

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
"СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологий
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

_____ В. А. Кратасюк

«___» _____ 2017 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

03.03.02 Физика

Исследование возможности использования микровязкости слюны человека как
индикатора физиологического состояния

Научный консультант _____ зав. каф. биофизики В. А. Кратасюк

Руководитель _____ асс. каф. биофизики Д. В. Гульнов

Выпускник _____ А. О. Филиппова

Красноярск 2017

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «Исследование возможности использования микровязкости слюны человека как индикатора физиологического состояния» содержит: страницу текстового документа, 12 иллюстраций, 2 таблицы, 2 формулы, 27 литературных источников.

МИКРОВЯЗКОСТЬ, СЛЮНА, ИНТЕЛЕКТУАЛЬНАЯ НАГРУЗКА, ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ, МОЛЕКУЛЯРНЫЙ РОТОР.

Цель работы: оценить возможности определения физиологического состояния организма по значениям микровязкости слюны.

Актуальность работы заключается в создании тестовых систем, позволяющих оценивать текущее состояние организма человека не инвазивным и экспрессным способом. В частности, изучаются возможности использования для этих целей физико-химических характеристик слюны.

Объектом исследования являются пробы слюны, полученные от студентов на обычных занятиях и в период сессии, когда студенты подвергаются значительной интеллектуальной нагрузке. Всего в эксперименте приняли участие 182 человека.

Показано повышение значений микровязкости в тестовой пробе слюны. Сделан предварительный вывод изменении микровязкости слюны в условиях интеллектуальной нагрузки.

Проведен сравнительный анализ факторов влияющих на значения микровязкости слюны, в числе которых: уровень психологической тревожности личности, индекс массы тела, возраст, пол человека.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1 Обзор литературных источников	6
1.1 Физико-химические свойства и состав слюны, возможности для диагностики организма.....	6
1.2 Понятие вязкости	8
1.3 Молекулярный ротор.....	9
1.4 Интеллектуальная нагрузка, как психологический стресс	11
2 Материалы и методы	15
2.1 Материалы исследования.....	15
2.3 Метод исследования	15
3 Результаты и обсуждение.....	17
3.1 Микровязкость слюны.....	17
3.2 Факторы, влияющие на микровязкость слюны.....	19
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	25
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	26

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время остро стоит проблема поиска оптимального и простого способа оценки состояния организма человека, а также идет развитие и внедрение инновационных не инвазивных методов контроля состояния организма человека для клинической лабораторной диагностики, которая смогла бы описать проблематику стресса, стрессоустойчивости, а также спортивной медицины.

Данный процесс обусловлен происходящим расширением сферы деятельности человека, часто протекающей в экстремальных и сверхэкстремальных условиях, при этом разработано и широко используется большое количество разнообразных методов для контроля состояния человека, относящихся как к медицине, так и к спорту. Профессиональная деятельность современного человека сопровождается постоянным снижением доли физического труда и увеличением умственных и психических нагрузок.

Установлено, что эмоциональный стресс возникает при длительных непрерывно повторяющихся отрицательных эмоциональных состояниях субъектов, принципиальный характер которых имеет прямое отношение к профессиональной деятельности [1].

Поиск методов интегрального контроля состояния биологических систем разного уровня в настоящее время является весьма актуальной проблемой и осуществляется благодаря биотестам. Одним из таких биотестов является биолюминесцентный метод определения физической нагрузки.

В работе представлен метод для определения микровязкости слюны, а также предлагается адаптировать данный метод с помощью флуоресцентных роторов, чтобы оценивать физиологическое состояние организма человека.

Цель: оценить возможность определения физиологического состояния организма по значениям микровязкости слюны.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- Получить значения микровязкости слюны до и после умственной нагрузки;
- Провести анализ факторов, дающих отклик на состояние организма человека;
- Сравнить полученные результаты с результатами, полученными ранее иными экспериментальными методами.

Работы выполнены в рамках проекта "Экспертная оценка здоровья человека: фундаментальные исследования", номер гранта № 16-06-00439.

1 Обзор литературных источников

1.1 Физико-химические свойства и состав слюны, возможности для диагностики организма

Слюна – это сложная биологическая жидкость, в состав которой входят как органические, так и неорганические компоненты, вырабатываемые специализированными железами и выделяемые в ротовую полость. Слюна продуцируется тремя парами крупных слюнных желез (околоушные, поднижнечелюстные, подъязычные) и множеством мелких железок языка, слизистой оболочки неба и щек [2]. Количество, химический состав и свойства слюны меняются в зависимости от характера пищи, состав подвержен суточным колебаниям, и также зависит от возраста человека. Состав слюны меняется при патологических состояниях, заболеваниях [3,4].

Различают понятие «слюна» и «ротовая жидкость». Слюну получают непосредственно из выводных протоков слюнных желез, ротовая жидкость кроме слюны включает в себя ряд других компонентов, например, слюнные тельца, слизь носоглотки, микроорганизмы, остатки пищи. Смешанная слюна состоит из воды на 94-99% и сухого остатка. Сухой остаток представлен органическими соединениями и неорганическими веществами. Химический состав слюны достаточно лабилен и зависит от суточных ритмов, стимуляторов слюноотделения, приема лекарств.

Неорганические компоненты, входящие в состав слюны, представлены анионами Cl^- , PO_4^{3-} , HCO_3^- , катионами Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и микроэлементами: Fe, Cu, Mn, и др. Все минеральные макро- и микроэлементы находятся как в виде простых ионов, так и в составе соединений - солей, белков и хелатов [5].

Кальций и фосфаты не выпадают в осадок, так как основу слюны составляют мицеллы, связывающие большое количество воды, в результате чего все водное пространство оказывается связанным и поделенным между ними. Предполагается, что основным видом мицелл являются мицеллы фосфата кальция, $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]_m$, который образует нерастворимое ядро. На поверхности

ядра сорбируются находящиеся в слюне в избытке молекулы гидрофосфата (HPO_4^{2-}). В адсорбционном и диффузных слоях мицеллы будут находиться ионы Ca^{2+} , являющиеся противоионами. Белки, связывающие большое количество воды (в частности муцин), способствуют распределению всего объема слюны между мицеллами, в результате чего она структурируется, приобретает высокую вязкость, становится малоподвижной.

Органические соединения слюны представлены белками, ферментами, бактерицидными веществами и азотосодержащими соединениями небелковой природы. Большая часть белков слюны представлена гликопротеинами. Секреты различных слюнных желез содержат гликопротеины в различных пропорциях, что и определяет разницу в их вязкости. Наибольшую вязкость имеет слюна подъязычных желез, затем - подчелюстных, и меньшую – околоушных слюнных желез. Синтез гликопротеинов слюны протекает в несколько стадий. Вначале синтезируется белковое ядро, к которому затем присоединяются углеводные цепи. В условиях стимуляции могут синтезироваться неполноценные гликопротеины, и слюна становится менее вязкой. Вязкость слюны напрямую связана с содержанием в ней муцина и составляет приблизительно 120 – 240 сП. Муцин относится к защитным белкам стабилизирует минеральные вещества слюны, поддерживая ее мицеллярный состав [5,6].

В слюне содержатся пищевые ферменты, наиболее значимым ферментом является амилаза, расщепляющая углеводы. [7]. В исследованиях [8] показано, что снижение данного фермента у лиц перенесших сердечнососудистые операции является признаком ухудшения состояния, что может, в дальнейшем, приводить к смерти пациентов. В слюне содержится множество микроорганизмов: стафилококки, лактобактерии, дифтероиды, гемофилы, пневмококки, тетракокки, дрожжеподобные грибы, микоплазмы – в полости рта содержится наибольшее число микроорганизмов, более чем в других полостях тела, включая желудочно-кишечный тракт. Всего насчитывают более 150 видов микроорганизмов, известны допустимые концентрации большинства

микроорганизмов в слюне. Иммуноглобулины и антибактериальные белки (лизоцим и лактоферрин) в слюне, защищают микрофлору ротовой полости [9,10,11]. Исследования функционирования иммуноглобулинов в слюне помогают выявить инфекционные заболевания [7].

В настоящее время известен ряд веществ-маркеров различных заболеваний, белки-маркеры передонтактных заболеваний (фибронектин, альбумин, кератин), ферменты (амилаза, аргиназа, эластаза, лактатдегидрогеназа) онкогены, а также АФК [12]. В слюне можно обнаружить белки, состав и концентрация которых зависит от деятельности внутренних органов; существуют возможности для диагностики различных заболеваний, в том числе раковых [4].

Через слюну переносятся гормоны (кортизол, инсулин, стероидные гормоны и пр.). В настоящее время диагностика эндокринной системы, исходя из состава слюны, является достойной альтернативой исследованиям плазмы крови [11,7,13]. Содержание кортизола в организме является прямым параметром для диагностики эндогенного гиперкортицизма (состояние хронической повышенной секреции кортизола вследствие новообразований, продуцирующих данный гормон). Клинические последствия данного состояния это: ожирение, гипертензия, диабет, нарушение половой функции [14].

1.2 Понятие вязкости

Вязкость – внутреннее трение. Явление возникновения сил, препятствующих относительному перемещению слоев жидкости или газа [15].

Вязкость жидкости характеризует внутреннее трение, возникающее при перемещении одного ее слоя относительно другого. Поэтому вязкость очень часто называют внутренним трением.

Количественно вязкость выражается силой, которая достаточна для поддержания определенной скорости перемещения одного слоя относительно другого. Вязкость выражают в пуазах ($1 \text{ П} = 1 \text{ г/см}^2\cdot\text{с}$) или кратных им единицах – сантипуазах (сП), микропуазах (мкП).

Для негомогенных биологических образцов, содержащих макромолекулы, различают макровязкость, которая определяет движение цепей макромолекул в целом и слоев образца относительно друг друга, и микровязкость – вязкость, определяемая по скорости диффузии низкомолекулярных соединений в среде [16].

В данной работе определяется микровязкость такой биологической жидкости как смешанная слюна (далее «слюна») человека.

1.3 Молекулярный ротор

Термин «молекулярные роторы» относится к соединениям, молекулы которых состоят из нескольких фрагментов, способных поворачиваться (вращаться) друг относительно друга. В большинстве случаев одну часть молекулы с бóльшим моментом инерции рассматривают как неподвижную и называют статором, а другую часть молекулы, с меньшим моментом инерции — ротатором или, собственно, ротором. Внутримолекулярное вращение осуществляется за счет энергии внешнего воздействия.

Фотовозбуждение молекулярного ротора приводит к переносу электронов от донора группы к акцепторной группе. Для многих молекулярных роторов установлена степенная зависимость квантового выхода флуоресценции от вязкости растворителя. В экспериментах по определению вязкости флуоресцентным методом с помощью молекулярных роторов оценивается микровязкость сред, т.е. характеристика локального окружения зонда, связанная с затруднением его вращательной диффузии. Квантовый выход флуоресценции молекулярного ротора возрастает с уменьшением свободного объема растворителя [17].

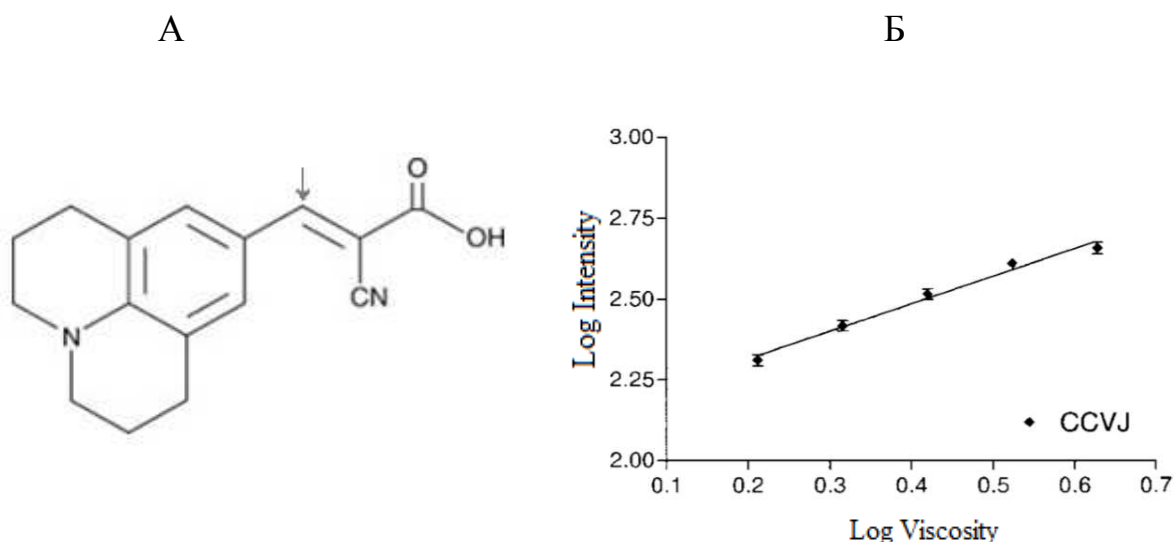


Рисунок 1 – Структура молекулярного ротора CCVJ (А, стрелкой указан центр вращения) и пример его использования для измерения вязкости плазмы крови (Б) [6]

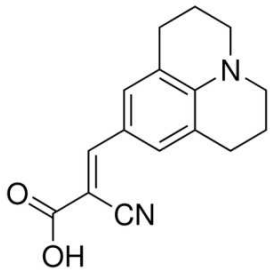
Флуоресцентный молекулярный ротор CCVJ (рис.1, А) был использован в определении вязкости плазмы крови (рис.1, Б) [18] (характеристики молекулярного ротора CCVJ представлены в таблице 1). Авторами были измерены значения интенсивности флуоресценции CCVJ, которые коррелировали с известным значением вязкости плазмы крови согласно уравнению Фёрстера-Хоффманна, которое определяет связь микровязкости η_m и квантового выхода флуоресценции Φ :

$$\lg \Phi = C + x \lg \eta_m, \quad (1)$$

где C – зависящая от температуры константа;
 x – константа, характеризующая зонд.

Полученные корреляции свидетельствовали о том, что данный зонд применим для измерения микровязкости.

Таблица 1 – Физико-химические характеристики молекулярного ротора CCVJ

Характеристика	Значение
Химическая формула	C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₂
Молекулярная масса [г/моль]	268,31
Структурная формула	
Длина волны максимума спектра поглощения [нм]	440
Длина волны максимума спектра флуоресценции [нм]	500
Квантовый выход флуоресценции	0,002-0,30
Коэффициент молярной экстинкции (440 нм), [М ⁻¹ см ⁻¹]	25404

1.4 Интеллектуальная нагрузка, как психологический стресс

Существует большое количество подтверждений тому, что хронический стресс - спутник студенческой жизни. Процесс обучения, построенный на основе сессий - коротких промежутков времени с экзаменами и зачетами, дает серьезную нагрузку на адаптационные способности организма и вызывает стресс. Стресс, испытываемый студентами, может сказываться на обучении (т.е. приобретении, применении и переработке знаний), что препятствует академической успеваемости. Трудности с успеваемостью в свою очередь также создают дискомфорт, в результате чего общий стресс усиливается [19,20].

Стресс в современном обществе стал одной из основных проблем. Термин «стресс» ввел Ганс Салье, которые различал стресс в узком смысле слова, как проявление адаптационной активности организма при сильных, экстремальных для него воздействиях, от стресса в широком смысле слова,

когда адаптационная активность возникает при действии любых, значимых для организма факторов. В настоящей работе мы определим это слово следующим образом. Стресс — это функциональное состояние организма, характеризующееся существенными нарушениями биохимического, физиологического, психического статуса человека и его поведения, которое возникает при появлении угрожающих или неприятных факторов в жизненной ситуации. Необходимо понимать, что это естественное функциональное состояние для адаптации к различным новым ситуациям, в том числе к угрозам. Стрессовые реакции включают в себя комплекс изменений на поведенческом, вегетативном, гуморальном, биохимическом уровнях, а также на психическом, включая субъективные эмоциональные переживания. Стресс подразделяют на: физиологический и психологический; а психологический, в свою очередь, на: информационный, связанный с решением интеллектуальных задач, и эмоциональный [21,22]. Г. Салье выделил три стадии стресса:

В первую стадию (стадия тревоги) происходит активация адаптационных форм реагирования. Стадия выражается в реакциях: надпочечников (выделение кортикостероидов), иммунной системы и желудочно-кишечного тракта, так называемая, «триада стресса». Стадия тревоги характеризуется мобилизацией защитных сил организма путем перестройки нервной системы и гормональной системы за счет преобладания катаболических процессов над анаболическими. Ее иногда называют «стрессом ожидания», или «предстартовой лихорадкой». Таково, например, состояние студентов перед экзаменами, спортсменов на старте, больных накануне операции. Здесь необходимо помнить, что чем сильнее волнуется человек на этом этапе, тем хуже он будет защищен в дальнейшем: растратив энергию и потеряв силы, он становится похожим на спортсмена, «перегоревшего» на старте. С другой стороны, сохранение «олимпийского» спокойствия влечет за собой отсутствие должной мобилизации сил, необходимых для отражения стресса.

Вторая стадия (стадия сопротивления), в которой признаки тревоги

практически исчезают, а уровень сопротивляемости поднимается значительно выше обычного. В кровь выделяется большое количество катехоламинов (адреналин и норадреналин), которые обладают противовоспалительным, противошоковым и антитоксическим действием.

Третья стадия — фаза истощения. В результате длительного действия стрессорного раздражителя, несмотря на возросшую сопротивляемость, запасы энергии постепенно истощаются. Тогда вновь возникают признаки реакции тревоги, но теперь они необратимы, при продолжении стрессового воздействия индивид погибает [21,23].

Необходимо отметить, что каких либо явных маркеров стресса не удалось обнаружить. Стрессовые реакции носят индивидуальный характер, и зависят как от психологических качеств самой личности, так и от интерпретации негативного воздействия личностью, т.е. от стрессора [21]. Однако, разберем некоторые общие биологические реакции. В стрессовых реакциях большое значение имеет работа эндокринной системы. Гормональные изменения начинаются с активации гипоталамо- симпато-адреномедулярной, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и ренин-ангиотензиновой систем. При этом высвобождаются «гормоны стресса» катехоламины, кортикостероиды, глюкагон, гормон роста, ренин, которые повышают активность сердечно-сосудистой системы. В частности, гипоталамус секретирует кортикотропин-рилизинг-гормон (КРГ), стимулирующий выработку гипофизом адренокортикотропного гормона (АКТГ), в свою очередь, активирующего выработку надпочечниками кортизола. Гормон стресса, кортизол, поступая в кровоток, через механизм отрицательной обратной связи, тормозит секрецию КРГ в гипоталамусе и АКТГ в гипофизе [23].

Также острый стресс у людей сопровождается уменьшением интенсивности аэробного гликолиза, пентозофосфатного цикла, глюконеогенеза, активацией липолиза, нарушением этерифицирующей функции печени, преобладающими энергосубстратами выступают липиды. Дефицит глюкокортикоидных гормонов способствует язвообразованию в

желудке [23]. Со стороны сердечно-сосудистой системы обычно наблюдаются повышение частоты сердечных сокращений систолического и минутного объема крови, что показано в экспериментах [24] со студентами в период сессии.

Степень стресса зависит от многих личностных качеств. Например, перфекционизм, т.е. чрезмерно высокие требования к собственной личности и к результатам деятельности, увеличивает показатели общей тревожности; какие-либо ошибки интерпретируются, как полный крах, что ведет к психологическим депрессиям. Также отмечается повышение тревожности у лиц с высокими показателями враждебности [25]. Стоит отметить, что помимо этого, стрессовым фактором являются различные семейные и социальные дисфункции, характеризуемые снижением эмоциональной поддержки [19]. Высокий уровень социальной тревожности крайне неблагоприятно сказывается на качестве жизни человека, увеличивая риск одиночества, развода, суицида, алкоголизации, сексуальных дисфункций, снижения количества социальных связей и социальной поддержки и пр. [20].

2 Материалы и методы

2.1 Материалы исследования

В работе были использованы следующие реагенты: 9-(2-карбокси-2-циановинил)-юлолидин (CCVJ, Sigma), глицерин (Panreac), образцы слюны.

Для проведения эксперимента была отобрана группа студентов второго и третьего курса КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, специальностей «Лечебное дело» и «Педиатрия». Всего в эксперименте приняло участие 182 человека, из них в первом этапе 72 и 110 в третьем этапе. Возраст испытуемых 20-22 лет. По данным людям имеем ряд антропологических характеристик, предоставленных нашими партнерами из КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого.

Исследуемый материал – слюна, собирался путем прямого сплевывания в пробирку. Забор слюны производили три раза: фоновая проба отбиралась в октябре 2015 года, на обычных занятиях, когда студенты, предположительно находились в состоянии эмоционального покоя; тестовая проба отбиралась в январе 2016 года на сессии, в период сопряженный со значительной интеллектуальной нагрузкой. Третий сбор слюны состоялся осенью 2016 года у другой группы студентов, но также при минимальном стрессе. После чего пробы слюны замораживалась для дальнейшего анализа микровязкости среды. Помимо этого, каждый забор материала сопровождался психологическим анкетированием. Для этого использовали тест Спилбергера-Ханина для выяснения общего уровня тревожности.

2.3 Метод исследования

На первом этапе исследования была изучена возможность использования для анализа слюны без предварительной обработки. Были измерены спектры поглощения и флуоресценции ротора CCVJ в образцах слюны после

размораживания без предварительного центрифугирования. Также исследованы образцы свежей слюны (без замораживания) и слюны после хранения в морозильной камере при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Были измерены спектры поглощения и флуоресценции ротора ССVJ в образцах свежей слюны и слюны после размораживания с предварительным центрифугированием.

Итоговый метод, используемый в настоящей работе, был сформулирован Карузиной Н. [26].

Перед проведением измерения слюну размораживали в течение 30 минут при комнатной температуре. Для пробоподготовки (центрифугирование) использовалась центрифуга Centrifuge 5810R (Eppendorf). Образцы центрифугировались в течение 15 минут при 5000 об/мин, благодаря центрифугированию можно избежать высокого уровня рассеяния, который является помехой для корректной регистрации сигнала ротора ССVJ. Затем происходил отбор верхней фракции слюны и снимались спектры поглощения и флуоресценции образцов без добавления флуоресцентного ротора ССVJ (фон) и с добавлением были измерены с помощью спектрофлуориметра Fluorolog-3 (Horiba, JobinYvon) и спектрофотометре Cary 5000 (Agilent Technologies, Australia) соответственно.

Исследуемый образец содержал 915 мкл слюны и 85 мкл ССVJ (стоковой концентрации $4.63 \cdot 10^{-5}\text{ M}$)

Расчет вязкости образцов проводили по формуле (2) с использованием интенсивности флуоресценции при 500 нм.

$$\frac{\lg \Phi - C}{x} = \lg \eta_m \quad (2)$$

3 Результаты и обсуждение

3.1 Микровязкость слюны

При снятии спектров поглощения (рис. 2) встречались аномальные образцы (рис. 3). Они могли иметь специфической цвет и запах, спектры таких образцов имели пик и без добавления зонда, влияние на флуоресценцию не было обнаружено (рис. 4).

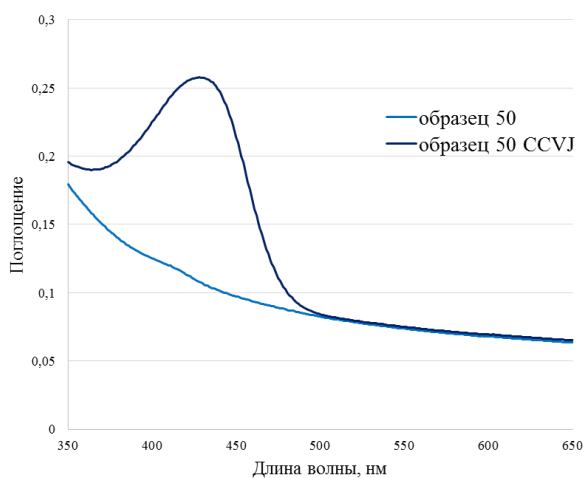


Рисунок 2- Спектр поглощения образца без внешних отклонений

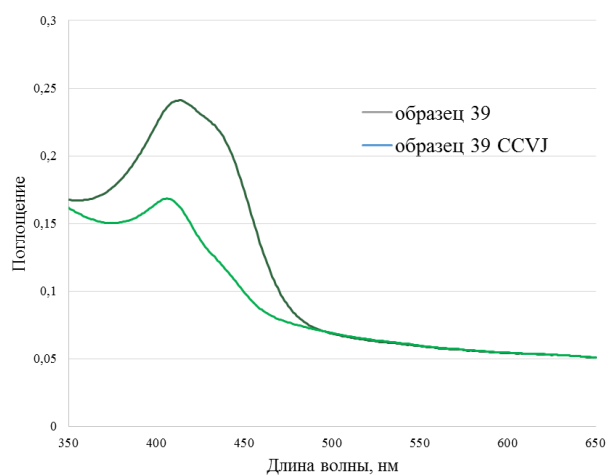


Рисунок 3 - Спектр поглощения образца с внешними отклонениями

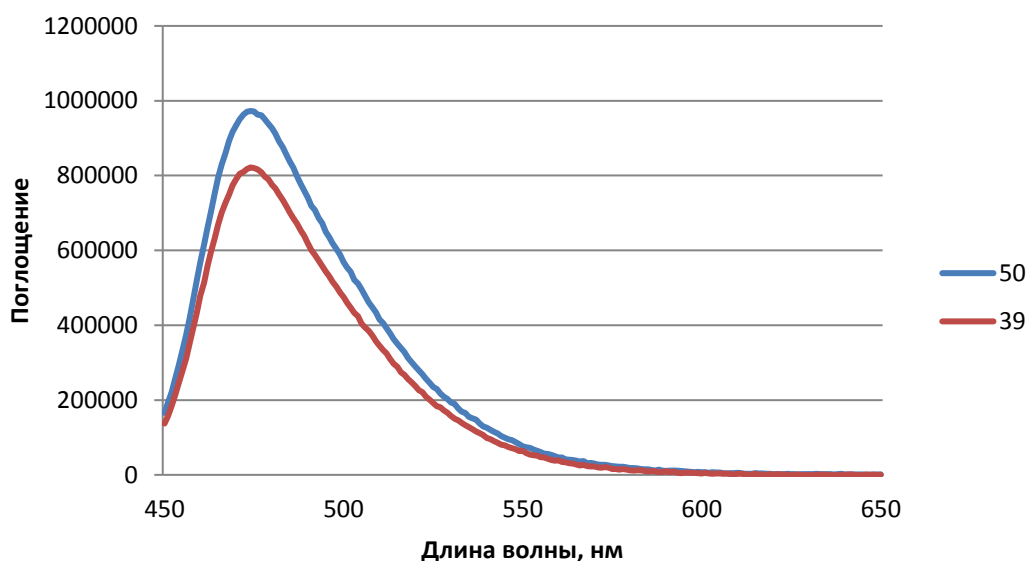


Рисунок 4 – Спектры флуоресценции аномального образца и образца без отклонений

Были получены значения микровязкости 1 и 2 этапов, и наблюдается достоверное повышение вязкости на 26,8 % в тестовой пробе слюны (рис. 5). Таким образом, можно говорить об изменении состава слюны в тестовой пробе, по-видимому, снижается доля воды и повышается концентрация биологически активных веществ. Проведенный анализ на нормальное распределение был отрицательным. Так же был использован U-критерий Манна-Уитни для оценки различий между двумя независимыми выборками по уровню какого-либо количественного признака.

U-критерий Манна-Уитни является непараметрическим критерием, поэтому, в отличие от t-критерия Стьюдента, не требует наличия нормального распределения сравниваемых совокупностей.

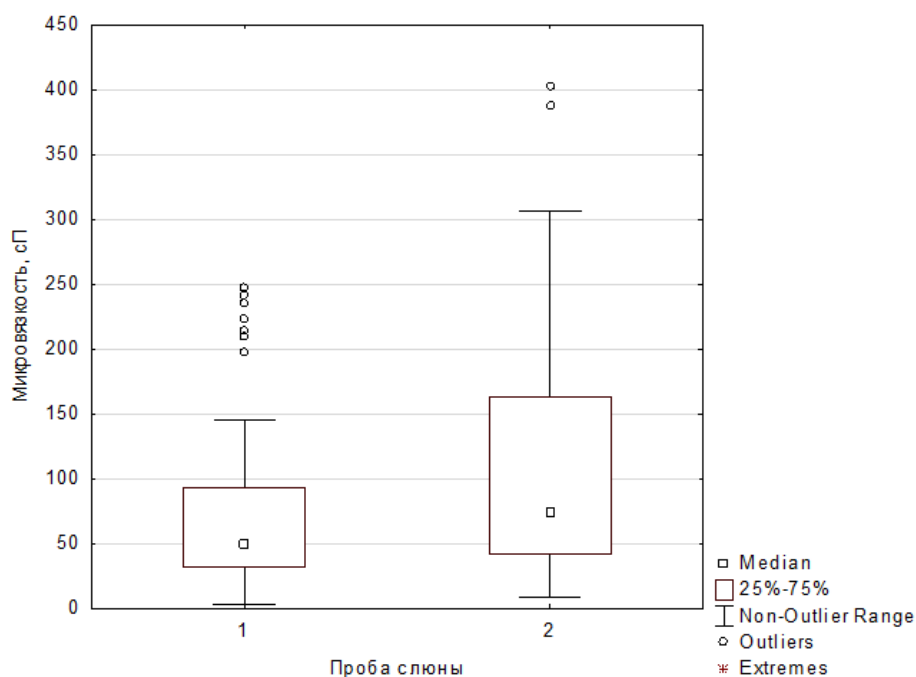


Рисунок 5 - Микровязкость проб слюны: фоновая проба (1), тестовая проба (2)

Условием для применения U-критерия Манна-Уитни является отсутствие в сравниваемых группах совпадающих значений признака (все числа – разные) или очень малое число таких совпадений [18].

Сравнив все три этапа (рис. 6) видно, что значения 1 и 3 этапа (минимальный стресс) варьируются в одном диапазоне. Такой широкий разброс

микровязкости объясняется тем, что состав слюны зависит от многих факторов: возраста, состояния сытости, как давно был прием пищи и что именно было съедено, пил ли человек перед сдачей слюны, курил, испытывал ли волнение.

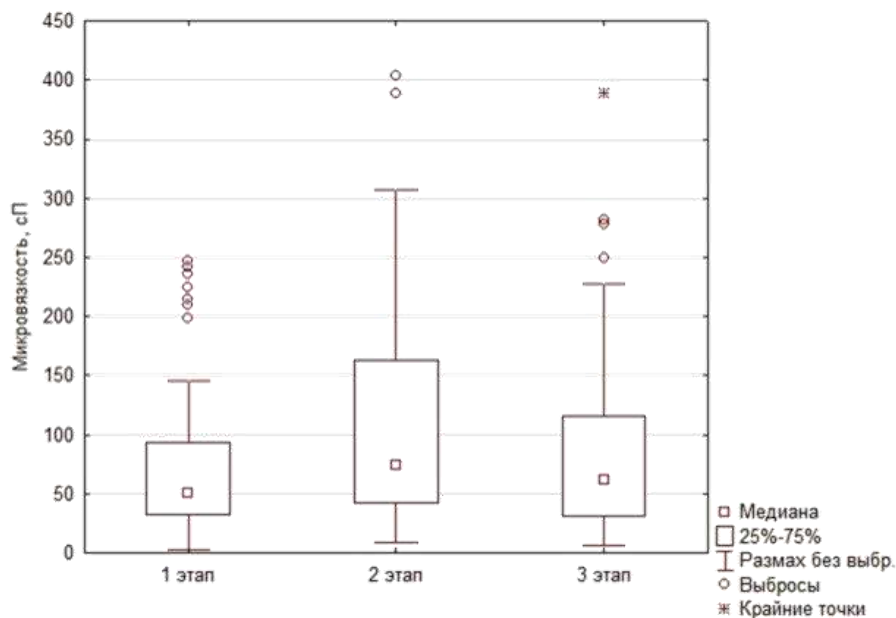


Рисунок 6 - Микровязкость проб слюны: 1 этапа, 2 этапа, 3 этапа (медиана и 25, 75 перцентили) ($p < 0,05$)

3.2 Факторы, влияющие на микровязкость слюны

Многие факторы были проверены на корреляцию, однако она была незначительна (табл. 2).

Таблица 2 – Значения корреляций некоторых параметров

Переменная	1 Этап, сП	2 этап, сП
Основной обмен	-0,009979	0,023478
Жировая Масса, кг	-0,018006	0,021288
Тошная Масса, кг	-0,02162	0,005008
Активность клеточной массы, кг	-0,011416	0,023738
%, Активной клеточной массы	0,057309	0,098982
Общая жидкость, кг	-0,022073	0,004649
Соотношение талия / бедро	-0,115442	-0,062495
Костная масса, кг	0,001089	0,027848
Мышечная масса, кг	-0,020979	0,011802
Внеклеточная жидкость, кг	-0,014388	0,008521
%, мышечной массы	0,00861	0,035748
%, жира	0,006992	0,043625
%, костной массы	0,080187	0,063138
Тип телосложения по Rees-Eysenck	-0,104118	-0,029331

Однако нельзя точно сказать какой именно фактор имеет воздействие на вязкость [28]. Для этого был проведен анализ некоторых показателей в отдельности. Была получена зависимость микровязкости от пола человека при стрессовой нагрузке и без (рис. 7, 8). Можно увидеть, что при стрессе у мужчин значения вязкости возрастают значительно, в отличие от женщин.

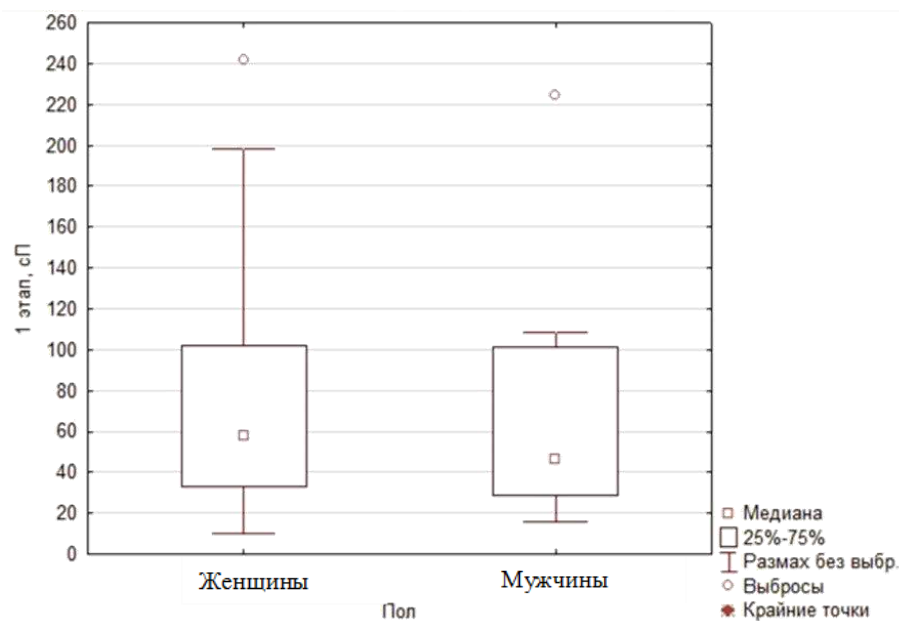


Рисунок 7 -Зависимость микровязкости проб слюны 1 этапа от пола человека

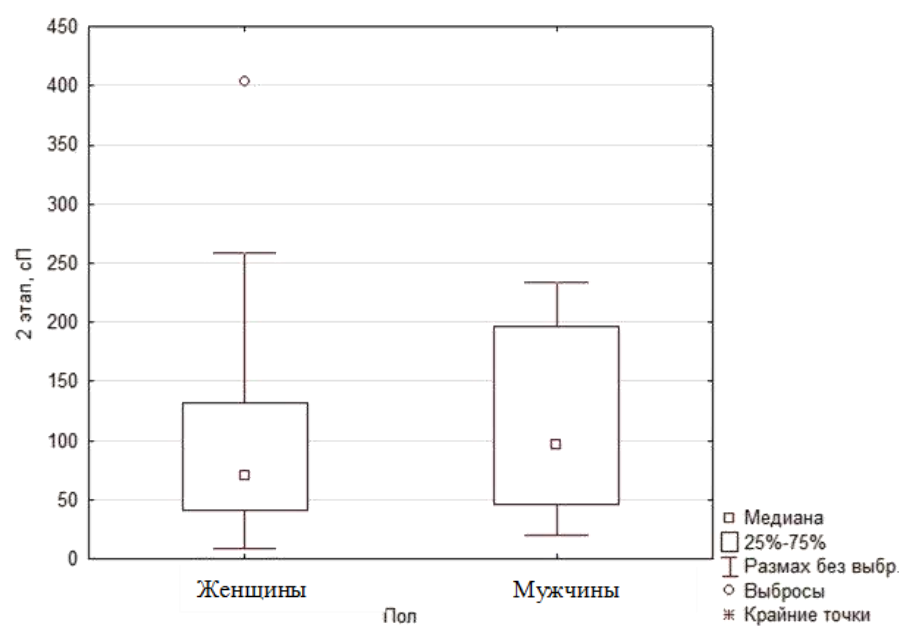


Рисунок 8 - Зависимость микровязкости проб слюны 2 этапа от пола человека

Также была проверена зависимость микровязкости от индекса массы тела (рис. 9) и здоровья человека (рис. 10). При сравнении вязкости с ИМТ не были обнаружены какие-либо корреляции, как и в сравнении со здоровьем человека. Однако последнее интересно, ведь заболевания влияют на отклонения в организме человека в целом. Возможно, такой результат получен по причине малого количества данных о заболеваниях испытуемых.

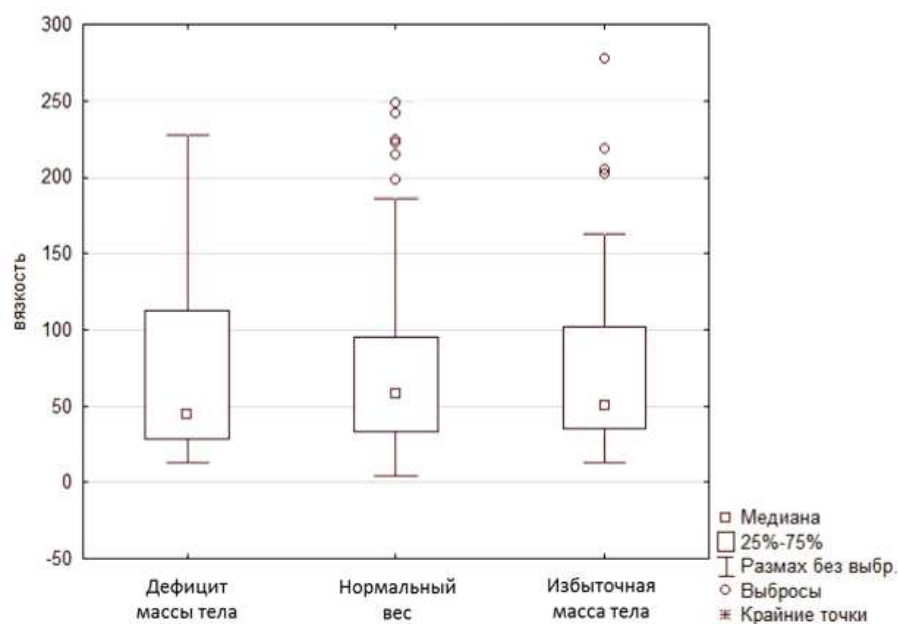


Рисунок 9 - Зависимость микровязкости от ИМТ

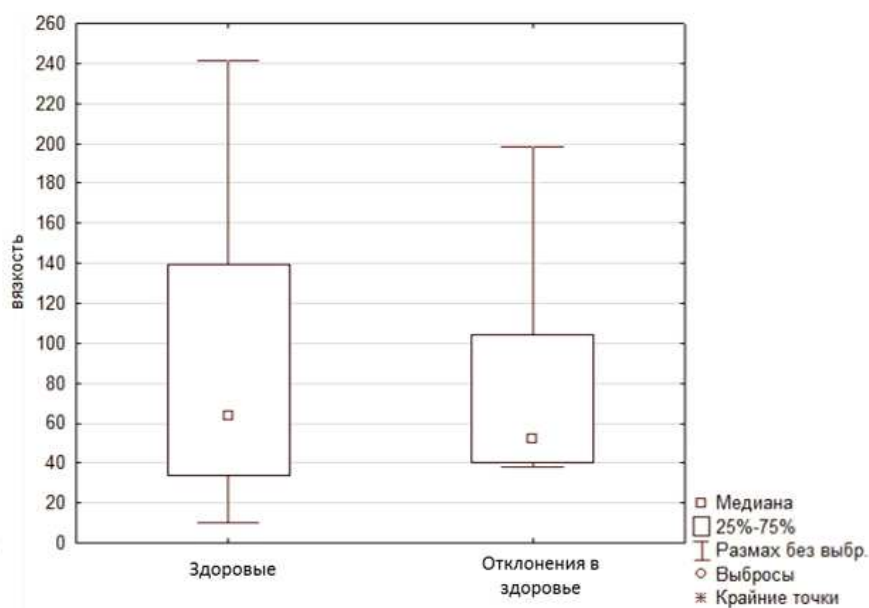


Рисунок 10 - Зависимость микровязкости от состояния здоровья человека

При взятии образцов слюны проводилось психологическое анкетирование два раза: в состоянии покоя и в период сессии, когда студенты подвергались повышенной интеллектуальной нагрузки. Использовали тест Спилбергера-Ханина для оценки тревожности. Этот тест состоит из 20 высказываний, относящихся к тревожности как состоянию (ситуативная тревожность) и из 20

высказываний на определение тревожности как диспозиции, личностной особенности (личностная тревожность). Нас больше интересует ситуативная тревожность — состояние субъекта в данный момент времени, которая характеризуется субъективно переживаемыми эмоциями: напряжением, беспокойством, озабоченностью, нервозностью в данной конкретной обстановке. Это состояние возникает как эмоциональная реакция на экстремальную или стрессовую ситуацию, может быть разным по интенсивности и динамичным во времени. Таким образом, значение итогового показателя позволяет оценить не только уровень актуальной тревоги испытуемого, но и определить, находится ли он под воздействием стрессовой ситуации и какова интенсивность этого воздействия на него. Из графиков видно (рис. 11, 12), что у людей с нормальной и повышенной тревожностью наблюдается увеличение микровязкости в зависимости от ситуации на 72% и 60% соответственно.

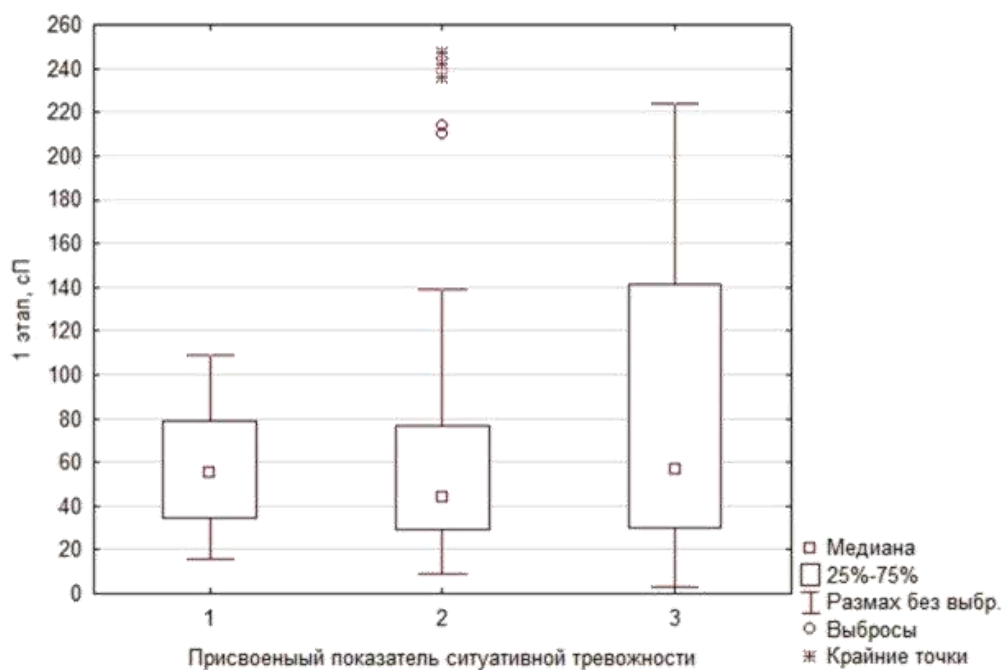


Рисунок 11 - Зависимость микровязкости проб слюны 1 этапа от показателя СТ

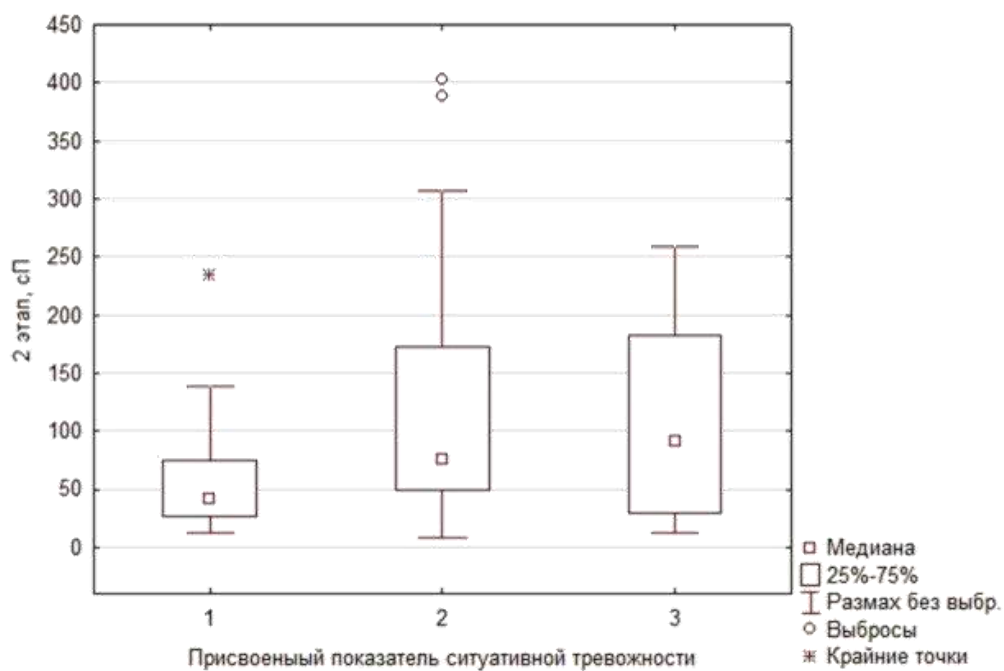


Рисунок 12 - Зависимость микровязкости проб слюны 2 этапа от показателя СТ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования были сделаны следующие выводы:

1. Предложенный метод позволяет оценивать микровязкость слюны, ее значения находятся в пределах от 3 до 400 сП;
2. Для проб слюны, которые соответствуют высокому стрессу, значения микровязкости выше, чем в условном спокойном состоянии на 26,8 %;
3. Для среднего и высокого уровня ситуативной тревожности наблюдается увеличение микровязкости слюны в стресс ситуации на 72% и 60% соответственно;
4. Антропометрические факторы и заболевания не имеют сильного влияния на значения микровязкости слюны.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Григорьев И.В., Атоманов И.Д., Уланова Е.А., // Белковый состав смешанной слюны человека: механизмы психофизиологической регуляции // Российский научный центр восстановительной медицины и курортологии МЗ РФ, Институт биоорганической химии Им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Витебский государственный медицинский университет
2. Покровский, В. М. Физиология человека: учебное пособие / В. М. Покровский, Г. Ф. Коротько – Москва: Медицина. – 2001.
3. Николаев, И. В. Антиоксидантная и пероксидазная активность слюны при воспалительных заболеваниях пародонта и возможность их коррекции / И.В. Николаев, Л.Н. Колобкова, Е.О. Ландесман, Е.В. Степанова, О.В. Королева // Биомедицинская химия. – 2008. – Т. 54, №. 4. – С. 454-462.
4. Петров, И. М. Информационный анализ слюны / И. М. Петров // Современные наукоемкие технологии. – 2008. – №3. – С. 62.
5. Тарасенко, Л.М. Биохимия органов полости рта : учеб. пособие для вузов / Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада – Полтава : издательство «Полтава», 2008. – 71 с.
6. Островский, В.А Биохимия полости рта : учеб. пособие для вузов / В.А. Островский, Т.А. Храмов – Волгоград : издательство Вол ГМУ, 2010. – 115 с.
7. Lima D. P. Saliva: reflection of the body / D. P. Lima, D. G. Diniz, S. A. S. Moimaz, D. H. Sumida, A. C. Okamoto // International Journal of Infectious Diseases 14 – 2010 – P. 184-188.
8. Adam, D. J. Serum amylase isoenzymes in patients undergoing operation for ruptured and nonruptured abdominal aortic aneurysm / D. J. Adam, A. A. Milne, S. M. Evans, J. E. Roulston, A. J. Lee, C. V. Rucklcy, et al. // J Vasc Surg – 1999 – V. 30 – P. 229–35.
9. Боровский, Е. В. Биология полости рта : учебное пособие / Е. В. Боровский, В. К. Леонтьев – Москва: Медицина, 1991.

10. Зеленова, Е. Г. Микрофлора полости рта: норма и патология : учебное пособие / Е.Г. Зеленова, М.И. Заславская, Е.В. Салина, СП. Рассанов – Нижний Новгород: НГМА Нижний Новгород. – 2014.
11. Groschl M. Current Status of Salivary Hormone Analysis / M. Groschl // *Clinical Chemistry* – 2008 – V. 54, №11. – P. 1759–1769.
12. Liu, J. Saliva: A potential media for disease diagnostics and monitoring / J. Liu, Y. Duan // *Oral Oncology* – 2012 – № 48. – P. 569–577.
13. Safarzadeh E. Determination of salivary cortisol in healthy children and adolescents / E. Safarzadeh , F. Mostafavi , M.T. Naghi Ashtiani // *Acta Med Iran*, – 2013.
14. Белая, Ж. Е. Автоматизированный электрохемилюминесцентный метод определения кортизола в слюне для диагностики эндогенного гиперкортицизма среди пациентов с ожирением / Ж. Е. Белая, А. В. Ильин, Г. А. Мельниченко, Л. Я.Рожинская, Н. В. Драгунова, Л. К. Дзеранова, Н. А. Огнева, С. А. Бутрова, Е. А.Трошина, Г. С. Колесникова, И. И. Дедов // *Ожирение и метаболизм* – 2011. №2. – С.56-63.
15. Платунов, Е. С. Физика. Словарь-справочник / Е. С. Платунов, В. А. Самолетов, С. Е. Буравой – СПб.: Питер, 2005. – 496 с.
16. Киреев, В. А. Краткий курс физической химии / В. А. Киреев – Москва : издательство «Химия», 1978. – 640 с.
17. Шилягина, Н. Ю. Исследование тетраарилтетрацианопорфиразинов в качестве потенциальных фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии и флуоресцентной диагностики: дис. ... канд. биол. наук : 03.01.02 / Шилягина Наталья Юриевна. – Воронеж, 2014. – 125 с.
18. Haidekker, M. A. A novel approach to blood plasma viscosity measurement using fluorescent molecular rotors. / M. A. Haidekker, A. G. Tsai, T. Brady, H. Y. Stevens, J. A. Frangos, E. Theodorakis, M. Intaglietta // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2002. - №282. с. H1609–H1614

19. Евдокимова, Я. Г. Интерперсональные факторы эмоциональной дезадаптации у студентов в условиях мегаполиса/ Я. Г. Евдокимова // Известия РГПУ им. А.И. Герцена – 2008. – №49. – С.270-273.
20. Павлова, Т. С. Психологические факторы социальной тревожности в студенческом возрасте / Т. С. Павлова, А. Б. Холмогорова // Консультативная психология и психотерапия. – 2011. – №1. – С. 29-43.
21. Бодров, В. А. Психологический стресс: развитие и преодоление/ Бодров – Москва: ПЕР СЭ, 2006. – 528 с.
22. Данилова, Н.Н. Физиология высшей нервной деятельности : учебное пособие / Н.Н. Данилова, А.Л. Крылова – Ростов н/Д: Феникс – 2005.
23. Жигулина, В. В. Биохимический ответ на стресс / В. В. Жигулина // Верхневолжский медицинский журнал.– 2014.–Т. 12, №4. – С. 25–30.
24. Бусловская, Л. К. Адаптационные реакции у студентов при экзаменационном стрессе / Л. К. Бусловская, Ю. П. Рыжкова // Научные ведомости БелГУ. Серия: Естественные науки. – 2011. – №21. – С.46-52.
25. Москова, М. В. Личностные факторы эмоциональной дезадаптации студентов в предэкзаменационный период. / М. В. Москова // Известия РГПУ им. А.И. Герцена. – 2008. – №49. – С.136-141.
26. Карузина Н.Е. Разработка методики флуоресцентного определения микровязкости слюны с помощью молекулярных ротаторов / Н. Е. Карузина // Курсовая работа – 2016. – С. 13
27. Lacowicz, J. R. Principles of fluorescence spectroscopy [Текст]: науч. изд. / J. R. Lacowicz. New-York: Springer, 2006. – 954 с.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
"СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологий

Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

В. А. Кратасюк В. А. Кратасюк

«20» июня 2017 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

03.03.02 Физика

Исследование возможности использования микровязкости слюны человека как
индикатора физиологического состояния

Научный консультант В. А. Кратасюк зав. каф. биофизики В. А. Кратасюк

Руководитель Д. В. Гульнов асс. каф. биофизики Д. В. Гульнов

Выпускник А. О. Филиппова А. О. Филиппова

Красноярск 2017