

Niveles de inmunoglobulina A secretora y humor

Levels of secretory immunoglobulin A and humor

Silvana D'Anello¹, Karen Escalante² y Carmen Sanoja²

RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del humor sobre la secreción de la inmunoglobulina A secretora. Se utilizó un diseño experimental antes-después con cuatro grupos de estudiantes universitarios. Los dos primeros observaron un video humorístico con expresión o inhibición de la risa, respectivamente; el tercero observó un documental con contenido emocional neutral, y el cuarto un video estresante. En cada caso, se recogieron muestras de saliva antes y después de la exposición a los videos para medir la inmunoglobulina A secretora. Además, se evaluó el sentido del humor y se monitoreó la risa en el primer grupo. Los resultados mostraron que sólo en el grupo que observó el video humorístico con expresión de risa hubo un incremento significativo de inmunoglobulina. En este grupo, la asociación entre la frecuencia e intensidad de la risa con los niveles de inmunoglobulina fue positiva y significativa; sin embargo, no se encontró relación entre el sentido del humor y los niveles iniciales y los cambios de inmunoglobulina. En contraste con la investigación previa, no hubo disminución en la secreción después de observar el video estresante. Los resultados extienden el conocimiento de los efectos de las variables psicológicas sobre el sistema inmunológico.

Palabras clave: Inmunoglobulina A secretora; Humor; Estrés; Risa; Psiconeuroinmunología

SUMMARY

The aim of the study is to evaluate the effect of humor on the secretion of secretory immunoglobulin A. An experimental design pre-post test was used with four groups of college students. The two first groups watched a humoristic videotape and either expressed or inhibited laughter; the third group watched a didactic film, and the fourth group observed a stressful film. In each case, saliva samples were collected before and after the films, and the immunoglobulin A secretion rate was measured. Additionally, sense of humor was evaluated, and laughter was monitored in the first group. Increases in immunoglobulin A were found only in the group that watched the humoristic video and expressed laughter. In this group, a significant correlation was found among frequency and intensity of laughter and the immunoglobulin A secretion rate. However, sense of humor proved to be unrelated to initial secretion and to changes in immunoglobulin A levels after the videotape. In contrast to previous research, no changes were found after the stressful film. The results extend the knowledge about the effects of psychological variables on the immune system.

Key words: Secretory Immunoglobulin A; Humor; Stress; Laughter; Psychoneuroimmunology.

¹ Centro de Investigaciones Psicológicas, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, tel. y fax (58)274-2639935, correo electrónico: silvana@ula.ve. Artículo recibido el 31 de julio y aceptado el 15 de septiembre de 2004.

² Laboratorio de Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La concepción sobre la salud ha cambiado en los años recientes. La perspectiva biopsicosocial (Engle, 1977), fundamentada en la influencia interactiva de factores psicosociales y biológicos en la salud y la enfermedad, está reemplazando al modelo biomédico tradicional, que se enfoca en disfunciones patógenas y orgánicas. Dicha perspectiva, más amplia, ha estimulado diversas líneas de investigación diseñadas a aclarar el rol de ciertas variables psicosociales en la salud.

Ya en los años cincuenta y sesenta se demostró que ratones y ratas sometidas a estímulos estresantes tenían mayor probabilidad de desarrollar infecciones virales y tumores que los animales no estresados (Miller, 1998). Hoy, aquellas investigaciones pioneras que marcaron los inicios de la psiconeuroinmunología (PNI) han estimulado la realización de estudios clínicos y de laboratorio muy sofisticados dirigidos, por ejemplo, a determinar los efectos del estrés sobre el sistema inmunológico, así como el efecto de ciertas características de personalidad sobre la salud.

La PNI es conceptuada como “el campo que estudia las interacciones entre el sistema nervioso central, el sistema endocrino y el sistema inmunológico; el impacto que la conducta ejerce sobre estas interacciones, y [sus] implicaciones [...] sobre la salud” (Glaser, Rabin y Chesney, 1999, p. 2268). Así, diferentes disciplinas convergen en el campo de la PNI para estudiar científicamente la interacción entre los factores psicológicos, el sistema nervioso central y el sistema inmunológico. La PNI promete explorar y explicar la creencia comúnmente mantenida de que nuestra personalidad y emociones influyen sobre la salud física. También parece tener el potencial de ofrecer intervención psicológica que puede mejorar la inmunidad y, consecuentemente, la susceptibilidad a ciertas enfermedades y la aparición y el progreso de éstas.

La mayor porción de investigación se ha realizado en el campo del estrés y de las emociones negativas en general (Kiecolt-Glaser, McGuire, Robles y Glaser, 2002). Los datos hasta el presente han confirmado la hipótesis central sobre los efectos inmunosupresores del estrés (Cohen y Williamson, 1991; Ironson, Wynings, Schneiderman y

cols., 1997; Kiecolt-Glaser, 1999; O’Learly, Temoshok, Jenkis y Sweet, 1990; Stone, Neale, Cox y cols., 1994). Por ejemplo, se ha encontrado que las emociones negativas están asociadas con una disminución en la concentración de inmunoglobulina A secretora (IgA-s en lo sucesivo) (Booth, 2002), reducción de la IgA-s ante un antígeno (O’Learly, 1990), respuesta de anticuerpos más baja a la vacuna de la hepatitis B (Glaser, Kiecolt-Glaser, Bonneau y Malarkey, 1992), aumento en la producción de citocinas proinflamatorias (Maes, Song, Lin y De Van, 1998), proliferación reducida de linfocitos y actividad reducida de las células asesinas naturales (Cohen y Herbert, 1996; Kiecolt-Glaser y Glaser, 1992).

Paralelamente, se han realizado importantes progresos en la instrumentación de programas de intervención psicosocial para modular la respuesta inmunológica (Millar y Cohen, 2001), particularmente aquellos dirigidos a poblaciones con enfermedades específicas, tales como cáncer (Castés y Canelone, 1999; Levy, Herberman, Maluish y cols., 1985) y sida (O’Learly y cols., 1989; Segstrom, Taylor, Kemeny y cols., 1996; Solomon y Temoshok, 1987).

Fue a mediados de los años ochenta que los investigadores comenzaron a estudiar seriamente el impacto del humor y la risa sobre el sistema inmunológico. Desde la aparición en 1979 del libro de Norman Cousins *Anatomy of an illness as perceived by the patient*, se inició un movimiento científico en busca de respuestas más convincentes a sus aseveraciones sobre el poder de la risa y emociones positivas en la cura de su propia enfermedad. Tomados los hallazgos como un todo, pareciera que hay algo en el humor y la risa que induce al sistema inmunológico a hacer de un modo más efectivo aquello para lo cual está diseñado: promover la salud y el bienestar ante el enfrentamiento de amenazas internas y externas. Sin embargo, las investigaciones hasta el presente no han mostrado datos totalmente consistentes, y tienen, en muchos casos, deficiencias metodológicas que justifican su réplica y expansión (Martín, 2001).

El humor y la IGA-s

La mayoría de los estudios que han intentado demostrar el vínculo entre el humor y el sistema

inmunológico han evaluado la IgA-s, considerada como la primera línea de defensa del organismo contra infecciones virales y bacteriales de tipo respiratorio (Tomasi, 1971). Igualmente, se han asumido diferentes perspectivas teóricas para concebir los efectos del humor sobre la salud y diferentes aproximaciones metodológicas, incluidos estudios experimentales de laboratorio y de corte correlacional. En los estudios experimentales, los participantes son expuestos típicamente a cintas de video con contenido humorístico, al tiempo que se toman medidas de ciertos componentes del sistema inmunológico antes y después de verlas. En algunos estudios se incorporan grupos control con videos neutrales de contenido emocional o generadores de emociones negativas. En los estudios correlacionales, generalmente se toman medidas del sentido de humor mediante autorreportes que se relacionan con medidas de componentes inmunológicos (Martín, 2001).

A continuación, se reportan los estudios más representativos realizados hasta la fecha en los que se ha utilizado la IgA-s como variable dependiente.

Dillon, Minchoff y Baker (1985) fueron investigadoras pioneras en la demostración del efecto del humor sobre el sistema inmunológico. A diez participantes se les asignó contrabalanceadamente la observación de un video humorístico y uno didáctico (control) de 30 minutos de duración cada uno, respectivamente, y se tomaron muestras de saliva antes y después de observar los videos. También se les administró el Cuestionario sobre Enfrentamiento con Humor y se evaluó el grado de humorismo de los videos mediante una escala Likert de cinco puntos. Los resultados indicaron que, en promedio, la concentración de IgA-s después de observar el video humorístico fue significativamente mayor que antes de ser observado, pero no varió significativamente en la condición del video didáctico. Los puntajes del cuestionario sobre el uso percibido del humor como estrategia de enfrentamiento se correlacionaron positivamente con la concentración inicial de IgA, e inversamente con los cambios en IgA después que los participantes vieron el video humorístico, lo cual sugiere un "efecto de techo".

Lefcourt, Davidson-Katz y Kueman (1990)

condujeron tres experimentos con estudiantes universitarios sometidos a condiciones experimentales en pequeños grupos, a fin de demostrar los efectos del humor sobre la IgA-s. En los tres, la exposición al humor aumentó los niveles de IgA-s. Harrison, Carroll, Burns y cols. (1990) evaluaron la IgA-s y la actividad cardiovascular en un grupo de estudiantes que vieron extractos de una película divertida, una estresante y otra didáctica. Aunque se reportaron los cambios esperables en la actividad cardiovascular, no ocurrió lo mismo con respecto a la IgA-s, pues aumentó independientemente del contenido emocional de las películas.

Njus, Nitschke y Bryant (1996) llevaron a cabo un estudio con cincuenta estudiantes universitarias. La mitad observó el video de una comedia, y la otra mitad un documental inductor de afectos negativos. No se hallaron diferencias significativas en los niveles de IgA-s inmediatamente después de la observación, una hora después, ni 24 horas más tarde. También se evaluó en este estudio el efecto de la escritura afectiva, encontrándose que los niveles de IgA-s fueron más altos en las participantes que escribieron un ensayo sobre el video, independientemente del tipo de película vista. McClelland y Cheriff (1997), en una serie de tres estudios en los cuales se mostró a los participantes una comedia o un documental, comprobaron un aumento de la IgA-s solamente en la condición de humor.

En la revisión de la literatura, se halló que en Venezuela se ha realizado solamente un estudio sobre el humor y el sistema inmunológico. En efecto, Hernández y Rodríguez (2001) utilizaron una muestra de cinco niños y efectuaron un programa de entrenamiento con los padres para producir risa en los hijos durante cinco sesiones de 30 minutos de duración. Se tomaron muestras de saliva antes y después de cada sesión para evaluar la concentración de IgA-s. Los resultados mostraron sólo una tendencia en la dirección esperada, ya que los incrementos de IgA-s no resultaron significativos.

Como se evidencia, aunque algunos estudios señalan los cambios producidos por el humor sobre la IgA-s, existen ciertas inconsistencias en los resultados, así como debilidades metodológicas en algunos de ellos. Por ejemplo, en muchos casos se carece de verificación de la manipulación. Para la presente investigación, se diseñó un experimento

para evaluar la hipótesis central de que los niveles de IgA-s aumentan con la exposición a estímulos humorísticos.

Sentido del humor

Dada la relativa evidencia según la cual la observación de videos humorísticos fortalece diferentes componentes del sistema inmunológico (Martin, 2001), tiene sentido asumir que las personas que han desarrollado mejor su sentido del humor deben poseer un sistema inmunológico más fuerte, pues obtienen en mayor medida el tipo de beneficios ofrecidos por el ejercicio de su sentido del humor con mayor frecuencia. Consistentes con dicha suposición, algunos estudios han mostrado que los individuos con puntajes más altos en los tests que miden el sentido del humor tienen niveles más altos en IgA-s. Dillon y Totten (1989), en una muestra de 17 mujeres, hallaron una correlación significativa entre los puntajes del cuestionario que mide estrategias de enfrentamiento con humor y los niveles de IgA-s en saliva. En otro estudio, McClelland y Cheriff (1997), empleando una muestra de 71 estudiantes universitarios, reportaron una asociación positiva entre los niveles de IgA-s previa a la exposición del estímulo humorístico y el sentido del humor, utilizando para ello una medida de producción personal de humor.

La investigación también sugiere que aquellas personas con mejor sentido del humor muestran los más altos aumentos en IgA-s después de ver un video humorístico, aunque los resultados no han sido consistentes. En tres experimentos conducidos por Lefcourt, Davidson-Katz y Kue-man (1990) se tomaron medidas del sentido del humor mediante el Cuestionario de Humor Situacional y el Cuestionario sobre Enfrentamiento con Humor. En el primero y tercer estudios, éste fue inducido mediante una cinta de audio con contenido humorístico, y en el segundo se utilizó un video. En los tres estudios, la exposición al humor aumentó los niveles de IgA-s, y en el primero de ellos se encontró una interacción con la medida de sentido del humor. Además, en el tercer estudio, en el cual se utilizó un mayor control sobre el flujo de saliva (volumen) y otro método para medir la IgA-s (ELISA), los sujetos con mayor sentido del humor tuvieron un mayor incremento

en la concentración de IgA-s después de la exposición al estímulo humorístico. Tales resultados sugieren que las personas con mejor sentido del humor pudieron haber apreciado mejor el video o haber reído más.

En el estudio que se reporta más adelante se tomaron medidas sobre el sentido del humor para corroborar la hipótesis de que las personas con mayor sentido del humor tienen una mayor secreción de IgA-s. Se determinó si en las personas con alto sentido del humor el incremento de IgA-s es mayor después de someterse a estímulos humorísticos.

¿La risa o el humor?

¿Qué es más importante en el efecto sobre la IgA-s?, ¿la risa o la experiencia del humor? Esta constituye otra pregunta que surge de los resultados hasta ahora generados. De la revisión de la literatura, únicamente un estudio intenta responderla. Labott, Ahleman, Wolever y Martin (1990), a diferencia de otros autores, incluyeron en su diseño de investigación un grupo que experimentó emociones negativas, y evaluaron asimismo el efecto de la expresión e inhibición de las emociones sobre la IgA-s. Específicamente, 32 estudiantes universitarias observaron de manera contrabalanceada dos videos generadores de humor y tristeza, respectivamente, mientras que siete vieron un video de tipo documental (control). A la mitad de las participantes de los grupos experimentales se les instruyó para inhibir la expresión emocional, y a la otra mitad a expresarse abiertamente. La IgA-s se midió antes y después de observar los videos. Aunque los resultados no revelaron diferencias entre las dos condiciones de humor en los niveles de IgA-s, se obtuvieron diferencias antes y después para cada condición, lo que sugiere que la experiencia del humor puede ser más importante que la risa. Bennett (1998) estimó el efecto del humor y la risa sobre la actividad de las células asesinas naturales, hallando que dicha actividad se incrementó sólo en las personas que tuvieron mayor frecuencia de risas durante la observación de un video humorístico. Aunque en este estudio no se utilizó la IgA-s, y dada la escasa investigación al respecto, es evidente la necesidad de analizar el efecto separado de la risa y la experiencia subjetiva del humor. En el presente estudio, al igual que

lo hecho por Labott y cols. (1990), se intentó ofrecer una respuesta mediante la expresión e inhibición de la risa. También se evaluó el grado de humor percibido en los estímulos (videos), lo cual sirvió como una comprobación de la efectividad de la manipulación.

Resumiendo, en el estudio se plantearon las siguientes hipótesis: 1) La exposición a estímulos humorísticos aumenta los niveles de secreción de IgA-s, y este aumento es más pronunciado en participantes con alto sentido de humor; 2) La exposición a estímulos neutrales no produce cambios en los niveles de secreción de IgA-s; 3) La exposición a estímulos de contenido emocional negativo produce una disminución en la secreción de IgA-s, y 4) La expresión abierta de la risa es el componente responsable de los cambios en IgA-s provocados por la exposición a estímulos humorísticos.

MÉTODO

Participantes

La población del estudio estuvo conformada por todos los estudiantes de tercer año de la carrera de Medicina ($n = 130$), quienes cumplieron uno de los requisitos de la asignatura de Psicología Social de la Salud con su participación. En primer lugar, se realizó una selección al azar de diez estudiantes cuyo rol en el estudio fue evaluar los videos para escoger los que se utilizarían en las sesiones experimentales. Estos estudiantes no se incluyeron en la muestra definitiva.

Para la selección de la muestra que participaría en el experimento, se consideraron como criterios de exclusión los siguientes: padecer de enfermedad crónica, ser adicto al alcohol u otro tipo de droga, o estar usando medicamentos que pudieran afectar los resultados. Así, la población se redujo a 98 sujetos, de los cuales se seleccionó al azar la muestra empleada en el estudio. Se conformaron cuatro grupos de doce sujetos seleccionados al azar, seis de ellos del sexo femenino y seis del masculino.

Los grupos fueron los siguientes: experimental A (EA): observación del video humorístico con expresión de risa; experimental B (EB): observación del video humorístico con inhibición de risa; experimental C (E): observación del video estresan-

te, y control (C): observación del video neutral-documental. Al finalizar el experimento, el grupo EB se redujo a diez participantes (seis del sexo femenino y cuatro del masculino) debido a problemas con la lectura de las pruebas de concentración de IgA-s, por lo que la muestra definitiva quedó conformada por 46 participantes, con un promedio de edad de 21 años.

Instrumentos

SENTIHU. Cuestionario de Sentido de Humor, diseñado por Martin y Lefcourt (1984) para medir el sentido de humor en una variedad de situaciones, y adaptado a la población venezolana por D'Anello (2002). Consta de 18 descripciones cortas de situaciones variadas, ante las cuales los sujetos deben indicar su tendencia a reír utilizando una escala de cinco puntos. La confiabilidad es de .70 (alfa de Cronbach). Como indicador de validez convergente, presenta asociación positiva con emociones positivas (.29) y satisfacción con la vida (.23), así como validez discriminante por su asociación negativa con depresión (-.33).

EMOPONE. Este instrumento valora el grado en el cual las emociones son sentidas en el momento actual. Consta de cinco emociones negativas y cinco positivas. Los sujetos estiman hasta qué punto sienten cada una de dichas emociones en una escala de seis puntos (1 = nada sentida, 6 = muy sentida) (D'Anello, 1999).

NIHU. Es una escala de cinco puntos (1 = nada humorístico, 5 = muy humorístico) que evalúa el nivel de humor percibido en los videos.

EVARI. Instrumento diseñado por Bennett (1998) para evaluar la frecuencia e intensidad de la risa de los participantes mientras observan un video humorístico.

Procedimiento

El primer paso del estudio consistió en una prueba piloto para seleccionar los videos que deberían utilizarse. Diez estudiantes (quienes no participaron en los grupos experimentales) observaron videos con contenido humorístico, generador de emoción negativa y contenido neutro. Cada video tenía una duración aproximada de 30 minutos. El video humorístico fue sobre el Conde del Guacharo, el

negativo fueron escenas de la película *La lista de Schindler*, y el neutral un documental sobre la Isla de las Aves. Una vez seleccionados los respectivos videos, se seleccionó la muestra definitiva del estudio, tal como se especificó anteriormente.

A la población restante se les aplicó un cuestionario para recoger información general que permitiera evaluar los criterios de exclusión y se aplicó el instrumento SENTIHU. A partir de estos resultados, se seleccionó la muestra definitiva y se realizó la asignación a los respectivos grupos. Se constituyeron grupos de seis sujetos, que fueron sometidos después a un cronograma de sesiones experimentales alternas durante ocho tardes consecutivas, en horarios que se iniciaron a las tres de la tarde a fin de eliminar variaciones en la IgA-s debido a los ciclos del día. Se pidió a los participantes no fumar ni consumir alimentos o bebidas una hora antes de la sesión para evitar sus efectos en las concentraciones de IgA-s.

Al llegar al laboratorio, los participantes eran conducidos a uno de los salones experimentales (salón A), donde se les explicaba brevemente el procedimiento experimental, pero sin hacer mención a los objetivos del estudio. Allí se les entregó un acta de compromiso de confidencialidad, la cual firmaron, así como la escala EMOPONE para recoger sus emociones antes del experimento. Posteriormente, se trasladaban al salón B, equipado con los materiales necesarios para la toma de muestras de saliva, donde eran recibidos por dos experimentadores. Cada experimentador atendía a tres sujetos. La rutina pretest-postest, en ambas condiciones, incluyó la aplicación individual de dos torundas bucales (bolas de algodón y gasa) a cada sujeto durante tres minutos. Al finalizar el tiempo indicado, las torundas se retiraron del sujeto en las condiciones más asépticas posibles, para luego ser colocadas dentro de una jeringa de 5 cc., desde la cual la saliva recolectada se exprimió en tubos de ensayo. Dependiendo de la cantidad de saliva segregada por cada sujeto, el contenido fue vaciado a partes iguales en tubos Eppendorf de 1.5 ml convenientemente codificados.

Al finalizar la toma de muestras, los sujetos se trasladaban nuevamente al salón A, donde el experimentador simplemente les instruía para que observaran el video asumiendo un comportamiento espontáneo. En el caso del grupo EB, se enfatizaba

la inhibición de la risa. Las sesiones de observación se filmaron con una cámara escondida, a objeto de evaluar la expresión emocional de los estudiantes mientras observaban el video.

Mientras los sujetos observaban los videos, los experimentadores procedían a almacenar las muestras de saliva contenidas en los tubos Eppendorf en una cava con gel térmico para garantizar su conservación en buen estado hasta transportarlos al laboratorio de Inmunología.

Inmediatamente después de observar el video, a cada grupo de participantes se le aplicaron las escalas NIHU y EMOPONE. Posteriormente, los registros filmados de los participantes fueron evaluados por expertos con base en el instrumento EVARI para determinar la intensidad y frecuencia de la risa. Las muestras de saliva colectadas se analizaron en el laboratorio de Inmunología mediante el procedimiento de inmunodifusión radial (IDR).

Procedimiento del análisis inmunológico

El principio de la IDR se basa en que la proteína a determinar formará inmunocomplejos con los anticuerpos específicos existentes en el gel de agarosa de la placa, los cuales podrán visualizarse como un precipitado de forma circular. El diámetro del anillo de precipitación es directamente proporcional a la concentración de la correspondiente proteína en la muestra.

Inicialmente, se procesaron los controles provenientes de la casa comercial Dade Behring-LC Partigen®, para así obtener la curva de referencia en la que se interpolarían los diámetros obtenidos de las muestras recolectadas. La curva se obtuvo usando un suero comercial de concentración conocida (IgA protein Standard Serum LC-V, OTFO 03, de 0.108 gr/lit de concentración), sobre el cual se realizaron tres diluciones 1:4, 1:2 y una última sin diluir que sirvió de control.

La concentración del suero control se transformó de gr/lit a mg/dl, ya que esta última es la unidad base en que suele expresarse la concentración de IgA en los valores de referencia descritos en la literatura anexa a las placas comerciales de inmunodifusión radial.

Luego, antes de usarla, se procedió a retirar la placa de inmunodifusión del recipiente de aluminio que la contiene para dejarla en reposo durante

cinco minutos a temperatura ambiente, de modo que el agua condensada presente en los sitios de aplicación de la muestra pudiera evaporarse previa comprobación de que se hallaba en perfecto estado, sin el gel deshidratado ni contaminación. Cada placa contenía doce pozos, de los cuales se usaron los tres primeros para colocar los controles valiéndose de una pipeta automática.

Para evitar la contaminación, la placa se tapó adecuadamente y se incubó a temperatura ambiente por un lapso de tres días; después, tres observadores llevaron a cabo las lecturas de los diámetros obtenidos de los controles con el dispositivo de medida apropiado (visor). Los diámetros obtenidos en las tres lecturas se promediaron y el resultado fue elevado al cuadrado (como indica la literatura anexa a las placas). Los valores obtenidos se graficaron sobre papel milimetrado en función de la concentración (abscisa: concentración del antígeno; ordenada: diámetro²).

Al graficar los diámetros obtenidos de los controles, se obtiene una recta que corta en exactamente 24 mm². El control de calidad de las placas indica que el punto de corte para IgA es de 21.0 ± 4.5 mm², lo que indica que el procedimiento seguido fue el apropiado y confiables los valores hallados.

Los pozos libres se destinaron para 20 µl de cada una de las 92 muestras de saliva, procediéndose de igual manera para los controles. Los halos obtenidos fueron medidos por tres observadores independientes, cuyos resultados se promediaron para obtener la medida final de concentración de IgA-s. Este procedimiento se utilizó a fin de garantizar confiabilidad en las lecturas, la cual fue de

.98. El volumen se determinó utilizando una pipeta automática calibrada en microlitros.

Dos sujetos fueron eliminados debido a que sus valores, aun después de la dilución, excedían los parámetros establecidos.

RESULTADOS

Verificación de la manipulación

En primer lugar, se compararon los puntajes obtenidos en la escala NIHU, que evaluó el nivel de humor percibido en los videos. El ANOVA (2 Sexo x 4 Condición) reveló solamente un efecto principal significativo para Condición $F(3, 38) = 49.86, p < .000$. Como se esperaba, las comparaciones *post hoc* mostraron que los grupos EA ($M = 5.75$) y EB ($M = 4.60$) evaluaron su video más humorístico que los observados por los grupos E ($M = 1.08$) y C ($M = 2.67$) (todas las $p < .004$). Igualmente, se examinaron las emociones positivas y negativas antes y después de observar los respectivos videos. Se compararon las medias mediante ANOVA (2 Sexo x 2 Tiempo x 4 Condición) para medidas repetidas. Respecto de las emociones positivas, los resultados produjeron solamente un efecto de la interacción Tiempo x Condición significativo $F(3, 38) = 10.93, p < .001$. Las comparaciones entre las medias mediante la prueba *t* para medidas dependientes indicaron que en los grupos que observaron el video humorístico la intensidad de las emociones positivas aumentó significativamente, en tanto que en el grupo E la intensidad disminuyó también significativamente ($p's < .04$) (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación en emociones positivas antes y después de observar los videos.

Grupo	Antes	Después	t	p
Humor-risa (EA)	18.75 (2.70)	20.58 (3.10)	3.87	.003
Humor-no risa (EB)	16.90 (4.06)	18.51 (2.79)	1.60	.040
Control (C)	16.91 (4.20)	15.50 (4.44)	-1.14	.270
Estrés (E)	16.41 (3.31)	11.16 (4.01)	-4.46	.001

Para las emociones negativas, también resultó significativa la interacción Tiempo x Condición $F(3, 38) = 10.88, p < .000$. Las comparaciones posteriores mostraron una disminución en la intensidad en los grupos que observaron el video

humorístico, así como un aumento en el grupo que vio el video generador de estrés ($p's < .05$) (Tabla 2) En conjunto, los resultados sugieren que la manipulación experimental fue efectiva.

Tabla 2. Comparación en emociones negativas antes y después de observar videos.

Grupo	Antes	Después	t	p
Humor-risa (EA)	9.75 (2.98)	8.50 (3.26)	3.04	.01
Humor-no risa (EB)	8.87 (2.34)	7.41 (1.25)	-2.85	.01
Control (C)	8.75 (2.86)	8.08 (2.19)	-1.26	.23
Estrés (E)	8.50 (3.23)	10.91 (3.31)	3.89	.003

IgA en saliva

Ante la evidencia de que la concentración de IgA en saliva está negativamente asociada al volumen (Brandtzaeg, 1971; Kugler, Hess y Haake, 1992; Mandel y Khurana, 1969), para la presente investigación y puesta a prueba de las hipótesis se utilizó la *secreción* como medida más confiable de los niveles de IgA-s. De hecho, en este estudio la correlación entre la concentración y el volumen en la medida pre-test fue de $r = -.25$, siendo de $-.38$ la correlación entre las diferencias pre-post.

La secreción se obtuvo de acuerdo al método tradicional de multiplicar el volumen de saliva por la concentración de Ig-A. Dado que la mayoría de los reportes que utilizan la secreción ofrecen los resultados en microgramos por minuto, se decidió en el presente caso realizar las transformaciones respectivas. Específicamente, la concentración inicial se midió en miligramos/decilitros (mg/dl) y el volumen en microlitros (μ l), para finalmente obtener la medida de secreción expresada en microgramos/minuto (μ g/min).

Antes de presentar los resultados respecto a la prueba de hipótesis, es relevante reportar que, mediante un ANOVA para medidas repetidas (2 Sexo x 2 Tiempo X 4 Condición), se evaluaron las diferencias en volumen de saliva antes-después, encontrándose un efecto principal de Tiempo ($F[1, 38] = 9.76, p < .003$) y una interacción entre Condición y Tiempo ($F[3, 38] = 16.19, p < .000$). Los análisis *post hoc* mostraron que el volumen de saliva aumentó dramáticamente en el grupo EA después de la presentación del video (M antes = .188; M después = .667, $p < .01$). En los restantes tres grupos no hubo cambios significativos. Igualmente, se analizó mediante ANOVA para medidas repe-

tidas (2 Sexo x 2 Tiempo x 4 Condición) las diferencias en la concentración. El efecto de la interacción de Condición x Tiempo fue significativo ($F[3, 38] = 4.08, p < .01$), así como la interacción Sexo x Tiempo x Condición ($F[3, 38] = 3.01, p < .04$). Los análisis de esta interacción mostraron que hubo un efecto principal de tiempo en el grupo EA ($F[1, 10] = 19.48, p < .001$), indicando que después de observar el video los niveles de concentración disminuyeron significativamente (M antes = 110.92; M después = 80.20). También se encontró en la condición E que el efecto de la interacción Tiempo x Sexo resultó marginalmente significativo ($F[1, 10] = 3.45, p < .09$). Si bien no se encontraron diferencias por sexo antes de observar el video, después de la observación los varones tuvieron una media significativamente mas alta en concentración ($M = 93.66, DE = 22.06$) que las mujeres ($M = 63.16, DE = 21.86, t [10] = 2.40, p < .03$). Probablemente este resultado se debe a que en estas últimas hubo una disminución marginalmente significativa en la concentración de IgA-s (M antes = 78.16, $DT = 31.39$; M después = 63.16, $DE = 21.86, t[5] = 2.10, p < .09$).

Para la puesta a prueba de la hipótesis central del estudio, los datos obtenidos en secreción de la IgA-s se analizaron mediante un ANOVA para medidas repetidas (2 Sexo x 2 Tiempo x 4 Condición). Los resultados arrojaron un efecto principal de tiempo ($F [1, 38] = 4.69, p < .03$) y un efecto de Tiempo x Condición ($F [3, 38] = 5.05, p < .005$). Las comparaciones posteriores revelaron que la secreción de IgA-s solamente aumentó significativamente en el grupo que observó el video humorístico y expresó risa (Tabla 3). Este resultado sugiere que es la expresión de la risa la responsable de los cambios en el parámetro inmunológico.

Tabla 3. Comparación en secreción de IgA-s (μ g/min) antes y después de observar videos.

Grupo	Antes	Después	t	p
Humor-risa (EA)	16.57 (24.51)	53.99 (31.33)	2.69	.02
Humor-no risa (EB)	10.36 (7.40)	9.49 (5.57)	-.29	.90
Control (C)	12.68 (10.72)	14.44 (26.84)	.26	.80
Emoción negativa (E)	11.80 (7.45)	10.40 (4.73)	-.76	.46

Adicionalmente, en el grupo EA se calculó la correlación entre frecuencia de risa medida por el EVARI y la medida de IgA-s después de observar el video, la cual arrojó un índice de .69 ($p < .01$); también se obtuvo la correlación de los puntajes en EVARI con la diferencia antes-después a fin de controlar diferencias entre los participantes en la medida antes de observar el video, siendo el índice de .49 ($p = .11$). Es probable que esta correlación no alcanza significación estadística debido al reducido número de participantes ($N = 12$).

Otro interés del estudio era determinar la relación entre sentido del humor y secreción de IgA-s. Se asumió que las personas con mejor sentido del humor serían más responsivas al material humorístico y que, por tanto, los aumentos en la secreción de IgA-s serían mayores. Los resultados no ofrecieron apoyo a dicha hipótesis. La correlación entre la medida de secreción antes de observar el video y los puntajes en SENTIHU fue de .10. Similarmente, las correlaciones entre estas medidas y la diferencia antes-después en secreción para el grupo EA fue de .07, y para el grupo EB de .08.

DISCUSIÓN

En primer lugar, es importante resaltar la rigurosidad experimental introducida en el presente estudio. Además de la inclusión de un grupo control, se verificó el efecto de la manipulación a través de la evaluación de los videos, la medición de las emociones antes y después de la manipulación y el monitoreo de la risa en el grupo que observó el video humorístico. Mediante la utilización de la secreción de IgA-s como medida dependiente, se controló el volumen o flujo de saliva. Estos aspectos han sido escasamente incorporados en los diseños experimentales de investigaciones anteriores, haciendo sus resultados menos conclusivos (Martín, 2001).

La principal hipótesis del estudio recibió apoyo de los datos hallados. La exposición a la situación generadora de humor y con expresión espontánea de risa produjo un aumento significativo en la secreción de IgA-s. Este hallazgo constituye un aporte importante a la investigación sobre los efectos del humor en parámetros del sistema inmuno-

lógico. Aunque en varios estudios previos (Dillon, Minchoff y Baker, 1985; Lambert y Lambert, 1995; McClelland y Cheriff, 1997, entre otros) tal relación ya había sido encontrada, otros han fracasado en ese intento (Harrison y cols., 2000). Gran parte de la investigación también ha sugerido hasta la fecha que los efectos beneficiosos del humor son el resultado de los cambios fisiológicos que acompañan a la risa; sin embargo, la mayoría de los estudios no han establecido los mecanismos necesarios para su monitoreo (Martín, 2001). En la presente investigación se hicieron filmaciones con cámara escondida para evaluar la intensidad de la risa, lo que permitió establecer su asociación con los cambios en IgA-s. Tal como se había hipotetizado, la correlación entre las dos variables resultó positiva y significativa. Similar hallazgo fue reportado por Bennett (1998), quien encontró en su experimento que las personas que más rieron mostraron mayores incrementos en las células asesinas naturales.

¿Cuál es el mecanismo que explica el efecto del humor-risa sobre los cambios en IgA-s? Aunque una sustancial atención científica se ha dirigido hacia el impacto biológico de los estímulos estresantes, hay pocos datos que describan los efectos endocrinos y de inmunomodulación de las emociones positivas. El estado actual de la investigación no permite elaborar conclusiones definitivas. Según Berk y cols. (2001), la risa espontánea y placentera sirve para modular componentes específicos del sistema inmunológico; modular, en este caso, significa que los químicos segregados durante la experiencia de la risa actúan como conectores de receptores en la superficie de las células inmunes, y que esta conexión estimula ciertos cambios en su estructura molecular. Las moléculas conocidas como inmunorreguladores funcionan como conectores que se fijan en los receptores, aumentando o disminuyendo la actividad de las células inmunes.

Por otra parte, la risa puede estar asociada con cambios en la circulación de los niveles de catecolaminas y cortisol (Hubert y de Jong, 1991), los cuales pueden tener a su vez un impacto en varios componentes del sistema inmunológico (Dantzer y Mormede, 1995). Una hipótesis similar ha sido propuesta por Fry (1994), quien señala

que la risa es la responsable de la producción de endorfinas, y que el humor sin risa no tiene un efecto benéfico sobre la salud.

Una explicación alternativa de los resultados podría ser que el incremento en la secreción de IgA-s se debió al aumento de la actividad motriz o muscular resultante de la risa. En efecto, algunas investigaciones han confirmado el efecto del ejercicio físico sobre su elevación (Klentrou, Cieslak, MacNeil, Vintinner y Plyley, 2002); no obstante, en otros estudios no ha habido tales hallazgos (Walsh, Bishop, Wierzbicki y Blackwell, 2002).

La hipótesis que los participantes con mayor sentido del humor mostrarían más altos niveles de IgA-s y que los cambios serían mayores después de la observación del video humorístico, no recibió apoyo de los datos. Este resultado es inconsistente con algunos estudios previos (Bennett, 1998; Dillon y cols., 1985; McClelland y Cherriff, 1997), pero corrobora lo hallado por Lefcourt y cols. (1990) y Martin y Dobbin (1988). Dada la contradicción en los resultados, es probable que algunas variables intervinientes no se hayan controlado o que las fluctuaciones propias de los parámetros inmunológicos no permitan correlaciones confiables con una simple medición. Quizás la recomendación propuesta por Martin (2001) de agregar varias medidas de IgA-s sobre un periodo de tiempo y determinar su asociación con sentido de humor, constituya una aproximación alternativa que ayude a aclarar la inconsistencia.

La observación del video estresante no produjo disminución en la secreción de IgA-s, al igual que en el estudio de Harrison y cols. (1990). Aunque la evidencia experimental aportada por estudios previos que utilizaron únicamente la medida de concentración (Labott y cols., 1990) pareciera contradecir dicho hallazgo, ciertas debilidades experimentales pueden explicar el resultado. En el presente estudio se comprobó que el video generó un incremento en emociones negativas; sin embargo, al final del experimento algunos sujetos expresaron haber visto anteriormente la película (*La lista de Schindler*), lo que pudo mitigar el impacto negativo esperado. Asimismo, se observa que la diferencia entre las medias en las emociones positivas y en las emociones negativas del post-test fue de .25, lo que puede indicar que el estado emocional

predominante en el grupo era positivo más que negativo, como se anticipaba.

Tal como ha sido señalado por reconocidos inmunólogos (Brandzaeg, 1971; Tomasi, 1971), también se encontró una relación inversa entre la concentración de IgA-s y el volumen de saliva. Al respecto, las pruebas experimentales en el campo de la psiconeuroinmunología han sido contradictorias. Por ejemplo, Graham, Bartholomeusz, Taboonpong y Brooy (1988), en una muestra de enfermeras, hallaron que la concentración de IgA-s en saliva disminuía a medida que el flujo de ésta aumentaba. Inclusive, Kugler, Hess y Haake (1992), en una serie de estudios controlados, encontraron dicha relación utilizando muestras de sujetos con un rango de edad que iba de los 7 a los 45 años; no obstante, la relación inversa no ha sido identificada en otras investigaciones, o se ha evaluado exclusivamente la concentración con independencia del flujo salival (Jemmott y Magloire, 1988; Stone, Neale, Cox y Napoli, 1994).

Relacionado con el hallazgo anterior, también en el presente estudio hubo un aumento significativo del volumen de saliva posterior a la observación del video humorístico. Este resultado llama la atención ya que en reportes anteriores no ha habido dicho aumento (Perera, Sabin, Nelson y Lowe, 1998); solamente en uno de los estudios llevados a cabo por Lefcourt y cols. (1990) se apreció un aumento significativo. Al respecto, Fry (1994), conocido como el "abuelo" de la investigación sobre la risa en el área de la respuesta fisiológica, ha difundido en varios de sus artículos la noción de que la risa perturba el patrón predecible y aumenta el volumen/minuto de la respiración, creando una profunda exhalación que moviliza las secreciones. De igual modo, Rodríguez, Magallanes, Estañol, García y Valencia (2000), quienes han estudiado la neurofisiología de la risa, reportan la secreción lagrimal como uno de los aspectos asociados al acto de reír.

No se puede olvidar que con este estudio sólo se demostró una expresión inespecífica de la respuesta inmunológica. Debe notarse que los niveles de inmunidad quizás fluctúan considerablemente en el tiempo y, por tanto, sería recomendable —tal como lo señala Martín (2001)— obtener varias medidas de IgA-s sobre un periodo de

tiempo definido y examinar sus fluctuaciones en relación con el humor.

Aunque se requiere de más investigación para dilucidar los efectos del humor sobre la respuesta inmunológica, los datos de la presente investigación sugieren que el humor asociado con la risa puede inmunomodular mediante parámetros neuroendocrinos y neuroinmunes específicos. Este estudio amplía los hallazgos previos al demostrar no sólo un aumento en la secreción de IgA-s producto del humor, sino que establece —al menos para la muestra estudiada— que la

expresión de la risa parece ser la responsable de dicho cambio.

Continuar investigando los efectos de los estados emocionales positivos sobre el sistema inmunológico es una tarea prometedora para lograr mayor información sobre los posibles beneficios del humor desde el punto de vista inmunológico y psicológico, y más aún cuando Metzger (2002), estudioso de la IgA-s, dio a conocer recientemente a la comunidad científica su último descubrimiento sobre las propiedades antiinflamatorias de esta molécula de los anticuerpos.

REFERENCIAS

- Bennet, M.P. (1998). The effect of mirthful laughter on stress and natural killer cell cytotoxicity. *Dissertation Abstracts International*, 57(7-B), January.
- Berk, L., Felten, D., Tan, D. y Stanley, S. (2001). Modulation of neuroimmune parameters during the eustress of humor-associated mirthful laughter. *Alternative Therapies*, 7: 62-76.
- Booth, C. (2002). Salivary immunoglobulin-A as a marker of stress during strenuous physical training. *Aviat Space Environmental Medicine*, 12: 1203-1207.
- Brandtzaeg, P. (1971). Human secretory immunoglobulins: Concentration of paratid IgA and other secretory proteins in relation to the rate of flow and duration of secretory stimulus. *Archives of Oral Biology*, 16: 1295-1310.
- Castés, M. y Canelones, P. (1999). *Un nuevo enfoque paradigmático de la medicina: "Psiconeuroinmunología"*. Caracas: Escuela de Medicina José María Vargas.
- Cohen, S. y Herbert, T. (1996). Health Psychology: Psychological factors and physical disease from the perspective of human psychoneuroimmunology. *Annals Review of Psychology*, 47: 113-142.
- Cohen, S. y Williamson, G. (1991). Stress and infectious disease in humans. *Psychological Bulletin*, 109: 5-24.
- Cousins, N. (1979). *Anatomy of an illness*. New York: Bantam.
- D'Anello, S. (1999). *EMOPONE: Escala para evaluar las emociones*. Papel de trabajo. Mérida (Venezuela): Universidad de Los Andes.
- D'Anello, S. (2002). *Validación de instrumentos asociados al humor*. Papel de trabajo. Mérida (Venezuela): Universidad de Los Andes.
- Dantzer, R. y Mormede, P. (1995). *Psychoneuroimmunology of stress*. En B.E. Leonard y K. Miller (Eds.): *Stress, the immune system and psychiatry* (pp. 47-67). London: Wiley.
- Dillon, K. y Totten, M. (1989). Psychological factors, immunocompetence, and health of breast-feeding mothers and their infants. *Journal of Genetic Psychology*, 150: 155-162.
- Dillon, K., Minchoff, B. y Baker, K. (1985). Positive emotional states and enhancement of the immune system. *International Journal of Psychiatry in Medicine*, 15: 13-17.
- Engle, G. (1977). The need for a new medical model: A challenge for biomedicine. *Science*, 196: 129-136.
- Fry, W. (1994). The biology of humor. *Humor: International Journal of Humor Research*, 7: 111-126.
- Glaser, R., Kiecolt-Glaser, J., Bonneau, R. y Malarkey, W. (1992). Stress-induced modulation of the immune response to recombinant hepatitis B vaccine. *Psychosomatic Medicine*, 54: 22-29.
- Glaser, R., Rabin, B. y Chesney, M. (1999). Stress-induced immunomodulation. Implications for infectious diseases? *Journal of the American Medical Association*, 281(24): 2268-2270.
- Graham, N.M., Bartholomeusz, R.C., Taboonpong, N. y Brooy, J.T. (1988). Does anxiety reduce the secretion rate of secretory IgA in saliva? *Medical Journal of Australia*, 148: 131-133.
- Harrison, L., Carrol, D., Burns, V. y Corkill, A. (1990). Cardiovascular and secretory immunoglobulin A, reactions to humorous, exciting, and didactic film presentations. *Behavioral Medicine*, 16: 182-189.

- Hernández, L. y Rodríguez, V. (2001). *Evaluación de los efectos de la conducta de risa sobre los niveles de IgA secretora en niños con cáncer*. Tesis de grado. Caracas: Escuela de Psicología de la Universidad Central de Venezuela.
- Hubert, W. y De Jong, R. (1991). Autonomic, neuroendocrine, and subjective responses to emotion-inducing film stimuli. *International Journal of Psychophysiology*, 11: 131-140.
- Ironson, G., Wynings, C., Schneiderman, N., Baum, A. y Rodriguez, M. (1997). Post-traumatic stress symptoms, intrusive thoughts, loose, and immune function after Hurricane Andrew. *Psychosomatic Medicine*, 59: 128-141.
- Jemmott, J. y Magloire, K. (1988). Academic stress, social support, and secretory immunoglobulin A. *Journal of Personality and Social Psychology*, 55: 803-810.
- Kiecolt-Glaser, J., McGuire, L., Robles, T. y Glaser, R. (2002). Psychoneuroimmunology and psychosomatic medicine: Back to the future. *Psychosomatic Medicine*, 64: 15-28.
- Kiecolt-Glaser, J. (1999). Stress, personal relationships, and immune function: health implications. *Brain, Behavior, and Immunity*, 13: 61-72.
- Kiecolt-Glaser, J. y Glaser, R. (1992). Psychoneuroimmunology. Can psychological interventions modulate immunity? *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 4: 569-575.
- Klentrou, P., Cieslak, T., Macneil, M., Vintinner, A. y Plyley, M. (2002). Effect of moderate exercise on salivary immunoglobulin A and infection risk in humans. *European Journal of Applied Physiology*, 2: 153-158.
- Kugler, J., Hess, M. y Haake, D. (1992). Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol and catecholamines in saliva. *Journal of Clinical Immunology*, 123: 45-49.
- Labott, S., Ahleman, S., Wolever, M. y Martin, R. (1990). The physiological and psychological effects of the expression and inhibition of emotion. *Behavioral Medicine*, 16: 182-189.
- Lefcourt, H., Davidson, K. y Kueneman, K. (1990). Humor and immune-system functioning. *Humor*, 3: 305-321.
- Levy, S., Herberman, R., Maluish, A., Schlien, B. y Lippman, M. (1985). Prognostic risk assessment in primary breast cancer by behavioral and immunological parameters. *Health Psychology*, 4: 99-113.
- Maes, M., Song, C., Lin, A., y De Van, J. (1998). The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and a Th1-like response in stress-induced anxiety. *Cytokine*, 10: 313-318.
- Mandel, I.D. y Khurana, H.S. (1969). The relation of human salivary A globulin and albumin to flow rate. *Archives of Oral Biology*, 14: 1433-1435.
- Martin, R. (2001). Humor, laughter and physical health. Methodological issues and research findings. *Psychological Bulletin*, 127: 504-519.
- Martin, R. y Dobbin, J. (1988). Sense of humor, hassles, and immunoglobulin A: Evidence for a stress-moderating effect of humor. *International Journal of Psychiatric Medicine*, 86: 8-13.
- Martin, R. y Lefcourt, H. (1984). The Situational Humor Response Questionnaire: a quantitative measure of the sense of humor. *Journal of Personality and Social Psychology*, 47: 145-155.
- McClelland, D. y Cheriff, A. (1997). The immunoenhancing effects of humor on secretory IgA and resistance to respiratory infections. *Psychology and Health*, 12: 329-344.
- Metzger, D. (2002). *Albany Medical College: Latest News -March 2002-*. Disponible en línea: <http://albany.bizjournals.com/albany/stories/2002/03/04/daily25.html>.
- Miller, A. (1998). Neuroendocrine and immune system interactions in stress and depression. *Psychiatric Clinic of North America*, 21: 443-463.
- Miller, G. y Cohen, S. (2001). Psychological interventions and the immune system: A meta-analytic review and critique. *Health Psychology*, 1: 47-63.
- Njus, D.M., Nitschke, W. y Bryant, F.B. (1996). Positive affect, negative affect, and the moderating effect of writing on IgA antibody levels. *Psychology and Health*, 12: 135-148.
- O'Leary, A., Temoshok, L., Jenkis, S. y Sweet, D. (1989). Autonomic reactivity and immune function in men with AIDS. *Psychophysiology*, 26: 47.
- O'Leary, A. (1990). Stress, emotion, and human immune function. *Psychological Bulletin*, 108: 363-382.
- Perera, S., Sabin, E., Nelson, P. y Lowe, D. (1998). Increases in salivary lysozyme and IgA concentrations and secretory rates independent of salivary flow rates following viewing of a humorous videotape. *International Journal of Behavioral Medicine*, 5: 118-128.
- Rodríguez, C., Magallanes, A., Estañol, B., García, G. y Valencia, M. (2000). Aspectos neurológicos y neurofisiológicos de la risa. *Archivos de Neurociencias*, 5: 43-49.

- Segerstrom, S., Taylor, S., Kemeny, M., Reed, G. y Visscher, B. (1996). Causal attributions predict rate of immune decline in HIV seropositive gay men. *Health Psychology*, 15: 1257-1264.
- Solomon, G. y Temoshok, L. (1987). A psychoneuroimmunologic perspective on AIDS research: Questions, preliminary findings, and suggestions. *Journal of Applied Social Psychology*, 17: 286-308.
- Stone, A., Neale, J., Cox, D. y Napoli, A. (1994). Daily events are associated with a secretory immune response to an oral antigen in men. *Health Psychology*, 13: 440-446.
- Tomasi, T. (1971). *The immune system of secretions*. Englewood Cliffs: Prentice Hall.
- Walsh, N.P., Bishop, N.C., Wierzbicki, S. y Blackwell, J. (2002). The effects of prolonged exercise in a cold environment on saliva immunoglobulin-A trained male cyclists. *The Journal of Physiology*: 539-564.