38 (Shi *et al.*, 2015). En un modelo de enfermedad de Parkinson (EP) inducido por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) la administración de CUR disminuyó las citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-1 y TNF) y protegió las neuronas dopaminérgicas de la neurodegeneración (Fu *et al.*, 2015; Ojha *et al.*, 2012). Otro estudio encontró que la CUR protege específicamente a los axones, pero no a los cuerpos celulares neuronales, de la degeneración mediada por NO (Tegenge *et al.*, 2014). Por lo tanto, existe evidencia considerable de que la CUR tiene efectos antiinflamatorios eficientes que median la neuroprotección.

Diversas citocinas y factores inflamatorios que producen neuroinflamación también participan en la fisiopatología de trastornos neuropsiquiátricos como la depresión al generar estrés oxidativo, afectar la producción de neurotransmisores e incluso generar muerte neuronal (Felger & Lotrich, 2013). Por lo tanto, también examinamos el efecto del tratamiento con CUR en algunos aspectos conductuales de los animales con TB. Nuestros resultados mostraron que el tratamiento con CUR redujo la conducta de enfermedad, la conducta similar a la ansiedad, la conducta similar a la depresión, también mejoró el resultado neurológico y mejoró la memoria a corto y largo plazo en ratones con TB. Este resultado coincide con un estudio en pacientes con obesidad, donde la suplementación de 1 g/día de CUR tuvo un efecto ansiolítico relacionado con las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de la CUR (Esmaily *et al.*, 2015). Otro estudio realizado en ratas sometidas a estrés por inmovilización y pretratadas con CUR (200 mg/kg/día) durante siete días mostró una disminución en el comportamiento similar a la ansiedad, el comportamiento similar a la depresión y una mejor función de la memoria, que se relacionó con la actividad de las enzimas antioxidantes (Haider *et al.*, 2015). Se han observado resultados similares en ratones Swiss-Webster expuestos a cadmio (Cd) que recibieron CUR (300 mg/kg). En este trabajo, el tratamiento aumentó el peso corporal y la actividad locomotora, disminuyó la ansiedad en el laberinto en cruz y aumentó la capacidad de aprendizaje (Abu-Taweel *et al.*, 2013). Además, el tratamiento con CUR tuvo un efecto supresor importante sobre el estrés oxidativo inducido por cadmio y aumentó los niveles de serotonina (5-HT) y dopamina (DA) en el área del cerebro anterior (Abu-Taweel *et al.*, 2013).

La CUR tiene un efecto benéfico en humanos que sufren depresión y ansiedad (Fusar-Poli *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2021), debido a los efectos antiinflamatorios de CUR, la liberación de dopamina, la actividad antioxidante y la regulación del factor neurotrófico (Wang *et al.*, 2021). En un modelo de EA el tratamiento crónico con CUR mejora la cognición a través del aumento de BDNF en el hipocampo (Zhang *et al.*, 2015). En un modelo de depresión la administración crónica de CUR aumentó de forma dosis dependiente los niveles de BDNF en el hipocampo (Hurley *et al.*, 2013). Estos datos coinciden con nuestros resultados, donde observamos un aumento significativo de los niveles de BDNF en el hipocampo de animales con TB tratados con CUR. El BDNF juega un papel crucial en la regulación del desarrollo, el mantenimiento y la supervivencia neuronal, la cognición, formación y almacenamiento de recuerdos (Miranda *et al.*, 2019). Por lo tanto, el aumento de BDNF en el hipocampo de los animales con TB podría estar

relacionado con el efecto benéfico de CUR sobre la memoria y la disminución del comportamiento similar a la depresión en este modelo. Otro factor importante que protege al cerebro de lesiones es Nrf2, ya que el daño oxidativo juega un papel fundamental en muchas enfermedades del sistema nervioso central (Davies *et al.*, 2021). En un modelo de isquemia cerebral, la administración de CUR disminuyó las lesiones a través de la vía Akt/Nrf2 (Wu *et al.*, 2013). En un modelo de lesión cerebral traumática (TBI) el tratamiento con CUR presentó un efecto neuroprotector asociado con la activación de la vía Nrf2 (Dong *et al.*, 2018). Estos datos coinciden con nuestros resultados, ya que observamos un ligero aumento en los niveles de Nrf2 en los animales con TB tratados con CUR. Estos datos sugieren que el tratamiento con CUR tiene un efecto benéfico en el modelo murino de TB pulmonar y podría tenerlo sobre diversas enfermedades neuroinflamatorias y neurodegenerativas a través del aumento de BDNF y Nrf2, incluidas las relacionadas con la TB pulmonar.

El presente estudio amplía la información sobre el beneficio terapéutico de la CUR demostrando la prevención de la neuroinflamación en la TB pulmonar experimental, así como su posible efecto antimicobacteriano. A pesar de que existe evidencia científica del efecto beneficioso de la CUR en el SNC, al igual que su efecto antimicrobiano, este trabajo tuvo como novedad el evaluar las dos entidades en conjunto (Figura 58).

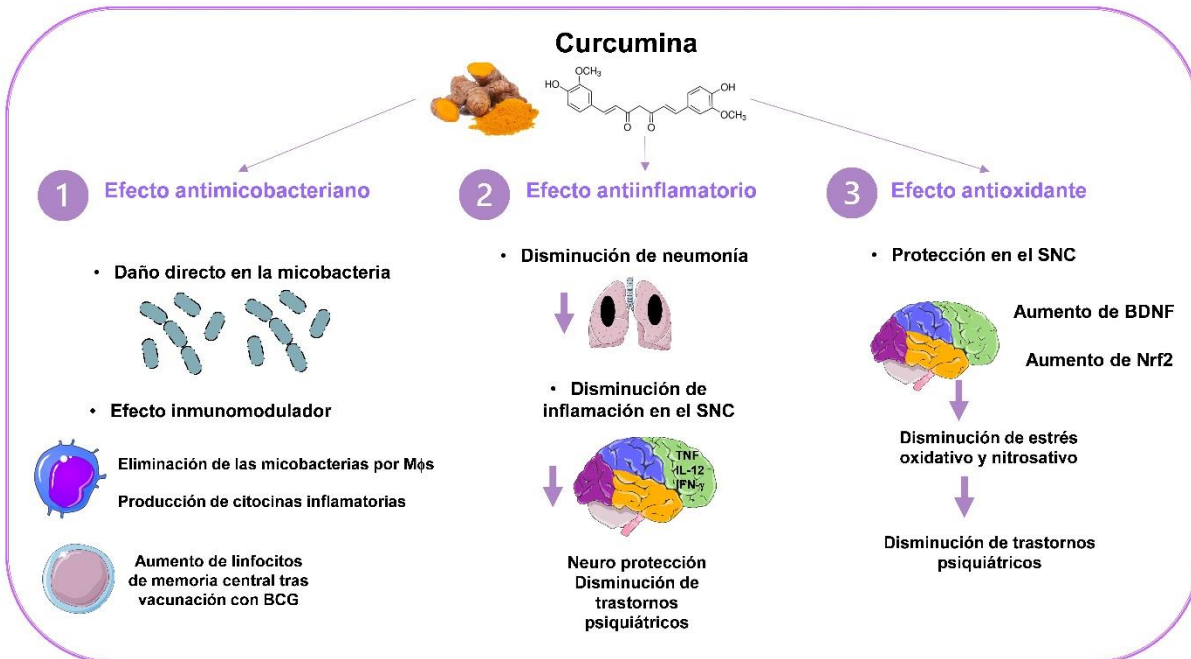


Figura 58. Posibles mecanismos por el cual el tratamiento con dosis CUR disminuyó la carga bacilar y los cambios conductuales en el modelo murino de TB pulmonar. **(1)** La CUR tiene un efecto antimicrobiano importante. Existen reportes donde se reporta su efecto contra *M. tuberculosis* dañándola directamente o promoviendo un efecto inmunomodulador. **(2)** Es amplia la evidencia que demuestra el efecto antiinflamatorio de la CUR en diversas enfermedades. A nivel pulmonar se ha reportado que la CUR disminuye la neumonía inducida por diversas bacterias y a nivel central disminuye la neuroinflamación y diversos trastornos psiquiátricos. **(3)** La CUR tiene actividad antioxidante importante, la cual también se ha relacionado con neuroprotección con incremento de Nrf2 y BDNF y disminución de trastornos psiquiátricos.

Los resultados obtenidos en este estudio experimental demostraron la efectividad de la administración de dosis bajas de DEX por vía IN y de CUR vía i.p como una nueva terapia para controlar la neuroinflamación en enfermedades infecciosas crónicas, como la TB pulmonar. La administración de fármacos IN es deseable porque no es invasiva y puede dirigirse terapéuticamente al cerebro, lo que reduce los efectos secundarios sistémicos. Es importante destacar que ni el tratamiento con IN B/DEX y M/DEX ni la CUR agravaron la enfermedad pulmonar. Además, vale la pena señalar que tanto la B/DEX como la CUR mostraron un efecto terapéutico en la enfermedad pulmonar, lo que indica que ambos esquemas terapéuticos podrían usarse como tratamiento coadyuvante en la quimioterapia de la TB.

**ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA
DISMINUIR LA NEUROINFLAMACIÓN
EN UN MODELO DE TUBERCULOSIS
PULMONAR**

CAPITULO 7

**CONCLUSIÓN
PERSPECTIVAS
LIMITANTES DEL
ESTUDIO**

***DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOQUÍMICAS***

XII. CONCLUSIÓN

De los resultados obtenidos de la presente investigación podemos concluir que, en las dosis utilizadas, el CpdA agravó la enfermedad pulmonar, quizá debido a la supresión de la respuesta celular protectora, por lo que no fue utilizado para el tratamiento de la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar. Los tratamientos con CUR vía intraperitoneal y con DEX vía intranasal fueron efectivos para disminuir la neuroinflamación y las alteraciones conductuales presentes en el modelo murino, sin agravar la enfermedad pulmonar.

XIII. PERSPECTIVAS

1. Probar dosis más bajas de CpdA para establecer una dosis que disminuya la neuroinflamación sin agravar la enfermedad pulmonar.
2. Determinar el mecanismo por el cual la DEX en dosis bajas disminuyó la carga bacilar pulmonar.
3. Determinar si otras vías de administración de la CUR, como la vía intranasal, tienen un efecto similar o mayor para disminuir la neuroinflamación en el modelo murino de TB pulmonar.
4. Evaluar el nivel de proteínas inflamatorias en el SNC de los animales con TB pulmonar que recibieron DEX vía intranasal y CUR vía intraperitoneal.

XIV. LIMITANTES DEL ESTUDIO

En el presente estudio observamos que la administración IN de dexametasona y el tratamiento con curcumina vía intraperitoneal disminuyen la neuroinflamación y evitan cambios conductuales en un modelo murino de TB pulmonar sin infección cerebral. Sin embargo, a pesar de que el modelo de estudio en relación con la TB pulmonar está muy bien caracterizado y desarrolla la mayoría de las características clínicas de la enfermedad en humanos, una limitante importante es el estudio de enfermedades psiquiátricas como la depresión y la ansiedad en modelos animales, ya que no desarrollan todas las características clínicas presentes en los humanos. Esto conlleva que el estudio de nuevos fármacos o fármacos ya existentes con propiedades ansiolíticas o antidepresivas en mamíferos como los ratones o las ratas no represente un beneficio terapéutico real cuando se traslada a los humanos. La utilización de controles a medicamentos con actividad antidepresiva y ansiolítica ya aprobados como tratamiento en humanos disminuye esta limitante, sin embargo, en el presente

trabajo no contamos con estos controles, por lo que en futuros estudios sería conveniente contar con estos grupos experimentales. Otra limitante importante del estudio es que solo se evaluó como indicativo de la respuesta neuroinflamatoria la expresión de citocinas a nivel del mensajero, por lo que es necesario evaluar otros marcadores inflamatorios y los niveles de proteínas.

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA
DISMINUIR LA NEUROINFLAMACIÓN
EN UN MODELO DE TUBERCULOSIS
PULMONAR

CAPITULO 8

REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS
ANEXOS

*DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOQUÍMICAS*

XV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **Aamir, S., & Aisha** (2010). Co-morbid anxiety and depression among pulmonary tuberculosis patients. *Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan: JCPSP*, 20(10), 703–704. <https://doi.org/10.2010/JCPSP.703704>
- **Ábrahám, I. M., Meerlo, P., & Luiten, P. G.** (2006). Concentration Dependent Actions of Glucocorticoids on Neuronal Viability and Survival. *Dose-Response*, 4(1), dose-response.0. <https://doi.org/10.2203/dose-response.004.01.004.abraham>
- **Abu-Taweel, G. M., Ajarem, J. S., & Ahmad, M.** (2013). Protective Effect of Curcumin on Anxiety, Learning Behavior, Neuromuscular Activities, Brain Neurotransmitters and Oxidative Stress Enzymes in Cadmium Intoxicated Mice. *Journal of Behavioral and Brain Science*, 03(01), 74–84. <https://doi.org/10.4236/jbbs.2013.31008>
- **Adina, M.A.N.M., Nekrelescu, O.L., Bondor, C., Trofor, A., Alexandrescu, D., & Dantes, E.** (2011) Depressive syndrome, anxiety and illness perception in Tuberculosis patients. *Recent Researches in Modern Medicine*, 978, 243–8. https://www.researchgate.net/profile/Elena_Dantes2/publication/265498301_Depressive_syndrome_anxiety_and_illness_perception_in_Tuberculosis_patients/links/55183d310cf2d70ee27b2cb6.pdf
- **Agel, M. R., Baghdan, E., Pinnapireddy, S. R., Lehmann, J., Schäfer, J., & Bakowsky, U.** (2019). Curcumin loaded nanoparticles as efficient photoactive formulations against gram-positive and gram-negative bacteria. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 178, 460–468. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.027>
- **Aghanwa, H. S., and Erhabor, G. E.** (1998) Demographic/socioeconomic factors in mental disorders associated with tuberculosis in southwest Nigeria. *Journal of psychosomatic research*, 45, 353–360. [https://doi.org/10.1016/s0022-3999\(98\)00006-3](https://doi.org/10.1016/s0022-3999(98)00006-3)
- **Ahmad, S., Bhattacharya, D., Kar, S., Ranganathan, A., Van Kaer, L., & Das, G.** (2019). Curcumin nanoparticles enhance mycobacterium bovis BCG vaccine efficacy by modulating host immune responses. *Infection and Immunity*, 87(11). <https://doi.org/10.1128/IAI.00291-19>
- **Ahmed, M. H., & Hassan, A.** (2020). Dexamethasone for the Treatment of Coronavirus Disease (COVID-19): a Review. *SN comprehensive clinical medicine*, 2(12), 2637–2646. <https://doi.org/10.1007/s42399-020-00610-8>
- **Ahmed, T., & Gilani, A. H.** (2011). A comparative study of curcuminoids to measure their effect on inflammatory and apoptotic gene expression in an A β plus ibotenic acid-infused rat model of Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1400, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.05.022>
- **Alves de Lima, K., Rustenhoven, J., & Kipnis, J.** (2020). Meningeal Immunity and Its Function in Maintenance of the Central Nervous System in Health and Disease. *Annual review of immunology*, 38, 597–620. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-102319-103410>
- **Ambaw, F., Mayston, R., Hanlon, C., & Alem, A.** (2020) Incidence of depression in people with newly diagnosed tuberculosis in Ethiopia: a cohort study. *Global mental health*, 7, e1. <https://doi.org/10.1017/gmh.2019.27>
- **Amreen, and Rizvi N.** (2016) Frequency of Depression and Anxiety among Tuberculosis Patients. *Journal of Tuberculosis Research*, 04:183–90. <https://doi.org/10.4236/jtr.2016.44021>.
- **Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S.** (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/5276130>
- **Asadirad, A., Nashibi, R., Khodadadi, A., Ghadiri, A. A., Sadeghi, M., Aminian, A., & Dehnavi, S.** (2022). Antiinflammatory potential of nano-curcumin as an alternative therapeutic agent for the treatment of mild-to-moderate hospitalized COVID-19 patients in a placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy research : PTR*, 36(2), 1023–1031. <https://doi.org/10.1002/ptr.7375>
- **Asadpour, M., Namazi, F., Razavi, S. M., & Nazifi, S.** (2018). Curcumin: A promising treatment for *Cryptosporidium parvum* infection in immunosuppressed BALB/c mice. *Experimental parasitology*, 195, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2018.10.008>

- **Assefa, S., Boru, B., Gebeyehu, D. A., & Terefe, B.** (2023). Depression, anxiety and their associated factors among patients with tuberculosis attending in Gondar city health facilities, North West Ethiopia. *BMC psychiatry*, 23(1), 91. <https://doi.org/10.1186/s12888-023-04573-7>
- **Atif, M., Sulaiman, S. A., Shafie, A. A., Asif, M., Sarfraz, M. K., Low, H. C., & Babar, Z. U.** (2014). Impact of tuberculosis treatment on health-related quality of life of pulmonary tuberculosis patients: a follow-up study. *Health and quality of life outcomes*, 12, 19. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-12-19>
- **Avila-Rojas, S. H., Tapia, E., Briones-Herrera, A., Aparicio-Trejo, O. E., León-Contreras, J. C., Hernández-Pando, R., & Pedraza-Chaverri, J.** (2018). Curcumin prevents potassium dichromate (K₂Cr₂O₇)-induced renal hypoxia. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 121, 472–482. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.09.046>
- **Aydin, I. O., & Uluşahin, A.** (2001). Depression, anxiety comorbidity, and disability in tuberculosis and chronic obstructive pulmonary disease patients: applicability of GHQ-12. *General hospital psychiatry*, 23(2), 77–83. [https://doi.org/10.1016/s0163-8343\(01\)00116-5](https://doi.org/10.1016/s0163-8343(01)00116-5)
- **Ayroidi, E., Cannarile, L., Migliorati, G., Nocentini, G., Delfino, D. V., & Riccardi, C.** (2012). Mechanisms of the anti-inflammatory effects of glucocorticoids: Genomic and nongenomic interference with MAPK signaling pathways. *FASEB Journal*, 26(12), 4805–4820. <https://doi.org/10.1096/fj.12-216382>
- **Bai, X., Oberley-Deegan, R. E., Bai, A., Ovrutsky, A. R., Kinney, W. H., Weaver, M., Zhang, G., Honda, J. R., & Chan, E. D.** (2016). Curcumin enhances human macrophage control of Mycobacterium tuberculosis infection. *Respirology (Carlton, Vic.)*, 21(5), 951–957. <https://doi.org/10.1111/resp.12762>
- **Bajinka, O., Simbilyabo, L., Tan, Y., Jabang, J., & Saleem, S. A.** (2022). Lung-brain axis. *Critical reviews in microbiology*, 48(3), 257–269. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1960483>
- **Bansal, S., & Chhibber, S.** (2010). Curcumin alone and in combination with augmentin protects against pulmonary inflammation and acute lung injury generated during Klebsiella pneumoniae B5055-induced lung infection in BALB/c mice. *Journal of Medical Microbiology*, 59(4), 429–437. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.016873-0>
- **Bassani, T. B., Turnes, J. M., Moura, E., Bonato, J. M., Cópola-Segovia, V., Zanata, S. M., Oliveira, R., & Vital, M.** (2017). Effects of curcumin on short-term spatial and recognition memory, adult neurogenesis and neuroinflammation in a streptozotocin-induced rat model of dementia of Alzheimer's type. *Behavioural brain research*, 335, 41–54. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.08.014>
- **Bezuidenhout, J., & Schneider, J.** (2009). Pathology and pathogenesis of tuberculosis. In *Tuberculosis* (pp. 117–128). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4160-3988-4.00012-3>
- **Björkholm, C., & Monteggia, L. M.** (2016). BDNF - a key transducer of antidepressant effects. *Neuropharmacology*, 102, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.10.034>
- **Boing, A. F., Melo, G. R., Boing, A. C., Moretti-Pires, R. O., Peres, K. G., and Peres, M. A.** (2012) Association between depression and chronic diseases: results from a population-based study. *Revista de saude publica*, 46, 617–623. <https://doi.org/10.1590/s0034-89102012005000044>
- **Bonilla, C., Zurita, M., Otero, L., Aguayo, C., Ma, R., & Vaquero, J.** (2012). Influencia del grado de lesión neurológica sobre la eficacia de la terapia celular en un modelo de traumatismo craneoencefálico. *Trauma Fund MAPFRE*, 23, 97–105. <http://hdl.handle.net/10486/668933>
- **Botargues, M., ENZ, P. A., & Musso, C. G.** (2011). Tratamiento con corticoides. *Evidencia, actualizacion en la práctica ambulatoria*, 14(1). <https://doi.org/10.51987/evidencia.v14i1.6071>
- **Bozkuş, F., Ateş, S., Orhan, F.O, & Samur, A.** (2021). Temperament and character profile assessment of anxiety and depression in tuberculosis patients. *Eurasian Journal of Pulmonology*, 3(23), 159-165. https://doi.org/10.4103/ejop.ejop_28_21

- **Busillo, J. M., & Cidlowski, J. A.** (2013). The five Rs of glucocorticoid action during inflammation: ready, reinforce, repress, resolve, and restore. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 24(3), 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.11.005>
- **Busillo, J. M., Azzams, K. M., & Cidlowski, J. A.** (2011). Glucocorticoids sensitize the innate immune system through regulation of the NLRP3 inflammasome. *Journal of Biological Chemistry*, 286(44), 38703–38713. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.275370>
- **Bystritsky, A., Khalsa, S. S., Cameron, M. E., and Schiffman, J.** (2013) Current diagnosis and treatment of anxiety disorders. *P & T : a peer-reviewed journal for formulary management*, 38, 30–57. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3628173/pdf/ptj3801030.pdf>
- **Cai, D.** (2013). Neuroinflammation and neurodegeneration in overnutrition-induced diseases. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 24(1), 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.11.003>
- **Campolo, M., Ahmad, A., Crupi, R., Impellizzeri, D., Morabito, R., Esposito, E., & Cuzzocrea, S.** (2013). Combination therapy with melatonin and dexamethasone in a mouse model of traumatic brain injury. *The Journal of endocrinology*, 217(3), 291–301. <https://doi.org/10.1530/IOE-13-0022>
- **Can, A., Dao, D. T., Terrillion, C. E., Piantadosi, S. C., Bhat, S., & Gould, T. D.** (2012). The tail suspension test. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (59), e3769. <https://doi.org/10.3791/3769>
- **Cardona, P. J., Català, M., & Prats, C.** (2022). The Origin and Maintenance of Tuberculosis Is Explained by the Induction of Smear-Negative Disease in the Paleolithic. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(3), 366. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030366>
- **Carroll, T. B., Aron, D. C., Findling, J. W., & Tyrrell, J. B.** (2012). Glucocorticoides y andrógenos suprarrenales. En Gardner, D.G. (Ed). *Greenspan. Endocrinología Básica Y Clínica* (pp 285 -327). Mcgraw Hill Education.
- **Castro-Silva, K. M., Carvalho, A. C., Cavalcanti, M. T., Martins, P., França, J. R., Oquendo, M., Kritski, A. L., & Sweetland, A.** (2019) Prevalence of depression among patients with presumptive pulmonary tuberculosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Revista brasileira de psiquiatria*, 41, 316–323. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2018-0076>
- **Cekanaviciute, E., & Buckwalter, M. S.** (2016). Astrocytes: Integrative Regulators of Neuroinflammation in Stroke and Other Neurological Diseases. *Neurotherapeutics : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 13(4), 685–701. <https://doi.org/10.1007/s13311-016-0477-8>
- **Changtam, C., Hongmanee, P., & Suksamrarn, A.** (2010). Isoxazole analogs of curcuminoids with highly potent multidrug-resistant antimycobacterial activity. *European journal of medicinal chemistry*, 45(10), 4446–4457. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.07.003>
- **Chen, X., Zhao, Y., Xu, Y., Zhang, H. W., Sun, S. H., Gao, Z. D., & He, X. X.** (2016). Analyzing the status of depression and anxiety of new registered tuberculosis outpatients and correlations with social support influence factors. *Zhonghua yi xue za zhi*, 96(34), 2749–2753. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2016.34.013>
- **Chinenov, Y., & Rogatsky, I.** (2007). Glucocorticoids and the innate immune system: Crosstalk with the Toll-like receptor signaling network. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 275(1–2), 30–42. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2007.04.014>
- **Choi, K. W., Kim, Y. K., & Jeon, H. J.** (2020). Comorbid Anxiety and Depression: Clinical and Conceptual Consideration and Transdiagnostic Treatment. *Advances in experimental medicine and biology*, 1191, 219–235. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9705-0_14
- **Choreño-Parra, J. A., Weinstein, L. I., Yunis, E. J., Zúñiga, J., & Hernández-Pando, R.** (2020). Thinking Outside the Box: Innate- and B Cell-Memory Responses as Novel Protective Mechanisms Against Tuberculosis. *Frontiers in immunology*, 11, 226. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00226>
- **Chu, C. C., Hsing, C. H., Shieh, J. P., Chien, C. C., Ho, C. M., & Wang, J. J.** (2014). The cellular mechanisms of the antiemetic action of dexamethasone and related glucocorticoids against vomiting. *European journal of pharmacology*, 722, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.10.008>

- Chu, C., Artis, D., & Chiu, I. M. (2020). Neuro-immune Interactions in the Tissues. *Immunity*, 52(3), 464–474. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.02.017>
- Churchyard, G., Kim, P., Shah, N. S., Rustomjee, R., Gandhi, N., Mathema, B., Dowdy, D., Kasmar, A., & Cardenas, V. (2017). What We Know About Tuberculosis Transmission: An Overview. *The Journal of infectious diseases*, 216(suppl_6), S629–S635. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix362>
- Ciobotaru, O. R., Lupu, M. N., Rebegea, L., Ciobotaru, O. C., Duca, O. M., Tatu, A. L., Voinescu, C. D., Stoleriu, G., Earar, K., & Miulescu, M. (2019). Dexamethasone-Chemical Structure and Mechanisms of Action in Prophylaxis of Postoperative Side Effects. *Revista de Chimie*, 70(3), 843–847. <https://doi.org/10.37358/rc.19.3.7017>
- Combes, V., Guillemin, G. J., Chan-Ling, T., Hunt, N. H., & Grau, G. E. (2012). The crossroads of neuroinflammation in infectious diseases: endothelial cells and astrocytes. *Trends in parasitology*, 28(8), 311–319. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2012.05.008>
- Dasa, T. T., Roba, A. A., Weldegebreal, F., Mesfin, F., Asfaw, A., Mitiku, H., Teklemariam, Z., Gedduogol, B. J., Naganuri, M., Befikadu, H., & Tesfaye, E. (2019) Prevalence and associated factors of depression among tuberculosis patients in Eastern Ethiopia. *BMC psychiatry*, 19, 82. <https://doi.org/10.1186/s12888-019-2042-6>
- Davies, D. A., Adlimoghaddam, A., & Albeni, B. C. (2021). Role of Nrf2 in Synaptic Plasticity and Memory in Alzheimer's Disease. *Cells*, 10(8), 1884. <https://doi.org/10.3390/cells10081884>
- De Bosscher, K., Vanden Berghe, W., Beck, I. M., Van Molle, W., Hennuyer, N., Hapgood, J., Libert, C., Staels, B., Louw, A., & Haegeman, G. (2005). A fully dissociated compound of plant origin for inflammatory gene repression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(44), 15827–15832. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505554102>
- Dewint, P., Gossye, V., De Bosscher, K., Vanden Berghe, W., Van Beneden, K., Deforce, D., Van Calenbergh, S., Müller-Ladner, U., Vander Cruyssen, B., Verbruggen, G., Haegeman, G., & Elewaut, D. (2008). A plant-derived ligand favoring monomeric glucocorticoid receptor conformation with impaired transactivation potential attenuates collagen-induced arthritis. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 180(4), 2608–2615. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.4.2608>
- Dinarello C. A. (2010). Anti-inflammatory Agents: Present and Future. *Cell*, 140(6), 935–950. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.043>
- Ding, Y., Gao, Z. G., Jacobson, K. A., & Suffredini, A. F. (2010). Dexamethasone enhances ATP-induced inflammatory responses in endothelial cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 335(3), 693–702. <https://doi.org/10.1124/jpet.110.171975>
- Divangahi, M. (2013). The new paradigm of immunity to tuberculosis. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 783). Springer. <http://www.springer.com/series/5584>
- Djupesland, P. G., Messina, J. C., & Mahmoud, R. A. (2014). The nasal approach to delivering treatment for brain diseases: an anatomic, physiologic, and delivery technology overview. *Therapeutic delivery*, 5(6), 709–733. <https://doi.org/10.4155/tde.14.41>
- Dong, W., Yang, B., Wang, L., Li, B., Guo, X., Zhang, M., Jiang, Z., Fu, J., Pi, J., Guan, D., & Zhao, R. (2018). Curcumin plays neuroprotective roles against traumatic brain injury partly via Nrf2 signaling. *Toxicology and applied pharmacology*, 346, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.03.020>
- Dorransoro, I., Torroba, L., & Torroba Álvarez, L. (2007). Microbiología de la tuberculosis Microbiology of tuberculosis. In *An. Sist. Sanit. Navar* (Vol. 30, Issue 2).
- Dos Santos, A. P., Lazzari, T. K., & Silva, D. R. (2017). Health-Related Quality of Life, Depression and Anxiety in Hospitalized Patients with Tuberculosis. *Tuberculosis and respiratory diseases*, 80(1), 69–76. <https://doi.org/10.4046/trd.2017.80.1.69>
- Duko, B., Gebeyehu, A., & Ayano, G. (2015). Prevalence and correlates of depression and anxiety among patients with tuberculosis at Wolaita Sodo University Hospital and Sodo Health Center, Wolaita Sodo, South Ethiopia, Cross sectional study. *BMC psychiatry*, 15, 214. <https://doi.org/10.1186/s12888-015-0598-3>

- Eley, B., & Beatty, D. (2009). The basic immunology of tuberculosis. In *Tuberculosis* (pp. 75–86). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4160-3988-4.00008-1>
- Emami, H., Modarressi, T., Najmi, K., Radmand, G., Monjazebi, F., Tabarsi, P., & Richter, J. (2015). Psychological Symptoms Before and After a 14-Day Initial Inpatient Treatment in Tuberculosis Patients Compared with Their Primary Caregivers and Healthy Controls. *Tanaffos*, *14*(3), 182–192. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4745187/>
- Engler-Chiurazzi, E. B., Monaghan, K. L., Wan, E., & Ren, X. (2020). Role of B cells and the aging brain in stroke recovery and treatment. *GeroScience*, *42*(5), 1199–1216. <https://doi.org/10.1007/s11357-020-00242-9>
- Ennaceur, A., Neave, N., & Aggleton, J. P. (1997). Spontaneous object recognition and object location memory in rats: The effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. *Experimental Brain Research*, *113*(3), 509–519. <https://doi.org/10.1007/PL00005603>
- Esmaily, H., Sahebkar, A., Iranshahi, M., Ganjali, S., Mohammadi, A., Ferns, G., & Ghayour-Mobarhan, M. (2015). An investigation of the effects of curcumin on anxiety and depression in obese individuals: A randomized controlled trial. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, *21*(5), 332–338. <https://doi.org/10.1007/s11655-015-2160-z>
- Espinosa, A., Meneses, G., Chavarría, A., Mancilla, R., Pedraza-Chaverri, J., Fleury, A., Bárcena, B., Pérez-Osorio, I. N., Besedovsky, H., Arauz, A., Fragoso, G., & Scitutto, E. (2020). Intranasal Dexamethasone Reduces Mortality and Brain Damage in a Mouse Experimental Ischemic Stroke Model. *Neurotherapeutics*. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00884-9>
- Felger, J. C., & Lotrich, F. E. (2013). Inflammatory cytokines in depression: Neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience*, *246*, 199–229. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.04.060>
- Ferraz, J. C., Melo, F. B., Albuquerque, M. F., Montenegro, S. M., & Abath, F. G. (2006). Immune factors and immunoregulation in tuberculosis. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, *39*(11), 1387–1397. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2006001100002>
- Fischer, C. W., Elfving, B., Lund, S., & Wegener, G. (2015). Behavioral and systemic consequences of long-term inflammatory challenge. *Journal of Neuroimmunology*, *288*, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2015.08.011>
- Freeman, L. R., & Keller, J. N. (2012). Oxidative stress and cerebral endothelial cells: regulation of the blood-brain-barrier and antioxidant based interventions. *Biochimica et biophysica acta*, *1822*(5), 822–829. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.12.009>
- Frey, F. J., Odermatt, A., & Frey, B. M. (2004). Glucocorticoid-mediated mineralocorticoid receptor activation and hypertension. *Current opinion in nephrology and hypertension*, *13*(4), 451–458. <https://doi.org/10.1097/01.mnh.0000133976.32559.b0>
- Fricker, M., Tolkovsky, A. M., Borutaite, V., Coleman, M., & Brown, G. C. (2018). Neuronal Cell Death. *Physiological reviews*, *98*(2), 813–880. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2017>
- Fu, W., Zhuang, W., Zhou, S., & Wang, X. (2015). Plant-derived neuroprotective agents in Parkinson's disease. *American Journal of Translational Research*, *7*(7), 1189–1202.
- Fulton, S., Décarie-Spain, L., Fioramonti, X., Guiard, B., & Nakajima, S. (2022). The menace of obesity to depression and anxiety prevalence. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, *33*(1), 18–35. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.10.005>
- Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., Ferrucci, L., Gilroy, D. W., Fasano, A., Miller, G. W., Miller, A. H., Mantovani, A., Weyand, C. M., Barzilai, N., Goronzy, J. J., Rando, T. A., Effros, R. B., Lucia, A., Kleinstreuer, N., & Slavich, G. M. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature medicine*, *25*(12), 1822–1832. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
- Fusar-Poli, L., Vozza, L., Gabbiadini, A., Vanella, A., Concas, I., Tinacci, S., Petralia, A., Signorelli, M. S., & Aguglia, E. (2020). Curcumin for depression: a meta-analysis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(15), 2643–2653. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1653260>

- Galhenage, J. S., Rupasinghe, J. P., Abeywardena, G. S., de Silva, A. P., Williams, S. S., & Gunasena, B. (2016). Psychological morbidity and illness perception among patients receiving treatment for tuberculosis in a tertiary care centre in Sri Lanka. *The Ceylon medical journal*, 61(1), 37–40. <https://doi.org/10.4038/cmj.v61i1.8261>
- García Jacobo, R. E., Serrano, C. J., Enciso Moreno, J. A., Gaspar Ramírez, O., Trujillo Ochoa, J. L., Uresti Rivera, E. E., Portales Pérez, D. P., González-Amaro, R., & García Hernández, M. H. (2014). Analysis of Th1, Th17 and regulatory T cells in tuberculosis case contacts. *Cellular immunology*, 289(1-2), 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.03.010>
- GBD 2017 Causes of Death Collaborators (2018). Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet (London, England)*, 392(10159), 1736–1788. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32203-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32203-7)
- GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. (2018) Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet (London, England)*, 392, 1789–1858. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32279-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32279-7)
- Gilhotra, R., Goel, S., & Gilhotra, N. (2015). Behavioral and biochemical characterization of elevated “ I-maze ” as animal model of anxiety. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(3), 214–224. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2015.07.003>
- Giraldo-Velásquez, M. F., Pérez-Osorio, I. N., Espinosa-Cerón, A., Bárcena, B. M., Calderón-Gallegos, A., Frago, G., Torres-Ramos, M., Páez-Martínez, N., & Scitutto, E. (2022). Intranasal Methylprednisolone Ameliorates Neuroinflammation Induced by Chronic Toluene Exposure. *Pharmaceutics*, 14(6), 1195. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061195>
- Gong, Y., Yan, S., Qiu, L., Zhang, S., Lu, Z., Tong, Y., Fang, P., & Yin, X. (2018) Prevalence of Depressive Symptoms and Related Risk Factors among Patients with Tuberculosis in China: A Multistage Cross-Sectional Study. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 98, 1624–1628. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0840>
- González, H., & Pacheco, R. (2014). T-cell-mediated regulation of neuroinflammation involved in neurodegenerative diseases. *Journal of neuroinflammation*, 11, 201. <https://doi.org/10.1186/s12974-014-0201-8>
- González-Martin, J. (2014). Microbiología de la tuberculosis. *Seminarios de La Fundacion Espanola de Reumatologia*, 15(1), 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.semreu.2014.01.001>
- Gossye, V., Elewaut, D., Van Beneden, K., Dewint, P., Haegeman, G., & De Bosscher, K. (2010). A plant-derived glucocorticoid receptor modulator attenuates inflammation without provoking ligand-induced resistance. *Annals of the rheumatic diseases*, 69(1), 291–296. <https://doi.org/10.1136/ard.2008.102871>
- Gräb, J., Suárez, I., van Gumpel, E., Winter, S., Schreiber, F., Esser, A., Hölscher, C., Fritsch, M., Herb, M., Schramm, M., Wachsmuth, L., Pallasch, C., Pasparakis, M., Kashkar, H., & Rybniker, J. (2019). Corticosteroids inhibit Mycobacterium tuberculosis-induced necrotic host cell death by abrogating mitochondrial membrane permeability transition. *Nature communications*, 10(1), 688. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08405-9>
- Grange, J. (2009). The genus Mycobacterium and the Mycobacterium tuberculosis complex. In *Tuberculosis* (pp. 44–59). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4160-3988-4.00006-8>
- Gupta, P. K., Kulkarni, S., & Rajan, R. (2013). Inhibition of Intracellular Survival of Multi Drug Resistant Clinical Isolates of Mycobacterium tuberculosis in Macrophages by Curcumin. *The Open Antimicrobial Agents Journal*, 4(1), 1–5. <https://doi.org/10.2174/1876518101304010001>
- Haider, S., Naqvi, F., Batool, Z., Tabassum, S., Sadir, S., Liaquat, L., Naqvi, F., Zuberi, N. A., Shakeel, H., & Perveen, T. (2015). Pretreatment with curcumin attenuates anxiety while strengthens memory performance after one short stress experience in male rats. *Brain Research Bulletin*, 115, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2015.04.001>
- Hatcher, H., Planalp, R., Cho, J., Torti, F. M., & Torti, S. V. (2008). Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 65(11), 1631–1652. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7452-4>

- Hendriksen, E., van Bergeijk, D., Oosting, R. S., & Redegeld, F. A. (2017). Mast cells in neuroinflammation and brain disorders. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 79, 119–133. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.05.001>
- Hernández-Pando, R., Orozco, H., Sampieri, A., Pavón, L., Velasquillo, C., Larriva-Sahd, J., Alcocer, J. M., & Madrid, M. v. (1996). Correlation between the kinetics of Th1, Th2 cells and pathology in a murine model of experimental pulmonary tuberculosis. *Immunology*, 89(1), 26–33. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8911136><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1456655>
- Holmberg, P. J., Temesgen, Z., & Banerjee, R. (2019). Tuberculosis in Children. *Pediatrics in Review*, 40(4), 168–178. [doi:10.1542/pir.2018-0093](https://doi.org/10.1542/pir.2018-0093)
- Holmin, S., & Mathiesen, T. (1996). Dexamethasone and colchicine reduce inflammation and delayed oedema following experimental brain contusion. *Acta neurochirurgica*, 138(4), 418–424. <https://doi.org/10.1007/BF01420304>
- Huang, Z., Zhong, X. M., Li, Z. Y., Feng, C. R., Pan, A. J., & Mao, Q. Q. (2011). Curcumin reverses corticosterone-induced depressive-like behavior and decrease in brain BDNF levels in rats. *Neuroscience letters*, 493(3), 145–148. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.02.030>
- Hurley, L. L., Akinfiresoye, L., Nwulia, E., Kamiya, A., Kulkarni, A. A., & Tizabi, Y. (2013). Antidepressant-like effects of curcumin in WKY rat model of depression is associated with an increase in hippocampal BDNF. *Behavioural Brain Research*, 239(1), 27–30. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.10.049>
- Husain, M. O., Dearman, S. P., Chaudhry, I. B., Rizvi, N., and Waheed, W. (2008) The relationship between anxiety, depression and illness perception in tuberculosis patients in Pakistan. *Clinical practice and epidemiology in mental health : CP & EMH*, 26,4, 4. <https://doi.org/10.1186/1745-0179-4-4>
- Hussain Bhat, K., & Mukhopadhyay, S. (2015). Macrophage takeover and the host-bacilli interplay during tuberculosis. *Future microbiology*, 10(5), 853–872. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.11>
- Ige, O. M., & Lasebikan, V. O. (2011). Prevalence of depression in tuberculosis patients in comparison with non-tuberculosis family contacts visiting the DOTS clinic in a Nigerian tertiary care hospital and its correlation with disease pattern. *Mental health in family medicine*, 8(4), 235–241. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3487604/pdf/MHFM-08-235.pdf>
- Issa, B. A., Yussuf, A. D., and Kuranga, S. I. (2009) Depression co-morbidity among patients with tuberculosis in a university teaching hospital outpatient clinic in Nigeria. *Mental health in family medicine*, 6, 133–138. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2838651/pdf/MHFM-06-133.pdf>
- Izui, S., Sekine, S., Maeda, K., Kuboniwa, M., Takada, A., Amano, A., & Nagata, H. (2016). Antibacterial Activity of Curcumin Against Periodontopathic Bacteria. *Journal of periodontology*, 87(1), 83–90. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.150260>
- Jasenosky, L. D., Scriba, T. J., Hanekom, W. A., & Goldfeld, A. E. (2015). T cells and adaptive immunity to Mycobacterium tuberculosis in humans. *Immunological reviews*, 264(1), 74–87. <https://doi.org/10.1111/imr.12274>
- Jat, M.I. & Juseja, A.K. (2022). Frequency of anxiety and depression among patients of pulmonary tuberculosis. *The Professional Medical Journal*, 29(09), 1400-1404. <https://doi.org/10.29309/tpmj/2022.29.09.6796>
- Javaid, A., Mehreen, S., Khan, M.A., Ashiq, N., and Ihtesham, M. (2017) Depression and its Associated Factors with Multidrug-Resistant Tuberculosis at Baseline. *Journal of Depression and Anxiety*, 06:1–6. <https://doi.org/10.4172/2167-1044.1000253>.
- Jeong, D. U., Bae, S., Macks, C., Whitaker, J., Lynn, M., Webb, K., & Lee, J. S. (2021). Hydrogel-mediated local delivery of dexamethasone reduces neuroinflammation after traumatic brain injury. *Biomedical materials (Bristol, England)*, 16(3), 10.1088/1748-605X/abc7f1. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/abc7f1>
- Jones-Patten, A., Wang, Q., Molebatsi, K., Novotny, T. E., Siddiqi, K., Modongo, C., Zetola, N. M., Mbongwe, B., & Shin, S. S. (2023). Depression, Anxiety, and Cigarette Smoking Among Patients with Tuberculosis. *Clinical nursing research*, 32(1), 22–28. <https://doi.org/10.1177/10547738221132096>

- Jurenka J. S. (2009). Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*, 14(2), 141–153.
- Kanabalan, R. D., Lee, L. J., Lee, T. Y., Chong, P. P., Hassan, L., Ismail, R., & Chin, V. K. (2021). Human tuberculosis and *Mycobacterium tuberculosis* complex: A review on genetic diversity, pathogenesis and omics approaches in host biomarkers discovery. *Microbiological research*, 246, 126674. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126674>
- Katare, S., & Harsha, A. (2022). Correlations Between Inflammatory Biomarkers in Tuberculosis-Associated Obstructive Pulmonary Disease Patients With Anxiety and Depression. *Cureus*, 14(3), e22742. <https://doi.org/10.7759/cureus.22742>
- Kaufmann, F. N., Gazal, M., Bastos, C. R., Kaster, M. P., & Ghisleni, G. (2016). Curcumin in depressive disorders: An overview of potential mechanisms, preclinical and clinical findings. *European Journal of Pharmacology*, 784, 192–198. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.05.026>
- Kehbila, J., Ekabe, C. J., Aminde, L. N., Noubiap, J. J., Fon, P. N., & Monekosso, G. L. (2016). Prevalence and correlates of depressive symptoms in adult patients with pulmonary tuberculosis in the Southwest Region of Cameroon. *Infectious diseases of poverty*, 5(1), 51. <https://doi.org/10.1186/s40249-016-0145-6>
- Kelly, C., Heslop-Marshall, K., Jones, S., & Roberts, N. J. (2022). Self-management in chronic lung disease: what is missing?. *Breathe (Sheffield, England)*, 18(1), 210179. <https://doi.org/10.1183/20734735.0179-2021>
- Kempuraj, D., Thangavel, R., Kempuraj, D. D., Ahmed, M. E., Selvakumar, G. P., Raikwar, S. P., Zaheer, S. A., Iyer, S. S., Govindarajan, R., Chandrasekaran, P. N., & Zaheer, A. (2021). Neuroprotective effects of flavone luteolin in neuroinflammation and neurotrauma. *BioFactors (Oxford, England)*, 47(2), 190–197. <https://doi.org/10.1002/biof.1687>
- Kesavan, A. K., Mendez, S. E., Hatem, C. L., Lopez-Molina, J., Aird, K., Pitt, M. L., Dannenberg, A. M., Jr, & Manabe, Y. C. (2005). Effects of dexamethasone and transient malnutrition on rabbits infected with aerosolized *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551. *Infection and immunity*, 73(10), 7056–7060. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.10.7056-7060.2005>
- Khan, N., Vidyarthi, A., Javed, S., & Agrewala, J. N. (2016). Innate Immunity Holding the Flanks until Reinforced by Adaptive Immunity against *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *Frontiers in microbiology*, 7, 328. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00328>
- Kibrisli, E., Bez, Y., Yilmaz, A., Aslanhan, H., Taylan, M., Kaya, H., Tanrikulu, A. C., & Abakay, O. (2015). High social anxiety and poor quality of life in patients with pulmonary tuberculosis. *Medicine*, 94(3), e413. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000413>
- Killick, K. E., Ní Cheallaigh, C., O'Farrelly, C., Hokamp, K., MacHugh, D. E., & Harris, J. (2013). Receptor-mediated recognition of mycobacterial pathogens. *Cellular microbiology*, 15(9), 1484–1495. <https://doi.org/10.1111/cmi.12161>
- Koch, A., & Mizrahi, V. (2018). *Mycobacterium tuberculosis*. *Trends in microbiology*, 26(6), 555–556. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.02.012>
- Kölliker-Frers, R., Udovin, L., Otero-Losada, M., Kobiec, T., Herrera, M. I., Palacios, J., Razzitte, G., & Capani, F. (2021). Neuroinflammation: An Integrating Overview of Reactive-Neuroimmune Cell Interactions in Health and Disease. *Mediators of inflammation*, 2021, 9999146. <https://doi.org/10.1155/2021/9999146>
- Kolloli, A., & Subbian, S. (2017). Host-Directed Therapeutic Strategies for Tuberculosis. *Frontiers in medicine*, 4, 171. <https://doi.org/10.3389/fmed.2017.00171>
- Kozakiewicz, L., Phuah, J., Flynn, J., & Chan, J. (2013). The role of B cells and humoral immunity. In *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Advances in experimental medicine and biology*, 783, 225–250. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6111-1_12

- Kruijshaar, M. E., Lipman, M., Essink-Bot, M. L., Lozewicz, S., Creer, D., Dart, S., Maguire, H., and Abubakar, I. (2010) Health status of UK patients with active tuberculosis. *The international journal of tuberculosis and lung disease*, **14**, 296–302. <https://www.ingentaconnect.com/content/iatld/ijtld/2010/00000014/00000003/art00012>
- Kumar V. (2019). Toll-like receptors in the pathogenesis of neuroinflammation. *Journal of neuroimmunology*, **332**, 16–30. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.03.012>
- Kumar, K., Kumar, A., Chandra, P., and Kansal, H. M. (2016) A study of prevalence of depression and anxiety in patients suffering from tuberculosis. *Journal of family medicine and primary care*, **5**, 150–153. <https://doi.org/10.4103/2249-4863.184641>
- Kumar, S., Dey, D., & Hasan, G. (2011). Patterns of gene expression in Drosophila InsP3 receptor mutant larvae reveal a role for InsP3 signaling in carbohydrate and energy metabolism. *PLoS one*, **6**(8), e24105. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024105>
- Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2015). *Robbins y cotran. Patología estructural y funcional*. Elsevier.
- Kumpuangdee, S., Roomruangwong, C., Sophonphan, J., Ohata, P. J., & Suwanpimolkul, G. (2022). Prevalence of depression and anxiety in pulmonary tuberculosis patients and its association with unsuccessful treatment outcome: A prospective cohort study. *The Indian journal of tuberculosis*. <https://doi.org/10.1016/j.ijtb.2022.05.007>
- Lara-Espinosa, J. & Hernández-Pando, R. (2021) Psychiatric Problems in Pulmonary Tuberculosis: Depression and Anxiety. *Journal of Tuberculosis Research*, **9**, 31-50. <https://doi.org/10.4236/jtr.2021.91003>
- Lara-Espinosa, J. V., Santana-Martínez, R. A., Maldonado, P. D., Zetter, M., Becerril-Villanueva, E., Pérez-Sánchez, G., Pavón, L., Mata-Espinosa, D., Barrios-Payán, J., López-Torres, M. O., Marquina-Castillo, B., & Hernández-Pando, R. (2020). Experimental pulmonary tuberculosis in the absence of detectable brain infection induces neuroinflammation and behavioural abnormalities in male balb/c mice. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**(24), 1–32. <https://doi.org/10.3390/ijms21249483>
- Lasselin, J., Schedlowski, M., Karshikoff, B., Engler, H., Lekander, M., & Konsman, J. P. (2020). Comparison of bacterial lipopolysaccharide-induced sickness behavior in rodents and humans: Relevance for symptoms of anxiety and depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **115**, 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.05.001>
- Lee, C. H., Kim, K., Hyun, M. K., Jang, E. J., Lee, N. R., & Yim, J. J. (2013). Use of inhaled corticosteroids and the risk of tuberculosis. *Thorax*, **68**(12), 1105–1113. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2012-203175>
- Lemos, C. X., Anton, C., Machado, F. D., Bernardi, R. M., Freitas, A. A., & Silva, D. R. (2022). Adjunctive corticosteroid therapy in patients with pulmonary tuberculosis. *Revista da Associação Médica Brasileira (1992)*, **68**(9), 1199–1203. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.20220196>
- Lerner, T. R., Borel, S., & Gutierrez, M. G. (2015). The innate immune response in human tuberculosis. *Cellular microbiology*, **17**(9), 1277–1285. <https://doi.org/10.1111/cmi.12480>
- Lesovaya, E., Yemelyanov, A., Swart, A. C., Swart, P., Haegeman, G., & Budunova, I. (2015). Discovery of Compound A—a selective activator of the glucocorticoid receptor with anti-inflammatory and anti-cancer activity. *Oncotarget*, **6**(31), 30730–30744. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5078>
- Li, L., Acioglu, C., Heary, R. F., & Elkabes, S. (2021). Role of astroglial toll-like receptors (TLRs) in central nervous system infections, injury and neurodegenerative diseases. *Brain, behavior, and immunity*, **91**, 740–755. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.10.007>
- Lin, P. L., & Flynn, J. L. (2015). CD8 T cells and Mycobacterium tuberculosis infection. *Seminars in immunopathology*, **37**(3), 239–249. <https://doi.org/10.1007/s00281-015-0490-8>
- Liu, C. H., Liu, H., & Ge, B. (2017). Innate immunity in tuberculosis: host defense vs pathogen evasion. *Cellular & molecular immunology*, **14**(12), 963–975. <https://doi.org/10.1038/cmi.2017.88>

- Liu, Z. J., Liu, W., Liu, L., Xiao, C., Wang, Y., & Jiao, J. S. (2013). Curcumin protects neuron against cerebral ischemia-induced inflammation through improving PPAR-gamma function. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/470975>
- Lyadova, I. V., & Panteleev, A. V. (2015). Th1 and Th17 Cells in Tuberculosis: Protection, Pathology, and Biomarkers. *Mediators of inflammation*, 2015, 854507. <https://doi.org/10.1155/2015/854507>
- Lyman, M., Lloyd, D. G., Ji, X., Vizcaychipi, M. P., & Ma, D. (2014). Neuroinflammation: The role and consequences. *Neuroscience Research*, 79(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2013.10.004>
- Mangalmurti, A., & Lukens, J. R. (2022). How neurons die in Alzheimer's disease: Implications for neuroinflammation. *Current opinion in neurobiology*, 75, 102575. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2022.102575>
- Mangwani, N., Singh, P. K., & Kumar, V. (2020). Medicinal plants: Adjunct treatment to tuberculosis chemotherapy to prevent hepatic damage. *Journal of Ayurveda and integrative medicine*, 11(4), 522–528. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2019.02.004>
- Marathe, S. A., Dasgupta, I., Gnanadhas, D. P., & Chakravorty, D. (2011). Multifaceted roles of curcumin: two sides of a coin!. *Expert opinion on biological therapy*, 11(11), 1485–1499. <https://doi.org/10.1517/14712598.2011.623124>
- Marchetti, L., & Engelhardt, B. (2020). Immune cell trafficking across the blood-brain barrier in the absence and presence of neuroinflammation. *Vascular biology (Bristol, England)*, 2(1), H1–H18. <https://doi.org/10.1530/VB-19-0033>
- Marcus, M., Yasamy, M.T., van Ommeren, M., and Chisholm, D. (2012) Depression, a global public health concern. *WHO Dep Ment Heal Subst Abus.* 1–8. <https://doi.org/10.1037/e517532013-004>
- Marini, E., Di Giulio, M., Magi, G., Di Lodovico, S., Cimarelli, M. E., Brenciani, A., Nostro, A., Cellini, L., & Facinelli, B. (2018). Curcumin, an antibiotic resistance breaker against a multiresistant clinical isolate of *Mycobacterium abscessus*. *Phytotherapy research : PTR*, 32(3), 488–495. <https://doi.org/10.1002/ptr.5994>
- Mastorakos, P., & McGavern, D. (2019). The anatomy and immunology of vasculature in the central nervous system. *Science Immunology*, 4(37), 1–15. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aav0492>
- Masumoto, S., Yamamoto, T., Ohkado, A., Yoshimatsu, S., Querri, A. G., & Kamiya, Y. (2014). Prevalence and associated factors of depressive state among pulmonary tuberculosis patients in Manila, The Philippines. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 18(2), 174–179. <https://doi.org/10.5588/ijtld.13.0335>
- Mathai, P. J., Ravindran, P., Joshi, P., and Sundaram, P. (1981) Psychiatric morbidity in pulmonary tuberculosis—a clinical study. *Indian journal of psychiatry*, 23, 66–68. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3013189/pdf/IIPsy-23-66.pdf>
- Mayanja-Kizza, H., Jones-Lopez, E., Okwera, A., Wallis, R. S., Ellner, J. J., Mugerwa, R. D., Whalen, C. C., & Uganda-Case Western Research Collaboration (2005). Immuno-adjunct prednisolone therapy for HIV-associated tuberculosis: a phase 2 clinical trial in Uganda. *The Journal of infectious diseases*, 191(6), 856–865. <https://doi.org/10.1086/427995>
- McClean, C. M., & Tobin, D. M. (2016). Macrophage form, function, and phenotype in mycobacterial infection: lessons from tuberculosis and other diseases. *Pathogens and disease*, 74(7), ftw068. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftw068>
- Meintjes, G., Wilkinson, R. J., Morroni, C., Pepper, D. J., Rebe, K., Rangaka, M. X., Oni, T., & Maartens, G. (2010). Randomized placebo-controlled trial of prednisone for paradoxical tuberculosis-associated immune reconstitution inflammatory syndrome. *AIDS (London, England)*, 24(15), 2381–2390. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32833dfc68>
- Meneses, G., Gevorkian, G., Florentino, A., Bautista, M. A., Espinosa, A., Acero, G., Díaz, G., Fleury, A., Pérez Osorio, I. N., del Rey, A., Fragoso, G., Sciutto, E., & Besedovsky, H. (2017). Intranasal delivery of dexamethasone

efficiently controls LPS-induced murine neuroinflammation. *Clinical and Experimental Immunology*, 190(3), 304–314. <https://doi.org/10.1111/cei.13018>

- Miao, L., Huang, F., Sun, Y. Y., Jiang, W., Chen, Y. J., & Zhang, M. (2022). Curcumin plays a local anti-inflammatory and antioxidant role via the HMGB1/TLR4/NF-KB pathway in rat masseter muscle under psychological stress. *Journal of oral rehabilitation*, 49(2), 249–257. <https://doi.org/10.1111/joor.13289>
- Migliori, G. B., Caminero Luna, J., Kurhasani, X., van den Boom, M., Visca, D., D'Ambrosio, L., Centis, R., & Tiberi, S. (2022). History of prevention, diagnosis, treatment and rehabilitation of pulmonary sequelae of tuberculosis. *Presse medicale (Paris, France)*, 51(3), 104112. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2022.104112>
- Migliori, G. B., Nardell, E., Yedilbayev, A., D'Ambrosio, L., Centis, R., Tadolini, M., van den Boom, M., Ehsani, S., Sotgiu, G., & Dara, M. (2019). Reducing tuberculosis transmission: a consensus document from the World Health Organization Regional Office for Europe. *The European respiratory journal*, 53(6), 1900391. <https://doi.org/10.1183/13993003.00391-2019>
- Migliori, G. B., Ong, C. W. M., Petrone, L., D'Ambrosio, L., Centis, R., & Goletti, D. (2021). The definition of tuberculosis infection based on the spectrum of tuberculosis disease. *Breathe (Sheffield, England)*, 17(3), 210079. <https://doi.org/10.1183/20734735.0079-2021>
- Mihret A. (2012). The role of dendritic cells in Mycobacterium tuberculosis infection. *Virulence*, 3(7), 654–659. <https://doi.org/10.4161/viru.22586>
- Miranda, M., Morici, J. F., Zanoni, M. B., & Bekinschtein, P. (2019). Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Key Molecule for Memory in the Healthy and the Pathological Brain. *Frontiers in cellular neuroscience*, 13, 363. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00363>
- Mizuno, T. (2015). Neuron-microglia interaction in neuroinflammation. *Clinical and Experimental Neuroimmunology*, 6, 225–231. <https://doi.org/10.1111/cen3.12228>
- Mohammedhussein, M., Alenko, A., Tessema, W., & Mamaru, A. (2020) Prevalence and Associated Factors of Depression and Anxiety Among Patients with Pulmonary Tuberculosis Attending Treatment at Public Health Facilities in Southwest Ethiopia. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 16, 1095–1104. <https://doi.org/10.2147/NDT.S249431>
- Moradi, F., Dashti, N., Farahvash, A., Baghaei Naeni, F., & Zarebavani, M. (2023). Curcumin ameliorates chronic *Toxoplasma gondii* infection-induced affective disorders through modulation of proinflammatory cytokines and oxidative stress. *Iranian journal of basic medical sciences*, 26(4), 461–467. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2023.68487.14937>
- Morrison, H., & McShane, H. (2021). Local Pulmonary Immunological Biomarkers in Tuberculosis. *Frontiers in immunology*, 12, 640916. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.640916>
- Multani, P. K., Saini, N., Kaur, R., & Sharma, P. (2014). Biomarkers for drugs of abuse and neuropsychiatric disorders: Models and mechanisms. In *Biomarkers in Toxicology*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404630-6.00059-2>
- Nathan C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature*, 420(6917), 846–852. <https://doi.org/10.1038/nature01320>
- Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K., Jagan Mohan Rao, L., & Sakariah, K. K. (1999). Antibacterial activity of turmeric oil: a byproduct from curcumin manufacture. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(10), 4297–4300. <https://doi.org/10.1021/jf990308d>
- Nestler, E. J., & Hyman, S. E. (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature neuroscience*, 13(10), 1161–1169. <https://doi.org/10.1038/nn.2647>
- Newton, R., & Holden, N. S. (2007). Separating transrepression and transactivation: a distressing divorce for the glucocorticoid receptor?. *Molecular pharmacology*, 72(4), 799–809. <https://doi.org/10.1124/mol.107.038794>
- Noor, N. A., Hosny, E. N., Khadrawy, Y. A., Mourad, I. M., Othman, A. I., Aboul Ezz, H. S., & Mohammed, H. S. (2022). Effect of curcumin nanoparticles on streptozotocin-induced male Wistar rat model of Alzheimer's disease. *Metabolic brain disease*, 37(2), 343–357. <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00897-z>

- Odermatt, A., & Gumy, C. (2008). Glucocorticoid and mineralocorticoid action: why should we consider influences by environmental chemicals?. *Biochemical pharmacology*, 76(10), 1184–1193. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.07.019>
- Ojha, R. P., Rastogi, M., Devi, B. P., Agrawal, A., & Dubey, G. P. (2012). Neuroprotective effect of curcuminoids against inflammation-mediated dopaminergic neurodegeneration in the mptp model of parkinson's Disease. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 7(3), 609–618. <https://doi.org/10.1007/s11481-012-9363-2>
- Ono, K., Hasegawa, K., Naiki, H., & Yamada, M. (2004). Curcumin Has Potent Anti-Amyloidogenic Effects for Alzheimer's β -Amyloid Fibrils In Vitro. *Journal of Neuroscience Research*, 75(6), 742–750. <https://doi.org/10.1002/jnr.20025>
- Organización Mundial de la Salud (2022). Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
- Organización Mundial de la Salud (2023). TB profile. https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?inputs
- Pahwa R, Goyal A, Bansal P, Jialal I. Chronic Inflammation. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2021. PMID: 29630225.
- Pai, M., Behr, M. A., Dowdy, D., Dheda, K., Divangahi, M., Boehme, C. C., Ginsberg, A., Swaminathan, S., Spigelman, M., Getahun, H., Menzies, D., & Raviglione, M. (2016). Tuberculosis. *Nature reviews. Disease primers*, 2, 16076. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.76>
- Pang, Y., Fan, L. W., Zheng, B., Campbell, L. R., Cai, Z., & Rhodes, P. G. (2012). Dexamethasone and betamethasone protect against lipopolysaccharide-induced brain damage in neonatal rats. *Pediatric Research*, 71(5), 552–558. <https://doi.org/10.1038/pr.2012.9>
- Paulo, B. X., & Peixoto, B. (2016). Emotional distress patients with several types of tuberculosis. A pilot study with patients from the Sanatorium Hospital of Huambo. *International journal of mycobacteriology*, 5 Suppl 1, S58. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.11.002>
- Paykel E. S. (2008). Basic concepts of depression. *Dialogues in clinical neuroscience*, 10(3), 279–289. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2008.10.3/espaykel>
- Peltzer, K., & Louw, J. (2013). Prevalence of suicidal behaviour & associated factors among tuberculosis patients in public primary care in South Africa. *The Indian journal of medical research*, 138(2), 194–200. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3788204/>
- Pitman, A., Suleman, S., Hyde, N., & Hodgkiss, A. (2018). Depression and anxiety in patients with cancer. *BMJ (Clinical research ed.)*, 361, k1415. <https://doi.org/10.1136/bmj.k1415>
- Pourhajibagher, M., Chiniforush, N., Shahabi, S., Palizvani, M., & Bahador, A. (2018). Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Antimicrobial Photodynamic Therapy Against Intracanal *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Comparative Study with Traditional Endodontic Irrigation Solutions. *Journal of dentistry (Tehran, Iran)*, 15(4), 197–204.
- Qiu, L., Yang, Q., Tong, Y., Lu, Z., Gong, Y., & Yin, X. (2018). The Mediating Effects of Stigma on Depressive Symptoms in Patients With Tuberculosis: A Structural Equation Modeling Approach. *Frontiers in psychiatry*, 9, 618. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00618>
- Rahlwes, K. C., Dias, B. R. S., Campos, P. C., Alvarez-Arguedas, S., & Shiloh, M. U. (2023). Pathogenicity and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Virulence*, 14(1), 2150449. <https://doi.org/10.1080/21505594.2022.2150449>
- Rajeswari, R., Muniyandi, M., Balasubramanian, R., and Narayanan, P. R. (2005) Perceptions of tuberculosis patients about their physical, mental and social well-being: a field report from south India. *Social science & medicine* (1982), 60, 1845–1853. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2004.08.024>
- Ramakrishnan L. (2012). Revisiting the role of the granuloma in tuberculosis. *Nature reviews. Immunology*, 12(5), 352–366. <https://doi.org/10.1038/nri3211>
- Ramos-Espinosa, O., Islas-Weinstein, L., Peralta-Álvarez, M. P., López-Torres, M. O., & Hernández-Pando, R. (2018). The use of immunotherapy for the treatment of tuberculosis. *Expert review of respiratory medicine*, 12(5), 427–440. <https://doi.org/10.1080/17476348.2018.1457439>

- Ramos-Espinosa, O., Mata-Espinosa, D., Francisco-Cruz, A., López-Torres, M. O., Hernández-Bazán, S., Barrios-Payán, J., Marquina-Castillo, B., Carretero, M., Del Río, M., & Hernández-Pando, R. (2021). Immunotherapeutic effect of adenovirus encoding antimicrobial peptides in experimental pulmonary tuberculosis. *Journal of leukocyte biology*, 110(5), 951–963. <https://doi.org/10.1002/JLB.4MA0920-627R>
- Rassy, D., Bárcena, B., Nicolás Pérez-Osorio, I., Espinosa, A., Peón, A. N., Terrazas, L. I., Meneses, G., Besedovsky, H. O., Frago, G., & Sciotto, E. (2020). Intranasal methylprednisolone effectively reduces neuroinflammation in mice with experimental autoimmune encephalitis. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 79(2), 226–237. <https://doi.org/10.1093/jnen/nlz128>
- Rauner, M., Thiele, S., Sinnigen, K., Winzer, M., Salbach-Hirsch, J., Gloe, I., Peschke, K., Haegeman, G., Tuckermann, J. P., & Hofbauer, L. C. (2013). Effects of the selective glucocorticoid receptor modulator compound A on bone metabolism and inflammation in male mice with collagen-induced arthritis. *Endocrinology*, 154(10), 3719–3728. <https://doi.org/10.1210/en.2012-2221>
- Ravesloot-Chávez, M. M., Van Dis, E., & Stanley, S. A. (2021). The Innate Immune Response to *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *Annual review of immunology*, 39, 611–637. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-093019-010426>
- Razzaq, M.A., Atif, M., Ullah, U., Mahmood, M., Irfan, M. (2022). Evaluation of depression and anxiety among tuberculosis patients. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 128. doi: <https://doi.org/10.54112/bcsrj.v2022i1.128>
- Reátegui-Navarro, M., Gálvez-Cubas, G., & Arbildo-Vega, H. (2019). Efectividad antiinflamatoria de la dexametasona más complejo b en la cirugía de terceras molares inferiores. Un ensayo clínico controlado aleatorizado paralelo a doble ciego. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*. <https://doi.org/10.20986/recom.2019.1025/2019>
- Réus, G. Z., Fries, G. R., Stertz, L., Badawy, M., Passos, I. C., Barichello, T., Kapczinski, F., & Quevedo, J. (2015). The role of inflammation and microglial activation in the pathophysiology of psychiatric disorders. *Neuroscience*, 300, 141–154. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.05.018>
- Robertson, S., Allie-Reid, F., Vanden Berghe, W., Visser, K., Binder, A., Africander, D., Vismer, M., De Bosscher, K., Hapgood, J., Haegeman, G., & Louw, A. (2010). Abrogation of glucocorticoid receptor dimerization correlates with dissociated glucocorticoid behavior of compound a. *The Journal of biological chemistry*, 285(11), 8061–8075. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.087866>
- Rodríguez-Flores, E. M., Mata-Espinosa, D., Barrios-Payan, J., Marquina-Castillo, B., Castañón-Arreola, M., & Hernández-Pando, R. (2019). A significant therapeutic effect of silymarin administered alone, or in combination with chemotherapy, in experimental pulmonary tuberculosis caused by drug-sensitive or drug-resistant strains: In vitro and in vivo studies. *PloS one*, 14(5), e0217457. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217457>
- Ross, R. E., VanDerwerker, C. J., Saladin, M. E., & Gregory, C. M. (2023). The role of exercise in the treatment of depression: biological underpinnings and clinical outcomes. *Molecular psychiatry*, 28(1), 298–328. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01819-w>
- Rubeen, R., Zareen, N., Zameer, S., Rasool, A.G., Naqvi, S.S.N., and Iqbal, J. (2014) Anxiety and Depression in Tuberculosis Can Create Impact on Quality of Life of Patient. *Acta Medica International*, 1, 93–8. <https://doi.org/10.5530/ami.2014.2.9>
- Ruiz-Grosso, P., Cachay, R., de la Flor, A., Schwalb, A., & Ugarte-Gil, C. (2020). Association between tuberculosis and depression on negative outcomes of tuberculosis treatment: A systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 15(1), e0227472. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227472>
- Saifi, B., Haftcheshmeh, S. M., Feligioni, M., Izadpanah, E., Rahimi, K., Hassanzadeh, K., Mohammadi, A., & Sahebkar, A. (2022). An overview of the therapeutic effects of curcumin in reproductive disorders with a focus on the antiinflammatory and immunomodulatory activities. *Phytotherapy research : PTR*, 36(2), 808–823. <https://doi.org/10.1002/ptr.7360>

- Saksida, T., Vujicic, M., Nikolic, I., Stojanovic, I., Haegeman, G., & Stosic-Grujicic, S. (2014). Compound A, a selective glucocorticoid receptor agonist, inhibits immunoinflammatory diabetes, induced by multiple low doses of streptozotocin in mice. *British journal of pharmacology*, 171(24), 5898–5909. <https://doi.org/10.1111/bph.12892>
- Salah, N., Dubuquoy, L., Carpentier, R., & Betbeder, D. (2022). Starch nanoparticles improve curcumin-induced production of anti-inflammatory cytokines in intestinal epithelial cells. *International Journal of Pharmaceutics: X*, 4, 100114. <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2022.100114>
- Salodia, U. P., Sethi, S., & Khokhar, A. (2019). Depression among tuberculosis patients attending a DOTS centre in a rural area of Delhi: A cross-sectional study. *Indian journal of public health*, 63, 39–43. https://doi.org/10.4103/ijph.IJPH_109_18
- Sanada, F., Taniyama, Y., Muratsu, J., Otsu, R., Shimizu, H., Rakugi, H., & Morishita, R. (2018). Source of Chronic Inflammation in Aging. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5, 1–5. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00012>
- Sánchez Pérez, H. J., Bernal, D., Torres, O., & Colorado, A. (2021). Tuberculosis en México en tiempos de COVID-19: algunas reflexiones. *Enfermedades emergentes*, 20(3), 160-165. http://enfermedadesemergentes.com/articulos/a790/1_original_sanchez_web.pdf
- Santomauro, D., Herrera, A. M., Shadid, J., Zheng, P., Ashbaugh, C., Pigott, D. M., Abbafati, C., Adolph, C., Amlag, J. O., Aravkin, A. Y., Bang-Jensen, B., Bertolacci, G. J., Bloom, S., Castellano, R., Castro, E., Chakrabarti, S., Chattopadhyay, J., Cogen, R. M., Collins, J. J., . . . Ferrari, A. J. (2021). Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. *The Lancet*, 398(10312), 1700-1712. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02143-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02143-7)
- Santos, A. M., Lopes, T., Oleastro, M., Gato, I. V., Floch, P., Benejat, L., Chaves, P., Pereira, T., Seixas, E., Machado, J., & Guerreiro, A. S. (2015). Curcumin inhibits gastric inflammation induced by Helicobacter pylori infection in a mouse model. *Nutrients*, 7(1), 306–320. <https://doi.org/10.3390/nu7010306>
- Schäcke, H., Berger, M., Rehwinkel, H., & Asadullah, K. (2007). Selective glucocorticoid receptor agonists (SEGRAs): novel ligands with an improved therapeutic index. *Molecular and cellular endocrinology*, 275(1-2), 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2007.05.014>
- Schäcke, H., Döcke, W. D., & Asadullah, K. (2002). Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacology & therapeutics*, 96(1), 23–43. [https://doi.org/10.1016/s0163-7258\(02\)00297-8](https://doi.org/10.1016/s0163-7258(02)00297-8)
- Schmittgen, T. D., & Livak, K. J. (2008). Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nature protocols*, 3(6), 1101–1108. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.73>
- Schutz, C., Davis, A. G., Sossen, B., Lai, R. P., Ntsekhe, M., Harley, Y. X., & Wilkinson, R. J. (2018). Corticosteroids as an adjunct to tuberculosis therapy. *Expert review of respiratory medicine*, 12(10), 881–891. <https://doi.org/10.1080/17476348.2018.1515628>
- Serra, H. A., Roganovich, J. M., & Rizzo, L. F. L. (2012). Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional de lo molecular al uso clínico. *Medicina (Buenos Aires)*, 72 (2), 158–170. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802012000200015&lng=es&tlng=es.
- Shabab, T., Khanabdali, R., Moghadamtousi, S. Z., Kadir, H. A., & Mohan, G. (2017). Neuroinflammation pathways: a general review. *The International journal of neuroscience*, 127(7), 624–633. <https://doi.org/10.1080/00207454.2016.1212854>
- Shajari, M., Zamani, M., Ahmadi, N., Rostamizadeh, K., & Shapouri, R. (2022). Improving the Antibacterial Activity of Curcumin Loaded Nanoparticles in Wastewater Treatment by Enhancing Permeability and Sustained Release. *Journal of Polymers and the Environment*, 30(6), 2658–2668. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02338-5>
- Sheikholeslami, M. A., Parvardeh, S., Ghafghazi, S., & Sabetkasaei, M. (2023). Curcumin attenuates morphine dependence by modulating μ -opioid receptors and glial cell-activated neuroinflammation in rat. *Neuropeptides*, 98, 102318. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2022.102318>
- Shi, X., Zheng, Z., Li, J., Xiao, Z., Qi, W., Zhang, A., Wu, Q., & Fang, Y. (2015). Curcumin inhibits A β -induced microglial inflammatory responses in vitro: Involvement of ERK1/2 and p38 signaling pathways. *Neuroscience Letters*, 594, 105–110. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.03.045>

- Shyamala, K. K., Naveen, R. S., and Khatri, B. (2018) Depression: A Neglected Co-morbidity in Patients with Tuberculosis. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 66, 18–21.
- Singh, A. K., Karaulia, P., Yadav, P., Narender, T., Singh, S. P., Sashidhara, K. V., Pandey, A. K., Chopra, S., & Dasgupta, A. (2016). Identification of lipid metabolism-targeting compounds active against drug-resistant M. tuberculosis. *Journal of global antimicrobial resistance*, 7, 26–27. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.07.003>
- Singh, A. K., Yadav, P., Karaulia, P., Singh, V. K., Gupta, P., Puttrevu, S. K., Chauhan, S., Bhatta, R. S., Tadigoppula, N., Gupta, U. D., Chopra, S., & Dasgupta, A. (2017). Biological evaluation of novel curcumin-pyrazole-mannich derivative active against drug-resistant Mycobacterium tuberculosis. *Future microbiology*, 12, 1349–1362. <https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0054>
- Singh, L., Pardal, P. K., and Prakash, J (2015). Psychiatric morbidity in patients of pulmonary tuberculosis-an observational study. *Industrial psychiatry journal*, 24, 168–171. <https://doi.org/10.4103/0972-6748.181722>
- Singh, S., Nagalakshmi, D., Sharma, K. K., & Ravichandiran, V. (2021). Natural antioxidants for neuroinflammatory disorders and possible involvement of Nrf2 pathway: A review. *Heliyon*, 7(2), e06216. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06216>
- Slavich G. M. (2015). Understanding inflammation, its regulation, and relevance for health: a top scientific and public priority. *Brain, behavior, and immunity*, 45, 13–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.10.012>
- Smego, R. A., & Ahmed, N. (2003). A systematic review of the adjunctive use of systemic corticosteroids for pulmonary tuberculosis. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 7(3), 208–213.
- Solleiro-Villavicencio, H., & Rivas-Arancibia, S. (2018). Effect of Chronic Oxidative Stress on Neuroinflammatory Response Mediated by CD4⁺T Cells in Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in cellular neuroscience*, 12, 114. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00114>
- Stahel, P. F., Shohami, E., Younis, F. M., Kariya, K., Otto, V. I., Lenzlinger, P. M., Grosjean, M. B., Eugster, H. P., Trentz, O., Kossmann, T., & Morganti-Kossmann, M. C. (2000). Experimental closed head injury: analysis of neurological outcome, blood-brain barrier dysfunction, intracranial neutrophil infiltration, and neuronal cell death in mice deficient in genes for pro-inflammatory cytokines. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 20(2), 369–380. <https://doi.org/10.1097/00004647-200002000-00019>
- Stoichita, A., Dumitrescu, A., Ciobanu, A., Oancea, C., Petronela, F., Dabja, R., Dumchev, K., Dadu, A., Mahler-Boca, B., & Akopyan, K. (2021). Depression and anxiety symptoms among people with rifampicin-resistant tuberculosis receiving in-patient care in the National Pulmonology Reference Institute in Romania. *Monaldi archives for chest disease = Archivio Monaldi per le malattie del torace*, 91(1), 10.4081/monaldi.2021.1704. <https://doi.org/10.4081/monaldi.2021.1704>
- Straub R. H. (2017). The brain and immune system prompt energy shortage in chronic inflammation and ageing. *Nature reviews. Rheumatology*, 13(12), 743–751. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2017.172>
- Straub, R. H., Cutolo, M., Buttgerit, F., & Pongratz, G. (2010). Energy regulation and neuroendocrine-immune control in chronic inflammatory diseases. *Journal of internal medicine*, 267(6), 543–560. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2010.02218.x>
- Subhashini, Chauhan, P. S., Kumari, S., Kumar, J. P., Chawla, R., Dash, D., Singh, M., & Singh, R. (2013). Intranasal curcumin and its evaluation in murine model of asthma. *International immunopharmacology*, 17(3), 733–743. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2013.08.008>
- Sulehri, M.A., Dogar, I.A., Sohail, H., Mehdi, Z., Azam, M., Niaz, O., Sheraz, M., Sajjad, I. A., & Iqbal, Z. (2010) Prevalence of Depression Among Tuberculosis Patients. *Annals of Punjab Medical College*, 4, 133–137. <http://apmcfmu.com/index.php/apmc/article/view/546/464>

- Sun, J., Zhao, Y., & Hu, J. (2013). Curcumin inhibits imiquimod-induced psoriasis-like inflammation by inhibiting IL-1beta and IL-6 production in mice. *PloS one*, 8(6), e67078. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067078>
- Sun, M., Liu, N., Sun, J., Li, X., Wang, H., Zhang, W., Xie, Q., & Wang, M. (2022). Curcumin regulates anti-inflammatory responses by AXL/JAK2/STAT3 signaling pathway in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuroscience letters*, 787, 136821. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.136821>
- Sundaramoorthy, N. S., Sivasubramanian, A., & Nagarajan, S. (2020). Simultaneous inhibition of MarR by salicylate and efflux pumps by curcumin sensitizes colistin resistant clinical isolates of Enterobacteriaceae. *Microbial pathogenesis*, 148, 104445. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104445>
- Sunjaya, D. K., Paskaria, C., Pramayanti, M. A., Herawati, D. M. D., & Parwati, I. (2022). The Magnitude of Anxiety and Depressive Symptoms Among Tuberculosis Patients in Community Health Centers Setting During the Peak of COVID-19 Pandemic. *Journal of multidisciplinary healthcare*, Volume 15, 755-764. <https://doi.org/10.2147/jmdh.s359530>
- Susanto, T. D., Widysanto, A., Cipta, D. A., Tanara, A., Wirawan, G. R., Kosim, A. B., Djoni, C. M., Tantri, E., Kumar, C., & Angelius, C. (2023). Anxiety and depression level of patients with multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) in two hospitals in Banten province, Indonesia. *Dialogues in Health*, 2, 100115. <https://doi.org/10.1016/j.dialog.2023.100115>
- Sweeney, M. D., Sagare, A. P., & Zlokovic, B. V. (2018). Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nature reviews. Neurology*, 14(3), 133–150. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.188>
- Tegenge, M. A., Rajbhandari, L., Shrestha, S., Mithal, A., Hosmane, S., & Venkatesan, A. (2014). Curcumin protects axons from degeneration in the setting of local neuroinflammation. *Experimental Neurology*, 253, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.12.016>
- Tiwari, D., & Martineau, A. R. (2023). Inflammation-mediated tissue damage in pulmonary tuberculosis and host-directed therapeutic strategies. *Seminars in immunology*, 65, 101672. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2022.101672>
- Tiwari, V., & Chopra, K. (2012). Attenuation of oxidative stress, neuroinflammation, and apoptosis by curcumin prevents cognitive deficits in rats postnatally exposed to ethanol. *Psychopharmacology*, 224(4), 519–535. <https://doi.org/10.1007/s00213-012-2779-9>
- Tohamy, H. G., El Okle, O. S., Goma, A. A., Abdel-Daim, M. M., & Shukry, M. (2022). Hepatorenal protective effect of nano-curcumin against nano-copper oxide-mediated toxicity in rats: Behavioral performance, antioxidant, anti-inflammatory, apoptosis, and histopathology. *Life sciences*, 292, 120296. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120296>
- Tousif, S., Singh, D. K., Mukherjee, S., Ahmad, S., Arya, R., Nanda, R., Ranganathan, A., Bhattacharyya, M., Van Kaer, L., Kar, S. K., & Das, G. (2017). Nanoparticle-Formulated Curcumin Prevents Posttherapeutic Disease Reactivation and Reinfection with *Mycobacterium tuberculosis* following Isoniazid Therapy. *Frontiers in immunology*, 8, 739. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00739>
- Tu, X. kun, Yang, W. zhong, Chen, J. ping, Chen, Y., Ouyang, L. qiang, Xu, Y. chao, & Shi, S. sheng. (2014). Curcumin Inhibits TLR2/4-NF-κB Signaling Pathway and Attenuates Brain Damage in Permanent Focal Cerebral Ischemia in Rats. *Inflammation*, 37(5), 1544–1551. <https://doi.org/10.1007/s10753-014-9881-6>
- Tyagi, P., Singh, M., Kumari, H., Kumari, A., & Mukhopadhyay, K. (2015). Bactericidal activity of curcumin I is associated with damaging of bacterial membrane. *PloS one*, 10(3), e0121313. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121313>
- Ugarte-Gil, C., Ruiz, P., Zamudio, C., Canaza, L., Otero, L., Kruger, H., & Seas, C. (2013). Association of major depressive episode with negative outcomes of tuberculosis treatment. *PloS one*, 8(7), e69514. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069514>
- Uhlenbusch, N., Löwe, B., Härter, M., Schramm, C., Weiler-Normann, C., & Depping, M. K. (2019). Depression and anxiety in patients with different rare chronic diseases: A cross-sectional study. *PloS one*, 14(2), e0211343. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211343>
- Upadhyay, R. K. (2014). Drug delivery systems, CNS protection, and the blood brain barrier. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/869269>

- Van Den Berg, J. W., Van Der Zee, M., De Bruin, R. W. F., Van Holten-Neelen, C., Bastiaans, J., Nagtzaam, N. M. A., Ijzermans, J. N. M., Benner, R., & Dik, W. A. (2011). Mild versus strong anti-inflammatory therapy during early sepsis in mice: A matter of life and death. *Critical Care Medicine*, 39(6), 1275–1281. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31820edf75>
- Van den Heuvel, L., Chishinga, N., Kinyanda, E., Weiss, H., Patel, V., Ayles, H., Harvey, J., Cloete, K. J., and Seedat, S. (2013) Frequency and correlates of anxiety and mood disorders among TB- and HIV-infected Zambians. *AIDS care*, 25, 1527–1535. <https://doi.org/10.1080/09540121.2013.793263>
- van Loo, G., Sze, M., Bougarne, N., Praet, J., Mc Guire, C., Ullrich, A., Haegeman, G., Prinz, M., Beyaert, R., & De Bosscher, K. (2010). Antiinflammatory properties of a plant-derived nonsteroidal, dissociated glucocorticoid receptor modulator in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, 24(2), 310–322. <https://doi.org/10.1210/me.2009-0236>
- Vega, P., Sweetland, A., Acha, J., Castillo, H., Guerra, D., Smith Fawzi, M. C., and Shin, S. (2004) Psychiatric issues in the management of patients with multidrug-resistant tuberculosis. *The international journal of tuberculosis and lung disease*, 8, 749–759. <https://www.ingentaconnect.com/content/iatld/ijtld/2004/00000008/00000006/art00011>
- Venigalla, M., Gyengesi, E., & Münch, G. (2015). Curcumin and apigenin – Novel and promising therapeutics against chronic neuroinflammation in Alzheimer’s disease. *Neural Regeneration Research*, 10(8), 1181–1185. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.162686>
- Walker, I. F., Kanal, S., Baral, S. C., Farragher, T. M., Joshi, D., Elsey, H., and Newell, J. N. (2019) Depression and anxiety in patients with multidrug-resistant tuberculosis in Nepal: an observational study. *Public health action*, 9, 42–48. <https://doi.org/10.5588/pha.18.0047>
- Walker, I. F., Khan, A. M., Khan, A. M., Khan, N. M., Ayub, R. M., Ghias, K. N., & Walley, J. D. (2018) Depression among multidrug-resistant tuberculosis patients in Punjab, Pakistan: a large cross-sectional study. *The international journal of tuberculosis and lung disease*, 22, 773–778. <https://doi.org/10.5588/ijtld.17.0788>
- Wang, X. B., Li, X. L., Zhang, Q., Zhang, J., Chen, H. Y., Xu, W. Y., Fu, Y. H., Wang, Q. Y., Kang, J., and Hou, G. (2018) A Survey of Anxiety and Depressive Symptoms in Pulmonary Tuberculosis Patients With and Without Tracheobronchial Tuberculosis. *Frontiers in psychiatry*, 9, 308. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00308>
- Wang, Y., Yin, H., Wang, L., Shuboy, A., Lou, J., Han, B., Zhang, X., & Li, J. (2013). Curcumin as a potential treatment for Alzheimer’s disease: A study of the effects of curcumin on hippocampal expression of glial fibrillary acidic protein. *American Journal of Chinese Medicine*, 41(1), 59–70. <https://doi.org/10.1142/S0192415X13500055>
- Wang, Z., Zhang, Q., Huang, H., & Liu, Z. (2021). The efficacy and acceptability of curcumin for the treatment of depression or depressive symptoms: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 282(November 2020), 242–251. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.12.158>
- Watt, C., Hosseini, M., Lönnroth, K., Williams, B., & Dye, C. (2009). The global epidemiology of tuberculosis. In *Tuberculosis* (pp. 17–27). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4160-3988-4.00003-2>
- Wells, K. B., Golding, J. M., and Burnam, M. A. (1988) Psychiatric disorder in a sample of the general population with and without chronic medical conditions. *The American journal of psychiatry*, 145, 976–981. <https://doi.org/10.1176/ajp.145.8.976>
- Winchell, C. G., Mishra, B. B., Phuah, J. Y., Saqib, M., Nelson, S. J., Maiello, P., Causgrove, C. M., Ameer, C. L., Stein, B., Borish, H. J., White, A. G., Klein, E. C., Zimmerman, M. D., Dartois, V., Lin, P. L., Sasseti, C. M., & Flynn, J. L. (2020). Evaluation of IL-1 Blockade as an Adjunct to Linezolid Therapy for Tuberculosis in Mice and Macaques. *Frontiers in immunology*, 11, 891. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00891>
- Wu, J., Li, Q., Wang, X., Yu, S., Li, L., Wu, X., Chen, Y., Zhao, J., & Zhao, Y. (2013). Neuroprotection by curcumin in ischemic brain injury involves the Akt/Nrf2 pathway. *PLoS one*, 8(3), e59843. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059843>

- Wüst, S., Tischner, D., John, M., Tuckermann, J. P., Menzfeld, C., Hanisch, U. K., van den Brandt, J., Lühder, F., & Reichardt, H. M. (2009). Therapeutic and adverse effects of a non-steroidal glucocorticoid receptor ligand in a mouse model of multiple sclerosis. *PLoS one*, 4(12), e8202. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008202>
- Wüst, S., Tischner, D., John, M., Tuckermann, J. P., Menzfeld, C., Hanisch, U. K., van den Brandt, J., Lühder, F., & Reichardt, H. M. (2009). Therapeutic and adverse effects of a non-steroidal glucocorticoid receptor ligand in a mouse model of multiple sclerosis. *PLoS one*, 4(12), e8202. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008202>
- Yang, J. Y., Han, M., Koh, Y., Kim, W. S., Song, J. W., Oh, Y. M., Lee, S. D., Lee, S. W., Lee, J. S., Lim, C. M., Choi, C. M., Huh, J. W., Hong, S. B., Shim, T. S., & Jo, K. W. (2016). Effects of Corticosteroids on Critically Ill Pulmonary Tuberculosis Patients With Acute Respiratory Failure: A Propensity Analysis of Mortality. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 63(11), 1449–1455. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw616>
- Yang, Q. Q., & Zhou, J. W. (2019). Neuroinflammation in the central nervous system: Symphony of glial cells. *Glia*, 67(6), 1017–1035. <https://doi.org/10.1002/glia.23571>
- Yen, Y. F., Chung, M. S., Hu, H. Y., Lai, Y. J., Huang, L. Y., Lin, Y. S., Chou, P., and Deng, C. Y. (2015) Association of pulmonary tuberculosis and ethambutol with incident depressive disorder: a nationwide, population-based cohort study. *The Journal of clinical psychiatry*, 76, e505–e511. <https://doi.org/10.4088/JCP.14m09403>
- Yilmaz, A., & Dedeli, O. (2016) Assessment of anxiety, depression, loneliness and stigmatisation in patients with tuberculosis. *Acta Paulista de Enfermagem*, 29:549–557. <https://doi.org/10.1590/1982-0194201600076>.
- Yirmiya, R., & Goshen, I. (2011). Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(2), 181–213. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.10.015>
- Yun, D. G., & Lee, D. G. (2016). Antibacterial activity of curcumin via apoptosis-like response in *Escherichia coli*. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(12), 5505–5514. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7415-x>
- Zhang, H. J., Xing, Y. Q., Jin, W., Li, D., Wu, K., & Lu, Y. (2015). Effects of curcumin on interleukin-23 and interleukin-17 expression in rat retina after retinal ischemia-reperfusion injury. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(8), 9223–9231.
- Zhang, L., Fang, Y., Xu, Y., Lian, Y., Xie, N., Wu, T., Zhang, H., Sun, L., Zhang, R., & Wang, Z. (2015). Curcumin Improves Amyloid β -Peptide (1-42) Induced Spatial Memory Deficits through BDNF-ERK Signaling Pathway. *PLoS one*, 10(6), e0131525. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131525>
- Zhang, M., Zhang, X., Tian, T., Zhang, Q., Wen, Y., Zhu, J., Xiao, D., Cui, W., & Lin, Y. (2021). Anti-inflammatory activity of curcumin-loaded tetrahedral framework nucleic acids on acute gouty arthritis. *Bioactive materials*, 8, 368–380. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.06.003>
- Zhang, Z., Zhang, Z. Y., & Schluesener, H. J. (2009). Compound A, a plant origin ligand of glucocorticoid receptors, increases regulatory T cells and M2 macrophages to attenuate experimental autoimmune neuritis with reduced side effects. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 183(5), 3081–3091. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901088>
- Zhang, Z., Zhang, Z., Artelt, M., Burnet, M., & Schluesener, H. J. (2007). Dexamethasone attenuates early expression of three molecules associated with microglia/macrophages activation following rat traumatic brain injury. *Acta Neuropathologica*, 113(6), 675–682. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0195-8>
- Zorofchian Moghadamtousi, S., Abdul Kadir, H., Hassandarvish, P., Tajik, H., Abubakar, S., & Zandi, K. (2014). A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/186864>



Psychiatric Problems in Pulmonary Tuberculosis: Depression and Anxiety

Jacqueline V. Lara-Espinosa*, Rogelio Hernández-Pando

Departamento de Patología, Laboratorio de Patología Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, Avenida Vasco de Quiroga 15, Colonia Belisario Domínguez Sección XVI, Delegación Tlalpan, Ciudad de México, México

Email: *jvle_29031991@comunidad.unam.mx, rhdezpando@hotmail.com

How to cite this paper: Lara-Espinosa, J.V. and Hernández-Pando, R. (2021) Psychiatric Problems in Pulmonary Tuberculosis: Depression and Anxiety. *Journal of Tuberculosis Research*, 9, 31-50.
<https://doi.org/10.4236/jtr.2021.91003>

Received: December 19, 2020

Accepted: March 28, 2021

Published: March 31, 2021

Copyright © 2021 by author(s) and Scientific Research Publishing Inc. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Depression, anxiety and tuberculosis are common conditions with significant public health implications. The connection among these conditions is syndemic: the incidence of one increases the chance of developing the other, with clusters of biological, social and psychological interaction. Therefore, it has become crucial to understand better the mechanisms liable for the physiological process related to these three conditions. The present review focuses specifically on shared social events (perception of illness severity, social stigma, poverty and social isolation) and biological pathways (central response of the immune system within the CNS, the activation of the HPA axis and the SNS) that may mechanistically elucidate the depression-anxiety-tuberculosis association and discuss interventions prospects and significant issues to be arranged by future clinical and research implications.

Keywords






Tuberculosis, Anxiety, Depression

1. Introduction

Tuberculosis (TB), the oldest human pandemic, remains the leading cause of death among infectious diseases, regardless of the worldwide use of a live attenuated vaccine and several other efficient antibiotics [1]. The disease is caused by infection via the lung with *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), identified as a pathogen by Robert Koch in 1882. TB is predominantly a lung disease, with pulmonary TB responsible for 70% of cases, although Mtb can spread to other organs, including lymph nodes, bone, and meninges, causing extrapulmonary disease [2].

Article

Experimental Pulmonary Tuberculosis in the Absence of Detectable Brain Infection Induces Neuroinflammation and Behavioural Abnormalities in Male BALB/c Mice

Jacqueline V. Lara-Espinosa ¹, Ricardo A. Santana-Martínez ², Perla D. Maldonado ³, Mario Zetter ¹, Enrique Becerril-Villanueva ⁴, Gilberto Pérez-Sánchez ⁴, Lenin Pavón ⁴, Dulce Mata-Espinosa ¹, Jorge Barrios-Payán ¹, Manuel O. López-Torres ¹, Brenda Marquina-Castillo ^{1,*} and Rogelio Hernández-Pando ^{1,*}

- ¹ Sección de Patología Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, CDMX 14080, Mexico; jvle_29031991@comunidad.unam.mx (J.V.L.-E.); zetter.salmon@gmail.com (M.Z.); dulmat@yahoo.com.mx (D.M.-E.); qcjbp77@yahoo.com.mx (J.B.-P.); lopeztorresmanuel88@gmail.com (M.O.L.-T.)
 - ² Laboratorio de Neuropatología Molecular, Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, CDMX 04510, Mexico; rsantana@ifc.unam.mx
 - ³ Laboratorio de Patología Vascular Cerebral, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, CDMX 14269, Mexico; maldonado.perla@gmail.com
 - ⁴ Departamento de Psicoimmunología, Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente, CDMX 14370, Mexico; lusenbeve@yahoo.com (E.B.-V.); gipersanchez@hotmail.com (G.P.-S.); lkuriaki@imp.edu.mx (L.P.)
- * Correspondence: brenda.marquinac@incmnsz.mx (B.M.-C.); rhdezpando@hotmail.com (R.H.-P.)

Received: 16 October 2020; Accepted: 11 December 2020; Published: 13 December 2020



Abstract: Tuberculosis (TB) is a chronic infectious disease in which prolonged, non-resolutive inflammation of the lung may lead to metabolic and neuroendocrine dysfunction. Previous studies have reported that individuals coursing pulmonary TB experience cognitive or behavioural changes; however, the pathogenic substrate of such manifestations have remained unknown. Here, using a mouse model of progressive pulmonary TB, we report that, even in the absence of brain infection, TB is associated with marked increased synthesis of both inflammatory and anti-inflammatory cytokines in discrete brain areas such as the hypothalamus, the hippocampal formation and cerebellum accompanied by substantial changes in the synthesis of neurotransmitters. Moreover, histopathological findings of neurodegeneration and neuronal death were found as infection progressed with activation of p38, JNK and reduction in the BDNF levels. Finally, we perform behavioural analysis in infected mice throughout the infection, and our data show that the cytokine and neurochemical changes were associated with a marked onset of cognitive impairment as well as depressive- and anxiety-like behaviour. Altogether, our results suggest that besides pulmonary damage, TB is accompanied by an extensive neuroinflammatory and neurodegenerative state which explains some of the behavioural abnormalities found in TB patients.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*; neuroinflammation; behaviour abnormalities

1. Introduction

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tb*) [1] and is considered a global priority due to the high number of new diagnoses and its 1.2 million deaths annually [2]. TB is associated with an increased risk of medical comorbidities contributing to a



Article

The Therapeutic Effect of Intranasal Administration of Dexamethasone in Neuroinflammation Induced by Experimental Pulmonary Tuberculosis

Jacqueline V. Lara-Espinosa , María Fernanda Arce-Aceves, Dulce Mata-Espinosa, Jorge Barrios-Payán, Brenda Marquina-Castillo * and Rogelio Hernández-Pando *

Sección de Patología Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Mexico City 14080, Mexico; jvle_29031991@comunidad.unam.mx (J.V.L.-E.); mariferarce@ciencias.unam.mx (M.F.A.-A.); dulmat@yahoo.com.mx (D.M.-E.); qcjbp77@yahoo.com.mx (J.B.-P.)

* Correspondence: brenda.marquinac@incmnsz.mx (B.M.-C.); rhdezpando@hotmail.com (R.H.-P.)



Citation: Lara-Espinosa, J.V.; Arce-Aceves, M.F.; Mata-Espinosa, D.; Barrios-Payán, J.; Marquina-Castillo, B.; Hernández-Pando, R. The Therapeutic Effect of Intranasal Administration of Dexamethasone in Neuroinflammation Induced by Experimental Pulmonary Tuberculosis. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 5997. <https://doi.org/10.3390/ijms22115997>

Academic Editor: Marta Llansola

Received: 8 May 2021

Accepted: 28 May 2021

Published: 1 June 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Tuberculosis (TB) is an important infectious disease and a public health problem. The organs most frequently affected by TB are the lungs; despite this, it has been reported that TB patients suffer from depression and anxiety, which have been attributed to social factors. In previous experimental work, we observed that the extensive pulmonary inflammation characteristic of TB with high cytokine production induces neuroinflammation, neuronal death and behavioral abnormalities in the absence of brain infection. The objective of the present work was to reduce this neuroinflammation and avoid the psycho-affective disorders showed during pulmonary TB. Glucocorticoids (GCs) are the first-line treatment for neuroinflammation; however, their systemic administration generates various side effects, mostly aggravating pulmonary TB due to immunosuppression of cellular immunity. Intranasal administration is a route that allows drugs to be released directly in the brain through the olfactory nerve, reducing their doses and side effects. In the present work, dexamethasone's (DEX) intranasal administration was evaluated in TB BALB /c mice comparing three different doses (0.05, 0.25 and 2.5 mg/kg BW) on lung disease evolution, neuroinflammation and behavioral alterations. Low doses of dexamethasone significantly decreased neuroinflammation, improving behavioral status without aggravating lung disease.

Keywords: tuberculosis; glucocorticoids; intranasal; dexamethasone; neuroinflammation

1. Introduction

Inflammation is a response of vascular living tissues to injury [1]. The inflammatory response is the coordinated activation of signaling pathways in resident tissue cells and inflammatory cells recruited from the blood that control inflammatory mediators' levels. [2]. There are two types of inflammatory responses, acute and chronic. Acute inflammation refers to the instantaneous or early response to an injurious agent and is a defensive response that paves the way for repairing the damaged site and consists on the leukocytic infiltration of predominantly polymorphonuclear cells (neutrophils) [1]. Chronic inflammation results from a persistent injurious agent and is characterized by a leukocyte infiltrate constituted by mononuclear cells (macrophages, lymphocytes, plasma cells) [1] that can lead to tissue damage [3].

For a long time, the central nervous system (CNS) was considered as an immune-privileged tissue, isolated from peripheral immune cells unable to cross the blood-brain barrier (BBB) under normal conditions [4]. However, recent data indicate that the CNS is immune-competent and actively cooperative with the peripheral immune system [4].

Immune activation in the CNS always involves microglia and astrocytes, which contribute to the homeostatic regulation of the brain tissue [5]. Microglia and astrocytes



Article

Effect of Curcumin in Experimental Pulmonary Tuberculosis: Antimycobacterial Activity in the Lungs and Anti-Inflammatory Effect in the Brain

Jacqueline V. Lara-Espinosa ^{1,*}, María Fernanda Arce-Aceves ¹, Manuel O. López-Torres ¹, Vasti Lozano-Ordaz ¹, Dulce Mata-Espinosa ¹, Jorge Barrios-Payán ¹, Carlos Alfredo Silva-Islas ², Perla D. Maldonado ², Brenda Marquina-Castillo ¹ and Rogelio Hernández-Pando ^{1,*}

- ¹ Sección de Patología Experimental, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Mexico City 14080, Mexico; mariferarce@ciencias.unam.mx (M.F.A.-A.); lopeztorresmanuel88@gmail.com (M.O.L.-T.); loov1288@hotmail.com (V.L.-O.); dulmat@yahoo.com.mx (D.M.-E.); qcjbp77@yahoo.com.mx (J.B.-P.); brenda.marquina@incmnsz.mx (B.M.-C.)
- ² Laboratorio de Patología Vascular Cerebral, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía Manuel Velasco Suárez, Mexico City 14269, Mexico; charlssilv@gmail.com (C.A.S.-I.); maldonado.perla@quimica.unam.mx (P.D.M.)
- * Correspondence: jvle_29031991@comunidad.unam.mx (J.V.L.-E.); rhdezpando@hotmail.com (R.H.-P.)



Citation: Lara-Espinosa, J.V.;

Arce-Aceves, M.F.; López-Torres, M.O.; Lozano-Ordaz, V.; Mata-Espinosa, D.; Barrios-Payán, J.; Silva-Islas, C.A.; Maldonado, P.D.; Marquina-Castillo, B.; Hernández-Pando, R. Effect of Curcumin in Experimental Pulmonary Tuberculosis: Antimycobacterial Activity in the Lungs and Anti-Inflammatory Effect in the Brain. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 1964. <https://doi.org/10.3390/ijms23041964>

Academic Editors: Maria Rosalia Pasca, Vadim Makarov, Giulia Degiacomi and Laurent Chiarelli

Received: 22 September 2021

Accepted: 1 February 2022

Published: 10 February 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Tuberculosis (TB) is one of the ten leading causes of death worldwide. Patients with TB have been observed to suffer from depression and anxiety linked to social variables. Previous experiments found that the substantial pulmonary inflammation associated with TB causes neuroinflammation, neuronal death, and behavioral impairments in the absence of brain infection. Curcumin (CUR) is a natural product with antioxidant, anti-inflammatory and antibacterial activities. In this work, we evaluated the CUR effect on the growth control of mycobacteria in the lungs and the anti-inflammatory effect in the brain using a model of progressive pulmonary TB in BALB/c mice infected with drug-sensitive mycobacteria (strain H37Rv). The results have shown that CUR decreased lung bacilli load and pneumonia of infected animals. Finally, CUR significantly decreased neuroinflammation (expression of TNF α , IFN γ and IL12) and slightly increased the levels of nuclear factor erythroid 2-related to factor 2 (Nrf2) and the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels, improving behavioral status. These results suggest that CUR has a bactericidal effect and can control pulmonary mycobacterial infection and reduce neuroinflammation. It seems that CUR has a promising potential as adjuvant therapy in TB treatment.

Keywords: tuberculosis; curcumin; neuroinflammation; antibacterial

1. Introduction

Tuberculosis (TB), the oldest human pandemic, generally caused by infection via the lung with *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), remains the foremost cause of death among bacterial infectious diseases [1,2]. Bacillus Calmette–Guérin (BCG), a live attenuated strain of *Mycobacterium bovis* [3], the primary cause of bovine TB [4], is the only approved vaccine against TB and is the most widely used vaccine in history [4,5]. Unfortunately, though billions of individuals were vaccinated in the past century, TB remains a severe threat to global health [5]. In 2019, 10 million persons developed TB, and approximately 1.4 million people died of this infection (208,000 were HIV-infected). Due to the COVID-19 pandemic, the number of deaths attributable to TB is expected to increase to similar levels presented in 2012, increasing to between 200,000 and 400,000 deaths (1.6–1.8 million deaths) [6]. The COVID-19 pandemic and related lockdown restrictions significantly impacted providing and monitoring TB surveillance strategies globally [7].

The typical treatment for pulmonary TB comprises two months of fourfold therapy with isoniazid (INH), rifampicin (RMP), ethambutol (EMB), and pyrazinamide (PZA)