

Tartós fizikai és pszichés terhelés hatása a teljes vér reaktív oxigén intermedier termelésére

Szentgyörgyi Viktor százados,
Dr. habil. Fűrész József orvosvezetős, Ph.D.,
Dr. habil. Lakatos Zsuzsanna Ph.D.,
Dr. Németh Krisztina Ph.D.,
Dr. Veszely Gizella

Kulcsszavak: tartós fizikai és pszichés terhelés, neutrofil granulocita, reaktív oxigén intermedier

Négy napig tartó „túlélési” terepgyakorlat hatásai közül, a keringő neutrofil granulociták számának és a teljes vér reaktív oxigén-intermedier (ROI) termelő képességének változását vizsgáltuk opszonizált zimozán indukálta luminolfüggő kemilumineszcenciával (LDCL). 36 katonai főiskolai hallgatót vizsgáltunk meg. A vérmintákat a gyakorlat előtt, közvetlenül utána és egy nappal később vettük. Közvetlenül a gyakorlat után, a keringő neutrofil granulociták számának és a vér ROI termelésének növekedését találtuk, a neutrofil sejtek egyedi gyöktermelő képességének változatlansága mellett. Egy nappal a gyakorlat után, a keringő neutrofil sejtek száma emelkedett maradt. A teljes ROI termelés viszont gyakorlatilag normalizálódott, a neutrofil sejtek csökkent gyöktermelő képessége miatt.

A fokozott fizikai aktivitás az izomszövet károsodásával járhat [1], miközben kisebb-nagyobb külső sérülések is létrejöhetnek. Az aspecifikus immunrendszer kiemelkedően fontos szerepet játszik a szöveti törmelék eltávolításában és az idegen mikroorganizmusok elleni védekezésben. A neutrofil granulociták kemotaktikus ágensek hatására [2, 3] az érintett területekre vándorolnak, és degradatív enzimek [4, 5], valamint reaktív oxigén-intermedierek (ROI-k) [6, 7] segítségével eliminálják a szöveti törmeléket és a mikroorganiz-

musokat. A ROI termelésért az aktívuló NADPH-oxidáz enzim felelős [8-10]. A degradatív enzimek és a szabad gyökök membránnal határolt szubcelluláris organellumokba, és az extracelluláris térbe jutnak [11]. Mivel nem specifikusak, a folyamat során a neutrofil sejtek és a környező szövetek is károsodhatnak [12-14].

A teljes vér ROI termelését elsősorban a neutrofil sejtek száma és aktivitásának mértéke szabja meg. Mindkettő szigorú kontroll alatt áll, mert a ROI termelés alulműködése

immunszuprimált állapotához, túlműködése pedig fokozott szöveti károsodáshoz vezethet [15, 16]. A sejtek pillanatnyi aktiválhatóságának növekedését (priming) vagy csökkenését (deszenzitizáció) a szöveti törmelékből vagy mikroorganizmusokból származó anyagok és az aktuális citokin összetétel jelentősen befolyásolják [17].

A fizikai terhelést a keringő neutrofil granulociták számának emelkedése kíséri [18-29]. A terheléssel kapcsolatosan, e sejtek egyedi ROI termelő képességének növekedését és csökkenését is leírta a szakirodalom [18, 21, 24, 27, 28, 30]. Több napig tartó katonai terepgyakorlatokra vonatkozó adatokat norvég kutatók közöltek [27,29]. A terhelés első napjaiban nagy mértékű neutrofilíát tapasztaltak, ami később normalizálódott. A sejtszám kezdeti erőteljes növekedésével együtt, fokozódott a sejtek aktiválhatósága is (priming), de 2-4 nap után deszenzitizáció következett be, ami a kiindulásnál alacsonyabb ROI termelő képességhez vezetett.

Munkacsoportunk azt vizsgálta, hogy a teljes vér ROI termelése, valamint a neutrofil sejtek száma és egyedi ROI termelő aktivitása hogyan alakul a magyar katonai főiskolai hallgatók 4 napig tartó „túlélési” terepgyakorlatának végén, és egy nappal később.

Anyagok és módszerek

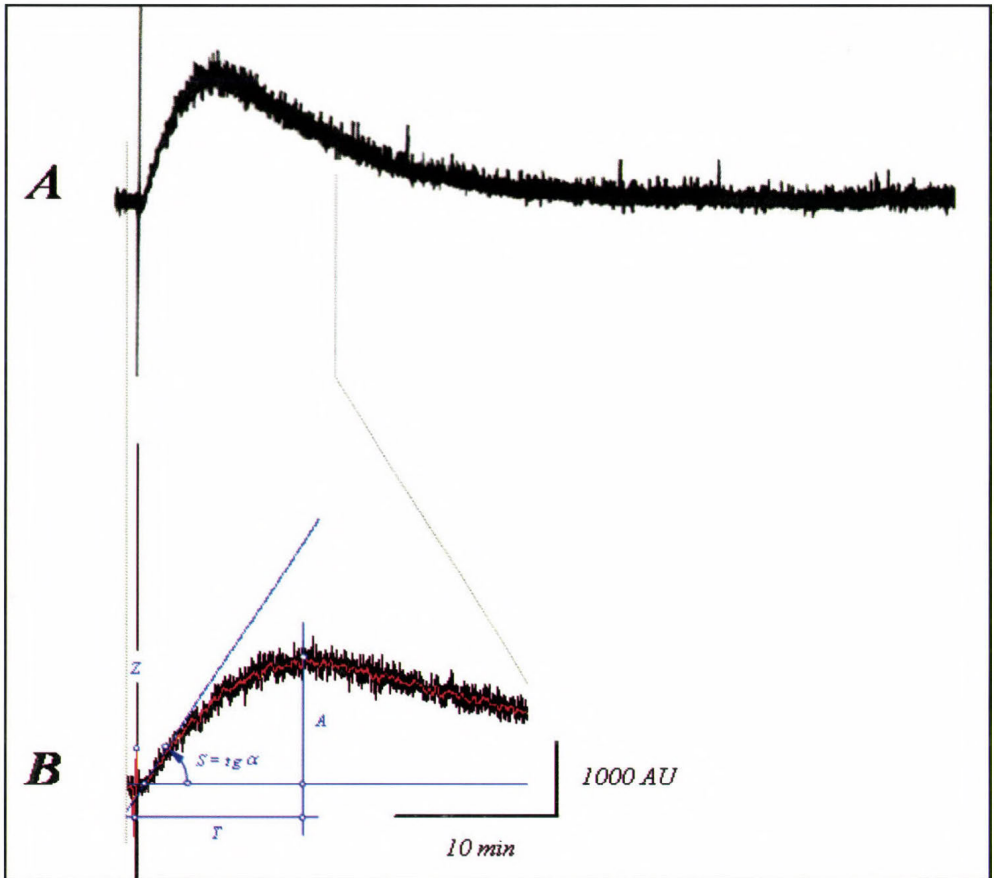
A vizsgált személyek a Zrínyi Miklós Nemzetvédelmi Egyetem Bólyai János Katonai Műszaki Főiskolai Kar hallgatói voltak: 18-22 év közötti férfiak, akik minden szempontból meg-

feleltek a katonai főiskolai hallgatókkal szemben támasztott egészségügyi követelményeknek. A 4 napos „túlélési” terepgyakorlat során, a hallgatók víz és étel-miszer-ellátását folyamatosan biztosították, de a gyakorlat végéig mindössze ≈ 7 órányi pihenőt engedélyeztek.

A vizsgálataink két egymást követő év tavaszán (májusban) kerültek végrehajtásra: 2002-ben 24, 2003-ban pedig 12 random kiválasztott személy bevonásával. A vérvétel könyök-venából történt, a gyakorlat előtt, a gyakorlat végén és a csoport egy részénél a rákövetkező napon. A vérben található neutrofil sejtek számának meghatározására 4 ml-es K_3 -EDTA-t, a ROI termelés tanulmányozására pedig 9 ml-es Na_3 -citrátot tartalmazó vákuumcsövek kerültek felhasználásra (Greiner bio-one).

A vérminták a vizsgálat napján feldolgozásra kerültek. A keringő neutrofil sejtek számát (a továbbiakban: N, mértékegysége: G/l) a MH Központi Honvédkórház, Központi Klinikai Laboratóriumában határozták meg, Abbott Celdin 3500 hematológiai automata segítségével.

A reaktív oxigén-intermedierek keletkezését opszonizált zimozán indukálta luminolfüggő kemilumineszcenciával (LDCL) mértük [31]: 1130 μ l Parker tápoldattal (Országos Közegészségügyi Intézet) hígított, 20 μ l teljes vérből, 50 μ l 10 mg %-os luminol oldat jelenlétében. A mérés 300 rpm keverés mellett, 37 °C hőmérsékleten került végrehajtásra, teljes vér lumi-aggregometer segítségével (Chrono-Log Co., type 560-Ca). Az LDCL intenzitásának időbeli alakulását (1/A.

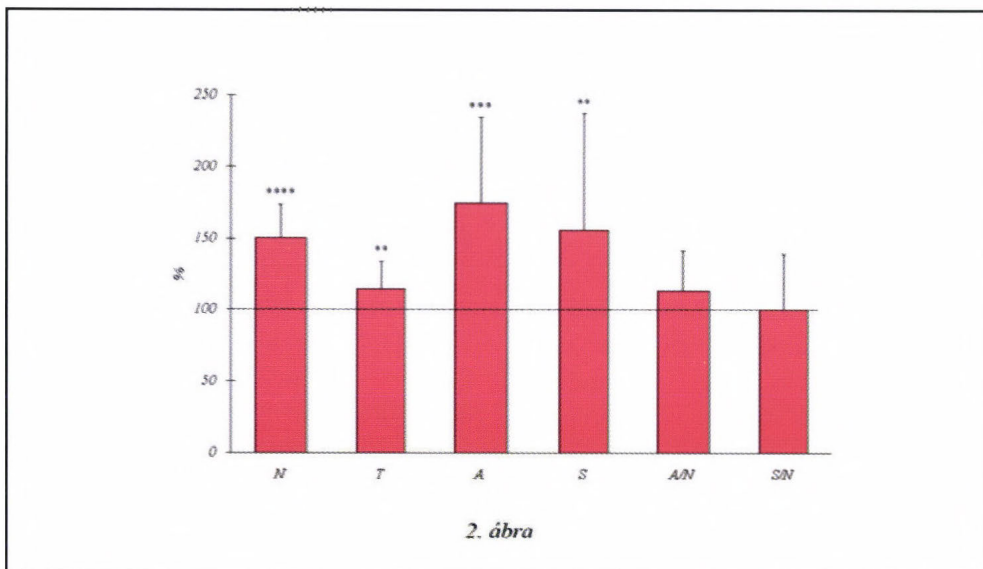


1. ábra: Az opszonizált zimozánnal stimulált teljes vérből mért luminolfüggő kemilumineszcencia (LDCL) kinetikája. A.: teljes regisztrátum. B.: az elemzéshez felhasznált részlet a jellemzésre felvett mennyiségekkel. A mozgó átlagot piros vonal jelöli. Z: az opszonizált zimozán hozzáadása, T: a csúcs bekövetkezéséig eltelt idő, A: legnagyobb amplitúdó, S: felszálló meredekség

ábra) számítógéppel rögzítettük, 5 Hz mintavételi frekvenciával. A kapott görbe alakulását (az opszonizált zimozán hozzáadásától számítva) 25 percen keresztül kísértük figyelemmel. A nyers regisztrátumot mozgó átlag képzésével* kisimítottuk, és a további feldolgozás során már e kisimított görbét elemeztük (1/B. ábra).

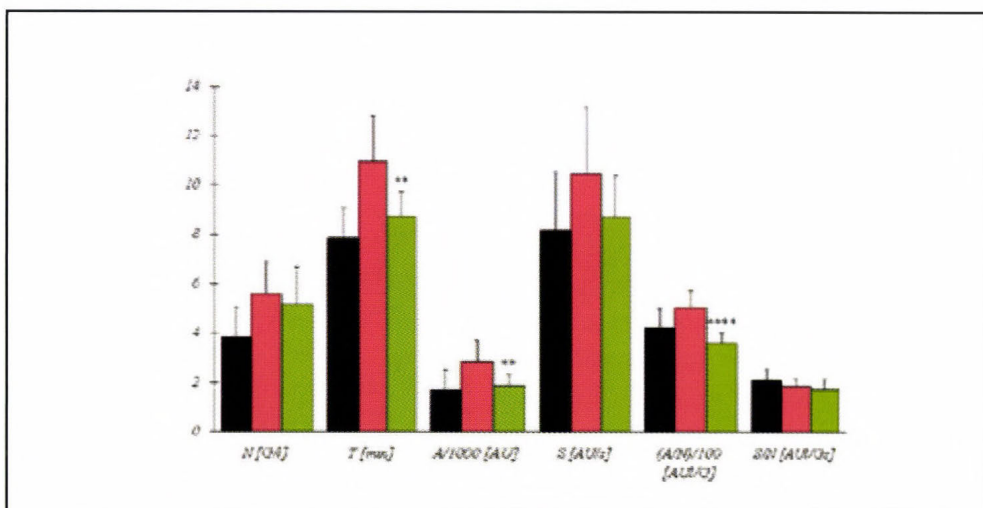
Meghatároztuk a csúcsaktivitás időpontját (a továbbiakban: T), amelyet az opszonizált zimozán hozzáadásától számítunk, és percben (min) adunk meg. Meghatároztuk a csúcsaktivitáshoz tartozó amplitúdót (a továbbiakban: A), amit a legnagyobb intenzitás és az alapvonal különbségeként számítunk, és önkényes

* 50 pont átlagolásával, az idő múlásával azonos irányban (az 5 Hz mintavételi frekvencia figyelembe vételével ez 10 másodpercnyi görberészletet jelent).



2. ábra

2. ábra: A vizsgált mennyiségek alakulása a terepgyakorlat után, a terepgyakorlat előtti értékek százalékában. A függőleges tengelyen felvett mennyiségek az oszlopok alatt vannak feltüntetve. **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$, ****: $p < 0,0001$ (a százalékosan kifejezett számok, a 100-hoz viszonyítva). A valószínűségeket egymintás t-próbával kaptuk. Kivétel az S, ahol Wilcoxon-próbát alkalmaztunk.



3. ábra: A vizsgált mennyiségek alakulása a kiképzés előtt (fekete), a kiképzés után azonnal (piros) és egy nap múlva (zöld). **: $p < 0,01$, ****: $p < 0,0001$ (a terepgyakorlat vége utáni napon gyűjtött adatok, a terepgyakorlat végén gyűjtött adatokhoz viszonyítva). A valószínűségeket kétmintás t-próbával kaptuk. Kivétel az N, ahol Mann-Whitney próbát alkalmaztunk.

mértékegységben (AU) adunk meg, valamint az alapvonalra és a meredeken fölfelé ívelő részletre illesztett egyenesek iránytangensét (felszálló meredekség, a továbbiakban: S), amit AU/s mértékegységben adunk meg. Továbbá kiszámítottuk a vérben található neutrofil granulociták számára normált legnagyobb amplitúdót és felszálló meredekséget is: A/N (mértékegysége: AU/G), és S/N (mértékegysége: AU/Gs).

Az adatokat egy, illetve kétmintás t-próbával elemeztük, az alkalmazhatósági feltételek betartásával. A normalitási feltétel teljesülését *Kolmogorov-Szmirnov*-próbával (amelynek eredményét *Lilliefors*-korrekcióval állapítottuk meg), és *Shapiro-Wilk*-próbával ellenőriztük. Ha ezek közül már az egyik szignifikáns eredményt adott, akkor a normalitás nem teljesülését állapítottuk meg. A szórásazonosságot F-próbával ellenőriztük. A normalitási feltétel nem teljesülése esetén, az egymintás t-próba helyett *Wilcoxon*-próba alkalmazásával jártunk el, a kétmintás t-próba helyett pedig *Mann-Whitney*-próba alkalmazásával. Ha a szórásazonossági feltétel nem teljesült, de a normalitási feltétel igen, akkor a kétmintás t-próbának egy módosított, de paraméteres változatát (homoscedasztikus t-próba, régebbi nevén: d-próba) használtuk.

A lineáris regresszió során a legkisebb négyzetek módszerét alkalmaztuk. A

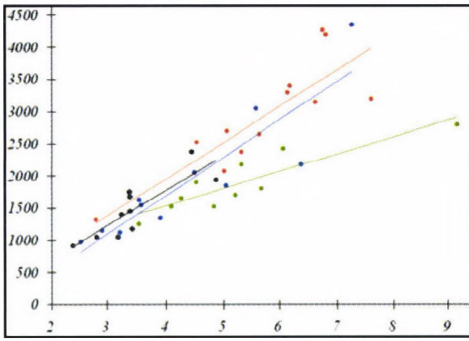
** A tulajdonképpeni matematikai analízis, a meredekségek összehasonlítása (szokták nevezni még párhuzamosság-vizsgálatának is) azon alapszik, hogy a meredekséget kifejező szorzó (a regressziós koefficiens) egy normális eloszlású valószínűségi változó, amelynek szórása a mintából kiszámolható. Ez viszont egyúttal azt is jelenti, hogy két ilyen meredekséget (ugyanúgy, ahogyan két középértékét is) t-próbával össze lehet hasonlítani: csak a t-próbát kell egy

Pearson-féle korrelációs együttható számolásakor a szokásos módon jártunk el, szignifikanciáját pedig Z-transzformációval állapítottuk meg. A regressziós koefficiensek összehasonlításakor kétmintás t-próbát alkalmaztunk** [32], az alkalmazhatósági feltételek betartásával. (Ennek a számolásnak is két változata van: az egyiket akkor kell alkalmazni, ha a regressziós koefficiensek varianciája a két mintában nem különböztethető meg egymástól (F-próbával), a másikat pedig akkor, ha azok között szignifikáns különbség adódik.)

Az adatfeldolgozás során minden esetben kétoldalú próbákat végeztünk, a szignifikancia határát pedig $p = 0,05$ értéknél határoztuk meg.

Eredmények

A 2. ábra a keringő neutrofil granulociták számának és az opszonizált zimozán indukálta LDCL jellemző paramétereinek változását mutatja a kiindulási értékek százalékában: a fizikai és pszichés stressz hatását követően, közvetlenül a terhelés végén. A terhelés hatására emelkedik a vérben található neutrofil granulociták száma, az LDCL csúcsaktivitás bekövetkezéséig eltelt idő, a csúcsaktivitás amplitúdója és a ROI termelés fel-futására jellemző meredekség. A két sejtszámra normált érték kivételével minden vizsgált mennyiség szignifikáns emelkedést mutat. Az A/N és S/N hányadosok változatlansága ar-



4. ábra: A neutrofil-szám és a vér ROI-termelésének kapcsolata. Fekete pontok: első mintavételi nap a kiképzés előtt (1. kontroll minta), kék pontok: a második mintavételi nap a kiképzés előtt (2. kontroll minta), piros pontok: az első mintavételi nap a kiképzés után (terhelt minta), zöld pontok: a második mintavételi nap a kiképzés után (terhelt és pihent minta).

ra utal, hogy a teljes ROI-termelés növekedésének háttérében pusztán a neutrofil sejtek számának növekedése áll.

A 3. ábra a keringő neutrofil granulociták számának és a teljes vér kemilumineszcenciájának alakulását mutatja a „túlélési” terepgyakorlat előtti napon és a terepgyakorlat utáni két mintavételi napon (tehát a terhelés végén, és egy nappal később) gyűjtött adatok összehasonlításával. A 2002-ben mért értékekkel számoltunk (13 fő közvetlenül a gyakorlat végén, és 11 fő egy nappal később). A vizsgált mennyiségek közül az LDCL csúcsaktivitás bekövetkezéséig eltelő időnek, a csúcsaktivitás amplitúdójának és az utóbbi neutrofil-számra normált értékének csökkenése bizonyult szignifikánsnak.

Az eddigieket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a 4 napig tartó terepgyakorlat hatására lényegesen nő a vérben keringő neutrofil granulociták száma, és a teljes vér ROI-termelése. Az A/N és az S/N hányadosok azonban nem változnak, jelezve, hogy a ROI-termelés növekedése pusztán a sejt szám növekedése miatt következik be. A terepgyakorlat után egy nappal megvizsgált minták esetében a vérben található neutrofil sejtek számát még mindig emelkedettnek találtuk, a vér ROI-termelése azonban lényegesen csökkent. A jelenség háttérében a neutrofil sejtek deszenzitizációja feltételezhető, az A/N szignifikanciája miatt.

A sejt szám és a teljes ROI-termelés kapcsolatát a továbbiakban olyan koordináta rendszer vizsgálatával jellemeztük, amelynek vízszintes tengelyén a neutrofil granulociták számát, a függőleges tengelyén pedig az LDCL csúcsaktivitásához tartozó amplitúdót vettük fel. Az elemzést korlátoztuk a 2002-ben gyűjtött adatokra. Így négy mintánk adódik: három nappal a kiképzés előtt (kontroll 1), egy nappal a kiképzés előtt (kontroll 2), azonnal a kiképzés után (terhelt) és egy nappal később (terhelt és pihent). Ha ezeket egy koordináta rendszerben ábrázoljuk, akkor a 4. ábrán bemutatott pontdiagramhoz jutunk. Látszik, hogy a pontok mind a négy minta esetében egy balról jobbra emelkedő egyenes mentén szóródnak szét: az N és az A között tehát pozitív korreláció van***.

A korreláció erősségének jellemzésére kiszámoltuk a Pearson-féle korreláci-

ós együttthatókat, és a hozzájuk tartozó valószínűségeket. Mind a négy minta esetében szignifikáns együttthatót kaptunk, ami a lineárisnak feltételezett kapcsolat jelenlétére utal. De az is kiolvasható, hogy a pontok hasonló mértékben szóródnak szét a regressziós egyenesek mentén: mind a négy r -érték 0,8 és 0,9 között van.

A regresszió jellemzésére ábrázoltuk a legjobban illeszkedő egyeneseket. Látszik, hogy a négy egyenes közül három gyakorlatilag párhuzamos, a negyedik meredeksége viszont lényegesen kisebb. Ezt az észrevételünket a regressziós koefficiensek összehasonlításával bizonyítottuk. Azt kaptuk, hogy a négy regressziós egyenes közül három valóban párhuzamos: a két kontroll mintából, és a terhelés végén közvetlenül mért értékekből számolt egyenesek meredeksége nem különbözik szignifikánsan. A terhelés utáni napon mért adatokból képzett negyedik regressziós egyenes meredeksége viszont kisebb, és az összes többi meredekségtől szignifikánsan eltér. Adataink tehát azt bizonyítják, hogy a sejtszám és az LDCL csúcsaktivitása között szoros kapcsolat áll fenn. Ez a terepgyakorlat után egy nappal vizsgált mintára is igaz, de a neutrofil granulociták egyedi ROI-termelő képessége lecsökkent.

Megbeszélés

Az általunk tapasztalt fizikai terheléssel kapcsolatos neutrofil-szám emelkedést számos irodalmi adat támasztja alá [18-29], amelyekből kiolvasható, hogy a terhelés bizonyos

jellemzői komoly hatást gyakorolnak a fellépő neutrofilia mértékére. A nagyobb intenzitású terhelés komolyabb sejtszám emelkedéshez vezet, mint az ugyanolyan hosszú, de kisebb intenzitású. Ugyanakkor a kis intenzitású hosszú terhelés sokkal nagyobb növekedést eredményez, mint a nagy intenzitású, de rövid ideig tartó.

Fizikai és pszichés terhelés együttes jelenlétére vonatkozó adatokat a Norvég Katonai Akadémia kadétjainak kiképzése során figyelték meg (the Ranger Training Course of the Norwegian Military Academy). Ez az 5-7 napig tartó gyakorlat nagyon hasonlít a jelen dolgozatban bemutatotthoz. A közölt adatok szerint [27, 29], a kiképzés első napjaiban nagy mértékű neutrofilia alakul ki, ami később normalizálódik. A szerzők arról is beszámolnak, hogy a táplálék-megvonás befolyásolja a kapott eredményeket [28]. A saját kísérleteink során kapott sejtszám emelkedés megfelel a norvég tapasztalatoknak.

A vérben keringő neutrofil sejtek számának emelkedését legalább két tényezőnek tulajdoníthatjuk. Közülük az egyik a szöveti sérülések kialakulásával hozható kapcsolatba. A neutrofil sejtek a szöveti törmelék eltakarításában játszanak szerepet, ami a keringő sejtszám tartós emelkedését eredményezheti. A nagy intenzitású, és különösen a szokatlan mozdulatokkal vagy testhelyzetekkel járó munkavégzés az izmok kisebb-nagyobb mértékű károsodását idézi

*** A kijelentéssel azonban vigyázni kell, mert a kapcsolat linearitásának vizsgálatát ilyen adatokból nem lehet elvégezni.

elő [1]. A sérült területeken többek között kemotaktikus citokinek szabadulnak fel [2, 3]. Ha patkányokat szünetekkel megszakított, ám súllyal nehezített úszások sorozatával terheltek meg, egészen a teljesen kimerült állapot bekövetkezéséig, akkor – mikroszkópos vizsgálatok szerint – a leukociták (és köztük a neutrofil granulociták is) körül-belül egy nappal a terhelés után jelentek meg az izomban, és 5-7 nap múlva tűntek el [33].

A másik tényező a terhelés során szerzett külső sérülésekkel kapcsolatos. Ezek megkönnyítik az idegen mikroorganizmusok behatolását a szervezet belsejébe, ami egy sor gyulladásos folyamat és betegség kialakulását okozhatja.

A neutrofil-szám változásával ellentétben, a sejtek egyedi ROI termelésének alakulására vonatkozó szakirodalom ellentmondásos [18, 21, 24, 27, 28, 30]. A norvég Ranger Training Course kutatóinak tapasztalatai szerint [27, 28], a résztvevők véréből izolált, majd opsonizált zimmozán hozzáadásával stimulált neutrofil granulociták aktiválhatósága a kiképzés első napjaiban fokozódik, és nő az egy sejtre jutó ROI keletkezés. 2-4 nap múlva a priming megszűnik, és a sejtek aktiválhatósága csökken. A terhelés folytatása jelentős mértékű érzéketlenséghez vezet, amelyet a kiindulási értéknél alacsonyabb ROI termelő képesség jellemez. Az is kiderült, hogy a táplálék- és pihenés megvonása nagy mértékben befolyásolja a kapott eredményeket.

Mi azt tapasztaltuk, hogy a neutrofil granulociták ROI-termelő képessége a terepgyakorlat előtt, és közvetlenül azután nem különbözött. Ez viszont nem jelenti azt, hogy a 4 napig tartó terhelés alatt a sejtek aktiválhatósága végig változatlan volt. A terhelés befejezése utáni napon viszont határozott csökkenést észleltünk a ROI-termelő képességben. Véleményünk szerint a fizikai és pszichés terhelés hatására olyan folyamatok indulnak meg, amelyek a neutrofil granulociták számának növekedéséhez vezetnek. Ám a terhelés megszűnésére jellemző folyamatok nem a sejtek számát szabályozzák, hanem a sejtek aktiválhatóságának mértékét: a sejtszámcsökkenés helyett aktivitás-csökkenés következik be. Tehát a megnövekedett sejtszám miatt adódó intenzív ROI termelést a sejtek egyedi aktivitásának csökkentésével kompenzálja a szervezet, hiszen az oxidáló ágensek általános romboló hatással rendelkeznek, és a környező szövetek nagy mértékű károsodását okozhatják.

Irodalmi adatok szerint a rendszeres, de nem túl megerőltető mozgás csökkenti a felső-légúti fertőzések előfordulásának kockázatát, a nagyon megterhelő komoly edzési programok viszont növelik azt [20]. További vizsgálatokat igényelne annak tisztázása, hogy az általunk tapasztalt megemelkedett sejtszám melletti csökkent ROI termelő képesség eredményezhet-e kórokozókkal szembeni csökkent védekező képességet.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak Szarka János ny. ezredesnek, aki a "túlélési" terepgyakorlatot bevezette az oktatásba, Tóth Loránd ny. alezredesnek, aki a kísérleti szituációként felhasznált kiképzéseket vezette, Dr. Tomcsányi Katalin osztályvezető főorvosnak, a Központi Honvéd-kórház Központi Klinikai Laboratóriumában végzett munkáért, valamint Dr. Schweitzer Katalin biológusnak és Lengyel Károlyné laboratóriumi aszisztensnek, a ROI termelés mérésekor nyújtott értékes segítségéért.

IRODALOM

- [1] Gleeson, M., Walsh, N. P., Blannin, A. K., Robson, P. J., Cook, L., Donnelly, A. E., Day, S. H.: The Effect of Severe Eccentric Exercise-induced Muscle Damage on Plasma Elastase, Glutamine and Zinc Concentrations. Eur. J. Appl. Physiol., 1998, 77.
- [2] Antoni, F., Nikolics, K., Nagy, L., Teplán, I.: Kemotaktikus anyagok: szolubilis immun-mediátorok. Orvostudomány, 1979-1980, 30-31(2): 197-217.
- [3] Wilkinson, P. C.: Chemotaxis and Inflammation. Churchill Livingstone. Edinburgh, 1974.
- [4] Chipman, D. M., Sharon, N.: Mechanism of Lysozyme Action. Lysozyme is the First Enzyme for Which the Relation Between Structure and Function has Become Clear. Science, 1969, 165.
- [5] Odeberg, H., Olsson, I.: Antibacterial Activity of Cationic Proteins from Human Granulocytes. J. Clin. Invest., 1975, 56: 1118-1124.
- [6] Cross, A. R., Jones, O. T. G.: The Molecular Mechanism of Oxygen Reduction by the Neutrophil Oxidase. In: The Neutrophil: Cellular Biochemistry and Physiology. CRC Press. Boston, 1989, 97-111.
- [7] Rossi, F., Bellavite, P., Berton, G., Dri, P., Zabucchi, G.: The Respiratory Burst of Phagocytic Cells: Facts and Problems. In: Biochemistry and Functions of Phagocytes. Plenum Press. New York, 1982, 283-322.
- [8] Bjerrum, O. W., Borregaard, N.: Dual Granule Localization of the Dormant NADPH Oxidase and Cytochrome b559 in Human Neutrophils. Eur. J. Haematol., 1989, 43: 67-77.
- [9] Jesaitis, A. J., Buesher, E. S., Harrison, D., Quinn, M. T., Parkos, C. A., Livesey, S., Linner, J.: Ultrastructural Localization of Cytochrome b in the Membranes of Resting and Phagocytosing Human Granulocytes. J. Clin. Invest., 1990, 85: 821-835.
- [10] Quinn, M. T.: Low-molecular-weight GTP Binding Proteins and Leukocyte Signal Transduction. J. Leukoc. Biol., 1995, 58: 263-276.
- [11] Segal, A. W.: The NADPH Oxidase of Phagocytic Cells is an Electron Pump that Alkalinises the Phagocytic Vacuole. Protoplasma, 1995, 184: 86-103.
- [12] Czubyrt, M. P., Panagia, V., Pierce, G. N.: The Roles of Free Radicals, Peroxides and Oxidized Lipoproteins in Second Messenger System Dysfunction. EXS., 1996, 76: 57-69.
- [13] Singal, P. K., Petkau, A., Gerrad, J. M., Hrushovetz, S., Foerester, J.: Free Radicals in Health and Disease. Mol. Cell. Biochem., 1988, 84: 121-122.
- [14] Simpson, P. J., Mistos, S. E., Ventura, A.: Prostacyclin Protects Ischemic-reperfused Myocardium in the Dog by Inhibition of Neutrophil Activation. Am. Heart J., 1987, 113: 129-137.
- [15] Incze, F.: Újabb eredmények a sepsis, a septicus shock, a SIRS és a sokszervi károsodás intenzív ellátásában. Orv. Hetil., 1999, 140: 515-520.
- [16] Moore, F. A., Moore, E. E., Read, R. A.: Postinjury Multiple Organ Failure: Hits of Extrathoracic Injury and Sepsis in Adult Respiratory Distress Syndrome. New Horizons, 1993, 1: 538-549.

- [17] Botha, A. J., Moore, F. A., Moore, E. E., Fontes, B., Banerjee, A., Peterson, V. M.: Postinjury Neutrophil Priming and Activation States: Therapeutic Challenges. *Shock*, 1995, 3: 157-166.
- [18] Robson, P. J., Blannin, A. K., Walsh, N. P., Castell, L. M., Gleeson, M.: Effects of Exercise Intensity, Duration and Recovery on in vitro Neutrophil Function in Male Athletes. *Int. J. Sports Med.*, 1999, 20: 128-135.
- [19] Gabriel, H., Schwarz, L., Steffens, G., Kindermann, W.: Immunoregulatory Hormones, Circulating Leucocyte and Lymphocyte Subpopulations before and after Endurance Exercise of Different Intensities. *Int. J. Sports Med.*, 1992, 13: 359-366.
- [20] Pedersen, B. K., Brunsgaard, H., Jensen, M., Krzywkowski, K., Ostrowski, K.: Exercise and Immune Function: Effect of Ageing and Nutrition. *Proc. Nutr. Soc.*, 1999, 58: 733-742.
- [21] Morozov, V. I., Pryatkin, S. A., Kalinski, M. I., Ragozkin, V. A.: Effect of Exercise to Exhaustion on Myeloperoxidase and Lysozyme Release from Blood Neutrophils. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 2003, 89: 257-262.
- [22] Lewicki, R., Tchórzewski, H., Denys, A., Kowalska, M., Golinska, A.: Effect of Physical Exercise on Some Parameters of Immunity in Conditioned Sportsmen. *Int. J. Sports Med.*, 1987, 8: 309-320.
- [23] Gabriel, H., Urhausen, A., Kindermann, W.: Circulating Leucocyte and Lymphocyte Subpopulations before and after Intensive Endurance Exercise to Exhaustion. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 1991, 63: 449-457.
- [24] Gabriel, H., Müller, H. J., Urhausen, A., Kindermann, W.: Suppressed PMA-Induced Oxidative Burst and Unimpaired Phagocytosis of Circulating Granulocytes One Week after a Long Endurance Exercise. *Int. J. Sports Med.*, 1994, 15: 441-445.
- [25] Kratz, A., Lewandrowski, K. B., Siegel, A. J., Chun, K. Y., Flood, J. G., Van Cott, E. M., Lee-Lewandrowski, E.: Effect of Marathon Running on Hematologic and Biochemical Laboratory Parameters, Including Cardiac Markers. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2002, 118(6): 856-863.
- [26] Nieman, D. C., Henson, D. A., Smith, L. L., Utter, A. C., Vinci, D. M., Davis, J. M., Kaminsky, D. E., Shute, M.: Cytokine Changes after a Marathon Race. *J. Appl. Physiol.*, 2001, 91: 109-114.
- [27] Wiik, P.: Immune Function Studies During the Ranger Training Course of the Norwegian Military Academy. In: *Military Strategies for Sustainment of Nutrition and Immune Function in the Field*. National Academy Press. Washington D. C., 1999, 185-202.
- [28] Wiik, P., Opstad, P. K., Boyum, A.: Granulocyte Chemiluminescence Response to Serum Opsonized Zymosan Particles ex vivo During Long-term Strenuous Exercise, Energy and Sleep Deprivation in Humans. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 1996, 73: 251-258.
- [29] Boyum, A., Wiik, P., Gustavsson, E., Veiby, O. P., Reseland, J., Haugen, A. H., Opstad, P. K.: The Effect of Strenuous Exercise, Calorie Deficiency and Sleep Deprivation on White Blood Cells, Plasma Immunoglobulins and Cytokines. *Scand. J. Immunol.*, 1996, 43: 228-235.
- [30] Smith, J. A., Telford, R. D., Mason, I. B., Weidemann, M. J.: Exercise, Training and Neutrophil Microbicidal Activity. *Int. Sports Med.*, 1990, 11: 179-187.
- [31] Allen, R. C., Loose, L. D.: Phagocytic activation of a luminol-dependent chemiluminescence in rabbit alveolar and peritoneal macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1976, 69: 245-252.
- [32] Sváb, J.: *Biometriai módszerek a kutatásban*. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest, 1973, 272-273.
- [33] Morozov, V. I., Usenko, T. N., Ragozkin, V. A.: Neutrophil Antiserum Response to Decrease in Proteolytic Activity in Loaded Rat Muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 2001, 84: 195-200.

**Capt. V. Szentgyörgyi, M.D.M.C.,
Col. habil. J. Fűrész M.D.M.C., Ph.D.,
habil. Zsuzsanna Lakatos, Ph.D.,
Krisztina Németh Ph.D.,
Gizella Veszely**

Effect of endurance physical exercise and psychological stress on production of reactive oxygen intermediates in whole blood

The effect of a 4 days long military exercise (physical exercise and psychological stress) on 36 military academy students was investigated. Counts of circulating neutrophils and reactive oxygen intermediate (ROI) production in whole blood were measured. Blood samples were taken before, immediately after and on the next day after completing the exercise. Opsonized zymosan induced ROI production of whole blood was char-

acterized by luminol dependent chemiluminescence (LDCL). An elevated ROI production was found immediately after exercise, which could be attributed to the increased counts of circulating neutrophils, while the ROI production of individual cells did not change. One day after the exercise, the whole blood ROI production returned almost completely to its initial level, while the circulating neutrophil counts remained at their elevated values. That decrease in LDCL could be attributed to the decreased ROI producing ability of individual neutrophil cells.

Key-words: long-lasting physical and psychic endurance, neutrophil granulocyte, reactive oxygen intermediates

*Szentgyörgyi Viktor szds.
1555 Budapest, Pf. 68*