

Imunoreaktivnost osoba izloženih akutnom i kroničnom stresu

Ante Sabioncello

1. Imunosustav i veze s neuroendokrinim sustavom

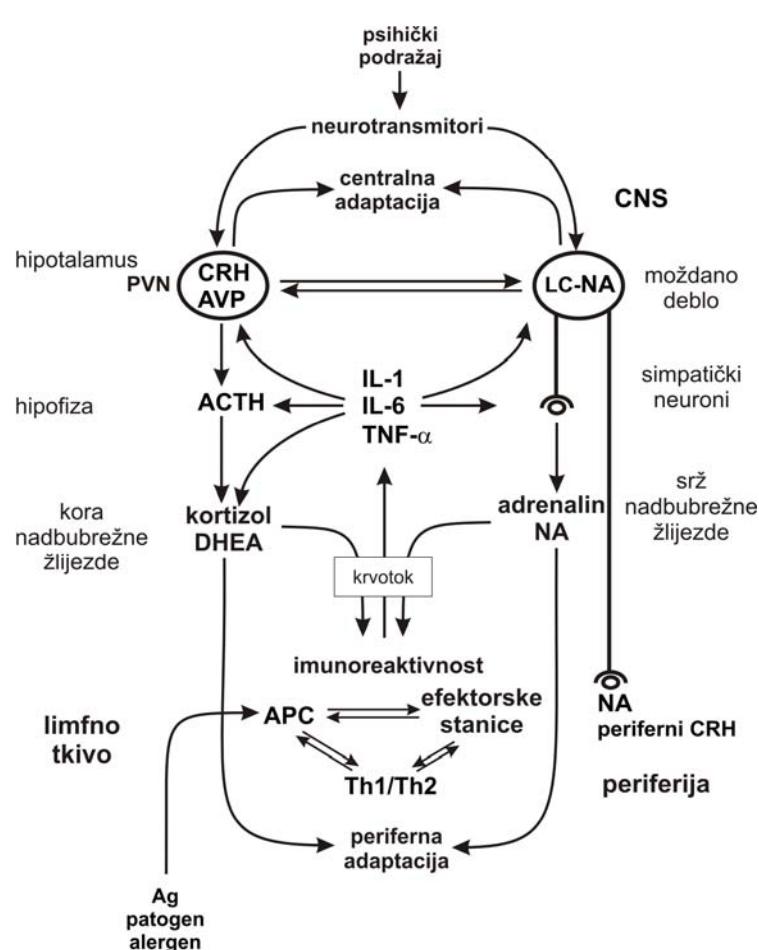
Imunosustav se tradicionalno smatra samostalnim sustavom obrane organizma od stranih antigena (patogena) koja se zasniva na sposobnosti sustava da razlikuje vlastito od stranog, pri čemu će reagirati protiv stranog a biti tolerantan na vlastito. To je gledište poznato kao SNS- ("self-nonsel") model.¹ Budući da je aktivnost efektorskih stanica (fagociti, NK-stanice, citotoksički T-, B-limfociti) i solubilnih produkata (komplement, citokini, reaktivni metabolički radikali) po svojoj prirodi većim dijelom biodestruktivna, moraju postojati regulacijski mehanizmi koji će spriječiti oštećenje vlastitih stanica i tkiva izazvano imunoreakcijom. Ti mehanizmi centralne i periferne tolerantnosti uključuju deleciju i inaktivaciju autoreaktivnih limfocita,² djelovanje regulacijskih stanica i citokina,³ odabir najpovoljnijeg oblika efektorske reakcije aktiviranjem odgovarajućeg tipa pomoćničkih stanica (Th1/Th2)⁴ te kontroliranu ekspresiju aktivacijskih i inhibicijskih receptora.⁵ Model se temelji na teoriji dvaju signala,⁶ pri čemu specifični signal 1 (vezanje antiga s receptorom) dovodi do inaktivacije (delecije) limfocita ako ga ne prati pomoćnički/kostimulacijski signal 2 koji pružaju antigenspecifične (limfociti)⁷ ili antigenprezentirajuće stanice (APC, od engl. antigen-presenting cells).⁸

Tablica 1. Medijatori zajednički centralnom nervnom i imunosustavu (Prerađeno prema: Blalocku¹¹ i Stenbergu¹²).

Imunosustav		Centralni nervni sustav	
Hormoni	Stanice koje ih luče	Citokini	Stanice koje ih luče
AVP	timus	IL-1	neuroni, astrociti, oligodendrocyti, mikroglija
Oksitocin	timus	IL-2	neuroni
Kortizol	timus	IL-3	neuroni, astrociti
CRH	timociti, splenociti, limfociti	IL-5	astrociti, mikroglija
FSH	splenociti	IL-6	neuroni, astrociti, mikroglija
LH	splenociti	IL-8	astrociti
TSH	T	IL-10	astrociti, mikroglija
PRL	T	IL-11	astrociti
(Met)ENK	T	IL-12	mikroglija
ACTH	T, B, MΦ	IL-15	astrociti, mikroglija
GH	T, B, MΦ	TNF- α	astrociti, mikroglija
IGF	T, B, MΦ	IFN- γ	astrociti
Endorfinci	T, B, MΦ	TGF- β	astrociti, oligodendrocyti, mikroglija
SP	MΦ	GM-CSF	astrociti
VIP	Ma, PMN	M-CSF	astrociti, mikroglija
SOM	Ma, PMN		

Kratice: ACTH, adrenokortikotropni hormon; AVP, arginin-vazopresin; CRH, hormon oslobađanja kortikotropina; FSH, folikulo-stimulirajući hormon; GH, hormon rasta; GM-CSF, faktor stimulacije granulocitno-monocitnih kolonija; IFN, interferon; IGF, inzulinu sličan faktor rasta; IL, interleukin; LH, luteinizirajući hormon; M-CSF, faktor stimulacije monocitnih kolonija; Ma, mastocit; MΦ, makrofag; (Met)ENK, metionin-enkefalin; PMN, polimorfonuklearni leukocit; PRL, prolaktin; SP, supstancija P; SOM, somatostatin; TGF, faktor transformirajućeg rasta; TNF, faktor tumorske nekroze; TSH, tireotropin; VIP, vazoaktivni intestinalni peptid.

Predodžba o neovisnom djelovanju i regulaciji imunosustava dovedena je u pitanje 1970-ih godina otkrićem povezanosti centralnog nervnog, endokrinog i imunosustava,⁹ i kasnije utvrđenim funkcionalnim i anatomskim vezama među njima.¹⁰ Unatoč razlici u građi (nervni sustav čini cjevovito tkivo koje tvore nepokretne, sinaptički povezane stanice, dok imunosustav tvore zasebni organi i manje ili više organizirane nakupine slobodno pokretnih stanica), zajedničke su im osobine sposobnost primanja, prenošenja i reagiranja na signale iz okoliša, učenja na iskustvu, stvaranja memorije i djelovanja na sva ostala tkiva. Osim toga, neuroendokrini i imunosustav dijele brojne zajedničke medijatore poput neurotransmitora, neuropeptida, hormona i citokina (Tablica 1). Iako pokretne, stanice imunosustava komuniciraju tvoreći privremene veze putem površinskih molekula i otpuštanjem solubilnih medijatora u uski prostor među njima (imunološka sinapsa) izmjenjujući tako informacije.¹³ Centralni nervni i imunosustav međusobno su povezani autonomnim živcima (simpatički i parasympatički neuroni, vagus) koji pored primarnih inerviraju i sekundarne limfne organe i periferna tkiva gdje se imunoreakcije odvijaju, i humoralnim medijatorima, kako osovine hipotalamus-hipofiza-endokrine žlijezde tako i imunosustava (Slika 1).

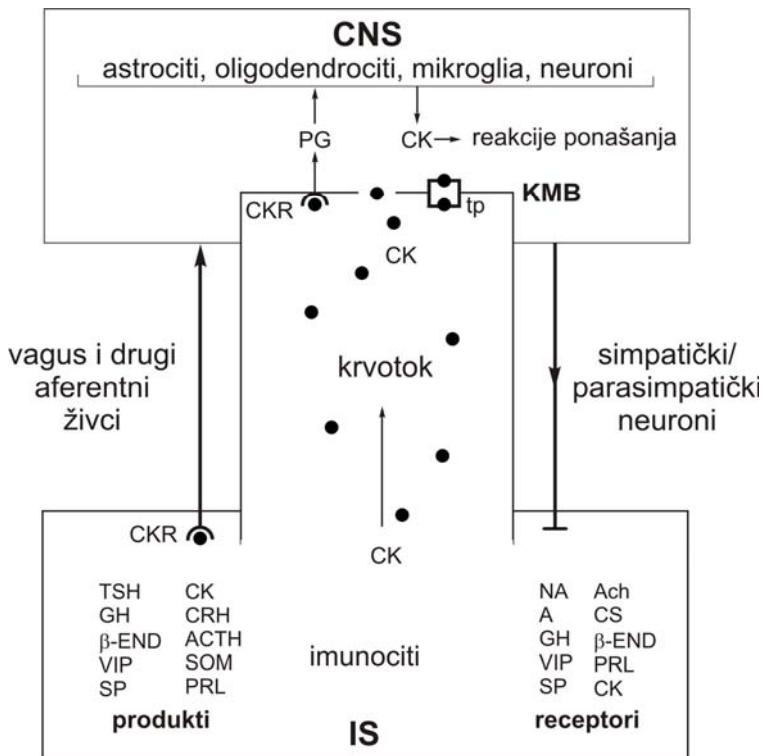


Slika 1. Shematski prikaz međudjelovanja centralnog nervnog, endokrinog i imunosustava. (Prerađeno prema Elenkovu i Chrousosu¹⁴)

Kratice: ACTH, adrenokortikotropni hormon; Ag, antigen; APC, antigenprezentirajuća stanica; AVP, arginin-vazopresin; CNS, centralni nervni sustav; CRH, hormon oslobađanja kortikotropina; DHEA, dehidroepiandrosteron; LC, locus ceruleus; NA, noradrenalin.

Stanice imunosustava (imunociti) eksprimiraju receptore za neurotransmitore (acetilkolin, adrenalin, noradrenalin, serotonin), neuropeptide (vazoaktivni intestinalni peptid, supstanciju P, endorfins) i hormone (kortikosteroide, prolaktin, hormon rasta,

inzulin, spolne hormone).¹⁰ Stoga promjene u razini neuroendokrinih medijatora pri stresu mogu modulirati aktivnost imunosustava. S druge strane, citokini koje luče aktivirani imunociti na periferiji, stimuliraju aferentne živce lokalno ili krvotokom dospijevaju u središnji živčani sustav. Unatoč krvno-moždanoj barijeri, citokini iz krvotoka mogu pasivno difundirati u području cirkumventrikularnih organa gdje barijera ne postoji, ili izaći aktivnim transportom uz pomoć specifičnih transportnih proteina. Konačno, citokini mogu aktivirati endotelne stanice vaskulature i inducirati oslobođanje prostaglandina izravno u tkivo mozga gdje ovi potiču lučenje citokina^{15,16} (Slika 2). Na taj način citokini mozgu prenose informacije o nekognitivnim zbivanjima i pokreću adaptivnu reakciju na pojačane metaboličke zahteve aktiviranog imunosustava koja se očituje kao promijenjeno ("bolesno") ponašanje.¹⁷ U tom smislu "bolesno" ponašanje ne predstavlja patološki ishod narušenog biološkog procesa, već prilagodbu na promijenjene uvjete tokom imunoreakcije čime se povećava njezina učinkovitost.



Slika 2. Shematski prikaz prijenosa signala posredovanih citokinima između imunosustava (IS) i centralnog nervnog sustava (CNS).

Kratice: A, adrenalin; Ach, acetilkolin; ACTH, adrenokortikotropni hormon; CK, citokini; CKR, receptor za citokine; CRH, hormon oslobođanja kortikotropina; CS, kortikosteroidi; END, endorfin; GH, hormon rasta; KBM, krvno-moždana barijera; NA, noradrenalin; PG, prostaglandini; PRL, prolaktin; SOM, somatostatin; sP, supstancija P; tp, transportni protein; TSH, tireotropin; VIP, vazoaktivni intestinalni peptid.

Fiziološka uloga imunosustava (imunoreakcija) nije ograničena samo na zaštitu od patogena. Autoreaktivni limfociti i antitijela normalno se nalaze u zdravom organizmu regulirajući imunoreaktivnost i održavajući homeostazu.^{18,19} Štoviše, specifični receptori za antigen na T- i B-limfocitima s varijabilnom domenom koja nastaje procesom (manje-više) slučajne rekombinacije segmenata gena V, (D) i J srodnici su brojnim adhezijskim molekulama imunoglobulinske superporodice (IgSp) koje se nalaze na raznim tipovima stanica i igraju važnu ulogu pri diferencijaciji, rastu i gibanju stanica te organizaciji tkiva.^{20,21} Tako je molekula CD56 koja se nalazi na NK-stanicama, gdje vjerojatno igra ulogu u interakcijama s ciljnim stanicama, izoforma adhezijske molekule živčanih stanica (NCAM, od engl. neural cell adhesion molecule). NCAM eksprimiraju neuroni i astrociti a sudjeluje pri homofilnom vezanju i utječe na migraciju neurona, rast neurita, mijelinizaciju,

te stvaranje i plastičnost sinapse.²² Drugi važan pripadnik imunoglobulinske superporodice, molekula MHC koja prezentira antigenske peptide T-limfocitima, također igra ulogu u razvoju i plastičnosti neurona.²³ Pored IgSp-a, i druge porodice adhezijskih molekula (integrini, kadherini, selektini) eksprimirane na imunocitima, endotelnim stanicama i ekstracelularnom matriksu sudjeluju u izlasku leukocita iz cirkulacije i migraciji u limfnu i periferna tkiva.²⁴ Konačno, i druge grupe membranskih i solubilnih molekula, poput semaforina, djeluju kako u nervnom tako i u imunosustavu. Semaforine, isprva opisane kao medijatore obuzdavanja rasta neurona,²⁵ eksprimira i većina hematopoetskih stanica (T- i B-limfociti, NK-stanice, monociti, dendritičke stanice) kod kojih potiču diferencijaciju i uzajamnu aktivaciju T- i antigenprezentirajućih stanica te preživljavanje B-limfocita.²⁶ Nadalje, neki citokini koje luče limfoidne i nelimfoidne stanice djeluju poput faktora rasta, podržavajući diferencijaciju nezrelih i homeostatsko preživljavanje zrelih limfocita (faktori stimuliranja rasta kolonija - CSF (od engl. colony stimulating factor), interleukin (IL)-7, IL-15), njihovu proliferaciju (IL-2) i recirkulaciju (kemokini).²⁷ Slično, citokini poput IL-1, TNF- α (faktor nekroze tumora, od engl. tumor necrosis factor), TGF- β (faktor transformirajućeg rasta, od engl. transforming growth factor), EGF (faktor epidermalnog rasta, od engl. epidermal growth factor) i VEGF (faktor rasta vaskularnog endotela, od engl. vascular endothelial growth factor) koje luče mijeloidne antigenprezentirajuće stanice koje se nalaze u gotovo svim tkivima, sudjeluju u procesima regeneracije kao što su zacjeljivanje rana,²⁸ angiogeneza²⁹ i remodeliranje kosti.³⁰ S druge strane, citokini (IL-1 α , TNF α , IL-10, IL-13) i kemokini (CXCL12) koje luče stanice mozga igraju važnu ulogu u odumiranju i preživljavanju neurona, rastu aksona i stimulaciji sinaptičke transmisije.^{12,31} Konačno, dendritičke stanice i makrofagi u endokrinim tkivima reguliraju rast i funkciju stanica koje secerniraju hormone.³² Prema tome, neuroendokrini i imunosustav komuniciraju međusobno ali i sa svim ostalim tkivima održavajući homeostazu.

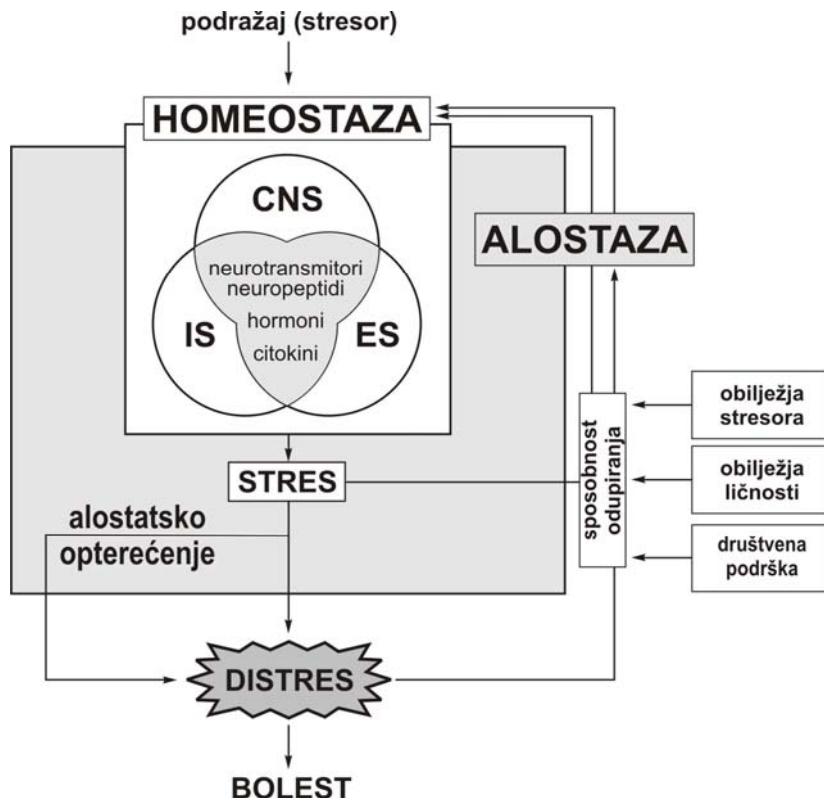
1.1. Imunosustav u obrani integriteta

Na temelju navedenog, govoreći o efektorskoj aktivnosti imunosustava, pored biodestruktivnih moramo uzeti u obzir i njegove konstruktivne i komunikacijske funkcije. Imunosustav, naime, ne donosi odluku o tome što razoriti (aktivnost) a što poštediti (tolerantnost); drugim riječima, imunosustav ne pravi razliku između stranog i vlastitog.^{33,34,35} Sustav naprsto prepoznaje ono za što ima receptore, bez obzira bilo to strano ili vlastito (kakogod *mi* definirali vlastito i strano), i reagira na način na koji u danim okolnostima može reagirati, kako bi što efikasnije očuvao cjelovitost organizma. Na tom se stanovištu zasnivaju modeli opasnosti^{34,36} i integriteta^{37,38} koji polaze od činjenice da drugi, kostimulacijski, signal T-limfocitima pružaju aktivirani APC-i koji ne mogu razlikovati strano od vlastitog. Aktivacija APC-a posljedica je endogenih alarmnih signala koje odašilju sva tkiva pod stresom i stanice koje umiru nefiziološki (nekrozom)³⁶ ili prekida integrativnih signala koje stanice i tkiva neprestano izmjenjuju tokom normalne, fiziološke aktivnosti.³⁸

2. Stres i posljedice

Za održavanje integriteta složenog biosustava neophodna je komunikacija među njegovim pojedinim dijelovima (stanicama i tkivima) koja se ostvaruje izmjenom signala i omogućuje adaptacijsku reakciju na svako odstupanje od optimalnih fizioloških granica (homeostaze). Promjenljivi okolišni uvjeti mogu izazvati odstupanja koja odskaču iz

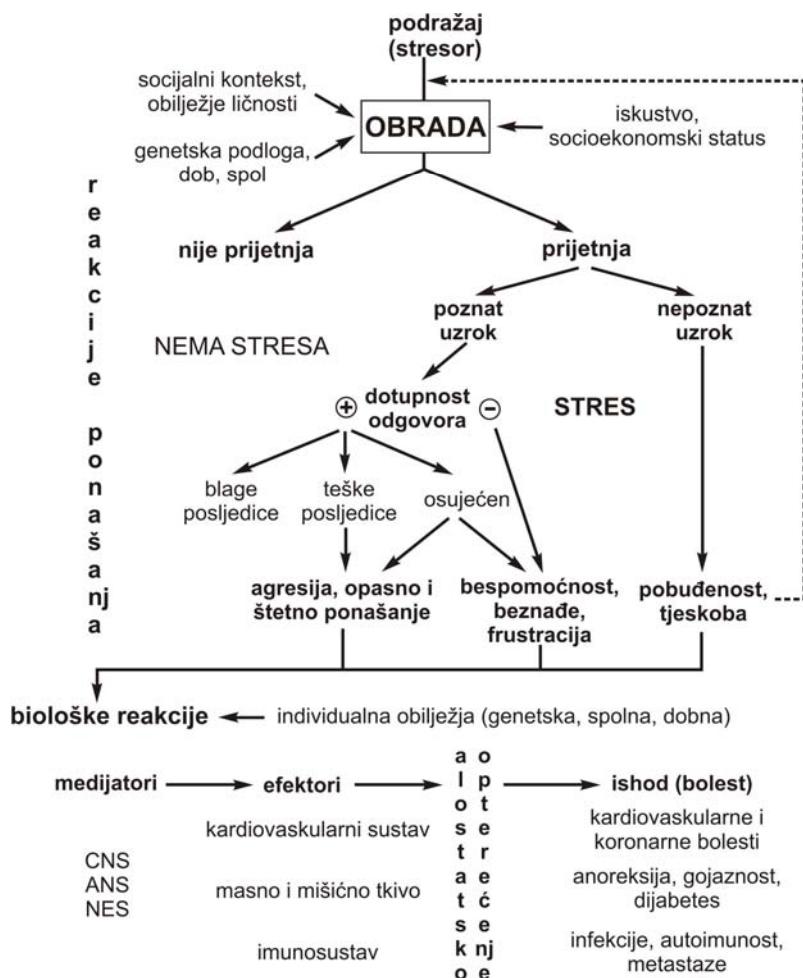
relativno uskog raspona fizioloških granica, ugrožavajući tako integritet (stres). Podražaj koji predstavlja prijetnju homeostazi (stresor) pokreće adaptacijske, fiziološke i bihevioralne, reakcije različitih efektorskih sustava (stresna reakcija) kako bi se postigla zaštita od prijetnje. Ishod stresa ovisi o sposobnosti odupiranja pojedinca a ova o obilježjima stresora i ličnosti te društvenoj podršci (Slika 3). S obzirom na vrstu, stresori mogu biti fizički (uključujući ozljedu, upalu i infekciju) i psihosocijalni (uključujući traumatske događaje), a s obzirom na trajanje, akutni i kronični. Akutni stresori, iako pobuđuju snažne adaptacijske reakcije brojnih efektorskih sustava, općenito nemaju štetne posljedice za zdravlje. Kronični stresori, zbog dugotrajne aktivacije tih sustava, mogu predstavljati ozbiljnju prijetnju psihičkom i fizičkom zdravlju. Jedno od obilježja kruničnog stresa je da pojačava reakciju na slijedeći susret s istim ili novim stresorom (senzibilizacija). Ako adaptivne reakcije ne uspiju održati ili u kratkom vremenu ponovno uspostaviti homeostazu, granice ravnoteže se, uz utrošak dodatne energije, postavljaju na novu razinu šireg raspona. Takav proces održavanja ravnoteže kroz promjene naziva se alostatskom.³⁹ Alostatsko stanje pogoduje održavanju integriteta tijekom određenog razdoblja. Međutim, održavanje alostatskog stanja zahtjeva energiju te ako je dugotrajno ili se stresna situacija učestalo ponavlja, predstavlja opterećenje (alostatsko opterećenje) za organizam i može dovesti do distresa. Ishod distresa također ovisi o sposobnosti odupiranja, te ako je učinkovito, uspostavlja se homeostaza. U protivnom, kronična aktivacija efektorskih sustava može dovesti do iscrpljenja energetskog potencijala te tako narušiti učinkovitost i samog homeostatskog sustava te uzrokovati patološke posljedice.



Slika 3. Shematski prikaz reakcije na stres.

Kratice: CNS, centralni nervni sustav; ES, endokrini sustav; IS, imunosustav.

Dok fizički stresori predstavljaju izravnu fizičku prijetnju integritetu, ishod djelovanja psihološkog stresora ovisi prije svega o subjektivnoj procjeni njegova značenja⁴⁰ (Slika 4). Ova, pak, ovisi o socijalnom kontekstu stresora i obilježjima ličnosti (npr. optimizam-pesimizam, dominantnost-submisivnost), ali i o genskoj podlozi, životnoj dobi i spolu te socioekonomskom statusu i iskustvu s istim ili sličnim stresorom. Na toj se razini



podražaj vrednuje i može se shvatiti prijetnjom ili bezopasnom situacijom. Ako se shvati kao prijetnja, uzrok joj može biti poznat ili nepoznat. Posljedice prijetnje nepoznatog uzroka su pobuđenost i tjeskoba koje traju sve dok se uzrok ne spozna ili podražaj procijeni bezopasnim. Posljedice prijetnje kojoj je uzrok poznat ovise o mogućnosti odupiranja, tj. dostupnosti odgovora (kontrola). Ako odgovor nije dostupan posljedice mogu biti bespomoćnost i beznađe. Ako je odgovor dostupan, posljedice mogu biti blage te neće izazvati stres - kao što ga neće izazvati niti podražaj koji se ne smatra prijetnjom - ili teške, u obliku agresivnog i štetnog ponašanja (npr. nesmotrena vožnja, alkohol, nikotin i druge droge). Nadalje, odgovor može biti osjećen, što također dovodi do agresije i osjećaja bespomoćnosti i frustracije. Dakle, način na koji osoba procjenjuje podražaj igra bitnu ulogu pri određivanju jačine i vrste stresne reakcije, ali i načina odupiranja. Sve se te reakcije ponašanja prevode u biološke reakcije stimulacijom hipotalamus-a koji odašilje signale autonomnim nervnim sustavom i aktivacijom hipofize, što rezultira oslobođanjem

medijatora (neurotransmitori, neuropeptidi, hormoni) koji djeluju na efektorske sustave (npr. imunosustav, kardiovaskularni sustav, masno i mišićno tkivo). Intenzitet biološke reakcije također ovisi o individualnim (genskim, spolnim, dobnim) razlikama. Konični stres ili učestala akutna stimulacija medijatorskih (centralni i autonomni nervni, neuroendokrini) i efektorskih sustava može predstavljati allostatsko opterećenje, što vremenom dovodi do patoloških stanja. U pogledu kardiovaskularnog sustava to se može očitovati stvaranjem plakova koji dovode do ateroskleroze, pri čemu ruptura plaka i agregacija trombocita mogu izazvati infarkt miokarda, dok su promjene na adipoznom i mišićnom tkivu (odlaganje masti) povezane s gojaznošću, anoreksijom, dijabetesom i koronarnim bolestima (povišena razina kortizola potiče prekomjerno lučenje inzulina, a povišena razina obaju hormona može ubrzati pojavu ateroskleroze), a u pogledu imunosustava, pojavom tumorskih metastaza, virusnih infekcija i autoimunosnih bolesti.^{40,41}

Prema tome, prijetnja osjećaju mentalnog integriteta, koja sama po sebi ne zahtijeva izravnu fizičku reakciju, može imati fizičke posljedice, uključujući promjene u načinu na koji će imunosustav reagirati. Na taj način psihološki stres može potaknuti dodatne fiziološke funkcije imunocita i modulirati njihovu reaktivnost na svaki popratni ili budući antigenski podražaj.

3. Istraživanje imunosustava

3.1. Metodološki osvrt

Saznanja o imunologiji, kao i svjetu općenito, uvelike ovise o metodama kojima do njih dolazimo. Svaka metoda predstavlja samo prozor u svijet koji istražujemo a taj nam prozor, premda pruža uvid, ujedno ograničava vidik na cjelovitu stvarnost, određujući granice između onoga što možemo i ne možemo vidjeti.

Imunološka se istraživanja zasnivaju na enumerativnim i funkcionalnim testovima kojima određujemo solubilne medijatore i stanične sudionike imunoreakcije. Mjerenja možemo izvoditi *in vivo*, *in vitro*, ili *ex vivo*. *In vivo* metode procjenjuju općenitu imunokompetentnost u smislu reakcije čitavog organizma na antigen. Koriste se kao mjera stanične (test u koži) ili humoralne (npr. titar antitijela nakon vakcinacije) imunosti, pružajući uvid u krajnji ishod složenih, često redundantnih i pleiotropnih reakcija organizma. Ono što, međutim, ne možemo uočiti su moguće promjene u pojedinom stadiju reakcije koje se, kompenzirane redundantnošću, ne očituju reakcijom u koži ili titrom antitijela, ali mogu biti bitne za druge funkcije. Osim toga, testovi *in vivo* su relativno neprikladni za istraživanja u ljudi, ne samo iz etičkih, već i praktičkih razloga, jer je za očitavanje rezultata potreban opetovan susret s ispitanikom. Nasuprot tome, testovi *in vitro* (aktivnosti fagocita i NK-stanica, funkcije limfocita poput proliferacije na mitogene i produkcije citokina na različite podražaje) pogodni su za istraživanje mehanizma imunoreakcija jer koriste izolirane i poznate populacije stanica u standardiziranim i reproducibilnim uvjetima. Drugim riječima, proučavajući pojedinačne komponente nastojimo shvatiti složene procese imunoreakcije. No kod istraživanja u ljudi, izvor stanica je periferna krv sa svega oko 2% od ukupnih limfocita koji vjerojatno ne predstavljaju reprezentativni uzorak svih limfocita iz organizma. Glavni je nedostatak tih testova, međutim, odsutnost biokinetike koja djeluje *in vivo*. Analizirane stanice izdvojene su iz

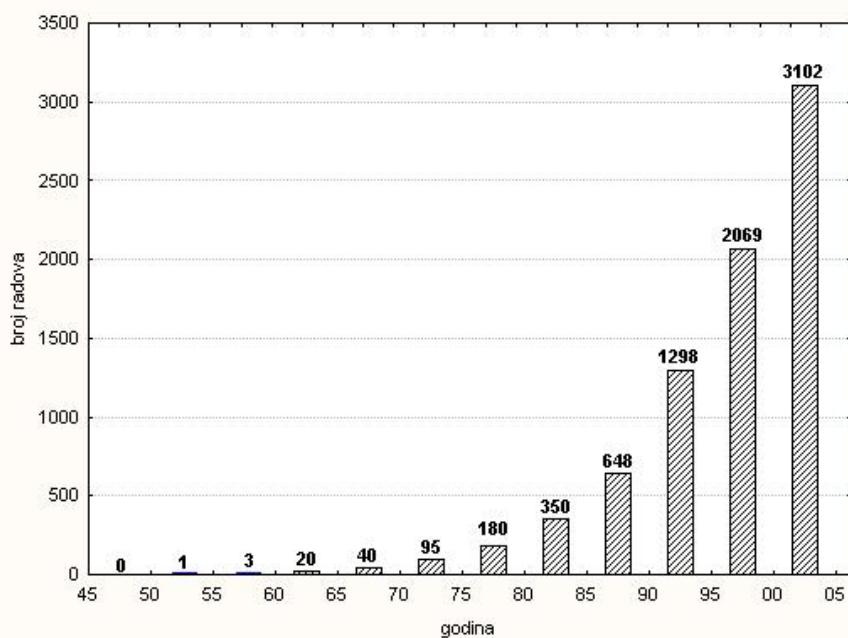
mikrookoliša i njegova modulirajućeg djelovanja. Stoga je opravdana sumnja u pogledu relevantnosti *in vitro* modela u dinamici stvarnog funkcioniranja imnosustava *in vivo*. Najlakše je raditi enumerativne testove *ex vivo* koji kvantificiraju stanice i solubilne medijatore, obično u uzorcima uzetim iz periferne cirkulacije. Iako na taj način stječemo uvid u odnos različitih tipova stanica potrebnih za optimalnu imunoreakciju, promjene koje zapažamo u perifernoj krvi ne moraju korelirati s funkcionalnom aktivnošću stanica u limfnim i perifernim tkivima gdje se imunoreakcije ustvari odvijaju. Rezultati tih testova samo su trenutačni odraz redistribucije pojedinih tipova stanica između različitih odjeljaka imunosustava (u trenutku uzimanja uzorka), ne dinamike procesa.

Budući da aktivnost imunosustava, osim o imunološkim i neuroendokrinim medijatorima, ovisi i o brojnim faktorima poput dobi, spola, prehrane, štetnih tvari (alkohol, nikotin, droge, lijekovi) ili spavanja, rezultati imunoloških testova veoma su varijabilni čak i u populaciji koja nije pogodena stresom. S druge strane, stres je često povezan s različitim psihičkim i fizičkim komorbidnim stanjima koja mogu uvelike utjecati na imunoreaktivnost. Pri analizi podataka primjenjujemo statističke metode kako bismo mogli uočiti pravilnosti koje postoje usprkos te varijabilnosti. Jedan od glavnih ciljeva statistike je izvući valjane zaključke o zbivanjima u populaciji (koju ne vidimo) na temelju podataka prikupljenih na ispitivanom uzorku (uski prozor). Zbog spomenute urođene varijabilnosti rezultata uvijek je moguće da su opažene činjenice tek rezultat puke slučajnosti. Bez obzira koliko dobivena p-vrijednost bila niska, ona predstavlja samo vjerojatnost, ne dokaz. Dapače, statistička značajnost ne znači ujedno i biološku važnost, tim više što se vrijednosti imunoloških i hormonskih varijabli ispitanika sa stresom (unatoč nađenoj razlici u odnosu na kontrolnu grupu) često nalaze unutar raspona vrijednosti kontrole. S druge strane, pomanjkanje značajnosti ne mora značiti i pomanjkanje važnosti. Nadalje, statističke metode, baš kao i imunološke, imaju svoje zakonitosti, zahtjeve i ograničenja koje pri analizi rezultata moramo striktno poštovati kako bi zaključci bili valjni. Nažalost, u biomedicinskim istraživanjima općenito, pa tako i imunološkim, statistički se postupci često pogrešno primjenjuju i interpretiraju⁴² pa su i zaključci takvih istraživanja nepouzdani ili čak pogrešni.

Konačno, mogući problem kod psinoneuroimunoloških istraživanja odnosi se na psihometriju. Pouzdanost i valjanost psihometrijskih instrumenata od velike su važnosti budući da se na rezultatima tih testova temelji odabir ispitanika. Ako mjerena nisu točna, osoba može biti pogrešno uključena u (ili isključena iz) istraživanje, što će dovesti do irelevantnih rezultata i pogrešnih zaključaka cijelog istraživanja.

3.2. Pregled psinoneuroimunoloških istraživanja

Brojni su radovi koji se odnose na istraživanje utjecaja stresa na razne aspekte imunosti. Korištenjem javno dostupnog pretraživača bibliografskih baza podataka, PubMed, s ključnim riječima stress AND immun* dobiva se gotovo 8000 članaka a broj im kroz petogodišnja razdoblja eksponencijalno raste (Slika 5). Oko 30% članaka su revijski prikazi a ostali se u podjednakom broju odnose na istraživanja u ljudi (48%) i životinja (52%). Također je podjednak broj radova koji istražuju akutni (52%) i kronični (48 %) stres. Unutar akutnog stresa gotovo dvije trećine radova (62%) prikazuju istraživanja na životinjskom modelu dok je unutar istraživanja kroničnog stresa podjednak odnos radova na životinjskom (49%) i humanom (51%) modelu. Životinjski modeli omogućavaju



Slika 5. Prikaz eksplozivnog rasta broja radova o utjecaju stresa na imunosustav kroz petogodišnja razdoblja.

kontrolu vanjskih i unutarnjih interferirajućih varijabli te primjenu eksperimentalnih postupaka kakve je, iz etičkih i praktičnih razloga, nemoguće provesti pri istraživanju u ljudi. Stoga su takvi modeli (većinom na glodavcima) pogodni za istraživanje mehanizama utjecaja stresa na imunosustav. Manje su pogodni, međutim, za istraživanja utjecaja psihološkog stresa koja su uglavnom ograničena na učinak socijalnih stresora i mogućnost kontrole nad stresorom. U takvom modelu životinje podvrgnute stresoru koji mogu nadzirati predstavljaju kontrolnu grupu životinja podvrgnutim istom stresoru nad kojim nemaju nadzor. Razlike u učinku stresa na imunosustav u dvije grupe, posljedica su utjecaja psiholoških faktora. S druge strane, istraživanja u ljudi (naročito suvremena) u velikoj mjeri razmatraju učinak psiholoških stresora. To su emocionalni stresori koji pobuđuju osjećaje straha, tjeskobe, srdžbe, frustracije, veselja i mentalni stresori koji uključuju racionalne kognitivne procese (rješavanje matematičkih zadataka, slagalica i zbumjućih problema npr. Stroopov test^a) bez jakih emocionalnih komponenti. Istraživanja u ljudi odnose se također na utjecaj životnih situacija (stres vezan uz socioekonomski i radne uvjete, nezaposlenost, izbjeglištvo, prognanstvo, zatočeništvo) i fizičkih stresora (fizički napor, buka, niska temperatura, lišavanje sna, kirurški zahvat). Navedena je podjela ustvari samo formalna jer često pojedini stresor ima elemente različitih kategorija. Fizički i mentalni stresori izazivaju uglavnom akutni stres koji se može lako kontrolirati, dok su životni uvjeti ponajprije izvor kroničnog stresa. S druge strane, emocionalni stresori poput skoka s padobranom, ispita ili javnog nastupa izazivaju akutni, dok će rastava braka, udovištvo, njegovanje kronično bolesnih članova obitelji, dijagnoza teške neizlječive bolesti i traumatski doživljaji (prirodne ili uzrokovane katastrofe i nasilje) izazvati kronični stres.

^a Test se sastoji u imenovanju boje kojom je ispisan naziv neke druge boje (npr. riječ plavo ispisana je zelenim slovima pa treba kazati "zeleno")

Osim različitih vrsta stresora, psihoneuroimunološka istraživanja uključuju brojne imunološke i hormonske parametre koji se procjenjuju enumerativnim i funkcionalnim testovima. Enumerativnim se testovima određuje broj i postotak pojedinih tipova leukocita *ex vivo* na temelju fenotipskih biljega te količina solubilnih molekula (imunoglobulini, citokini, serumski proteini, neurotransmitori, hormoni) u tjelesnim tekućinama (serum, urin, slina). Pored glavnih tipova leukocita (limfociti, monociti i granulociti),⁴³⁻⁶⁰ fenotipizacijom se prvenstveno određuju populacije (T, B, NK)^{43-46,48-71} i subpopulacije^{43-46,48,50-55,57-66,70-73} limfocita poput pomoćničkih, Th (CD4), i citotoksičkih, Tc (CD8), ali i onih u različitim stadijima diferencijacije (naivni i memorijski)^{44,54,57,60,71} ili aktivacije (ekspresija aktivacijskih biljega: CD25, CD26, CD38, CD71, HLA-DR na T-limfocitima i CD23 na B-limfocitima).^{44,51,55,57,60,64,68} Diferencijacijski i aktivacijski biljezi ujedno su indirektni pokazatelji funkcionalnih sposobnosti dotočne populacije, slično kao i tip citokina (tip 1: IL-2, IFN- γ ; tip 2: IL-4, IL-10)^{71,73-75} u citoplazmi pojedinih subpopulacija T-limfocita. Fenotipizacijom se također određuje ekspresija različitih adhezijskih molekula poput selektina (CD62L),^{45,49,53,65,70,76} integrina (CD2, CD11a,b,c, CD49d, CD58),^{45,49,53,65,68,76,77} ili onih iz porodice imunoglobulina (CD54),^{53,76} bitnih za recirkuliranje leukocita putem krvi između limfnih i perifernih tkiva. Drugu grupu enumerativnih testova predstavlja određivanje količine solubilnih molekula poput imunoglobulina,^{54,61,66,78-82} citokina,^{44,59,60,69,72,83-88} neurotransmitora i hormona,^{44,46,48,49,52,55,57-60,63,67-69,77,85,87,89-96} serumskih proteina,^{47,66,78} ali i otpuštenih membranskih molekula poput solubilnih receptora za citokine ili adhezijske molekule.^{47,65,72,83,84}

Funkcionalnim se testovima određuje aktivnost imunosustava kao cjeline (*in vivo* testovi) ili pojedinih stanica (*in vitro* testovi). Testovi *in vivo* se zbog ranije spomenute nepraktičnosti rjeđe koriste, bilo kao pokazatelj stanične (test u koži)^{50,89,95,97-99} ili humoralne (titar antitijela nakon vakcinacije)¹⁰⁰⁻¹⁰³ imunosti. Funkcije koje se određuju *in vitro* uključuju sposobnost reagiranja leukocita na kemotaksijski podražaj,^{77,104} što je, pored ekspresije adhezijskih molekula, bitan preduvjet njihova recirkuliranja. Od funkcija limfocita najčešće se određuje sposobnost proliferacije,^{43,55,61,64,69,79,80,82,89,91,97,104-106} uglavnom potaknuta nespecifičnim mitogenima, rjeđe antitijelima na TCR¹⁰⁵ ili CD3,¹⁰⁶ kao i sposobnost induciranih lučenja citokina,^{47,52,56,71,73,75,84,85,93,94,100,107,108} te NK-aktivnost.^{44,48,56,58,60,62,63,70,78,91,94,105} Rjeđe se određuju različite aktivnosti fagocita poput ingestije,^{44,55,60} o antitijelima ovisne citotoksičnosti (ADCC),^{44,55,60,63} digestije^{44,60} ili oslobođanja reaktivnih kisikovih radikala.⁵⁷

3.3. Rezultati

Bilo bi iluzorno očekivati da će mnogobrojna istraživanja o utjecaju stresa na različite aspekte imunosti dati posve jednoznačne rezultate. Djelomična nepodudarnost se ponajprije može pripisati različitim oblicima stresa (fizički, psihološki, socijalni, životne situacije), njegovu trajanju (akutni ili kronični), učestalosti (jednokratan ili ponavljaj) i intenzitetu (blagi, teški ili traumatski), ali i, s obzirom na karakteristike ličnosti (dobne, spolne, genske, socioekonomiske, način procjene prijetnje i sposobnost odupiranja), heterogenim skupinama ispitanika. Daljnji izvor nesuglasnih rezultata leži u činjenici da se, iz praktičnih i ekonomskih razloga, većina istraživanja vrši na relativno malim skupinama ispitanika pa izostanak statističke značajnosti može biti posljedica malog uzorka, a ne

nedostatka učinka (pogreška tipa II). S druge strane, mnoga istraživanja uključuju velik broj bioloških varijabli, čime se uvećava učestalost "signifikantnih" rezultata (pogreška tipa I) koji mogu biti posljedica slučaja, a ne stvarnog učinka stresa. Usprkos donekle kontradiktornim rezultatima pojedinačnih psihoneuroimunoloških istraživanja, moguće je izvući općenite zaključke o načinu djelovanja akutnog i kroničnog stresa na imunoreaktivnost:

- 1) Stres ima brzi i reverzibilan učinak na cirkulaciju leukocita i njihovu redistribuciju između limfnih organa i perifernih tkiva, bitnu za djelotvornost imunoreakcije. Akutni stres izaziva prolazan porast limfocita, ptije svega NK-stanica u perifernoj krvi,^{46,63,109} dok je u kroničnom stresu povišen broj ukupnih, pomoćničkih (Th) i citotoksičkih (Tc) T-limfocita.^{44,50,64} Na takav oblik recirkulacije utječu kateholamini¹¹⁰ i glukokortikoidi.¹¹¹
- 2) Kronični stres suprimira staničnu imunost, što se očituje sniženom NK-aktivnošću,¹¹² limfocitnom proliferacijom na mitogene,^{64,112} fagocitnim funkcijama⁴⁴ i kasnom reakcijom u koži,¹¹³ kao i aktivacijom latentnih virusnih infekcija¹¹⁴ i slabom produkcijom antitijela nakon vakcinacije.¹¹⁵
- 3) Stres pojačava humoralnu imunost podižući razinu ukupnih imunoglobulina i antitijela protiv latentnih virusa, npr. EBV, CMV i HSV-1^{112,116} kao posljedicu infekcije uslijed oslabljene stanične imunosti.

Oprečno ponašanje stanične i humoralne imunoreaktivnosti zamjećeno u tim istraživanjima posljedica je različitog učinka glukokortikoida i kateholamina na razvoj Th1- i Th2-limfocita, pomičući ravnotežu u korist citokina tipa 2 čime se potiču humoralne, a suprimiraju stanične reakcije.¹¹⁰ To može imati presudan utjecaj na podložnost zaraznim, autoimunosnim, alergijskim i malignim bolestima, na usporavanje cijeljenja rana i na smanjenu učinkovitost vakcinacije.^{114,115,117-120}

Navedeni se zaključci temelje na kvalitativnoj procjeni rezultata velikog broja istraživanja. Nedavno objavljena kvantitativna metaanaliza¹²¹ obradila je podatke 293 istraživanja s gotovo 19.000 ispitanika, s obzirom na tip i trajanje stresa i njegov utjecaj na tip imunoreakcije (urođena/stečena, stanična/humoralna). Analiza je pokazala da vrsta promjene imunoreaktivnosti ovisi o karakteristikama stresora. Akutni, vremenski ograničeni (minute) stresori dovode do adaptivnog poticanja nekih parametara urođene imunosti, bitne pri obrani organizma u situacijama "borbe ili bijega" i prigušivanja nekih funkcija stečene imunosti. Kratkotrajni prirodni stresori (npr. ispit) suprimiraju specifičnu staničnu imunost dok humoralna imunost ostaje očuvana. Kronični stresori dovode do opće supresije imunosustava, osobito stečene imunosti, kako celularne tako i humoralne. Različiti oblici prirodno ili eksperimentalno izazvanog psihološkog stresa, većinom u zdravim ljudi, vezani su uz sniženje NK-aktivnosti, mitogenom ili antigenom inducirane proliferacije limfocita i produkcije IL-2 i IFN- γ ¹¹⁷ *in vitro*, ukazujući na supresiju različitih parametara stanične imunosti. Konačno, životna dob i opće zdravstveno stanje pojedinca igraju važnu ulogu pri određivanju intenziteta promjena imunoreaktivnosti.

Navedena metaanaliza uključuje i istraživanja u pogledu djelovanja "udaljenih stresora", traumatskih iskustava koja su doživljena u dalekoj prošlosti (razni oblici nasilja). Budući da je u analizu uključeno svega sedam takvih istraživanja, zaključci su šturi.

Namjerno izazvano nasilje nanosi dugotrajnije mentalne i biološke posljedice nego prirodne katastrofe ili nesreće. Istraživanja učinka ratom izazvanog stresa na imunološke i endokrinološke funkcije odnose se na civilne žrtve (prognanike,⁵⁵ zatočenike⁴⁴) te uglavnom vijetnamske veterane, žrtve posttraumatskog stresnog poremećaja (PTSP), ispitivane desetljećima nakon traume.^{48,50,98,122} Svega je nekoliko istraživanja ratom uzrokovanih PTSP-a rađeno za vrijeme, ili kratko nakon rata u Izraelu,^{83,91} Perzijskom zaljevu¹²³ i Domovinskom ratu.^{60,96} Rezultati u pogledu broja limfocita i NK-funkcije protuslovna su s obzirom da je u vijetnamskih veterana zabilježen nepromijenjen⁴⁸ ili povišen⁵⁰ broj limfocita kao i nepromijenjena¹²² ili povišena NK-aktivnost.⁴⁸ U veterana Domovinskog rata povišena je razina limfocita, ukupnih T- i Th-stanica, nepromijenjena je razina B-, Tc- i NK-stanica a povišena NK-aktivnost.⁶⁰ S druge strane, u vijetnamskih je veterana s PTSP-om zabilježena pojačana reakcija kasne preosjetljivosti u koži.^{50,98} Daljnji pokazatelj pojačane aktivacije imunosustava u ratom uzrokovanim PTSP-u je povišena razina proučalnih citokina (IL-1 β , IL-6).^{60,83} Jedna od karakteristika bolesnika s kroničnim PTSP-om je snižena razina kortizola u cirkulaciji i povišen broj i reaktivnost glukokortikoidnih receptora, vjerojatno kao posljedica pojačane osjetljivosti negativne povratne sprege i progresivne desenzibilizacije HPA-osovine.¹²⁴ Nasuprot tomu, u veterana Domovinskog rata s PTSP-om koji su ispitivani svega nekoliko godina nakon traumatskog iskustva, razina kortizola bila je povišena a razina glukokortikoidnih receptora snižena.⁹⁶ To također upućuje na djelotvornost negativne povratne sprege, ali sugerira da je potrebno dulje vremensko razdoblje kako bi došlo do desenzibilizacije HPA-osovine. Tomu u prilog govore preliminarna istraživanja gdje su isti pojedinci, veterani Domovinskog rata, ponovo ispitani deset godina nakon rata. U pogledu razine kortizola i glukokortikoidnih receptora došlo je do obrata, tj. sniženja razine kortizola i porasta razine njegova receptora. Tendencije obrata uočene su i u NK-aktivnosti (sniženje) kao i nekim enumerativnim parametrima. To upućuje na adaptivnost imunosustava kao cjeline, vjerojatno uslijed redundantnosti pojedinačnih procesa, pri čemu se urođene i stečene, stanične i humoralne reakcije nadopunjaju. Pojedinačni parametri, dakle, mogu fluktuirati tijekom vremena, što također objašnjava nepodudarnosti pojedinačnih rezultata istraživanja.

Daljnja su istraživanja potrebna da bi se pobliže ispitala uloga subjektivnog iskustva, bihevioralnih faktora te sposobnosti i načina odupiranja, za koje se zna da moduliraju imunoreaktivnost u uvjetima stresa i odredila veza između stresa i bolesti.

Literatura

- ¹ Bretscher P, Cohn M. A theory of self–nonself discrimination. *Science* 1970;169:1042–9.
- ² Goodnow CC, Sprent J, Fazekas de St Groth B, Vinuesa CG. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature* 2005;435:590-7.
- ³ Kronenberg M, Rudensky A. Regulation of immunity by self-reactive T cells. *Nature* 2005;435:598-604.
- ⁴ Dong C, Flavell RA. Cell fate decision: T-helper 1 and 2 subsets in immune responses. *Arthritis Res* 2000; 179-88.
- ⁵ Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat Rev Immunol* 2004;22:336-47.
- ⁶ Baxter AG, Hodgkin PD. Activation rules: the two-signal theories of immune activation. *Nat Rev Immunol* 2002;2:439-46.
- ⁷ Langman RE, Cohn M. A minimal model for the self-nonself discrimination: a return to the basics. *Semin Immunol* 2000;12:289-95.
- ⁸ Medzhitov R, Janeway Jr CA. how does the immune system distinguish self from nonself? *Semin Immunol* 2000;12:185-8.
- ⁹ Ader R, Cohen N. Behaviorally conditioned immunosuppression. *Psychosom Med* 1975;37:333-40.
- ¹⁰ Besedovsky HO, del Rey A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr Rev* 1996;17:64-102.
- ¹¹ Blalock JE. The immune system our sixth sense. *The Immunologist* 1994;2:8-15.
- ¹² Sternberg EM. Neural-immune interactions in health and disease. *J Clin Invest* 1997;100:2641-7.
- ¹³ Dustin ML, Colman DR. Neural and immunological synaptic relations. *Science* 2002;298:785-9.
- ¹⁴ Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress hormones, Th1/Th2 patterns, pro/anti-inflammatory cytokines and susceptibility to disease. *Trends Endocrinol Metab* 1999;10:359-68.
- ¹⁵ Steinman L. Elaborate interactions between the immune and nervous systems. *Nat Immunol* 2004;5:575-81.
- ¹⁶ Licino J, Wong ML. Pathways and mechanisms for cytokine signaling of the nervous system. *J Clin Invest* 1997;100:2941-7.
- ¹⁷ Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: where do we stand? *Brain Behav Immun* 2001;15:7-24.
- ¹⁸ Moalem G, Leibowitz-Amit R, Yoles E, Mor F, Cohen IR, Schwartz M. Autoimmune T cells protect neurons from secondary degeneration after central nervous system axotomy. *Nat Med* 1999;5:49-55.
- ¹⁹ Horn MP, Lacroix-Desmazes S, Stahl D, Meischer S, Stadler BM, Kazatchkine MD, Kaveri SV. Natural autoantibodies - benefits of recognizing "self". *Mod Asp Immunobiol* 2001;1:267-70.
- ²⁰ Stewart J. Immunoglobulins did not arise in evolution to fight infection. *Immunol Today* 1992;13:396-9.
- ²¹ van den Berg TK, Yoder JA, Litman GW. On the origin of adaptive immunity: innate immune receptors join the tale. *Trends Immunol* 2004;25:11-6.
- ²² Urase S, Schuman EM. The role of cell adhesion molecules in synaptic plasticity and memory. *Curr opin Cell Biol* 1999;11:549-53.

- ²³ Hugh S, Boulanger LM, Du H, Riquelme PA, Brotz TM, Shatz CJ. Functional requirements for class I MHC in CNS development and plasticity. *Science* 2000;290:2155-9.
- ²⁴ Steeber DA, Venturi GM, Tedder TF. A new twist to the leukocyte adhesion cascade: intimate cooperation is key. *Trends Immunol* 2005;26:9-12.
- ²⁵ Tessier-Lavigne M, Goodman CS. The molecular biology of axon guidance. *Science* 1996;274:1123-33.
- ²⁶ Kumanogoh A, Marukawa S, Suzuki K i sur. Class IV semaphorin Sema4A enhances T-cell activation and interacts with Tim-2. *Nature* 2002;419:629-33.
- ²⁷ Khaled AR, Durum SK. Lymphocide: cytokines and the control of lymphoid homeostasis. *Nat Rev Immunol* 2002;2:817-30.
- ²⁸ Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83:835-70.
- ²⁹ McCourt M, Wang JH, Sookhai S, Redmond HP. Proinflammatory mediators stimulate neutrophil-directed angiogenesis. *Arch Surg* 1999;134:1325-31.
- ³⁰ Szczesny G. Molecular aspects of bone healing and remodeling. *Pol J Pathol* 2002;53:145-53.
- ³¹ Klein RS, Rubin JB. Immune and nervous system CXCL12 and CXCR4: parallel roles in patterning and plasticity. *Trends Immunol* 2004;25:306-14.
- ³² Hoek A, Allaerts W, Leenen PJ, Schoemaker J, Drexhage HA. Dendritic cells and macrophages in the pituitary and the gonads. Evidence for their role in the fine regulation of the reproductive endocrine response. *Eur J Endocrinol* 1997;136:8-24.
- ³³ Dembic Z. Sense of self: a debate (Day 2, message 1 of 32). U: HMS Beagle 1997;Issue11 (June 27). (http://cig.salk.edu/bicd_140_W99/debate)
- ³⁴ Matzinger P. An innate sense of danger. *Semin Immunol* 1998;10:399-415.
- ³⁵ Cohen IR. Discrimination and dialogue in the immune system. *Semin Immunol* 2000;12:215-9.
- ³⁶ Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol* 1994;12:991-1045.
- ³⁷ Dembic Z. Do we need integrity? *Scand J Immunol* 1996;44:549-50.
- ³⁸ Dembic Z. Immune system protects integrity of tissues. *Mol Immunol* 2000;37:563-9.
- ³⁹ McEwen BS, Wingfield JC. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm Behav* 2003;43:2-15.
- ⁴⁰ McEwen BS, Stellar E. Stress and the individual. Mechanisms leading to disease. *Arch Intern Med* 1993;153:2093-101.
- ⁴¹ Kiecolt-Glaser JK, McGuire L, Robles TF, Glaser R. Psychoneuroimmunology: psychological influences on immune function and health. *J Consult Clin Psychol* 2002;70:537-47.
- ⁴² Murphy JR. Statistical errors in immunologic research. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1259-63.
- ⁴³ Brosschot JF, Benschop RJ, Godaert GL, i sur. Effects of experimental psychological stress on distribution and function of peripheral blood cells. *Psychosom Med* 1992;54:394-406.
- ⁴⁴ Dekaris D, Sabioncello A, Mažuran R, Rabatić S, Svoboda-Beusan I, Ljubić Računica N, Tomašić J. Multiple changes of immunologic parameters in prisoners of war. Assessments after release from a camp in Manjača, Bosnia. *JAMA* 1993;270:595-9.

- ⁴⁵Kurokawa Y, Shinkai S, Torii J, Hino S, Shek PN. Exercise-induced changes in the expression of surface adhesion molecules on circulating granulocytes and lymphocytes subpopulations. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1995;71:245-52.
- ⁴⁶Mills PJ, Berry CC, Dimsdale JE, Ziegler MG, Nelesen RA, Kennedy BP. Lymphocyte subset redistribution in response to acute experimental stress: effects of gender, ethnicity, hypertension, and the sympathetic nervous system. *Brain Behav Immun* 1995;9:61-9.
- ⁴⁷Drenth JP, Krebbers RJ, Bijzet J, van der Meer JW. Increased circulating cytokine receptors and ex vivo interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1beta production but decreased tumour necrosis factor-alpha production after a 5-km run. *Eur J Clin Invest* 1998;28:866-72.
- ⁴⁸Laudenslager ML, Aasal R, Adler L, i sur. Elevated cytotoxicity in combat veterans with long-term post-traumatic stress disorder: preliminary observations. *Brain Behav Immun* 1998;12:74-9.
- ⁴⁹Miles MP, Leach SK, Kraemer WJ, Dohi K, Bush JA, Mastro AM. Leukocyte adhesion molecule expression during intense resistance exercise. *J Appl Physiol* 1998;84:1604-9.
- ⁵⁰Boscarino JA, Chang J. Higher abnormal leukocyte and lymphocyte counts 20 years after exposure to severe stress: research and clinical implications. *Psychosom Med* 1999;61:378-86.
- ⁵¹Wilson SN, van der Kolk B, Burbridge J, Fisler R, Kradin R. Phenotype of blood lymphocytes in PTSD suggests chronic immune activation. *Psychosomatics*. 1999;40:222-5.
- ⁵²Goebel MU, Mills PJ, Irwin MR, Ziegler MG. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha production after acute psychological stress, exercise, and infused isoproterenol: differential effects and pathways. *Psychosom Med* 2000;62:591-8.
- ⁵³Goebel MU, Mills PJ. Acute psychological stress and exercise and changes in peripheral leukocyte adhesion molecule expression and density. *Psychosom Med* 2000;62:664-70.
- ⁵⁴Nakata A, Araki S, Tanigawa T, i sur. Decrease of suppressor-inducer (CD4+ CD45RA) T lymphocytes and increase of serum immunoglobulin G due to perceived job stress in Japanese nuclear electric power plant workers. *J Occup Environ Med* 2000;42:143-50.
- ⁵⁵Sabioncello A, Kocjan-Hercigonja D, Rabatić S, Tomašić J, Jeren T, Matijević L, Rijavec M, Dekaris D. Immune, endocrine, and psychological responses in civilians displaced by war. *Psychosom Med* 2000;62:502-8.
- ⁵⁶Kawamura N, Kim Y, Asukai N. Suppression of cellular immunity in men with a past history of posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry* 2001;158:484-6.
- ⁵⁷Atanackovic D, Brunner-Weinzierl C, Kröger H, Serke S, Deter HC. Acute psychological stress simultaneously alters hormone levels, and production of reactive oxygen species. *Immunol Invest* 2002;31:73-91.
- ⁵⁸Isowa T, Ohira H, Murashima S. Reactivity of immune, endocrine and cardiovascular parameters to active and passive acute stress. *Biol Psychol* 2004;65:101-20.
- ⁵⁹Gomez-Merino D, Drogou C, Chennaoui M, Tiollier E, Mathieu J, Guezennec CY. Effects of combined stress during intense training on cellular immunity, hormones and respiratory infections. *Neuroimmunomodulation* 2005;12:164-72.
- ⁶⁰Gotovac K, Sabioncello A, Vilibić M, Folnegović-Šmalc V, Dekaris D. Imunoreactivity and humoral response in the war veterans with posttraumatic stress disorder. (u pripremi).
- ⁶¹Kiecolt-Glaser JK, Dura JR, Speicher CE, Trask OJ, Glaser R. Spousal caregivers of dementia victims: longitudinal changes in immunity and health. *Psychosom Med* 1991;53:345-62.

- ⁶² Naliboff DD, Benton D, Solomon GF, i sur. Immunological changes in young and old adults during brief laboratory stress. *Psychosom Med* 1991;53:121-32.
- ⁶³ Schedlowski M, Jacobs R, Stratmann G, i sur. Changes of natural killer cells during acute psychological stress. *J Clin Immunol* 1993;13:119-26.
- ⁶⁴ Castle S, Wilkins S, Heck E, Tanzy K, Fahey J. Depression in caregivers of demented patients is associated with altered immunity: impaired proliferative capacity, increased CD8+, and a decline in lymphocytes with surface signal transduction molecules (CD38+) and a cytotoxicity marker (CD56+ CD8+). *Clin Exp Immunol* 1995;101:487-93.
- ⁶⁵ Schedlowski M, Hosch W, Oberbeck R, i sur. Catecholamines modulate human NK cell circulation and function via spleen-independent beta 2-adrenergic mechanisms. *J Immunol*. 1996 Jan 1;156(1):93-9.
- ⁶⁶ Pariante CM, Carpinello B, Orru MG, i sur. Chronic caregiving stress alters peripheral blood immune parameters: the role of age and severity of stress. *Psychother Psychosom* 1997;66:199-207.
- ⁶⁷ Pike JL, Smith TL, Hauger RL, i sur. Chronic life stress alters sympathetic, neuroendocrine, and immune responsivity to an acute psychological stressor in humans. *Psychosom Med* 1997;59:447-57.
- ⁶⁸ De Gucht V, Fischler B, Demanet C. Immune dysfunction associated with chronic professional stress in nurses. *Psychiatry Res* 1999;85:105-11.
- ⁶⁹ Guidi L, Tricerri A, Vangeli M, i sur. Neuropeptide Y plasma levels and immunological changes during academic stress. *Neuropsychobiology* 1999;40:188-95.
- ⁷⁰ Dopp JM, Miller GE, Myers HF, Fahey JL. Increased natural killer-cell mobilization and cytotoxicity during marital conflict. *Brain Behav Immun* 2000;14:10-26.
- ⁷¹ Uchakin PN, Tobin B, Cubbage M, Marshall G Jr, Sams C. Immune responsiveness following academic stress in first-year medical students. *J Interferon Cytokine Res* 2001;21:687-94
- ⁷² Maes M, Lin AH, Delmeire L, i sur. Elevated serum interleukin-6 (IL-6) and IL-6 receptor concentrations in posttraumatic stress disorder following accidental man-made traumatic events. *Biol Psychiatry* 1999;45:833-9.
- ⁷³ Zedler S, Bone RC, Baue AE, von Donnersmarck GH, Faist E. T-cell reactivity and its predictive role in immunosuppression after burns. *Crit Care Med* 1999;27:66-72.
- ⁷⁴ Glaser R, MacCallum RC, Laskowski BF, Malarkey WB, Sheridan JF, Kiecolt-Glaser JK. Evidence for a shift in the Th-1 to Th-2 cytokine response associated with chronic stress and aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56:M477-82.
- ⁷⁵ Lancaster GI, Khan Q, Drysdale PT, i sur. Effect of prolonged exercise and carbohydrate ingestion on type 1 and type 2 T lymphocyte distribution and intracellular cytokine production in humans. *J Appl Physiol* 2005;98:565-71.
- ⁷⁶ Mills PJ, Dimsdale JE. The effects of acute psychologic stress on cellular adhesion molecules. *J Psychosom Res* 1996;41:49-53.
- ⁷⁷ Redwine L, Snow S, Mills P, Irwin M. Acute psychological stress: effects on chemotaxis and cellular adhesion molecule expression. *Psychosom Med* 2003;65:598-603.
- ⁷⁸ Kiecolt-Glaser JK, Garner W, Speicher C, Penn GM, Holliday J, Glaser R. Psychosocial modifiers of immunocompetence in medical students. *Psychosom Med* 1984;46:7-14.
- ⁷⁹ Verde TJ, Thomas SG, Moore RW, Shek P, Shephard RJ. Immune responses and increased training of the elite athlete. *J Appl Physiol* 1992;73:1494-9.
- ⁸⁰ Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Chronic stress modulates the virus-specific immune response to latent herpes simplex virus type 1. *Ann Behav Med* 1997;19:78-82.

- ⁸¹ Deinzer R, Kleineidam C, Stiller-Winkler R, Idel H, Bachg D. Prolonged reduction of salivary immunoglobulin A (sIgA) after a major academic exam. *Int J Psychophysiol* 2000;37:219-32.
- ⁸² Marsland AL, Cohen S, Rabin BS, Manuck SB. Associations between stress, trait negative affect, acute immune reactivity, and antibody response to hepatitis B injection in healthy young adults. *Health Psychol* 2001;20:4-11.
- ⁸³ Spivak B, Shohat B, Mester R, i sur. Elevated levels of serum interleukin-1 beta in combat-related posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 1997;42:345-8.
- ⁸⁴ Weinstock C, Konig D, Harnischmacher R, Keul J, Berg A, Northoff H. Effect of exhaustive exercise stress on the cytokine response. *Med Sci Sports Exerc* 1997;29:345-54.
- ⁸⁵ Lacey K, Zaharia MD, Griffiths J, Ravindran AV, Merali Z, Anisman H. A prospective study of neuroendocrine and immune alterations associated with the stress of an oral academic examination among graduate students. *Psychoneuroendocrinology* 2000;25:339-56.
- ⁸⁶ Paik IH, Toh KY, Lee C, Kim JJ, Lee SJ. Psychological stress may induce increased humoral and decreased cellular immunity. *Behav Med* 2000;26:139-41.
- ⁸⁷ Suzuki K, Yamada M, Kurakake S, i sur. Circulating cytokines and hormones with immunosuppressive but neutrophil-priming potentials rise after endurance exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 2000;81:281-7.
- ⁸⁸ Kiecolt-Glaser JK, Preacher KJ, MacCallum RC, Atkinson C, Malarkey WB, Glaser R. Chronic stress and age-related increases in the proinflammatory cytokine IL-6. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:9090-5.
- ⁸⁹ Bartrop RW, Luckhurst E, Lazarus L, Kiloh LG, Penny R. Depressed lymphocyte function after bereavement. *Lancet* 1977;1:834-6.
- ⁹⁰ Yehuda R, Boisneau D, Lowy MT, Giller EL Jr. Dose-response changes in plasma cortisol and lymphocyte glucocorticoid receptors following dexamethasone administration in combat veterans with and without posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry* 1995;52:583-93.
- ⁹¹ Weiss DW, Hirt R, Tarcic N, i sur. Studies in psychoneuroimmunology: psychological, immunological, and neuroendocrinological parameters in Israeli civilians during and after a period of Scud missile attacks. *Behav Med* 1996;22:5-14.
- ⁹² Irwin M, Hauger R, Patterson TL, Semple S, Ziegler M, Grant I. Alzheimer caregiver stress: basal natural killer cell activity, pituitary-adrenal cortical function, and sympathetic tone. *Ann Behav Med* 1997;19:83-90.
- ⁹³ Bauer ME, Vedhara K, Perks P, Wilcock GK, Lightman SL, Shanks N. Chronic stress in caregivers of dementia patients is associated with reduced lymphocyte sensitivity to glucocorticoids. *J Neuroimmunol* 2000;103:84-92.
- ⁹⁴ Cohen M, Klein E, Kuten A, Fried G, Zinder O, Pollack S. Increased emotional distress in daughters of breast cancer patients is associated with decreased natural cytotoxic activity, elevated levels of stress hormones and decreased secretion of Th1 cytokines. *Int J Cancer* 2002;100:347-54.
- ⁹⁵ Altemus M, Cloitre M, Dhabhar FS. Enhanced cellular immune response in women with PTSD related to childhood abuse. *Am J Psychiatry* 2003;160:1705-7.

- ⁹⁶ Gotovac K, Sabioncello A, Rabatić S, Berki T, Dekaris D. Flow cytometric determination of glucocorticoid receptor (GCR) expression in lymphocyte subpopulations: lower quantity of GCR in patients with post-traumatic stress disorder (PTSD). *Clin Exp Immunol* 2003;131:335-9.
- ⁹⁷ Cogoli A. The effect of space flight on human cellular immunity. *Environ Med* 1993;37:107-16.
- ⁹⁸ Watson-Burges IP, Muller HK, Jones IH, Bradley AJ. Cell-mediated immunity in combat veterans with post-traumatic stress disorder. *Med J Aust* 1993;159:513-6.
- ⁹⁹ Vedhara K, Nott K. The assessment of the emotional and immunological consequences of examination stress. *J Behav Med* 1996;19:467-78.
- ¹⁰⁰ Kiecolt-Glaser JK, Glaser R, Gravenstein S, Malarkey WB, Sheridan J. Chronic stress alters the immune response to influenza virus vaccine in older adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:3043-7.
- ¹⁰¹ Glaser R, Sheridan J, Malarkey WB, MacCallum RC, Kiecolt-Glaser JK. Chronic stress modulates the immune response to a pneumococcal pneumonia vaccine. *Psychosom Med* 2000;62:804-7.
- ¹⁰² Burns VE, Drayson M, Ring C, Carroll D. Perceived stress and psychological well-being are associated with antibody status after meningitis C conjugate vaccination. *Psychosom Med* 2002;64:963-70.
- ¹⁰³ Vedhara K, McDermott MP, Evans TG, i sur. Chronic stress in nonelderly caregivers: psychological, endocrine and immune implications. *J Psychosom Res* 2002;53:1153-61.
- ¹⁰⁴ Linn BS, Linn MW, Klimas NG. Effects of psychophysical stress on surgical outcome. *Psychosom Med* 1988;50:230-44.
- ¹⁰⁵ Andersen BL, Farrar WB, Golden-Kreutz D, Kutz LA, MacCallum R, Courtney ME, Glaser R. Stress and immune responses after surgical treatment for regional breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:30-6.
- ¹⁰⁶ Beem EE, Hooijkaas H, Cleiren MH, i sur. The immunological and psychological effects of bereavement: does grief counseling really make a difference? A pilot study. *Psychiatry Res* 1999;85:81-93.
- ¹⁰⁷ Agarwal SK, Marshall GD Jr. Glucocorticoid-induced type 1/type 2 cytokine alterations in humans: a model for stress-related immune dysfunction. *J Interferon Cytokine Res* 1998;18:1059-68.
- ¹⁰⁸ Maes M, Song C, Lin A, i sur. The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and a Th1-like response in stress-induced anxiety. *Cytokine* 1998;10:313-8.
- ¹⁰⁹ Benschop RJ, Schedlowski M. Acute psychological stress. U: Schedlowski M, Uwe T, ur. *Psychoneuroimmunology. An interdisciplinary introduction.* New York: Kluwer Academic/Plenum publishers; 1999, str. 293-306.
- ¹¹⁰ Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve – an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacol Rev* 2000;52:595-638.
- ¹¹¹ McEwen BS, Biron CA, Brunson KW, i sur. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. *Brain Res Brain Res Rev* 1997;23:79-133.
- ¹¹² Herbert TB, Cohen S. Stress and immunity in humans – a meta-analytic review. *Psychosom Med* 1993;55:364-79.

- ¹¹³ Dhabhar FS. Stress induced augmentation of skin immune function: the role of hormones, leukocyte trafficking, and cytokines. *Period Biol* 2004;106:329-35.
- ¹¹⁴ Rozlog LA, Kiecolt-Glaser JK, Marucha PT, Sheridan JF, Glaser R. Stress and immunity: implications for viral disease and wound healing. *J Periodontol* 1999;70:786-92.
- ¹¹⁵ Glaser R, Kiecolt-Glaser JK, Malarkey WB, Sheridan JF. The influence of psychological stress on the immune response to vaccines. *Ann NY Acad Sci* 1999;840:649-55.
- ¹¹⁶ Song C, Dinant T, Leonard BE. Changes in immunoglobulin, complement and acute phase protein levels in the depressed patients and normal controls. *J Affect Disord* 1994;30:283-8.
- ¹¹⁷ Kiecolt-Glaser JK, Glaser R. Psychoneuroimmunology and cancer: fact or fiction? *Eur J Cancer* 1999;35:1603-7.
- ¹¹⁸ Marshall GD Jr, Agarwal SK. Stress, immune regulation, and immunity: applications for asthma. *Allergy Asthma Proc* 2000;21:241-6.
- ¹¹⁹ Sternberg EM. Neuroendocrine regulation of autoimmune/inflammatory disease. *J Endocrinol* 2001;169:429-35.
- ¹²⁰ Kiecolt-Glaser JK, McGuire L, Roberts TF, Glaser R. Psychoneuroimmunology and psychosomatic medicine: back to the future. *Psychosom Med* 2002;64:15-28.
- ¹²¹ Segestrom SC, Miller GE. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychol Bull* 2004;130:601-30.
- ¹²² Mosnaim AD, Wolf ME, Maturana P, et al. In vitro studies of natural killer cell activity in post traumatic stress disorder patients. Response to methionine-enkephalin challenge. *Immunopharmacology* 1993;25:107-16.
- ¹²³ Everson MP, Kotler S, Blackburn WDJ. Stress and immune dysfunction in Gulf War veterans. *Ann NY Acad Sci* 1999;22:413-8.
- ¹²⁴ Yehuda R. Post-traumatic stress disorder. *N Engl J Med* 2002;346:108-14.