

CONDICIONAMIENTO DE LA FUNCION INMUNOLOGICA ¹

Alba E. Mustaca

Facultad de Psicología

Universidad de Buenos Aires

IIM "A. Lanari"-Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas

ABSTRACT

It present studies about classic conditioned of immunology responses. The investigations shows adquisition, discrimination, extinction in immunological agents that elicit immunosuppression and enhancement of humoral and celular immunity. In general the conditional stimulus are gustgative and olfative; in few cases it used visual or contextual cues. The inconditional stimulus are immunosuppress or immunoenhalcent drugs, antigens mitogens or vaccines. The conditional responses (RCs)are humoral or celular, specific or innespecific. The RCs are simmlar incondig-tional responses or compensatory responses. The study of animals with autoimmunes deseases shown the portential clinical importances of this conditioning. The hummans study are few.

1 Trabajo parcialmente subvencionado por la Agencia de Promoción y Desarrollo (Proyecto Nro. 1654, PICT 1997) y por UBACYT (proyecto Nro. MI002, 1997-2000). Enviar correspondencia a : Alba E. Mustaca, IIM "A.Lanari", C. de Malvinas 3150. Bs.As. Argentina. E-Mail: Mustaca@psi.uba.ar

Key Words: *classical conditioned, immunologic function, psychoneuroimmunology, immunocompetence, animals, humans.*

RESUMEN

Se presentan investigaciones tempranas y recientes del condicionamiento clásico del sistema inmunológico, uno de los más contundentes fenómenos que evidencia la relación entre el sistema nervioso central y el inmunológico. Los estudios muestran adquisición, extinción y discriminación en medidas de inmunosupresión y facilitación condicionada de la inmunidad humoral y celular. Generalmente se asocian estímulos condicionados gustativos y olfativos y en menor cantidad estímulos audiovisuales y contextuales. Como estímulos incondicionados (EI) se usaron en su mayoría drogas inmunosupresoras o inmunoactivadora, antígenos, mitógenos o vacunas. Se miden respuestas condicionadas (RC) de la inmunidad humoral y celular, inespecífica y específica y/o respuestas fisiológicas asociadas. Las RC que aparecen con la reexposición son semejantes a las RI que provocan los EI aunque también se hallaron RC compensatorias (puestas a la RI). Se encontraron disociaciones entre las respuestas conductuales de condicionamiento y las inmunológicas. Los estudios de animales con enfermedades autoinmunes, trasplantes, cáncer o alergias mostraron la importancia clínica potencial que puede tener este fenómeno, ya que la reexposición a los EC aumentaron el tiempo de supervivencia y disminuyeron las respuestas de rechazo o la alergia de estos animales a un nivel similar a los que recibieron siempre la droga inmunosupresora. Los estudios con humanos son más escasos, aunque se demostró facilitación condicionada y condicionamiento de respuestas alérgicas. Ya se conocen algunos mecanismos neurofisiológicos de la inmunorregulación condicionada, aunque falta determinar la generalidad de los mecanismos encontrados.

Palabras claves: *condicionamiento clásico, función inmunológica, psiconeuroimmunología, inmunocompetencia.*

Una de las evidencias más contundentes de la influencia del sistema nervioso central (SNC) sobre la función inmunológica proviene de los estudios que muestran que al menos algunos aspectos de la respuesta inmune pueden ser condicionados de acuerdo al paradigma pavloviano. Este fenómeno, si bien fue descubierto en el laboratorio de Pavlov, recién en 1975 logró impacto científico con el redescubrimiento realizado por Ader (1974) y Ader y Cohen (1975). Este hecho, además de ampliar el campo de la psicología del aprendizaje, ha sido uno de los ejemplos más cruciales para la *psiconeuroinmunología* (PNI), disciplina que estudia los mecanismos que relacionan el sistema nervioso central (SNC) con el endocrínológico (SE) y el inmunológico (SI). La PNI da apoyo teórico a las creencias populares que relacionan los estados psicológicos con la salud y la probabilidad de contraer enfermedades (ver Mustaca, 1995, para una revisión). En este artículo presentaré una revisión sobre condicionamiento de la respuesta inmunológica en los casos que no implican una respuesta condicionada por el estrés. Me centraré más en el fenómeno que

en los posibles mecanismos implicados y previamente haré una síntesis sobre inmunología, necesarios para comprender los experimentos presentados.

NOCIONES DE INMUNOLOGIA

Las funciones generales del sistema inmunológico son de tres clases. Uno, identifica y elimina materiales extraños, no propios, que contactan o penetran en el organismo. Estos elementos extraños se llaman *antígenos* e incluyen bacterias, virus, parásitos y hongos. Dos, identifica y destruye células propias que han sufrido alteraciones asociadas con malignidad. Tres, inhiben respuestas inmunológicas ante las células de su propio organismo. Estas funciones permiten que todos los organismos puedan sobrevivir en su medio ambiente y mantener su propio organismo bajo el control de alteraciones internas.

SISTEMAS DE INMUNIDAD

En los vertebrados existen dos grandes sistemas de inmunidad: **a.** *innata*, natural o no adaptativa y **b.** *específica* o adquirida. La

primera es filogenéticamente más primitiva, sus componentes están siempre presentes y dispuestos para actuar en forma inmediata, carecen de especificidad y actúan frente a una gran diversidad de microorganismos, sin contar con mecanismos de reconocimiento para distinguir selectivamente unos de otros. No tienen «memoria», por lo tanto su eficacia aumenta para responder frente a un determinado agente patógeno en un segundo encuentro. Está constituido por el epitelio, elementos celulares fagocíticos (monocitos-macrófagos y leucocitos polimorfonucleares), células agresoras naturales (natural killer, NK) y factores humorales bactericidas o bacteriostáticos (lisozima, proteína C reactiva y ciertos interferones). Los macrófagos, en cuanto indentifican a los antígenos, los fagocitan. Pueden penetrar al SNC, donde son normalmente reconocidos como *microglía*. Las células NK están fuertemente involucradas en la destrucción de células cancerígenas que están en el propio organismo. Hay que distinguir las de las células «T killer» (CTLs) que tienen memoria y no actúan inmediatamente ante la presencia de los antígenos. Los *interferones*

son familias de proteínas producidas rápidamente por distintas células en respuesta a infecciones por virus. Ellos tienen un papel trascendente en la inmunoregulación y en la intercomunicación entre células inmunocompetentes.

La *inmunidad específica* o adquirida es un sistema más complejo que el anterior. Permite disponer de células y moléculas sumamente específicas para cada uno de los agentes patógenos existentes en la naturaleza. Los responsables de esta respuesta son los *linfocitos*. Estas células, a través de su desarrollo somático, adquieren los mecanismos genéticos para expresar receptores específicos para cada una de las múltiples sustancias (*antígenos*) que puedan existir en el medio ambiente, logrando que se unan a él. La respuesta inmunitaria no es inmediata sino que, tras el primer contacto con el antígeno, hay un período de latencia de varios días en los cuales los linfocitos específicos que se unieron al antígeno proliferan y aumentan su número. Los cambios madurativos producen distintos efectos según las clases de linfocitos. Se distingue una *respuesta humoral* o soluble y una

celular. Las primeras las producen las células B. Ellas conducen a la secreción de moléculas específicas para los antígenos que los estimuló, que se denominan *anticuerpos*. La inmunidad celular está dirigida contra materias particulares tanto por las células B como por las T. Desarrollan una actividad citolítica contra las células en cuya membrana se halla el antígeno; y en otros, se liberan factores fagocíticos, que aumentan su capacidad bactericida. Los anticuerpos, al unirse con los antígenos, desencadenan cascadas de mecanismos inflamatorios inespecíficos que promueven la fagocitosis y la activación del complemento que tiene actividad lítica sobre las membranas. Este sistema posee otra característica distintiva: *memoria*. Cuando se produce el contacto con el mismo antígeno en otra ocasión, el fenómeno se repite con mayor intensidad y en menor tiempo.

Los linfocitos están distribuidos por todo el organismo, en constante circulación y en forma de órganos delimitados o de acumulaciones difusas, llamado *sistema linfático*, constituido por los *órganos linfoides*. Estos se dividen en *primarios* o centrales y

secundarios o periféricos. En los órganos primarios los linfocitos se originan y maduran. En los mamíferos es la médula ósea (maduran los linfocitos B, especializados en la producción de anticuerpos) y el timo (maduran los linfocitos T, responsables de las respuestas inmunitarias mediadas por células). En los órganos secundarios, los linfocitos se disponen ya maduros y competentes para producir las *respuestas inmunitarias*. Estas incluyen los ganglios linfáticos, el bazo y el tejido linfoide asociado a las mucosas del tracto respiratorio y gastrointestinal (Gallart y Vives, 1992).

Por otro lado, los linfocitos deben mantener una ausencia de respuesta o un estado de tolerancia frente a los componentes del propio organismo, en caso contrario, los tejidos propios serían dañados. Cuando este mecanismo falla, se producen enfermedades autoinmunes. Además, no deben responder de manera exagerada ante los agentes patógenos, porque se producirían enfermedades de origen alérgico. Finalmente, existen factores solubles proteicos sintetizados y secretados por células del sistema inmune. Son las *cytokinas*

que se sintetizan y son secretados por las células del sistema inmune. Las derivadas de los linfocitos se llaman *linfokinas* y las de los monocitos, *monokinas*.

Cuando un antígeno invade el organismo es generalmente reconocido por una célula accesoria (por ej. un macrófago) que lo presenta a las células *T-helpers*. Los macrófagos luego sintetizan una citokina, la interleukina-1 (IL-1) que activa a su vez las células *T-helpers* y otras poblaciones de células T que produce interleukina-2 (IL-2). Estos y otros factores desencadenan la respuesta inmunológica. IL-2 es el principal factor que promueve la proliferación de las células T (factor de crecimiento de las células T). Las células T secretan factores de crecimiento de células B y IL-1 activa a las mismas células para la producción de anticuerpos. La interacción entre las células B con las *T-helpers* resultan en una célula B diferenciada que produce anticuerpos. Las células T-supresoras pueden inhibir la activación de este patrón de respuestas alterando tanto a la proliferación de las células T como a la diferenciación de las células B. Este complejo proceso es sólo un ejemplo de interacción eficiente entre

la inmunidad innata y adquirida, que se da constantemente en el funcionamiento inmunológico.

MEDICIONES DEL SISTEMA INMUNOLOGICO

Hay muchas mediciones la función inmunológica y todas ellas son necesariamente parciales. Algunas de ellas son:

1. Inmunidad humoral. Evalúa la producción de anticuerpos ante agentes extraños. Comúnmente se usan células rojas de carnero (sRBC) o virus como el Phi-X174, herpes, de la varicela o viruela. La presencia de anticuerpos se mide en el plasma de la sangre que se saca del torrente sanguíneo o del bazo después de 4 a 7 días (*inmunidad primaria*) o de 30 (*inmunidad secundaria*) que el antígeno fue inoculado. Otras mediciones relacionadas con la inmunidad humoral son el estudio de las *células formadoras de placas (PFC)* que mide el número de las células que produce anticuerpos para el antígeno y leucocitos *polimorfonucleares (PMNs)* una respuesta inflamatoria inespecífica;

2. Inmunidad celular. Entre ellas está la reacción a la *mezcla*

de linfocitos (RML) y la de *proliferación linfocitaria*, también denominada respuesta a mitógenos. La proliferación linfocitaria se mide por incorporación de timidina tritiada en respuesta a una mezcla de linfocitos de individuos diferentes (primer caso) o en respuesta a un antígeno (segundo caso). Los linfocitos (del bazo, del timo o de la sangre) son colocados en cultivo, se los estimula y luego se mide la proliferación linfocitaria. Se espera que los linfocitos reaccionen ante agentes extraños aumentando su número. Los estimulantes que generalmente se utilizan son los *mitógenos*, sustancias vegetales que actúan sobre las células como si fueran antígenos. Los más usados son la Phitoheemoglutina (PHA), Concanavalina A (Con-A), Pokeweed (PWM) y E. Coli lipopolysacárido (LPS). Las células T responden al PHA y a la Con-A y PWM, pero no al LPS. Diferentes poblaciones de células T responden al PHA y a la Con-A, las más chicas y menos maduras responden con preferencia al PHA. Las células B responden al PWM y LPS, pero no al PHA. Estos mitógenos permiten diferenciar la respuesta de las células T y B a los antígenos, aunque la actividad de

esas células es sensible a otros factores, por lo cual muestran alta variabilidad;

3. Actividad de las células "natural killer" (NK), una de las principales que actúa contra tumores; de las interleukinas (IL-1, IL-2) y de otras citokinas;

4. *Cluster de diferenciación (CD)*. Se trata de un sistema para clasificar las células T, B y otras células mediante anticuerpos monoclonales dirigidos contra moléculas de la superficie celular. Los números son utilizados para identificar los antígenos de la superficie celular. Algunos de ellos (ej. CD25, CD35, CD71) son moléculas funcionales, mientras que otros (ej. CD3, CD4 u CD8) son utilizados como marcadores identificatorios de membrana. La medida del CD4 es muy utilizada porque es una de las que más se deteriora ante el virus HIV;

5. *Inmunocompetencia*. Este término alude a la capacidad del organismo para combatir las enfermedades. Una cuestión clave es la relación entre los resultados de varias medidas inmunológicas y la inmunocompetencia ya que cada una de las medidas inmunológicas refleja un aspecto de la función y no correlacionan

linealmente con ella. Por estas razones algunos investigadores miden la resistencia del organismo a infecciones definidas o la respuesta *in vivo* de la función *inmunológica*, como la *hipersensibilidad* de la respuesta a ciertos agentes, o la *producción de anticuerpos* ante una enfermedad definida, virus o bacteria. Sin embargo, la inmunocompetencia o resistencia a las enfermedades no se puede adscribir a un parámetro inmunológico específico particular.

6. Respuesta a los *injertos vs. Huésped (GyH)*. La colocación de injertos de donantes a otras cepas desencadena respuestas inmunológicas inespecíficas y específicas.

ANTECEDENTES DEL CONDICIONAMIENTO DE LA FUNCION INMUNOLOGICA

Previo a los estudios en el laboratorio de Pavlov hubo algunas observaciones clínicas que sugerían la existencia de aprendizaje en el sistema inmunológico. Por ejemplo, Mackenzie (1896) describió cómo un paciente con síntomas alérgicos al perfume de una rosa, reaccionaba con los mismos síntomas ante la presentación de

una rosa artificial sin olor alguno. Hill (1930) informó que la presentación de una pintura del campo provocaba ataques de asma a sujetos sensibles al olor a pasto. Más adelante Dekker y col., (1957) y Khan (1977) confirmaron en el laboratorio que la exposición a estímulos ambientales simbólicos, no alérgicos, funcionaban como estímulos condicionados (EC) cuando se asociaban a una estimulación alérgica (estímulo incondicionado, EI) que provocaba una respuesta alérgica o asmática (respuesta incondicionada, RI). La posterior presentación del EC podía ser capaz de provocar síntomas asmáticos como una respuesta condicionada (RC) en una proporción importante de sujetos enfermos.

Metal'nikov y Chorine (1926) en Rusia, fueron los primeros que intentaron condicionar el aumento de leucocitos polimorfonucleares (PMNs). Para ello aparearon inyecciones de material extraño, por ejemplo estafilococos filtrados o emulsiones de tapioca (EI), con la presentación de ECs inmunológicamente neutros, como el calentamiento de áreas del cuerpo, pellizcos en cerdos de Guinea. Estos apareamientos se aplicaban una vez por día a lo largo de

18 a 25 días. Forma parte de la respuesta incondicionada (RI) un rápido influjo de PMN, que ocurre dentro de las 5 hs. de la presentación del material extraño. Después de 12 a 15 días de un período de descanso, para permitir que el exudado peritoneal retorne a la línea de base, se presentaba el EC varias veces sin la estimulación antigénica. Este estímulo provocaba un aumento en el nivel del PMN que duraba unas 5 hs, semejante a la RI que se interpretó como una RC. Esta era más débil que la RI, al igual que todas las RCs, pero altamente confiable.

Además de mostrar condicionamiento de respuestas inflamatorias inespecíficas, los mismos investigadores lograron condicionar los títulos de anticuerpos. En uno de sus experimentos, dieron a un grupo de conejos inyecciones intraperitoneales (IP) con 2 cc diarios de emulsión calentada con vibriones de cólera (EI) durante 12-15 ensayos. Cada una de las inyecciones se precedía por una estimulación externa (EC): el calentamiento de una oreja (grupo 1) o el rascado de una zona concreta del cuerpo (grupo 2). El grupo control recibía la misma cantidad de antígenos sin

ninguna estimulación externa. Tres semanas después, dos animales que se reexpusieron al EC mostraron una elevación en los títulos de anticuerpos comparados con los no reexpuestos. Dos meses después, otros dos animales se reexpusieron al EC, con los mismos resultados. Nicolau y Antinescu-Dimitriu (1929), Ostravskaya (1930) y Polettini (1929) hicieron otros estudios que replicaron los anteriores. Sin embargo, otros trabajos realizados por Friedberger y Gurwitz (1931) y por Kopeloff y col. (1933, 1935) fallaron en encontrar condicionamiento. Estas investigaciones recibieron considerable atención en Rusia. Aunque los resultados eran consistentes con la hipótesis de que todos los procesos fisiológicos estaban regulados por el sistema nervioso central, se desconocían los mecanismos para explicarlos. Además había cierta inconsistencia en alguna replicación y en ese entonces existía el concepto de que la función inmunológica era independiente del SNC. Este ambiente científico probablemente influyó para que este fenómeno cayera en el olvido durante unos 20 años.

En la década de 1950 el tema resurgió con estudios y crí-

ticas de Bereznyky (1955), Dolin Krylov (1952), Doroshkevich (1954), Vygodchikov (1955), Zdrodovski (1956) y Zeitlenok y Bychkova (1954). Hubo otra serie de discusiones sobre el papel del SNC en la inmunidad que no se resolvieron y algunas críticas metodológicas y teóricas en los experimentos. Finalmente Luiki-anenko (1961) intentó resumir la literatura disponible en ese entonces. Encontró que había considerable evidencia de que se podían condicionar reacciones de defensa no específicas como la infiltración de leucocitos. Otros estudios documentaban cambios condicionados en fagocitosis, complemento y actividad de los lisosomas. Se presumió que estas reacciones celulares y humorales no específicas estaban mediatizadas por el eje hipotálámico-pituitario-adrenal. Algunos estudios mostraban condicionamiento de respuestas específicas, pero otros no. Además, era difícil, por los diseños utilizados, discernir si los cambios producidos eran por aprendizaje o por la función inmunológica per-se. Se concluyó que los resultados eran un tanto ambiguos, por lo que el fenómeno fue abandonado por segunda vez.

La *Tabla I* resume el concepto básico que está implicado en el acondicionamiento de la respuesta inmunológica.

AVANCES RECIENTES

El fenómeno volvió a resurgir esta vez con todo ímpetu por un trabajo de Ader y Cohen (1975). Su redescubrimiento fue casual, como históricamente ha ocurrido con tantos hechos científicos, y seminal para el desarrollo de la PNI. Ellos estaban interesados en averiguar si la variación en el consumo soluciones de sacarina (EC) de sus animales experimentales afectaba la adquisición y extinción de una aversión gustativa (Ader y Cohen, 1975). Recordemos que este procedimiento incluye la presentación de un EC, que es siempre consumo de alimento o soluciones azucaradas, asociado a algún evento que provoca malestar intestinal (RI), como inyecciones de cloruro de litio o radiaciones (EI aversivo). Cuando se reexpone a los animales al EC, éstos no consumen la solución. Ader y Cohen usaban como EI aversivo inyecciones intraperitoneales (IP) de ciclofosfamida (CY) y soluciones de sacarina como EC. Luego ex-

TABLA 1. Concepto Básico del Condicionamiento Pavloviano de la Respuesta Inmunológica.

Adquisición: Apareamiento		
EC	(estímulos neutros o apetitivos):	Rx.
EI	(sustancias que afectan parámetros inmunológicos):	RI
	(alteración inmunológica y fisiológicas asociadas)	
Prueba de condicionamiento		
EC	solo:	RC
	(alteración inmunológica o fisiológica semejante a la RI y en algunas ocasiones opuesta a ella)	

ponían al animal al EC durante tres días. Como esperaron, la aversión y la resistencia a la extinción estaban directamente relacionadas con la cantidad de volumen que los animales consumían durante el condicionamiento. Lo más importante para el tema que nos ocupa es que notaron que durante el tiempo de la reexposición al EC algunos animales morían y ello tendía a variar directamente con el volumen de sacarina consumida. Como la CY posee características inmunosupresoras, los autores conjeturaron que los sujetos, durante la reexposición, ha-

bían reaccionado no solamente con una aversión gustativa, sino también con una inmunosupresión condicionada. Estas especulaciones dieron lugar a la realización experimentos controlados producidos por los mismos autores y por otros para definir y generalizar el fenómeno (Ader y Cohen, 1975; 1985). En uno de los experimentos de Ader y Cohen, las ratas eran primero adaptadas a consumir agua durante 15 minutos diarios. Luego se les cambiaba a una solución de agua con 0.1% de sacarina. Después del consumo recibían una inyección IP de 50 mg./kg.

de CY. Otros grupos recibían agua y CY, sacarina y CY no apareados, sacarina o agua e inyecciones de salina. Tres días después del condicionamiento, a todos los grupos se les daban inyecciones IP de un antígeno (ej. células rojas de carnero). Después de 30 min., el grupo condicionado se dividía en tres subgrupos. A uno (Grupo CS) se lo reexponía a la sacarina y se le daban inyecciones de salina en vez de CY. Para controlar los efectos del condicionamiento per-se, el segundo subgrupo (CS0) recibía agua e inyecciones de salina. Para controlar los efectos de la CY, el tercer subgrupo (EI) recibía agua e inyecciones de CY. Después de la inmunización, las ratas no condicionadas (NC) recibían sacarina e inyecciones con salina; los animales placebo (P), agua y ninguna inyección. En este experimento, los subgrupos de animales condicionados y los no condicionados fueron reexpuestos a la sacarina el día de la inmunización (día 0), y/o tres días después. Después de 6 días se tomaron muestras de sangre y se midió la producción de anticuerpos por hemaglutinación. Las ratas reexpuestas a la sacarina redujeron el

consumo a la solución, mostrando el conocido efecto de aversión condicionada. La respuesta inmunológica fue como se predijo. Los animales placebo no inyectados con CY fueron los de más alta cantidad de anticuerpos con relación a los inyectados con CY. Los títulos de anticuerpos de los animales NC y los que no fueron reexpuestos a la sacarina no mostraron diferencias entre ellos pero fueron menores que los no tratados, por efectos residuales de la CY. Los datos más relevantes fueron que cuando se compararon a estos dos grupos con los grupos reexpuestos a la sacarina una o dos veces sin la presentación de la CY, éstos últimos mostraron menor cantidad de títulos de anticuerpos. Estos resultados apoyaron la hipótesis de que el EC gatillaba una respuesta condicionada de inmunosupresión semejante a la presentación de la CY. La *Tabla 2* resume el diseño básico experimental utilizado por Ader y col.

Otros experimentos similares replicaron los mismos resultados (ej. Rogers y col., 1976; Wayner y col., 1978). Esos hallazgos se extendieron utilizando diferentes dosis de CY, Methotrexate, otra droga inmunosupre-

TABLA 2. Esquema Básico de los Diseños de la inmunosupresión Condicionada de la Respuesta Humoral (Ej. Ader y Cohen, 1975)

Grupos	Condicionamiento (día 0)	Inmunización (día 3)	30 min. o 3 días después Inmunización	Medición de Anticuerpos (6 días después)
Cond. CS.	0.1%, 10min. Sac-Cy	Iny. SRBC	Sac-Sal.	Si
Cond. CS 0.	0.1%, 10min. Sac-Cy	Iny. SRBC	Agua-Sal.	Si
Cond. EI	0.1%, 10min. Sac-Cy	Iny. SRBC	Agua-CY	Si
No-cond. (P)	Agua o Sac-salina	Iny. SRBC	Agua-0	Si
No-cond. 1	Agua o Sac-salina	Iny. SRBC	Sac.-Sal.	Si
No-cond. 2	Agua o Sac-salina	Iny. SRBC	0	Si

Nota: 0.1%, 10 min. Sac : consumo de agua con sacarina al 0.1% durante 10 min.; Cy: Cyclofosfamida; Iny. SRBC: inyecciones IP de células rojas de carnero; Sal.: salina. El condicionamiento se produce también si la inmunización se realiza antes del entrenamiento conductual. Ver el texto para más información.

sora y otras clases de ECs, tales como soluciones de azúcar, de sustancias cítricas y leche chocolatada (Ader y Cohen, 1981). También se estableció que la RC está relacionada directamente con la cantidad de CY empleada y hay relaciones la presentación del EC y el antígeno empleado (Ader y Cohen, 1985). Otro dato interesante es que la RC ocurría si la inmunización se realizaba tanto antes o después del condicionamiento.

Gorczyński (1991) mostró que la supresión humoral condicionada se expresa también en

las células formadoras de placas (CFP) en respuesta a las SRBC y que existe variabilidad con relación a los ritmos circadianos y hora de reexposición. Encontraron inmunosupresión condicionada en 3 de 5 estudios y aumento de la respuesta en dos experimentos. Estos estudios hicieron 3 apareamientos de sacarina-CY con intervalos de 14 días. Las CFP se midieron a los 6 días. Cuando el tiempo de reexposición al EC fue constante (a las 13 hs.), los ratones condicionados a las 7 hs. mostraron inmunosupresión condicionada en

tres experimentos; los condicionados a las 13 hs., una inmunosupresión en dos de tres experimentos, y los condicionados a las 19 hs., un aumento en las CFP en un experimento y ningún cambio en dos de ellos.

La inmunosupresión condicionada se extendió a la inmunidad celular mediada por las células T. Con la observación de que dosis de inyecciones de CY pueden suprimir la respuesta a los injertos vs. huésped (GvH), Bovjerg y col. (1982) condicionaron ratas hembras (cepa *Lewis x Brown Norvegicus*) con apareamientos de sacarina-CY 48 hs. antes de recibir una inyección subcutánea de leucocitos del bazo de donantes de otra cepa (*Lewis*). En el mismo día un subgrupo experimental se reexpuso al EC solo, en el siguiente día, EC-Cy y en el tercero, EC solo. Se comparó la respuesta GvH con grupos controles. Como se esperaba, las ratas reexpuestas al EC mostraron una reducción del peso de nódulos de linfocitos popliteales comparada con controles apropiados. Bovjerg y col. (1984) mostraron también los efectos de la extinción del EC asociado a la CY sobre la respuesta GvH presentando 4, 9 o 18 ensayos de EC

solo antes de la estimulación inmunogénica. La reexposición al EC disminuyó el peso de los nódulos en los grupos con 0 o 4 ensayos de extinción, pero ninguna diferencia significativa con los grupos que recibieron 9 o 18 ensayos de extinción.

Los estudios de condicionamiento inmunológico son útiles también para evaluar efectos de drogas adictivas. Por ejemplo se mostró que la asociación de olor a alcanfor con inyecciones de morfina (15mg./kg) produjo una disminución en la respuesta a mitógenos y en la actividad de las células NK cuando las ratas se reexponían al EC. Esto ocurría solamente cuando los animales se entrenaron con 2 a 16 sesiones de condicionamiento (Coussons y col., 1992).

Otros estudios mostraron condicionamiento de respuestas asociadas a alguna consecuencia fisiológica provocada por drogas inmunosupresoras. Por ejemplo, Bull y col., (1994) dieron apareamientos de sacarina con el mitógeno LPS. Esta droga, además de provocar proliferación linfocitaria, produce fiebre y sueño. La reexposición al EC provocó en los animales episodios de fiebre y sueño.

Algunos experimentos que muestran que la RC inmunológica es a veces opuesta a la que produce el EI, como si fuera una respuesta compensatoria, al igual que ocurre con la tolerancia a las drogas. MacQueen y Siegel (1989) hallaron esos resultados en experimentos semejantes a los de Ader (1981). Cuando usaron estímulos audiovisuales y pentobarbital como EC también obtuvieron aumento en los títulos de anticuerpos en vez de una disminución en los animales reexpuestos. Aún se desconoce cuáles son las condiciones que provocan uno y otro efecto.

INMUNOCOMPETENCIA

Aunque los efectos del condicionamiento son consistentes y reproducibles, su magnitud es relativamente pequeña. Una inquietud que surge es averiguar si esos cambios pueden influir en la inmunocompetencia y si pueden tener, al menos potencialmente, importancia clínica. Para evaluar esta posibilidad, Ader y Cohen (1982) idearon experimentos en que la inmunosupresión podía aumentar la sobrevivencia de los animales, con

la utilización de ratas con enfermedades autoinmunes. En unos de sus experimentos, tomaron ratones con lupus eritematoso, que se tratan con CY para disminuir la respuesta inmunológica. Basados en el condicionamiento, hipotetizaron que la sustitución de un EC apareado previamente al EI en la terapia inmunosupresiva, podría retrasar el desarrollo de la enfermedad casi de igual modo que controles que recibieran el 100% de la dosis. Con esta idea compararon distintos parámetros inmunológicos y la mortalidad de animales que recibieron Cy el 100% de las veces con aquellos condicionados que la recibieron el 50%. El otro 50% recibía exposiciones al EC con inyecciones de salina y un grupo control, las mismas dosis de Cy y EC pero no apareados. Encontraron que la curva de mortalidad del grupo condicionado difirió del no apareado pero no del grupo que recibió el 100% de CY. Esto indicaría que la reexposición del EC provocaba una respuesta condicionada inmunosupresiva. Klosterhalfen y col., (1990) replicó los mismos resultados con animales enfermos de artritis adjuntiva y usando cyclosporina como EI.

Otra serie de experimentos estudió la influencia de la respuesta condicionada sobre el crecimiento de tumores. Ghanta y col. (1987) entrenaron a ratones con trasplantes de tumor inmunogénico a exposiciones de olor a alcanfor asociado a una sustancia activadora de las células NK (poly I: C). Solamente los sujetos que habían sido condicionados después del trasplante tuvieron una mayor sobrevivencia cuando fueron reexpuestos al EC. Estos experimentos también mostraron que hay inmunosupresión condicionada además de inmunosupresión.

Grochowicz y col., (1991) mostraron que las ratas con trasplantes del corazón pudieron prolongar más sus vidas por condicionamiento aversivo gustativo. Entre 6 y 10 días antes del trasplante asociaron consumo de sacarina con ciclosporina, un inmunosupresor. Las ratas que fueron reexpuestas después del trasplante a la sacarina mostraron mayor sobrevivencia que las que no fueron reexpuestas.

Todos estas clases de experimentos sugieren que el llamado *efecto placebo* se puede explicar como una RC y se extiende a la respuesta inmunológica.

INVESTIGACIONES CON HUMANOS

Hay antecedentes de condicionamiento del SI en humanos en las observaciones clínicas que mencioné en un apartado anterior. Recientemente, Buske-Kirschbaum y col. (1992, 1994), mostraron condicionamiento de las células NK y aprendizaje discriminativo de las mismas. Un EC+ (un helado de un gusto especial) se apareaba con inyecciones de epinefrina y otro EC- con una de salina. La epinefrina provoca un aumento transitorio en las células NK (RI). Durante los tests de prueba, donde se reexponían a los sujetos al EC los sujetos experimentales mostraron un aumento en el número y en la actividad de las células NK comparada con sus controles. La respuesta fue menor que la incondicionada, pero confiable.

En la década del 90 se replicaron los estudios de condicionamiento con personas con rinitis alérgicas. Gauci y col., (1994) presentaron apareamientos de un alérgico (polvo de la casa) como EI con el consumo de un sabor nuevo. Una sola asociación bastó para que la reexposición al gusto provocara la liberación de una RC.

Un tema que reviste gran interés es la posibilidad de reducir la cantidad de drogas ingeridas por sujetos que deben estar expuestos a la misma durante casi toda la vida, como ocurre en enfermedades crónicas sería de gran valor porque disminuirían los efectos colaterales indeseables y el costo del tratamiento. Existen pocos trabajos sobre este tema, probablemente porque por razones éticas no es posible realizarlos sin un absoluto control. Sin embargo, Olness y Ader (1992) informaron que condicionaron a una adolescente con un lupus eritematoso severo desde los 11 años a apareamientos de ingestión de aceite de hígado de bacalao y el perfume de una rosa (como ECs) con cyclofosmida (CY, como EI), droga indicada para el tratamiento de la enfermedad. Después de varios apareamientos, se presentaba el EC entre los tratamientos de CY. A lo largo de un año, la paciente recibió la mitad de la dosis recomendada de CY, la otra mitad que correspondería se la reexponía al EC solo en forma intercalada con Cy. La paciente mostró mejoría clínica y durante 5 años siguió evolucionando. También Ader (comunicación personal) informó

que se realizaron algunas investigaciones con enfermos psicóticos a los cuales se les daba un placebo (una pastilla semejante a la droga) el 50% de las veces en vez de la droga psicotrópica. Midieron respuestas conductuales con cuestionarios y entrevistas a ciegas. Encontraron que no había diferencia con los sujetos que la ingerían el 100% de las veces. Aun cuando estas investigaciones carecen de controles apropiados que descarten variables tales como los efectos residuales de la droga, muestran el valor clínico potencial del condicionamiento del SI y de la interpretación del efecto placebo como condicionamiento.

FACTORES EMOCIONALES EN LA RESPUESTA INMUNOLOGICA CONDICIONADA

El primer problema crucial en el estudio del condicionamiento inmunológico fue determinar si el mecanismo era directo o consecuencia indirecta de un estado emocional. Existe una amplia literatura que muestra que el estrés provoca cambios en la función inmunológica (Mustaca, 1995). Kelley y Danzer (1987) su-

girieron que la interpretación de los experimentos de supresión condicionada con el modelo de aversión gustativa estaba sujeta a confusión, porque podría ser un efecto del estrés sobre la función inmunológica más que un condicionamiento del mismo. Acorde a esta idea, se podría obtener supresión inmunológica con un condicionamiento de aversión gustativa utilizando una droga que no produzca efectos sobre la respuesta inmunológica, como el cloruro de litio. Los resultados mostraron que los animales condicionados con esa sustancia mostraron disminución de la respuesta inmune mediada por las células T, al igual que los condicionados con CY cuando fueron reexpuestos a la solución, comparadas con los controles no reexpuestos y los controles. De todos modos estos datos no fueron concluyentes. Primero, porque un mismo fenómeno puede ser causado por mecanismos diferentes. Segundo, porque Gauci y cols. (1992) mostraron que el cloruro de litio es una droga con propiedades inmunosupresoras.

Otros trabajos fueron contundentes para el apoyo de la existencia de un vínculo directo entre el SNC y el condiciona-

miento del SI. Mencionaré un ejemplo de cada clase de experimentos:

1. Facilitación o aumento de la función inmunológica en vez de inmunosupresión. Solvason y cols. (1988) expusieron a ratas al olor de alcanfor (EC) apareado con Poly:C, una sustancia activadora de las células NK. La reexposición al EC desencadenó una mayor actividad de las células NK, comparada con los controles.

2. Disociación entre la respuesta inmunológica y la conductual. En dos experimentos, Klosterhalfen y Klosterhalfen (1990) tomaron ratas que desarrollaron artritis adjuntiva, una enfermedad autoinmune y las condicionaron con sacarina-ciclosforina, una solución que en principio no provoca malestar intestinal, por lo cual no se la considera un EI aversivo. La reexposición al EC provocó inmunosupresión pero no aversión gustativa.

3. Condicionamiento bajo anestesia. Hsuech-Chi-Mei y cols. (1992) lograron un condicionamiento bajo anestesia. A ratones anestesiados se les realizó apareamientos de olor a alcanfor y Poly I:C, droga que provoca activación de las células NK. La

reexposición del EC con los sujetos no anestesiados produjo un aumento de la activación de las células NK comparada con controles apropiados.

4. *Condicionamiento discriminativo.* Solvason y col. (1991) mostró que solamente la reexposición a una clase de olor apareado con inyecciones de Poly I:C produjo una elevación de la actividad de las células NK en ratones. Si se presentaba otro olor no apareado a la droga, no había tal respuesta.

CONCLUSIONES

Si bien el descubrimiento del condicionamiento de la función inmunológica comenzó en el siglo XIX con observaciones clínicas y en 1926 en el laboratorio, sólo a partir de 1974 se estableció como un hecho no controvertido. Todos los estudios recientes mostraron modulación de la respuesta inmunológica en animales condicionados y reexpuestos al EC y ninguna respuesta en los grupos controles no apareados o no reexpuestos. Se encontró adquisición, extinción y discriminación en medidas de inmunosupresión y facilitación condicionada de la inmunidad humoral y celular.

También se hallaron respuestas compensatorias (opuestas a la RI) y disociaciones entre las respuestas conductuales e inmunológicas. Los estudios con animales con enfermedades autoinmunes, trasplantes, cáncer o alergias mostraron la importancia clínica potencial que puede tener este fenómeno ya que la reexposición a los estímulos condicionados con drogas inmunosupresoras aumentó el tiempo de supervivencia, disminuyeron las respuestas de rechazo o la alergia de estos animales a un nivel similar a los que recibieron siempre la droga inmunosupresora. Los estudios con humanos son más escasos, seguramente por las implicaciones éticas que conllevan. Sin embargo se demostró facilitación condicionada de las células NK y condicionamiento de respuestas alérgicas.

El desafío ahora es establecer los mecanismos implicados en este fenómeno. Ya se determinó que el condicionamiento inmunológico debe estar causado por vínculos directos entre el SNC y el SI sin una participación importante del eje adreno-cortical activado por factores emocionales al menos en los casos donde no se presentan estímulos

incodicionados aversivos. Las células del SI tienen receptores de neurotransmisores, opioides y sustancias endocrinas y viceversa, las del SNC tienen receptores de sustancias secretadas por el SI. Es un hecho no controvertido que el aprendizaje produce cambios sinápticos y en los neurotransmisores. Estas ideas centrales orientan a los investigadores a la utilización de bloqueadores de diferentes neurotransmisores, antagonistas o agonistas de los mismos y lesiones cerebrales para verificar si ellos provocan alteración del condicionamiento y poder entender la red de conexiones existentes entre el SI y el SNC. Por ejemplo, Luecken y col.(1992) mostraron que los receptores B-adrenérgicos influían en la inmunoregulación; Ramirez Amaya y col. (1999), que las lesiones bilaterales en la corteza insular y en la amígdala pero no en el área dorsal del hipocampo hace desaparecer el aumento de los títulos de anticuerpos con la reexposición del EC (sacarina o olor a alcanfor) asociado previamente a un antígeno y Rogers y col. (1992), que un mismo mediador el Interferón - Beta es responsable del condicionamiento de las células NK y de

las respuestas de fiebre asociadas a ella.

REFERENCIAS

- Ader, R. y Cohen, N. (1982). Behaviorally conditioned immunosuppression and murine systemic lupus erythematosus. *Science*, 215, 1534-1536.
- Ader, R. y Cohen, N. (1975). Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosomatic Medicine*, 37, 333-340.
- Ader, R. y Cohen, N. (1981). A historical account of conditioned immunobiologic responses. En: R. Ader (Eds), *Psychoneuroimmunology*, 321-352. Nueva York, Academic Press.
- Ader, R. y Cohen, N.(1985). Conditioned immunopharmacologic effects in animals: Implications for a conditioning model of pharmacotherapy. En: L. White, B. Tursty y G. Schwartz (eds.), *Placebo: Theory, research and mechanisms*, 306-323. Nueva York: Guilford Press.
- Ader, R.(1974). Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosomatic Medicine*, 36, 183-184.
- Ader, R., Felten, D. y Cohen, N. (1992). *Psychoneuroimmunology*, Academic Press, Toronto.
- Bereznykh, D. V. (1955). On the question on conditioned reflexes, restoration of immunogenesis. *Byulletn Eksperimentalnoi Biologii i Medetsiny*, 40, 49-52.
- Bovjerg, D.; Ader, R. y Cohen, N. (1982). Behaviorally conditioned suppression of graft-vs-host response. *Proceedings of National Academy of*

- Sciences of the United States of America*, 79, 583-685.
- Bovjerg, D.; Ader, R. y Cohen, N. (1984). Acquisition and Extinction of conditioned suppression of graft-vs-host response in the rat. *Journal of Immunology*, 132, 111-113.
- Bull, D. F.; Exton, M. S.; King, M.G. y Husband, A.J. (1994). Simultaneous conditioning of separate acute phase immune responses. *Psychologische Beiträge*, 36, 91-99.
- Buske-Kirschbaum, A.; Kirschbaum, C.; Stierle, H.; Lehner, H. y Hellhamer, D. (1992). Conditioned increase of natural killer cell activity (NKCA) in humans. *Psychosomatic Medicine*, 54, 123-132.
- Buske-Kirschbaum, A.; Kirschbaum, C.; Hellhamer, D. (1994). Conditioned modulation of NK cells in humans: alteration of cell activity and cell number by conditioning protocols. *Psychologische Beiträge*, 36, 100-111.
- Coussons, M. E.; Dykstra, L. A. y Lysle, D. T. (1992). Pavlovian conditioning of morphine induced alterations of immune status. *Journal of Neuroimmunology*, 39, 219-230.
- Dekker, F.; Pelser, H. E. y Groen, J. (1957). Conditioning as a cause or asthmatic attacks: A laboratory study. *Journal of Psychosomatic Research*, 2, 97-105.
- Dolin Krylov, A. O. y Krylov, V. N. (1952). The role of the cerebral cortex in immune reaction of the organism. *Zhurnal Vysshei Nervoi Deyatel'nosti Imdeni I. P. Pavlova*, 2, 547-560.
- Doroshkevich, A. A. (1954). Origination of immunological reactions from the effect of a conditioned stimulant. *Zhurnal Vysshei Nervoi Deyatel'nosti Imdeni I. P. Pavlova*, 4, 108-115.
- Friedberger, V. E. y Gurwitz, I. (1931). Sind bedingte reflexe im sinne von Pawlow befähigt, die bildung von Immunantikörpern auszuregen?. *Psychosomatic Medicine*, 27, 361-368.
- Gallart, T. y Vives, J. (1992). Órganos y células del sistema inmunitario. En: E. Farreras y R. Rozman (Eds). *Medicina interna*. Barcelona, España.
- Gauci, M.; Bull, D. F.; Stedlowski, M. y Husband, A. J. (1992). Lithium Chloride and immunomodulation in taste aversion conditioning. *Physiology and Behavior*, 51, 207-210.
- Gauci, M.; Husband, A.J.; Saxarra, H. y King, M. G. (1994). Pavlovian conditioning of nasal tryptase release in human subjects with allergic rhinitis. *Physiology and Behavior*, 55, 823-825.
- Ghanta, V. K.; Hiramoto, R. N.; Solvason, H. B. y Spector, N. H. (1987). Influence of conditioned natural immunity on tumor growth. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 496, 637-646.
- Gorczyński, R. M. (1991). Toward an understanding of the mechanisms of classical conditioning of antibody responses. *Journals of Gerontology*, 46(4), 152-156.
- Grochowicz, P.M.; Schedlowski, M.; Husband, A. J. y King, M. J. (1991). Behavioral conditioning prolongs heart allograft survival in rats. *Brain, Behavior and Immunity*, 5, 349-356.
- Hill, L. E. (1930). *Philosophy of a biologist*. Londres: Arnold.
- Hsueh, Ch.; Lorden, J. F.; Hiramoto, R. N. y Ghanta, V. K. (1992). Acquisition

- of enhanced natural killer cell activity under anesthesia. *Life-Sciences*, 50, 2067-2074.
- Kelley, K. y Danzer, R. (1987). The importance of conditioning in conditioned immunosuppression. *International Journal of Neuroscience*, 39, 289-297.
- Khan, A. U. (1977). Effectiveness of bio-feedback and counterconditioning in the treatment of bronchial asthma. *Journal of Psychosomatic Research*, 21, 97-104.
- Klosterhalfen, S.; Klosterhalfen, W. (1990). Conditioned cyclosporine effects but not conditioned taste aversion in immunized rats. *Behavioral Neuroscience*; 104, 716-724.
- Koob, H. E. y Bloom, F.E. (1982). Behavioral effects of neuropeptides: Endorphins and vasopressin. *Annual Review Physiology*, 44, 571-582.
- Kopeloff, M. L., Kopeloff, N. y Raney, M., (1933) The nervous system and antibody production. *Psychiatric Quarterly*, 7, 84-100.
- Kopeloff, M. L.; Kdopeloff, N. y Posselt, E. (1935). Agglutinin and the conditioned reflexes. *Journal of Immunology*, 29, 359-366.
- Krank, M.; Hinson, R. E. y Siegel, S. (1992). Effect of partial reinforcement on tolerance to morphine-induced analgesia and weight loss in the rat on immunogenesis. *Behavioral Neuroscience*, 98, 72-78.
- Luecken, L.J.; Lysle, D. T. (1992). Evidence for the involvement of b-adrenergic receptors in conditioned immunomodulation. *Journal of Neuroimmunology*, 38, 209-219.
- Luikíaneneko, V. I. (1961). The problem of conditioned reflexes regulation of immunological reactions. *Uspekhi Sovremennoi Biologii*, 51, 170-187.
- Mackenzie, J. N. (1896). The production of the so-called "rose-cold" by means of an artificial rose. *American Journal of Medical Science*, 91, 45-57.
- MacQueen, G. M. y Siegel, S. (1989). Conditional immunomodulation following training with cyclophosphamide. *Behavioral Neurosciences*, 103, 638-647.
- Metal'nikov, S. y Chorine, V. (1926). Role des reflexes conditionnels dans l'immunité. *Annales de l'Institut Pasteur, Paris*, 40, 893-900.
- Mustaca, A. y Bentosela, M. (1995). Estados psicológicos, salud y enfermedad. *Revista Avances en Psicología Clínica Latinoamericana*, 13, 101-119.
- Nicolau, I. y Antinescu-Dimitriu, O. (1929). Role des reflexes conditionnels dans la formations des anticorps. *Comptes Rendus de la Societe Biologic*, 102, 133-134.
- Olness, K. y Ader, R. (1992). Conditioning as an adjunct in the pharmacotherapy of lupus erythematosus. *Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics*, 13(2), 124-125.
- Ostravskaya, O. A. (1930). Le reflexes conditionnel et les reactions des l'immunité. *Annales de l'Institut Pasteur*, 44, 340-345.
- Polettini, B. (1929). Importance des reflexes dit conditionnels sur certaines phenomenes immunitaires. *Bolletino dela Sezione Irtaliana della Societe Internazionale di Microbiologica*, 1, 84-87.
- Ramirez Amaya, V. y Bermudez Rattoni, F. (1999). Conditioned enhancement of antibody production is disrupted by insular cortex and amygdala but not hippocampal lesions. *Brain, Behavior and Immunity*, 13, 46-60.

- Rogers, C.; Ghanta, V.; Hsueh, Ch.; Hiramoto, N. y col. (1992) Indomethacin and sodium carbonate effects on conditioned fever and NK cell. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*; 43, 417-422.
- Rogers, M. P., Reich, P., Strom, T. B., y Carpenter, C. B. (1976). Behaviorally conditioned immunosuppression: Replication of recent study. *Psychosomatic Medicine*, 38, 447-452.
- Solvason, H. B., Ghanta, V. K. y Hiramoto, R. N. (1988). Conditioned augmentation of natural killer cell activity. Independence from nociceptive effects and dependence on interferon-B. *Journal of Immunology*, 140, 661-665.
- Solvason, H. B.; Ghanta, V. K.; Lorden, J. F. y Soong, S. (1991). A behavioral augmentation of natural immunity: Odor specificity supports a Pavlovian conditioning model. *International Journal of Neuroscience*; 61, 277-288.
- Vygodchikov, G. V. (1955). Certain controversial questions in the theory of immunity. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*, 26, 5-14.
- Wayner, E. A.; Flannery, G. R. y Singer, G. (1978). Effect of taste aversion conditioning on the primary antibody response to shepp red blood cells. An *Brucella abortus* in the albino rat. *Physiology and Behavior*, 21, 993-1000.
- Zdrodovski, P. F. (1956). Current status of theoretical immunology and its immediate task. *Vestnik Akademii Meditsinskikh*, 11, 43-57.
- Zeitlenok, N. A. y Bychkova, I. N. (1954). On the study of the role of higher nervous activity in infection and immunity. *Zhurnal Vysshei Nervoi Deyatelnosti Imdent I. P. Pavlova*, 4, 267-281.