

УТИЦАЈ +Gz УБРЗАЊА НА ПОЛАРИЗАЦИЈУ Th1 и Th2 ИМУНСКОГ ОДГОВОРА КОД ПАЦОВА

Арсић Комљеновић Г.¹, Рудњанин С.², Микић Д.³

¹Висока струковна медицинска школа „Милутин Миланковић“

²ВМА Институт за ваздухопловну медицину

³ВМА Институт за инфективне и тропске болести

THE INFLUENCE OF +Gz ACCELERATION ON Th1 AND Th2 POLARIZATION OF THE IMMUNE SYSTEM IN RATS

Арсић Комљеновић Г.¹, Рудњанин С.², Микић Д.³

¹Visoka medicinska škola strukovnih studija 'Milutin Milanković', Beograd

²Institut za vazduhoplovnu medicinu

³Vojnomedicinska akademija, Klinika za infektivne i tropske bolesti, Beograd

SUMMARY

Introduction/Aim. +Gz acceleration is unique dynamic stress to organism. Development of this occurrence depends not only to magnitude of acceleration but to onset rate and duration too (1). The most of former researches pointed to +Gz stress as significant stress to basic physiological mechanisms like cardiovascular and respiratory system. The aim of our study was to examine responses of neuroendocrine and immune system to +Gz stress. **Method.** Examination was performed in two inbred strains of rats Albino Oxford (AO) and Dark Agouti (DA). AO, n=45 and DA, n=60, male, 9-11 weeks old. Experimental animals were subjected to the Test of linear increase of +Gz acceleration (peak 7G, onset rate 0.1 g/s) at the Institute of aviation medicine of Military Medical Academy. Before examination, animals fasted 24 hours. Control group were rats which did not subjected to +Gz acceleration. After the animals were sacrificed we punctured blood from abdominal aorta to examine plasma and serum and extirpated thymus and spleen to be examined, too. In wish to examine effects of +Gz stress to polarization of Th immune response we determined concentrations of cytokines (IFN- γ and IL-4) in the culture of spleen cells. **Results.** The level of cytokines in the culture of spleen cells stimulated with Con A, isolated from animals (experimental and control group) 3 and 24 hour after +Gz exposure and level of cytokines determined in supernatants, showed statistical significance as it presented on the graphics. **Conclusion.** According to our research obtained on animals we can conclude that +Gz acceleration in the early period (after 3 hours) decreased IFN- γ in the culture of spleen cells. AO rats showed difference compared to DA rats in reaction to +Gz stress. AO rats had increase in IL-4 in the culture of spleen cells and higher decrease of IFN- γ and emphasized polarization of Th1/Th2 in course to Th2. After 24 hours of exposure to +Gz stress we observed increase of IFN- γ (DA) and increase of IL-4 (AO).

Keywords: +Gz acceleration; rat; immune response; cytokines; IFN- γ ; IL-4

САЖЕТАК

Увод/Циљ. Позитивно +Gz убрзање представља јединствен динамички стрес за организам. У настанку ове појаве значајну улогу има не само величина убрзања већ и интензитет прираста, и трајање убрзања¹. Досадашња истраживања су указивала на +Gz убрзање, као значајан стрес за основне физиолошке механизме, пре свега за кардиоваскуларни и респираторни систем. Циљ нашег истраживања првенствено је тражило одговоре у реакцијама неуроендокриног и имунског система. **Метод.** Истраживање је урађено на два генетски различита соја пацова Албино Оксфорд (АО) и Дарк Агоути (ДА), (АО, n = 45 и ДА, n = 60) мушког пола, старости 9-11 недеља. Експерименталне животиње су подвргнуте тесту нарастања линеарног убрзања прираста од 0,1 g/c до +7Gz у центрифуги у Институту за ваздухопловну медицину ВМА. Животиње су пре подвргавања тесту нарастања линеарног убрзања биле стављене на гладовање 24 часа. Контролну групу животиња чине пацови који нису излагани тесту нарастања убрзања. После жртвовања животиња, узимана је крв за испитивање плазме и серума, као и тимус и слезина за испитивање тимоцита и спленоцита. У циљу провере како хипергравитацијски стрес утиче на поларизацију Th-имуног одговора, у културама спленоцита пацова одређиване су концентрације INF- γ (Th1 цитокин) и IL-4 (Th2 цитокин). **Резултати.** Ниво цитокина из културе спленоцита стимулисане са Con- A изолованих из експерименталних и контролних животиња после 3 и 24 часа од завршетка експеримента у центрифуги као што је то раније описано и ниво цитокина у супернатантима одређиван после 48 часова ћелијске култивације, показали су статистичку значајност код експерименталне и контролне групе што је приказано и графиконима. **Закључак.** На основу обављених истраживања на животињама можемо закључити да је +Gz убрзање у пацова у раном периоду (3 часа) након центрифугирања довело до: смањења продукције INF- γ у култури спленоцита и да се сој АО се разликовао од соја ДА пацова по реакцији на хипергравитацијски стрес: повећањем концентрације IL-4 у култури спленоцита, већим смањењем продукције

INF- γ и изразитијом поларизацијом Th1/Th2 одговора у правцу Th2. У каснијем периоду (24 часа) након центрифугирања дошло је до: повећања продукције INF- γ (сој ДА) и повећања продукције IL-4 (сој АО)

Кључне речи: +Gz убрзање; пацов; имунски одговор; цитокини; INF- γ ; IL-4

УВОД

Позитивно +Gz убрзање представља јединствени динамички стрес за организам. У настанку ове појаве значајну улогу има не само величина убрзања већ и интензитет прираста, и трајање убрзања (1). У досадашњој литератури имамо доказе да је +Gz убрзање значајан стрес за основне физиолошке механизме, пре свега за кардиоваскуларни и респираторни систем. Да се заиста ради о изразитом стресу говоре бројни подаци из литературе где велика +Gz убрзања (од +5Gz до +20Gz) проузрокују видљиве промене, на структурама срчаног мишића, едема миокардијалних и ендотелних ћелија као и до промена у самим ћелијским структурама. При томе излагања поновљеним али учесталим средњим и ниским оптерећењима до +5Gz доводе до реверзибилних промена у ћелијама срчаног мишића испитиваних животиња (2). Искхемија као најважнији фактор динамичког стреса, доводи до оксидативних оштећења ћелија, која се манифестују повећаном пероксидацијом липида мембрана, порастом у концентрацији оксидисаних протеина и консеквентно у значајним променама у транспорту и путевима трансдукције сигнала (3).

Досадашња истраживања су показала да нагло +Gz убрзање, као снажан стресогени фактор летења, доводи до активације неуроендокриног система (4) и пратећег пораста симпато-адреналне активности (5, 6), повећања секреције ренина⁷, вазопресина (8), кортикостероида и других хормона (4).

Веза између неуроендокриног и имунског система одвија се у оба смера путем бројних молекула посредника, као што су неуротрансмитери, хормони и цитокини (9, 10). Цитокини, као солубилни протеини функционисају као медијатори имунских и запаљенских реакција и одговорни су за комуникацију између самих леукоцита и између леукоцита и других ћелија (11). Недавна истраживања руских аутора показују да у пацова изложених +Gz убрзању, које је понављано у току 5 дана, долази до смањења целуларности тимуса и митотског индекса тимоцита, и да су промене у тимусу мање изражене када су животиње излагане више пута понављаним +Gz убрзањима мањег интензитета (+2Gz) (12). Григоренко и сарадници су у слезини пацова нашли смањење броја ћелија у Т зависним зонама као и ишчезавање фоликула (13).

Гридлиј и сарадници су испитивали промене унутар субпопулације лимфоцита и периферној крви и лимфоидним органима мишева изложених хипергравитацији. Најзначајније промене су нађене у слезини и то седмог дана, које су се манифестовале смањењем броја и односа CD3/CD8 Т лимфоцита и B220 В лимфоцита. Такође је постојала линеарна корелација између јачине убрзања и вредности појединих имунолошких маркера (14).

Неки од описаних имунолошких феномена се могу довести у везу са активацијом осовине хипотала-

мус - хипофиза - кора надбубрежне жлезде и следствене хиперсекреције глукортикоидних хормона. Глукортикоиди поседују најснажнију имуномодулаторну активност (15). Осим добро познатог антиинфламаторног својства које се заснива на инхибицији продукције проинфламаторних цитокина, продуката разградње фосфолипида, протеаза и метаболита кисеоника, ови хормони делују и на бројне функције Т лимфоцита укључујући индукцију апоптозе, смањење пролиферативне способности и смањење продукције IL-2 и IFN- γ . За разлику од супресије ћелијског имунитета, глукортикоиди повећавају секрецију имуноглобулина, трансформишућег фактора раста - β (TGF- β) и макрофагног инхибиторног фактора кога продукују макрофаги и Т лимфоцити. Такође поспешују диференцијацију Th2 ћелија (9).

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Истраживање је урађено на два генетски различита соја пацова Albino Oxford (АО) и Dark Agouti (ДА), (АО, n = 45 и ДА, n = 60) мушког пола, старости 9-11 недеља. Експерименталне животиње су подвргнуте тесту линеарног нарастања убрзања прираста од 0,1 g/s до +7Gz у центрифуги у Институту за ваздухопловну медицину ВМА (слика 1). Животиње су пре подвргавања тесту нарастања линеарног убрзања биле стављене на гладовање 24 сата. Контролну групу животиња чинили су пацови који нису излагани тесту нарастања убрзања.



Слика 1. Приказ модела теста линеарног нарастања +Gz убрзања за експерименталне животиње

Жртвовање животиња је вршено 45 минута, 3 и 24 сати после завршетка експеримента. Вађена им је крв пункцијом абдоминалне аорте. Око 2 ml крви је узимано у хепаниризиране шприцеве, а остатак у конвенционалне шприцеве ради изолације серума. Стерилним прибором вађени су тимус и слезина. Тимоцити и спленоцити пацова су припремани одвојено у Петријевим шољама. Органи су постављани у челичне мрежице у Петрије-

вим шољама које су натопљене са 2 ml фосфатног пуфера (PBS). Притиском стерилног клипа од шприца на органе преко челичне мрежице истиснуте су слободне ћелије. Ћелије су испране у PBS центрифугирањем на 1600 обртаја/мин у трајању од 10 минута, а затим избројане у 1% раствору трипан плавог. Варијабилност ћелија детектована у овом раствору како контролних тако и експерименталних животиња је била преко 95%.

Плазма је издвојена из хепаринизираних крви центрифугирањем на 3000 обртаја/мин у току 10 минута. На сличан начин је изолован серум из не-хепаринизираних крви.

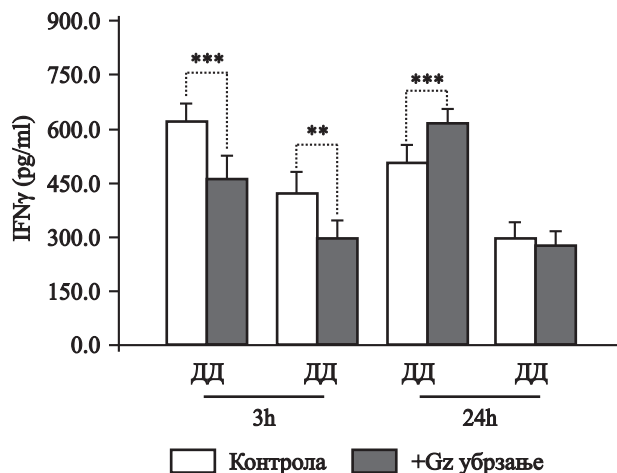
Цитокини су одређивани у супернатантима ћелијских култура спленоцита стимулираних са Con A. Из стимулираних култура пацова са RMA и фитохематуглинином одређиван је IL-4; и IFN- γ у 48-часовним културама. Концентрација цитокина пацова је одређивана помоћу ELISA комплета фирме R&D, Minneapolis, SAD према упутству произвођача. Комплет се заснива на ултрасензитивној сендвич ELISA методи. Вредности нивоа цитокина су одређиване помоћу стандардних кривих конструисаних на основу познатих концентрација цитокина коришћених у комплекту.

РЕЗУЛТАТИ

У циљу провере како хипергравитацијски стрес утиче на поларизацију Th имуног одговора, у културама спленоцита пацова одређиване су концентрације IFN- (Th1 цитокин) и IL-4 (Th2 цитокин). Спленоцити су изоловани из експерименталних и контролних животиња после 3 и 24 часа од завршетка експеримента у центрифуги као што је то раније описано. Културе спленоцита су стимулиране са Con A а ниво цитокина у супернатантима је одређиван после 48 часова ћелијске култивације. Резултати су приказани на сликама 2 и 3.

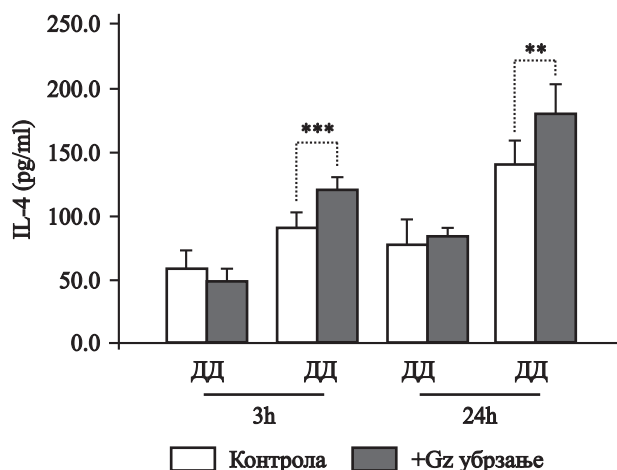
Поређењем нивоа IFN- (слика 2) запажа се да су спленоцити пацова соја ДА продуковали значајно веће нивое IFN- у односу на пацове соја АО. Међутим, спленоцити оба соја пацова, изолованих из слезине у раном периоду након излагања хипергравитацијском стресу (3 сата), су произвели статистички значајно мање концентрације овог Th1 цитокина у поређењу са одговарајућим вредностима IFN- контролних животиња (3 часа: $p < 0,005$; 24 часа: $p < 0,01$). После 24 часа од центрифугирања, спленоцити пацова ДА су произвели статистички значајно веће концентрације IFN- у односу на контролу ($p < 0,005$) док није било битније разлике у продукцији овог цитокина између експерименталне и контролне групе АО пацова.

Спленоцити ДА пацова су произвели значајно мање нивое IL-4 у култури у односу на спленоците АО пацова (слика 3). Након излагања пацова +Gz убрзању (3 часа) у супернатантима култура спленоцита АО пацова нађене су статистички значајно веће вредности нивоа IL-4 ($p < 0,005$) у односу на одговарајућу контролу, док није нађена статистички значајна разлика у продукцији овог цитокина између експерименталне и контролне групе ДА пацова. Слични резултати су добијени и после 24 часа од излагања животиња хипергравитацијском стресу с тим што је повећање концентрације IL-4 у



Слика 2. Ефекат +Gz убрзања на продукцију IFN- γ у култури спленоцита ДА и АО пацова

- Спленоцити су изоловани из контролних и експерименталних животиња после 3 или 24 часа од завршетка експеримента у центрифуги. Ћелије су затим култивисане у присуству Con A у току 48 часова, након чега је у супернатантима одређена концентрација IFN- γ
- Стубићи представљају средње вредности IFN- γ (pg/ml) \pm SD (n = 6).
- Звездичама су означене одговарајуће статистичке значајности (** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,005$).



Слика 3. Ефекат +Gz убрзања на продукцију IL-4 у култури спленоцита ДА и АО пацова

- Спленоцити су изоловани из контролних и експерименталних животиња после 3 или 24 часа од завршетка експеримента у центрифуги. Ћелије су затим култивисане у присуству Con A у току 48 часова, након чега је у супернатантима одређена концентрација IL-4
- Стубићи представљају средње вредности IL-4 (pg/ml) \pm SD (n = 6).
- Звездичама су означене одговарајуће статистичке значајности (** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,005$).

супернатантима културе спленоцита АО пацова било нешто мање ($p < 0,01$) у односу на разлику нађену после 3 часа.

Поређењем нивоа IFN- запажа се да су спленоцити пацова соја ДА произвели значајно веће нивое IFN- у односу на пацове соја АО. Међутим, спленоцити оба соја пацова, изолованих из слезине у раном периоду након излагања хипергравитацијском стресу (3 часа), су произвели статистички значајно мање концентрације

овог Th1 цитокина у поређењу са одговарајућим вредностима IFN- контролних животиња (3 часа: $p < 0,005$; 24 часа: $p < 0,01$). После 24 часа од центрифугирања спленоцити пацова ДА су произвели статистички значајно веће концентрације IFN- у односу на контролу ($p < 0,005$) док није било битније разлике у продукцији овог цитокина између експерименталне и контролне групе АО пацова. Спленоцити ДА пацова су продуковали значајно мање нивое IL-4 у култури у односу на спленоците АО пацова. Након излагања пацова +Gz убрзању (3 часа) у супернатантима култура спленоцита АО пацова нађене су статистички значајно веће вредности нивоа IL-4 ($p < 0,005$) у односу на одговарајућу контролу, док није нађена статистички значајна разлика у продукцији овог цитокина између експерименталне и контролне групе ДА пацова. Слични резултати су добијени и после 24 часа од излагања животиња хипергравитацијском стресу с тим што је повећање концентрације IL-4 у супернатантима културе спленоцита АО пацова било нешто мање ($p < 0,01$) у односу на разлику нађену после 3 часа.

Ефекат +Gz убрзања на продукцију проинфламаторних цитокина у културама периферне крви ДА и АО пацова испитан је одређивањем нивоа два проинфламаторна цитокина (IL-1 и TNF- α) као и ниво IL-6 (цитокина са про- и анти-инфламаторним својствима). Резултати истраживања су приказани у табели 1.

У нестимулисаним културама нису детектоване вредности IL-1 и TNF- α . Концентрације IL-6 у контролној групи су биле приближно исте. У оба соја експерименталне групе пацова, после 3 сата од убрзања, дошло је до статистички значајног повећања овог цитокина ($p < 0,005$). После 24 часа од излагања убрзању вредности нивоа IL-6 у експерименталној групи ДА пацова се нису статистички значајно разликовале од вредности у контроли. Међутим, вредности IL-6 у експери-

менталној групи АО пацова, иако скоро три пута ниже у односу на вредности после 3 часа, су и даље биле статистички значајно веће у односу на одговарајуће контроле ($p < 0,005$).

У стимулираним културама детектоване су вредности сва три цитокина. Вредности нивоа IL-1 у експерименталним групама пацова, у раном термину након експеримента (3 часа), су биле значајно веће у односу на одговарајуће контроле ($p < 0,001$). После 24 часа вредности су се нормализовале ($p > 0,05$).

Тренд повећања концентрације IL-6 у супернатантима ћелија периферне крви експерименталне групе ДА пацова (3 часа) је био сличан повећању нивоа овог цитокина у нестимулисаних култура ($p < 0,05$). Међутим, супротан налаз је забележен у експерименталној групи АО пацова, где је забележено статистички значајно смањење у односу на контролну групу. После 24 часа, ћелије периферне крви експерименталне групе ДА пацова су и даље продуковале веће нивое IL-6 ($p < 0,01$) док није било значајне разлике у продукцији овог цитокина у соја АО.

У раном термину након убрзања (3 часа) концентрација TNF- α у културама ћелија периферне крви соја АО је била статистички значајно већа у односу на одговарајућу контролу. За разлику од соја АО вредности нивоа TNF- α између експерименталне и контролне групе ДА пацова нису биле статистички значајне. Такође, после 24 часа, нису нађене статистички значајне разлике у нивоу овог цитокина између експерименталне и контролне групе оба соја пацова.

Ћелије периферне крви су култивисане у медијуму (нестимулисана култура) или медијуму са додатком РМА + РНА у току 24 часа. Концентрације цитокина у супернатантима су одређене помоћу одговарајућих ELISA-комплета. Бројеви представљају средње вредности \pm SD ($n = 6$). Звездицама су означене статистичке

Табела 1. Ефекат +Gz убрзања на продукцију IL-1 β , IL-6 и TNF- α у културама ћелија периферне крви ДА и АО пацова

Нестимулисане културе								
цитокини (pg/ml)	3h				24h			
	ДА-К	ДА-Е	АО-К	АО-Е	ДА-К	ДА-Е	АО-К	АО-Е
IL-1 β	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД
IL-6	52.0 \pm 18.4	107.2 \pm 10.6***	41.2 \pm 8.6	224.0 \pm 31.2***	29.9 \pm 6.1	41.4 \pm 16.0	35.1 \pm 7.1	68.0 \pm 11.3***
TNF- α	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД	НД
Стимулисане културе								
цитокини (pg/ml)	3h				24h			
	ДА-К	ДА-Е	АО-К	АО-Е	ДА-К	ДА-Е	АО-К	АО-Е
IL-1 β	316.0 \pm 48.6	514.4 \pm 66.6***	286.2 \pm 39.9	427.1 \pm 68.7***	96.1 \pm 11.3	112.4 \pm 21.6	90.3 \pm 17.1	121.0 \pm 16.4
IL-6	1752 \pm 216	2177 \pm 114*	4227 \pm 516	1077 \pm 211***	682 \pm 76	988 \pm 104**	1276 \pm 144	1456 \pm 182
TNF- α	294.1 \pm 36.0	329.0 \pm 41.1	251.2 \pm 17.0	404.6 \pm 30.1**	186.1 \pm 20.0	192.6 \pm 30.1	214.6 \pm 30.1	229.4 \pm 18.1

Ћелије периферне крви су култивисане у медијуму (нестимулисане културе) или медијуму са додатком РМА + РНА у току 24 часа. Концентрације цитокина у супернатантима су одређене помоћу одговарајућих ELISA-комплета. Бројеви представљају средње вредности \pm SD ($n=6$). Звездицама су означене статистичке значајности разлика у поређењу са одговарајућим контролама (*= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; ***= $p < 0,005$). НД=недетектабилне вредности.

значајности разлика у поређењу са одговарајућим контролама (* = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,005$).

ДИСКУСИЈА

Као што је већ више пута поновљено +Gz убрзање је јединствени стресогени фактор летења који доводи до промена у свим органским системима укључујући неуроендокрини и имунски систем. Стимулуси који започињу серију патофизиолошких збивања су последица директног ефекта убрзања на прераспodelу течности (крви), првенствено смањење протока крви у мозгу а са друге стране резултат покретања типичних "стрес" реакција у склопу класичног адаптационог синдрома организма на ноксу која ремети хомеостазу 1.

Анализе резултата се односе на профил Th1 и Th2 цитокина.

Значај ових цитокина је огроман јер су они кључни медијатори свих ефекторских имунских функција. Након активације помоћничких CD4+ Т лимфоцита у присуству антигена у периферним лимфоидним органима (лимфни чворови и слезина) долази до њихове диференцијације у две подврсте ефекторских Т лимфоцита (Th1 и Th2). У зависности од природе антигена и окружења у коме се Т лимфоцит активира, активисани наивни CD4+ Т лимфоцити ће се трансформисати у правцу Th1 или Th2. Th1 ћелије својим цитокинима (од којих је најзначајнији INF- γ) посредују у ћелијском имунитету и важни су за ерадикацију интрацелуларних микроорганизама. Са друге стране Th2 ћелије, продукцијом IL-4, IL-5 и других цитокина, смањују ћелијски имун одговор а поспешују хуморални, посебно онај у коме учествују антитела IgE класе. Стални баланс између ових чланова контролише развој и крајњи исход имунског одговора. (20).

Наша испитивања на животињама тако су показала да +Gz убрзање доводи до смањене продукције INF- γ од стране лимфоцита слезине односно мононуклеарних ћелија периферне крви. Овакав налаз се може довести у везу са повећаном секрецијом глукокортикоида обзиром да је показано да глукокортикоиди снижавају Th1 имунски одговор. INF- продуктују активисани CD4+ Th1 лимфоцити и CD8+ Т лимфоцити у одговору на стимулацију антигеном (одакле и ранији назив, имунски интерферон), а његову синтезу додатно стимулишу IL-12 и IL-18. NK ћелије стимулисане микробима или IL-12 су такође извор овог цитокина. INF- је најпотентнији активатор макрофага што се остварује повећаном антиген-презентујућом функцијом, повећаном синтезом NO, ROS, протеолитичких ензима, проинфламаторних цитокина и других медијатора. Такође стимулише експресију појединих поткласа имуноглобулина G који су важни за фагоцитозу и опсонизацију микроорганизама. INF- , затим активира неутрофиле и стимулише цитолитичку активност NK ћелија, што уз описане ефекте INF- , доприноси успостављању ефикасних механизма уклањања микроба 16, 17, 18, 19.

Од Th2 цитокина проучавали смо IL-4. Повећање IL-4 је нађено само у пацова соја АО што се може повезати са генетским карактеристикама ових сојева. Наиме, сој ДА припада пацовима са високом продукцијом

INF- , што су показала и ова истраживања, док је имунски одговор соја АО више померен ка хуморалном типу. Ови налази су у сагласности са налазима других аутора који указују да акутни стрес, слично као и кортикостероиди смањује Th1, а повећава Th2 одговор (9,10).

IL-4 је високо плеотропни цитокин који утиче на диференцијацију помоћничких Т лимфоцита у правцу Th2 ефекторских ћелија. Th2 ћелије, са друге стране, продукују сопствени IL-4, који на аутокрини начин даље подстиче развој ових ћелија. IL-4 заједно са IL-10, доводи до инхибиције функције Th1 ћелија на тај начин што смањује продукцију IL-12. IL-4, осим Th2 ћелија, и производи маст ћелије и базофилне гранулоците. Његова основна функција је стимулација продукције IgE антитела од стране В лимфоцита као и регрутовање и активација маст ћелија. IL-4 инхибира ослобађање проинфламаторних цитокина као што су IL-1, TNF- , IL-6, IL-8 и MIP-1 . Такође смањује цитотоксичну активност макрофага и продукцију NO-а од стране макрофага. Поред тога, стимулише синтезу инхибитора IL-1 (IL-1ra). Од осталих функција IL-4 треба споменути стимулацију пролиферације васкуларног ендотела, фибробласта коже и инхибицију пролиферације глатко мишићних ћелија. Такође помаже цитотоксичним ћелијама у борби против тумора (17, 18, 19).

ЗАКЉУЧАК

На основу обављених истраживања на животињама могу се донети следећи закључци:

1. Позитивно Gz убрзање је у пацова у раном периоду (3 часа) након центрифугирања довело до смањења продукције INF- γ у култури спленоцита.
2. Сој АО се разликовао од соја ДА пацова по реакцији на хипергравитацијски стрес: повећањем концентрације IL-4 у култури спленоцита, већим смањењем продукције INF- γ , и изразитијом поларизацијом Th1/Th2 одговора у правцу Th2.
3. Позитивно Gz убрзање је у пацова у каснијем периоду (24 часа) након центрифугирања довело до: повећања продукције INF- γ (сој ДА) и повећања продукције IL-4 (сој АО).

ЛИТЕРАТУРА

1. Roy L. De Hart: Fundamentals of Aerospace Medicine, Lea & Febiger 2003.
2. Benni PB, Li JK, Chen B, Cammarota J, Amory DW. Correlation of NIRS determined cerebral oxygenation with severity of pilot +Gz acceleration symptoms. Adv Exp Med Biol. 2003; 530: 381-389.
3. Kanazir, Snežana B. Pajović i Marija B. Radojčić. Molekularni mehanizmi stresom indukovanih oboljenja kardiovaskularnog sistema. 2004 SANU: posebna izdanja: Knjiga 3, odeljenje hemijskih i bioloških nauka, Beograd.
4. Mills FJ, Marks V. Human endocrine response to acceleration stress. Aviat. Space Environ. Med. 1985;53:537-40.
5. Krahenbuhl GS, Marett JR, King NW. Catecholamine exertion in T-37 flight training Aviat. Space Environ. Med. 1977: 48: 405-8.
6. Kaciuba-Uscilko H, Smoravinski J, Nazar K, Adrijan J, Greenleaf JE. Catecholamine responses to environmental stressors in trained and untrained men after 3-day bed rest. Aviat. Space Environ. Med. 2003;74:928-36.

7. Rogge JD, Fasola AF, Martz BL. Peripheral venous renin levels during +Gz acceleration. *Aerosp. Med.* 1967;38:1024-8.
8. Keil LC, Ellis S. Plasma vasopressin and renin activity in women exposed to bed rest and +Gz acceleration. *J Appl. Physiol.* 1976;40:911-4.
9. Petrovski N. Towards a unified of neuroendocrine-immune interaction. *Immunol. Cell Biol.* 2001;79:350-7.
10. Eskandari F, Sternberg EM. Neural-immune interactions in health and disease. *Ann. NY Acad Sci.* 2002;966:20-7.
11. Abbas, AK., Lichtman, HA., Pober, SJ. 1994. Cellular and molecular immunology. Second edition, W.B.Saunders company, Philadelphia, pp. 137-165.
12. Erofeeva LM, Krasnov IB, Sapin MR. Changes in the rat thymus cytoarchitecture during repeated exposure to hypergravitation. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005;140:218-21.
13. Grigorenko DF, Krasnov IB, Sapin MR. Structural and functional organisation of the spleen lymphoid tissue after exposure to hypergravitation. *Morfologija* 2003; 123:60-4.
14. Gridley DS, Pecaut MJ, Green LM, Nelson GA. Hypergravity-induced immunomodulation in a rodent model: lymphocytes and lymphoid organs. *J. Gravit. Physiol.* 2002;9:15-27.
15. Jafarian-Teherani M, Sternberg EM. Neuroendocrine-immune modulation of autoimmune-inflammatory diseases. *Front Horm Res.* 2002; 29:69-82
16. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev.* 2003; 8 (3): 223-246.
17. Opal SM and DePalo V. Anti-Inflammatory Cytokines. Impact of Basic Research on Tomorrow's Medicine, *CHEST* 2000. 117:1162-1172.
18. Matsuzaki J, Tsuji T, Imazeki I, Ikeda H, Nishimura T. Immunosteroid as a regulator for Th1/Th2 balance: its possible role in autoimmune diseases. *Autoimmunity* 2005; 38 (5): 369-375.
19. Romagnani S. T-cell subsets (Th1 versus Th2). *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000; 85(1):9-18.
20. Arsic-Komljenovic G. Uticaj pozitivnog +Gz ubrzanja na neuroendokrini i imunski odgovor doktorska disertacija 2007 VMA Beograd