

Glikobiologija psihološkog stresa

Gordan Lauc, Jerka Dumić i Mirna Flögel

Medicinski fakultet Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Stručni rad

UDK 616.89-039.31:577.112.85

Prispjelo: 25. kolovoza 1999.

Kada je ljudski organizam izložen stresu, preraspodjeljuje svoje energetske izvore u očekivanju nadolazeće opasnosti. Pri tome se najviše aktiviraju motorički i osjetilni sustavi, dok su probavni, imuni, reproduktivni, te ostali sustavi koji nisu nužni u situaciji izravne opasnosti, privremeno prigušeni. To je, naravno, korisno u situaciji stvarne fizičke opasnosti, no, ukoliko takvo stanje traje predugo, ili se ponavlja previše često, neminovno dolazi do oštećenja prigušenih sustava.

Stres i njegove posljedice jedan su od ključnih problema suvremenog društva. Između jedne i dvije trećine svih posjeta liječniku posljedica su stresa. Brojna epidemiološka i eksperimentalna ispitivanja, provedena tijekom proteklih godina, jasno su dokumentirala vezu između stresa i pojave, odnosno razvoja brojnih bolesti, a nedavne studije procjenjuju da su i do dvije trećine svih posjeta liječniku uzrokovane stresom.

Intenzivna istraživanja molekularnih mehanizama odgovora na psihološki stres, koja se provode u velikom broju laboratorija, postupno razjašnjavaju vezu između stresa i njegovih posljedica. Čini se da su glikokonjugati i njihovi receptori lektini značajno uključeni u taj proces. Detaljno razumijevanje biokemijskih osnova tih složenih procesa otvorit će mogućnost razvoja novih lijekova kojima bi se mogle ublažiti neke od negativnih posljedica stresa.

Ključne riječi: glikobiologija, stres

Posljednjih godina stres se razvio u opasnu epidemiju koja prijete suvremenom svijetu. Procjenjuje se da je između jedne i dvije trećine svih posjeta liječniku posljedica stresa, a da se ukupne štete, koje američka industrija trpi zbog stresa, kreću između 150 i 300 milijardi dolara godišnje. Brojna epidemiološka i eksperimentalna ispitivanja, provedena tijekom proteklih godina jasno su dokumentirala vezu između stresa i pojave, te razvoja brojnih bolesti: od jednostavnih virusnih infekcija (8) i čira na želucu (76), do diabetesa (23,55,69), kardiovaskularnih bolesti (16) i tumora (11,47).

Kada je ljudski organizam izložen stresu, preraspodjeljuje svoje energetske izvore u očekivanju nadolazeće opasnosti. Pri tome se najviše aktiviraju motorički i osjetilni sustavi, dok su probavni, imunološki, reproduktivni i ostali sustavi koji nisu nužni u situaciji izravne opasnosti privremeno prigušeni (67). To je, naravno, korisno u stanju stvarne fizičke opasnosti, ali, ukoliko takvo stanje traje predugo, ili se ponavlja previše često, neminovno dolazi do oštećenja prigušenih sustava (6,30).

Endokrini odgovor organizma na stres vrlo je složen i tek je djelomično razjašnjen. Iz tradicionalnih razloga dijelimo ga na simpato-adrenalomedularni sustav i tzv. HPA (Hypothalamus - Pituitary - Adrenal) osovina (hipotalamus - hipofiza - nadbubrežna žlijezda). Simpatički odjeljak autonomnog živčanog sustava reagira na stres u roku nekoliko sekundi i kontrolira većinu brzih fizioloških reakcija na stres. Osnovni mehanizmi djelovanja su odašiljanje izravnih signala putem simpatičke inervacije ciljnih organa i otpuštanje katekolamina (adrenalina i noradrenalina) iz srži nadbubrežne žlijezde u cirkulaciju. Manje poznati, ali također važan mehanizam je i otpuštanje brojnih drugih kemijskih glasnika kao što su neuropeptid Y, somatostatina, enkefalina, neurotenzina, ATP i nitrit oksid (NO).

U akutnom stresu HPA osovina djeluje u skladu s klasičnim Sayleovim modelom odgovora na stres (59). Otpuštanje hormona za oslobađanje kortikotropina (corticotropine releasing hormone - CRH) potiče oslobađanje adrenokortikotropnog hor-

mona (ACTH), koji potiče otpuštanje kortikosteroida (kortizol kod čovjeka, a kortikosteron kod štakora) iz kore nadbubrežne žlijezde. Čini se da su kortikosteroidi glavni efektori HPA osovine. Interakcijom sa specifičnim receptorima u tkivima oni pokreću ili moduliraju velik broj fizioloških procesa u odgovoru na stres. Međutim, odgovor na stres odvija se i drugim mehanizmima. Primjerice, velik broj organa ima receptore za CRH i druge neuropeptide, pa ti glasnici stresa djeluju izravno na tkiva, neovisno o aktivnosti kore nadbubrežne žlijezde (7,12,67).

Vrlo je zanimljivo da je u situacijama kroničnog stresa, ili poslijetraumatskog stresnog poremećaja, djelovanje HPA osovine bitno drugačije, tj. javlja se ono što nazivamo HPA paradoks. Za razliku od akutnog stresa, koji je povezan s povišenom razinom kortizola, u kroničnom stresu bazalna razina kortizola pada ispod normalne razine (32), dok je istovremeno značajno povećan broj glukokortikoidnih receptora (79,80). Uočena situacija mogla je nastati na tri različita načina. Snižena razina kortizola mogla bi biti primarni poremećaj izazvan kroničnim stresom, a povećan broj receptora prilagodba na tu situaciju. Druga je mogućnost da kronični stres uzrokuje povećanje broja receptora za kortikosteroide, koji onda jačom negativnom povratnom spregom snižavaju razinu kortizola. Kako su sva provedena istraživanja ispitivala samo trenutno stanje, otvorena je i mogućnost da su ljudi s fiziološki nižom bazalnom razinom kortizola manje otporni na stres, te da se stoga kod njih češće javljaju poslijetraumatski stresni poremećaji i druge posljedice kroničnog stresa.

Istraživanja na glodavcima i primatima pokazala su da stres i kortikosteroidi mogu dovesti do gubitka neurona u hipokampusu (64,65,66), a vrlo je zanimljiva pretpostavka da bi snižena razina kortizola u kroničnom stresu mogla biti prilagodba koja štiti neurone od citotoksičnih učinaka kortizola.

Veliki problem u razumijevanju endokrinološkog odgovora na stres predstavlja činjenica da je za odgovor stanice na hormonalni podražaj važnije stanje u kojem se ta stanica nalazi u

trenutku primanja signala, nego sam podražaj. Primjerice, mirujući neuroni hipokampusa ne reagiraju na podražaj kortikosteroidima ukoliko on nije upotpunjen aktivacijom neurotransmiterima, tj. utjecaj stresa vidljiv je samo na onim neuronima koji su aktivni (12).

Kortikosteroidne receptore nalazimo u kompleksu s više različitih proteina, među kojima su proteini toplinskog šoka (hsp90, hsp70, hsp40), p23, imunofilini, te rjeđe i neki drugi proteini (54). Točna interpretacija signala, tj. njegove molekularne posljedice mijenjaju se ovisno o trenutnom sastavu receptora. Dugo se vremena smatralo da su za interpretaciju signala koji stiže u obliku kortikosteroida, u stanici zaduženi isključivo unutarstanični receptori, no nedavno je otkriveno da usprkos činjenici da steroidni hormoni lako prolaze kroz staničnu membranu, specifični receptori za steroidne hormone postoje i na površini stanice (22,53).

UTJECAJ STRESA NA IMUNI SUSTAV

Tvrđnja da je imuni sustav pod izravnom kontrolom mozga i da psihološki poticaji mogu imati mjerljive biokemijske posljedice na imuni sustav, dobila je svoju znanstvenu osnovu tek prije nekoliko godina. Brojna istraživanja na ljudima i pokusnim životinjama pokazala su da postoji nekoliko mehanizama kojima mozak nadzire imuni sustav. Gusta simpatička inervacija primarnih i sekundarnih limfoidnih tkiva omogućava autonomnom živčanom sustavu izravnu kontrolu imunog sustava (17,18). Pored toga, na stanicama imunog sustava postoje specifični receptori za kemijske glasnike stresa, kao što su katekolamini (20), hormon za otpuštanje kortikotropina (CRH) i kortikosteroidi (49). U isto vrijeme na neuronima u mozgu postoje receptori za upalne citokine (TNF- α , IL-1 i IL-6) putem kojih imuni sustav šalje povratne informacije mozgu i aktivira stresni odgovor pri jačim upalnim reakcijama (52,67).

Činjenica da stres ima negativan učinak na imuni sustav poznata je već više od dva desetljeća (28,63). Taj učinak dijelom je posljedica izravnog djelovanja kortikosteroida, no kako je vidljiv i kod životinja kojima je uklonjena nadbubrežna žlijezda (29), očito je da postoje i alternativni mehanizmi djelovanja. Primjerice hormon za otpuštanje kortikotropina izravno se veže na specifične receptore na stanicama imunološkog sustava i snižava staničnu i humoralnu imunost (24,28), a vrlo je vjerojatno da postoje i drugi, još uvijek nepoznati mehanizmi.

Tijekom proteklih godina provedena su brojna istraživanja o učinku stresa na imuni sustav i nedvojbeno je utvrđeno da izloženost stresu smanjuje proizvodnju specifičnih protutijela (41,80) i aktivnost stanica prirodnih ubojica (15,25), što je vjerojatno jedan od važnih mehanizama kojima stres potiče razvoj brojnih bolesti.

GLIKOZILACIJA PROTEINA U STRESU

Gotovo svi membranski i serumski, te veliki broj citoplazmatskih proteina, su glikoproteini (21,62). Biosinteza šećernih dijelova glikokonjugata iznimno je složena i energijski skupa za stanicu (58), a postojanje više alternativnih puteva za sintezu (56) upućuje na veliku važnost oligosaharidnih struktura. Zbog velike strukturne raznolikosti, tek je razvoj novih metoda u posljednjih nekoliko godina omogućio bolji uvid u njihove fiziološke uloge. Jasno je pokazano da su glikokonjugati ključni za normalno odvijanje brojnih fizioloških procesa, od oplodnje (26) i upalnih reakcija (33), do regulacije aktivnosti hormona

(48), razvoja mozga (5) i uspostavljanja memorije (58). Brojne bolesti povezane su sa specifičnim promjenama u strukturi oligosaharida na proteinima akutne faze (73) i imunoglobulinima (51) koje mogu imati značajnu ulogu u modulaciji imunološkog odgovora (72), a moguće ih je iskoristiti i u razvoju novih metoda farmakoterapije (60,77).

Prve studije o utjecaju stresa na glikozilaciju proteina provedene su krajem osamdesetih godina na životinjskom modelu. Tsukada i suradnici ispitivali su glikozilaciju želučane mukoze i utvrdili da je kod životinja, koje su bile izložene stresu, ugradnja N-acetilgalaktozamina 50% manja no kod kontrolnih životinja (70). Slične rezultate dobili su Hirano i suradnici koji su ispitivali promjene u glikozilaciji želučane mukoze, mjereći vezanje specifičnih lektina (31,50). Za nekoliko lektina utvrđene su značajne promjene vezanja, a najupečatljivija je bila promjena vezanja PNA lektina koji specifično prepoznaje galaktozu, vezanu $\beta(1-3)$ -glikozidnom vezom na N-acetilgalaktozamin. Nažalost, istraživanja ove problematike nisu nastavljena, no ona su nedvojbeno uputila na mogućnost da šećerne strukture imaju određenu ulogu u odgovoru na stres.

Neizravnu potvrdu ove pretpostavke pružila su istraživanja glikozilacije proteina akutne faze, u kroničnim depresijama. Već neko vrijeme poznato je da depresija može značajno utjecati na imuni sustav, posebice na neke pozitivne proteine akutne faze kao što su haptoglobin i α_1 -kiselni glikoprotein (44,71), a slične promjene utvrđene su i kod stresa uslijed kirurške operacije (4). Nedavno je otkriveno da i jednokratni nekontrolirani stres može aktivirati odgovor akutne faze u eksperimentalnim životinjama (14). Gotovo svi proteini akutne faze u značajnoj su mjeri glikozilirani, a, osim promjena u koncentraciji samih proteina, u depresijama dolazi i do specifičnih promjena njihove glikozilacije (61). Do značajnih promjena u glikozilaciji proteina akutne faze dolazi i u slučaju upalnih procesa, te nekih drugih bolesti povezanih sa stresom (71,73). Vrlo je zanimljiva pretpostavka da su te promjene povezane s regulacijom imunog odgovora (72). Prva ispitivanja promjena glikozilacije proteina u stresu kod ljudi provedena su u našem laboratoriju početkom devedesetih godina. Rabeći digoksigeninom obilježene lektine i Western blot metodu za identifikaciju promjena glikozilacije pojedinih proteina, utvrdili smo da su glikozilacijski profili seruma ljudi izloženih stresu bitno različiti od kontrola (3,19). Najzanimljivijim se pokazao glikoprotein prividne mase 57 kDa, koji smo nazvali stresin (35). Dok je u serumima zarobljenika, oslobođenih iz srpskih koncentracijskih logora, koncentracija stresina bila neuporedivo veća no u kontrolnim uzorcima (19), u profesionalnih vojnika utvrđeno je povećanje od približno 2,6 puta (35). Svega 5% kontrolnih ispitanika imalo je koncentracije stresina u rasponu koncentracija profesionalnih vojnika (slika 1), što upućuje na činjenicu da bi porast koncentracije stresina mogao biti razmjern intenzitetu stresa (36).

Stresin smo pročistili tekućinskom kromatografijom, a masenom spektrometrijom triptičkih fragmenata utvrdili smo da se radi o dosad nepoznatom proteinu (39). Stresin je izrazito glikozilirani protein. Više od 40% ukupne mase čine složeni N-vezani oligosaharidi, što s obzirom na relativne gustoće proteina i ugljikohidrata znači da je proteinski dio svega između 15 i 30% ukupnog volumena molekule. Zanimljivo je da je na svakoj molekuli stresina vezano prosječno 12 molekula sijalinske kiseline, što čitavoj molekuli daje izrazito negativan naboj.

LEKTINI U STRESU

Jedna od osnovnih zadaća složenih oligosaharidnih struktura je interakcija sa specifičnim receptorima - lektinima (42) koji služe kao medijatori u interpretaciji informacije pohranjene u glikokonjugatima (43). Nagovještaj da bi se lektini mogli mijenjati u stresu došao je iz istraživanja koja su samo djelomično povezana sa stresom. Bardosi i suradnici ispitivali su utjecaj produžene anestezije na aktivnost lektina u polimorfonuklearnim leukocitima periferne krvi miša. Pronašli su značajno sniženje izražaja manoznog receptora, te promjene izražaja receptora za nekoliko drugih monosaharida (12).

Prvi izravni dokaz da psihološki stres može utjecati na aktivnost lektina pronašli smo ispitujući aktivnost lektina u jetri štakora izloženih stresu. Utvrdili smo da u štakora koji su bili izloženi imobilizacijskom stresu dolazi do supročišćavanja galektina-3 i jednog drugog lektina nazvanog CBP67 (40). Stvaranje kompleksa između galektina-3 i CBP67 dovelo je do zadržavanja galektina-3 na koloni s imobiliziranom glukozom, za koju galektin-3 u normalnim uvjetima ne pokazuje afinitet. To je vrlo zanimljivo jer je predloženo da je galektin-3 uključen u izrezi-

vanje mRNA (10,47), te bi promjene u njegovoj aktivnosti mogle imati značajan učinak na čitavu stanicu. Doduše, još uvijek nije razjašnjeno da li je vezanje zasnovano na interakciji protein - protein, ili vezanju šećernih struktura na CPB67 u lektinsko mjesto galektina-3 (37). Primjenjujući metodu koju smo sami razvili (34), ispitili smo aktivnost drugih lektina i utvrdili da stres potiče i pojavu jednog do sada nepoznatog lektina koji smo nazvali CBP33 (38).

Rabeći M3/38 monoklonsko protutijelo ispitili smo utjecaj imobilizacijskog stresa na ekspresiju galektina-3 u jetri, slezeni i peritonejskim makrofagima miševa soja RFM i C3H. Primjer analize prikazan je na slici 2. U svim ispitivanim tkivima stres je uzrokovao značajno sniženje galektina-3, a najizrazitiji pad galektina-3 uočen je u slezeni odraslih RMF miševa i jetri starih C3H miševa (tablica 1). Iako točan smisao pada razine galektina-3 u stresu nije poznat, vrlo je zanimljivo da je jednokratna i razmjerno kratka imobilizacija bila dovoljan poticaj za tako značajnu promjenu.

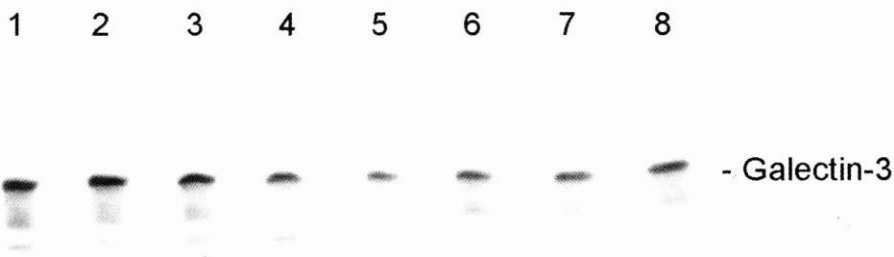
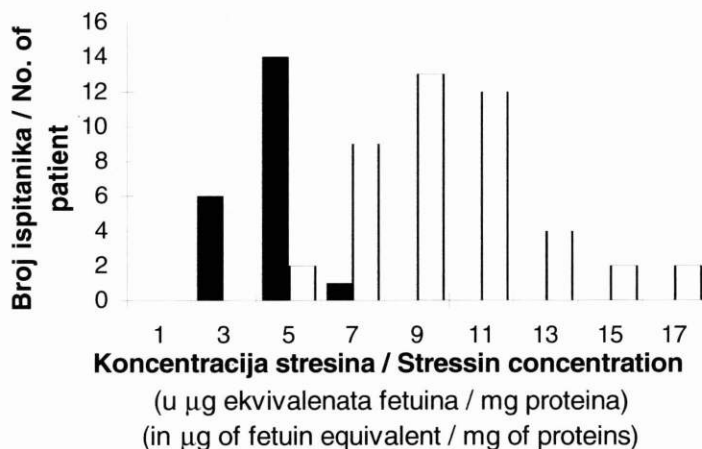
Galektin-3 je rani gen s nekoliko NFκB i AP1 regulatornih mjesta u promotorskoj regiji (27). Poznato je da kortikosteroidi inhibiraju ekspresiju gena koji su regulirani pomoću NFκB(12),

SLIKA 1.

Raspodjela koncentracija stresina u serumu ispitanika izloženih stresu (bijeli) i kontrolnih ispitanika (crno)

FIGURE 1.

Distribution of stressin concentration in the sera of patients exposed to stress (white) and in controls (black)



Slika 2.

Ispitivanje razine galektina-3 u jetri. Nakon homogenizacija tkiva slezene, proteini (15 µg po uzorku) su razdvojeni SDS poliakrilamidnom gel elektroforezom i preneseni na PVDF membranu. Galektin-3 je prepoznat pomoću M3/38 monoklonskog protutijela i obojen rabeći sekundarno protutijelo na štakorske imunoglobuline obilježeno alkalnom fosfatazom. (1-4) kontrolni odrasli RFM miševi; (5-8) odrasli RMF miševi izloženi imobilizacijskom stresu u trajanju od 2 h.

Figure 2.

The examination of hepatic galectin-3 levels. Following lial tissue homogenisation, the protein (15 µg of each sample) were separated by the polyacrilamide gel electrophoresis and transferred to a PVDF membrane. Galectin-3 has been determined with M3/38 monoclonal antibody and stained using the secondary antibody to rat immunoglobulins marked by alkaline phosphatase.

(1-4) Control group adult RFM mice; (5-8) adult RMF mice exposed to immobilisation stress lasting for 2 hours.

kao i AP1 u nekim stanicama (one u kojima se na AP1 vezno mjesto vežu c-fos/c-jun heterodimeri) (13). Poništavanje pozitivne regulacije galektina-3 pomoću NFkB i AP1 zbog povišene razine kortikosteroida u cirkulaciji vjerojatno je objašnjenje uočenog efekta.

UTJECAJ STRESA NA AKTIVNOST GLIKOZILTRANSFERAZA

Strukture složenih oligosaharida nastaju uzastopnim djelovanjem velikog broja glikoziltransferaza i glikozidaza (58). Točna struktura nekog oligosaharida nije zapisana u genima već je posljedica regulacije ekspresije, aktivnosti i unutarstanične raspodjele navedenih enzima. Zbog velikog broja različitih enzima, malog broja kopija po stanici, te nepostojanja bakterijskih analoga, o regulaciji glikozilacije zna se vrlo malo. Eksperimenti in vitro pokazali su da kortikosteroidi mogu utjecati na aktivnost sijaliltransferaza (75), a nedavno su ti učinci potvrđeni i in vivo (9). Učinci kortikosteroida tkivno su specifični, tj. različita tkiva na drugi način interpretiraju isti signal. Vrlo je zanimljivo da $\alpha(2,3)$ sijaliltransferaza i $\alpha(2,6)$ sijaliltransferaza nisu regulirane na isti način i da različito reagiraju na promjene u razini hormona

u cirkulaciji (45). U nekim psihijatrijskim poremećajima također dolazi do promjena u aktivnosti sijaliltransferaza što bi moglo uputiti na mehanizam koji dovodi do promjena u strukturama složenih oligosaharida u tim bolestima (46).*

GLIKOBIOLOGIJA STRESA

Organizam, izložen promjenama u okolini, prilagođava se nepovoljnim okolnostima tako što preraspodjeljuje raspoložive energijske izvore. Različiti hormoni, prvenstveno kortikosteroidi, važne su signalne molekule koje dovode do brojnih promjena u organizmu. Jedna od posljedica je i promijenjena aktivnost različitih glikoziltransferaza, primjerice sijaliltransferaza. Promjene u aktivnosti glikoziltransferaza dovode do nastanka novih, promijenjenih šećernih struktura na glikoproteinima. Takve, promijenjene strukture mogu regulirati aktivnost ili stabilnost glikoziliranih proteina te izravno stupati u interakcije sa specifičnim endogenim lektinima. Iako ovaj model (slika 3) još uvijek nije u potpunosti provjeren, dosadašnji rezultati upućuju na činjenicu da bi upravo promjene u glikozilaciji mogle objasniti barem neke od razlika između kroničnog i akutnog stresa.

TABLICA 1.

Učinak imobilizacije na galektin-3 u slezeni, jetri i makrofagima miša. Razina galektina-3 mjerena je pomoću M3/38 monoklonskog protutijela i izražena kao postotak koncentracije kod kontrolnih miševa.

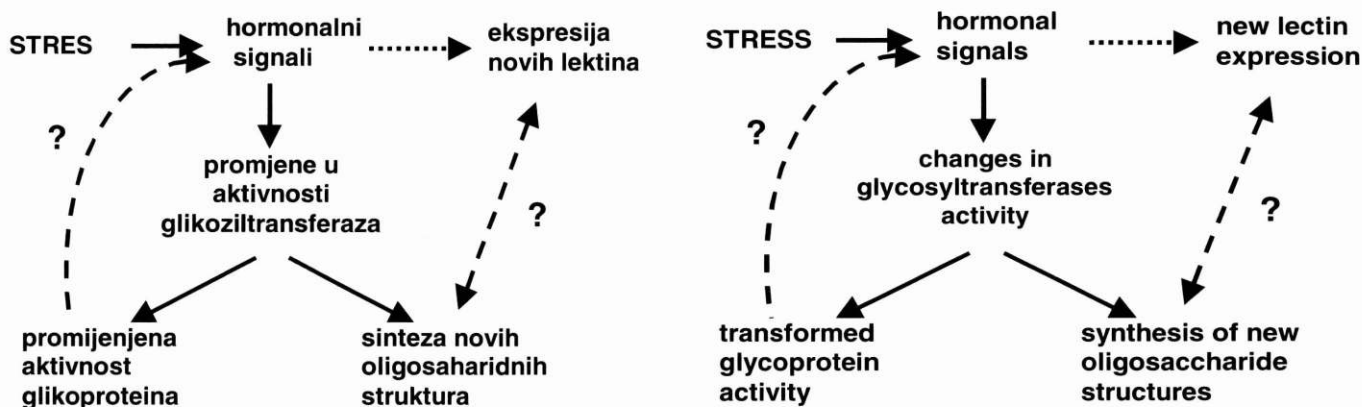
TABLE 1.

The impact of immobilisation on galectin-3 in the spleen, liver and macrophages of the mice. The levels of galectin-3 were measured by the M3/38 monoclonal antibody and expressed as the percentage of concentration in the control group mice.

	Galektin-3 (% kontrole) <i>Galectin-3 (% controls)</i>	SD**	p (ANOVA)
Odrasli RMF miševi / <i>Adult RMF mice</i>			
slezena / <i>spleen</i>	53	9.2	0.002
jetra / <i>liver</i>	71	5.9	0.0002
makrofagi / <i>macrophages</i>	65	*	*
Odrasli C3H miševi / <i>Adult C3H mice</i>			
slezena / <i>spleen</i>	85	5.2	0.08
jetra / <i>liver</i>	53	10.4	0.001
makrofagi / <i>macrophages</i>	86	*	*
Stari C3H miševi / <i>Adult C3H mice</i>			
slezena / <i>spleen</i>	69	9.8	0.03
jetra / <i>liver</i>	53	7.6	0.01
makrofagi / <i>macrophages</i>	61	*	*

* Zbog niske razine galektina-3 u makrofagima, stanice izolirane iz svih miševa unutar jedne kategorije spojene su i analizirane zajedno. / *Due to low level of galectin-3 in macrophages, the cells isolated from all mice within one category have been joined and analysed together.*

** Standardna devijacija je izražena kao postotak prosječne razine galektina-3 u skupini miševa izloženih stresu. / *Standard deviation is expressed as a percentage of the average galectin-3 level in the group of mice exposed to stress.*



SLIKA 3.
 Model glikobiologije stresa
FIGURE 3.
 Glycoimmunology stress model

LITERATURA

1. Bardosi L, Bardosi A, and Gabius HJ. Changes of expression of endogenous sugar receptors by polymorphonuclear leukocytes after prolonged anaesthesia and surgery. *Can J Anaesth* 1992;39: 143-50.
2. Bardosi L, Bardosi A, Hendry M, and Gabius HJ. Reduced expression of mannose-specific receptors on murine peripheral blood polymorphonuclear leukocytes following prolonged anaesthesia with different inhalation agents. *Acta Anaesth Scand* 1990;34: 286-90.
3. Barišić K, Lauc G, Dumić J, Pavlović M, and Flögel M. Changes of glycoprotein patterns in sera of humans under stress. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34: 97-101.
4. Booker PD, Taylor C, and Saba G. Perioperative changes in alpha 1-acid glycoprotein concentrations in infants undergoing major surgery. *Br J Anaesth* 1996; 76: 365-8.
5. Breen KC, Coughlan CM, and Hayes FD. The role of glycoproteins in neural development, function and disease. *Mol Neurobiol* 1998 ;16: 163-220.
6. Breslau N, Kessler RC, Chilcoat HD, Schultz LR, Davis GC, and Andreski P. Trauma and posttraumatic stress disorder in the community: the 1996 Detroit Area Survey of Trauma. *Arch Gen Psych* 1998; 55: 626-32.
7. Chrousos GP, McCarty R, Pacak K, Cizza G, Sternberg E, Gold PW, and Kvetnansky R. Stress - Basic mechanisms and clinical implications (New York: New York Academy of Sciences) . 1995.
8. Cohen S, Tyrrell DA, and Smith AP. Psychological stress and susceptibility to the common cold. *N Engl J Med* 1991;325: 606-12.
9. Coughlan CM, Seckl JR, Fox DJ, Unsworth R, and Breen KC. Tissue-specific regulation of sialyltransferase activities in the rat by corticosteroids in vivo. *Glycobiology* 1996; 6: 15-22.
10. Dagher SF, Wang JL, and Patterson RJ. Identification of galectin-3 as a factor in pre-mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:1213-7.
11. Das D, and Banerjee RK. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. *Mol Cell Biochem.* 1993;125:115-25.
12. De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, and Joels M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocrin Rev* 1998; 19: 269-301.
13. De Nicola AF, Ferrini M, Gonzalez SL, Gonzalez Deniselle MC, Grillo CA, Piroli G, Saravia F, and de Kloet ER. Regulation of gene expression by corticoid hormones in the brain and spinal cord. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 1998;65: 253-72.
14. Deak T, Meriwether JL, Fleshner M, Spencer RL, Abouhamze A, Moldawer LL, Grahn RE, Watkins LR, and Maier SF. Evidence that brief stress may induce the acute phase response in rats. *Am. J Physiol* 1997; 273: R1998-2004.
15. Dekaris D, Sabioncello A, Mazuran R, Rabatic S, Svoboda-Beusan I, Racunica NL, and Tomasic J. Multiple changes of immunologic parameters in prisoners of war. Assessments after release from a camp in Manjaca, Bosnia. *JAMA* 1993;270: 595-9.
16. Engler MB, and Engler MM Assessment of the cardiovascular effects of stress. *J. Cardio. Nursing* 1995;10: 51-63.
17. Felten SY, Felten DL, Bellinger DL, and Olschowka JA. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid organs. *Chem Immunology* 1992; 52: 25-48.
18. Felten. SY, and Olschowka J. Noradrenergic sympathetic innervation of the spleen: II. Tyrosine hydroxylase (TH)-positive nerve terminals form synapticlike contacts on lymphocytes in the splenic white pulp. *J Neurosci Res* 1987; 18: 37-48.
19. Flögel M, Lauc G, Žanić T, Dumić J, and Barišić K. 57 kd glycoprotein in sera of humans under stress. *Croat Chem Acta* 1996; 69: 371-78.
20. Fuchs BA, Albright JW, and Albright JF. Beta-adrenergic receptors on murine lymphocytes: density varies with cell maturity and lymphocyte subtype and its decreased after antigen administration. *Cellul Immunol* 1988;114: 231-45.
21. Gahmberg CG, and Tolvanen M. Why mammalian cell surface proteins are glycoproteins. *Trends Biochem Sci* 1996; 21: 308-11.
22. Grazzini E, Guillon G, Mouillac B, and Zingg HH. Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature* 1998;392:509-12.
23. Hagglof B, Blom L, Dahlquist G, Lonnberg G, and Sahlin B. The Swedish childhood diabetes study: indications of severe psychological stress as a risk factor for type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in childhood. *Diabetologia* 1991;34:579-83.
24. Irwin M. Brain corticotropin-releasing hormone- and interleukin-1 beta-induced suppression of specific antibody production. *Endocrinology* 1993a; 133:1352-60.
25. Irwin M. Stress-induced immune suppression. Role of the autonomic nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 1993b;697: 203-18.
26. Johnston DS, Wright WW, Shaper JH, Hokke CH, Van den Eijnden DH, and Joziassse DH. Murine sperm-zona binding, a fucosyl residue is required for a high affinity sperm-binding ligand. A second site on sperm binds a nonfucosylated, beta-galactosyl-capped oligosaccharide. *J Biol Chem* 1998; 273: 1888-95.
27. Kadrofske MM, Openo KP., and Wang JL. The human LGALS3 (galectin-3) gene: determination of the gene structure and functional characterization of the promoter. *Arch Biochem. Biophys* 1998;349:7-20.
28. Keller S E, Weiss JM, Schleifer SJ, Miller NE, and Stein M. Suppression of immunity by stress: effect of a graded series of stressors on lymphocyte stimulation in the rat. *Science* 1981; 213: 1397-400.
29. Keller SE, Weiss JM, Schleifer SJ, Miller NE, and Stein M. Stress-induced suppression of immunity in adrenalectomized rats. *Science* 1983; 221: 1301-4.
30. Kessler RC, Sonnega A, Bromet E, Hughes M, and Nelson CB. Posttraumatic stress disorder in the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psych* 1995; 52: 1048-60.
31. Kitajima M, Mogi M, Kiuchi T, Shimizu A, Nakajima M, Oshima A, Kawakami H, and Hirano H. Alternation of gastric mucosal glycoprotein (lectin-binding pattern) in gastric mucosa in stress. A light and electron microscopic study. *J Clin Gastroent* 1990;12: S1-7.
32. Kocijan-Hercigonja D, Sabioncello A, Rijavec M, Folnegovic-Smalc V, Matijević, L, Dunevski I, Tomasic J, Rabatic S, and Dekaris D.

- Psychological condition hormone levels in war trauma. *J Psych Res* 1996;30: 391-9.
33. Lasky L A. Selectins: interpreters of cell-specific carbohydrate information during inflammation. *Science* 1992;258:964-9.
34. Lauc G, Barišić K, Žanić T, and Flögel M. The photoreactive carbohydrate probe, a novel method for detection of lectins. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33: 933-7.
35. Lauc G, Dabelić S, Dumić J, and Flögel M. Stressin and natural killer cell activity in professional soldiers. *Ann N Y Acad Sci* 1998a; 851: 526-530.
36. Lauc G, Dabelić S, Šupraha S, and Flögel M. Glycobiology of Stress *Ann N Y Acad Sci* 1998b;851:397-403.
37. Lauc G, and Flögel M. Galectins - a new family of lectins. *Croat Chem Acta* 1996; 69: 339-352.
38. Lauc G, Flögel M, Diehl-Seifert B, Schröder HC, and Müller WE. Identification and purification of a stress associated nuclear carbohydrate binding protein (M(r) 33,000) from rat liver by application of a new photoreactive carbohydrate probe. *Glycoconjugate J* 1994;11:541-9.
39. Lauc G, Peter-Katalinić J, Dabelić S, and Flögel M. Purification and MALDI-MS characterization of a stress - associated glycoprotein from sera of professional soldiers. *Biol Chem* 1999;380:443-450.
40. Lauc G, Seve AP, Hubert J, Flögel M, Muller WE, and Schroder HC. HnRNP CBP35-CBP67 interaction during stress response and ageing. *Mech Age Dev* 1993;70:227-36.
41. Laudenslager ML, Fleshner M, Hofstadter P, Held PE, Simons L, and Maier SF. Suppression of specific antibody production by inescapable shock: stability under varying conditions. *Brain Beh Immun* 1988;2: 92-101.
42. Lee YC. Sweet and shapely: ligands for animal lectins. *Biochem. Soc. Trans.* 1993; 21:460-3.
43. Lee YC, and Lee RT. Carbohydrate - protein interactions: basis of glycobiochemistry. *Acc Chem Res* 1995;28:321-7.
44. Maes M, Wauters A, Neels H, Scharpe S, Van Gastel APDH, Peeters D, Cosyns P, and Desnyder R. Total serum protein and serum protein fractions in depression: relationships to depressive symptoms and glucocorticoid activity. *J Affect Disord* 1995;34: 61-9.
45. Maguire TM, Coughlan CM, Seckl JR, and Breen KC. The effect of corticosteroids on serum sialyltransferase enzyme activities in the rat. *Biochem Biophys Acta* 1998;1379:23-8.
46. Maguire TM, Thakore J, Dinan TG, Hopwood S, and Breen KC. Plasma sialyltransferase levels in psychiatric disorders as a possible indicator of HPA axis function. *Biol Psychiatry* 1997;41:1131-6.
47. Malyszko J, Urano T, Takada Y, and Takada A. Stress-dependent changes in fibrinolysis, serotonin and platelet aggregation in rats. *Life Sci* 1994;54: 1275-80.
48. Manzella SM, Dharmesh SM, Beranek MC, Swanson P, and Baenziger JU. Evolutionary conservation of the sulfated oligosaccharides on vertebrate glycoprotein hormones that control circulatory half-life. *J Biol Chem* 1995; 270:21665-71.
49. Miller AH, Spencer RL, Pearce BD, Pisell TL, Azrieli Y, Tanapat P, Moday H, Rhee R, and McEwen BS. Glucocorticoid receptors are differentially expressed in the cells and tissues of the immune system. *Cellul Immunol.* 1998;186: 45-54.
50. Mogi M, Kitajima M, Kiuchi T, Kawakami H, and Hirano H. Alteration of the gastric mucosal glycoprotein in stress. *Jap J Gastroenterol* 1990;87:1131-8.
51. Parekh RB, Dwek RA, Sutton BJ, Fernandes DL, Leung A, Stanworth D, Rademacher TW, Mizuochi T, Taniguchi T, and Matsuta K. Association of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis with changes in the glycosylation pattern of total serum IgG. *Nature* 1985;316:452-7.
52. Perlstein RS, Whitnall MH, Abrams JS, Mougey EH, and Neta R. Synergistic roles of interleukin-6, interleukin-1, and tumor necrosis factor in the adrenocorticotropin response to bacterial lipopolysaccharide in vivo. *Endocrinology* 1993;132:946-52.
53. Picard D. Molecular endocrinology. Steroids tickle cells inside and out. *Nature* 1998;392:437-8.
54. Pratt WB, and Toft DO. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones. *Endocrin Rev* 1997;18:306-60.
55. Raikonen K, Keltikangas-Jarvinen L, Adlercreutz H, and Hautanen A. Psychosocial stress and the insulin resistance syndrome. *Metabolism Clin. Exp.* 1996;45:1533-8.
56. Roberts DB, Mulvany WJ, Dwek RA, and Rudd PM. Mutant analysis reveals an alternative pathway for N-linked glycosylation in *Drosophila melanogaster*. *Eur J Biochem.* 1998; 253: 494-8.
57. Rose SP. Cell-adhesion molecules, glucocorticoids and long-term-memory formation. *Trends Neurosci* 1995;18:502-6.
58. Rudd PM, and Dwek RA. Glycosylation: heterogeneity and the 3D structure of proteins. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1997;32:1-100.
59. Seyle H. The general adaptatyon syndrome and the distress of adaptation. *J Clin Endocrinol* 1946; 6: 117-230.
60. Skurk C, Buerke M, Guo JP, Paulson J, and Lefer AM. Sialyl Lewisx-containing oligosaccharide exerts beneficial effects in murine traumatic shock. *Am J Physiol* 1994;267:H2124-31.
61. Sluzewska A, Rybakowski JK, Sobieska M, and Wiktorowicz K. Concentration and microheterogeneity glycoproteins of alpha-1-acid glycoprotein in major depressive disorder. *J Affect Disord* 1996;39:149-55.
62. Snow DM, and Hart GW. Nuclear and cytoplasmic glycosylation. *Int Rev Cytol* 1998;181:43-74.
63. Stein M, Schiavi RC, and Camerino M. Influence of brain and behavior on the immune system. *Science* 1976;191:435-40.
64. Stein MB, Hanna C, Koverola C, Torchia M., and McClarty, B. Structural brain changes in PTSD. Does trauma alter neuroanatomy? *Ann N Y Acad Sci* 1997; 821:76-82.
65. Stein-Behrens B, Mattson MP, Chang I, Yeh M, and Sapolsky R. Stress exacerbates neuron loss and cytoskeletal pathology in the hippocampus. *J Neurosci* 1994a;14:5373-80.
66. Stein-Behrens BA, Lin WJ, and Sapolsky RM. Physiological elevations of glucocorticoids potentiate glutamate accumulation in the hippocampus. *J Neurochem* 1994b;63:596-602.
67. Stratakis CA, and Chrousos GP. Neuroendocrinology and pathophysiology of the stress system. *Ann N Y Acad Sci* 1995;771:1-18.
68. Strausbaugh H, and Irwin M. Central corticotropin-releasing hormone reduces cellular immunity. *Brain Beh Immun.* 1992;6: 11-7.
69. Thernlund GM, Dahlquist G, Hansson K, Ivarsson SA, Ludvigsson J, Sjoblad S, and Hagglof B. Psychological stress and the onset of IDDM in children. *Diabetes Care* 1995;18:1323-9.
70. Tsukada H, Seino Y, Ueda S, Uchino H, and Sakai M. Influence of water-immersion stress on synthesis of mucus glycoprotein in the rat gastric mucosa. *Scand J Gastroenterol* 1989;162(suppl.): 19-22.
71. Turner GA. Haptoglobin. A potential reporter molecule for glycosylation changes in disease. *Adv Exp Med Biol* 1995; 376: 231-8.
72. Van Dijk W, Brinkman-Van der Linden EC, and Havenaar EC. Occurrence and possible function of inflammation-induced expression of sialyl Lewis-x on acute-phase proteins. *Adv Exp Med Biol* 1998; 435:145-50.
73. Van Dijk W, Turner GA, and Mackiewicz A. Changes in glycosylation of acute phase proteins in health and disease: Occurrence, regulation and function. *Glycosyl Dis* 1994;1:5-14.
74. Vyakarnam A, Dagher SF, Wang JL, and Patterson RJ. Evidence for a role for galectin-1 in pre-mRNA splicing. *Mol Cell Biol* 1997;17: 4730-7.
75. Wang XC, Smith TJ, and Lau JT. Transcriptional regulation of the liver beta-galactoside alpha 2,6-sialyltransferase by glucocorticoids. *J Biol Chem* 1990; 265:17849-53.
76. Weiner H. The behavioral biology of stress and psychosomatic medicine. In MR. Brown, GF. Koob and C. Rivier, eds., *Stress: Neurobiology and neuroendocrinology*. Dekker: New York, 1991; pp. 21-51.
77. Weiser MR, Gibbs SA, Valeri CR, Shepro D, and Hechtman HB. Anti-selectin therapy modifies skeletal muscle ischemia and reperfusion injury. *Shock* 1996; 5:402-7.
78. Yehuda R. Sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in posttraumatic stress disorder. *Ann N Y Acad Sci* 1997a; 821:57-75.
79. Yehuda R. Stress and glucocorticoid. *Science* 1997b; 275:1662-3.
80. Zalcman S, and Anisman H. Acute and chronic stressor effects on the antibody response to sheep red blood cells. *Pharm Biochem Beh* 1993;46:445-52.

GLYCOBIOLOGY OF PSYCHOLOGICAL STRESS

Gordan Lauc, Jerka Dumić and Mirna Flögel

Medical School University "J. J. Strossmayer" in Osijek and Pharmaceutical-Biochemical School University in Zagreb

ABSTRACT

When exposed to stress, human organism re-distributes its sources of energy in the expectation of the coming danger. In such circumstances motor and sensory systems are activated at the most, whereas digestive, immune, reproductive and other systems, not essential in the situation of imminent danger remain temporarily suppressed. This, of course, is beneficial in case of real physical danger, however, if such a state lasts for too long or recurs too often, the suppressed systems inevitably get impaired.

Stress and its consequences are one of key issues of the modern society. Somewhere between one and two thirds of all doctors' visits is stress-related. Numerous epidemiological and experimental researches in recent years have clearly documented the correlation between stress and incidence of many diseases. The most recent studies estimate two thirds of all doctors' visits to be caused by stress. Intensive research into molecular mechanisms of responses to stress, conducted in many laboratories, gradually explains the correlation between stress and its consequences. Glycoconjugates and their receptors - the lectins seem to be directly involved in that process. Detailed understanding of the biochemical basis of those complex processes will create possibilities for the development of new drugs to alleviate some of the negative impacts of stress.

Key words: glycobiology, stress.