УДК 616.155.34

Состояние активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов в динамике тренировочного цикла

А.А. Савченко^{а,б}, К.П. Базарин^{б*}

^аНИИ медицинских проблем Севера СО РАМН,
Россия 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г

^бСибирский федеральный университет,
Россия 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

Received 04.11.2012, received in revised form 03.12.2012, accepted 27.12.2012

Исследовали метаболические реакции нейтрофильных гранулоцитов крови спортсменов, представителей различных видов спорта с преимущественным проявлением выносливости в динамике в течение года, в различных фазах годового тренировочного макроцикла. В конце подготовительного периода в нейтрофильных гранулоцитах активированы основные метаболические процессы: анаэробная и аэробная энергетика, глутатион-зависимая антиоксидантная система, а также пластические реакции, определяющие уровень реакций макромолекулярного синтеза и реактивность клеток. На фоне усталости в конце соревновательного периода в нейтрофилах наблюдается выраженное снижение активности исследуемых НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ, что определяет снижение биоэнергетических процессов, реакций пластического обмена, повышается вероятность апоптоза. В период отдыха полного восстановления метаболических процессов в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов не происходит.

Ключевые слова: спорт, иммунная система, нейтрофильные гранулоциты, спонтанная хемилюминесценция, индуцированная хемилюминесценция.

Введение

Иммунная система является одним из наиболее чувствительных индикаторов, отражающих реакцию организма на воздей-

ствие различных факторов внешней среды, в том числе и социально-психологических. Спортивная деятельность, в которой физическая нагрузка сочетается с выраженным

эмоциональным напряжением, служит причиной формирования вторичных иммунодефицитных состояний, известных также как «спортивный иммунодефицит». В последние 10-15 лет спортивная иммунология (*exercise immunology, sport immunology*) выделена в самостоятельную научную дисциплину. В базе данных PubMed содержится более двух тысяч публикаций, посвященных проблеме влияния спортивной деятельности на иммунную систему. Такой пристальный интерес к столь узкой области связан с многочисленными данными, подтверждающими значительно повышенную по сравнению с популяцией заболеваемость спортсменов острыми респираторными инфекциями, склонность к хронизации инфекционных процессов (Friman, Wesslen, 2000; Shephard, 2000; Koch et al., 2007).

Очевидно, что для спортсмена снижение иммунитета не только представляет риск повышенной вероятности развития инфекционных заболеваний, но означает и снижение спортивных результатов, так как нарушения в иммунной системе могут оказаться одними из ведущих факторов, лимитирующих работоспособность (Аронов, Иванова, 1987). Иммунная система очень важна в адаптационных реакциях организма спортсмена. Это связано с участием ее в удалении продуктов распада, образующихся в результате интенсификации окислительно-восстановительных процессов (Гаврилова, 2009).

Частота развития вторичных иммунодефицитных состояний у высококвалифицированных спортсменов, по данным (Першин и др., 2002), составляет 50-60 %, что сопоставимо с частотой иммунных нарушений у рабочих предприятий с вредными условиями труда. У спортсменов-профессионалов отмечается более высокая частота онкологических заболеваний (Полетаев, 2007). По данным

(Суздальницкий, Левандо, 2003), в соревновательный период респираторные заболевания регистрируются у 40 % спортсменов, частота возникновения бронхиальной астмы и респираторных аллергозов превосходит таковую в популяции (Гаврилова, 2009).

Высокая физическая нагрузка вызывает временное угнетение иммунной системы, выражающееся, в частности, в снижении уровня «респираторного взрыва» нейтрофилов, пролиферации лимфоцитов, снижение цитотоксической активности НК-клеток (*natural killer*), что обычно длится от 3 до 24 ч после окончания нагрузки в зависимости от ее длительности и интенсивности. Обычно изменения подобного рода можно обнаружить в том случае, если длительность нагрузки превышала 1,5 ч, а интенсивность составляла 55-75 % от уровня максимального потребления кислорода (МПК). Период интенсивных тренировок может вести к развитию хронического угнетения иммунитета, когда вышеперечисленные явления сохраняются более суток после окончания нагрузки, не восстанавливаются должным образом за период отдыха (Gleeson, 2004).

Тем не менее, несмотря на значительное количество исследований в области спортивной иммунологии, остаются малоизученными долговременные динамические изменения в иммунной системе, возникающие при высокой физической нагрузке, а также внутриклеточные механизмы таких изменений. В частности, интерес представляет исследование механизмов снижения функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов крови у спортсменов, парадоксальная реакция которых на стимуляцию зимозаном показана в нашей предыдущей работе (Bazarin, Savchenko, 2011). Уровни активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ выбраны в качестве показателей внутриклеточного ме-

таболизма по причине непосредственного участия данного класса ферментов в обеспечении функциональной активности исследуемых клеток иммунной системы (Березов, Коровкин, 1998; Савченко, Сунцова, 2011; Rutter et al., 2010; Youngster et al., 2010; Sirover, 2011).

Материалы и методы

В исследовании приняли участие спортсмены мужского пола, представители различных видов спорта с преимущественным проявлением выносливости. Количество обследуемых составило 51 человек. Возраст $22,1 \pm 3,7$ лет. Спортивная квалификация: 1-й разряд – 5 человек, кандидат в мастера спорта – 20 человек, мастер спорта – 18 человек, мастер спорта международного класса – 8 человек. В качестве контрольной группы обследованы 64 условно здоровых лица мужского пола, возраст $20,6 \pm 1,8$ лет, не испытывающих регулярных высоких физических нагрузок.

Образцы венозной крови у каждого из спортсменов забирали трижды в течение года – в конце подготовительного (условный пик формы), соревновательного (состояние максимальной усталости) и переходного (отдых) периодов; у лиц из контрольной группы – однократно. Образцы брали из локтевой вены утром, натощак, в состоянии покоя, как минимум через 12 ч после окончания физической нагрузки. Венозную кровь (10 мл) из локтевой вены забирали в центрифужные пробирки, хорошо перемешивали с 80 ЕД гепарина. Выделение нейтрофильных гранулоцитов осуществляли в двойном градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho = 1,077$ г/см³ для отделения мононуклеарных клеток и $\rho = 1,119$ г/см³ для выделения нейтрофильных гранулоцитов). Слой нейтрофильных гранулоцитов аккуратно переносили в центрифужную пробирку и трижды отмывали в физио-

логическом растворе при 400 g в течение 10 мин. По окончании третьего центрифугирования супернатант удаляли, а оставшиеся клетки распределяли в 2 мл раствора Хенкса. Подсчет производили в камере Горяева. Оценка чистоты выделенных нейтрофильных гранулоцитов (для этого клетки окрашивали по Романовскому-Гимза) показывала отсутствие лимфоцитов и эритроцитов. После подсчета количество клеток в суспензии доводили раствором Хенкса до 1 млн кл/мл.

Определение активности НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах проводили биолюминесцентным методом (Савченко, 1989). Данным методом определялась активность следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), малик-фермента (НАДФМДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназ (ЛДГ и НАДН-ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназ (МДГ и НАДН-МДГ), НАДФ- и НАДФН-зависимой реакции глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФН-ГДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДН-ГДГ), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ) и глутатионредуктазы (ГР). Для этого использовали ферментативный биолюминесцентный комплекс НАД(Ф)Н:ФМНоксидоредуктаза-люцифераза (изготовлена из очищенных методами ионообменной хроматографии и гель-фильтрации люциферазы из *Photobacterium leiognathi* и оксидоредуктазы из *Vibrio fischeri* в Институте биофизики СО РАН, г. Красноярск). Измерения проводили на биохемилюминесцентном анализаторе «CL-3606» (СКТБ «Наука», Красноярск). Активность дегидрогеназ выражали в ферментативных единицах (1 Е=1 мкмоль/мин) на 10^4 клеток (Березов, 1998).

Достоверность различий средних величин показателей активности ферментов с соответствующими данными, полученными в контрольной группе, оценивали по непараметрическому U-критерию Манна-Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc.).

Результаты и обсуждение

При исследовании уровней активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов в динамике тренировочного цикла обнаружено, что на пике формы значительно повышена активность Г6ФДГ (рис. 1а). На стадии усталости активность ферментов в клетках была резко снижена и незначительно повышалась в период отдыха. Активность ГР в нейтрофилах у спортсменов также статистически достоверно была повышена относительно контрольной группы в конце подготовительного периода (рис. 1б). На фоне максимальной усталости (окончание соревновательного периода) активность данного фермента снижалась, в период отдыха практически не изменялась, оставаясь, однако, статистически достоверно выше, чем у лиц контрольной группы. Уровень активности НАДФИЦДГ в нейтрофилах у спортсменов на пике формы в 5,2 раза превышал показатели контрольной группы (рис. 1в). В период усталости активность фермента значительно снижалась и оставалась низкой в период отдыха. Активность НАДФ-зависимых реакций глутаматдегидрогеназы в нейтрофилах у спортсменов на всех стадиях тренировочного цикла была статистически достоверно понижена относительно контрольной группы (рис. 1г). В то же время активность НАДФН-зависимых реакций ГДГ у спортсменов на пике формы соответствовала контрольному уровню, тогда как статистически достоверно снижалась на фоне усталости

(рис. 1д). Во время отдыха (переходный период) активность этого фермента оставалась ниже, чем в контрольной группе. Активность НАДФМДГ в нейтрофильных гранулоцитах спортсменов на всех стадиях тренировочного цикла соответствовала контрольной группе.

Исследование уровней активности НАД-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах спортсменов в динамике тренировочного цикла позволило установить аналогичные закономерности. Так, активность МДГ на пике формы была статистически достоверно повышена относительно контрольного диапазона, резко снижалась в конце соревновательного периода и не восстанавливалась в переходном периоде (рис. 2а). Аналогично изменялись уровни активности ЛДГ, НАДГДГ и НАДИЦДГ в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов: статистически достоверно повышались в конце подготовительного периода (условный пик формы), активность ферментов резко снижалась на фоне усталости (окончание соревновательного периода) и отсутствовало полное восстановление в период отдыха (рис. 2б-г). В то же время активность ГЗФДГ в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов в конце подготовительного периода не отличалась от таковой в контрольной группе, но статистически достоверно снижалась в конце соревновательного периода и повышалась в переходный период (рис. 2д).

Исследование уровней активности НАДН-зависимых реакций ЛДГ, МДГ и ГДГ в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов в динамике годового тренировочного цикла позволило установить следующие закономерности: в конце подготовительного периода (условный пик формы) активность была значительно повышена относительно контрольной группы (рис. 3а-в); в конце соревновательного периода наблюдалось резкое снижение активности и частичное ее восста-

Рис. 1. Средние показатели активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов на разных стадиях тренировочного цикла; к – контроль; п – окончание подготовительного периода (условный пик формы); с – окончание соревновательного периода (усталость); о – окончание переходного периода (отдых); р – достоверность различий показателей данного периода и контрольной группы

новление в переходный период, однако не достигающее уровня, выявленного на условном пике формы.

Исследуемые ферменты занимают ключевые позиции на разных метаболических путях клетки, которые в целом обеспечивают ее физиологические и функциональные потребности. Так, одним из механизмов функ-

ционального реагирования нейтрофильных гранулоцитов служит респираторный (или дыхательный) взрыв, реализация которого осуществляется через активацию пентозофосфатного цикла (Braga et al., 2009; Bazarin, Savchenko, 2011; Seth et al., 2011). Г6ФДГ – ключевой и инициализирующий фермент пентозофосфатного цикла (Бере-

Рис. 2. Средние показатели активности НАД-зависимых дегидрогеназ в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов на разных стадиях тренировочного цикла. Обозначения столбцов и достоверности различий как на рис. 1

зов, Коровкин, 1998; Левенкова и др., 2006). Повышение активности данного фермента в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов на пике формы определяет высокий уровень функциональной активности клеток за счет синтеза НАДФН в пентозофосфатном цикле, который используется НАДФ-оксидазой при синтезе супероксид-радикала. В то же время на фоне усталости наблюдалось выраженное

снижение активности данного фермента, что, в свою очередь, определяет понижение уровня синтеза активных форм кислорода и, соответственно, функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов. В период отдыха активность фермента повышалась, но не восстанавливалась полностью.

Для поддержания физиологического статуса на фоне респираторного взрыва в ней-

Рис. 3. Средние показатели активности НАДН-зависимых реакций в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов на разных стадиях тренировочного цикла (обозначения столбцов и достоверности различий как на рис. 1)

трофильных гранулоцитах должна активироваться глутатион-зависимая антиоксидантная система (Yuan et al., 2009; Harwood et al., 2011). Действительно, у спортсменов в состоянии условного пика формы наблюдалось повышение активности ГР, уровень активности которой снижался в конце соревновательного периода ниже уровня контрольной группы и не восстанавливался в период отдыха. Следовательно, активность глутатион-зависимой антиоксидантной системы в эти периоды у спортсменов снижена, что может отрицательно повлиять на состояние физиологического статуса данного типа клеток. Необходимо отметить, что статистически достоверных корреляционных связей между уровнями активности Г6ФДГ и ГР в нейтрофильных гранулоцитах у лиц контрольной группы и спортсменов в динамике тренировочного цикла не обнаружено. Это связано с тем, что

НАДФН, образованный на окислительно-восстановительной стадии пентозофосфатного цикла, расходуется не только для восстановления окисленного глутатиона, но и в НАДФН-оксидазной системе.

Анаэробное окисление глюкозы является основным энергопродуцирующим процессом в нейтрофильных гранулоцитах (Schuster et al., 2007; van Raam et al., 2008). При этом Г6ФДГ – основной конкурент гликолиза за субстрат. Тем не менее динамика изменения активности анаэробной реакции ЛДГ в нейтрофильных гранулоцитах спортсменов на различных этапах тренировочного цикла повторяет изменения активности Г6ФДГ. Одним из механизмов субстратного стимулирования реакций гликолиза служит приток продуктов липидного катаболизма через ГЗФДГ (Березов, Коровкин, 1998). Обнаружено, что у спортсменов в нейтрофильных гранулоцитах

активность данного фермента была снижена на пике формы и в период усталости, но повышалась в период отдыха. По-видимому, субстратный поток по гликолизу в состоянии условного пика формы и на фоне усталости преимущественно определяется уровнем транспорта глюкозы через цитоплазматическую мембрану клеток, тогда как во время отдыха уровень мембранного транспорта глюкозы снижается и, соответственно, компенсаторно повышается активность ГЗФДГ.

В последние годы проводятся интенсивные исследования роли митохондрий в физиологии и в проявлении функциональных реакций нейтрофильных гранулоцитов (Маянский и др., 2003; Ильин и др., 2009; Aulik et al., 2011; Geering, Simon, 2011). Установлены особенности зависящего от митохондрий механизма апоптоза нейтрофилов и изменение ряда митохондриальных процессов при функциональном реагировании. При анализе активности оксидоредуктаз митохондриального компартмента нейтрофильных гранулоцитов у спортсменов в динамике тренировочного цикла было обнаружено, что уровни активности МДГ и НАДИЦДГ (ферменты цикла трикарбоновых кислот) повышены в конце подготовительного периода, что приводит к интенсивному субстратному потоку по циклу Кребса и, соответственно, высокому уровню аэробного дыхания. В то же время в конце соревновательного и переходного периодов уровни активности данных ферментов значительно снижены, что определяет понижение уровня аэробного дыхания. НАДФИЦДГ характеризуется как вспомогательная реакция цикла трикарбоновых кислот, активность которой становится значимой при условиях высоких концентраций НАДН в митохондриальном компартменте. Кроме того, снижение активности фермента в митохондриальном компартменте также связывают с повыше-

нием риска развития апоптоза клеток (Kim, Park, 2010; Jung, Park, 2011; Kil et al., 2011). При этом динамика активности данного фермента также соответствует дегидрогеназам цикла Кребса. Следовательно, низкая активность НАДФИЦДГ в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов характеризует не только низкий компенсационный уровень субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот, но и повышенный риск развития апоптоза данного типа клеток.

Цикл трикарбоновых кислот является амфиболическим, тесно связан с реакциями аминокислотного обмена через НАД(Н)- и НАДФ(Н)-зависимые глутаматдегидрогеназы (Березов, Коровкин, 1998). В нейтрофильных гранулоцитах спортсменов динамика уровня НАДН-зависимого оттока субстратов с цикла Кребса на реакции аминокислотного обмена в ходе тренировочного цикла соответствует динамике активности исследуемых ферментов лимонного цикла: высокий уровень в состоянии условного пика формы, снижение на фоне усталости и недостаточное восстановление во время отдыха. НАДФН-зависимый отток реализуется через другой тип динамики: в конце подготовительного периода он соответствует уровню контрольной группы, наблюдается значительное снижение на фоне усталости (в конце соревновательного периода) и некоторое повышение в переходный период. Приток субстратов на цикл трикарбоновых кислот через НАДФДГ также соответствует стандартной динамике ферментов митохондриального компартмента в ходе годового макроцикла: высокий уровень на условном пике формы, снижение во время соревновательного периода, недостаточное восстановление в период отдыха. Активность НАДФГДГ в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов была снижена на всем протяжении годового макроцикла. Следовательно, отток субстра-

тов с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена осуществляется более интенсивно, чем приток. При этом НАД-зависимый субстратный обмен происходит в стандартной динамике активности ферментов в ходе соревновательно-тренировочного макроцикла. Однако в период отдыха в нейтрофильных гранулоцитах спортсменов наблюдается повышение НАДФН-зависимого оттока субстратов с лимонного цикла на реакции аминокислотного обмена. В целом можно заключить, что уровень взаимобмена субстратов между циклом Кребса и реакциями аминокислотного обмена в нейтрофилах спортсменов характеризует отток субстратов с энергетических процессов на белковый обмен.

Заключение

В конце подготовительного периода у спортсменов в нейтрофильных гранулоцитах активированы основные метаболические

процессы: анаэробная и аэробная энергетика, глутатион-зависимая антиоксидантная система, а также пластические реакции, определяющие уровень реакций макромолекулярного синтеза и реактивность клеток.

На фоне усталости (в конце соревновательного периода) в нейтрофилах наблюдается выраженное снижение активности исследуемых НАД- и НАДФ-зависимых дегидрогеназ, что определяет снижение биоэнергетических процессов, реакций пластического обмена, повышается вероятность апоптоза.

В период отдыха полного восстановления метаболических процессов в нейтрофильных гранулоцитах у спортсменов не происходит. В этот период наблюдается повышение роли анаэробной энергетики, в том числе за счет повышения притока субстратов с реакций липидного катаболизма, а также НАДФН-зависимого оттока субстратов с цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект №12-04-31145\12 мол_а.

Список литературы

1. Аронов Г.Е., Иванова Н.И. (1987) Иммунологическая реактивность при различных режимах физических нагрузок. М.: Физкультура и спорт, 210 с.
2. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. (1998) Биологическая химия. М.: Медицина, 704 с.
3. Гаврилова Е.А. (2009) Стрессорный иммунодефицит у спортсменов. М.: Советский спорт, 192 с.
4. Измеров Н.Ф. (2011) Спорт как профессия: медико-социальные аспекты. Медицина труда и промышленная экология. 3: 1-6.
5. Ильин М.В., Розанов Д.В., Чмырь В.В., Романов В.А., Хрусталева О.А. (2009) Сравнительная характеристика показателей кислородзависимого метаболизма и апоптоза нейтрофилов при некоторых ревматологических заболеваниях. Иммунология. 5: 267-269.
6. Левенкова М.В., Попова Т.Н., Семенихина А.В. (2006) Регуляторные свойства глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы из печени крыс в условиях интенсификации свободнорадикального окисления при токсическом гепатите. Биомедицинская химия. 52(3): 278-286.
7. Маянский Н.А., Роос Д., Кайперс Т. (2003) Каспазо-независимый путь клеточной гибели нейтрофилов человека, индуцированный TNF α . Цитокины и воспаление. 2(1): 29-35.

8. Першин Б.Б., Гелиев А.Б., Толстов Д.В. (2002) Реакции иммунной системы на физические нагрузки. *Russian Journal of Immunology*. 7(1): 1-24.
9. Полетаев А.Б. (2007) Клиническая и лабораторная иммунология. Избранные лекции. М.: ООО «МИА», 184 с.
10. Савченко А.А., Анисимова Е.Н., Борисов А.Г., Кондаков А.Е. (2011) Витамины как основа иммунометаболической терапии. Красноярск, 213 с.
11. Савченко А.А., Сунцова Л.И. (1989) Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови биolumинесцентным методом. *Лабораторное дело*. 11: 23-5.
12. Суздальницкий Р.С., Левандо В.А. (2003) Новые подходы к пониманию спортивных стрессорных иммунодефицитов. Теория и практика физической культуры. 1: 18-23.
13. Amulic B., Hayes G. (2011) Neutrophil extracellular traps. *Curr Biol*. 21(9): 297-298.
14. Aulik N.A., Hellenbrand K.M., Kisiela D., Czuprynski C.J. (2011) Mannheimia haemolytica leukotoxin binds cyclophilin D on bovine neutrophil mitochondria. *Microb Pathog*. 50(3-4): 168-178.
15. Bazarin K.P., Savchenko A.A. (2011) Special features of the state of functional activity of neutrophil granulocytes in blood during the high level of physical exercises. *Journal of Siberian Federal University. Humanities & Social Sciences*. 4 (9): 1251-1259.
16. Braga P.C., Dal Sasso M., Culici M., Spallino A., Falchi M., Bertelli A., Morelli R., Lo Scalzo R. (2009) Antioxidant activity of *Calendula officinalis* extract: inhibitory effects on chemiluminescence of human neutrophil bursts and electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Pharmacology*. 83(6): 348-355.
17. Córdova A., Sureda A., Tur J.A., Pons A. (2010) Immune response to exercise in elite sportsmen during the competitive season. *J. Physiol. Biochem*. 66(1): 1-6.
18. Friman G., Wesslen L. (2000) Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: infections and exercise in high-performance athletes. *Immunol. Cell. Biol*. 78(5): 510-522.
19. Geering B., Simon H.U. (2011) Peculiarities of cell death mechanisms in neutrophils. *Cell Death Differ*. 18(9): 1457-1469.
20. Gleeson M. (2004) Immune function and exercise. *European Journal of Sport Science*. 4(3): 52-66.
21. Häger M., Cowland J.B., Borregaard N. (2010) Neutrophil granules in health and disease. *J. Intern. Med*. 268(1): 25-34.
22. Harwood D.T., Darlow B.A., Cheah F.C., McNeill N., Graham P., Winterbourn C.C. (2011) Biomarkers of neutrophil-mediated glutathione and protein oxidation in tracheal aspirates from preterm infants: association with bacterial infection. *Pediatr. Res*. 69(1): 28-33.
23. Hawley J.A., Burke L.M. (2010) Carbohydrate availability and training adaptation: effects on cell metabolism. *Exerc. Sport Sci. Rev*. 38(4): 152-160.
24. Jung K.H., Park J.W. (2011) Suppression of mitochondrial NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase activity enhances curcumin-induced apoptosis in HCT116 cells. *Free Radic. Res*. 45(4): 431-438.
25. Kil I.S., Jung K.H., Nam W.S., Park J.W. (2011) Attenuated mitochondrial NADP+-dependent isocitrate dehydrogenase activity enhances EGCG-induced apoptosis. *Biochimie*. 93(10): 1808-1815.

26. Kim S.Y., Park J.W. (2010) Modulation of hypoxia-inducible factor-1 α expression by mitochondrial NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase. *Biochimie*. 92(12): 1908-1913.
27. Koch A.J., Wherry A.D., Petersen M.C. (2007) Salivary immunoglobulin A response to a collegiate rugby game. *J. Strength. Cond. Res*. 21(1): 86-90.
28. Mason E.F., Rathmell J.C. (2011) Cell metabolism: an essential link between cell growth and apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta*. 1813(4): 645-654.
29. Mulukutla B.C., Khan S., Lange A., Hu W.S. (2010) Glucose metabolism in mammalian cell culture: new insights for tweaking vintage pathways. *Trends Biotechnol*. 28(9): 476-484.
30. Nuutila J. (2010) The novel applications of the quantitative analysis of neutrophil cell surface Fc γ RI (CD64) to the diagnosis of infectious and inflammatory diseases. *Curr. Opin. Infect. Dis*. 23(3): 268-274.
31. Rutter J., Winge D.R., Schiffman J.D. (2010) Succinate dehydrogenase – assembly, regulation and role in human disease. *Mitochondrion*. 10(4): 393-401.
32. Schuster D.P., Brody S.L., Zhou Z., Bernstein M., Arch R., Link D., Mueckler M. (2007) Regulation of lipopolysaccharide-induced increases in neutrophil glucose uptake. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol*. 292(4): 845-851.
33. Seth R., Ribeiro M., Romaschin A., Scott J.A., Manno M., Scott J.A., Liss G.M., Tarlo S.M. (2011) Occupational endotoxin exposure and a novel luminol-enhanced chemiluminescence assay of nasal lavage neutrophil activation. *J. Allergy Clin. Immunol*. 127(1): 272-275.
34. Shephard R.J. (2000) Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: overview of the epidemiology of exercise immunology. *Immunol. Cell. Biol*. 78(5): 485-495.
35. Sirover M.A. (2011) On the functional diversity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase: biochemical mechanisms and regulatory control. *Biochim. Biophys. Acta*. 1810(8): 741-751.
36. Summers C., Rankin S.M., Condliffe A.M., Singh N., Peters A.M., Chilvers E.R. (2010) Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol*. 31(8): 318-324.
37. van Raam B.J., Sluiter W., de Wit E., Roos D., Verhoeven A.J., Kuijpers T.W. (2008) Mitochondrial membrane potential in human neutrophils is maintained by complex III activity in the absence of supercomplex organization. *PLoS One*. 23 (3-4): e2013.
38. Witko-Sarsat V., Pederzoli-Ribeil M., Hirsch E., Sozzani S., Cassatella M.A. (2011) Regulating neutrophil apoptosis: new players enter the game. *Trends Immunol*. 32(3): 117-124.
39. Yeo W.K., Carey A.L., Burke L., Spriet L.L., Hawley J.A. (2011) Fat adaptation in well-trained athletes: effects on cell metabolism. *Appl. Physiol. Nutr. Metab*. 36(1): 12-22.
40. Youngster I., Arcavi L., Schechmaster R., Akayzen Y., Popliski H., Shimonov J., Beig S., Berkovitch M. (2010) Medications and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: an evidence-based review. *Drug Saf*. 33(9): 713-726.
41. Yuan W., Wang Y., Heinecke J.W., Fu X. (2009) Hypochlorous acid converts the gamma-glutamyl group of glutathione disulfide to 5-hydroxybutyrolactam, a potential marker for neutrophil activation. *J. Biol. Chem*. 284(39): 26908-26917.

Dynamics of Neutrophilic Granulocyte's NAD- and NADP-Dependent Dehydrogenases Activity in Athletes

Andrei A. Savchenko^{a,b} and Kirill P. Bazarin^b

*^aResearch Institute of Medical Problems of the North
of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences,
3g Partizana Geleznyaka, Krasnoyarsk, 660022 Russia*

*^bSiberian Federal University,
79 Svobodny, Krasnoyarsk, 660041 Russia*

The present research is focused on metabolic reactions of neutrophilic granulocytes in the blood of athletes, representatives of various sports who showed endurance in dynamics (in the course of a year), at different phases of an annual training macrocycle. It was found that the main metabolic processes (anaerobic and aerobic energy production systems, glutathione-dependent antioxidant system and plastic reactions defining the level of macromolecular synthesis and cells reactivity) are activated at the end of preparing period. The metabolic reactions of neutrophilic granulocytes are significantly disturbed at the end competitive period. This reduces their functional and regulatory capacity. At the end of recovery period disturbed reactions were not sufficiently recovered.

Keywords: sport, immune system, neutrophils, spontaneous chemiluminescence, induced chemiluminescence.