

Artículos originales

Efecto del estrés ocasionado por las pruebas académicas sobre los niveles de cortisol y prolactina en un grupo de estudiantes de Medicina

Effect of Stress Caused by Academic Tests on Cortisol and Prolactine Levels in a Group of Medical Students

Heber Siachoque, Milcíades Ibáñez, Ernesto Barbosa, Alba Lucía Salamanca, Carlos Moreno*

Resumen

Introducción: La relación entre el sistema inmune y el estrés ha sido motivo de debate en los últimos años. Los cambios neurohormonales generan variaciones en la respuesta inmunológica, con cambios importantes en los niveles de citoquinas lo que causa a su vez, en algunos casos, depresión de la respuesta citotóxica debida a la disminución de la población de células asesinas naturales (NK) (1).

El estrés académico constituye un buen modelo para estudiar los cambios asociados en la secreción de algunas hormonas del eje Hipotalámico-Pituitario-Adrenocortical -HPA- (2, 3).

Materiales y métodos: En el presente estudio se evaluó el comportamiento de las hormonas cortisol y prolactina, así como su incidencia en la respuesta adaptativa a Herpes Simple tipo I, en una población de estudio constituida por 26 estudiantes de la Facultad de Medicina, con edades comprendidas entre 14 y 27 años, con mayor frecuencia de género masculino (80.8%).

Se realizó un estudio de intervención longitudinal en tres momentos, donde se midieron los niveles de cortisol, prolactina y anticuerpos contra Herpes Simple tipo I. Así mismo, se realizó una medición 15 días antes de la exposición al estresor, durante la aplicación del estresor (semana de exámenes trimestrales), y quince días después de la exposición al estresor.

Todas las muestras fueron tomadas entre las 8:00 a.m. y las 10:00 a.m.

Resultados y discusión: Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.001$) en los valores promedio de prolactina, pues hubo una tendencia secular al aumento en los tres momentos evaluados. Para el cortisol, los cambios estuvieron cerca de mostrar diferencias significativas ($p = 0.098$), con un aumento en el momento del estresor y una disminución después del estresor.

También hubo diferencias significativas ($p = 0.043$) en los niveles de anticuerpos para Herpes Simple tipo I.

Recibido: noviembre 1 de 2005

Aceptado: diciembre 15 de 2005

* Heber Siachoque: MsC, Coordinador de la unidad de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá DC, Colombia. E-mail: hever.siachoque@urosario.edu.co

Milcíades Ibáñez: MsC Docente Bioestadística, Epidemiología Facultad de Medicina, Universidad del Rosario.

Ernesto Barbosa: MsC Profesor titular, Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá DC, Colombia.

Alba Lucía Salamanca: Bacterióloga. Bioquímica, Instructora asociada Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá DC, Colombia. E-mail: asalaman@urosario.edu.co.

Carlos Moreno: MsC MD. Coordinador Unidad de Inmunología Fisiología, Universidad del Rosario, Bogotá DC, Colombia. E-mail: camobe@estudio.caos

pes Simple tipo I, con una tendencia secular al aumento en los tres momentos evaluados.

La respuesta adaptativa a Herpes Simple tipo I aumentó notoriamente como resultado de los cambios en la concentración de prolactina, la que, a su vez, aumentó de manera significativa después de la exposición al estresor. Aunque los niveles de cortisol no aumentan significativamente durante la semana del estresor, podrían ser suficientes para mantener niveles basales de prolactina, sin que haya un aumento de la respuesta adaptativa. Se podría inferir que el cortisol regula la síntesis de prolactina, pues en los resultados se observa que, a medida que disminuye la concentración de cortisol, los niveles de prolactina aumentan significativamente.

Palabras clave: Glucocorticoides, virus Herpes Simple tipo I, citoquinas, interferon gamma, inmunomodulación.

Abstract

Introduction: The relationship between immunological system and stress has been debated in the last years. Neurohormonal changes produce immunologic response variations with major changes in the cytokines levels, causing depression of the cytolytic responses due to a decrease in the NK (Natural Killer) cells population (1).

Academic stress is a useful stress model to study hormonal changes in the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical (HPA) axis (2, 3).

Materials and Methods: The present study evaluates the behavior of cortisol and prolactine hormones and their effect on the adaptative responses of Herpes Simplex Virus type I in a population of 26 medical students with ages

between 14 and 27 years. Male students represented 80.8% of the evaluated population. This is a three stage longitudinal intervention study where antibodies, cortisol and prolactin levels were measured against Herpes Simplex Virus type I. The first measure was done 15 days previous to the stressful event, the second during the stressful event (mid-academic period exams) and the last one, 15 days posterior to the stressful event. All samples were taken from 8:00 am to 10:00 am.

Results and Discussion: Prolactine average values were found to be significantly different ($p < 0.001$) when comparing the three stages. Cortisol values changes were near showing significant differences ($p = 0.098$), with an increase during the stressful event and a decrease after the exposure. Antibodies levels of Herpes Simplex Virus type I showed a significant difference ($p = 0.043$) increasing tendency in the three stages.

Adaptative responses to Herpes Simplex Virus type I augmented as a result of prolactine concentration increase due to a stressor event exposure. This explains an increment in the cytotoxic cell activity (NK cells) which increment cytokine concentration, such as $INF-\alpha$, which amplify humoral IgG antibody mediated response, according with obtained results. Even though cortisol levels do not significantly increased during the stressful event exposure, they could be enough to maintain basal prolactine levels without an adaptative response. It can be inferred that cortisol regulates the prolactine synthesis. Results show that when cortisol concentration decreases, prolactine levels significantly increase.

Key Words: Glucocorticoids, Herpes Simplex virus type 1, cytokines, Interferon gamma, immunomodulation.

INTRODUCCIÓN

La integración entre el sistema inmune y el sistema neuroendocrino fue demostrada desde años atrás (4, 5, 6). Bajo condiciones fisiológicas normales se ha determinado una importante participación de las células del sistema inmune en la producción de prolactina, al igual que de cortisol y de hormona de crecimiento. Además se conoce que hay una importante expresión de receptores hormonales por parte de células inmunocompetentes, localizadas en órganos linfoides primarios y secundarios (7). La expresión de citoquinas y receptores por parte de las células del tejido nervioso ha sido claramente demostrada. Un ejemplo de ello es la síntesis de IL-1 y del receptor IL-1R en glándulas endocrinas y neuronas. Otros estudios muestran la importancia de las hormonas esteroideas en la citotoxicidad mediada por células NK y en la inmunorregulación de citoquinas por parte de las células linfoides (7, 8, 9).

Las investigaciones realizadas con el fin de determinar la relación entre el estrés y el sistema inmunitario han versado sobre diversos factores. El término "estrés" fue introducido por el fisiólogo Walter Cannon para referirse a la reacción fisiológica provocada por la percepción de una situación adversa o amenazante. Tal como lo señaló Humber (10), todas las ramas de la ciencia están de acuerdo en señalar que el término "estrés" fue tomado inicialmente de la física como un concepto técnico o abstracto que se refería a la acción de las fuerzas físicas sobre las estructuras mecánicas. El concepto actual indica que el estrés es producto de una activación fisiológica superior a la que el sujeto es capaz de afrontar (11).

Se han estudiado así mismo, las relaciones entre los estados psicológicos negativos (como la ansiedad y la depresión) y diversas variables

del sistema inmunitario. Estos estudios sugieren que los estados de depresión y de ansiedad están asociados con una disminución de la proliferación de linfocitos y de la actividad de las células asesinas naturales (NK), así como con variaciones en el número de glóbulos blancos y en la cantidad de anticuerpos circulantes en la sangre. Parece también que la capacidad de producir anticuerpos contra una sustancia determinada está relacionada con el grado de ansiedad que el individuo sufre: a mayor ansiedad, menos anticuerpos se forman tras la exposición a una sustancia potencialmente nociva (12).

Las investigaciones efectuadas sobre diferentes factores generadores de estrés como la pérdida de un familiar cercano, el divorcio, el exceso de trabajo, o la presentación de exámenes, evidencian cambios funcionales en la síntesis de anticuerpos y en la secreción de citoquinas mediadoras de la respuesta celular (12).

Los efectos del estado mental sobre la inmunidad tienen relevancia en la disminución de la respuesta, la que aumenta cuando hay estrés crónico. Eventos tales como exámenes médicos periódicos fueron estudiados por Glaser *et al* en 1994 (13). En este trabajo se hallaron niveles bajos de interferón gama (IFN α), asociados con una disminución en el número de células NK. Los estudios de Glaser también reportaron cambios en la síntesis de IL-2 (una importante citoquina involucrada en la comunicación intracelular y en la proliferación linfocitaria), así como una baja expresión de IL-2R sobre células T en individuos sometidos a condiciones de estrés. El mismo grupo de investigadores encontró cambios clínicos significativos en estudiantes de medicina, como una respuesta disminuida a la vacuna de la hepatitis B (14). La ansiedad y la depresión pueden estar asociadas con otros factores tales como trastornos en el

sueño, lo que puede afectar la inmunidad, evento podría estar modulado, en parte, por IL-1 (15). Parece existir cierta relación entre la duración del estrés y la importancia de los cambios inmunitarios, de modo que cuanto más prolongado es el estrés, mayor es la disminución de ciertos tipos de leucocitos. Asimismo, parece que el estrés interpersonal (como el debido a la pérdida de un ser querido o al divorcio) tiene diferentes efectos inmunitarios en comparación con el ocasionado por los exámenes.

Los mecanismos fisiológicos y de comportamiento ofrecen posibles explicaciones. En el caso de los primeros, el estrés está asociado con la actividad de varios sistemas, entre ellos el eje hipotalámico-hipofisario-suprarrenal y al sistema nervioso simpático. La activación de estas dos vías se traduce en un aumento en la concentración sanguínea de ciertas hormonas, como el cortisol, la prolactina y las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina). La concentración de estas hormonas en la sangre depende del funcionamiento del sistema inmunitario.

La prolactina hace parte de una familia de hormonas lactotropas producidas por la glándula pituitaria. Las variantes, caracterizadas en varios grupos de mamíferos incluido el hombre, pueden ser el resultado de "splicing" o empalmes alternativos de transcritos primarios. Por ello se piensa que la prolactina y la hormona de crecimiento tienen un gen ancestral común: la divergencia génica en el genoma humano entre estas dos hormonas pudo haber ocurrido hace unos 400 millones (16). La secuencia de DNA contiene 914 pares de bases y la proteína madura está formada por 199 aminoácidos. Las propiedades inmunológicas de la PRL son evidentes debido a que las células inmunocompetentes del timo y el bazo liberan concentraciones importantes de prolactina, mien-

tras que los linfocitos T liberan una prolactina similar a la liberada por la glándula pituitaria (17). Numerosas clases de linfocitos poseen receptores específicos para PRL en la membrana celular. La ocupación de estos receptores estimula la síntesis y secreción de nuevos receptores en los glóbulos blancos, y de este modo los afectan. Entre los leucocitos que expresan receptores para prolactina se encuentran los linfocitos T, los linfocitos B y los monocitos.

Los linfocitos sintetizan y liberan una forma de prolactina biológicamente activa que es empleada como un factor autocrino y paracrino (18). Los mecanismos que controlan la producción de prolactina por parte de los linfocitos no han sido esclarecidos y se desconoce si la síntesis de prolactina pituitaria circulante tiene un efecto modulador en la síntesis de prolactina linfocitaria.

La prolactina puede ejercer un efecto inmunorregulador importante pues actúa en la ontogenia de las células T. Las células del epitelio tímico presentan una alta expresión de receptores para prolactina. Goya *et al* reportaron que la prolactina estimulaba la síntesis de timulina y del factor de diferenciación de células T por parte de las células del epitelio tímico, en modelos animales (19).

El papel inmunomodulador de la PRL fue estudiado inicialmente en el modelo murino en aves y ratones, mediante la manipulación *in vivo* de las concentraciones plasmáticas de esta hormona. Estudios subsecuentes demostraron que, además del antígeno o mitógeno, es necesaria la presencia de PRL para que la expansión clonal de células T o B pueda producirse (acción comitogénica). Esta actividad se extiende también a las células NK y a los macrófagos, las que expresan receptores en la membrana celular (20, 21). Las células NK activadas por prolactina han

sido denominadas células PAK para diferenciarlas de la población de citotóxicas activadas por IL-2, a una concentración de 20 ng/ml (LAK). Cuando las concentraciones de IL-2 son muy bajas, la prolactina puede estimular la citotoxicidad de las células NK (22).

Investigaciones recientes han reportado que concentraciones muy altas de prolactina (mayores a 250 ng/ml) ejercen una actividad inhibitoria sobre las células NK (23). Esta actividad bimodal dosis-dependiente ha generado controversia, aunque es evidente que es mayor en poblaciones de fagocitos mononucleares, comparada con poblaciones de linfocitos Th (fenotipo CD4+, TCR, CD3). Esto sugiere la posibilidad de que haya una población de células con acción supresora dependiente de PRL (24).

La acción de las hormonas en la respuesta inmune ha dilucidado en parte los mecanismos implicados en el desarrollo y en la activación celular. Dentro del repertorio de células linfoides, los linfocitos T (LT) constituyen el grupo más importante de células efectoras. De ellas, la subpoblación Th0 es la precursora de las subpoblaciones Th1 y Th2, involucradas en la respuesta celular y respuesta humoral respectivamente. Los linfocitos Th1 producen un patrón de citoquinas que los diferencian de otras subpoblaciones, mientras que los Th1 sintetizan IL-2, interferón gamma (INF δ) y factor de necrosis tumoral beta (TNF β), que los hace importantes inductores de la respuesta celular. Los linfocitos Th2 sintetizan IL-4, IL-5, IL6 e IL-10 que potencian la respuesta humoral, mientras suprimen la respuesta celular. Entre tanto, los LTh3 sintetizan principalmente factor transformante de crecimiento beta (TGF β), generador de un estado citostático con acción sobre macrófagos y células linfoides (25).

Las acciones de la PRL resultan compatibles con un fenotipo Th1: al igual que el IFN- δ y la IL-2, la

PRL regula la transcripción del gen IRF-1 (factor regulador de interferón) (26), que juega un rol crucial en la inducción de la citotoxicidad antiviral NK-dependiente *in vivo*, al igual que interviene en la diferenciación y maduración de LT y LB (27). La acción amplificadora de la prolactina en la síntesis de IL-2 y de INF γ sugiere que la PRL podría estar involucrada en la diferenciación de un fenotipo Th0 hacia un perfil Th1 (28). Esta hipótesis concuerda con la observación de que los glucocorticoides inhiben la secreción de PRL e inducen la maduración de clones Th2 (29), y con el rol asignado a la PRL en la patogénesis de las enfermedades autoinmunes, clásicamente caracterizadas por un desplazamiento hacia un patrón Th1 (30).

Algunos autores han reportado que los niveles aumentados de prolactina podrían estar asociados con un incremento en la sintomatología enfermedades auto inmunes (30, 31, 32).

En el presente estudio, el incremento en la síntesis de anticuerpos contra Herpes Simple tipo I podría estar asociado con el aumento en la concentración de prolactina después de la aplicación del estresor.

Aunque desde hace mucho tiempo se acepta que el estrés académico aumenta los niveles de cortisol en la sangre, estudios recientes demuestran que dicho aumento puede ser transitorio. Con el objeto de aclarar estas discrepancias, se evaluó el comportamiento del cortisol en estudiantes sometidos durante una semana a un estresor académico. La selección de la muestra se efectuó mediante la aplicación de pruebas como el test de Hamilton que permitieron medir el nivel de ansiedad. Se tuvo en cuenta además la acción inductora que ejerce el cortisol sobre la respuesta inmune mediada por linfocitos T, en razón de que puede unirse a receptores específicos de la membrana plasmática de la célula, de modo que inhibe su activación.

Por otra parte, la respuesta a infecciones de tipo viral fue evaluada en herpes simple, tomando como modelo el trabajo de Glaser *et al* (13), quienes analizaron la reactivación del virus Epstein Barr en respuesta al estrés académico. La reactivación a la infección por este virus es muy común en individuos inmunocomprometidos o con deficiencia en la respuesta inmune, expuestos a un estresor, donde los niveles de algunas hormonas plasmáticas juegan un importante papel.

Por estos motivos, es importante estudiar los cambios en las concentraciones de prolactina y cortisol relacionados con la reactivación de la latencia al virus Herpes Simple tipo I.

El objetivo de este trabajo es por tanto demostrar que los cambios hormonales generados por la exposición a un estresor académico pueden llevar a alteraciones en la respuesta inmune, con exacerbación de las infecciones de tipo viral.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y población de estudio

La población objeto de estudio estuvo constituida por los estudiantes de medicina de los tres primeros semestres de formación básica, que no hubieran tenido rotaciones hospitalarias. De un total de 135 estudiantes de la Universidad del Rosario de los tres primeros semestres del año 2002, se seleccionó al azar un grupo de 40 que, además, debían presentar un cuadro hemático normal. Finalmente sólo a 26 estudiantes se les midieron los niveles de cortisol sérico, prolactina y títulos de anticuerpos para Herpes Simple tipo I, durante tres momentos. El primer momento, quince días antes de los exámenes trimestrales; el segundo, durante la semana de exámenes trimestrales (estresor); y el tercero, quince días después de los trimestrales.

Exposición y desenlaces

En la línea base del estudio, fueron seleccionados los estudiantes que tuvieran un cuadro hemático normal, que incluyó parámetros tales como diferencial de células, recuento leucocitario, velocidad de sedimentación globular y hemoglobina. A este grupo se le aplicó el test de Hamilton para niveles de ansiedad. Los estudiantes seleccionados fueron entonces expuestos, durante una semana académica completa, a un total de 4-5 exámenes trimestrales, para evaluar la relación entre la aplicación del estresor y los cambios en los niveles de cortisol sérico, prolactina y anticuerpos para Herpes Simple tipo I.

A cada sujeto se le tomó una muestra de sangre venosa periférica (10 mls.) en los tres momentos. En las muestras séricas, previamente alicuotadas, se efectuó la cuantificación de prolactina, cortisol y niveles de anticuerpos IgG para Herpes Simple tipo I.

Determinación de Prolactina por Elisa

Para la medición de prolactina se utilizó el Kit de Monobind, Inc. (Costa Mesa, CA 92627). Tanto cada suero control, como las muestras, fueron analizadas por duplicado. De cada una de las muestras se tomaron 50 µls y se adicionaron a cada pozo 100 µls de anticuerpo marcado con enzima biotinilada. Después de agitar durante 20 - 30 segundos, se incubó por 60 minutos a temperatura ambiente.

A continuación el contenido fue liberado por decantación con adición de 300 µls de solución lavadora (tres veces). A cada uno de los pozos se agregaron 100 µls de sustrato (Sustrato A tetrametilbenzidina, sustrato B peróxido de hidrógeno) para luego incubar por 15 minutos. Finalmente se adicionaron 50 µls de solución de frenado (1N HCL).

La absorbancia fue determinada con un lector de microelisa a 450 nm.

Determinación de cortisol por RIA en fase sólida

La determinación del cortisol se efectuó mediante el método de radioinmunoanálisis (RIA) en fase sólida (sistema de componentes de fase sólida para cortisol) (ICN, Costa Mesa, CA 92626). Además del ensayo por duplicado, los sueros control fueron analizados, al igual que los estándares y las muestras. Se añadieron 25 μ ls de estándares, control y muestras de pacientes (suero) a tubos recubiertos con anticuerpo anti-cortisol. A continuación se adicionaron 500 μ ls de solución trazadora (cortisol marcado con I-125), se agitaron los tubos brevemente y se incubaron en baño maría a una temperatura de $37 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 45 minutos.

Previa decantación del contenido de los tubos, éstos se dejaron sobre papel absorbente por 3 minutos. La radioactividad se midió de forma secuencial durante un minuto para cada tubo con un contador gamma. Las lecturas se hicieron en el laboratorio de endocrinología del Hospital San José, Bogotá DC.

Anticuerpos IgG para Herpes Simple Tipo I

Para cuantificar los anticuerpos anti-Herpes simple tipo I se utilizó el kit de Herpes Simple Virus tipo1 (Laboratorios Clark Inc.).

La concentración de anticuerpos se obtuvo en un ensayo por duplicado, tanto del calibrador como de los controles y de las muestras. En cada uno de los pozos se depositaron 100 μ ls de dilución 1:21 (10 μ ls de las muestras y de controles + 200 μ ls del buffer de dilución). Las muestras (calibrador, controles y sueros de pacientes) fueron sometidas a incubación a temperatura ambiente y a lavados posteriores con solución buffer. Previa desecación de las placas y adición del conjugado (anti IgG marcada con peroxidasa), se incubó nuevamente por 20 minutos a

temperatura ambiente y se lavó con solución lavadora.

Finalmente, se depositaron 100 μ ls de sustrato por pozo y se efectuó frenado con 100 μ ls de solución de frenado (H_2SO_4 1N). Para medir la absorbancia se utilizó un lector de microelisa con un filtro de 450 nm.

Análisis estadístico

Se sistematizaron los datos del estudio en el paquete estadístico SPSS versión 11.5. Para determinar las diferencias entre los promedios en los tres momentos de evaluación de prolactina, cortisol y Herpes Simple tipo I, se utilizó un análisis de varianza para medidas repetidas. Posteriormente, para evaluar las diferencias por pares entre los tres momentos se utilizó la prueba de comparaciones ajustadas de Bonferroni, y se construyeron los respectivos intervalos de confianza del 95%. Se ajustaron los cambios de prolactina, cortisol y Herpes Simple tipo I durante los tres momentos evaluados. por niveles de ansiedad medidos en la línea base, mediante un análisis de varianza para medidas repetidas con ajuste por covariables. Previamente había sido evaluada la normalidad de la prolactina, cortisol y Herpes Simple tipo I, mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro Wilks. Los datos faltantes fueron estimados con el método de serie de medias y se utilizaron las pruebas estadísticas con los datos completos. Nivel de significancia de 5% ($p < 0.05$).

RESULTADOS

El grupo de estudio estuvo conformado por 26 estudiantes de medicina de primer semestre. La edad mínima fue 14 años y la máxima 27, con un promedio de 18.1 ± 2.2 años. Por género, 80.8% de sexo masculino (21 hombres) y 19.2% femenino (5 mujeres).

Debido a que en 3 estudiantes no se pudo medir la prolactina, la muestra se redujo a 23 estudiantes, en los que fueron halladas diferencias significativas en los niveles de prolactina durante los tres momentos evaluados ($P < 0.001$ análisis de varianza de medidas repetidas). El nivel de prolactina fue significativamente mayor después del estresor, con un promedio de 21.8 ± 9.6 , comparado el nivel antes del estresor con promedio de 9.4 ± 4.0 ($p < 0.001$), y durante el estresor, con promedio de 10.6 ± 4.1 ($p < 0.001$). No hubo diferencias significativas ($p = 0.266$) entre los niveles de cortisol medidos antes y durante el estresor (Ver Figura 1).

Los niveles de cortisol se midieron en los tres momentos sólo en 17 estudiantes, con datos faltantes para 9. En el grupo de 17 estudiantes, no se hallaron diferencias significativas en los niveles de cortisol en los tres momentos evaluados, aunque sí hubo cercanía ($P = 0.098$ análisis de varianza de medidas repetidas), pues se presentó un leve aumento durante el estresor, con un promedio de 8.4 ± 4.0 , comparado con los niveles de cortisol antes del estresor, con un promedio de 8.0 ± 2.7 . Además, presentó una marcada disminución después del estresor, con un promedio de 6.6 ± 1.3 (Ver Figura 2).

Estimados los datos faltantes por el método de serie de medias para los 9 estudiantes, se encontraron diferencias significativas en los momentos evaluados ($p = 0.005$), con una disminución significativa posterior al estresor (6.6 ± 1.3), comparada con el valor antes del estresor (8.0 ± 2.7) ($p = 0.016$). La diferencia fue también significativa entre los valores obtenidos durante y posteriormente al estresor (8.4 ± 4.0) ($p = 0.023$).

Los títulos de anticuerpos de Herpes Simple tipo I medidos en 24 estudiantes, mostraron diferencias significativas entre los tres momentos evaluados ($P = 0.043$ análisis de varianza de me-

didadas repetidas), con un valor significativamente mayor después del estresor, con un promedio de 1.20 ± 0.55 , comparado con el valor obtenido antes del estresor, con un promedio de 0.89 ± 0.39 ($p = 0.042$). Al comparar con el valor obtenido durante el estresor (1.08 ± 0.46) ($p = 0.656$), no hubo diferencias significativas, lo que también ocurrió con la comparación de los promedios correspondientes al primer y al segundo momento ($p = 0.142$) (Ver Figura 3)

Con relación a los niveles de ansiedad, al efectuar los ajustes se encontró que el comportamiento en las diferencias encontradas, fue similar en prolactina, cortisol y niveles de Herpes Simple tipo I (Ver Tabla 1)

DISCUSIÓN

Los estresores pueden tener un efecto positivo o negativo sobre la respuesta inmune, de acuerdo al tipo de estresor y a su intensidad. Los cambios generados ante la exposición al estresor (exámenes trimestrales) generan cambios importantes en la liberación de prolactina, cortisol y en los títulos IgG para Herpes Simple tipo I (28, 29). Los niveles de prolactina aumentaron significativamente después de la exposición al estresor, hasta más del doble de su concentración inicial.

El aumento de la prolactina mantiene una marcada interacción bi-direccional con el sistema inmunológico: amplifica la respuesta inmune mediada por linfocitos T, debido principalmente a un incremento en la actividad proliferativa y en la síntesis de citoquinas Th1, lo que a su vez que aumenta la actividad citotóxica de las células NK y LT CD8+ (30). La PRL actúa sobre las células NK mediante la inducción de la diferenciación hacia células killer activadas por PRL (células PAK).

Investigaciones previas han reportado que cuando las concentraciones de prolactina son muy

altas, la actividad de las células NK disminuye (22, 27). En este estudio se observa un aumento marcado después de la exposición al estresor, comparado con los niveles medidos antes y durante la aplicación del estresor. Por ello, se sugiere que la reducción de la actividad citotóxica se debe en gran parte a la acción citostática que la prolactina ejerce sobre los receptores presentes en las células fagocíticas. Cuando las células fagocíticas como los macrófagos son inhibidas, se suprime la liberación de citoquinas inductoras de la respuesta mediada por células citotóxicas, y se amplifica otro tipo de respuesta como la respuesta humoral.

El efecto regulador de la síntesis de prolactina está asociado con un aumento en la expresión de receptores para la misma, inducido a su vez por la IL-2 liberada por los LTh1 (13, 21). Un aumento en la síntesis de INF- δ podría explicar el incremento de la respuesta humoral a Herpes Simple tipo I mediada por IgG, debido a que es un activador del *switch* de clase para este tipo de anticuerpo.

Las características inmunosupresoras de los glucocorticoides endógenos han sido discutidas en los últimos años. Estas sustancias, una vez entran a la célula por difusión pasiva, actúan sobre receptores citoplasmáticos y pueden interferir con la señalización, pues inhiben la actividad de cinasas que permiten la activación de LT (4, 9).

En este estudio, el aumento transitorio del cortisol sugiere una acción inhibitoria de las células citotóxicas, debida a la disminución en la síntesis de citoquinas por parte de células efectoras, tanto de la línea linfocítica como de la línea monocito - macrófago, células que se caracterizan por expresar receptores para cortisol. La acción citostática del macrófago provoca disminución en la síntesis de IL-12, IL15 y de IL-18, interleucinas que amplifican la activación

de Th1 y por tanto la síntesis de IL2 e INF α . Una disminución en esta síntesis de citoquinas disminuiría en forma simultánea la respuesta mediada por células NK, importantes en la respuesta a las infecciones virales. Ello explicaría la reactivación a la infección a Herpes Simple tipo I, reflejada en un incremento importante en los títulos de IgG a Herpes Simple en los tres momentos, con una mayor notoriedad, tanto en el momento de la exposición al estresor como después de la aplicación del mismo.

Los resultados obtenidos muestran que en la medida en que los niveles de cortisol presentaron una tendencia a disminuir hasta los niveles basales, la concentración de prolactina aumentó considerablemente. Es posible que este aumento sea el responsable de la amplificación de la respuesta mediada por células NK a los estresores académicos, tal como lo postularon Matera *et al* (27), quienes demostraron que la prolactina actuaba sobre las células LTh1 productoras de IFN δ y de IL-2. Sin embargo, en el presente estudio, el aumento en la concentración de prolactina no fue suficiente para amplificar la respuesta mediada por células citotóxicas y así controlar la viremia, como tampoco los niveles de IgG para Herpes Simple tipo I aumentados a su vez, después de la exposición al estresor.

Finalmente, se sugiere que el aumento en los títulos de anticuerpos para Herpes Simple tipo 1 podría ser el resultado de varios factores: a) disminución de la actividad citotóxica debida, en un primer instante, a un leve incremento del cortisol durante la semana de exposición al estresor, lo que se refleja en un aumento de la viremia, medido por titulación de anticuerpos en los tres momentos. b) efecto bimodal de la prolactina, propuesto por Karmali *et al* (33) en el que un aumento significativo de la hormona puede provocar dismi-

nución de la actividad NK, con aumento en las citoquinas reguladoras de la producción de anticuerpos como IL-4, IL-5 e IL-10.

En este trabajo, la disminución de la actividad citotóxica podría ser explicada en virtud de un aumento en la expresión de receptores PRL-R de células fagocíticas, de modo que se ejercería una actividad citostática en esta población celular y no se permitiría la liberación de citoquinas como IL-12 e IL-18, importantes en la amplificación de las poblaciones de células NK (22). Es necesario pues, que en estudios posteriores se efectúe la medición de estas citoquinas y de las poblaciones de células NK.

Un tercer factor amplificador de la respuesta humoral a la infección por Herpes Simple tipo I podría ser el aumento en la actividad citotóxica inicial en la semana previa a la exposición al estresor, pues es posible que induzca una liberación importante de INF α y por tanto, a un aumento en la síntesis de anticuerpos IgG.

AGRADECIMIENTOS

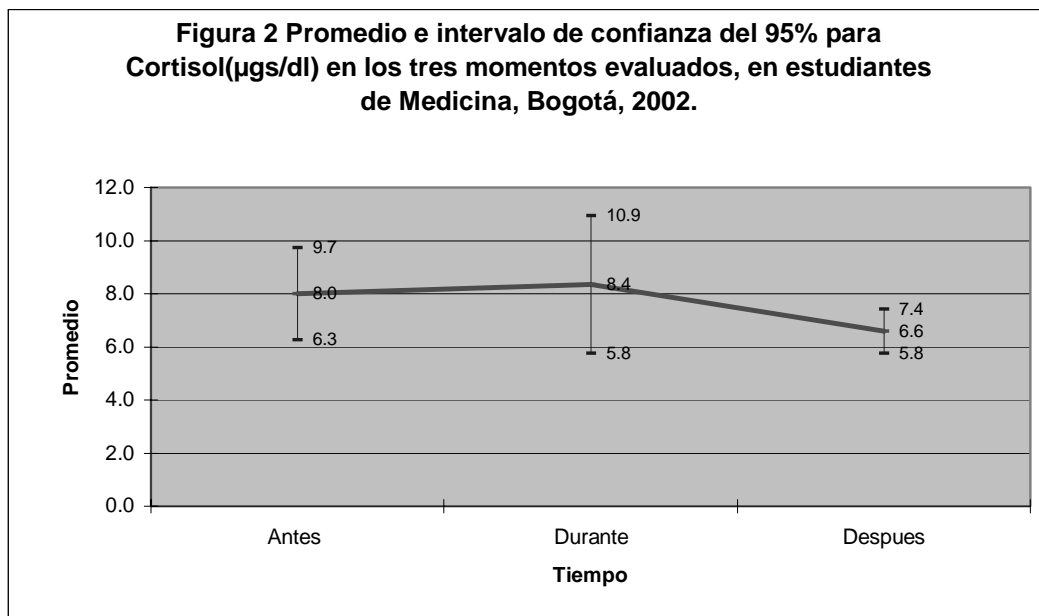
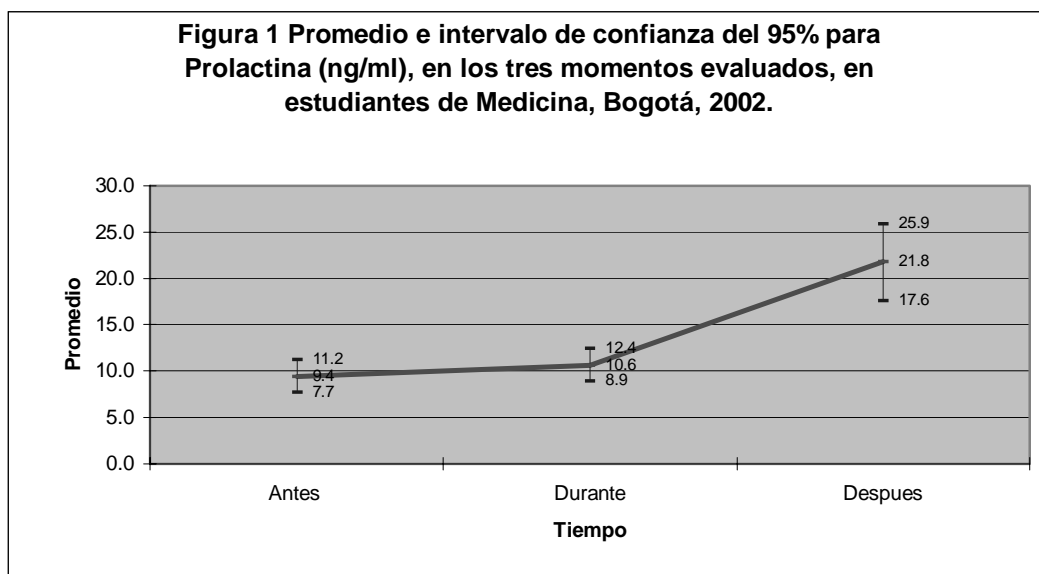
A la doctora Celmira de Alvarez por su valiosa colaboración en los ensayos de laboratorio efectuados durante la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Morikawa Y, Kitaoka-Higashiguchi K, Tanimoto C, Hayashi M, Oketani R, Miura K, *et al.* A cross-sectional study on the relationship of job stress with natural killer cell activity and natural killer cell subsets among healthy nurses. *J Occup Health* 2005; 47: 378 - 383.
2. Al-Avadh LY. Neurohormonal changes in medical students during academic stress. *Ann Saudi Med* 2005; 25: 36 - 40.
3. Sauer J, Polack E, Wikinski S, Holsboer E, Stalla GK, Arzt E. The glucocorticoid sensitivity of lymphocytes changes according to the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system. *Psychoneuroendocrinology* 1995; 20: 269 - 280.
4. Mavoungou E, Bouyou-Akotet MK, Kremsner PG. Effects of prolactin and cortisol on natural killer (NK) cell surface expression and function of human natural cytotoxicity receptors (NKp46, NKp44 and NKp30). *Clin Exp Immunol* 2005; 39: 287 - 296.
5. Uchakin PN, Tobin B, Cubbage M, Marshall G Jr, Sams C. Immune responsiveness following academic stress in first-year medical students. *J Interferon Cytokine Res* 2001; 9: 687 - 694
6. Savino W, Dardenne M. Neuroendocrine control of thymus physiology. *Endocr Rev* 2000; 21: 412 - 443.
7. Smaniotto S, Ribeiro-Carvalho MM, Dardenne M, Savino W, De Mello-Coelho V. Growth hormone stimulates the selective trafficking of thymic CD4+CD8- emigrants to peripheral lymphoid organs. *Neuroimmunomodulation* 2004; 11: 299 - 306.
8. Lacey K, Zaharia MD, Griffiths J, Ravindran AV, Merali Z, Anisman H. A prospective study of neuroendocrine and immune alterations associated with the stress of an oral academic examination among graduate students. *Psychoneuroendocrinology* 2000; 25: 339 - 356.
9. Stopinska-Gluszak U, Waligora J, Grzela T, Gluszak M, Jozwiak J, Radomski, D, *et al.* Effect of estrogen/progesterone hormone replacement therapy on natural killer cell cytotoxicity and immunoregulatory cytokine release by peripheral blood mononuclear cells of postmenopausal women. *J Reprod Immunol* 2006; 69: 65 - 75.

10. Humber JM. Bioethics and morality: The Foundations of Bioethics by H. Ristram Engelhardt *JAMA* 1996; 276: 1685 - 1686.
11. Valdés M. The Stockholm syndrome. *Med Clin* 1990; 94: 56 - 57.
12. Borella P, Bargellini A, Rovesti S, Pinelli M, Vivoli R, Solfrini V, *et al.* Emotional stability, anxiety, and natural killer activity under examination stress. *Psychoneuroendocrinology* 1999; 24: 613 - 627.
13. Glaser R, Pearl DK, Kiecolt-Glaser JK, Malarkey WB. Plasma cortisol levels and reactivation of latent Epstein-Barr virus in response to examination stress. *Psychoneuroendocrinology* 1994; 19: 765 - 772.
14. Glaser R, Kiecolt-Glaser JK, Malarkey WB, Sheridan JF. The influence of psychological stress on the immune response to vaccines. *Ann N Y Acad Sci.* 1998 May 1;840:649-55.
15. Krueger JM, Toth LA. Cytokines as regulators of sleep. *Ann NY Acad Sci* 1994; 739: 299 - 310.
16. Cooke N, Coit D, Shine J, Baxter J, Martial J. Human prolactin cDNA structural analysis and evolutionary comparisons. *J Biol Chem* 1981; 256: 4007 - 4016.
17. Montgomery DW, Shen GK, Ulrich ED, Steiner LL, Parrish PR, Zukoski CF. Human thymocytes express a prolactin-like messenger ribonucleic acid and synthesize bioactive prolactin-like protein. *Endocrine* 1992; 131: 3019 - 3026.
18. Méndez I, Carino C, Diaz L. Prolactin in the immunological system: synthesis and biological effects. *Rev Invest Clin* 2005; 57: 447 - 456.
19. Goya RG, Brown OA, Pleau JM, Dardenne M. Thymulin and the neuroendocrine system. *Peptides* 2004; 25: 139 - 142.
20. Russell DH, Kibler L, Matrisian L, Larson DE, Poulos B, Magun BE. Prolactin receptors on human T and B lymphocytes: Antagonism of prolactin binding by cyclosporine. *J Immunol* 1985; 134: 3027 - 3031.
21. Pellegrini I, Lebrun J, Ali S, Kelly PA. Expression of prolactin and its receptor in human lymphoid cells. *Mol Endocrinol* 1992; 6: 1023 - 1031.
22. Cesano A, Oberholtzer E, Contarini M, Geuna M, Bellone G, Matera L. Independent and synergistic effect of inter-leukin-2 and prolactin on development of T- and NK- derived LAK effectors. *Immunopharmacology* 1994; 28: 67 - 75.
23. Gomez-Merino D, Drogou C, Chennaoui M, Tiollier E, Mathieu J, Guezennec CY. Effects of combined stress during intense training on cellular immunity, hormones and respiratory infections. *Neuroimmunomodulation* 2005; 12: 164 - 172.
24. Matera L, Beltramo E, Martinuzzi E, Buttiglieri S. Effect of prolactin on carcinoembryonic antigen-specific cytotoxic T lymphocyte response induced by dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 2004; 137: 320 - 328.
25. Maggi E, Cosmi L, Liotta F, Romagnani P, Romagnani S, Annunziato F. Thymic regulatory T cells. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 579 - 586.
26. Brand JM, Frohn C, Cziupka K, Brockmann C, Kirchner H, Luhm J. Prolactin triggers pro-inflammatory immune responses in peripheral immune cells. *Eur Cytokine Netw* 2004; 15: 99 - 104.
27. Matera L, Cesano A, Bellone G, Oberholtzer E. Modulatory effect of prolactin on the resting and mitogen induced activity of T, B and NK lymphocytes. *Brain Behav Immunity* 1992; 6: 409 - 417.
28. Carreno PC, Sacedon R, Jimenez E, Vicente A, Zapata AG. Prolactin effects both survival and differentiation of T-cell progenitors. *J Neuroimmunol* 2005; 160: 135 - 145.
29. Ramírez F, Fowell DJ, Puklavec M, Simonds S, Mason D. Glucocorticoids promote a Th2 cytokine response by CD4+ cells in vitro. *J Immunol* 1996; 156: 2406 - 2412.

30. Mendez I, Carino C, Diaz L. Prolactin in the immunological system: synthesis and biological effects. *Rev Invest Clin* 2005; 57: 447 - 456.
31. Jara JL, Gómez-Sánchez C, Silveira LH, Martínez-Osuna P, Vasey E, Espinoza LR. Hyperprolactinemia in systemic lupus erythematosus: Association with disease activity. *Am J Med Sci* 1992; 303: 222 - 226.
32. Nagy E, Berczi J, Wren GE, Asa SL, Kovacs K. Immunomodulation by bromocriptin. *Immunopharmacology* 1983; 6: 321 - 324
33. Karmali RA, Lauder I, Horrobin DF. Prolactin and the immune response. *Lancet* 1974; 2: 106 - 107.



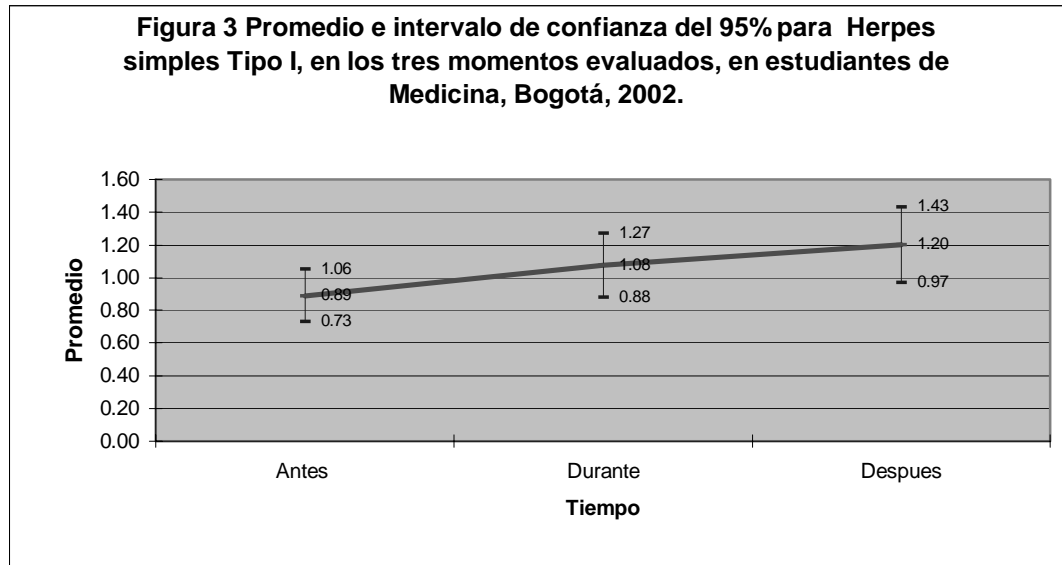


Tabla 1. Medidas descriptivas de Herpes Simple tipo I, prolactina y cortisol, en los tres momentos evaluados, en estudiantes de Medicina, Bogotá, 2002.

| | | Medidas estadísticas | | | | | | | | | |
|---------------------|-----------------|----------------------|---------|---------|------------|---------|---------|----------|---------|---------|-------|
| | | Herpes | | | Prolactina | | | Cortisol | | | |
| | | Antes | Durante | Después | Antes | Durante | Después | Antes | Durante | Después | |
| N | Muestra | 24 | 24 | 24 | 23 | 23 | 23 | 17 | 17 | 17 | |
| | Datos faltantes | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 9 | 9 | 9 | |
| Promedio | | *0,8913 | *1,0767 | *1,2033 | 9,4330 | *10,641 | *21,750 | 8,00 | 8,354 | 6,588 | |
| Mediana | | 1,0400 | 1,0800 | 1,2150 | 9,0000 | 8,900 | 20,600 | 6,30 | 8,000 | 6,600 | |
| Moda | | 0,95(a) | 0,24(a) | 0,53(a) | 4,68 | 7,0(a) | 19,6 | 6 | 6,6(a) | 5,4 | |
| Desviación estándar | | ,3868 | ,4645 | ,5462 | 4,0266 | 4,099 | 9,552 | 3,39 | 5,039 | 1,611 | |
| Asimetría | | -1,073 | -0,062 | -0,109 | 0,500 | 1,017 | 0,237 | 0,532 | 1,470 | 0,034 | |
| Curtosis | | ,593 | -0,131 | 0,345 | -0,682 | 0,422 | 0,133 | -0,846 | 3,933 | -1,120 | |
| Mínimo | | 0,00 | 0,24 | 0,10 | 3,20 | 5,5 | 1,3 | 3 | ,2 | 4,0 | |
| Máximo | | 1,50 | 1,95 | 2,40 | 17,84 | 21,3 | 39,4 | 15 | 23,0 | 9,0 | |
| Percentiles | | | | | | | | | | | |
| | | 25 | 0,6125 | 0,8425 | 0,9875 | 6,0800 | 7,400 | 16,100 | 5,90 | 6,000 | 5,400 |
| | | 50 | 1,0400 | 1,0800 | 1,2150 | 9,0000 | 8,900 | 20,600 | 6,30 | 8,000 | 6,600 |
| | | 75 | 1,1100 | 1,3550 | 1,5525 | 13,2800 | 13,630 | 26,200 | 11,25 | 10,000 | 8,000 |

a. Múltiples modas existen. Se toma la del valor más pequeño