

ARTICULOS BREVES

Efectos de la manipulación del sueño sobre los niveles plasmáticos de inmunoglobulinas, albúmina y cortisol en sujetos voluntarios sanos

Rafael J. Salín-Pascual*¹
Rafael Campos Rodríguez¹
Nelly B. Macías¹
Daniel Granados-Fuentes*
Lourdes Galicia Polo*

Abstract

The immunoglobulins, albumin and cortisol levels were studied in human healthy volunteers. They were divided into three groups. The totally sleep deprived group (n = 10) was deprived 40 h. Blood samples were obtained in the following situations: baseline (BSL), during sleep deprivation (TRANS) and after a night of recovery (POST), always at 06:00 h. A second group of volunteers (n=8), the rapid eye movement sleep (REMS) group, was deprived two nights (REMSD-2 group), and the third group (REMS) was deprived six nights (n=6). Blood samples in the last two groups were obtained in two situations: at baseline and at the end of REMS deprivation days, at 06:00 h. Total sleep deprived group showed a statistically significant decrease in the IgG in the TRANS and POST situations, while the other immunoglobulins and the albumin remained without change. Cortisol also increased significantly at TRANS situation, with recovery the following day. REMSD-2 group showed an increase of cortisol; and REMS-6 group most important finding was an elevation of IgM. Our results support the fact that sleep deprivation could produce a decrease in humoral immunity. That could happen because of the immunomodulation role of cortisol. But because the REMSD-2 group also increased cortisol without decrease in IgG, we consider the possibility of an independent process to explain the changes in this two biological variables in sleep deprivation.

Resumen

Se estudió el efecto que dos formas de manipulación del sueño tienen sobre las inmunoglobulinas, la albúmina y el cortisol plasmáticos. Los 24 voluntarios sanos estudiados se asignaron al azar, a 3 grupos: en el primero se les privó total-

mente de sueño (PTS) durante 40 hr, y se recolectaron muestras plasmáticas antes de la manipulación experimental (BSL), durante la privación (TRANS) y en el seguimiento (POST). Las muestras se tomaron a las 06:00 hr. A un segundo grupo de voluntarios se le privó del sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) durante 2 noches continuas (PSMOR-2); y al tercer grupo de sujetos se le privó de SMOR durante 6 noches (PSMOR-6). A estos dos grupos se les tomó sangre (en la situación basal y en la última noche de manipulación del sueño), a las 06:00 hr. En los resultados se observó que el grupo de PTS mostraba una disminución de los niveles de IgG en las condiciones TRANS y POST, sin cambios en el resto de las inmunoglobulinas o la albúmina, mientras que el cortisol se elevó en forma significativa en la situación TRANS. En el grupo PSMOR-2, únicamente se encontró una elevación del cortisol plasmático y, finalmente, en el grupo PSMOR-6 se detectó una elevación de la IgM. Nuestros resultados parecen apoyar el hecho de que la PTS produce una disminución de la inmunidad humoral, que puede explicarse por la elevación del cortisol plasmático. Sin embargo, el hecho de que en el grupo PSMOR-2 también se haya observado un incremento del cortisol, sin cambios en el IgG, nos hace pensar que ambos procesos pueden ser independientes.

Introducción

Recientemente diferentes líneas de investigación han proporcionado evidencias de la relación que hay entre el sistema inmune y el sueño. Existen observaciones clínicas en el sentido de que en el curso de las enfermedades infecciosas, hay una sensación de somnolencia; sin embargo, sólo hasta hace poco se pudo objetivar esa observación en animales infectados (23). Se propuso el péptido muramílico como un factor promotor del sueño, cuando se le aisló e identificó en animales privados del mismo (10). Se ha encontrado que los péptidos muramílicos constituyen las paredes de las bacterias y son inmunoestimulantes (1). Se sabe que los péptidos muramílicos ejercen sus acciones biológicas a través de la interleucina-1 (IL-1), una sus-

¹ Sección de Graduados y Departamento de Bioquímica Aplicada. Escuela Superior de Medicina. Instituto Politécnico Nacional. Prolongación Carpio y Díaz Mirón. Santo Tomás, México, D.F.

* Departamento de Psicobiología. Instituto Mexicano de Psiquiatría. Calz. México-Xochimilco 101. San Lorenzo Huipulco, 14370, México, D.F.

tancia que modula el sistema inmune (6,7). La IL-1 es también un producto glial, y se han detectado variaciones en su concentración en la sangre y en el líquido cefalorraquídeo, que se correlacionan con las diferentes fases del ciclo sueño-vigilia (12). Otras sustancias con efectos inmunomoduladores, como el interferon-alfa (11), el factor de necrosis tumoral (21), el polipéptido intestinal vasoactivo (16,19) y la prostaglandina (9,24) han sido propuestos como factores del sueño. Finalmente se ha propuesto que en la narcolepsia hay una relación con antígenos de histocompatibilidad (HLA-DR2) (3). Estos antígenos se expresan en los astrocitos, y su síntesis es modificada por los péptidos muramílicos (14). Estos hallazgos apoyan el papel del sistema inmune sobre la regulación de los mecanismos del sueño.

El sistema inmune y el sistema nervioso central tienen funciones semejantes. Ambos responden a estímulos, seleccionan la información apropiada escogiéndola de su memoria, e integran de esta manera una respuesta adecuada a cada situación. Muchas de las sustancias químicas que se utilizan en uno de los sistemas son utilizadas por el otro: por ejemplo, algunas de las neurohormonas desempeñan algún papel sobre el funcionamiento de los leucocitos (4). En la actualidad existen múltiples trabajos que apoyan las interconexiones funcionales de ambos sistemas.

Por otro lado, los efectos de la privación del sueño sobre el sistema inmune no están bien estudiados. Casey y cols. (5) encontraron que la captura de antígenos por las células del peritoneo y las células del bazo estaba disminuida, mientras que se observó el fenómeno contrario en las células del hígado, todo lo anterior después de 72 hr de privación de sueño por el método de la plataforma invertida. Palmblad y cols. (17) encontraron que la capacidad de los linfocitos para producir interferon aumentaba durante la privación del sueño y que permanecía elevada durante la recuperación. Además, la capacidad fagocítica de los leucocitos polimorfonucleares y de los monocitos estuvo disminuida durante la privación de sueño, mientras que en el seguimiento se incrementó por arriba de los niveles basales. Este mismo grupo concluyó que la privación de sueño puede disminuir la reacción inmune, celularmente mediada, y así alterar algunos aspectos de los mecanismos de defensa del huésped (18). Moldofsky y cols. (15) examinaron el efecto de la privación de sueño sobre la respuesta mitogénica de las células "killer". Después de la privación total de sueño hay un avance de fase circadiana de la actividad de estas células.

Por lo expuesto anteriormente, se decidió estudiar en nuestro laboratorio la respuesta del sistema inmune ante una serie de manipulaciones del sueño. Así se efectuaron dos estudios: en uno se privó de sueño a un grupo de voluntarios sanos por un lapso de 40 hr, mientras que en el otro se privó de sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR), durante dos y seis noches continuas, a sujetos voluntarios sanos. En todas las condiciones se evaluaron: los niveles plasmáticos de las inmunoglobulinas, de la albúmina y del cortisol. El objetivo principal de este trabajo fue el de observar los efectos que las manipulaciones del sueño

antes mencionadas tienen sobre los parámetros estudiados, y si este efecto es específico.

Material y método

Privación total de sueño (PTS)

Se estudiaron diez voluntarios sanos del sexo masculino. Sus edades estuvieron entre 23 y 37 años ($\bar{x} = 23.3 \pm 3.9$ años). Se les hizo una entrevista clínica, para descartar a las personas que presentaron algún tipo de patología. Se hizo especial hincapié en detectar los problemas relacionados con el sistema inmune y con el sueño. A los voluntarios sanos que fueron seleccionados de la manera antes indicada, se les hizo una explicación detallada del procedimiento experimental, y se les solicitó su consentimiento firmado. Al finalizar el estudio recibieron una remuneración económica. Los sujetos experimentales acudieron al laboratorio de sueño en las siguientes condiciones: noche de habituación, noche de registro basal, noche de privación de sueño total y noche de recuperación. En las noches de registro polisomnográfico (todas con excepción de la noche de PTS), se preparó a los pacientes colocándoles electrodos cutáneos para el registro electroencefalográfico, en las derivaciones C3-A2 y O1-A2; se les colocaron otros dos electrodos cutáneos en el canto externo de ambos ojos y se derivaron a una mastoides común (A1), con el objeto de registrar el electrooculograma. Finalmente, se les colocaron dos electrodos en la región de la barbilla con el objeto de monitorizar el tono muscular (electromiograma). Los sujetos voluntarios se presentaron al laboratorio de sueño a las 21:00 hrs; los registros de sueño se iniciaron a las 22:00 hrs. y terminaron a las 06:00 hrs. Las noches de PTS, los voluntarios sanos asistieron durante el mismo horario y se les mantuvo despiertos en el laboratorio de sueño desde las 22:00 hrs hasta las 22:00 hrs (40 hrs de vigilia continua) del día siguiente, cuando se les permitió dormir nuevamente, hasta las 06:00 hrs. del otro día. Se obtuvieron tres muestras sanguíneas en las siguientes condiciones: basal (ISL), transprivación (TRANS) y en la noche de recuperación (POST). Se recolectaron 10 cc de sangre en cada una de las tomas; éstas se efectuaron a las 06:00 hrs en todos los casos. Una vez obtenidas, éstas fueron centrifugadas para la obtención del plasma, el cual se almacenó a -20°C hasta su procesamiento.

Privación de sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR)

Los voluntarios sanos de esta fase fueron seleccionados por los mismos mecanismos que los precedentes. Se les explicó el procedimiento experimental en detalle, y se obtuvo su consentimiento firmado. También recibieron una remuneración económica al finalizar su participación.

Se estudió un total de 14 sujetos, los cuales se dividieron al azar en dos grupos. Al primero se le privó de SMOR durante dos noches (grupo PSMOR-2) y estuvo formado por 8 sujetos (6 hombres y 2 mujeres),

TABLA 1
Niveles plasmáticos de inmunoglobulinas, albúmina y cortisol
en el grupo de privación total de sueño (N = 10) ($\bar{x} \pm D.E.$)

	BSL	TRANS	POST	F	P [⊕]
IgG (ug/ml)	14.2 ± 5.5	11.0 ± 3.4*	11.0 ± 0.7*	5.262	0.017
IgM (ug/ml)	6.1 ± 1.5	5.8 ± 2.0	6.0 ± 1.0	0.843	0.548
IgA (ug/ml)	28.7 ± 11.6	24.2 ± 8.6	26.3 ± 10.8	0.913	0.576
IgE (U/ml)	3330 ± 652.8	3370 ± 736.4	3380 ± 820.9	0.125	0.831
Albúmina (ug/ml)	1.6 ± 0.2	1.6 ± 0.2	1.6 ± 0.2	0.039	0.9500
Cortisol (ug/ml)	146.3 ± 65.6	217.5 ± 61.8*	174.2 ± 94.03	5.182	0.0165

* t de Student para muestras de sujetos emparejados. Significancia < 0.005

⊕ Anova de dos vías para muestras repetidas.

cuyas edades iban de los 22 a los 29 años ($\bar{x} = 25 \pm 2.9$ años). Al segundo grupo se le privó durante 6 noches continuas de SMOR (grupo PSMOR-6). Este grupo estuvo formado por 6 voluntarios (5 hombres y 1 mujer), cuyas edades fluctuaban entre los 20 y los 26 años ($\bar{x} = 23.16 \pm 2.13$ años). En esta fase, los sujetos asistieron al laboratorio de sueño en las siguientes condiciones experimentales: habituación, registro basal, noches de privación de SMOR (2 ó 6 noches, según el grupo) y una noche de seguimiento. La preparación para los registros de sueño se efectuó en iguales condiciones a las descritas en los voluntarios de PTS. El procedimiento para la privación del SMOR, consistió en despertar a las personas en cuanto se observaban evidencias polisomnográficas de que habían ingresado a esta fase del sueño; esto último se comprobaba por la presencia de dos de los siguientes tres criterios: desincronización electroencefalográfica, hipotonía muscular y movimientos oculares conjugados rápidos. Tan pronto como transcurría una etapa de registro de sueño (30 seg.) en la que claramente se identificara el inicio del SMOR, se despertaba suavemente a los voluntarios llamándolos por su nombre. Una vez despiertos se les mantenía en este estado de 3 a 5 minutos, tiempo que según nuestra experiencia, es necesario para evitar que el sujeto, al re-iniciar su sueño, lo haga en SMOR. Las muestras sanguíneas fueron tomadas en la situación basal y después de la noche de recuperación de sueño. Estas se recolectaron en las mismas condiciones descritas previamente para el grupo PTS.

Las inmunoglobulinas, con excepción de la IgE, y la albúmina fueron determinadas por el método de ELISA (8); la IgE fue determinada por el método de inmunodifusión (13), mientras que el cortisol plasmático se cuantificó por un radioinmunoanálisis comercial. Estas determinaciones fueron efectuadas por investigadores "ciegos" al procedimiento experimental. Los datos de la privación de sueño total fueron analizados con ANOVA de dos vías para medidas repetidas, en las situaciones BSL, TRANS y POST. La significancia se determinó por la prueba t de Student para muestras pareadas (con la corrección de Bonferroni, para el nivel alfa de significancia a $p < 0.01$). A los grupos privados de SMOR, se les hizo una prueba t de Student pareada, para las situaciones basal y de recuperación. Se utilizó

la prueba de Pearson, para correlacionar las variables entre sí.

Resultados

Privación parcial de sueño

En la tabla 1 están concentrados los datos de los 10 voluntarios que participaron en esta fase del trabajo. Se observó un cambio significativo en los niveles plasmáticos de inmunoglobulinas IgG, en las situaciones de TRANS y POST; el resto de las inmunoglobulinas y la albúmina no mostraron cambios significativos. El cortisol plasmático presentó una elevación estadísticamente significativa en la situación de TRANS, y regresó a los niveles basales después de una noche de sueño. Se efectuaron las correlaciones entre IgG y cortisol en las tres situaciones del estudio de PTS. Todas ellas fueron negativas y sólo en la situación de TRANS se encontró significancia estadística (IgG vs. Cortisol TRANS; $r = 0.696$; $T = 2.7402$; $p = 0.025$).

Privación de SMOR

En la tabla 2 se concentran los resultados de los voluntarios privados de SMOR durante 2 noches continuas. Pueden observarse cambios significativos únicamente en los niveles de cortisol plasmático, los cuales se incrementaron significativamente; sin embargo, en los niveles de la IgG se observó una tendencia a

TABLA 2
Niveles plasmáticos de inmunoglobulinas,
albúmina y cortisol en el grupo privado de SMOR
durante dos noches continuas (N = 8) ($\bar{x} \pm D.E.$)

	BSL	POST	P*
IgG (ug/ml)	3.90 ± 0.24	4.18 ± 0.2	0.0698
IgM (ug/ml)	2.070 ± 0.41	2.18 ± 0.27	0.7207
IgA (ug/ml)	3.24 ± 0.27	3.09 ± 0.19	0.7402
IgE (U/ml)	965 ± 668.3	815 ± 446.3	0.7172
Albúmina	1.27 ± 0.08	1.304 ± 0.05	0.6171
Cortisol	143.7 ± 91.4	228.12 ± 72.6	0.0418

* t de Student para muestras de sujetos emparejados.

TABLA 3
Niveles plasmáticos de inmunoglobulinas,
albúmina y cortisol en el grupo privado de SMOR
durante seis noches continuas (N = 6)

	BSL	POST	P*
IgG (ug/ml)	3.53 ± 0.24	3.683 ± 0.231	0.7703
IgM (ug/ml)	1.798 ± 0.388	1.938 ± 0.344	0.0132
IgA (ug/ml)	3.65 ± 0.64	3.5 ± 0.34	0.673
IgE (U/ml)	1110 ± 809.3	1416.6 ± 893.7	0.524
Albúmina	1.22 ± 0.125	1.25 ± 0.12	0.780
Cortisol	169.3 ± 71.7	142.4 ± 61.3	0.6634

* t de Student para muestras de sujetos emparejados.

aumentar aunque no en forma significativa. El resto de las inmunoglobulinas y la albúmina no mostraron cambios.

En la tabla 3 se muestran los resultados concentrados de los sujetos privados de SMOR durante seis noches consecutivas. Se observó una elevación significativa únicamente en la IgM; el resto de los parámetros estudiados no mostraron cambios.

Discusión

Los datos significativos de la PTS son la disminución sostenida, durante las situaciones TRANS y POST, de los niveles de la IgG, y la elevación transitoria en la situación de TRANS de los niveles plasmáticos de cortisol; además hubo una correlación significativa en la situación de TRANS, de los niveles de IgG y cortisol plasmáticos. En un trabajo anterior informamos que los niveles nocturnos de cortisol no se modifican durante la noche de recuperación de la PTS, mientras que los niveles de melatonina aumentan (20). Los datos de este estudio parecen apoyar los resultados anteriores. Sin embargo, la elevación de cortisol en la situación de TRANS, nos lleva a pensar en que durante la supresión de sueño existe una activación de los mecanismos mediados por el estrés, uno de los cuales es el aumento en los niveles de cortisol plasmático. Esto en sí puede explicar la disminución en los niveles de la IgG, ya que se ha indicado que esta hormona produce un efecto inmunomodulador (2). Las variaciones

en los niveles de inmunoglobulinas, observadas en los distintos grupos, posiblemente se deben a la utilización de diferentes lotes de placas de poliestireno y de anticuerpos marcados con peroxidasa. Sin embargo en cada uno de los tres grupos experimentales se utilizó el mismo lote, y dado que las comparaciones se hicieron intragrupo y no intergrupo, pensamos que éstas son válidas.

En el grupo PSMOR-2, en el cual se observó también un aumento de los niveles de cortisol plasmático, después de la 2a. noche de PSMOR no disminuyó la IgG.

Esto último parece apoyar el hecho de que si bien es posible que aumente el cortisol, esto no necesariamente se correlaciona con la disminución de la IgG.

Por lo tanto, también cabe la posibilidad de que la baja persistente en los niveles de IgG en la PTS, se deba a mecanismos independientes a la inmunomodulación propuesta para el cortisol.

En el grupo PSMOR-6 se observó un aumento significativo de la IgM. Sin embargo, todavía no podemos explicar el significado de este aumento. El que no se hayan observado cambios en la IgG y en el cortisol, como en los grupos precedentes, nos lleva a pensar que existe un proceso de adaptación, sobre todo en lo que corresponde al cortisol. En ratas con PTS se encontró, mediante el método de locomoción forzada, que sólo aquellos animales que acababan de introducirse en los tambores giratorios tenían los niveles de cortisol plasmático elevados, mientras que aquellos que llevaban ya 24 hr no presentaban ninguna diferencia con los animales controles (22).

Los niveles de albúmina plasmática en los tres grupos experimentales no se modificaron, esto parece apoyar el hecho de que los cambios en la IgG no se deben a variaciones en la síntesis de proteínas. La disminución de los niveles de IgG en la PTS parece apoyar algunas observaciones clínicas en el sentido de que la falta de sueño pudiera disminuir transitoriamente los mecanismos humorales de la inmunidad. Sin embargo, también hay evidencia clínica de que las personas con privaciones crónicas de sueño no parecen estar más expuestas a infecciones, lo cual pudiera traducirse como un proceso adaptativo. Se requieren más trabajos en esta área con el objeto de comprender mejor la relación entre el sueño y el sistema inmune.

REFERENCIAS

1. ADAM A, LEDERER E: Muramyl peptides: immunomodulators, sleep factors, and vitamins. *Med Res Rev*, 4:111-119, 1984.
2. BASEDOVSKY HO, DEL REY EA, SORKIN E: Immune-neuroendocrine interactions. *J Immunology*, 135:750-755, 1985.
3. BILLIARD M, SEIGNALET J: Extraordinary association between HLA-DR2 and narcolepsy. *Lancet*, i:226-227, 1985.
4. BLALOCK JE: The immune system as a sensory organ. *J Immunol*, 132:1067-1070, 1984.
5. CASEY FB, FEISENBERG J, PETERSON D, PIEPER D: Altered antigen uptake and distribution due to exposure to extreme environmental temperatures or sleep deprivation. *Reticuloendothelial Soc J*, 15:87-90, 1974.
6. CHEDID L: Immunopharmacology of muramyl peptides: new horizons. *Prog Immunol*, 5:1349-1352, 1983.
7. CHEDID L: Synthetic muramyl peptides: Their origin, present status, and future prospects. *Fed Proc*, 45:2531-2534, 1986.
8. ENGRALL E, PERLMANN P: Enzyme linked immunosorbent assay ELISA III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled antiimmunoglobulin in antigen-coated tubes. *J Immunol*, 109:129-132, 1972.
9. FORSTERMANN V, HELDT R, HERTTING G: Effects of intracerebroventricular administration and prostaglandins D2 on behavior, blood pressure and body temperature as compared to prostaglandin E3 and F24. *Psychopharmacology*, 80:365-340, 1979.
10. KRUGER JM, PAPPENHEIMER JR, KARNOVSKY ML:

- The composition of sleep-promoting factor isolated from human urine. *J Biol Chem*, 256:1664-1669, 1982.
11. KRUGER JM, DINARELLO CA, SHOHAM S y cols: Interferon alpha-2 enhances slow-wave sleep in rabbits. *Int J Immunopharmacol*, 9:26-30, 1987.
 12. LEV FA, BAIL M, GORCZYNSKI R, MOLDOFSKY H: Sleep and interleukin-1-like activity in cat cerebrospinal fluid. *Sleep Res*, 16:51-55, 1987.
 13. MANCINI G, CARBOCANA AO, HEREMANS JF: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry*, 2:235-238, 1965.
 14. MASEK K: Multiplicity of biological effects of immunomodulators. *Meth Find Exp Clin Pharmacol*, 8:97-100, 1986.
 15. MOLDOFSKY H, LUE FA, SASKIN P y cols: The effects of sleep deprivation on immune function in humans. I. Mitogen and natural killer cell activities. *Sleep Res*, 16:531, 1987.
 16. OBAL F, SARY G, ALFOLDI P y cols: Vasoactive intestinal polypeptide promotes sleep without effects on brain temperature in rats at night. *Neurosci Lett*, 64:236, 1986.
 17. PALMBLAD J, CANTELL K, STRANDER H y cols: Stress or exposure and immunological response in man: interferon producing capacity and phagocytosis. *J Psychosom Res*, 20:193-195, 1976.
 18. PALMBLAD J, PETRINI B, WASSERMAN J, AKERS-TEDT T: Lymphocyte and granulocyte reactions during sleep deprivation. *Psychosom Med*, 41:273-275, 1979.
 19. PROSPERO-GARCIA O, MORALES M, ARANKOWSKY-SANDOVAL G, DRUCKER-COLIN R: Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and cerebrospinal fluid (CSF) on sleep-deprived cats restores REM sleep in insomniac recipients. *Brain Res*, 385:169-172, 1986.
 20. SALIN PASCUAL RJ, ORTEGA-SOTO H, HUERTO-DEL-GADILLO L y cols: The effect of total sleep deprivation on plasma melatonin and cortisol in healthy human volunteers. *Sleep*, 11:362-369, 1988.
 21. SHOHAM S, DAVENNE D, CADY AB y cols: Recombinant tumor necrosis factor and interleukin-1 enhance slow-wave sleep in rabbits. *Am J Physiol*, 253:R142-R150, 1987.
 22. TOBLER I, MURISON R, URSIN R y cols: The effect of sleep deprivation and recovery sleep on plasma corticosterone in the rat. *Neurosci Lett*, 35:297-299, 1983.
 23. TOTH L, KRUEGER JM: Effects of *Staphylococcus aureus* infection on slow-wave sleep in rabbits. *Soc Neurosci Abstr*, 13:261-270, 1987.
 24. VENO R, HONDA K, INOUE S, HYAISHE O: Prostaglandin D2, a cerebral sleep-inducing substance in rats. *Proc Natl Acad Sci USA*, 80:1735-1740, 1983.