

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA**

**TESIS DOCTORAL**

**EVALUACION DEL ESTADO INMUNITARIO EN  
PACIENTES ESQUIZOFRENICOS**

Aurelia María Gallego Cabrera  
Granada 1994



Memoria presentada por la Licenciada  
D<sup>a</sup>. Aurelia M<sup>a</sup> Gallego Cabrera, para  
optar al grado de Doctor en Farmacia  
por la Universidad de Granada.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Aurelia M. Gallego Cabrera', with a long horizontal line extending to the right.

Fdo. Aurelia M<sup>a</sup> Gallego Cabrera

Prof. Dr. D. ALBERTO RAMOS CORMENZANA, CATEDRATICO DE LA  
UNIVERSIDAD DE GRANADA, ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

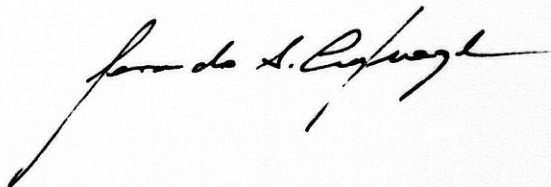
Prof. Dr. D. GERARDO ALVAREZ DE CIENFUEGOS LOPEZ, PROFESOR  
TITULAR DE LA UNIVERSIDAD DE JAEN, ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE  
BIOLOGIA EXPERIMENTAL Y CIENCIAS DE LA SALUD

CERTIFICAN QUE: La Tesis Doctoral que presenta la Licenciada  
D<sup>a</sup>. Aurelia M<sup>a</sup> Gallego Cabrera, titulada  
"Evaluación del estado inmunitario en  
pacientes esquizofrénicos", ha sido  
realizada bajo nuestra dirección en  
condiciones que la hacen acreedora al título  
de Doctora en Farmacia.

Granada, Mayo de 1994



Fdo. Alberto Ramos Cormenzana



Fdo. Gerardo Alvarez de Cienfuegos López



Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que a lo largo de estos años, han contribuido con su ayuda, apoyo y colaboración a la realización de este trabajo de investigación y han hecho posible la finalización de esta Tesis Doctoral.

En primer lugar, al Prof. Dr. Alberto Ramos Cormenzana, por su preocupación e interés por la Inmunología y la formación de nuevos licenciados y doctores.

Al Prof. Dr. Gerardo Alvarez de Cienfuegos López quiero agradecer su desinteresada dedicación y entrega a este trabajo de investigación, así como su constante apoyo y consejo, que han sido decisivos en la realización y finalización de esta Tesis Doctoral.

A todos mi compañeros del laboratorio del Centro de Diagnóstico de Jaén, por su inestimable y paciente colaboración y por haber sabido compartir conmigo los buenos y malos momentos que toda investigación de este tipo suele conllevar.

Quiero agradecer, asimismo, la valiosa ayuda que he recibido por parte de mis compañeros del Departamento de Biología Experimental y Ciencias de la Salud de la Universidad de Jaén, que nunca dudaron en dedicar parte de su tiempo a los aspectos experimentales de esta Memoria.

Finalmente, quiero agradecer también a todos los miembros de los Servicios de Análisis Clínicos, Hematología y Psiquiatría del Hospital General de Especialidades "Ciudad de Jaén", que de una u otra manera han colaborado en la realización de esta Tesis Doctoral.



Los trabajos de investigación de esta memoria han sido realizados en el Departamento de Biología Experimental y Ciencias de la Salud de la Universidad de Jaén y en los Servicios de Análisis Clínicos, Psiquiatría y Hematología del Hospital General de Especialidades "Ciudad de Jaén".

**INDICE**



<b>I. INTRODUCCION</b>	2
<b>I.1. LOS SISTEMAS NERVIOSO E INMUNE COMO RESPONSABLES DE LA INTERACCION CON EL MEDIO EXTERNO</b>	2
<b>I.2. INFLUENCIA DEL COMPORTAMIENTO SOBRE LA INMUNIDAD</b>	6
<b>I.2.1. Efecto de estrés y la depresión</b>	6
<b>I.2.2. Alteraciones condicionadas de la respuesta inmune</b>	16
<b>I.2.3. Efecto de la inmunidad sobre el comportamiento</b>	19
<b>I.3. INTERACCIONES ENTRE LOS SISTEMAS ENDOCRINO E INMUNE</b>	22
<b>I.3.1. Hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis</b>	22
I.3.1.1. Hormona del Crecimiento	24
I.3.1.2. Prolactina	27
I.3.1.3. ACTH y opioides endógenos: Endorfinas y Encefalinas	29
<b>I.3.2. Glucocorticoides producidos por las glándulas suprarrenales</b>	33
<b>I.4. INTERACCION ENTRE LOS SISTEMAS NERVIOSO E INMUNE</b>	37
<b>I.4.1. Inervación de los órganos linfoides</b>	43
I.4.1.1. Organos linfoides primarios	43
I.4.1.2. Organos linfoides secundarios	46
<b>I.4.2. Potenciales interacciones entre neurotransmisores y células inmunitarias</b>	50
<b>I.4.3. Control neuroendocrino de la respuesta inmune</b>	54

<b>I.5. ALTERACIONES DE LOS PARAMETROS INMUNITARIOS EN LAS ENFERMEDADES PSIQUIATRICAS</b>	<b>58</b>
<b>I.5.1. Estrés</b>	<b>59</b>
<b>I.5.2. Depresión</b>	<b>59</b>
<b>I.5.3. Esquizofrenia</b>	<b>62</b>
<b>I.6. ETIOLOGIA DE LA ESQUIZOFRENIA</b>	<b>65</b>
<b>II. OBJETIVOS</b>	<b>71</b>
<b>III. MATERIAL Y METODOS</b>	<b>74</b>
<b>III.1. POBLACION OBJETO DE ESTUDIO</b>	<b>74</b>
<b>III.2. VALORACION DEL ESTADO GENERAL DE LA POBLACION</b>	<b>75</b>
<b>III.3. DETERMINACION DE PROTEINAS SERICAS INMUNOCOMPETENTES</b>	<b>76</b>
<b>III.4. CUANTIFICACION DE LAS POBLACIONES LEUCOCITARIAS</b>	<b>76</b>
<b>III.5. VALORACION DE LA ACTIVIDAD DE LAS CELULAS INMUNOCOMPETENTES HEMATICAS</b>	<b>77</b>
<b>III.5.1. Separación y obtención de leucocitos</b>	<b>77</b>
<b>III.5.1.1. Obtención de linfocitos y monocitos</b>	<b>78</b>
<b>III.5.1.2. Obtención de polimorfonucleares</b>	<b>79</b>
<b>III.5.2. Ensayo de quimioluminiscencia</b>	<b>80</b>
<b>III.5.3. Respuesta linfoproliferativa a mitógenos</b>	<b>81</b>



III.5.4. Determinación sérica del TNF	83
III.6. TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS	84
IV. RESULTADOS	86
IV.1. DETERMINACIONES PREVIAS	86
IV.2. DETERMINACION DE PARAMETROS INMUNITARIOS	87
IV.2.1. Concentración de proteínas séricas con actividad inmunitaria	87
IV.2.1.1. Componentes C3 y C4 del Complemento	87
IV.2.1.2. Inmunoglobulinas	94
IV.2.2. Determinación de las poblaciones celulares inmunocompetentes en sangre periférica	96
IV.2.3. Determinación de la actividad de las distintas poblaciones de células inmunocompetentes	114
IV.2.3.1. Capacidad linfoproliferativa	114
IV.2.3.2. Activación de fagocitos de sangre periférica	120
IV.2.3.2.1. Medida de la actividad fagocítica	120
IV.2.3.2.2. Producción de TNF por monocitos	129
V. DISCUSION	132
VI. CONCLUSIONES	147
VII. BIBLIOGRAFIA	150

## **INTRODUCCION**



**I.- INTRODUCCION**

**I.1.- LOS SISTEMAS NERVIOSO E INMUNE COMO RESPONSABLES  
DE LA INTERACCION CON EL MEDIO EXTERNO**

Una de las características diferenciales de los seres vivos, es su capacidad de respuesta a los estímulos procedentes del medio externo. De él no sólo obtienen todo lo necesario para el desarrollo de la vida, tanto a nivel individual como de especie, sino que también en él se encuentran agentes que pueden poner en peligro su existencia.

El sistema nervioso es la entidad anatómica y funcional que pone en relación al individuo con los procesos del mundo exterior e interior. Dentro del sistema nervioso, el sistema nervioso central (SNC) es el responsable principal del ajuste del individuo con el medio externo. Además, en él radica una de las capacidades que diferencia al hombre del resto de los seres vivos: la racionalidad. Por tanto, las alteraciones patológicas del SNC pueden producir un serio desequilibrio de funciones importantes para la

vida del ser humano.

El sistema nervioso capta los estímulos procedentes del medio externo gracias a la presencia de receptores específicos diseminados por todo el organismo, y una vez procesada dicha información, ordena una acción de respuesta frente a ese estímulo.

Por otro lado, el sistema inmunitario es el responsable del mantenimiento de lo "propio" frente a lo "extraño", tanto si es de origen externo, agentes infecciosos generalmente, como si por el contrario es de origen endógeno como son las células tumorales. Al igual que ocurre en el sistema nervioso, en el organismo existen receptores, principalmente sobre la superficie de células especializadas, capaces de detectar la presencia de estructuras extrañas al organismo que actúan como estímulos capaces de desencadenar, tras un necesario procesamiento, una respuesta que en la mayoría de los casos tiende a la eliminación, o al menos a la neutralización, de la estructura que ha originado dicho estímulo.



## INTRODUCCION

Tanto en el sistema nervioso como en el inmune, existen complejos mecanismos de regulación de las respuestas elaboradas, que implican la activación de mecanismos de los propios sistemas, así como de otros pertenecientes al resto de sistemas del organismo.

Además de las analogías expuestas y del conocimiento que desde los años treinta se tenía sobre el efecto supresor de la respuesta inmune de determinadas alteraciones del SNC, que serán expuestas posteriormente en esta Memoria, y por razones todavía no aclaradas, durante mucho tiempo las neurociencias y la Inmunología se desarrollaron sin considerar seriamente que la posibilidad de interacción entre ambos sistemas, nervioso e inmune, pudiera influir mutuamente en sus respectivas funciones y en las respuestas elaboradas por los mismos hacia el medio externo. Existen evidencias de que diversos factores del comportamiento son capaces de influir sobre la función inmune y se han descrito algunos de los canales ó uniones nerviosas y endocrinas de comunicación que ligan el cerebro y el sistema inmune y que pueden explicar algunos fenómenos o procesos de adaptación. En

## INTRODUCCION

los últimos doce años, las investigaciones encaminadas a establecer la relación entre cerebro, comportamiento e inmunidad se han desarrollado rápidamente, produciendo resultados concluyentes de la influencia del comportamiento sobre el sistema inmune y la existencia de conexiones insospechadas entre los sistemas inmune y nervioso.



## **I.2.- INFLUENCIA DEL COMPORTAMIENTO SOBRE LA INMUNIDAD**

Aunque la investigación sistemática en Psiconeuroinmunología es relativamente nueva, la magnitud de la interacción cerebro-comportamiento-sistema inmune es extraordinariamente importante. Desde hace tiempo se han descrito en la literatura experimental y clínica fenómenos que sugieren que la función del sistema inmunitario puede ser alterada por procesos psicológicos y/o psiquiátricos, lo que nos induce a pensar que los estados afectivos y las características de la conducta y de la personalidad se encuentran asociados con determinados estados funcionales del sistema inmunitario.

### **I.2.1.- EFECTO DEL ESTRES Y LA DEPRESION**

Diferentes estudios, efectuados en humanos, implican a factores psicosociales en la susceptibilidad y/o facilidad de recuperación de enfermedades infecciosas, alérgicas, autoinmunes y neoplásicas que, en mayor o menor grado, son consecuencia de una alteración de los mecanismos inmunológicos de defensa

(159, 247, 280, 295). Además, otros estudios realizados en animales de experimentación ponen de manifiesto que la respuesta a un estímulo estresante, depende, sobre todo, de la naturaleza del factor de estrés y del proceso patológico orgánico que sufre el animal. Es decir, el mismo agente estresante puede ejercer efectos diferentes sobre distintas enfermedades, y diversos factores de estrés pueden producir diferentes efectos sobre un proceso patológico en particular.

Recientemente, la atención se ha dirigido a cuantificar la alteración del sistema inmunitario como resultado de distintas circunstancias generadas por el estrés. La muerte de un miembro de la familia, por ejemplo, se encuentra ubicada en un alto lugar en la escala de situaciones estresantes que están muy correlacionadas con la depresión y con un incremento de la morbilidad en un considerable número de enfermedades (141, 151, 217), algunas de las cuales se asocian con efectos sobre diferentes mecanismos de defensa inmunológicos. Estos cambios en la respuesta inmune constituyen importantes puntos de unión entre los factores psicosociales y una alterada susceptibilidad



a la progresión, en sentido negativo, de distintas enfermedades. Aunque la cadena de procesos psicofisiológicos no está aún bien establecida, sí están definidos algunos cambios sobre determinadas manifestaciones de la reactividad inmunológica tales como la reducción de la respuesta linfoproliferativa a una estimulación mitogénica (21, 266) y disminución de la actividad NK (147) en caso de muerte de algún miembro de la familia. También se han descrito alteraciones de la respuesta inmunitaria asociadas con la respuesta afectiva a otro tipo de desgracias familiares tales como fracasos matrimoniales o divorcios (172). La relación entre pérdidas familiares y depresión ha sido comentada reiteradamente en la literatura psiquiátrica y existen diversos estudios que demuestran la aparición de cambios en la función inmune ya desde el comienzo de la alteración psiquiátrica.

Por otro lado, la respuesta a mitógenos en pacientes hospitalizados con depresión y no sometidos a tratamiento farmacológico se encuentra disminuida (268); sin embargo, estas diferencias no se observan en una población ambulatoria con la misma enfermedad

(266). Estas discrepancias pueden explicarse como consecuencia del distinto grado de severidad de la alteración psiquiátrica y/o de las distintas edades de los enfermos hospitalizados y no hospitalizados. En general, el relativo pequeño número de trabajos reflejados en la bibliografía que analizan el estado inmunitario de enfermos depresivos, conduce a resultados algunas veces contradictorios. Lo que resulta evidente es que para analizar los parámetros que definen la respuesta inmunitaria, es necesario tener en cuenta la edad; sexo; naturaleza de la depresión (endógena frente a no endógena, supresión o no por efecto de la dexametasona); fase de la enfermedad (aguda o en remisión); severidad y/o duración de la supresión, que suele estar asociada con el hecho de que el enfermo se encuentra hospitalizado o en régimen ambulatorio; presencia o ausencia de tratamiento e intensidad del mismo; y si el enfermo ha consumido drogas y durante cuanto tiempo.

Es de destacar el rápido crecimiento que ha existido en el número de artículos de revistas científicas que tratan de los efectos inmunomoduladores



de las drogas psicótropas, tanto de uso terapéutico, como en el caso de la depresión, o drogas ilegales. Los efectos inmunológicos de los agentes psicótropos dependen de numerosos factores: especie animal estudiada, tiempo de administración del fármaco y si el estudio se efectúa *in vivo* o *in vitro*. El efecto de las drogas psicótropas depende también del estado psicosomático del sujeto que la ingiere; así, el haloperidol reduce la respuesta de anticuerpos en ratones normales, pero la reinstaura en animales sometidos a tratamientos estresantes como es el hacinamiento (20).

Otra circunstancia que puede alterar de forma significativa los estudios encaminados a poner de manifiesto el estado inmunitario de personas sometidas a procesos de estrés, es el test en sí mismo. Kiecolt-Glaser y Glaser (1986) (172) comprobaron en estudiantes de Medicina, que se habían presentado voluntarios para este tipo de pruebas, que el nivel de estrés en ellos era superior en los períodos en los que se efectuaban dichos análisis que cuando no se les había comunicado la realización de la prueba. Durante el tiempo de

realización de las pruebas, aún sin estar sometidos a procesos estresantes, estos estudiantes mostraban una disminución de: respuesta proliferativa de linfocitos a mitógenos, actividad NK, porcentaje de linfocitos T y producción de interferón (IFN) por linfocitos estimulados. Además, los estudiantes seropositivos previamente a la realización de las pruebas para el virus de Epstein-Barr, presentaban mayores niveles de anticuerpos antivirus en la fase anterior al estímulo estresante, con respecto a la época en la que no se les había informado de la realización de las pruebas; interpretándose este hecho como un fracaso de la respuesta inmune celular frente al virus (128). También debemos destacar que durante los períodos de pruebas se incrementaba, además, la incidencia de los síntomas de la infección, a juicio de los propios estudiantes infectados (127). Debemos resaltar asimismo, por considerarlo como uno de los trabajos pioneros en el campo de la interacción entre los sistemas nervioso e inmune, el realizado en 1938 por Farris en jugadores, e incluso espectadores de fútbol americano (12).



La influencia de la separación familiar, especialmente la relativa a madre-hijo, ha sido también estudiada, fundamentalmente en animales. En roedores, la interrupción periódica de la interacción madre-hijo y el destete producen una disminución de la respuesta proliferativa de linfocitos a mitógenos y reduce el número de células esplénicas formadoras de anticuerpos específicos (5, 210).

Las crías de monos y sus madres responden a la separación con una supresión transitoria de la respuesta linfoproliferativa estimulada por mitógenos, similar a la encontrada en humanos en caso de viudedad, no relacionada con los niveles plasmáticos de cortisol (183, 252). En algunas especies de monos, como el mono-ardilla, la separación madre-hijo produce cambios en la reactividad inmunitaria que incluye una disminución de los niveles plasmáticos de las proteínas del complemento, fagocitosis de macrófagos, y producción de inmunoglobulinas de la clase G (IgG) frente a bacteriófagos. La magnitud de estos efectos depende del ambiente psicosocial en el que queda el animal tras la separación (64).

Es de interés resaltar que por el contrario, en el caso de monos macacos rhesus que presentan la misma respuesta de comportamiento ante la separación madre-hijo, pero que difieren en gran medida en la respuesta endocrina con respecto a los otros animales, no existen cambios significativos a nivel del sistema inmunitario tras la mencionada separación.

En animales adultos una manipulación del comportamiento, como es un estado de estrés, es capaz de actuar sobre el sistema inmunitario. El efecto del estrés sobre la inmunidad en general depende de: tipo de tratamiento e intensidad del mismo (164, 193, 213, 270), estimulación antigénica (220), temporalidad existente entre el estímulo estresante y la estimulación antigénica (91, 235, 261), parámetro inmunitario estudiado (74, 165, 193, 218) y factores propios de cada especie animal.

A la hora de diseñar modelos para estudiar el efecto que sobre el sistema inmunitario posee el estrés hay que tener en cuenta una serie de circunstancias directamente relacionadas con el estímulo estresante.



Así por ejemplo, si el animal puede escapar o no al estímulo, si éste es evitable o no. Por ejemplo, el hecho de que un "shock" de tipo alimentario pueda ser evitado por el animal previene el efecto supresor sobre las células NK esplénicas que aparece en el mismo animal cuando el tratamiento es inevitable para él (184, 270). No obstante estos resultados no siempre son reproducibles (198). Otros investigadores han descrito alteraciones diferentes en la respuesta inmune de animales sometidos a descargas eléctricas con y sin señales de alerta o en animales capaces o no de evitar la estimulación nociva (12).

El sistema neuroendocrino provee el medio interno donde va a tener lugar la respuesta inmune. La estimulación de animales durante las primeras etapas de la vida, la variación de las interacciones sociales en los animales adultos, y la exposición de estos animales a circunstancias ambientales sobre las que el animal no posee control, son las manipulaciones que inducen cambios en el sistema endocrino que van a estar implicados en la modulación de la respuesta inmune. Nuestro conocimiento acerca de la interacción entre los

sistemas neuroendocrino e inmune, en condiciones normales y de estrés, son incompletos.

Los glucocorticoides, por ejemplo, son normalmente inmunosupresores. Por tanto, la elevación de los niveles de esteroides adrenocorticales, la más frecuente manifestación de un estado de estrés, es la responsable del descenso de la respuesta inmune asociada con el estrés. Son numerosos los ejemplos de modelos de supresión de respuesta inmune por el estrés que están vehiculizados por medio de hormonas adrenocorticales; no obstante, existen algunas alteraciones de la reactividad inmunológica inducidas por el estrés, que son independientes de la activación adrenocortical (47, 74, 91, 94, 132, 150, 182, 324, 249, 256). La hipofisectomía obvia los efectos del estrés sobre algunos parámetros inmunitarios, como el recuento de leucocitos de sangre periférica o del bazo, pero, por el contrario, incrementa la supresión de la respuesta proliferativa inducida por mitógenos de linfocitos de sangre periférica, que aparece en los estados de estrés (163).



Parece evidente que, *in vivo*, las consecuencias inmunológicas del estrés desencadenan la aparición de una interacción extremadamente compleja entre los sistemas nervioso, endocrino e inmunitario. Es interesante también preguntarse si la respuesta inmune por sí misma es capaz de alterar los niveles de hormonas y neurotransmisores circulantes, estas interacciones indudablemente incluirían también complejos mecanismos de regulación.

#### **I.2.2.- ALTERACIONES CONDICIONADAS DE LA RESPUESTA**

##### **INMUNE**

El aprendizaje, la más completa de todas las funciones del cerebro, es el mecanismo primario por el que los organismos superiores se adaptan al medioambiente. Un dramático y apremiante ejemplo del papel del sistema nervioso en la modulación de la inmunidad, lo constituye algunas demostraciones en las que la respuesta inmune es modificada por determinados factores condicionantes.

## INTRODUCCION

En los primeros estudios (208, 209), un estímulo condicionado neutro se asoció a la administración de un antígeno y la presentación del estímulo por sí sólo fue capaz de producir incrementos en la respuesta inflamatoria inespecífica y, en algunos casos, incrementos en los niveles de anticuerpos.

Más recientemente ADER y COHEN (7), en un modelo con ratas en el que asociaron el consumo de una solución azucarada y coloreada con la inyección intraperitoneal de ciclofosfamida, una droga inmunosupresora, observaron que se producía una aversión a dicha solución. Los animales condicionados reexpuestos al agua azucarada, pero tratados con ciclofosfamida, mostraron una atenuación de la respuesta de anticuerpos cuando fué comparada con la que presentaban los animales no condicionados y ratas condicionadas pero no reexpuestas al estímulo condicionado, el agua azucarada. En otra experiencia paralela y antes de que se produjera el efecto de aversión, encontraron que, en ratas a las que se les sustituía posteriormente la ciclofosfamida por agua, también se producía una atenuación de la respuesta de



anticuerpos. Este tipo de experiencias fueron verificadas por otros autores (9, 10) quienes también evidenciaron la existencia de una supresión de la respuesta inmune por efecto de comportamientos condicionados.

Otros estudios demostraron también que los procesos de condicionamiento afectan al desarrollo de tolerancia a un agente inmunomodulador (87, 88). El efecto biológico de la respuesta inmunosupresora condicionada se ha utilizado para alterar la progresión de la enfermedad autoinmune en ratones propensos al lupus (6, 8) y para disminuir la mortalidad en ratones a los que se les había trasplantado un plasmocitoma. La mayoría de estas experiencias utilizaron ensayos de tipo atracción-repulsión para provocar el condicionamiento, en el cual la droga inmunomodulante era utilizada como estímulo no condicionado.

La mediación fisiológica en las alteraciones condicionadas de la respuesta inmune, no está aún bien conocida. Algunos autores han supuesto que implícita o explícitamente la supresión condicionada de la

respuesta inmune es un efecto inducido por el estado de estrés, ya que la elevación de glucocorticoides suprime la respuesta inmune. Esta hipótesis es atractiva sobre todo porque proporciona una fácil explicación a un fenómeno complejo. Los datos de que se disponen no indican que la aparición de un estado inducido de estrés implique una elevación de las hormonas del estrés, especialmente esteroides corticosuprarrenales, como mediadoras de las alteraciones condicionadas de la respuesta inmune; es más, muchos de los datos que existen contradicen de una forma directa esta hipótesis (12).

### **I.2.3.- EFECTO DE LA INMUNIDAD SOBRE EL COMPORTAMIENTO**

De la misma forma que los sistemas nervioso y endocrino influyen sobre la respuesta inmune, existen datos que nos indican la influencia inmunológica sobre el comportamiento. Algunos autores han estudiado el efecto sobre el comportamiento de determinadas infecciones virales, especialmente en las primeras etapas de las mismas (205); asimismo se conocen las secuelas emocionales producidas por determinadas



## INTRODUCCION

enfermedades autoinmunes (180, 265) y el diferente comportamiento existente entre ratones normales y aquellos que genéticamente son susceptibles de enfermedades autoinmunes (13, 14).

Datos recientes sugieren que los cambios en el comportamiento asociados con disfunciones inmunológicas, pudieran tratarse de una adaptación para restaurar o mantener el equilibrio en el sistema inmune. Ratones F1 (NZBxNZW) propensos a desarrollar lupus, no desarrollan aversión condicionada por el tratamiento con ciclofosfamida hacia la solución azucarada, en el test descrito con anterioridad, mientras que ratones controles sanos, C56BL/6, sí lo hacen (70). Algo similar ocurre con ratones Mrl-lrp/lrp, que manifiestan síntomas de enfermedad autoinmune (linfadenopatías y títulos elevados de autoanticuerpos), que tampoco desarrollan aversión hacia la solución azucarada y coloreada, asociada con la administración de ciclofosfamida; mientras que ratones congénicos, Mrl +/+ controles, sí lo hacen (134). Esta diferencia en el comportamiento no es como consecuencia de un fallo en el aprendizaje de los

## INTRODUCCION

ratones propensos al lupus ya que estas diferencias no aparecen antes del desarrollo de los síntomas de la enfermedad inmunitaria o cuando se utilizan drogas no inmunosupresoras. Además los ratones Mrl-lpr/lpr con síntomas de enfermedad autoinmunitaria consumen también, de forma voluntaria, más cantidad de solución azucarada coloreada, asociada al tratamiento con ciclofosfamida, que atenúa la linfadenopatía y el título de anticuerpos anti-cadena sencilla de DNA (133). Estos hechos son concordantes con los encontrados en la bibliografía sobre la regulación, por medio del comportamiento, de distintos estados fisiológicos. El mecanismo por el que el cerebro es capaz de recibir y procesar los cambios fisiopatológicos inducidos inmunológicamente no se conoce.



**I.3.- INTERACCIONES ENTRE LOS SISTEMAS ENDOCRINO E INMUNE**

El medio neuroendocrino, en el que normalmente viven las células inmunitarias y los receptores de superficie y citoplasmáticos que éstas expresan para distintas hormonas y neuropéptidos (48, 246, 294), ofrece la oportunidad de modulación e interacción entre los sistemas inmune y endocrino.

Son muchos los artículos que reflejan la actividad inmunomoduladora de hormonas producidas en distintas glándulas del sistema endocrino: hipófisis, glándulas suprarrenales, glándula pineal, tiroides, gónadas y timo (24, 26, 157, 197). Sin embargo, vamos a referirnos fundamentalmente a las producidas por el lóbulo anterior de la hipófisis y cápsulas suprarrenales.

**I.3.1.- HORMONAS DEL LOBULO ANTERIOR DE LA HIPOFISIS**

Desde hace algún tiempo se conoce que ratones con deficiencia hipofisaria, manifiestan ciertas

anormalidades inmunológicas, tales como involución del timo, hipoplasia celular de la médula ósea y órganos linfoides secundarios, y depresión de la inmunidad mediada por células. Posteriores estudios realizados con ratones hipofisectomizados revelaron la interrelación entre la hipófisis y el sistema inmune. Estas observaciones dieron lugar a distintas investigaciones encaminadas a descubrir cuales de las hormonas producidas, almacenadas o liberadas por la hipófisis pueden modular la inmunidad (12).

Las hormonas producidas por el lóbulo anterior de la hipófisis o adenohipófisis pueden agruparse en 3 grandes apartados, de acuerdo con su estructura y evolución filogenética:

- Familia de la somatotropina: hormona del crecimiento (GH) y prolactina (PRL).

- Hormonas peptídicas: hormona adrenocorticotropa (ACTH), alfa-melanotropina y beta-lipotropina (LPH), que derivan de un mismo precursor proteico: proopiomelanocortina (POMC). La beta-lipotropina es la prohormona de distintos péptidos opioides endógenos de actividad biológica similar a la morfina: las



endorfinas.

- Hormonas glucoproteicas: hormona estimulante del tiroides (TSH) y gonadotropinas, hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante del folículo (FSH).

#### **I.3.1.1.- HORMONA DEL CRECIMIENTO (GH)**

Las deficiencias en GH se encuentran relacionadas con anomalías en la celularidad de la médula ósea y timo, y con una hipofunción de: células T (25, 67), actividad NK (264) y respuesta de anticuerpos (24, 230, 242). La administración de GH a animales deficientes de esta hormona restituye de alguna manera la respuesta inmune (166).

La GH posee también efectos sobre la respuesta inmunitaria cuando se administra tanto a animales normales como hipofisectomizados, o cuando se adiciona a cultivos de leucocitos obtenidos de animales normales. Por ejemplo, los cambios en la inmunocompetencia asociados a la edad, tales como respuesta proliferativa de células T inducida por mitógenos y síntesis de interleucina 2 (IL-2), así como

la estructura del timo de ratas pueden ser de alguna forma restituidos por el injerto de tumores de hipófisis productores de GH y PRL (166, 168). Es interesante resaltar que si bién la administración de GH ovina en altas dosis no restablece la histología tímica ni la capacidad de síntesis de IL-2 en ratas viejas, sí es capaz, en cambio, en estos últimos animales, de incrementar la respuesta linfoproliferativa a mitógenos (79). La GH aumenta la proliferación *in vitro* de linfocitos normales y transformados (174, 207) e incrementa la actividad de células T citotóxicas específicas para aloantígenos, de animales normales (285). La inyección de GH en ratas hipofisectomizadas tiene un marcado efecto, similar al producido por el interferón-gamma (IFN-gamma) en la producción de superaniones por macrófagos residentes peritoneales estimulados con Zymosán. Además, también activa *in vitro* a macrófagos alveolares y de sangre periférica para la producción de radicales superóxidos que matan inespecíficamente a bacterias fagocitadas (115,116); estos efectos quedan inhibidos al administrar anticuerpos anti-GH. Estos experimentos con poblaciones purificadas de macrófagos, ponen de



manifiesto que la GH ejerce un efecto directo sobre estas células. Algunos autores postulan que en timocitos, linfocitos transformados y equiescentes de sangre periférica y en monocitos pueden presentarse receptores de alta afinidad para GH (166).

Existen distintas circunstancias que pueden contribuir al efecto de la GH sobre la inmunidad: virus (55) y endotoxinas bacterianas, incrementan la secreción de GH en el hombre (160). La interleucina-1 (IL-1) procedente de macrófagos puede también aumentar la liberación de GH (253). La fracción V de la timosina, un grupo de péptidos de bajo peso molecular, extraída del timo de bóvidos, induce a las células de la hipófisis a incrementar la secreción de GH y PRL (286). Esto nos indica la existencia de una intercorrelación entre el timo y la hipófisis (166). La restauración de la inmunidad en ratas hipofisectomizadas puede ser antagonizada por la acción de la ACTH. Existen en la bibliografía algunos hechos que parecen indicar que el efecto inmunomodulador de las lesiones del cerebro pueden estar mediadas, en parte al menos, por la hipófisis (71, 72).

**I.3.1.2.- PROLACTINA (PRL)**

La prolactina está implicada en distintos procesos inmunológicos durante la reproducción y la lactancia de los mamíferos (29). La inhibición de la secreción de PRL en ratas, con un antagonista del receptor para dopaminas como la bromocriptina, suprime la respuesta de anticuerpos y la respuesta de hipersensibilidad retardada (231). Otros autores han observado que la hipoprolactinemia inducida por bromocriptina o por clorhidrato de cysteamina, se asocia con: un fracaso en el proceso de enfrentamiento con **Listeria monocytogenes**, depresión de la mitogénesis de células T y B inducida por lectinas, que es independiente de la producción de IL-2; disminución de la activación de macrófagos dependientes de células T; y disminución de la producción de IFN-gamma inducida por células T (29, 30, 53). Por otra parte, la acción inmunosupresora puede ser rápidamente eliminada por administración de PRL exógena (29). **In vivo**, el tratamiento con anticuerpos anti-PRL inhibe la proliferación de linfocitos (138); y la administración de PRL exógena o antagonistas de la dopamina, que estimulan la



## INTRODUCCION

liberación de PRL, produce un incremento en la respuesta mitogénica de los linfocitos y en la respuesta de hipersensibilidad retardada y es capaz de inhibir la profunda inmunosupresión producida por la ciclosporina (29, 84, 122).

Las interacciones entre PRL y el sistema inmune es muy compleja. Esta interacción incluye el sistema dopaminérgico y las células del propio sistema inmune. La PRL interacciona con otros productos del sistema endocrino. Así por ejemplo, inhibe la producción de péptidos intestinales vasoactivos (VIP) y factor de liberación, que a su vez regulan los niveles de PRL (29). Por otra parte, se han demostrado interrelaciones entre la secreción de PRL y la de las hormonas esteroideas: su nivel se incrementa con estrógenos (216) y disminuye por acción de los glucocorticoides (68).

La acción de la PRL en ratones, ya sea endógena o exógena, previene algunos de los efectos inmunosupresores, pero no todos, de la administración de cortisona. La PRL puede tener una función contraria

a los efectos inmunosupresores de los glucocorticoides. Puesto que los estresantes, físicos o psíquicos, inducen un rápido incremento de los niveles de PRL (29), lo que la convierte, al igual que la ACTH y las catecolaminas, en una hormona del estrés, podemos especular con un efecto de la PRL de intentar restablecer la función inmune *in vivo*, en condiciones de estrés.

#### **I.3.1.3.- ACTH Y OPIOIDES ENDOGENOS: ENDORFINAS Y ENCEFALINAS**

La ACTH y los péptidos opioides endógenos alfa, beta y gamma endorfinas, se generan por la transformación enzimática de la molécula precursora POMC (92, 192). Las endorfinas se producen en todos los lóbulos de la hipófisis, médula adrenal (192), macrófagos (92), linfocitos activados por mitógenos o antígenos (283, 294), células T incubadas con anticuerpos anti CD3 (140), y linfocitos B inducidos con IL-1 producida por monocitos (140, 161).

La administración parenteral de ACTH produce un



incremento en la producción de glucocorticoides por las glándulas suprarrenales, pero además por sí misma posee algunas propiedades inmunosupresoras (24). Sin embargo, los efectos *in vivo* de la ACTH se deben más a su acción liberalizadora de glucocorticoides por parte de la glándula adrenal, que a la acción supresora de la misma. En modelos *in vitro*, la ACTH suprime la producción de anticuerpos (156), interfiere en la actividad tumoricida de los macrófagos (178), modula la función de células B (16) y suprime la producción de IFN-gamma (157).

Las endorfinas y encefalinas pueden modificar la respuesta proliferativa de linfocitos estimulada por antígenos o mitógenos (108, 123), la actividad NK (149, 150), la respuesta de anticuerpos (139, 156), la producción de IFN-gamma (52) y la quimiotaxis de fagocitos (290). El que estos parámetros inmunitarios se encuentren incrementados o disminuidos depende de distintas circunstancias tales como de la secuencia de aminoácidos de estos factores que se unen a los receptores específicos y no específicos presentes en las células inmunocompetentes (60, 273) y/o el estado

de activación de la célula inmunitaria que une la endorfina en cuestión (283).

Se han propuesto distintos mecanismos para explicar cómo las diferentes endorfinas y la ACTH pueden alterar los receptores específicos presentes en la superficie de los linfocitos (283). La beta-endorfina y la ACTH modulan la molécula CD2, receptor para los hematíes de carnero, y CD3, subunidad estrechamente relacionada con el receptor para el antígeno, ambos presentes en la superficie de los linfocitos T humanos de sangre periférica (140). Estos mismos autores observaron que la incubación de células T con gamma-endorfina, estimuladas previamente con fitohemaglutinina A (PHA), provoca la total desaparición de los receptores para IL-2 en las mencionadas células. Esta endorfina se une preferentemente a ciertos antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (62), lo que parece indicar la existencia de un componente inmunogenético en el efecto de las endorfinas sobre la respuesta inmune.



Las encefalinas, metionil-encefalina y leucil-encefalina, son pentapéptidos que se originan a partir de una molécula precursora, la proencefalina A (92, 192). Las encefalinas se unen específicamente a los receptores opiáceos de las células del cerebro y de los linfocitos y presentan actividad inmunomoduladora en la síntesis, *in vivo* e *in vitro*, de los anticuerpos; número total de leucocitos de sangre periférica; número de células T humanas formadoras de rosetas con hematíes de carnero; peso del timo; resistencia a enfrentamiento experimental con virus y tumores; migración de leucocitos; citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos; migración de leucocitos; y producción y expresión del receptor para IL-2 (156, 229, 299). La dosis y tipo de encefalina, la concentración y lugar de administración del antígeno, y el tiempo entre la administración de encefalinas y el antígeno, juegan un importante papel en la dirección y extensión de la inmunomodulación. El hecho de que los péptidos opioides sean rápidamente degradados en la sangre, implica que el balance entre su secreción y catabolismo sea esencial en su efecto sobre el sistema inmune.

Los niveles de endorfinas y encefalinas se encuentran incrementados en diversos estados tales como el estrés.

### **I.3.2.- GLUCOCORTICOIDES PRODUCIDOS POR LAS GLANDULAS SUPRARRENALES**

Los glucocorticoides producen involución linfoide y tienen una importante actividad antiinflamatoria e inmunosupresora (24). Entre algunos de los efectos de los glucocorticoides exógenos se incluyen: retraso en el crecimiento; linfopenia; incremento del catabolismo de inmunoglobulinas y por consiguiente una disminución de su concentración en suero; supresión de la formación de ciertos anticuerpos; inhibición del efecto coadyuvante de *Corynebacterium parvum* sobre la síntesis de IgM; prolongación del estado de tolerancia; inhibición del rechazo de alotrasplantes; retraso de la reacción de hipersensibilidad retardada; inhibición de la reacción de hipersensibilidad de contacto; inhibición de la generación de células citotóxicas efectoras; reducción de la reacción mixta de linfocitos, y de la generación de células T



cooperadoras; alteración de la recirculación de los linfocitos; y depresión de la actividad NK (24, 75, 225-227).

Los glucocorticoides afectan también *in vivo* e *in vitro* a la función de monocitos y macrófagos incluyendo disminución de: número de monocitos circulantes; expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II; fagocitosis y muerte intracelular de ciertos microorganismos; producción y secreción de citocinas; citotoxicidad de macrófagos tratados con IFN; número de células de Langerhans; biosíntesis de algunos componentes del complemento; expresión del receptor para el fragmento Fc de las inmunoglobulinas; quimiotaxis; presentación del antígeno; y producción de mediadores de la inflamación como el activador del plasminógeno, elastasa y colagenasa (24, 225). No obstante, debemos resaltar que, mientras que a bajas concentraciones, los glucocorticoides ejercen un efecto estimulador sobre ciertos parámetros inmunitarios, a concentraciones elevadas aparece su efecto inhibitor.

La evidencia de que los esteroides suprarrenales juegan un importante papel *in vivo* sobre el sistema inmunitario se ha confirmado con experimentos, relativamente recientes, que demuestran la actividad inmunorreguladora de estas sustancias sobre las citocinas. Es conocido que en situaciones de estrés, se activa el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal. Al menos, algunas formas de estrés están asociadas a alteraciones inmunes, como un incremento en la susceptibilidad a infecciones y neoplasias. La inmunosupresión inducida por un estado de estrés ha sido observada tanto en animales adrenalectomizados como en animales intactos (165).

Besedovsky et al. (33, 38, 39) han observado una transitoria elevación de corticosterona en suero de ratones y ratas en el momento de máxima respuesta de anticuerpos, tras la administración de productos procedentes de linfocitos T activados por concanavalina A (Con A). Estos autores propusieron que la superproducción de anticuerpos por efecto de glucocorticoides puede explicarse por el fenómeno de competición antigénica. La adrenalectomía anula



parcialmente este fenómeno (32) y está también asociada con un aumento de la actividad de las células B (80). Estos hechos permiten establecer la hipótesis de que el propio sistema inmune puede regular el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal por medio de citocinas liberadas por monocitos activados (28). Esta teoría, se reforzó al comprobarse que la IL-1 estimula la secreción del factor liberador de corticotropa (CRH) hipotalámico (262) e incrementa la concentración plasmática de ACTH (36).

Además de bloquear la producción de IL-1 a nivel de la transcripción y translocación (169, 177, 185), los glucocorticoides actúan sobre otras citocinas (225, 226) como el factor necrotizante de tumores (TNF) (40), IL-2, IFN-gamma (17, 120, 131), IL-3 y el factor estimulante de colonias de granulocitos (GM-CSF) (73). Estas observaciones explican algunos de los efectos inmunosupresores de los glucocorticoides, aunque la supresión de la producción de citocinas puede no ser la responsable directa de otros efectos como del de la inhibición de las células con actividad NK (143).

**I.4.- INTERACCION ENTRE LOS SISTEMAS NERVIOSO E INMUNE**

De la misma manera que se va conociendo mejor la compleja estructura del sistema inmune, cada vez más también se incrementan nuestros conocimientos sobre las interacciones con otros sistemas, especialmente con los sistemas endocrino y nervioso. Algunos autores afirman que el sistema inmune debe ser considerado como un órgano sensorial interno que reconoce, de forma no cognocitiva, estímulos como bacterias, virus y otros antígenos y da su información al sistema neuroendocrino por medio de factores liberados por las células inmunocompetentes (42).

Desde hace tiempo existen evidencias científicas que relacionan el estado de ánimo y la respuesta inmune, algunos de las cuales ya han sido comentadas anteriormente en esta Memoria. Sin embargo, a veces uno de los mejores caminos para demostrar la interacción entre el SNC y la respuesta inmune, es el estudio de la lesión en uno de los sistemas y realizar el análisis de la función del otro. De las dos alternativas posibles, la más utilizada es la de observar el efecto que las



lesiones cerebrales, producen en el sistema inmune.

Como resultado de la lesión del hipotálamo, se producen cambios en el número de células de los órganos linfoides y en la modulación de la respuesta inmune. Las lesiones en el hipotálamo anterior y ventromedial, producen una disminución en el número de células nucleadas en bazo y timo (51, 258). Si la lesión es en el hipotálamo anterior, se ha detectado una disminución de la respuesta linfoproliferativa estimulada por mitógenos.

Las lesiones en el hipocampo y complejo amigdaloides, producen un incremento de la respuesta linfoproliferativa y número de timocitos. Tanto los efectos supresores como estimuladores, vuelven a la normalidad a los 14 días después de la lesión. Es interesante destacar que la hipofisectomía elimina tanto los efectos inhibidores como los activadores de las lesiones neurológicas (258), lo que nos indica que las hormonas neuroendocrinas están implicadas en la modulación de la respuesta inmune.

Otros cambios inmunológicos que se han observado, tras una lesión neurológica, es la disminución de los mecanismos de defensa del hospedador frente a tumores. En ratones, la destrucción de la región tuberoinfundibular del hipotálamo produce un incremento de la tasa de crecimiento de tumores. La destrucción de las regiones ventromedial, dorsomedial y núcleo arqueado del hipotálamo, elimina la actividad NK en ratones (109). Sin embargo estas lesiones no afectan a la función de otras células inmunocompetentes. En estudios en los que se producen lesiones en el cerebro de embriones de pollo, se observa también alteración de la respuesta inmune, especialmente a nivel de la actividad secretora de las células del epitelio tímico. Estos resultados nos indican que la comunicación entre el SNC y el sistema inmune funciona ya durante la embriogénesis (153).

Existen evidencias de que una respuesta inmune activa, produce una alteración de la actividad neuronal en ciertas áreas del cerebro. La estimulación antigénica produce una modificación de la descarga neuronal en el núcleo específico del hipotálamo (38).



Se ha estudiado la actividad de neuronas individuales en los núcleos ventromedial y anterior del hipotálamo, después de la inmunización de ratas con hematíes de carnero ó TNP-hemocianina. Un día después de la inmunización, no se detectan células formadoras de anticuerpo (AFCs) en el bazo, ni cambios medibles en el rango de descarga de las neuronas. Sin embargo a los 5 días de la inmunización con hematíes de carnero, se alcanza el valor máximo en el número de AFCs en el bazo y se incrementa tres veces el rango de descarga de las neuronas en el núcleo ventromedial del hipotálamo. No se observan cambios en la intensidad de la descarga de las neuronas pertenecientes al núcleo anterior del hipotálamo. En el caso de la inmunización con TNP-hemocianina, el incremento de la descarga de las neuronas del núcleo ventromedial es 2 veces su valor basal. Los animales que no responden inmunológicamente a estas inmunizaciones, por el contrario, no presentan cambios apreciables en la actividad de las neuronas. Estos hechos indican la existencia de una inmunoregulación externa del hipotálamo sobre la respuesta inmune (38).

## INTRODUCCION

Utilizando ratones inmunizados con hematíes de carnero, también se ha demostrado un significativo descenso en los niveles de noradrenalina en el núcleo paraventricular del hipotálamo, pero no en el núcleo supraóptico, coincidiendo con el momento en el que existe un mayor número de AFCs esplénicas, pero no antes ni después (97). Estos autores consideran como importante el hecho de que los cambios de noradrenalina, estén localizados en el lugar clave del núcleo que regula el sistema nervioso autónomo y por tanto los flujos neuroendocrinos y autónomos.

En suma, parece que el SNC puede tener una influencia reguladora sobre el sistema inmune y a la inversa, que el sistema inmune puede influir sobre las funciones del SNC. La comunicación entre el SNC y el inmune puede ocurrir via inervación de los órganos linfoides, neurohormonas, hormonas endocrinas influidas por aquellas o por neuropéptidos como las encefalinas y endorfinas. La comunicación inversa, presumiblemente podrá estar mediada vía productos celulares como linfocinas y monocinas.



El SNC tiene dos posibles rutas para contactar y regular las estructuras periféricas y la musculatura esquelética: vía neuroendocrina y vía autonómica. Ambas vías tienen moléculas biológicamente activas capaces de interaccionar con células del sistema inmune y modular sus respuestas (24, 26, 99, 188).

El sistema nervioso autónomo, particularmente las terminaciones noradrenérgicas simpáticas postganglionares inervan la musculatura lisa de los órganos linfoides (104, 106). En los años 70 se estableció la existencia de receptores adrenérgicos y de otros neurotransmisores en linfocitos, monocitos/macrófagos y granulocitos (1, 97). Recientemente se ha demostrado, además, la inervación autonómica de los órganos linfoides con fibras nerviosas en contacto directo con linfocitos (105, 106). Por tanto, los neurotransmisores pueden ser útiles tanto como secreciones paracrinas como mediadores sinápticos en la interacción con los receptores presentes en las células inmunitarias. (97, 98, 100).

**I.4.1.- INERVACION DE LOS ORGANOS LINFOIDES**

Tanto los órganos linfoides primarios, médula ósea y timo, como los secundarios, bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide no encapsulado (asociados al tracto genitourinario, respiratorio e intestinal), están inervados por fibras nerviosas simpáticas postganglionares noradrenérgicas (NA). Así mismo, el timo, bazo, ganglios y tejido linfoide no encapsulado asociado al intestino también poseen fibras nerviosas peptidérgicas (103).

**I.4.1.1.- ORGANOS LINFOIDES PRIMARIOS**

En la médula ósea existen fibras nerviosas con terminaciones libres entre los elementos hematopoyéticos (57, 85, 186, 211, 281). Utilizando catecolaminas fluorescentes pueden observarse plexos de fibras NA asociadas al sistema vascular de la médula y distribuidas hacia el parénquima (97, 99, 103, 104, 188). Diferentes estudios sugieren que el papel de la norepinefrina (NE) en la médula ósea sería la de producir una estimulación simpática que liberase



células desde la médula hasta el torrente circulatorio (85, 293), algo similar a la función de los órganos linfoides secundarios. La estimulación del receptor beta de la adrenalina activaría a las células "madre" para entrar en el ciclo celular (100), lo que indica que la función clave de este tipo de células: proliferación, diferenciación y migración, puede responder a una neuromodulación noradrenérgica.

El timo recibe la inervación NA de neuronas del ganglio cervical y de la cadena simpática superior (54, 232). Estas fibras penetran en el timo junto con los vasos, se distribuyen por la cápsula y finalmente llegan al córtex, donde se dispersan, siempre asociados a los vasos sanguíneos hasta penetrar en la unión córtico-medular. Algunas fibras se alejan de los vasos sanguíneos y finalizan entre los timocitos. La médula y las zonas epiteliales están asociadas mucho más dispersamente, pero siempre las fibras nerviosas suelen situarse junto al tejido vascular. La inervación NA del timo en el ratón se efectúa prenatalmente, anterior a la inervación de los órganos linfoides secundarios. Los timocitos que poseen beta-adrenoreceptores, responden

a las catecolaminas mediante inhibición de la proliferación y expresión de los antígenos de diferenciación de la superficie celular (63, 119, 201). Se han descrito incrementos de la proliferación *in vitro* de timocitos procedentes de ratas de 10 días de edad y simpatectomizadas (97, 188, 189). Estos datos sugieren que, al igual que las células "madre" pluripotenciales de la médula ósea, los timocitos bajo estimulación simpática NA proliferan, se diferencian y migran.

También se ha estudiado la inervación del timo cuando involuciona con la edad. Cuando el córtex se retrae, las fibras NA conservan su compartimentación y contenido en neurotransmisores, alcanzando una estructura muy compacta. Con la edad se incrementa el efecto de la NE que inhibe la proliferación y aumenta la diferenciación de los timocitos. Con respecto a otros tipos de fibras nerviosas, se ha observado la no existencia de inervación colinérgica en el timo (96). En cuanto a la presencia de otros neuropéptidos en el timo, algunos autores han encontrado indicios de sustancias similares al VIP en la corteza tímica (99).



Además, se han localizado en los compartimentos no neurales del timo oxitocina y vasopresina (63, 118, 119, 201); también se ha puesto de manifiesto la presencia de la sustancia P o somatostatina, del péptido asociado a los genes de la calcitonina (CGRP) y del neuropéptido Y, en el timo. Los timocitos y linfocitos poseen receptores para numerosos neuropéptidos, lo que nos indica el papel que estas sustancias y, en general, el sistema nervioso juegan en la modulación de la respuesta inmunitaria.

#### **I.4.1.2.- ORGANOS LINFOIDES SECUNDARIOS**

Las fibras simpáticas NA parten generalmente de los ganglios del complejo ganglional mesentérico/celíaco, que reciben sus impulsos de los cuerpos celulares en la columna celular intermediolateral T6-T12 de la columna vertebral de la rata (22, 97, 104). Las fibras NA viajan con el nervio esplénico, penetran en el bazo y se distribuyen a diferentes lugares: cápsula; sistema trabecular de la musculatura lisa, que juega un importante papel en la capacidad contráctil del bazo; grandes vasos; y pulpa

## INTRODUCCION

blanca del bazo (2 - 4, 95, 97, 99, 104, 188, 297). La mayoría de las fibras se distribuyen por el sistema trabecular y por la pulpa blanca. En este último caso, las fibras siguen el sistema arteriolar central hacia el parénquima dirigiéndose a: envuelta periarteriolar (PALS), que rodea el sistema arteriolar central, donde se encuentra un gran número de linfocitos T cooperadores y supresores; seno marginal, donde residen macrófagos presentadores del antígeno, y en la zona marginal donde se localizan linfocitos B y macrófagos; y a lo largo del borde de la zona parafolicular, donde existen linfocitos B (1, 4). Las terminaciones nerviosas NA, contactan con linfocitos T y macrófagos en el PALS (97, 103 - 106).

Las fibras que utilizan como neurotransmisores la sustancia P (SP) que se encuentran en el bazo, rodean las arterias centrales y los grandes senos venosos, extendiéndose tanto hacia la pulpa roja como al PALS (99, 190). Suelen ser fibras sensoriales, pero también pueden participar de la inervación autónoma. Las fibras que contienen el neurotransmisor Y en el hígado presentan una distribución muy parecida a las fibras NA



(101, 103, 117). Otros neurotransmisores que pueden encontrarse en el bazo son: neurotensina, VIP y otros (99, 117, 191). A la vista de la gran variedad de receptores para éstos y otros neurotransmisores que se encuentran en linfocitos, monocitos/macrófagos, granulocitos y otros tipos celulares, las posibilidades de que péptidos de origen neurológico interaccionen con estas células inmunocompetentes, incrementa de forma considerable las posibles interacciones que puedan existir entre el sistema nervioso y el inmunitario.

Los ganglios linfoides presentan numerosas fibras NA que se distribuyen dentro del nódulo linfoide junto a los vasos sanguíneos (97, 99, 101, 103, 104, 125, 188), extendiéndose por la unión cortico-medular hacia la zona procortical, finalizando muchos de ellos entre los linfocitos T del ganglio. Una comparación con la compartimentación del bazo, muestra numerosas similitudes funcionales: (a) lugar de entrada: zona marginal del bazo, unión córtico-medular del ganglio; (b) lugar de captura del antígeno: seno y zona marginal del bazo, zona subcapsular del ganglio linfoide ; (c) lugar de presentación del antígeno y activación de los

linfocitos T: PALS esplénico, paracórtex ganglionar;  
(d) presentación del antígeno y activación de  
linfocitos B: zona marginal/parafolicular del bazo,  
cordón medular del ganglio; (e) lugar de salida de los  
linfocitos: zona externa marginal y seno medular  
ganglionar (1, 3, 97).

Como representantes del tejido linfoide no encapsulado asociado al intestino, podemos destacar el apéndice en conejos y las placas de Peyer en distintas especies. En ambos, el modelo de inervación por fibras NA son similares (97, 99, 102 - 104, 155, 188). Estas fibras salen de los ganglios mesentéricos y se distribuyen como plexos de fibras junto con las fibras de la musculatura lisa hacia la superficie de las mucosas. Las fibras contactan sin ramificarse con las zonas donde se encuentran los linfocitos B y luego se orientan hacia la zona donde están ubicados los linfocitos T, penetrando en la lámina propia sus terminaciones que llegan a contactar con los componentes celulares, incluyendo algunos linfocitos, mastocitos y otras células. Las fibras NA se extienden hacia la región subepitelial pero nunca hacia el lumen.



Existen fuertes evidencias de la existencia de neuropéptidos en el sistema nervioso entérico (205). Estos péptidos contribuyen a modular de alguna manera la respuesta inmune. Así, se ha descrito un plexo de fibras VIP, próximo a las vénulas postcapilares, lugar de entrada de linfocitos con receptores VIP (239, 240) lo que modifica la recirculación de estas células (238, 239). Estas fibras juegan un importante papel en la entrada y retención de linfocitos en el GALT.

#### **I.4.2.- POTENCIALES INTERACCIONES ENTRE NEUROTRANSMISORES Y CELULAS INMUNITARIAS**

La presencia de fibras nerviosas en el parénquima de los órganos linfoides, y la capacidad que tienen los neurotransmisores para interactuar con las células inmunitarias añaden una nueva dimensión al estudio del efecto del microambiente donde se desarrollan este tipo de células. El ambiente esplénico contiene secreciones paracrinas, endocrinas y autocrinas y también productos liberados por las fibras nerviosas. El ambiente paracrino está constituido por citocinas liberadas por células accesorias (serotonina, histamina,

prostaglandinas y otros péptidos producidos por linfocitos) (43 - 45, 283). El ambiente endocrino incluye hormonas secretadas por la hipófisis (ACTH, endorfinas, GH, PRL, LH, FSH y TSH), por otras glándulas (glucocorticoides, esteroides sexuales, hormonas tiroideas, etc.), y por órganos del propio sistema inmune (timosinas) (136, 137). Los neurotransmisores representan señales adicionales moleculares dirigidas hacia las células inmunes. Está claro que los neurotransmisores como la norepinefrina y algunos otros neuropéptidos están presentes en condiciones fisiológicamente adecuadas como para interactuar con las células que están próximas a ellos. La presencia de terminaciones nerviosas en contacto directo con los linfocitos y macrófagos añade una nueva forma de comunicación que puede ser más directa y discreta que la paracrina y puede sobreponerse a la misma.

Las distintas formas de comunicación no ocurren por separado, sino que interactúan unas con otras. Las hormonas pueden alterar la expresión de los receptores para los neurotransmisores. Estos pueden



alterar la respuesta de hormonas y citocinas al interaccionar con linfocitos y macrófagos (31, 35, 81). Está muy claro que existen mecanismos de regulación entre el sistema nervioso y el inmunitario (36, 37, 59, 86). La unión más representativa puede ser el canal de comunicación que comprende CRH-ACTH-glucocorticoides-células linfoides-linfocinas-sistema nervioso central. La IL-1 se ha propuesto como una citocina ligada a este circuito debido a su efecto sobre las neuronas CRH y sobre el metabolismo de monoaminas relacionado con el eje CRH-ACTH-glucocorticoides. Los circuitos cortos de intercorrelación están representados por las secreciones de neurotransmisores, por parte de terminaciones nerviosas que se encuentran a 6 nm de distancia de los linfocitos, los cuales liberan linfocinas que interaccionan con el terminal para alterar el metabolismo del neurotransmisor (105, 106).

Las interacciones entre los neurotransmisores y las células inmunocompetentes es muy amplia. El número y la complejidad de la interacción directa entre un neurotransmisor simple como la NE y las células linfoides es considerable (1, 97, 99, 100). Los

neurotransmisores también pueden actuar indirectamente a través de la liberación de otras moléculas que actúan como señal y así sean intermediarios entre la terminal nerviosa y los linfocitos o macrófagos (49, 101). Los neurotransmisores pueden alterar el flujo sanguíneo, la permeabilidad vascular, el tráfico de linfocitos a alguna zona especial del sistema vascular. Los neurotransmisores pueden modular la actividad, expresión, o acción de otros neurotransmisores, hormonas, citocinas y sus receptores. Por esto, actúan como verdaderos neuromoduladores (sustancias neurológicas que por sí mismas tienen un efecto mínimo, pero que potencian el efecto de otras moléculas neuroactivas).

El efecto de los neurotransmisores con los linfocitos puede producir: proliferación; diferenciación; activación o inactivación; alteración en la expresión de receptores (receptores para el antígeno en linfocitos T y B, receptores para citocinas, receptores para otros neurotransmisores); secreción de moléculas específicas (anticuerpos, citocinas); migración o alteración del tráfico celular;



regulación de productos del MHC. Estas son sólo algunas de las posibles respuestas a la interacción de las células inmunocompetentes con los neurotransmisores. Sin embargo, como hemos visto con anterioridad, los distintos órganos linfoides, primarios y secundarios, también sufren la modulación por estas moléculas, por ello, la capacidad de respuesta a la interacción neurotransmisores-sistema inmunitario es verdaderamente compleja.

#### **I.4.3.- CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA RESPUESTA INMUNE**

El estrés altera la homeostasis y por tanto el equilibrio hormonal, que posee, como hemos visto anteriormente, un importante impacto sobre la respuesta inmune. Conceptualmente el **status** inmunitario, inmunosupresión frente a inmunoestimulación, depende en gran medida del balance de este equilibrio tras los cambios producidos por la alteración nerviosa.

Las neurohormonas llegan a los tejidos y células dianas por medio del plasma. En la superficie de las células inmunocompetentes se han identificado una serie

de receptores para diferentes factores neuroendocrinos. Entre éstos podemos citar los de ACTH (295), péptido intestinal vasoactivo (VIP), sustancia P, GH (170), PRL (30), hormonas esteroideas (65), catecolaminas (241), acetilcolina (65) y varios factores liberadores de hormonas (295); además se han encontrado también receptores para los opioides endógenos en: linfocitos, monocitos, granulocitos, plaquetas y en los complejos terminales del complemento (229). La interacción entre los factores neuroendocrinos y sus receptores en las células inmunocompetentes, pueden alterar la actividad celular por la activación de una serie de segundos mensajeros, entre los que se incluyen el AMPc y el GMPc. Los factores neuroendocrinos pueden también modular la respuesta inmune indirectamente al actuar sobre la producción o actividad de las linfoquinas (228, 236, 157).

A modo de resumen, esquematizamos a continuación el efecto sobre el sistema inmunitario de algunos neurotransmisores y hormonas.



-Glucocorticoides: suprimen la producción de anticuerpos, la actividad NK, y la producción de citocinas.

-Catecolaminas: Suprimen la proliferación de linfocitos estimulada por mitógenos.

-Acetilcolina: Incrementa el número de linfocitos y macrófagos en médula ósea.

-Hormonas sexuales: Modulan la transformación de linfocitos y la respuesta del cultivo mixto de linfocitos.

-Beta-endorfinas: Modulan, generalmente incrementando, la síntesis de anticuerpos, y la activación de linfocitos T y macrófagos.

-Encefalinas: A dosis bajas, incrementan la activación de células T, a dosis altas la inhiben.

-Dinorfina: Estimula la activación de células T por acción de la PHA.

-Tiroxina: Estimula la activación de células T y de las células formadoras de anticuerpos.

-Prolactina: Incrementa la activación de macrófagos y la producción de IL-2.

-Hormona del crecimiento: Aumenta la síntesis de anticuerpos, la activación de macrófagos y modula la

producción de IL-2.

-Vasopresina y Oxitocina: Incrementan la proliferación de células T.

-VIP: Modula la producción de citocinas.

-Melatonina: aumenta la síntesis de anticuerpos e incrementa la respuesta del cultivo mixto de linfocitos.

-ACTH: Modula, generalmente incrementando, la producción de citocinas, actividad NK, síntesis de anticuerpos, y activación de macrófagos.

-Somatostatina: Modula, fundamentalmente disminuyendo, la respuesta proliferativa de los linfocitos y el número de células formadoras de placas hemolíticas.



### **I.5.- ALTERACION DE LOS PARAMETROS INMUNITARIOS EN LAS ENFERMEDADES PSIQUIATRICAS**

Las enfermedades psiquiátricas, en general, están asociadas a estados de inmunosupresión determinados tanto *in vivo* como *in vitro* (154). Experimentalmente, la respuesta inmune puede ser deprimida utilizando técnicas psicológicas como la meditación o la hipnosis (41). La disminución de la respuesta inmune puede aparecer como consecuencia no sólo de la patología psiquiátrica en sí misma, sino por efecto del tratamiento o por los cambios en el comportamiento del enfermo que favorecen los estados de inmunosupresión, como ocurre en los enfermos con síndromes anoréxicos.

Sin embargo, no sólo la respuesta inmune puede alterarse por la presencia de una enfermedad psiquiátrica sino que, incluso las variaciones en el estado emocional pueden también modificarla, haciendo a la persona que la sufre mucho más susceptible a las enfermedades (195).

**I.5.1.- ESTRES**

El estrés provoca en las personas que lo sufren una disminución de la actividad de las células con actividad NK (146, 171). En modelos experimentales, ratones sometidos a tratamientos estresantes presentan una atrofia tímica, así como una disminución significativa en el número de células T y en la actividad de estas células con función supresora/citotóxica (289). A nivel de los fagocitos polimorfonucleares de sangre periférica también aparecen en estos ratones una disminución de su actividad medida mediante técnicas de quimioluminiscencia (263).

**I.5.2.- DEPRESION**

Otros enfermos psiquiátricos con alteraciones en los parámetros inmunitarios, son los que presentan un estado de depresión. Aproximadamente el 50% de este tipo de enfermos, presentan un incremento de la actividad del eje hipotálamo-hipofisis-cápsulas suprarrenales (298) y como consecuencia de ello,



aparece una hipercortisolemia, que muchos autores la consideran como la auténtica responsable de la inmunosupresión que presentan este tipo de enfermos (61, 187), y cuya explicación pudiera ser la presencia de receptores para el cortisol en la membrana de las células mononucleares de sangre periférica (75).

Los resultados de las investigaciones encaminadas a poner de manifiesto el estado inmunitario, a veces, no son concordantes entre sí; lo que parece probado es que en estos enfermos existe una disminución de la actividad NK (69, 126, 142, 148, 149, 171). El fracaso funcional de las células responsables de esta fundamental función de inmuno-vigilancia, hace que estos enfermos presenten un incremento en la frecuencia de enfermedades de origen tumoral y viral, lo que les disminuye su ya deteriorada calidad de vida (78). La mayoría de los autores describen también una disminución en la respuesta linfoproliferativa a mitógenos específicos (142, 145, 148, 179, 268). Por el contrario, otros autores no han confirmado esta disminución (15).

Otros parámetros inmunitarios, que se han encontrado disminuidos en enfermos depresivos son: porcentaje de linfocitos T y B (267); y respuesta de hipersensibilidad retardada (78).

Por el contrario, se han descrito incrementos de los siguientes parámetros inmunitarios: número de macrófagos con receptor para el fragmento Fc de la IgG (69); recuento de leucocitos, linfocitos, y monocitos de sangre periférica (77); presencia de receptores primarios de activación, CD7 y CD25 en las células T (194); y proteínas de fase aguda (196).

Finalmente, y para mostrar la existencia de resultados contradictorios en la determinación de los valores de algunos parámetros inmunitarios en enfermos con depresión, podemos citar la relación de linfocitos T CD4/CD8, que algunos autores la encuentran incrementada (145), otros disminuida (142) y otros autores no encuentran variación con respecto a la población control (56, 15); el recuento de linfocitos T CD8, que algunos autores lo han descrito incrementado (145), mientras que otros describen un descenso del



mismo (69); y el recuento de neutrófilos, que diversos autores que lo han encontrado aumentado (142) y otros disminuido (77).

Dado que está confirmada la estrecha correlación entre la depresión y una disminución de la actividad NK, algunos autores han propuesto que esta disminución sea utilizada como marcador para establecer la presencia de un estado de depresión (195).

#### **I.5.3.- ESQUIZOFRENIA**

Aunque en un principio, la valoración del estado inmunitario en enfermos con alteraciones psiquiátricas, se centró fundamentalmente en los sujetos sometidos a estados depresivos o de estrés, posteriormente algunos investigadores se dedicaron a estudiar, de forma parcial, distintos parámetros inmunitarios en enfermos esquizofrénicos.

Si bien es cierto que algunos de los valores obtenidos para determinados parámetros inmunitarios por distintos equipos de investigación, no son concordantes

entre sí, existe una cierta uniformidad a la hora de establecer que en los enfermos esquizofrénicos se encuentran incrementados: la actividad NK (18); recuento de linfocitos B (82, 203) y linfocitos T cooperadores (221, 222, 291) en sangre periférica; y la capacidad de anular el efecto de la activación de linfocitos T supresores inducida por la Con A.

Por el contrario, se han encontrado disminuidos en estos enfermos: producción de IL-2 (113, 291) y la capacidad linfoproliferativa inducida por PHA, aunque este último parámetro sólo en esquizofrénicos crónicos hospitalizados (214).

Existe, finalmente, una serie de parámetros que distintos equipos han descrito con resultados contradictorios entre sí, como ocurre con la producción de IFN, que algunos la han encontrado incrementada (18) y otros disminuida (215); recuento de linfocitos de sangre periférica, con valores superiores a los de la población control (82) y otros autores lo han encontrado inferiores (66, 233); y finalmente la cifra de linfocitos T supresores, que algunos autores la han



## INTRODUCCION

referido como incrementada (82), mientras que otros la han encontrado disminuida (291).

**I.6.- ETIOLOGIA DE LA ESQUIZOFRENIA**

Aunque no es objeto de esta memoria dilucidar sobre la causa de la esquizofrenia, no podemos evitar la tentación de, al menos, comentar a grandes rasgos las hipótesis que con mayor insistencia se reflejan en la bibliografía especializada. Si bién es cierto que el origen de la enfermedad permanece desconocido, dos son las teorías que con mayor énfasis se citan para explicar el proceso de aparición de la esquizofrenia.

De una parte, existen investigadores para los que esta enfermedad puede ser el resultado directo de la infección activa de un agente patógeno, especialmente un virus. Por otro lado, distintos autores proponen que la esquizofrenia puede originarse como consecuencia de una reacción inmunológica, quizás originada ante una infección vírica alterada, que daña el tejido cerebral, y por tanto, consideran a la esquizofrenia como una enfermedad autoinmune.

La hipótesis de la etiología únicamente viral, es la más antigua, ya que en 1845 Esquirol, enuncia que



algunas alteraciones psiquiátricas, entre las que destacaba a la esquizofrenia, aparecen en algunos casos de forma "epidémica". En años posteriores, 1919, 1926 y 1928, el investigador americano Menninger describe un incremento de los casos de esquizofrenia en enfermos de las pandemias de gripe que aparecieron tras la I Guerra Mundial (175).

Entre los investigadores contemporáneos, la hipótesis viral resulta muy atractiva, debido al neurotropismo de algunos virus, especialmente algunos miembros de la familia **Herpesviridae**. Algunos investigadores han descrito en esquizofrénicos títulos superiores a los que presenta la población normal, de anticuerpos frente al virus del herpes simple (18, 58, 130, 181) y otros virus (18), además algunos autores encuentran en estos enfermos una menor capacidad de producción de interferón (IFN) (215) y una disminución de linfocitos T (66, 233) indicadores, según los autores, de una infección viral.

Otros potenciales agentes víricos, causantes de la esquizofrenia, podrían ser algunos virus "no

## INTRODUCCION

convencionales" similares a los causantes de Kuru y de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, que son responsables de producir síndromes neurovegetativos, o ciertos retrovirus encontrado en algunos casos en tejidos de cerebro procedente de este tipo de enfermos (175).

Pero no sólo el efecto citopático de la infección vírica es el candidato para la etiología de la esquizofrenia, sino que algunos investigadores apuntan la posibilidad de que algunas proteínas víricas podrían actuar como neurotransmisores, alterando la correcta función cerebral y produciéndose de esta manera la enfermedad (245). Otro posible mecanismo de aparición de la enfermedad, sería la de un virus latente integrado en las células del tejido nervioso que se activaría como consecuencia de la aparición de alguna señal. Algunos autores han propuesto que la señal activadora sería el propio IFN-alfa, originado como consecuencia de las infecciones por otros virus (292). Otra posibilidad apuntada es la de la interferencia del genoma vírico con el de la célula hospedadora, que podría alterar la funcionabilidad de ésta. De cualquier



## INTRODUCCION

forma debemos destacar que los resultados obtenidos en las investigaciones encaminadas a establecer la etiología viral de la esquizofrenia no son, hasta el momento, concluyentes.

En cuanto a la hipótesis de una etiología autoinmune de la esquizofrenia, los resultados existentes tampoco aportan una solución definitiva. Los primeros datos en apoyo de esta hipótesis se basan en el hallazgo de Lehmann-Facijs en 1937 (175) que describió la existencia de una reacción inmune frente a tejido cerebral en enfermos de esquizofrenia. Hoy son numerosos los autores que parecen inclinarse hacia la teoría autoinmune de la causa de esta enfermedad, (115, 176) ya que en algunos casos se han encontrado indicios de la presencia de alteraciones inmunológicas tales como una relativa alta prevalencia de autoanticuerpos en enfermos esquizofrénicos (76, 83, 116). En algunos casos dichos anticuerpos reaccionaron con tejido cerebral (116). También se ha descrito un descenso en la producción de IL-2, tras estimulación con PHA ó ConA (279) en esquizofrénicos en fase aguda, producción que vuelve a niveles de normalidad cuando dicho enfermo

se encuentra en períodos de remisión (113). Otras anomalías inmunológicas asociadas a procesos autoinmunes, que también se han observado en enfermos esquizofrénicos son los siguientes: altos niveles de inmunoglobulinas séricas, anomalías morfológicas de linfocitos y disminución de la respuesta linfoproliferativa a ciertos mitógenos como PHA y PWM (115).

Sin embargo, y a pesar de lo anteriormente expuesto, existen importantes dudas con respecto a esta segunda hipótesis. En cualquier caso, es necesario no olvidar otras causas como una cierta predisposición genética. Tal vez la esquizofrenia sea el producto, al igual que otros procesos patológicos, de un cúmulo de circunstancias que por sí solas no sean capaces de originar esta enfermedad pero que en conjunto produzcan una serie de alteraciones en zonas específicas del SNC, como la corteza prefrontal o el lóbulo temporal, lugares en donde algunos autores han señalado, se produce la aparición de la esquizofrenia.



## **OBJETIVOS**

**II.- OBJETIVOS**

El sistema nervioso al igual que otros sistemas del organismo, puede actuar modulando, en sentido positivo o negativo, la respuesta inmune, tal y como anteriormente ha quedado reflejado en esta memoria. De todas las alteraciones de tipo nervioso, sólo la depresión y los estados de estrés, han sido objeto de análisis detallado para comprobar su efecto depresor sobre la respuesta inmunitaria.

La esquizofrenia está considerada como una alteración importante del sistema nervioso, y aunque en la bibliografía especializada, existen datos puntuales sobre la modificación de algunos parámetros inmunitarios en estos enfermos, dicha información es incompleta y en algunos casos los resultados mostrados por los distintos autores, no sólo no son concordantes entre sí, sino que en ocasiones son contradictorios.

El objetivo principal que nos proponemos alcanzar, es determinar si en los enfermos esquizofrénicos existe una alteración de la respuesta inmune. Para ello, hemos



**MATERIAL Y METODOS**

### III.- MATERIAL Y METODOS

#### III.1.- POBLACION OBJETO DE ESTUDIO

Se ha utilizado para este trabajo 30 enfermos diagnosticados de esquizofrenia, al menos doce meses antes del comienzo del estudio, siguiendo las pautas de la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE 10), con tratamiento psiquiátrico farmacológico ambulatorio en el Servicio de Psiquiatría del Hospital General de Especialidades "Ciudad de Jaén". Esta población está constituida por 9 mujeres y 21 hombres, de edades comprendidas entre 20 y 66 años.

La población control ha estado formada por 30 personas voluntarias, con una distribución igualitaria por sexos y con edades comprendidas entre 20 y 57 años. Para la valoración de los parámetros de actividad de las células inmunocompetentes sólo se utilizaron 15 de estas personas.

Tanto para el grupo de casos como para el de controles, el estudio se limitó a personas sin patología relevante previa; a excepción de la



esquizofrenia en la población de enfermos.

### III.2.- VALORACION DEL ESTADO GENERAL DE LA POBLACION

Para conocer el estado general de la población control y esquizofrénica, se realizaron determinaciones analíticas previas. Mediante métodos colorimétricos convencionales (Autoanalizador Hitachi-717) se determinaron los siguientes parámetros séricos: glucosa, urea, creatinina, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, calcio, fósforo, hierro, proteínas totales, fosfatasa alcalina, gamma-GT, GOT, GPT, bilirrubina total, directa e indirecta y amilasa. Utilizando técnicas inmunonefelométricas automatizadas (Behring BN-100) se valoró, en suero, la concentración de proteína C reactiva, para descartar procesos inflamatorios agudos, así como los niveles de RBP, prealbúmina, albúmina, y transferrina como control del estado nutricional.

Finalmente también se determinaron, por medio de un analizador automático TECHNICON H-1, los siguientes parámetros hematológicos: leucocitos y fórmula leucocitaria, hematíes, hemoglobina, hematocrito y

plaquetas.

### **III.3.- DETERMINACION DE PROTEINAS INMUNOCOMPETENTES SERICAS**

La determinación de la concentración de los componentes C3 y C4 del sistema del complemento, así como las de las distintas inmunoglobulinas, IgG, IgM e IgA, se realizó mediante técnicas inmunonefelométricas (Behring BN-100).

### **III.4.- CUANTIFICACION DE LAS POBLACIONES LEUCOCITARIAS**

El recuento de leucocitos, linfocitos, neutrófilos y monocitos de sangre periférica, se efectuó mediante el analizador hematológico anteriormente citado. Las distintas subpoblaciones linfocitarias, B, T, CD4, CD8, y células con actividad NK, fueron determinadas por citofluorimetría (Coulter) y se emplearon los siguientes anticuerpos monoclonales para su identificación: B4, CD11, CD4, CD8, Y CD56 respectivamente.



**III.5.- VALORACION DE LA ACTIVIDAD DE LAS CELULAS  
INMUNOCOMPETENTES HEMATICAS**

La valoración del estado funcional de las distintas células inmunocompetentes requiere obviamente de una previa separación de las poblaciones celulares a partir de la sangre periférica que es la muestra clínica utilizada para este fin. El estado funcional de los linfocitos se ha analizado mediante el estudio de su capacidad de respuesta proliferativa en presencia de mitógenos. La actividad de las células fagocíticas hemáticas se ha determinado por medio de la técnica de la quimioluminiscencia. Así mismo y para completar el estudio del grado de activación celular se han valorado los niveles séricos de TNF-alfa.

**III.5.1.- SEPARACION Y OBTENCION DE LEUCOCITOS**

Los leucocitos fueron obtenidos a partir de sangre periférica, utilizando heparina sódica libre de conservantes (concentración final de 20 U/ml) como anticoagulante, tras centrifugación en gradiente con Ficoll-Hypaque de acuerdo con la técnica descrita por Boyum (50).

**III.5.1.1.- OBTENCION DE LINFOCITOS Y MONOCITOS**

Los monocitos son aislados a partir de la suspensión de células mononucleares, por su capacidad de adherencia a la superficie del plástico. Tras la obtención del anillo de células mononucleares, éstas son recogidas en un tubo de centrifuga conteniendo al menos 1 ml de solución salina equilibrada de Hanks (HBSS) a 4°C. Las células son lavadas con esta solución por centrifugación a 200 x g, durante 5 min. a 4°C, tres veces. La suspensión celular es ajustada con HBSS a una concentración de  $10^5$  células/ml, e incubadas en frascos de cultivo celular de 75 cm<sup>2</sup> a 37°C en atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% y con el 98% de humedad. El sobrenadante que contiene una población enriquecida en células linfocitarias, es recogido y mantenido a 4°C en un baño de hielo. Las células adheridas a la superficie de plástico del frasco, fundamentalmente monocitos, son despegadas por adición de EDTA al 0,02% en solución salina tamponada (PBS) a 4°C, manteniéndose la temperatura durante 5 min. con agitación vigorosa. La suspensión celular es lavada rápidamente con HBSS sin rojo fenol, por centrifugación a 200 x g a 4°C durante 5 min, 3 veces. Finalmente, la suspensión de monocitos



se ajusta a una concentración de  $10^6$  células/ml con HBSS sin rojo fenol.

**III.5.1.2.- OBTENCION DE POLIMORFONUCLEARES (PMNs)**

En la separación de leucocitos a partir de sangre periférica anteriormente descrita, los polimorfonucleares (PMNs) se localizan, junto con los hematíes en el fondo del tubo de centrifuga donde se efectúa la separación en gradiente con Ficoll-Hypaque. Para su aislamiento, el sedimento celular que contiene ambos tipos celulares, es resuspendido con dextrano al 6% en PBS hasta un volumen final igual al volumen inicial de sangre utilizada para la separación celular. Se deja sedimentar al menos durante 60 min. a 4°C. El sobrenadante, que contiene la población celular enriquecida en PMNs, se lava con HBSS sin rojo fenol por centrifugación a 200 x g durante 5 min a 4°C, tres veces. Finalmente la suspensión de PMNs se ajusta con esta solución a una concentración de  $10^6$  células/ml.

**III.5.2.- ENSAYO DE QUIMIOLUMINISCENCIA (QL)**

Hemos seguido la técnica descrita por Moeller-Larsen (212) con ligeras modificaciones. En un tubo Eppendorf de 1,5 ml se coloca 0,1 ml de la suspensión celular cuya actividad fagocítica se va a determinar. Las células son activadas por adición de 0,02 ml de una suspensión de Zymosan A, complejo procedente de la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae*, constituido por liposacáridos y glicoproteínas, a una concentración de 50 mg/ml en HBSS sin rojo fenol. Finalmente se le añades 0,07 ml de una solución de Luminol (5-amino 2,3-dihidro-1,4 ftalazinediona) en PBS a una concentración de 0,1 mg/ml.

La mezcla es incubada a 37°C durante 2 min y se mide la emisión de fotones en un contador de fotones (Beckman LS-1801) durante 0.1 min de forma secuencial, hasta 60 min. Para cada muestra analizada se dispone de un vial en el que en vez de Luminol se incorpora el mismo volumen de HBSS sin rojo fenol. El valor obtenido, expresado en cuentas por minuto (cpm), en este vial es considerado como "luminiscencia de fondo" y es restado de cada uno de los valores obtenidos por



el resto de viales.

### III.5.3.- RESPUESTA LINFOPROLIFERATIVA A MITOGENOS

Las células linfoides separadas por adherencia a la superficie de plástico, son lavadas con HBSS a 4°C por centrifugación a 200 x g durante 5 min, tres veces, el último sedimento es resuspendido con medio RPMI-1640 suplementado. Este medio contiene además de los nutrientes propios del medio, un 10% del suero bovino fetal, l-glutamina 200 mM al 1%, piruvato sódico 100 mM al 1% y 2-mercaptoetanol  $10^{-3}$  M al 1%.

La suspensión celular es ajustada a una concentración de  $10^7$  células/ml utilizando medio RPMI-1640 suplementado. En 25 pocillos de una placa de cultivo celular de 96 pocillos, agrupados en 5 columnas, se dispone 0,1 ml de la suspensión celular ajustada. Los pocillos de la primera columna reciben además 0,1 ml de medio RPMI-1640 suplementado. Los pocillos de la segunda columna reciben 0,1 ml de una solución de lipopolisacárido (LPS) de *E. coli* en medio RPMI-1640 suplementado a concentración de 0,025 mg/ml. En cada uno de los pocillos de la tercera columna se

## MATERIAL Y METODOS

incorpora 0,1 ml de una solución de Con A en el mismo medio a concentración de 0,01 mg/ml. Los pocillos de la cuarta columna reciben 0,1 ml de una solución de PHA a una concentración de 0,03 mg/ml en medio suplementado. Finalmente, en la última columna y en cada pocillo, se añade 0,1 ml de una solución de "pokeweed mitogen" (PWM) a una concentración de 0,03 mg/ml en medio RPMI-1640 suplementado.

La placa conteniendo las suspensiones celulares y los mitógenos, se incuba durante 72 h a 37°C en atmósfera con un 5% de CO<sub>2</sub> y un 98% de humedad.

La cuantificación de la proliferación celular se efectúa mediante la técnica colorimétrica descrita por Mosmann (219). El bromuro de 3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolio (MTT) se disuelve en PBS a una concentración de 5 mg/ml. La solución se filtra para esterilizarla y eliminar los residuos insolubles presentes. Transcurrida la incubación de las suspensiones celulares junto a los mitógenos, cada pocillo recibe 0.05 ml de la solución de MTT. La mezcla es incubada durante 4 h en las condiciones anteriormente citadas, tras la cual se añade a cada



pocillo 0,1 ml de ácido HCl 0,04 N en ácido isopropílico. Después de algunos minutos a temperatura ambiente para facilitar la resuspensión de todos los cristales formados, la placa es leída en un lector de ELISA, utilizando una longitud de onda de medida de 550 nm y una longitud de onda de referencia de 620 nm.

**III.5.4.- DETERMINACION SERICA DEL FACTOR  
NECROTIZANTE DE TUMORES (TNF-alfa)**

La determinación de la concentración sérica de TNF-alfa se ha efectuado mediante un kit comercial de la casa Chromogenix (COALIZA-TNF-alfa), basado en la técnica inmunoenzimática (ELISA). Para ello, se utiliza una placa de 96 pocillos cuyas paredes (fase sólida) están recubiertas con anticuerpos anti-TNF-alfa humano. Cada pocillo recibe 0,05 ml de la muestra diluida 1:2 y se incuba a 37°C durante 2 h. Posteriormente, se añade un anticuerpo monoclonal anti-TNF-alfa al que está unido la biotina, que se unirá al complejo TNF-alfa-anti-TNF-alfa que se encontraba en la fase sólida. Finalmente, se le añade una solución de estreptavidina conjugada con peroxidasa y tras incubación a 37°C durante 30 min la reacción se detiene por adición de

ácido sulfúrico y se mide la intensidad de la coloración azul a una longitud de onda de 450 nm.

### III.6.- TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS

El análisis estadístico de los resultados se efectuó con el programa Statgraphic ver. 5.0. Para cada grupo de medidas se ha realizado el cálculo de la media aritmética y desviación estándar. Previa a la comparación de medias entre grupos, fué necesario conocer la igualdad o desigualdad de las mismas. Una vez aceptadas la igualdad de las varianzas y la existencia de una distribución normal, se recurrió a la comparación de las medias mediante la función t de Student, localizando el correspondiente valor del nivel de significación. La diferencia entre los dos grupos de medidas se ha considerado estadísticamente significativa si el valor de significación es igual o inferior a 0,05, es decir, se ha exigido un grado de confianza del 95%.



## **RESULTADOS**

**IV.- RESULTADOS**

**IV.1.- DETERMINACIONES PREVIAS**

Tanto para el grupo de enfermos como en el de controles, la interpretación clínica de los resultados correspondientes a la determinaciones previas coincide con los criterios exigidos para la selección de la población objeto de nuestro estudio.

En ningún caso los resultados obtenidos han reflejado la presencia de procesos de desnutrición o de inflamación aguda, que pudieran alterar el estado inmunitario. Además, en el grupo de esquizofrénicos, los resultados analíticos previos no han revelado indicios de reacciones adversas, propias del tratamiento farmacológico al que se encuentran sometidos este tipo de pacientes.



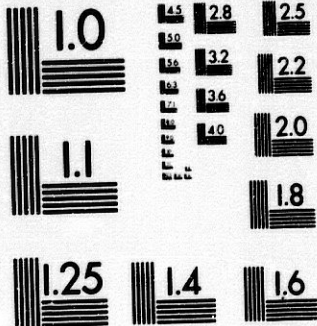
**IV.2.- DETERMINACION DE PARAMETROS INMUNITARIOS**

**IV.2.1.- CONCENTRACION DE PROTEINAS SERICAS CON  
ACTIVIDAD INMUNITARIA**

En el suero humano se encuentran presentes diferentes proteínas que desempeñan importantes funciones en la respuesta inmune, constituyendo parte, tanto de la respuesta constitutiva, el sistema del complemento, como de la respuesta adaptativa, las inmunoglobulinas (Igs), que representan la base de la respuesta inmune adaptativa humoral.

**IV.2.1.1.- COMPONENTES C3 Y C4 DEL SISTEMA DEL  
COMPLEMENTO**

Los componentes C3 y C4 del complemento son los más utilizados en la determinación rutinaria de las concentraciones de este conjunto de proteínas séricas de actividad citolítica y que además juegan un importante papel en los procesos inflamatorios, quimiotácticos y de opsonización.



MICROCOPY RESOLUTION TEST CHART  
 NATIONAL BUREAU OF STANDARDS  
 STANDARD REFERENCE MATERIAL 1010a  
 (ANSI and ISO TEST CHART No. 2)



**IV.2.- DETERMINACION DE PARAMETROS INMUNITARIOS****IV.2.1.- CONCENTRACION DE PROTEINAS SERICAS CON  
ACTIVIDAD INMUNITARIA**

En el suero humano se encuentran presentes diferentes proteínas que desempeñan importantes funciones en la respuesta inmune, constituyendo parte, tanto de la respuesta constitutiva, el sistema del complemento, como de la respuesta adaptativa, las inmunoglobulinas (Igs), que representan la base de la respuesta inmune adaptativa humoral.

**IV.2.1.1.- COMPONENTES C3 Y C4 DEL SISTEMA DEL  
COMPLEMENTO**

Los componentes C3 y C4 del complemento son los más utilizados en la determinación rutinaria de las concentraciones de este conjunto de proteínas séricas de actividad citolítica y que además juegan un importante papel en los procesos inflamatorios, quimiotácticos y de opsonización.

## RESULTADOS

Los resultados individualizados correspondientes a las determinaciones de C3 y C4 en las poblaciones objeto de estudio se encuentran reflejados en las tablas I y II.

En el caso del componente C3, el valor medio hallado en la población de enfermos esquizofrénicos fué de  $1,05 \pm 0,240$  g/l, frente a  $0,67 \pm 0,136$  g/l en la población control sana, lo que representa estadísticamente un incremento altamente significativo ( $p < 0,001$ ) en dichos enfermos (Fig. 1).

El análisis de los niveles séricos de la fracción C4 del complemento, sin embargo, mostró un efecto contrario al del componente anterior, ya que en la población esquizofrénica su valor medio fué  $0,24 \pm 0,068$  g/l, mientras que en la población control dicho valor alcanzó la cifra de  $0,28 \pm 0,062$  g/l, lo que nos indica que en los enfermos esquizofrénicos la concentración del componente C4 en suero es significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que en la población control (Fig 1).



## RESULTADOS

**TABLA I**  
**VALORES DE PROTEINAS SERICAS INMUNOCOMPETENTES (g/l)**  
**POBLACION CONTROL**

N°	C3	C4	IgG	IgM	IgA
1	0.69	0.26	17.00	2.26	2.21
2	0.83	0.27	9.61	0.60	2.33
3	0.61	0.20	13.60	1.92	2.63
4	0.82	0.30	10.40	1.50	1.55
5	0.69	0.40	11.70	1.54	2.08
6	0.62	0.19	16.20	1.65	2.25
7	0.75	0.28	14.70	1.20	1.52
8	0.73	0.32	10.00	4.18	9.35
9	0.88	0.33	11.30	3.86	2.83
10	0.51	0.23	14.70	2.44	4.53
11	0.72	0.29	19.10	2.03	4.81
12	0.62	0.13	12.70	2.16	1.92
13	0.93	0.43	9.17	0.41	2.05
14	0.79	0.25	11.40	1.41	3.52
15	0.80	0.32	13.80	2.66	2.18

TABLA I (Continuación)

VALORES DE PROTEINAS SERICAS INMUNOCOMPETENTES (g/l)

POBLACION CONTROL

N°	C3	C4	IgG	IgM	IgA
16	0.74	0.25	11.20	0.69	2.88
17	0.57	0.25	12.80	1.71	1.73
18	0.68	0.23	13.60	1.75	3.18
19	0.73	0.38	9.66	0.58	3.07
20	0.72	0.30	11.40	1.74	2.38
21	0.67	0.27	12.70	1.76	2.84
22	0.63	0.32	8.83	1.41	2.67
23	0.65	0.37	14.70	0.56	1.94
24	0.63	0.31	14.40	0.96	1.91
25	0.67	0.28	12.80	2.53	1.46
26	0.61	0.25	13.20	2.51	2.50
27	0.71	0.26	12.40	2.12	3.89
28	0.64	0.29	12.80	1.43	2.51
29	0.71	0.30	13.1	2.20	3.55
30	0.66	0.25	12.42	1.54	2.40



TABLA II

VALORES DE PROTEINAS SERICAS INMUNOCOMPETENTES (g/l)  
POBLACION ESQUIZOFRENICA

N°	C3	C4	IgG	IgM	IgA
1	0.82	0.18	23.70	0.90	5.52
2	0.80	0.15	12.40	2.01	1.81
3	1.03	0.32	17.80	2.86	2.84
4	1.22	0.27	10.10	1.14	2.02
5	0.88	0.11	8.48	5.06	1.75
6	1.26	0.26	13.20	1.51	5.10
7	0.75	0.17	13.80	1.48	2.53
8	1.33	0.29	11.30	1.06	1.25
9	0.86	0.20	13.90	0.74	3.54
10	0.75	0.13	16.10	1.71	2.49
11	1.38	0.28	9.91	1.61	2.70
12	0.98	0.32	17.60	2.51	5.59
13	1.17	0.33	13.40	2.79	2.85
14	1.57	0.29	30.60	2.36	9.84
15	1.11	0.21	11.90	0.61	1.37

TABLA II (Continuación)

VALORES DE PROTEINAS SERICAS INMUNOCOMPETENTES (g/l)

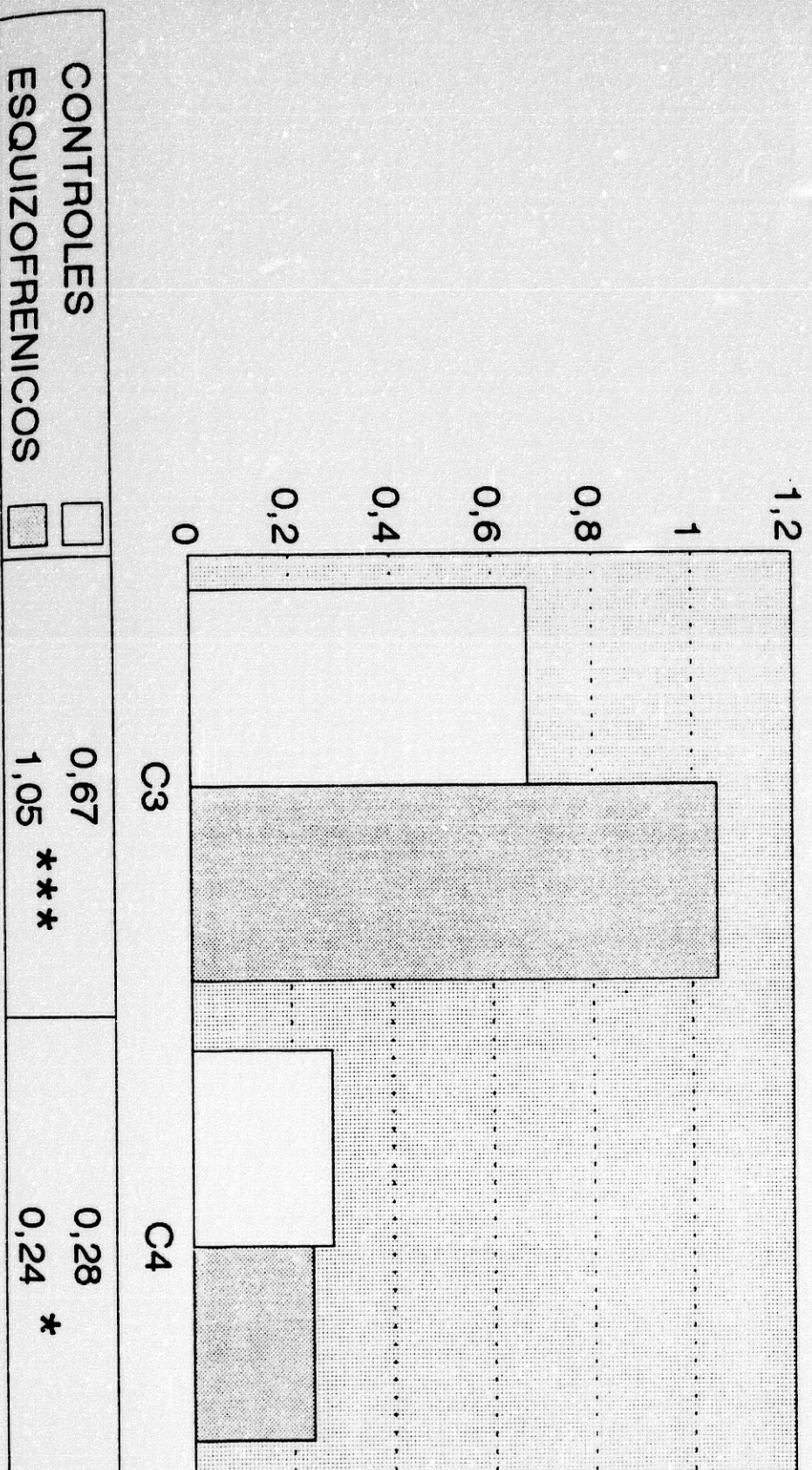
POBLACION ESQUIZOFRENICA

N°	C3	C4	IgG	IgM	IgA
16	0.97	0.12	17.90	2.22	4.08
17	0.99	0.21	15.30	1.51	2.53
18	1.07	0.20	12.00	0.73	2.23
19	1.25	0.20	19.50	1.94	4.74
20	1.26	0.26	11.40	1.11	2.04
21	1.02	0.26	11.20	0.77	2.86
22	1.21	0.26	9.15	0.75	1.48
23	1.55	0.30	17.30	2.16	2.40
24	0.64	0.26	7.72	2.19	2.19
25	0.91	0.29	12.30	1.97	2.65
26	0.99	0.36	14.40	1.22	3.77
27	0.67	0.31	15.20	0.72	4.02
28	0.92	0.24	15.40	1.48	4.04
29	0.89	0.22	9.65	3.23	0.82
30	1.12	0.34	9.95	1.95	1.51



# Fig. 1. CONCENTRACION DE C3 Y C4 EN SUERO

Valores expresados en g/l



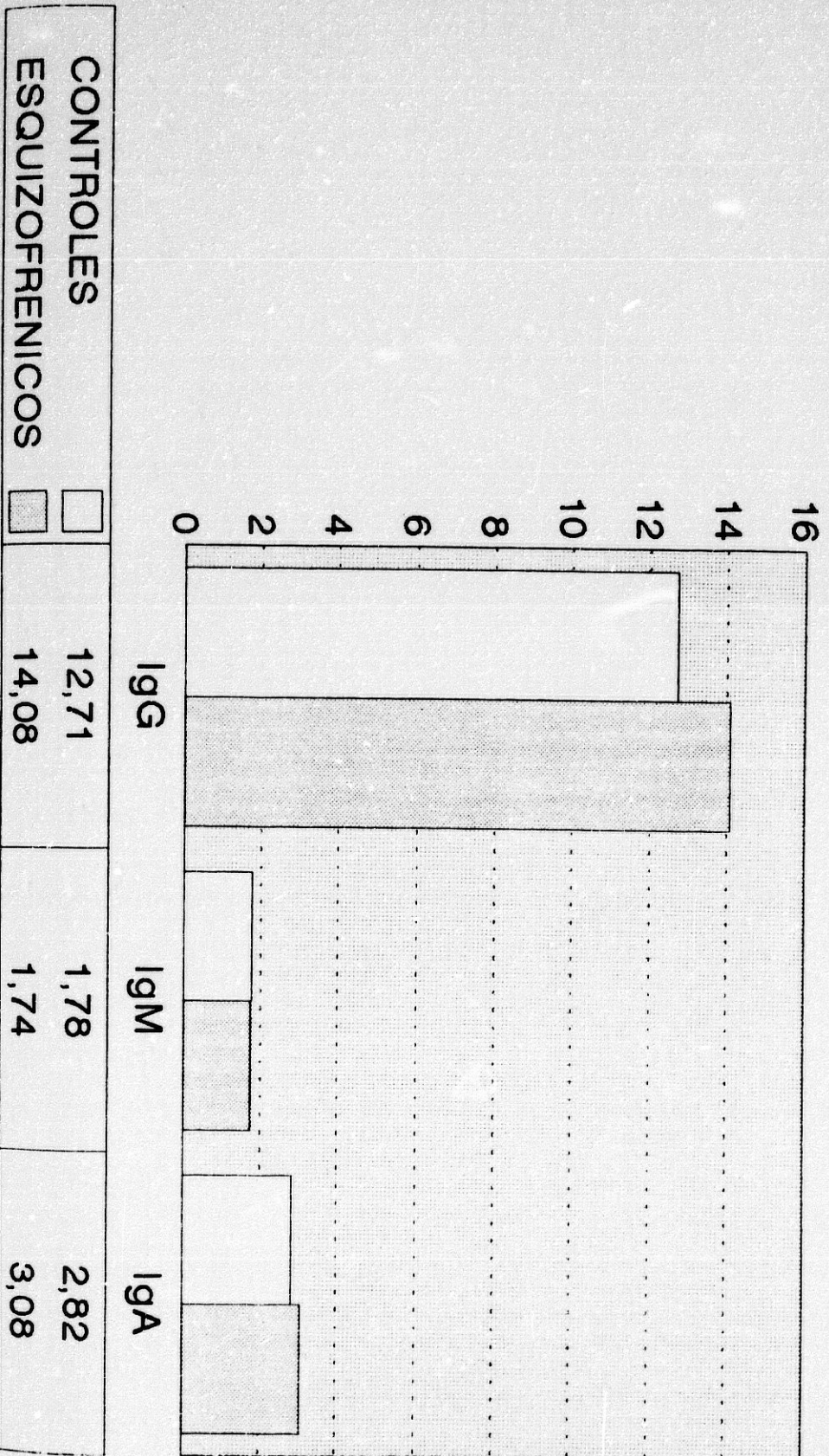
**IV.2.1.2.- INMUNOGLOBULINAS**

Los resultados correspondientes a la determinación de las concentraciones séricas de Igs de la clase G, M y A se muestran en las tablas I y II, y los valores medios obtenidos en las dos poblaciones estudiadas se reflejan en la Fig. 2. En los enfermos de esquizofrenia, los niveles de IgG e IgA en suero mostraron ser ligeramente más elevados que en la población control, mientras que en el caso de la IgM los valores de las concentraciones son algo más elevados en la población control, pero en ningún caso se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos estudiados.



## Fig. 2. CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINAS SERICAS

Valores expresados en g/l



#### IV.2.2.- DETERMINACION DE LAS POBLACIONES CELULARES INMUNOCOMPETENTES EN SANGRE PERIFERICA

Las células inmunocompetentes desempeñan un importante papel en el desarrollo eficaz de la respuesta inmune, no sólo por su participación como células efectoras sino también, por ser algunas de ellas, productoras de factores de gran importancia en los complejos mecanismos de regulación de la inmunidad. Los datos individualizados de los recuentos de leucocitos totales, neutrófilos, linfocitos y monocitos están recogidos en las tablas III y IV.

En la Fig. 3 se muestran los valores medios del número de leucocitos totales y principales subpoblaciones leucocitarias en sangre periférica, expresados en células/ml, tanto de enfermos esquizofrénicos como de la población control utilizada.

El recuento de leucocitos totales en el grupo de enfermos fue de  $8,11 \pm 2,010 \times 10^6$  células/ml, cifra significativamente mayor ( $p < 0.001$ ) la que presentó la población control ( $6,39 \pm 1,525 \times 10^6$  células/ml).



## RESULTADOS

En el caso de los neutrófilos, también encontramos incrementos significativos ( $p < 0,05$ ) en la población de enfermos esquizofrénicos,  $4,43 \pm 1,598 \times 10^6$  células/ml, con respecto al número de éstas células en el grupo control ( $3,66 \pm 1,096 \times 10^6$  células/ml).

Además de los neutrófilos, en sangre periférica existen otras células con actividad fagocítica que, si bien no son tan importantes a nivel cuantitativo como ellos, sí que desempeñan un papel fundamental en el correcto desarrollo de la respuesta inmune, tanto como células presentadoras del antígeno, como por su capacidad de liberar factores de actividad estimuladora para otras células inmunocompetentes como la IL-1. El recuento de monocitos, al igual que el del resto de los leucocitos, está estadísticamente incrementado de forma altamente significativa ( $p < 0,001$ ) en los enfermos esquizofrénicos en relación con la población control,  $0,48 \pm 0,162 \times 10^6$  células/ml frente a  $0,35 \pm 0,120 \times 10^6$  células/ml.

Finalmente, la población de células linfoides también se encuentra incrementada de manera fuertemente significativa ( $p < 0,001$ ) en el caso de los

## RESULTADOS

esquizofrénicos ( $2,58 \pm 0,798 \times 10^6$  células/ml), frente a  $1,973 \pm 0,486 \times 10^6$  células/ml en la población control.

Por tanto, y a la luz de nuestros resultados, podemos decir que la población leucocitaria en pacientes esquizofrénicos, está incrementada significativamente tanto de forma global como individualmente en cada una de las principales poblaciones que la forman: neutrófilos, monocitos y linfocitos.



## RESULTADOS

TABLA III

TAMAÑO DE LAS POBLACIONES LEUCOCITARIAS ( $\times 10^6$  cel/ml)

## POBLACION CONTROL

N°	LEUCO.	NEUTRO.	LINFOCIT.	MONOCIT.
1	5.14	3.50	1.16	0.21
2	4.64	2.54	1.53	0.34
3	7.55	5.20	1.68	0.37
4	7.15	3.80	2.58	0.24
5	8.28	4.93	2.25	0.43
6	5.67	2.90	1.98	0.46
7	4.24	2.70	1.22	0.18
8	8.01	4.85	2.46	0.48
9	7.42	4.29	2.27	0.47
10	4.94	2.51	1.86	0.36
11	6.61	3.44	2.15	0.42
12	6.30	3.30	2.11	0.52
13	5.81	3.17	1.87	0.46
14	6.16	3.17	2.26	0.37
15	5.33	3.51	1.34	0.17

## RESULTADOS

TABLA III (Continuación)

TAMAÑO DE LAS POBLACIONES LEUCOCITARIAS ( $\times 10^6$  cel/ml)

## POBLACION CONTROL

N°	LEUCO.	NEUTRO.	LINFOCIT.	MONOCIT.
16	9.34	5.81	2.47	0.51
17	7.52	4.02	2.67	0.43
18	7.36	4.69	1.74	0.28
19	6.08	3.87	1.54	0.18
20	4.81	2.76	1.61	0.18
21	8.97	5.94	2.26	0.44
22	3.45	1.72	1.40	0.15
23	5.32	3.34	1.56	0.23
24	4.99	2.29	2.03	0.32
25	5.97	3.76	1.48	0.29
26	6.27	3.38	2.34	0.33
27	8.38	4.09	3.31	0.39
28	8.74	5.23	2.10	0.57
29	6.58	3.59	2.22	0.42
30	4.60	2.43	1.68	0.24



TABLA IV

TAMAÑO DE LAS POBLACIONES LEUCOCITARIAS ( $\times 10^6$  cel/ml)

POBLACION ESQUIZOFRENICA

N°	LEUCO.	NEUTRO.	LINFOCIT.	MONOCIT.
1	6.00	3.21	2.30	0.45
2	8.20	3.89	3.35	0.49
3	6.92	3.71	2.38	0.34
4	6.65	3.57	2.12	0.55
5	7.97	4.31	2.64	0.47
6	7.28	3.96	2.11	0.51
7	7.04	4.30	2.02	0.45
8	6.70	4.14	1.54	0.48
9	10.20	5.60	2.68	0.51
10	9.05	4.59	2.78	0.49
11	7.05	4.88	1.71	0.22
12	8.02	4.03	2.49	0.59
13	5.29	3.37	1.33	0.22
14	8.38	3.79	3.75	0.47
15	8.06	4.30	2.78	0.49

TABLA IV (Continuación)

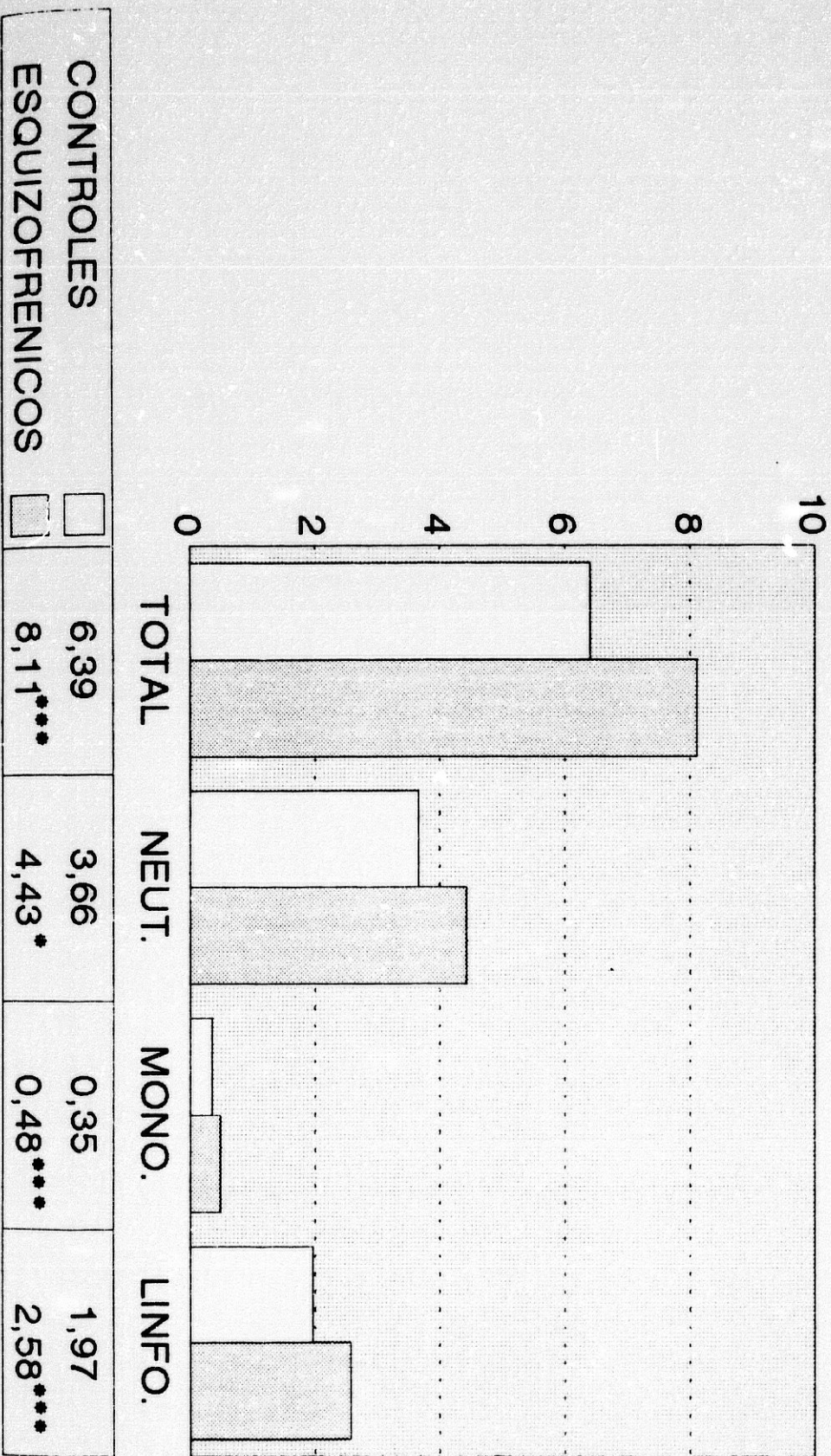
TAMAÑO DE LAS POBLACIONES LEUCOCITARIAS ( $\times 10^6$  cel/ml)

POBLACION ESQUIZOFRENICA

N°	LEUCO.	NEUTRO.	LINFOCIT.	MONOCIT.
16	5.41	3.17	1.17	0.28
17	9.42	4.37	3.63	0.47
18	9.80	6.23	2.66	0.55
19	9.60	4.71	3.57	0.66
20	7.90	3.33	3.62	0.46
21	13.14	7.07	4.04	0.92
22	7.36	3.60	2.77	0.44
23	9.98	6.63	2.08	0.85
24	5.67	3.56	1.44	0.39
25	7.61	3.50	3.37	0.36
26	8.38	5.43	2.14	0.47
27	7.15	4.20	2.40	0.47
28	9.05	3.98	4.02	0.71
29	6.06	3.13	2.42	0.17
30	14.02	11.39	2.00	0.53



**Fig. 3. TAMAÑO POBLACIONES CELULAS INMUNOCOMPETENTES**  
 SANGRE PERIFERICA (x 10<sup>6</sup> cel/ml)



## RESULTADOS

En la Fig. 4 se representan los valores medios obtenidos, en la determinación del tamaño de las distintas subpoblaciones linfocitarias, expresados en forma de porcentaje sobre el total de linfocitos, y en las tablas V y VI están reflejados los valores de forma individual.

El porcentaje de linfocitos B en los enfermos de esquizofrenia ( $13,12 \pm 4,098$ ) es mayor, aunque no de forma estadísticamente significativa, que el de la población control ( $11,16 \pm 4,565$ ). De igual manera, el porcentaje de la población de linfocitos T en esquizofrénicos ( $84,90 \pm 4,803$ ) es ligeramente superior al de la población control ( $83,77 \pm 4,580$ ): Estas diferencias, al igual que ocurre en el caso de los linfocitos B, no alcanzan grado alguno de significación estadística.

La única diferencia estadísticamente significativa encontrada en la determinación de las tres principales poblaciones linfoides, ha sido en las células con actividad NK. El porcentaje de células con esta actividad en la población de enfermos esquizofrénicos ( $15,13 \pm 6,456$ ) está incrementado cuando se compara con



## RESULTADOS

el que presenta la población control ( $7,69 \pm 3,652$ ), siendo esta diferencia altamente significativa a nivel estadístico ( $p < 0,001$ ).

Al igual que ocurre en el caso de las células T totales, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas, al determinar el tamaño, en forma de porcentaje sobre el total de linfocitos, de las distintas subpoblaciones funcionales de linfocitos T (Fig. 5). En el caso de los linfocitos T cooperadores, identificados por ser portadores del antígeno CD4, su porcentaje está algo disminuido en la población esquizofrénica ( $44,55 \pm 9,062$ ) con respecto al de la población control ( $46,36 \pm 8,186$ ). Por el contrario, el porcentaje de células T supresoras y/o citotóxicas, portadoras del antígeno CD8, es levemente superior en los enfermos esquizofrénicos ( $26,82 \pm 8,469$ ) frente al que presenta la población control ( $24,27 \pm 6,076$ ).

TABLA V

## TAMAÑO DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (%)

## POBLACION CONTROL

N°	B	T	T CD4	T CD8	NK
1	13.1	82.8	51.0	23.7	10.3
2	16.3	82.9	47.2	26.5	7.54
3	9.7	88.5	63.2	22.0	9.4
4	13.1	81.1	47.7	16.1	2.7
5	16.4	79.0	42.9	27.6	4.2
6	8.1	89.8	31.0	16.7	2.6
7	9.2	84.5	44.6	22.3	8.4
8	18.1	79.7	55.0	16.6	1.0
9	8.8	88.1	63.7	13.6	2.6
10	8.1	85.2	44.3	21.1	7.9
11	12.8	86.3	48.4	24.9	4.3
12	7.6	83.5	35.8	34.1	14.1
13	11.1	82.2	45.5	27.7	6.0
14	10.8	81.6	55.3	18.7	11.9
15	6.9	87.5	36.4	30.0	8.8



TABLA V (Continuación)

## TAMAÑO DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (%)

## POBLACION CONTROL

N°	B	T	T CD4	T CD8	NK
16	8.6	82.5	49.7	26.0	10.3
17	7.9	85.6	43.3	26.9	7.0
18	18.7	77.8	47.9	19.6	8.0
19	24.9	67.3	36.2	24.6	10.3
20	8.8	87.6	57.6	21.7	13.0
21	7.2	83.9	48.3	23.9	7.6
22	11.3	84.7	50.8	28.0	8.8
23	17.5	81.1	48.2	16.5	13.3
24	9.6	87.1	36.1	37.1	7.3
25	6.7	81.5	35.4	38.0	2.4
26	7.1	91.1	54.0	26.5	3.4
27	4.9	90.4	35.6	27.5	6.6
28	8.7	83.7	42.5	24.9	14.3
29	14.8	81.5	49.2	16.4	9.1
30	8.1	84.5	43.8	29.0	7.8

**TABLA VI**  
**TAMAÑO DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (%)**  
**POBLACION ESQUIZOFRENICA**

N°	B	T	T CD4	T CD8	NK
1	9.2	85.5	42.5	28.3	14.1
2	15.3	83.6	47.0	22.1	20.0
3	9.6	87.0	49.0	30.0	12.0
4	13.0	80.5	38.5	27.4	10.3
5	16.0	79.0	45.0	25.7	13.3
6	8.5	86.7	58.7	23.0	1.9
7	10.9	83.7	47.0	25.7	5.1
8	10.6	69.4	35.0	30.2	12.4
9	16.5	84.1	42.0	24.5	17.4
10	10.9	89.2	46.5	28.0	16.1
11	12.4	88.5	55.0	20.1	13.8
12	10.4	84.5	45.0	17.6	23.8
13	13.9	87.1	49.5	22.2	24.7
14	15.3	86.6	39.9	26.1	12.0
15	10.8	88.6	44.1	26.4	25.2



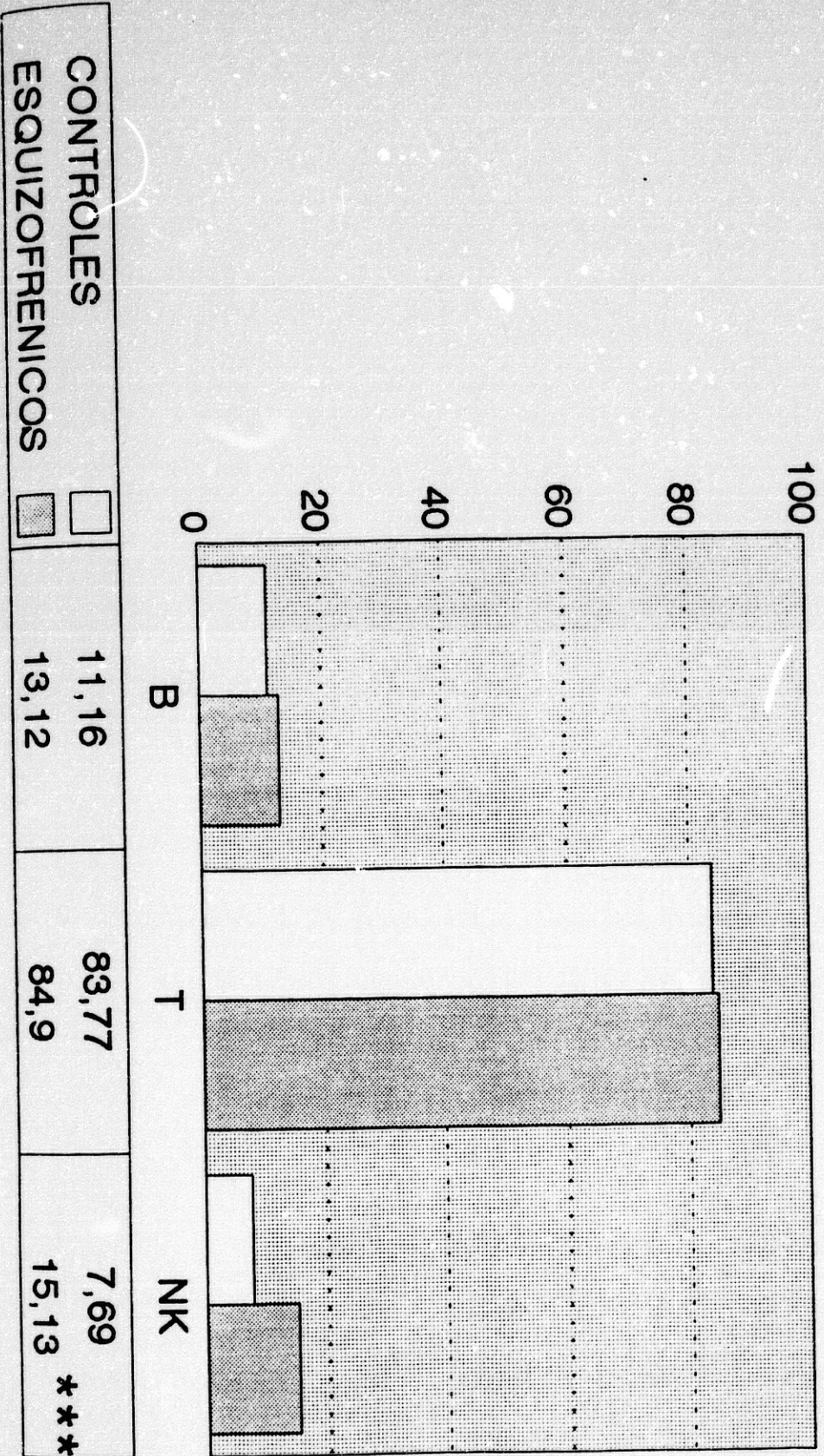
TABLA VI (Continuación)

## TAMAÑO DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS (%)

## POBLACION ESQUIZOFRENICA

N°	B	T	T CD4	T CD8	NK
16	18.9	86.5	43.8	27.2	21.1
17	24.5	77.0	39.3	29.0	16.4
18	12.2	87.0	55.2	20.5	13.4
19	14.4	92.6	24.6	54.6	9.2
20	13.7	87.3	70.9	11.5	10.9
21	17.9	81.3	43.7	22.5	18.2
22	22.1	77.0	50.6	17.3	8.8
23	12.9	87.5	43.2	16.6	33.6
24	10.6	91.5	35.9	45.2	15.8
25	7.3	86.2	50.7	31.6	9.8
26	8.9	85.0	24.2	37.5	19.3
27	17.0	80.4	41.0	25.0	10.2
28	11.8	87.7	42.3	37.4	11.8
29	8.2	88.4	39.3	26.0	14.3
30	9.9	87.7	47.1	25.4	18.8

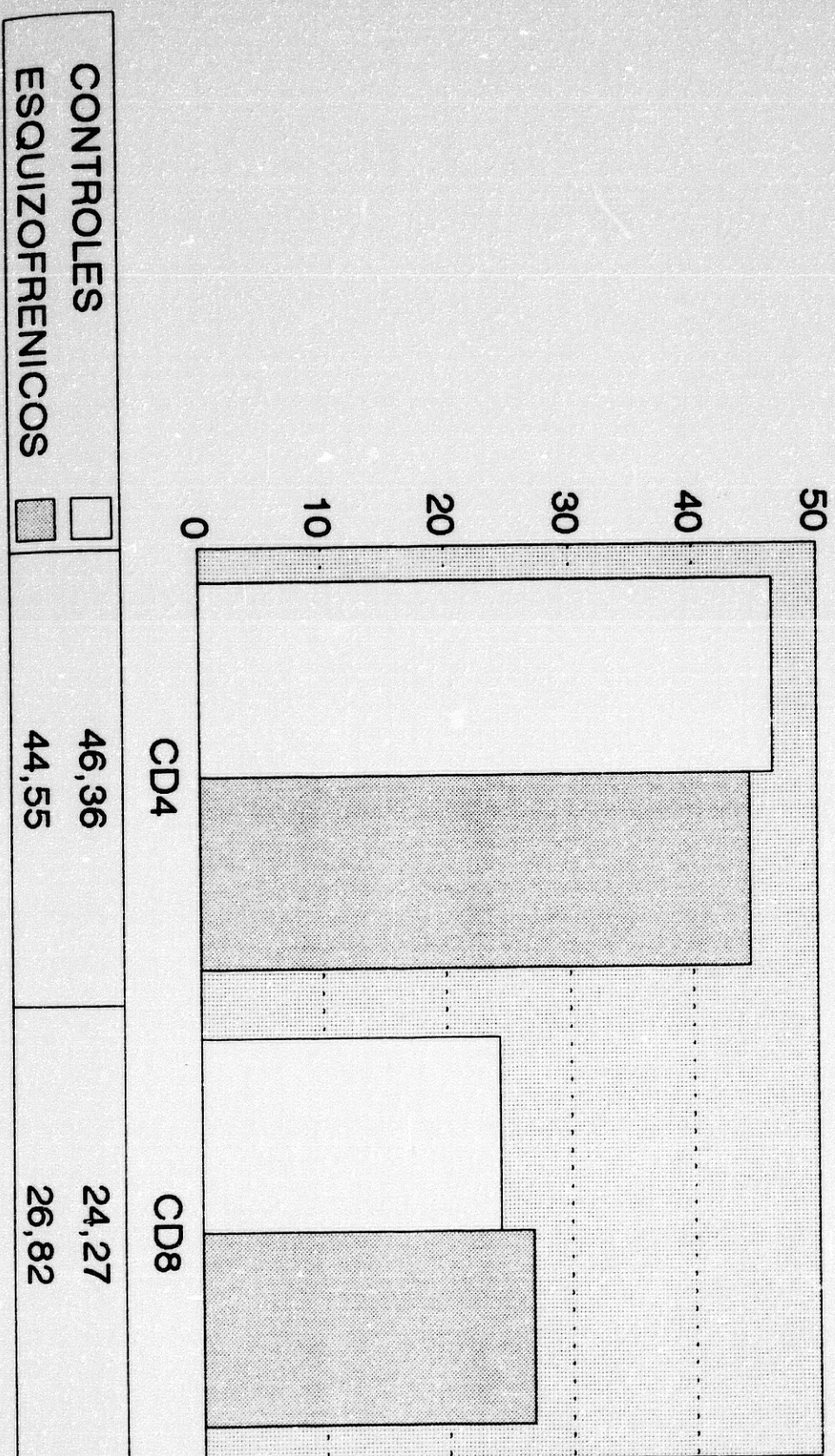
**Fig. 4. TAMAÑO DE LAS POBLACIONES LINFOCITARIAS EXPRESADAS EN % SOBRE EL TOTAL DE LINFOCITOS**



\*\*\*



**Fig. 5. TAMAÑO DE LAS SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS T**  
EXPRESADAS EN % SOBRE EL TOTAL DE LINFOCITOS

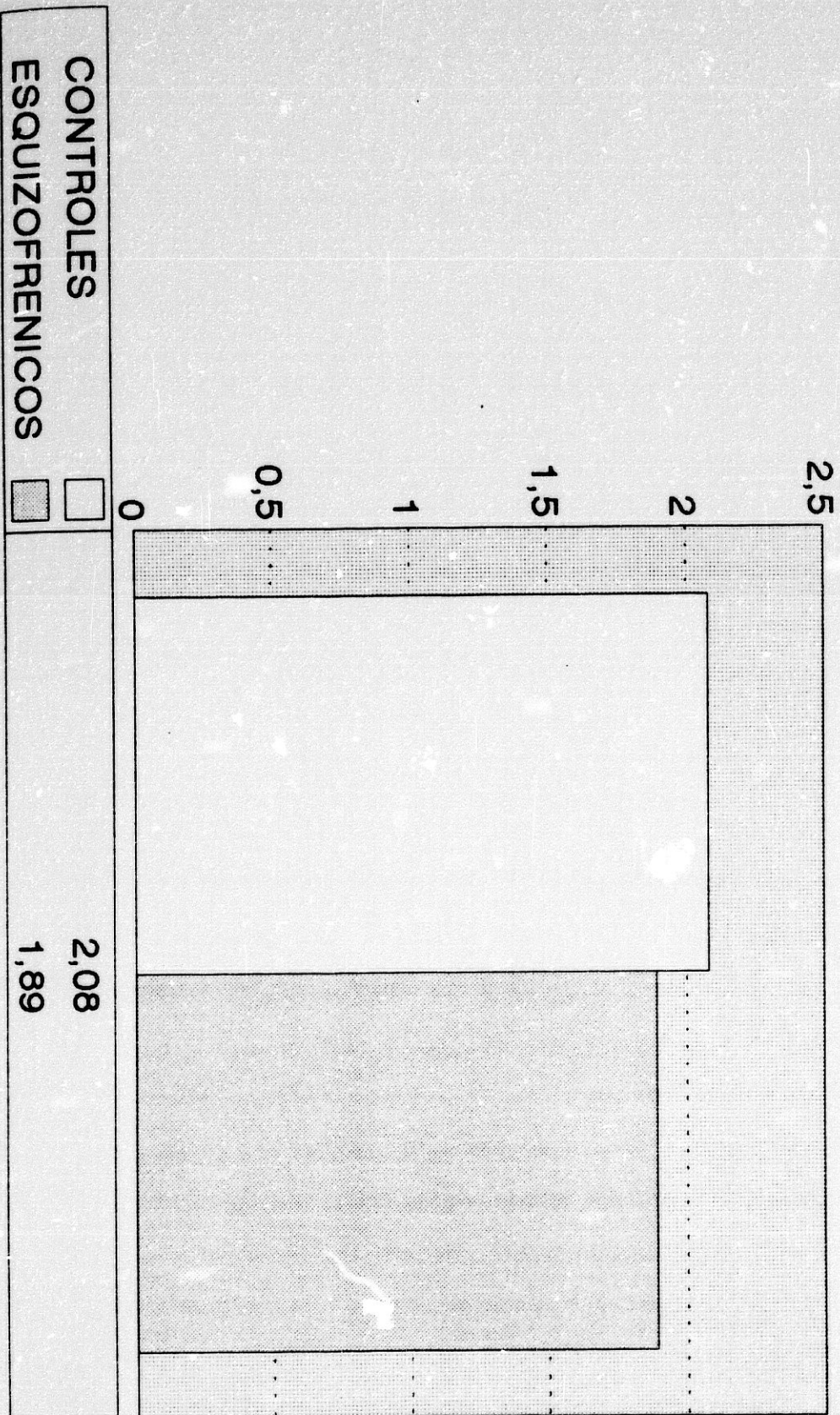


## RESULTADOS

La ausencia de diferencias significativas en el tamaño de las distintas poblaciones funcionales, se confirma cuando se determina el valor de la relación entre linfocitos T4/T8 en ambas poblaciones objeto de estudio (Fig. 6). Lógicamente, y de acuerdo con lo anteriormente comentado con respecto al discreto incremento de la población de células CD8 en enfermos esquizofrénicos, el valor de la relación es algo inferior en estos enfermos ( $1,89 \pm 1,010$ ) frente al que presenta la población control sana ( $2,08 \pm 0,810$ ).



Fig. 6. VALORES DE LA RELACION ENTRE LINFOCITOS T CD4 Y CD8



#### IV.2.3.- DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD DE LAS DISTINTAS POBLACIONES DE CELULAS INMUNOCOMPETENTES

##### IV.2.3.1. CAPACIDAD LINFOPROLIFERATIVA

Al igual que otras determinaciones efectuadas en este estudio, no hemos encontrado diferencias significativas entre los enfermos esquizofrénicos y la población control a nivel de la proliferación de linfocitos de sangre periférica como respuesta a los estímulos mitogénicos utilizados y cuyos datos individualizados se muestran en las tablas VII y VIII.

Los resultados de la media de los valores obtenidos en la determinación de esta respuesta, expresados en densidades ópticas (D.O.), se reflejan en la Fig. 7, y en ella se aprecian las ligeras variaciones existentes entre ambas poblaciones estudiadas. Cuando utilizamos LPS como agente mitogénico la respuesta obtenida en esquizofrénicos ( $0,042 \pm 0,0137$ ) y en controles ( $0,040 \pm 0,0120$ ) es prácticamente idéntica. Algunas diferencias mayores, aunque no estadísticamente significativas, encontramos al utilizar mitógenos específicos de linfocitos T; sin



## RESULTADOS

embargo, los resultados no son concordantes entre sí. Cuando se utilizó PHA los valores de densidad óptica, y por tanto de proliferación celular, fueron ligeramente superiores en la población control ( $0,046 \pm 0,0137$ ) con respecto a los de los esquizofrénicos ( $0,042 \pm 0,0126$ ). Por el contrario, cuando el estímulo mitogénico fué Con A, la mayor respuesta proliferativa correspondió a los linfocitos procedentes de enfermos esquizofrénicos ( $0,041 \pm 0,0151$ ) frente a  $0,035 \pm 0,009$  que obtuvimos en la población control.

## RESULTADOS

TABLA VII

MEDIDA DE LA ACTIVIDAD LINFOPROLIFERATIVA ( $\times 10^{-2}$  D.O.)

## POBLACION CONTROL

N°	CONTROL	LPS	PHA	ConA
1	1.90	3.50	4.50	3.90
2	2.70	4.10	4.00	3.70
3	2.30	4.50	5.10	3.90
4	2.40	3.80	4.60	2.70
5	1.50	3.40	2.60	1.50
6	2.30	3.60	3.70	4.00
7	2.20	3.00	3.70	3.60
8	1.80	5.20	4.00	3.90
9	2.30	4.80	5.20	3.70
10	1.50	2.80	3.30	2.60
11	3.50	6.40	6.20	5.10
12	4.30	4.60	8.00	4.40
13	1.50	2.30	5.90	1.80
14	3.80	4.00	5.70	4.30
15	2.90	4.20	3.60	3.40



TABLA VIII

MEDIDA DE LA ACTIVIDAD LINFOPROLIFERATIVA ( $\times 10^{-2}$  D.O.)

POBLACION ESQUIZOFRENICA

N°	CONTROL	LPS	PHA	ConA
1	3.10	7.30	4.50	9.30
2	3.30	3.90	3.80	2.50
3	2.30	2.40	4.30	2.20
4	2.70	5.60	3.60	3.90
5	2.50	4.50	2.80	5.50
6	2.80	5.00	3.90	4.50
7	2.70	6.50	6.80	7.00
8	1.40	2.90	4.60	3.00
9	2.00	6.40	4.30	3.40
10	1.90	4.30	3.20	3.00
11	1.70	3.80	3.30	4.00
12	1.80	3.10	2.10	3.60
13	2.00	4.00	5.80	3.60
14	2.10	3.80	4.80	3.00
15	3.30	5.30	7.20	6.90

TABLA VIII (Continuación)

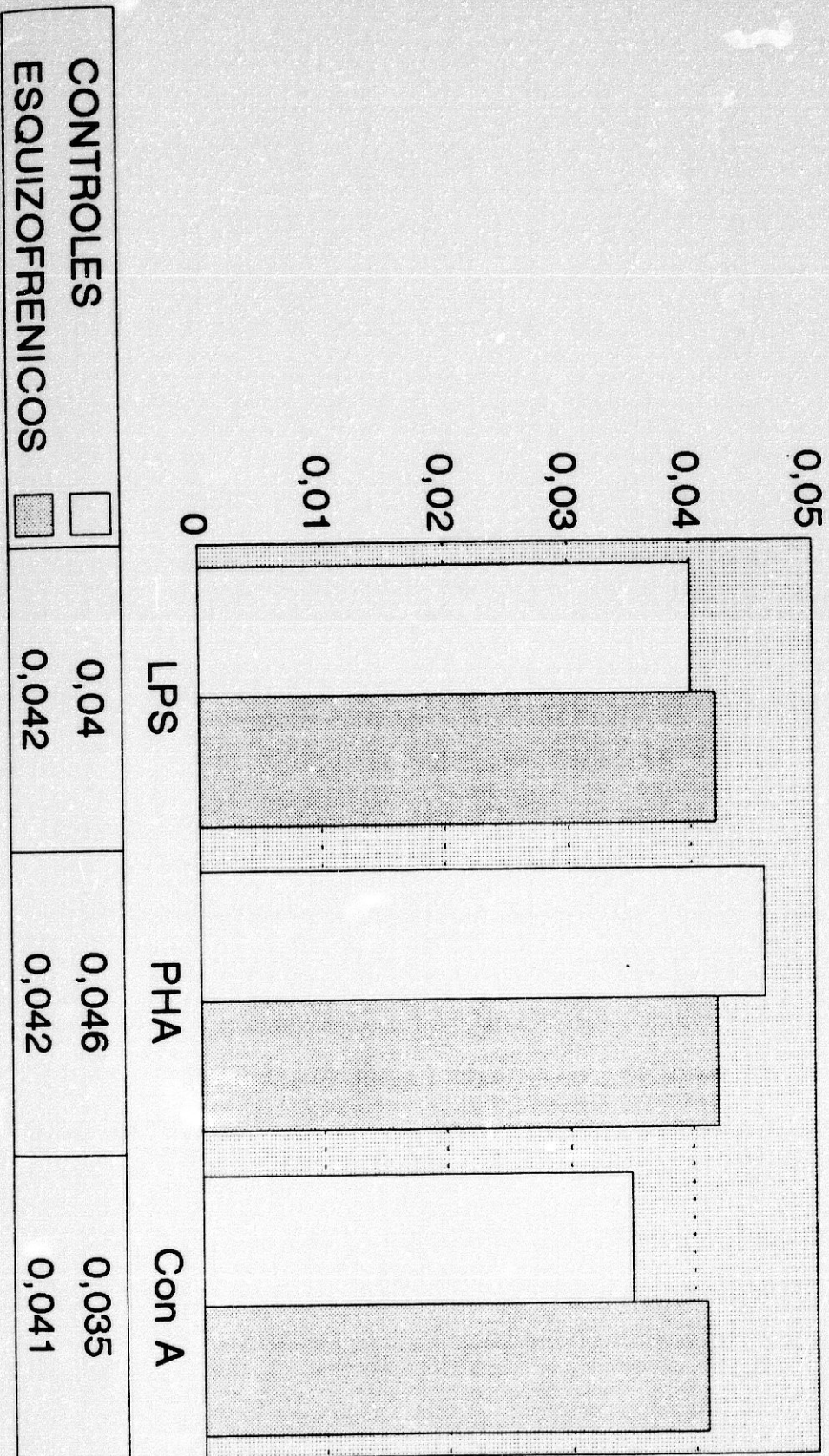
MEDIDA DE LA ACTIVIDAD LINFOPROLIFERATIVA ( $\times 10^{-2}$  D.O.)

POBLACION ESQUIZOFRENICA

N°	CONTROL	LPS	PHA	ConA
16	3.30	7.10	7.30	5.90
17	1.80	4.40	4.60	2.90
18	1.50	3.00	3.30	3.20
19	2.40	4.20	4.20	4.70
20	2.90	5.20	5.20	4.30
21	2.20	4.20	4.50	3.70
22	2.10	2.10	3.60	3.40
23	2.10	4.20	3.90	3.40
24	1.60	2.30	2.20	2.90
25	1.70	3.10	3.70	3.20
26	2.50	4.60	4.30	4.20
27	2.00	4.20	4.00	3.40
28	2.20	3.80	4.20	4.30
29	2.60	3.20	3.10	3.90
30	2.30	2.40	3.30	2.10



**Fig. 7. RESPUESTA LINFOPROLIFERATIVA A MITOGENOS**  
**VALORES EXPRESADOS EN D.O.**



**IV.2.3.2.- ACTIVACION DE FAGOCITOS DE SANGRE PERIFERICA****IV.2.3.2.1.- MEDIDA DE LA ACTIVIDAD FAGOCITICA**

Clásicamente, la activación de fagocitos medida mediante la técnica de quimioluminiscencia se efectúa determinando los valores máximos de activación o bien, determinando la cinética de la activación durante 60 minutos. Nosotros hemos reflejado en este trabajo ambos tipos de medida, ya que consideramos que no son excluyentes entre sí y que su análisis conjunto, sin duda alguna, nos da una mejor idea del proceso de activación de las células fagocíticas.

Los valores de máxima activación encontrados en cada una de las muestras estudiadas, tanto a nivel de monocitos como de PMNs, están recogidos en las tablas IX y X. En cuanto a los valores medios de máxima activación, no se encuentran grandes diferencias entre los de los enfermos esquizofrénicos y los de la población control (Fig. 8). En el caso de los PMNs es la población control la que presenta un valor superior ( $5,91 \pm 2,020 \times 10^6$  cpm) a la de los enfermos esquizofrénicos ( $5,67 \pm 2,700 \times 10^6$  cpm). En esta misma



## RESULTADOS

figura hemos representado también los valores medios de máxima activación de la otra población celular en sangre periférica que tiene actividad fagocítica, los monocitos. En este caso, el valor medio de máxima activación lo presentan los monocitos de sangre periférica procedentes de enfermos esquizofrénicos ( $1,23 \pm 1,361 \times 10^6$  cpm) ya que los controles sólo alcanzaron la cifra de  $1,13 \pm 0.750 \times 10^6$  cpm. Tanto en el caso de PMNs como de monocitos las diferencias encontradas entre controles y esquizofrénicos no son estadísticamente significativas.

En cuanto a la cinética de activación de los fagocitos, en las Figuras 9 y 10 se han representado agrupadas según el tipo de población estudiada. Como se desprende del análisis de las mismas, en el caso de los enfermos esquizofrénicos la activación de ambas poblaciones celulares fagocíticas es mucho más rápida e intensa que en el caso de la población control. En esquizofrénicos la máxima activación en monocitos aparece a los 10 minutos de su estímulo con Zymosan, mientras que en el caso de los PMNs los valores máximos aparecen a los 20 minutos, manteniendo valores de gran activación pasado el minuto 50. Por el contrario, en la

## RESULTADOS

población control, los monocitos y PMNs, sólo alcanzan los valores de máxima activación una vez transcurridos 30 y 40 minutos, respectivamente, desde que se ponen en contacto con el agente estimulante, y en los dos casos se produce un más rápido descenso.



**TABLA IX**  
**VALORES DE ACTIVIDAD CELULAR DE FAGOCITOS**  
**POBLACION CONTROL**

N°	QLMON $\times 10^6$ (c.p.m)	QLPMN $\times 10^6$ (c.p.m.)	TNF (D.O.)
1	1.44	7.08	0.165
2	0.39	4.77	0.149
3	0.83	8.45	0.159
4	1.59	6.61	0.136
5	0.36	1.28	0.177
6	0.85	8.03	0.220
7	1.88	3.23	0.140
8	2.56	6.90	0.132
9	1.58	7.81	0.149
10	2.31	2.69	0.131
11	0.27	3.93	0.140
12	0.86	7.40	0.106
13	0.06	6.81	0.224
14	0.86	7.72	0.183
15	1.13	5.89	0.167

**TABLA X**  
**VALORES DE ACTIVIDAD CELULAR DE FAGOCITOS**  
**POBLACION ESQUIZOFRENICA**

N°	QLMONOx10 <sup>6</sup> (c.p.m.)	QLPMNx10 <sup>6</sup> (c.p.m.)	TNF (D.O.)
1	1.23	5.49	0.193
2	0.56	4.40	0.176
3	1.07	2.20	0.135
4	0.66	6.12	0.133
5	1.05	1.76	0.152
6	1.36	3.35	0.140
7	2.32	6.02	0.173
8	6.47	2.50	0.200
9	2.57	6.54	0.135
10	0.71	9.54	0.141
11	2.11	10.01	0.145
12	1.73	4.09	0.167
13	2.59	3.02	0.169
14	0.76	5.67	0.208
15	0.65	9.19	0.138



**TABLA X (Continuación)**  
**VALORES DE ACTIVIDAD CELULAR DE FAGOCITOS**  
**POBLACION ESQUIZOFRENICA**

N°	QLMONOx10 <sup>6</sup> (c.p.m.)	QLPMNx10 <sup>6</sup> (c.p.m.)	TNF (D.O.)
16	0.31	6.14	0.139
17	0.53	4.06	0.141
18	0.25	4.83	0.142
19	4.29	6.68	0.168
20	0.08	6.10	0.171
21	0.17	8.13	0.141
22	0.45	6.25	0.132
23	1.19	5.50	0.156
24	0.01	7.69	0.138
25	1.00	6.71	0.159
26	0.33	3.53	0.201
27	1.33	2.68	0.172
28	0.52	0.64	0.131
29	0.10	3.76	0.142
30	0.70	13.38	0.144

Fig. 8. VALORES MEDIOS DE MAXIMA ACTIVACION EN FAGOCITOS DE SANGRE PERIFERICA

Ql. expresada en cpm ( $\times 10^3$ )

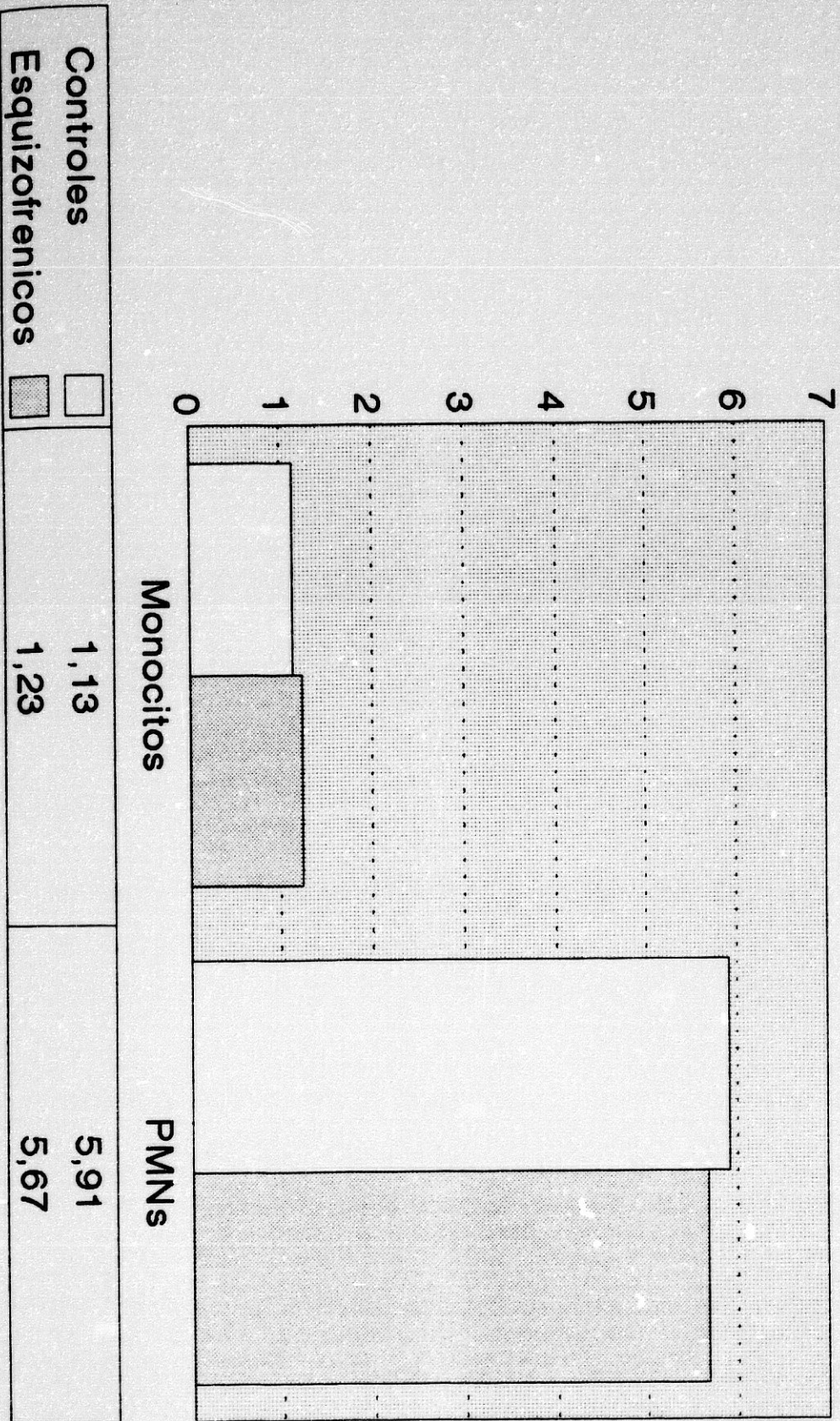




Fig. 9. CINETICA DE ACTIVACION DE FAGOCITOS DE SANGRE PERIFERICA  
CONTROLES

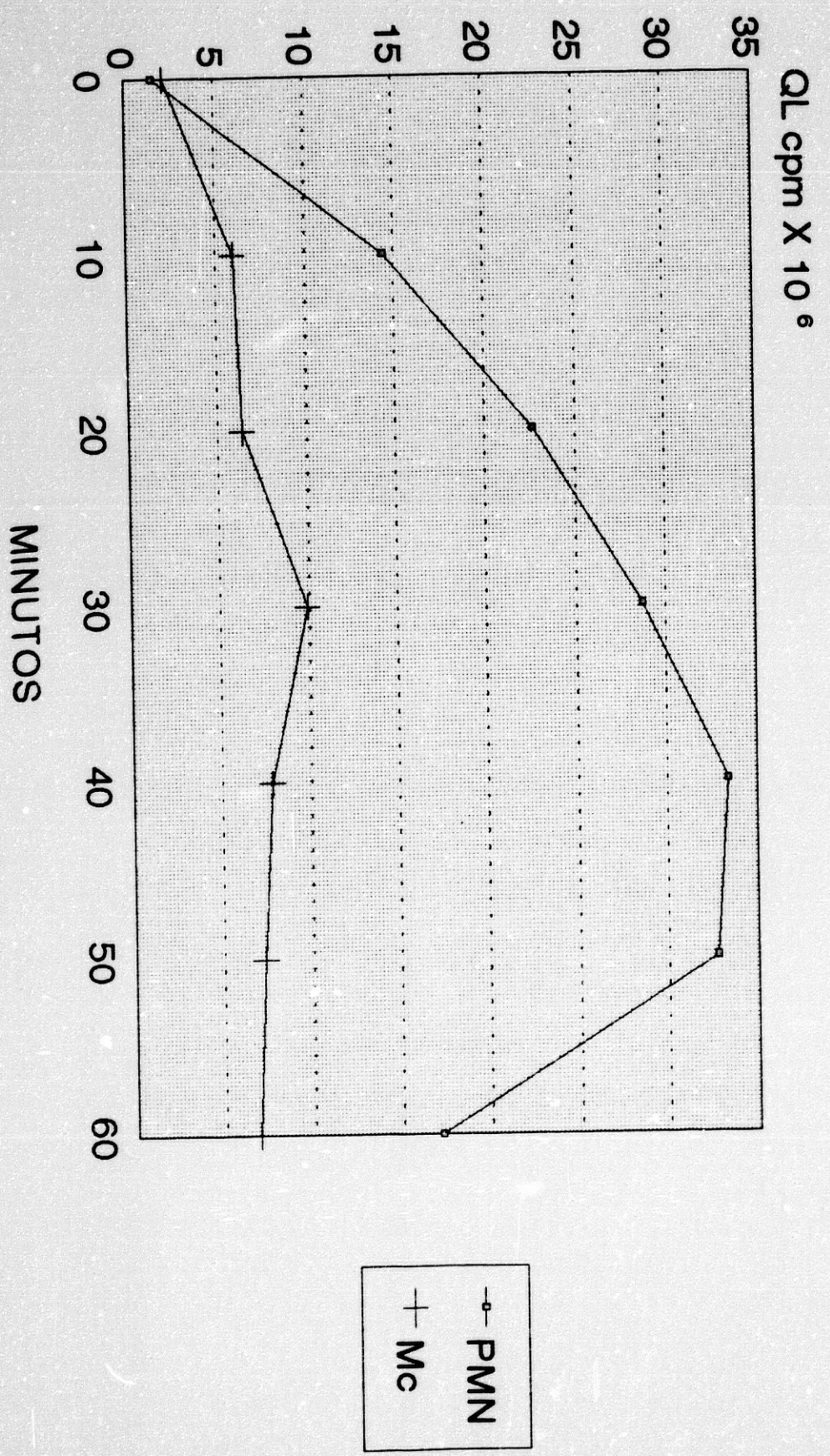
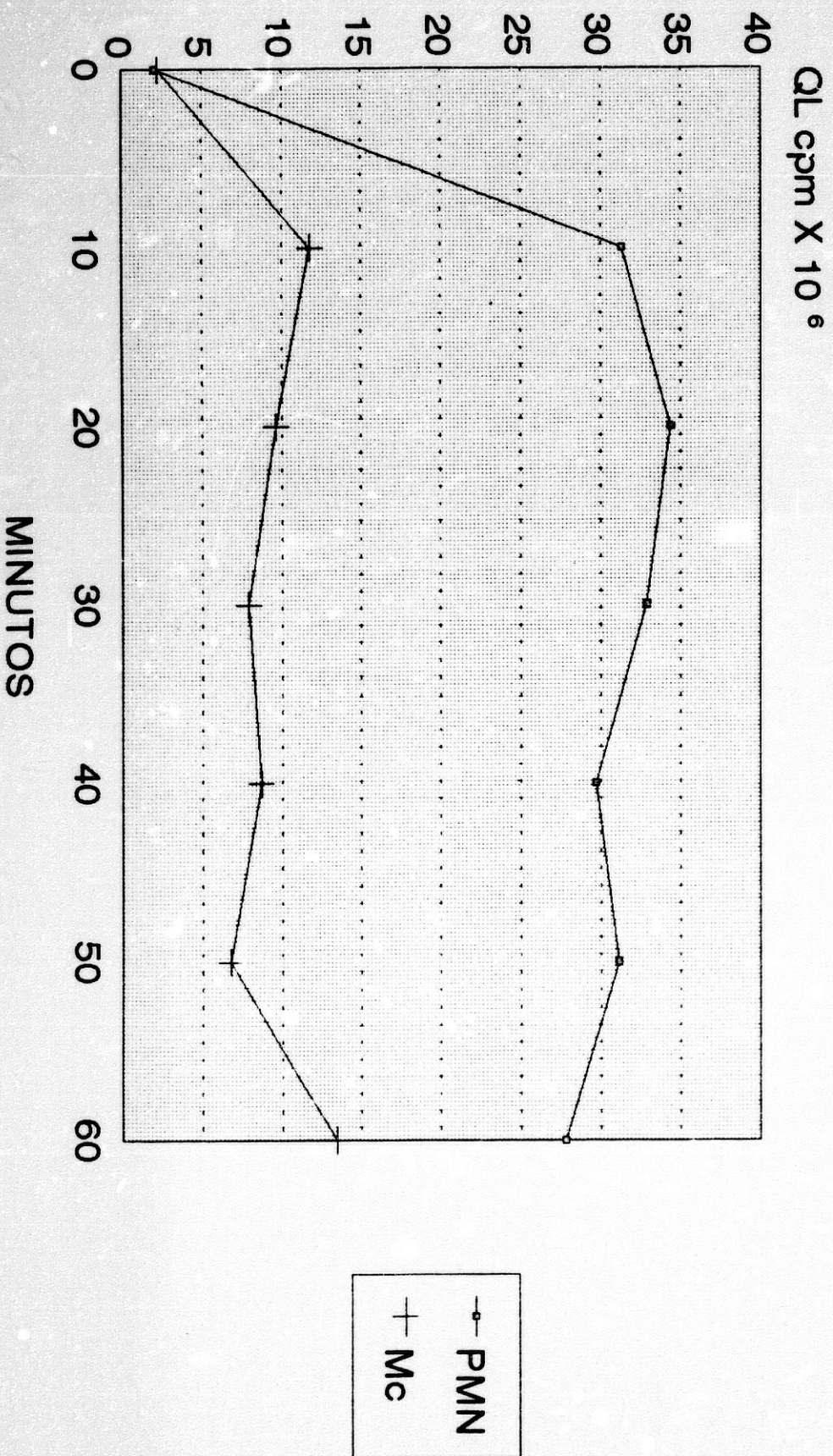


Fig. 10. CINETICA DE ACTIVACION DE FAGOCITOS DE SANGRE PERIFERICA  
ESQUIZOFRENICOS

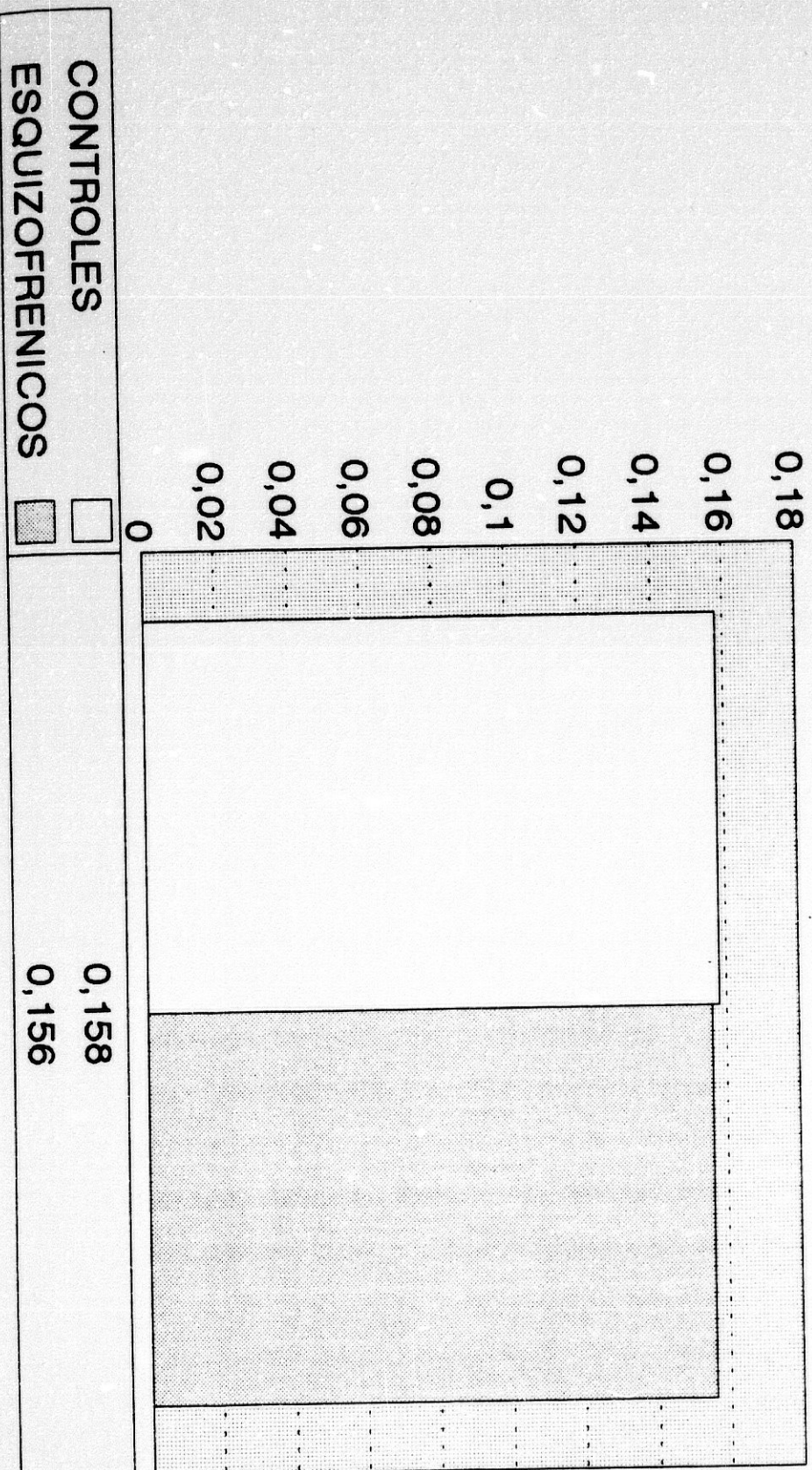




**IV.2.3.2.2.- PRODUCCION DE TNF POR MONOCITOS.**

Además de su actividad a nivel de la fagocitosis, los monocitos, como precursores de los macrófagos, son capaces de producir distintos factores de suma importancia en el normal desarrollo de los distintos mecanismos, tanto efectores como reguladores, del sistema inmunitario. Entre los primeros podemos destacar la producción de TNF, que posee un importante papel, junto con otros mecanismos, en el control del desarrollo de tumores. Las medias de los valores obtenidos en la determinación de la producción de TNF por monocitos de las poblaciones estudiadas, expresados, al igual que en el caso de la respuesta linfoproliferativa a mitógenos, en forma de D.O, no muestran diferencias significativas entre sí (Fig. 11).

**Fig. 11. CONCENTRACION DE TNF EN SUERO**  
VALORES EXPRESADOS EN D.O.





**DISCUSSION**

## V.-DISCUSION

El ser humano está constituido por diferentes sistemas y órganos que interaccionan entre sí, de forma que resulta muy difícil analizar la fisiología de alguno de ellos de forma individualizada, considerándolo como un compartimento aislado y/o ajeno al funcionamiento del resto del organismo. Uno de los sistemas que presenta, si cabe, una mayor capacidad de interacción con la fisiología de los demás, es el sistema nervioso; tanto por su capacidad de regular la función de otros, como por su especial sensibilidad para que su funcionamiento sea modulado por la presencia de señales procedentes del resto de los sistemas.

Por otro lado, el sistema inmune es el responsable del mantenimiento de "lo propio" frente a las acciones de agentes de origen externo o interno. Por tanto, su acción es fundamental en la lucha y control de infecciones y neoplasias, tal y como hemos descrito en el apartado correspondiente a la revisión bibliográfica. Desde hace tiempo se conoce el efecto, fundamentalmente depresor, que sobre la respuesta



inmune poseen algunas alteraciones de tipo nervioso tales como la depresión y los estados de estrés.

Si bién algunos parámetros inmunitarios han sido analizados en enfermos de esquizofrenia, estos estudios se han realizado de forma parcial, según el resultado de nuestro inicial e imprescindible búsqueda bibliográfica. Por ello, y de acuerdo con los objetivos que nos propusimos el diseñar nuestro estudio hemos realizado, de forma global y profunda, un análisis de los principales parámetros inmunitarios en este tipo de enfermos.

Una de las primeras consideraciones que habría que tener en cuenta a la hora de discutir nuestros resultados, sería la de preguntarse si las diferencias encontradas por nosotros son atribuibles sólo a la presencia del proceso patológico de la esquizofrenia, o si, por el contrario, dichas diferencias pueden estar condicionadas por distintas circunstancias ajenas, en principio, a la propia alteración psiquiátrica. Entre tales circunstancias cabría citar el tratamiento con neurolepticos al que se encuentran sometidos estos enfermos, o la presencia de alteraciones fisiológicas

## DISCUSION

tales como la desnutrición, que está asociada con la aparición de un estado de inmunosupresión. En cuanto a esta última posibilidad, ya dejamos establecido que el perfil nutricional, que incluye diversos parámetros bioquímicos y hematológicos, no se ha encontrado alterado en la población esquizofrénica. Con respecto a los efectos no deseados del tratamiento farmacológico, debemos resaltar que en ninguno de los casos que hemos utilizado en nuestro estudio, ha parecido indicios de de la presencia de tales anormalidades.

Por otro lado, y con respecto al tratamiento farmacológico que reciben estos enfermos, debemos hacer constar que, si bién en un principio se sobrestimó el efecto que el tratamiento neuroléptico podría tener sobre algunos parámetros inmunitarios (19, 300), en investigaciones posteriores se comprobó que dicho tratamiento no afecta, y si lo hace lo es de forma no significativa, a los distintos parámetros inmunitarios de los enfermos esquizofrénicos (18, 203, 214, 221, 223, 250).



A nivel de la respuesta inmune constitutiva o innata, hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre las dos poblaciones objeto de estudio. Dichas diferencias consistieron en incrementos de los valores de los parámetros inmunitarios en la población de enfermos esquizofrénicos, a excepción del componente C4 del complemento que se encontró disminuido, y sobre cuya significación biológica nos extenderemos posteriormente.

La concentración sérica del componente C3 del complemento es estadísticamente muy superior a la que presenta la población normal (Fig. 1). Este componente no sólo juega un papel fundamental en la regulación de la activación de este complejo sistema de proteínas séricas de acción citolítica, tanto por la vía clásica como por la alternativa, sino que además tiene una importante función en la regulación de otros mecanismos efectores de la inmunidad innata, mediante los procesos de quimiotaxis, opsonización e inflamación.

Al contrario que en el caso de C3, la concentración sérica del componente C4 del complemento en enfermos esquizofrénicos, disminuye leve, pero

## DISCUSION

significativamente, con respecto a los valores que presenta la población control sana.

No es fácil encontrar una explicación a este hecho, ya que lo habitual es que las concentraciones séricas de ambos componentes del complemento presenten un idéntico comportamiento o como máximo, si uno de ellos se altera, el otro se mantiene dentro de los límites de la normalidad. Las modificaciones en las concentraciones de los componentes del complemento se deben fundamentalmente a la presencia de procesos de carácter infeccioso o autoinmune.

Así, en estados inflamatorios agudos, se produce una fuerte activación en la síntesis de C3 y C4 en el hígado y macrófagos (259). Además, la expresión del gen C3 en hepatocitos se incrementa por la presencia de IL-1 producida por macrófagos activados (244). En general podemos decir que la mayor parte de las alteraciones en la determinación de las concentraciones de los componentes séricos C3 y C4 corresponden a elevaciones de las mismas. Comúnmente los descensos en estos valores están ligados a enfermedades caracterizadas por la presencia de inmunocomplejos circulantes.



## DISCUSION

La explicación de nuestros resultados puede encontrarse en el hecho de que en procesos crónicos con presencia de inmunocomplejos, como ocurre en algunas enfermedades autoinmunes y en ciertas infecciones subagudas y crónicas de etiología bacteriana o viral, se produce un descenso en las concentraciones de C3 y C4 en el suero. En este proceso, el descenso de C4 es mucho más rápido que en el caso de C3, pero éste, tras un período de tiempo relativamente corto, vuelve a alcanzar valores normales e incluso superiores. Sin embargo, C4 se recupera muy lentamente, persistiendo sus niveles bajos durante períodos prolongados de tiempo (259). Además, es posible la existencia de un proceso de tipo inflamatorio en el que, y según lo comprobado en modelos experimentales, se produce una menor capacidad de síntesis de C4 por parte de los macrófagos (244). Todas estas circunstancias podrían, a nuestro juicio, explicar el incremento de la concentración sérica de C3 y la disminución de C4 en enfermos esquizofrénicos.

Otros valores significativamente incrementados en nuestra población de casos son los correspondientes al recuento de leucocitos totales de sangre periférica. Al

completar este estudio, una vez realizado el análisis de las distintas poblaciones leucocitarias, hemos observado que todas ellas, sin excepción, presentan valores claramente superiores a los de la población control (Fig. 3), siendo muy significativas las diferencias en el caso de monocitos y linfocitos y sólo significativos los incrementos en el caso de los neutrófilos.

Para tener una idea más exacta de los aspectos cualitativos del incremento de leucocitos, es necesario estudiar detenidamente los resultados obtenidos del análisis de las distintas subpoblaciones funcionales linfocitarias, efectuado mediante citofluorometría (Fig. 4).

De las tres principales poblaciones celulares, sólo la correspondiente a los linfocitos con actividad NK se encuentra incrementada de forma significativa. Este aumento de la actividad NK ya ha sido manifestado por algunos autores (18) y nuestros datos concuerdan con lo descrito por ellos. Creemos oportuno resaltar que esta actividad NK se encuentra disminuida en otras alteraciones psiquiátricas como en los estados



depresivos (69, 148) y el estrés (146, 171).

Sin embargo, no hemos hallado incrementos, también descritos en la bibliografía, en el recuento de células T (221) y B (203). Este hecho, junto con los resultados obtenidos en la determinación de las subpoblaciones funcionales de linfocitos T (Fig. 5 y 6), capacidad de activación proliferativa en presencia de mitógenos (Fig. 7), y ausencia de niveles incrementados de inmunoglobulinas séricas (Fig. 2), nos permite deducir que en la población de enfermos esquizofrénicos la inmunidad adaptativa o adquirida, tanto a nivel celular como humoral, no presenta variación alguna con respecto a la población control sana.

En cuanto a la actividad de las células fagocíticas, los resultados obtenidos muestran características muy peculiares en la población de enfermos de esquizofrenia. Si bien es cierto que los valores medios de máxima activación (Fig. 8) no presentan alteraciones significativas con respecto a la población control, las diferencias sí son apreciables al efectuar un análisis de la cinética de activación en los fagocitos de sangre periférica en ambas poblaciones

## DISCUSION

objeto de estudio (Figs. 9 y 10). La activación es muy rápida y se mantienen durante largo tiempo los valores de gran activación ( $QL > 30 \times 10^6$  cpm) en los polimorfonucleares procedentes de enfermos esquizofrénicos. Esta mayor rapidez y mantenimiento del estado de activación también ocurre en los monocitos, aunque de manera mucho más discreta. Estos datos nos confirma la teoría de que a nivel hemático, las células responsables de los procesos de fagocitosis son los neutrófilos.

El incremento observado, en enfermos esquizofrénicos, en los valores obtenidos en la determinación de la concentración sérica del componente C3 del complemento, recuento de fagocitos de sangre periférica, así como su mayor rapidez de activación frente a un estímulo, y finalmente del porcentaje de linfocitos con marcadores de células con actividad NK, parámetros todos ellos encuadrados en la inmunidad constitutiva y caracterizada por presentar mecanismos efectores no específicos del antígeno, nos sugiere la idea de la presencia en estos enfermos, de un proceso inflamatorio crónico, que explicaría el incremento de C3 y la disminución de C4.



## DISCUSION

Quedaría por dilucidar la causa de este proceso inflamatorio, en principio no debería rechazarse ninguna posibilidad, sin embargo y a tenor de lo descrito en la bibliografía, tendríamos que tener en cuenta principalmente dos etiologías: una causa viral, y una alteración autoinmunitaria.

La investigación para resolver este dilema, se basaría en el estudio de las inmunoglobulinas séricas de estos enfermos, enfrentándolas a distintos antígenos, tanto virales como autoantígenos, para así confirmar la especificidad de las mismas. Dicha investigación, que si bién es cierto no figuraba entre los objetivos de esta memoria, es nuestra intención efectuarla en un próximo futuro.

Uno de los objetivos que nos propusimos a la hora de hacer el diseño de esta memoria de investigación, fué el de incluir metodologías, que si bién es cierto se encuentran asentadas en los protocolos de laboratorio de numerosos centros de investigación y, por tanto, su validez está fuera de toda discusión, no está su uso lo suficientemente extendido en nuestro país como sería de desear.

Es por ello por lo que creemos necesario realizar en este apartado, un más que justificado comentario a dichas metodologías. Actualmente los ensayos biológicos en los que se requiere una medida de citotoxicidad o proliferación celular, se efectúan mediante métodos basados en la liberación de proteínas marcadas con isótopos radioactivos ( $^{51}\text{Cr}$ ) o en la incorporación de nucleótidos marcados de igual forma ( $^3\text{H}$  ó  $^{125}\text{I}$ ). Sin embargo, y debido fundamentalmente al riesgo, tanto a nivel personal de sus usuarios como a nivel medioambiental, que representa su almacenaje, manipulación y tratamiento de los residuos, cada vez son más numerosos los grupos de investigación que optan por la utilización de metodologías ecológicamente "limpias" con las que podemos obtener resultados similares a los obtenidos por las metodologías "clásicas".

La medida de proliferación celular la hemos determinado mediante la metodología descrita por Mosmann en 1983 (219). Este método está basado en la capacidad que poseen algunas células vivas para utilizar sustratos débilmente coloreados que son modificados por ellas obteniéndose productos de fuerte



## DISCUSION

coloración. Este proceso no se aparece cuando la célula está muerta y, además, el medio de cultivo por sí solo es incapaz de llevarlo a cabo. Las sales de tetrazolio son muy buenos candidatos para este propósito ya que con ellos podemos determinar la actividad deshidrogenasa. El anillo de tetrazolio es roto por la mitocondria activa y, por tanto, dicho proceso sólo ocurre en células vivas.

Nosotros hemos utilizado como sal de tetrazolio el bromuro de 3-(4,5-dietiltiazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolio (MTT) que cuando se rompe, su producto origina una coloración azul oscura. La ventaja de este método radica en que pueden obtenerse los resultados mediante lectores de ELISA, mucho más económicos que los contadores de radioactividad, y además también podemos utilizar placas de cultivos celulares de 96 pocillos. Esta técnica posee las mismas ventajas que las técnicas basadas en la incorporación de nucleótidos marcados radioactivamente.

En cuanto a la medida de la actividad de las células con capacidad fagocítica, ésta puede realizarse por distintas metodologías: capacidad de ingestión de

partículas; actividad bactericida; consumo de oxígeno; actividad de shunt de las hexosas fosfato, etc. Sin embargo, estas técnicas tienen el inconveniente de presentar un montaje engorroso, una lectura lenta y los resultados presentan una gran carga de subjetividad. Las técnicas basadas en la quimioluminiscencia (QL) tienen la gran ventaja de su fácil montaje y su lectura automatizada.

Tras la ingestión de una partícula, en el fagocito se desencadena una serie de procesos metabólicos, entre los que podemos destacar un fuerte incremento en el consumo de oxígeno, que puede alcanzar valores 10 veces superiores a los que presenta la célula en estado de no activación. Sin embargo, este oxígeno incorporado no se utiliza en la respiración, sino en la producción de moléculas de gran actividad microbicida como: aniones superóxidos, peróxido de hidrógeno, radicales hidroxilo y oxígeno singlete. De esta forma, existe una fuerte correlación entre el metabolismo oxidativo de los fagocitos y su capacidad de matar intracelularmente las partículas ingeridas (112).



## DISCUSION

Los procesos anteriormente descritos conllevan la emisión de fotones, fenómeno que recibe el nombre de quimioluminiscencia (QL) y su intensidad está estrechamente relacionada con el grado de activación de las células fagocíticas. La QL, por tanto, es una poderosa herramienta analítica para la determinación de la reactividad oxidativa y, por ello, del grado de activación de las células fagocíticas.

Así pues, creemos que ambas metodologías son dos herramientas eficaces y sensibles a la hora de efectuar el análisis de estado funcional de las células inmunocompetentes.

## **CONCLUSIONES**



**VI.- CONCLUSIONES**

1. Los enfermos esquizofrénicos tienen incrementada de forma significativa la respuesta inmune constitutiva, cuando se compara con la de una población control sana.
2. Dicho incremento de la respuesta inmune se ve reflejada en los siguientes parámetros: concentración sérica del componente C3 del complemento y recuento de leucocitos, neutrófilos, células con actividad NK y monocitos de sangre periférica.
3. La respuesta inmune adaptativa, no presenta variación cualitativa ni cuantitativa, cuando se compara con la población control sana.
4. De acuerdo con nuestros resultados, existen evidencias de un proceso inflamatorio en los esquizofrénicos y cuya etiología no conocida, puede ser compatible con las hipótesis de etiología viral o autoinmune de la esquizofrenia.
5. De existir una causa autoinmune en esta enfermedad, serían únicamente los mecanismos inespecíficos

CONCLUSIONES

inmunitarios los más directamente implicados en dicha etiología.



**BIBLIOGRAFIA**

## VI.- BIBLIOGRAFIA

1. Ackerman, K.D., D.L. Bellinger, S.Y. Felten, D.L. Felten. 1990. Ontogeny and senescence of noradrenergic innervation of the rodent thymus and spleen. pp. 71-126. En R. Ader, N. Cohen, D.L. Felten (Eds). Psychoneuroimmunology II. Academic Press, New York.
2. Ackerman, K.D., S.Y. Felten, D.L. Bellinger, D.L. Felten. 1987. Noradrenergic sympathetic innervation of the spleen: III. Development of innervation en the rat spleen. J. Neurosci. Res., 18:49-54.
3. Ackerman, K.D., S.Y. Felten, D.L. Bellinger, S. Livnat, D.L. Felten. 1987. Noradrenergic sympathetic innervation of spleen and lymph nodes in relation to specific cellular compartments pp. 588-600. En Progress in Immunology IV. B. Cinader, R.G. Miller (Eds). Academic Press, Orlado.
4. Ackerman, K.D., S.Y. Felten, C.D. Dijkstra, S. Livnat, D.L. Felten. 1989. Parallel development of nor-adrenergic innervation and cellular compartmentation en the rat spleen. Exp. Neurol., 103:239-255.
5. Ackerman, S.H., S.E. Keller, S.J. Schleifer, R.D. Shindlecker, M. Camerino, 1988. Premature maternal separation and lymphocyte function. Brain Behav. Immun., 2:161-165.
6. Ader, R. 1985. Conditioned immunopharmacological effects in animals: Implications for a conditioning model of pharmacotherapy. pp. 306-323. En L. White, B. Tursky G.E. Schwartz (Eds). Placebo: Theory, Research, and Mecanisms. Gullford, New York.
7. Ader, R. N. Cohen. 1975. Behaviorally conditioned immunosuppression. Psychosom. Med., 37:333-340.
8. Ader, R., N. Cohen. 1982. Behaviorally conditioned immunosuppression and murine systemic



## BIBLIOGRAFIA

- lupus erythematosus. *Science*, 215:1534-1536.
9. Ader, R., N. Cohen. 1985. CNS-immune system interactions: conditioning phenomena. *Behav. Brain Sci.*, 8:379-395.
  10. Ader, R., N. Cohen. 1990. The influence of conditioning on immune responses. pp. 609-646. En R. Ader, N. Cohen, D.L. Felten (Eds). *Psychoneuroimmunology II*. Academic Press, New York.
  11. Ader, R., N. Cohen, D.L. Felten. 1987. Brain, behavior, and immunity. *Brain Behav. Immun.*, 1: 1-6.
  12. Ader, R., D.L. Felten, N. Cohen. 1990. Interactions between the brain and the immune system. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30:561-602
  13. Ader, R., L.J. Grotta, N. Cohen. 1987. Conditioning phenomena and immune function. *Ann. NY Acad. Sci.*, 496:532-544.
  14. Ader, R., L.J. Grotta, J.A. Moynihan, N. Cohen. 1990. Behavioral adaptations in autoimmune disease-susceptible mice. pp.685-708. En R. Ader, N. Cohen, D.L. Felten (Eds). *Psychoneuroimmunology II*. Academic Press, New York.
  15. Albrecht, J., J.H. Helderman, M.A. Schlessler, A.J. Rush. 1985. A controlled study of cellular immune function in affective disorders before and during somatic therapy. *Psychiatry Res.*, 15:185-193.
  16. Alvarez-Mon, M., J.H. Kehrl, A.S. Fauci. 1985. A potential role for adrenocorticotropin in regulating human B lymphocyte functions. *J. Immunol.*, 135:3823-3826.
  17. Arya, S.K., F. Wong-Staal, R.C. Gallo. 1984. Dexamethasone-mediated inhibition of human T cell growth factor in gamma-interferon messenger RNA. *J. Immunol.*, 133:273-276.
  18. Aschauer, H., A. Urch, F. Resch, G. Schonbeck, R. Strobl, R. Hatzinger, C. Muller, C. Zielinski. 1987. Natural immunity in schizophrenia. *Ann. NY*

BIBLIOGRAFIA

- Acad. Sci., 496:743-744.
19. Baker, G.A., R. Santalo, J. Blumenstein. 1977. Effect of psychotropic agents upon the blastogenic response of human T-lymphocytes. *Biol. Psychiatry*, 12:159-169.
  20. Baranic, M., D. Pericic, M. Poljak-Blazi. 1979. The immunological reactivity of mice stressed by overcrowding and treated with halperidol. *Period. Biol.*, 81:213-214.
  21. Bartrop, R.W., E. Luckhurst, L. Lazarus, L.G. Kiloh, R. Penny. 1977. Depressed lymphocyte function after bereavement. *Lancet*, 1:834-836.
  22. Bellinger, D.L., S.Y. Felten, D. Lorton, D.L. Felten. 1989. Origin of noradrenergic innervation of the spleen in rats. *Brain Behav. Immun.* Recogido en cita n° 12.
  23. Berczi, I. 1986. The influence of pituitary-adrenal axis on the immune system, pp. 49-132. En I. Berczi (Ed). *Pituitary function and immunity*. CRC Press, Boca Raton.
  24. Berczi, I. 1986. The pituitary-thyroid axis, pp. 185-219. En I. Berczi (Ed). *Pituitary Function and Immunity*. CRC Press. Boca Raton.
  25. Berczi, I., E. Nagy, S.L. Asa, K. Kovacs. 1983. Pituitary hormones and contact sensitivity in rats. *Allergy*, 38:325-330.
  26. Berczi, I., E. Nagy, K. Kovacs, E. Horvath. 1981. Regulation of humoral immunity in rats by pituitary hormones. *Acta Endocrinol.* 98:506-513.
  27. Berkenbosch, F., R.A. Van Oers, F. Tilders, H. Besedovsky. 1987. Corticotropin-releasing factor-producing neurons in the rat activated by interleukin-1. *Science*, 238:524-526.
  28. Bernardini, R., U. Scapagnini. 1988. Interactions between cytokines and hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Prog. NeuroEndocrinImmun.*, 1:13-15.



BIBLIOGRAFIA

29. Bernton, E.W., H.U. Bryant, J.W. Holaday. 1990. Prolactin and immune function. pp.403-428. En R. Ader, N. Cohen, D.L. Felten (Eds). Psychoneuro-immunology II. Academic. New York.
30. Bernton, E.W., M.T. Meltzer, J.W. Holaday. 1988. Supression of macrophage activation and T-lymphocyte function in hypoprolactinemic mice. *Science*, 239:401-404.
31. Besedovsky, H.O., M. Da Prada, A.E. del Rey, E. Sorkin. 1981. Immunoregulation by sympathetic nervous system. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2:236-238.
32. Besedovsky, H.O., A. del Rey, E. Sorkin. 1979. Antigenic competition between horse and sheep red blood cells as hormone-dependent phenomenon. *Clin. Exp. Immunol.*, 37:106-113.
33. Besedovsky, H. O., A. del Rey, E. Sorkin. 1981. Lymphokine-containing supernatants from Con A-stimulated cells increase corticosterone blood levels. *J. Immunol.*, 126:385-387.
34. Besedovsky, H.O., A. del Rey, E. Sorkin. 1986. Leukocytes and Host Defense. J.J. Oppenheim, D.M. Jacobs (Eds). Alan R. Liss Inc, New York
35. Besedovsky, H.O., A. del Rey, E. Sorkin, M. Da Prada, H.H. Keller. 1979. Immunoregulation metiated by the sympathetic nervous system. *Cell. Immunol.*, 48:346-355.
36. Besedovsky, H.O., A. del Rey, E. Sorkin, C.A. Dinarello. 1986. Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones. *Science*, 233:652-654.
37. Besedovsky, H.O., A. del Rey, E. Sorkin, W. Lotz, U. Schwulera. 1985. Lymphoid cells produre an immunoregulatory glucocorticoid increasing factor (GIF) acting through the pituitary gland. *Clin. Exp. Immunol.*, 59:622-628.
38. Besedovsky, H.O., E. Sorkin. 1977. Network of immune neuroendocrine interactions. *J. Clin. Exp. Immunol.*, 27:1-12.

## BIBLIOGRAFIA

39. Besedovsky, H.O., E. Sorkin, M. Keller, J. Müller. 1975. Changes in blood hormone levels during the immune response. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 150:466-470.
40. Beutler, B. A. Cerami. 1988. Cachetin (tumor necrosis factor): A macrophage hormone governing cellular metabolism and inflammatory response. *Endocr. Rev.*, 9:57-66.
41. Black, S., J.H. Humphrey, J.S.F. Niven. 1963. Inhibition of Mantoux reaction by direct suggestion under hypnosis. *Br. Med. J.*, i:1649-1652.
42. Blalock, J.E. 1984. The immune system as a sensory organ. *J. Immunol.* 132:1067-1070.
43. Blalock, J.E. 1989. A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine system. *Physiol. Rev.*, 69:1-32.
44. Blalock, J.E., K.L. Bost, E.M. Smith. 1985. Neuroendocrine peptide hormones and their receptors in the immune system. Production, processing and action. *J. Neuroimmunol.*, 10:31-40.
45. Blalock, J.E., D. Harbour-McMenamin, E.M. Smith. 1985. Peptide hormones shared by the neuroendocrine and immunologic systems. *J. Immunol.*, 135:856s-861s.
46. Blecha, F., R.A. Barry, K.W. Kelley. 1982. Stress-induced alterations in delayed-type hypersensitivity to SRBC and contact sensitivity to DNFB in mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 169:239-246.
47. Blecha, F., K.W. Kelley, D.G. Satterlee. 1982. Adrenal involvement in the expression of delayed-type hypersensitivity to SRBC and contact sensitivity to DNFB in stressed mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 169:247-252.
48. Bost, L.K. 1988. Hormone and neuropeptide receptor on mononuclear leukocytes. *Prog. Allergy*, 43:68-83.



## BIBLIOGRAFIA

49. Bouchon, R., B. Will. 1982. Effects of early enriched and restricted environments on the exploratory and locomotor activity of dwarf mice. *Behav. Neural Biol.*, 35:174-186.
50. Boyum, A. 1968. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Lab. Invest.*, 21:77-89.
51. Brooks, W.H., R.J. Cross, T.L. Roszman, W.R. Markesbery. 1982. Neuroimmunomodulation.- Neural anatomical basis for impairment and facilitation. *Ann. Neurol.*, 12:56-61.
52. Brown, S.L., D.E. Van Epps. 1986. Opioid peptides modulate production of interferon gamma by human mononuclear cells. *Cell. Immunol.*, 103:19-26.
53. Bryant, H.U., E.W. Bernton, J.W. Holaday. 1989. Cysteamine produces dose-related biphasic immunomodulatory effects in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 249:424-429.
54. Bulloch, K., R.Y. Moore. 1981. Innervation of the thymus gland by brain stem and spinal cord in mouse and rat. *Am. J. Anat.*, 162:157-166.
55. Bunner, D.L., E. Morris, R. C. Smallridge. 1984. Circadian growth hormone and prolactin blood concentration during a self-limited viral infection and artificial hyperthermia in man. *Metabolism*, 33:337-341.
56. Calabrese, J.R., R.G. Skwerer, B. Barna. 1986. Depression, immunocompetence, and prostaglandins of the E series. *Psychiatry Res.*, 17:41-47.
57. Calvo, W. 1968. The innervation of the bone marrow in laboratory animals. *Am. J. Anat.*, 123:315-328.
58. Cappel, R., F. Gregiore, L. Thirley, S. Sprecher. 1978. Antibody and cell-mediated immunity to herpes simplex virus in psychotic depression. *J. Clin. Psychiatry*, 39:266-268.
59. Carlson, S.L., D.L. Felten, S. Livnat, S.Y. Felten. 1987. Alterations of monoamines in

BIBLIOGRAFIA

- specific central autonomic nuclei following immunization in mice. *Brain Behav. Immun.*, 1:52-63.
60. Carr, D.J. 1988. Opioid receptors on cells of the immune system. *Prog. NeuroEndocrinImmun.*, 1:8-14.
  61. Carroll, B. J., F.I. Martin, B.M. Davis. 1968. Resistance to suppression by dexamethasone of plasma 11-OHCS levels in severe depressive illness. *Br. Med. J.* 3:285-287.
  62. Claas, F.H.J., J.M. van Ree, W.M.A. Verhoeven, J.J. van der Poel, W. Verduyn. 1986. The interaction between gamma-type endorphins and HLA class-I antigens. *Hum. Immunol.*, 15:347-356.
  63. Clements, J.A., J.W. Funder. 1986. Arginine vasopressin (AVP) and AVP-like immunoreactivity in peripheral tissues. *Endocr. Rev.*, 7:449-460.
  64. Coe, C.L., S.G. Weiner, L.T. Rosenberg, S. Levine. 1985. Endocrine and immune responses to separation and maternal loss in nonhuman primates. pp 163-220. En M. Reite, T. Field. (Eds). *The Psychobiology of Attachment and Separation*, Academic Press, New York.
  65. Coffey, R.G., J.W. Hadden. 1985. Neurotransmitters, hormones and cyclic nucleotides in lymphocyte regulation. *Fed. Proc.*, 44:112-117.
  66. Coffey, C.E., J.L. Sullivan, J.R. Rice. 1983. T-lymphocytes in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 18:113-119.
  67. Comsa, J., H. Leonhardt, J.A. Schwarz. 1975. Influence of the thymuscorticotropin-growth hormone interaction on the rejection of skin allografts in the rat. *Ann. NY Acad. Sci.*, 249:387-401.
  68. Copinschi, G., M. L'Hermite, R. Leclerco. 1975. Effects of glucocorticoids on pituitary hormonal response to hypoglycemia. Inhibition of prolactin release. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40:442-449.



## BIBLIOGRAFIA

69. Costa, E., E. Noviello, R. Caritano, F. Ippoliti. 1990. Correlation between psychic depression and immune system. *J. Immunol. Immunopharmacol.*, 10:134-135.
70. Crnic, L. 1990 Behavioral consequences of virus infection. pp. 740-770. En R. Ader, N. Cohen, D.L. Felten (Eds). *Psychoneuroimmunology II*. Academic Press, New York.
71. Cross, R.J., W.H. Brooks, T.L. Roszman. 1987. Modulation of T-suppressor cell activity by central nervous system catecholamine depletion. *J. Neurosci. Res.*, 18:75-81.
72. Cross, R.j., W.R. Markesbery, W.H. Brooks, T.L. Roszman. 1984. Hypothalamic-immune interactions: Neuromodulation of natural killer activity lesioning of the anterior hypothalamus. *Immunology*, 51:399-405.
73. Culpepper, J.A., F. Lee. 1985. Regulation of IL-3 expression by glucocorticoids in cloned murine T lymphocytes. *J. Immunol.*, 135:3191-3197.
74. Cunnick, J.E., D.T. Lysle, A. Armfield, B.S. Rabin. 1988. Shock-induced modulation of lymphocyte responsiveness and natural killer activity: Differential mechanisms of induction. *Brain Behav. Immun.*, 2:102-113.
75. Cupps, T.R., A.S. Fauci. 1982. Corticosteroid-mediated immunoregulation in man. *Immunol. Rev.*, 65:133-155.
76. Chengappa, K.N.R., A.B. Carpenter, S. Keshavan, Z.W. Yang, R. Kelly, B.S. Rabin, R. Ganguli. 1991. Elevated IgG and IgM anti-cardiolipin antibodies in a subgroup of medicated and never-medicated schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry*, 30:731-735.
77. Darko, D.F., A.H. Lucas, J.C. Gillin, S.C. Risch, S. Golshan, R.N. Hamburger, M.B. Silverman, D.S. Janoswsky. 1988. Cellular immunity and the hypohalamic-pituitary-axis in major affective disorder: a preliminary study. *Psychiatry Res.*,

BIBLIOGRAFIA

25:1-10.

78. Darko, D.F., T. Patterson, N. Willson, J.C. Gillin. 1991. Immune system mediated illness in major depression. *Psychosom. Met.*, 53:230-231.
79. Davila, D.R., S. Brief, J. Simon, R.E. Hammer, R.L. Brinster, K.W. Kelley. 1987. Role of growth hormone in regulating T-dependent immune events in aged, nude, and transgenic rodents. *J. Neurosci. Res.*, 18:108-116.
80. Del Rey, A., H.O. Besedovsky, E. Sorkin. 1984. Endogenous blood levels of corticosterone control the immunological cell mass and B-cell activity in mice. *J. Immunol.*, 133:572-575.
81. Del Rey, A., H.O. Besedovsky, E. Sorkin, M. Da Prada, S. Arrenbrecht. 1981. Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system. *Cell. Immunol.*, 63:329-334.
82. DeLisi, L.E., S. Goodman, L.M. Neckers, R.J. Wyatt. 1982. An analysis of lymphocyte subpopulations in schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry*, 17:1003-1009.
83. DeLisi, L.E., R.J. Wyatt. 1982. Abnormal immune regulation in schizophrenic patients. *Psychopharmacol. Bull.*, 18:158-163.
84. Demares, K.T., G.D. Riegler, K.E. Moore. 1985. The interrelationship between the rapid "tonic" and the delayed "induction" components of the prolactin-induced activation of tuberofundibular dopamine neurons, pp. 533-542. En R.M. MacLeod, U. Scapagnini, M.O. Thorner (Eds). *Prolactin, Basic and Clinical Correlates*. Springer-Verlag, New York.
85. Depace, D.M., R.H. Webber. 1975. Electro-stimulation and morphologic study of the nerves to the bone marrow of the albino rat. *Acta Anat.*, 93:1-18.
86. Dunn, A.J. 1988. Systemic interleukin-1 administration stimulates hypothalamic



## BIBLIOGRAFIA

- norepinephrine metabolism paralleling the increased plasma corticosterone. *Life Sci.*, 43:429-435.
87. Dyck, D.G., S.M. Deidger, R. Nemeth, T.A.G. Osachuk, A.H. Greenberg. 1987. Conditioned tolerance to drug-induced (Poly I:C) natural killer cell activation: Effect of drug dosage and context specificity parameters. *Brain Behav. Immun.*, 1:251-266.
  88. Dyck, D.G., A.H. Greenberg, T.A.G. Osachuk. 1986. Tolerance to drug-induced (Poly I:C) natural killer cell activation: Congruence with a Pavlovian conditioning model. *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Proc.*, 12:25-31.
  89. Edwards III, C.K., S.M. Ghiasuddin, J.M. Schepper, L.M. Yunger, K.W. Kelly. 1988. A newly defined property of somatotropin: priming of macrophages for production of superoxide anion. *Science*, 239: 769-771.
  90. Edwards, C.K.III, S.M. Ghiasuddin, J.M. Schepper, L.M. Yunger, K.W. Kelley. 1988. A newly defined property of somatotropin: priming of macrophages for production of superoxide anion. *Science*, 239:769-771.
  91. Esterling, B., B.S. Rabin. 1987. Stress-induced alteration of T-lymphocyte subsets and humoral immunity in mice. *Behav. Neurosci.*, 101:115-119.
  92. Evans, C.J., E. Erdelyi, J.D. Barchas. 1986. Candidate opioid peptides for interaction with the immune system, pp. 3-16. En N.P. Plotnikoff, R.E. Faith, A.J. Murgu, R.A. Good (Eds). *Enkephalins and Endorphins*. Plenum, New York.
  93. Farrar, W.L., J.M. Hill, A. Harel-Bellan, M. Vinocour. 1987. The immune logical brain. *Immunol Rev.*, 100:361-378.
  94. Feldman, R.D., L.E. Limbird, J. Nadeau, G.A. FitzGerald, D. Robertson, A.J.J. Wood. 1983. Dynamic regulation of leucocyte beta adrenergic receptor-agonist interactions by physiological

## BIBLIOGRAFIA

- changes in circulating catecholamines. *J. Clin. Invest.*, 72:164-170.
95. Felten, D.L., K.D. Ackerman, S.J. Wiegand, S.Y. Felten. 1987. Noradrenergic sympathetic innervation of the spleen: I. Nerve fibers associate with lymphocytes and macrophages in specific compartments of the splenic white pulp. *J. Neurosci. Res.*, 18:28-36.
  96. Felten, D.L., S.Y. Felten. 1989. Innervation of the thymus, pp. 73-88. En *Thymus Update*. M.D. Kendall, M.A. Ritter (Eds). Harwood Academic. London.
  97. Felten, D.L., S.Y. Felten, D.L. Bellinger, S.L. Carlson, K.D. Ackerman. 1987. Noradrenergic sympathetic neural interactions with the immune system: structure and function. *Immunol. Rev.*, 100:225-260.
  98. Felten, D.L., S.Y. Felten, S.L. Carlson, D.L. Bellinger, K.D. Ackerman, T.A. Romano, S. Livnat. 1988. Development, aging, and plasticity of noradrenergic sympathetic innervation of secondary lymphoid organs: Implications for neural immune interactions, pp. 517-524. En A. Dahlström, R.H. Belmaker, M. Sandler (Eds). *Progress in Catecholamine Research, Part A: Basic Aspects and Peripheral Mechanisms*. Alan R. Liss, New York.
  99. Felten, D.L., S.Y. Felten, S.L. Carlson, J.A. Olschowka, S. Livnat. 1985. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue, *J. Immunol.*, 135:755s-765s.
  100. Felten, D.L., S.Y. Felten, K.S. Madden, K.D. Ackerman, D.L. Bellinger. 1989. Development, maturation and senescence of sympathetic innervation of secondary immune organs, pp. 381-396. En M.P. Schreiber, C.G. Scanes (Eds). *Development, Maturation, and Senescence of Neuroendocrine Systems*. Academic Press, New York.
  101. Felten, D.L., S. Livnat, S.Y. Felten, S.L. Carlson, D.L. Bellinger, P. Yeh. 1984. Sympathetic innervation of lymph nodes in mice. *Brain Res.*



BIBLIOGRAFIA

- Bull., 13:693-699.
102. Felten, D.L., J.M. Overhage, S.Y. Felten, J.F. Schmedtje. 1981. Noradrenergic sympathetic innervation of lymphoid tissue in the rabbit appendix: further evidence for a link between the nervous and immune systems. *Brain Res. Bull.*, 7:595-612.
  103. Felten, S.Y., D.L. Felten. 1990. Innervation of lymphoid organs. pp. 27-70. En R. Ader, N. Cohen, D.L. Felten (Eds). *Psychoneuroimmunology II*. Academic Press, New York.
  104. Felten, S.Y., D.L. Felten, D.L. Bellinger, S.L. Carlson, K.D. Ackerman. 1988. Noradrenergic sympathetic innervation of lymphoid organs. *Prog. Allergy*, 43:14-36.
  105. Felten, S.Y., J.A. Olschowka. 1987. Noradrenergic sympathetic innervation of the spleen: II. Tyrosine hydroxylase (TH)-positive nerve terminals form synaptic-like contacts on lymphocytes in the splenic white pulp. *J. Neurosci. Res.*, 18:37-48.
  106. Felten, S.Y., J.A. Olschowka, K.D. Ackerman, D.L. Felten. 1988. Catecholaminergic innervation of the spleen: Are lymphocytes targets of noradrenergic nerves?, pp. 525-531. En A. Dahlström, R.H. Belmaker, M. Sander (Eds). *Progress in Catecholamine Research, Part A: Basic Aspects and Peripheral Mechanisms*. Alan R. Liss, New York.
  107. Fitzgerald, L. 1988. Exercise and the immune system. *Immunol. Today*, 9:337-339.
  108. Fontana, L., A. Fattorossi, R. D'Amelio, A. Migliorati, R. Perricone. 1987. Modulation of human concanavalin A-induced lymphocyte proliferative response by physiological concentrations of beta-endorphin. *Immunopharmacology*, 13:111-115.
  109. Forni, G., M. Bindoni, A. Santoni. 1983. Radiofrequency destruction of the tuberoinfundibular region of hypothalamus permanently abrogates NK cell activity in mice.

BIBLIOGRAFIA

Nature, 306:181-184.

110. Fried, G., L. Terenius, E. Brodin, S. Efendic, G. Dockray. 1986. Neuropeptide Y, enkephalin and noradrenaline coexist in sympathetic neurons innervating the bovine spleen. Biochemical and immunohistochemical evidence. Cell Tissue Res., 243: 495-508.
111. Froelich, C.J. A.D. Bankhurst. 1984. The effect of Beta-endorphin on natural cytotoxicity and antibody dependent cellular cytotoxicity. Life Sci., 35:261-265.
112. Gallego, A.M., M.A. de Pablo, P.L. Pancorbo, C. Alvarez, G. Alvarez de Cienfuegos. 1993. Determinación de la actividad de células fagocíticas en sangre periférica mediante quimioluminiscencia. Rev. Diagn. Biol., 42:250-254.
113. Ganguli, R., J.S. Brar, W. Solomon, K.N.R. Chengappa, B.S. Rabin. 1992. Altered interleukin-2 production in schizophrenia: association between clinical state and autoantibody production. Psychiatry Res., 44:113-123.
114. Ganguli, R., B.S. Rabin. 1989. Increased serum interleukin-2 receptor concentration in schizophrenic and brain damaged subjects. Arch. Gen. Psychiatry, 46:292.
115. Ganguli, R., B.S. Rabin, R.H. Kelly, M. Lyte, U. Raghu. 1987. Clinical and laboratory evidence of autoimmunity in acute schizophrenia. Ann. NY. Acad. Sci. 496:676-685.
116. Ganguli, R., B. Rabin, U. Raghu. 1987. Immunologic abnormalities in schizophrenia: Previously unreported medication artifacts and a review of changes in lymphocyte numbers and functions. Int. J. Neurosci., 32:703.
117. Garcia, J., W.G. Hankins, K.W. Rusiniak. 1974. Behavioral regulation of the milieu interne in man and rat. Science, 185:824-831.



BIBLIOGRAFIA

118. Geenen, V. J.-J. Legros, P. Franchimont, M. Baudrihaye, M.P. Defresne, J. Boniver. 1986. The neuroendocrine thymus: coexistence of oxytocin and neurophysin in the human thymus. *Science*, 232:508-510.
119. Geenen, V., J.-J. Legros, P. Franchimont, M.P. Defresne, J. Boniver. 1987. The thymus as a neuroendocrine organ: Synthesis of vasopressin and oxytocin in human thymic epithelium. *Ann. NY Acad. Sci.*, 496:56-66.
120. Gessani, S. s. McCandless, C. Baglioni. 1988. The glucocorticoid dexamethasone inhibits synthesis of interferon by decreasing the level of its mRNA. *J. Biochem.*, 263:7454-7457.
121. Gibbs, D.M., W. Vale. 1983. Effect of serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on corticotropin-releasing factor and vasopressin secretion into hypophysial portal blood. *Brain Res.*, 280:176-179.
122. Gilbeau, P.M., R.G. Almirez, J.W. Holaday, C.G. Smith. 1985. Opioid effects on plasma concentrations of leutenizing hormone and prolactin in the adult male rhesus monkey. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 60:299-305.
123. Gilman, S.C., J.M. Schwartz, R.J. Milner, F.E. Bloom, J.D. Felman. 1982. Beta-Endorphin enhances lymphocyte proliferative responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79:4226-4230.
124. Gillies, G.E., E.A. Linton, P.J. Lowry. 1982. Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin. *Nature*, 299:355-357.
125. Giron, L.T., K.A. Crutcher, J.N. Davis. 1980. Lymph nodes-a possible site for sympathetic neuronal regulation of immune responses. *Ann. Neurol.*, 8:520-525.
126. Glaser, R., Kielcot-Glaser, J.K., C.E. Spicher, J. E. Holliday. 1985. Stress, loneliness, and changes in Herpes virus latence. *J. Behav. Met.*, 8:249-260.

## BIBLIOGRAFIA

127. Glaser, R., J.L. Rice, J. Sheridan, R. Fertel, J. Stout. 1987. Stress-related immune suppression: Health implications. *Brain Behav. Immun.*, 1:7-20.
128. Glaser, R., B.E. Thorn, K.L. Tarr, J.K. Kiecolt-Glaser, S.M. D'Ambrosio. 1985. Effects of stress on methyl-transferase synthesis: An important DNA repair enzyme. *Health Psychol.*, 4:403-412.
129. Gorzynski, R.M., M. Kenedy, A. Ciampi. 1985. Cimetidine reverses tumor growth enhancement of plasmacytoma tumors in mice demonstrating conditioned immunosuppression. *J. Immunol.*, 134:4261-4264.
130. Gottlieb-Stematsky, T., J. Zonis, A. Arlazoff, T. Mozes, M. Sigal, A.G. Szekely. 1981. Antibodies to Epstein-Barr virus, herpes simplex type I, cytomegalovirus and measles virus in psychiatric patients. *Arch. Virol.*, 67:333-339.
131. Grabstein, K., S. Dower, S. Gillis, D. Urdal, A. Larsen. 1986. Expression of interleukin 2, interferon gamma and the IL-2 receptor by human peripheral blood lymphocytes. *J. Immunol.*, 136:4503-4508.
132. Greenberg, A.H., D.G. Dyck, L.S. Sandler, B. Pohajdak, K.M. Dresel, D. Grant. 1984. Neurohormonal modulation of natural resistance to a murine lymphoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 72:653-659.
133. Grota, L.J., T.R. Schatman, J.A. Moynihan, N. Cohen, R. Ader. 1989. Voluntary consumption of cyclophosphamide by Mrl mice. *Brain Behav. Immun.*, 3:263-273.
134. Grota, L.J., R. Ader, N. Cohen. 1987. Taste aversion learning in autoimmune Mrl-Ipr/Ipr and Mrl +/+ Mice. *Brain Behav. Immun.*, 1:238-250.
135. Hall, N.R., J.P. McGillis, B.L. Spangelo, A.L. Goldstein. 1982. Evidence that thymosins and other biologic response modifiers can function as neuroreactive immunotransmitters. *J. Immunol.*, 135: 806s-811s.



## BIBLIOGRAFIA

136. Hall, N.R., J.P. McGillis, B.L. Spangelo, D.L. Henly, G.P. Chrousos. 1985. Thymic hormone effects on the brain and neuroendocrine circuits, pp. 179-196. En Neural Modulation of Immunity. R. Guillemin, M. Cohn, T. Melnechuk (Eds) Raven, New York.
137. Hall, N.R.S., M.P. O'Grady, J.R. Jr. Farah. 1990. Thymic hormones and immune function: Mediation via neuroendocrine circuits. pp. 515-528. En R. Ader, N.Cohen, D.L. Felten (Eds). Psychoneuroimmunology II. Academic Press, New York.
138. Hartman, D.P., J.W. Holaday, E.W. Berntan. 1989. Inhibition of lymphocyte proliferation by antibodies to prolactin. FASEB J., 3:2194-2202.
139. Heijnen, C.J., C. Bevers, A. Kavelaars, R.E. Ballieux. 1985. Effect of alpha endorphin on the antigen-induced primary antibody response of human blood B cells in vitro. J. Immunol., 136:213-216.
140. Heijnen, C.J., A. Kavelaars, R.E. Ballieux. 1990. CRH and POMC-derived peptides in the modulation of immune function. pp. 429-448. En R. Ader, N. Cohen, D.L. Felten (Eds). Psychoneuroimmunology II. Academic, New York.
141. Helsing, K.J., M. Szklo, G.W. Comstock. 1981. Factors associated with mortality after widowhood. Am. J. Public Health., 71:802-809.
142. Herbert, T.B., S. Cohen. 1993. Depression and immunity: a meta-analytic review. Psychological Bull., 113:472-486.
143. Holbrook, N.J., W.I. Cox, H.C. Horner. 1983. Direct suppression of natural killer activity in human peripheral blood leukocyte cultures by glucocorticoids and its modulation by interferon. Cancer Res., 43:4019-4025.
144. Hotchin, J., R. Seegal. 1978. Alterations in behavior resulting from persistent lymphocytic choriomeningitis virus infection. Birth Defects Orig. Artic. Ser., 14: 171-178.

## BIBLIOGRAFIA

145. Irwin, M., M. Daniels, E.T. Boom, T.L. Smith, H. Weiner. 1987. Life events, depressive symptoms, and immune function. *Am. J. Psychiatry*, 144:437-441.
146. Irwin M., M. Daniels, S.C. Risch, E. Bloom, H. Weiner. 1988. Plasma cortisol and natural killer cell activity during bereavement. *Biol. Psychiatry*, 24:173-178.
147. Irwin, M., M. Daniels, T.L. Smith, E. Bloom, H. Weiner. 1987. Impaired natural killer cell activity during bereavement. *Brain Behav. Immun.*, 1:98-104.
148. Irwin, M., T. Patterson, T.L. Smith, C. Caldwell, S.A. Brown, J.C. Gillin, I. Grant. 1990. Reduction of immune function in life stress and depression. *Biol. Psychiatry*, 27:22-30.
149. Irwin, M., T.L. Smith, J.C. Gillin. 1987. Low natural killer cytotoxicity in major depression. *Life Sci.*, 41:2127-2133.
150. Ito, Y., K. Mino, Y. Ago, T. Nakagawa, M. Fujiwara, S. Ueki. 1983. Attack stress and IgE antibody production in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 19:883-886.
151. Jacobs, S., A. Ostfeld. 1977. An epidemiological review of the mortality of bereavement. *Psychosom. Med.*, 39:344-357.
152. Jankovic, B.D., S. Jakulic, J. Horvat. 1982. Delayed skin Hypersensitivity reactions to brain S-100 protein in psychiatric patients. *Biol. Psychiatry*, 17:687-697.
153. Jankovic, B.D., N.H. Spector. 1986. Enkephalins and Endorphins Stress and the Immune System. N.P. Plotnikoff, R.E. Faith, A.J. Murgoc, R.A. Good (Eds). Plenum Press, New York.
154. Jemmott, J.B., S.E. Locke. 1984. Psychosocial factors, immunologic mediators, and human susceptibility to the infectious illnesses: how much do we know?. *Psychol. Bull.*, 95:78-108.



## BIBLIOGRAFIA

155. Jesseph, J.M., D.L. Felten. 1984. Noradrenergic innervation of the gut-associated lymphoid tissues (GALT) in the rabbit. *Anat. Rec.*, 208:81A.
156. Johnson, H.M., E.M. Smith, B.A. Torres, J.E. Blalock. 1982. Regulation of the in vitro antibody response by neuroendocrine hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79:4171-4174.
157. Johnson, H.M., B.A. Torres. 1985. Regulation of lymphokine production by arginine vasopressin and oxytocin: Modulation of lymphocyte function by neurohypophyseal hormones. *J. Immunol.*, 135:773s-775s.
158. Johnson, H.M., B.A. Torres, E.M. Smith, L.D. Dion, J.E. Blalock. 1984. Regulation of lymphokine (gamma-interferon) production by corticotropin. *J. Immunol.*, 132:246-250.
159. Justice, A. 1981. Review of the effects of stress on cancer in laboratory animals: Importance of time of stress application and type of tumor. *Psychol. Bull.*, 98:108-138.
160. Kasting, N.W., J.B. Martin. 1982. Altered release of growth hormone and thyrotropin induced by endotoxin in the rat. *Am. J. Physiol.*, 243:332-337.
161. Kavelaars, A., R.E. Ballieux, C.J. Heijnen. 1989. The role of interleukin-1 in the CRH- and AVP-induced secretion of ir-beta-endorphin by human peripheral blood mononuclear cells. *J. Immunol.*, 142:2338-2342.
162. Kayu, N., J. Allen, U.J.E. Morley. 1984. Endorphins stimulate normal human peripheral blood lymphocyte natural killer activity. *Life Sci.*, 35:53-59.
163. Keller, S.E., S.J. Schleifer, A.S. Liotta, R.N. Bond, N. Farhody, M. Stein. 1988. Stress-induced alterations of immunity in hypophysectomized rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 85:9297-9301.
164. Keller, S.E., J.M. Weiss, S.J. Schleiffer, N.E.

## BIBLIOGRAFIA

- Miller, M. Stein. 1981. Suppression of immunity by stress: Effect of a graded series of stressors on lymphocyte stimulation in the rat. *Science*, 213:1397-1400.
165. Keller, S.E., J.M. Weiss, S.J. Schleiffer, N.E. Miller, M. Stein. 1983. Stress-induced suppression of immunity in adrenalectomized rats. *Science*, 221:1301-1304.
166. Kelley, K.W. 1989. Growth hormone, lymphocytes and macrophages. *Biochem. Pharmacol.*, 38:705-713.
167. Kelley, K.W. 1990. Growth hormone in immunobiology. pp.379-402. En R. Ader, N.Cohen, D.L. Felten (Eds). *Psychoneuroimmunology II*. Academic Press, New York.
168. Kelley, K.W., S. Brief, H.J. Westly, J. NovaKofski, P.J. 1986. GH3 pituitary adenoma cells can reverse thymic aging in rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83:5663-5667.
169. Kern, J.A., R.J. Lamb, J.C. Reed, R.P. Daniele, P.C. Nowell. 1988. Dexamethasone inhibition of interleukin-1 beta-production by human-monocytes: post-transcriptional mechanisms. *J. Clin. Invest.*, 81:237-244.
170. Khansari, D.N., A.J. Murgo, R.E. Faith. 1990. Effects of stress on the immune system. *Immunol. Today*, 11: 170-175
171. Kielcolt-Glaser, J.K., W. Garner, C. Speicher, G.M. Penn, J. Holliday, R. Glaser. 1984. Psychosocial modifiers of immunocompetence in medical students. *Psychosom. Med.*, 46:7-14.
172. Kiecolt-Glaser, J.K., R. Glaser. 1986. Psychological influences on immunity. *Psychosomatics*, 27:621-624.
173. Kiecolt-Glaser, J.K., R.E. Stephens, P.D. Lipetz, C.E. Speicher, R. Glaser. 1985. Distress and DNA repair in human lymphocytes. *J. Behav. Med.*, 8:311-320.



## BIBLIOGRAFIA

174. Kiess, W., H. Holtmann, O. Butendadt, R. Eise, 1983. Modulation of lymphoproliferation by human growth hormone. *Eur. J. Pediatr.*, 140:47-50.
175. Kirch, D.G. 1993. Infection and autoimmunity as etiologic factors in schizophrenia: a review and reappraisal. *Schizop. Bull.*, 19:355-370.
176. Knight, J.C. 1982. Dopamine receptor stimulating autoantibody: A possible cause of schizophrenia. *Lancet II*: 1073-1075.
177. Knudsen, P.J., C.A. Dinarello, T.B. Strom. 1987. Glucocorticoids inhibit transcriptional and post-transcriptional expression of interleukin-1 in U937 cells. *J. Immunol.* 139:4129-4134.
178. Koff, W.C., M.A. Dunegan. 1985. Modulation of macrophage-mediated tumoricidal activity by neuropeptides and neurohormones. *J. Immunol.*, 135: 30-354.
179. Konfrol, Z., J. Silva, J. Greden, S. Dembinski, R. Gardner, B. Carroll. 1983. Impaired lymphocyte function in depressive illness. *Life Sci.*, 33:241-247.
180. Lal, H., M.J. Forster. 1990. Brain reactive antibodies and learning. pp. 709-748. En R. Ader, N.Cohen, D.L. Felten (Eds). *Psychoneuroimmunology II*. Academic Press, New York.
181. *Lancet*. 1987. Depression, stress, and immunity. Editorial. I:1467-1468.
182. Landi, M.S., J.W. Kreider, C.M. Lang, L.P. Bullock. 1982. Effects of shipping on the immune function in mice. *Am. J. Vet. Res.*, 43:1654-1657.
183. Laudenslager, M.L., M. Reite, R.J. Harbeck. 1982. Suppressed immune response in infant monkeys associated with maternal separation. *Behav. Neural Biol.*, 36:40-48.
184. Laudenslager, M.L., S.M. Ryan, R.C. Drugan, R.L. Hyson, S.F. Maier. 1983. Coping and immunosuppression-Unescapable but not escapable

## BIBLIOGRAFIA

- shock suppresses lymphocyte proliferation.  
*Science*, 221:568-570.
185. Lew, W. J.J. Oppenheim, K. Matsushima. 1988. Analysis of the suppression of IL-1-alpha and IL-1 beta production in human peripheral blood mononuclear adherent cells by a glucocorticoid hormone. *J. Immunol.* 140:1895-1902.
186. Lichtman, M.A. 1981. The ultrastructure of the hemopoietic environment of the marrow: A review. *Exp. Hematol.*, 9:391-410.
187. Linkowski, P., J. Mendlewicz, R. Leclerc, M. Brasseur, P. Hubain, J. Golstein, G. Copinschi, E. Cauter. 1985. The 24-hours profile of adrenocorticotropin and cortisol in major depressive illness. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 61:429-438.
188. Livnat, S. S.Y. Felten, S.L. Carlson, D.L. Bellinger, D.L. Felten. 1985. Involvement of peripheral and central catecholamine systems in neural-immune interactions. *J. Neuroimmunol.*, 10:5-30.
189. Livnat, S., K.S. Madden, K.L. Felten, S.Y. Felten. 1987. Regulation of the immune system by sympathetic neural mechanisms. *Prog. Neuro-psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 11:145-152.
190. Lorton, D., D.L. Bellinger, S.Y. Felten, D.L. Felten. 1989. Substance P (SP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) innervation of the rat spleen. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 15:714.
191. Lundberg, J.M., A. Anggard, J. Pernow, T. Hökfelt. 1985. Neuropeptide, Y-, substance P- and VIP-immunoreactive nerves in cat spleen in relation to autonomic vascular and volume control. *Cell Tissue Res.*, 239:9-18.
192. Lundblad, J.R., J.L. Roberts. 1989. Regulation of proopiomelanocortin gene expression in pituitary. *Endocr. Rev.*, 9:136-158.
193. Lysle, D.T., M. Lyte, H. Fowler, B.S. Rabin. 1987.



## BIBLIOGRAFIA

- Shock-induced modulation of lymphocyte reactivity: Suppression, habituation, and recovery. *Life Sci.*, 41:1805-1814.
194. Maes, M., W. Steven, L. DeClerck, C. Bridts, D. Peeters, C. Schotte, P. Cosyns. 1993. Significantly increased expression of T-cell activation markers (Il-2) and HLA-DR) in depression: Further evidence for an inflammatory process during that illness. *Prog. NeuroPsychopharmacol. and Biol. Psychiat.*, 17:241-255.
195. Maes, M., W. Stevens, D. Peeters, L. DeClerck, S. Scharpe, C. Bridts, C. Schotte, P. Cosyns. 1992. A study on the blunted natural killer cell activity in severely depressed patients. *Life Sci.*, 50:505-513.
196. Maes, M., M. Vamdewoude, S. Scharpe, L. DeClerck, W. Steven, L. Lepoutre, C. Schotte. 1991. Anthropometric and biochemical assessment of the nutritional state in depression: evidence for lower visceral protein plasma levels in depression. *J. Affect. Disord.*, 23:25-33.
197. Maestroni, G.J.M., A. Conti. 1990. Role of the pineal neurohormone melatonin in the psychoneuro-endocrine-immune network. pp. 495-514. En R. Ader, N. Cohen, D.L. Felten (Eds). *Psychoneuro-immunology II*. Academic Press, New York.
198. Maier, S.F., M.L. Laudenslager. 1988. Unescapable shock, shock controllability, and mitogen stimulated lymphocyte proliferation. *Brain Behav. Immun.*, 2:87-91.
199. Makkinodan, T., W. H. Adler. 1975. Effects of aging on the differentiation and proliferation potentials of the immune system. *Fed. Proc.*, 34:153-158.
200. Malaise, M.G., M.T. Hazee-Hagelstein, A.M. Reuter. 1987. Thymopoietin and thimopentin enhance the level of ACTH, beta-endorphin and beta-lipotropin from rat pituitary cell in vitro. *Acta Endocrinol.*, 115:455-459.

## BIBLIOGRAFIA

201. Markwick, A.J., S.J. Lolait, J.W. Funder. 1986. Immunoreactive arginine vasopressin in the rat thymus. *Endocrinology*, 119:1690-1696.
202. Mc Allister, C.G., M.H. Rapaport, D. Pickar. 1989. Increased number of CD5+-B-lymphocytes in schizophrenic patients. *Arch. Gen. Psychiatry*, 46:890-894.
203. Mc Allister, C.G., R.H. Rapaport, D. Pickard, S.M. Paul. 1989. Effect of short-term administration of antipsychotic drugs on lymphocyte subsets in schizophrenic patients. *Arch. Gen. Psychiatry*, 46:956-957.
204. Mc Farland, D.J., J. Hotchin. 1984. Behavioral sequelae to early postnatal cytomegalovirus infection in mice. *Physiol. Behav.*, 12:45-47.
205. Mc Farland, D., J. Hotchin. 1987. Animal models in behavioral neurovirology, pp. 189-198. En E. Kurstak, Z.J. Lipowski, P.V. Morozov (Eds). *Viruses, Immunity, and Mental Disorders*. Plenum. New York.
206. Mc Queen, G.M., J. Marshall, M. Perdue, S. Siegel, J. Bienenstock. 1989. Pavlovian conditioning of rat mucosal mast cells to secrete rat mast cell protease II. *Science*, 243:83-85.
207. Mercola, K.E., M.J. Cline, D.W. Colde. 1981. Growth hormone stimulation of normal and leukemic human T lymphocyte proliferation in vitro. *Blood*, 58:337-340.
208. Metal'nikov, S., V. Chorine. 1926. Rôle des réflexes conditionnels dans l'immunité. *Ann. Inst. Pasteur Paris*. 40:893-900. Recogido en cita n° 12.
209. Metal'nikov, S., V. Chorine. 1928. Rôle des réflexes conditionnels dans la formation des anticorps. *C. R. Soc. Biol.* 99:142-145. Recogido en cita n° 12.
210. Michaut, R.J., R.P. Dechambre, S. Doumerc, B. Lesourd, A. Devillechabrolle, R. Moulias. 1981. Influences of early maternal deprivation on adult



BIBLIOGRAFIA

- humoral immune response in mice. *Physiol. Behav.*, 26:189-191.
211. Miller, M.L., R.S. McCuskey. 1973. Innervation of bone marrow in the rabbit. *Scand. J. Haematol.*, 10:17-23.
212. Moeller-Larsen, A., S. Haahr, P. Ollsberg, H.J. Hamsen. 1989. The phagocytic activity of monocytes and polymorphonuclear leucocytes against viral antigens as measured by chemiluminescence in patients with multiple sclerosis. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 29:53-58.
213. Monjan, A.A., M.I. Collector. 1977. Stress-induced modulation of the immune response. *Science*, 196:307-308.
214. Monteleone, P., B. Valente, M. Maj, D. Kemali. 1991. Reduced lymphocyte response to PHA and OKT3 in drug-free and neuroleptic-treated chronic schizophrenic. *Biol. Psychiatry*, 30:201-204.
215. Moises, H.W., J.K. Beck, L. Schindler, H. Kirchner. 1986. Decreased interferon production in schizophrenic patients. *Pharmacopsychiat.*, 19: 226-227.
216. Moore, K.E., G.D. Riegle, K.T. Demerest. 1985. Effects of long-term treatment with estradiol and haloperidol on serum concentrations of prolactin and tuberoinfundibular dopaminergic neuronal activity, pp. 543-549. In R.M. MacLeod, U. Scapagnini, M.O. Thorner (Eds). *Prolactin-Basic and Clinical Correlates*. Springer-Verlag, New York.
217. Mor, V., C. McHorney, S. Sherwood. 1986. Secondary morbidity among the recently bereaved. *Am. J. Psychiatry*, 143:158-163.
218. Mormede, P. R. Dantzer, B. Michaud, K.W. Kelley, M. Le Moal. 1988. Influence of stressor predictability and behavioral control on lymphocyte reactivity, antibody responses and neuroendocrine activation in rats. *Physiol. Behav.*, 43:577-583.

BIBLIOGRAFIA

219. Mosmann, T. 1983. rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65:55-63
220. Moynihan, J.A., T.R. Schactman, N. Cohen, R. Ader. 1989. Effects of footshock stress on the development of immunological memory following low dose antigen priming in mice. *Brain. Behav. Immun.*, Recogido en cita n° 12.
221. Muller, N., M. Ackenheil, M. Eckstein, R. Hofschuster, W. Mempel. 1987. Reduced suppressor cell function in psychiatric patients. *Ann. NY Acad. Sci.*, 496:686-690.
222. Müller, N., M. Ackenheil, E. Hofschuster, W. Mempel, R. Eckstein. 1993. Cellular immunity, HLA-class I antigens, and family history of psychiatric disorder in endogenous psychoses. *Psychiatry Res.*, 48:201-217.
223. Müller, N., E. Hofschuster, M. Ackenheil, R. Eckstein. 1993. T-cells and psychopathology in schizophrenia: relationship to the outcome of neuroleptic therapy. *Acta Psychiatr. Scand.* 87:66-71.
224. Müller, N., M. Ackenheil, R. Eckstein, E. Hofschuster, W. Mempel. 1987. Reduced suppressor cell function in psychiatric patients. *Ann. NY Acad. Sci.*, 496:686-690.
225. Munck, A., P.M. Guyre. 1990. Glucocorticoids and immune function. pp. 447-474. En R. Ader, N. Cohen, D.L. Felten (Eds). *Psychoneuroimmunology II*. Academic. New York.
226. Munck, A., P.M. Guyre, N.J. Hollbrook. 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr. Rev.*, 5:25-44.
227. Munck, A., P.M. Guyre. 1986. Glucocorticoid physiology, pharmacology and stress, pp. 81-96. En G.P. Chrousos, D.L. Loriaux, M.B. Lipsett (Eds). *Steroid Hormone Resistance*. Plenum, New York.



## BIBLIOGRAFIA

228. Munck, A., P.M. Guyre, N.J. Holbrook. 1984. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr. Rev.*, 5:25-44.
229. Murgo, A.J., R.E. Faith, N.P. Plotnikoff. 1986. Enkephalins: Mediators of stress-induced immunomodulation, pp. 221-239. En N.P. Plotnikoo, R.E. Paith, A.J. Murgo, R.A. Good (Eds). *Enkephalins and endorphins*. Plenum, New York.
230. Nagy, E., I. Berczi, W.G. Friesen. 1983. Regulation of immunity in rats by lactogenic and growth hormones. *Acta Endocrinol.*, 102:351-357.
231. Nagy, E., I. Berczi, G.E. Wren, S.A. Asa, K. Kovacs. 1983. Immunomodulation by bromocriptine. *Immunopharmacology*, 67:231-243.
232. Nance, D.M., D.A. Hopkins, S. Biegler. 1987. Re-investigation of the innervation of the thymus gland in mice and rats. *Brain Behav. Immun.*, 1:134-147.
233. Nyland, H., A. Naes, H. Lunde. 1980. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood from schizophrenic patients. *Acta Psychiat. Scand.*, 61:313-318.
234. Odio, M., A. Brodish, M.J. Ricardo. 1987. Effects on immune responses by chronic stress are modulated by aging. *Brain Behav. Immun.*, 1:204-2215.
235. Okimura, T., Y. Nigo. 1986. Stress and immune responses. I. Suppression of T cell function in restraint-stressed mice. *Jpn. J. Pharmacol.*, 4:505-511.
236. Ooi, B.S., E.P. MacCarthy, A. Hsu. 1987. Beta-endorphin amplifies the effect of interleukin-1 on mouse mesangial cell proliferation. *J. Lab. Clin. Med.*, 110:159-163.
237. Ottaway, C.A. 1984. *In vitro* alteration of receptors for vasoactive intestinal peptide changes the *in vivo* localization of mouse T cells.

## BIBLIOGRAFIA

- J. Exp. Med., 160:1054-1069.
238. Ottaway, C.A. 1985. Evidence for local neuromodulation of T cell migration in vivo. *Adv. Exp. Med.*, 186:637-645.
239. Ottaway, C.A., C. Bernaets, B. Chan, G.R. Greenberg. 1983. Specific binding of vasoactive intestinal peptide to human circulating mononuclear cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 61:664-671.
240. Ottaway, C.A., G.R. Greenberg. 1984. Interaction of vasoactive intestinal peptide with mouse lymphocytes: Specific binding and the modulation of mitogen responses. *J. Immunol.*, 132:417-423.
241. Ovadia, H., O. Abramski. 1987. Dopamine receptors on isolated membranes of rat lymphocytes. *J. Neurosci. Res.*, 18:70-74.
242. Pandian, M.R., G.P. Talwar. 1971. Effect of growth hormone on the immune response against sheep erythrocytes. *J. Exp. Med.*, 134:1095-113.
243. Papez, J.W. 1937. *Arch. Neuro. Psych.*, 38:725-743.  
En Khansari, D.N., A.J. Murgo, R.E. Taith. 1990. Effects of stress on the immune system. *Immunol. Today*, 11: 170-175.
244. Perlmutter, D.H., H.R. Colten. 1986. Molecular immunobiology of complement biosynthesis: A model of single-cell control and effector-inhibitor balance. *Ann. Rev. Immunol.* 4:231-251.
245. Pert, C.B., J.C. Knight, P. Laing, M.A.K. Markwell. 1988. Scenarios for a viral etiology of schizophrenia. *Schizop. Bull.*, 14:243-247.
246. Pert, C.B., M.R. Ruff, R.J. Weber, M. Herkenham. 1985. Neuropeptides and their receptors: A psychosomatic network. *J. Immunol.*, 135:820s-826s.
247. Plaut, S.M., S.B. Friedman. 1981. Psychosocial factors in infectious disease. pp. 3-30. En . R. Ader (Ed). *Psychoneuroimmunology*. Academic Press, New York.



## BIBLIOGRAFIA

248. Plotnikoff, N.P., R.E. Faith, A.J. Murgo, R.A. Good. 1986. pp. 1-447. En Enkephalins and Endorphins: Stress on the Immune System. Plenum Press, New York.
249. Rabin, B.S., S.B. Salvin. 1987. Effect of differential housing and time on immune reactivity to sheep erythrocytes and *Candida*. Brain Behav. Immun., 1:267-275.
250. Rapaport, R.H., C.G. McAllister, D.G. Kirch, D. Pickard. 1990. The effect of typical and atypical neuroleptics on mitogen-induced T-lymphocyte responsiveness. Biol. Psychiatry, 29:715-717.
251. Rapaport, M.H., C.G. McAllister, D. Pickar, D.L. Nelson, S.M. Paul. 1989. Elevated levels of soluble interleukin-2 receptors in schizophrenia. Arch. Gen. Psychiatry, 46:291-292.
252. Reite, M., R. Harbeck, A. Hoffman. 1981. Altered cellular immune response following peer separation. Life Sci., 29:1133-1136.
253. Rettori, V., J. Jurcovicova, S.M. McCann. 1987. Control action of interleukin-1 in altering the release of TSH, growth hormone, and prolactin in the male rat. J. Neurosci. Res., 18:179-183.
254. Rivier, C. J. Rivier, W. Vale. 1982. Inhibition of adrenocorticotrophic hormone secretion in the rat by immunoneutralitation of corticotropin-releasing factor. Science, 218:377-379.
255. Rivier, C., W. Vale. 1985. Involvement of corticotropin-releasing factor and somastotin in stress-induced inhibition of growth hormone secretion in the rat. Endocrinology, 117:2478-2482.
256. Rocha, B. 1985. The effects of stress in normal and adrenalectomized mice. Eur. J. Immunol., 15:1131-1135.
257. Roos, R.P., K. Davis, H.Y. Meltzer. 1985. Immunoglobulin studies in patients with psychiatric disease. Arch. Gen. Psychiatry,

## BIBLIOGRAFIA

42:124-128.

258. Roszman, T.L., W.H. Brooks. 1985. Neural modulation of immune function. *J. Neuroimmunol.*, 10:59-69.
259. Ruddy, S. 1992. Complement. pp 114-123. En N.R. Rose, E. C. De Macario, J.L. Hahey, H. Friedman, G.M. Penn (Eds). *Manual of Clinical Laboratory Immunology 4<sup>a</sup> ed.* ASM, Washington.
260. Sacher, E.J. 1975. *Hosp. Pract.*, 10:49-55. En Khansari, D.N., A.J. Murgo, R.E. Taith. 1990. Effects of stress on the immune system. *Immunol. Today*, 11: 170-175.
261. Salcman, S., A. Minkiewicz-Janda, M. Richter, H. Anisman. 1988. Critical periods associated with stressor effects on antibody titers and on the plaque forming cell response to sheep blood cells. *Brain Behav. Immun.*, 2:254-266.
262. Sapolsky, R., C. Rivier, G. Yamamoto, P. Plotsky, W. Vale. 1987. Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Science*, 238:522-524.
263. Sasagawa, S., J. Matsubara, Y. Satow. 1993. Stress-related induction of hepatic metallothionein synthesis increase in peripheral polymorphonuclear leukocytes in mice. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 15:217-226.
264. Saxena, Q.B., R.K. Saxena, W.H. Adler. 1982. Regulation of natural killer activity in vivo. III. Effect of hypophysectomy and growth hormone treatment on the natural killer activity of the mouse spleen cell population. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 67:169-174.
265. Schiffer, R.B., S.A. Hoffman. 1990. Behavioral sequelae of autoimmune disease. pp. 1037-1066. En R. Ader, N.Cohen, D.L. Felten (Eds). *Psychoneuro-immunology II.* Academic Press, New York.
266. Schleifer, S.J., S.E. Keller, M. Camerino, J.C. Thornton, M. Stein. 1983. Supression of lymphocyte



BIBLIOGRAFIA

stimulation following bereavement. *J. Am. Med. Assoc.*, 250:374-377.

267. Schleifer, S.J., S.E. Keller, S.G. Siris, K.L. Davis, M. Stein. 1985. Depression and immunity: Lymphocyte function in ambulatory depressed patients, hospitalized schizophrenic patients, and patients hospitalized for herniorrhaphy. *Arch. Gen. Psychiatry*, 42:129-133.
268. Schleifer, S.J., S.E. Keller, A.T. Meyerson, M.J. Raskin, K.L. Davis, M. Stein. 1984. Lymphocyte function in major depressive disorder. *Arch. Gen. Psychiatry*, 41:484-486.
269. Sengar, D.P.S., B.G.H. Waters, J.V. Dunne, I.M. Bouer. 1982. Lymphocyte subpopulations and mitogenic responses of lymphocytes in manic-depressive disorders. *Biol. Psychiatry*, 17:1017-1022.
270. Shavit, Y., S.M. Ryan, J.W. Lewis, M.L. Laudenslager, G.W. Terman. 1983. Unescapable but not escapable stress alters immune function. *Physiologist*, 26:A64.
271. Shek, P.N., B.H. Sabiston. 1983. Neuroendocrine regulation of immune processes: change in circulating corticosterone levels induced by the primary antibody response in mice. *Int. J. Immunopharm.* 5:23-33.
272. Shvit, Y., J.W. Lewis, G.W. Terman, R.P. Gale, J.C. Liebeskind. 1984. Opioid peptides mediate the suppressive effect of stress on natural killer cell cytotoxicity. *Science*, 223:188-190.
273. Sibinga, N.E.S., A. Goldstein. 1988. Opioid peptides and opioid receptors in cells of the immune system. *Annu. Rev. Immunol.*, 6:219-249.
274. Singh, U. 1979. Effect of catecholamines on lymphopoiesis in fetal mouse thymic explants. *J. Anat.*, 129:279-292.
275. Singh, U. 1985. Lymphopoiesis in the nude fetal mouse thymus following sympathectomy. *Cell*.

- Immunol., 93:222-228.
276. Singh, U. 1979. Effect of catecholamines on lymphopoiesis in fetal mouse thymic explants. *Eur. J. Immunol.*, 14:757-759.
277. Singh, U., S. Millson, P.A. Smith, J.J.T. Owen. 1979. Identification of beta-adrenoceptors during thymocyte ontogeny in mice. *Eur. J., Immunol.* 9:31-35.
278. Singh, U., J.J.T. Owen. 1975. Studies on the effect of various agents on the maturation of thymus stem cells. *Eur. J. Immunol.*, 5:286-288.
279. Sirota, P., P. Fishman, A. Elizur, M. Djaldetty. 1990. Lymphokine production in schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry*, 27A:118A.
280. Sklar, L.S., H. Anisman. 1981. Stress and cancer. *Psychol. Bull.*, 89:369-406.
281. Slotkin, T.A., C. Lau, R.J. Kavlock, J.A. Gray, L. Orband-Miller, 1989. Role of sympathetic neurons in biochemical and functional development of the kidney: Neonatal sympathectomy whit 6-hidroxy-dopamine. *J. Pharmacol. Exp. Ther. Recogido en cita n° 12.*
282. Smith, E.M., D. Harbour-McMenamin, J.E. Blalock. 1985. Lymphocyte production of endorphins and endorphin-mediated immunoregulatory activity. *J. Immunol.*, 135: 779s-782s.
283. Smith, E.M., A.C. Morrill, W.J. Meyer, J.E. Blalock. 1986. Corticotropin releasing factor induction of leukocyte-derived immunoreactive ACTH and endorphins. *Nature*, 321:881-882.
284. Smith, E.M., M. Phan, T.E. Kruger, D.H. Coppenhaver, J.E. Blalock. 1983. Human lymphocyte production of immunoreactive thyrotropin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80:6010-6013.
285. Snow, E.C., T.L. Feldbush, J.A. Oaks. 1981. The effect of growth hormone and insulin upon MLC responses and generation of cytotoxic T



BIBLIOGRAFIA

- lymphocytes. *J. Immunol.*, 126:161-164.
286. Spangelo, B.L., N.R. Hall, A.J. Dunn, A.L. Goldstein. 1987. Thymosin fraction V stimulates the release of prolactin from cultured GH3 cells. *Life Sci.*, 40:283-288.
287. Su, T.P., E.D. London, J.H. Jaffe. 1988. Steroid binding at sigma receptors suggests a link between endocrine, nervous and immune system. *Science*, 240:219-221.
288. Syvalhati, E., J. Eskola, O. Ruuskanen, T. Laine. 1985. Nonsuppression of cortisol in depression and immune function. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 9:413-422.
289. Teshima, H., H. Sogawa, H. Kihara, S. Nagata, Y. Ago, T. Nakagama. 1987. Changes in populations of T-cell subsets due to stress. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 496:459-466.
290. Van Epps, D.E., L. Saland. 1984. Beta-endorphin and met-enkephalin stimulate human peripheral-blood monocuclear cell chemotaxis. *J. Immunol.* 132:3046-3053.
291. Villemain, F., L. Chatenoud, E. Guilibert, Y. Pelicier, J.F. Bach. 1987. Decreased production of interleukin-2 in schizophrenia. *Ann. NY Acad. Sci.*, 469:669-675.
292. Waltrip, R.W., D.R. Carrigan W.T. Carpenter. 1990. Immunopathology and viral reactivation. *J. Nervous Mental Dis.*, 178:729-738.
293. Webber, R.H., R. DeFelice, R.J. Ferguson, J.P. Powell. 1970. Bone marrow response to stimulation of the sympathetic trunks in rats. *Acta Anat.*, 77:92-97.
294. Weigent, D.A., J.E. Blalock. 1987. Interactions between the neuroendocrine and immune systems: Common hormones and receptors. *Immunol. Rev.*, 100:79-108.

BIBLIOGRAFIA

295. Weiner, H. 1977. Psychobiology and Human Disease. pp. 1-9. New York. Elsevier.
296. Williams, J.M., R.G. Peterson, P.A. Shea, J.F. Schmedtje, D.C. Bauer, D.L. Felten. 1981. Sympathetic innervation of murine thymus and spleen. Evidence for a functional link between the nervous and immune systems. Brain Res. Bull., 6:83-94.
297. Williams, J.M., D.L. Felten. 1981. Sympathetic innervation of murine thymus and spleen: A comparative histofluorescence study. Anat. Rec., 199:531-542.
298. Wodarz, N., R. Rupprecht, J. Kornhuber, B. Schmitz, K. Wild, P. Riederer. 1992. Cell-mediated immunity and its glucocorticoid-sensitivity after clinical recovery from severe major depressive disorders. J. Affect. Dis., 25:31-38.
299. Wybran, J. 1986. Enkephalins as molecules of lymphocyte activation and modifiers of the biological response, pp. 253-282. En N.P. Plotnikoo, R.E. Paith, A.J. Murgoo, R.A. Good (Eds). Enkephalins and endorphins. Plenum, New York.
300. Zarrabi, M.H., S. Zucker, F. Miller. 1979. Immunological and coagulation disorders in chlorpromazine-treated patients. Ann. Int. Med., 91:194-199.