

УДК 577.29:612.313.3:796.015.686

БИОФИЗИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЛЮНЫ В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА СПОРТСМЕНА

BIOPHYSICAL ANALYSIS OF SALIVA IN THE ASSESSMENT OF THE FUNCTIONAL CONDITION OF A SPORTSMAN

А. М. Выshedко¹,

кандидат биологических наук Л. В. Степанова¹,

доктор биологических наук, доцент О. А. Коленчукова^{1,2},

доктор биологических наук, профессор В. А. Кратасюк^{1,3},

¹ФГАО У ВО «Сибирский федеральный университет», Красноярск, Россия

²ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярск, Россия

³ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН Обособленное подразделение Институт биофизики СО РАН, Красноярск, 660036, Российская Федерация

Информация для связи с автором: sever_sasha@list.ru

Аннотация. Исследование посвящено возможности использования биофизического анализа слюны для оценки функционального состояния спортсмена. Материалом исследования служила слюна спортсменов с разными спортивными квалификациями (I разряд, КМС и МС, МСМК, ЗМС) и нетренированных студентов, взятая до и после физической нагрузки. Тестирование слюны проведено с использованием билюминесцентного и хемилюминесцентного методов. Выявлено повышение активности билюминесцентной ферментативной системы под воздействием слюны спортсменов относительно нетренированных студентов. Ферментативная активность билюминесцентной системы после физической нагрузки возрастала для высококвалифицированных спортсменов и снижалась – для нетренированных студентов. Доказана различная интенсивность работы антиоксидантной системы слюны спортсменов в зависимости от их квалификации. Таким образом показана возможность применения биофизических методов

(биоломинесцентный и хемилуминесцентный анализ) для тестирования слюны спортсменов для оценки воздействия физической нагрузки на состояние организма.

Ключевые слова: спорт высших достижений, слюна, биоломинесцентный анализ, остаточное свечение, хемилуминесценция, антиоксидантный статус.

Abstract. The study is devoted to the possibility of using biophysical analysis of saliva to assess the physical condition of an athlete. The research material was the saliva of athletes with different sports qualifications (I grade, KMS and MS, MSIC, HMS) and untrained students taken before and after exercise. Saliva testing was performed using bioluminescent and chemiluminescent methods. Revealed increased activity of the bioluminescent enzyme system under the influence of the saliva of athletes relatively untrained students. After physical activity, the enzymatic activity of the system increased for highly skilled athletes and decreased for untrained students. Revealed increased oxidative stress for athletes, which showed a good adaptation of the body to physical exertion. Proven different intensity of the antioxidant system of saliva of athletes, depending on their qualifications. Thus, testing saliva of athletes using biophysical methods, such as bioluminescent and chemiluminescent analysis, can be used to assess the impact of exercise on the body condition of athletes of different qualifications.

Keywords: top performance sports, saliva, bioluminescent analysis, residual luminescence, chemiluminescence, antioxidant status, saliva

Введение. Совершенствование системы физической подготовки требует методов индивидуализации тренировок, что возможно только при использовании объективных критериев оценки реакции организма на физическую нагрузку [1]. Успешное внедрение в современном профессиональном спорте качественно новых подходов к оценке и прогнозированию состояния здоровья невозможно без использования достижений медико-биологических наук, в частности, биофизики, изучающей чувствительные показатели биологических процессов на клеточном и молекулярном уровнях [5, 6-8]. С помощью биофизических тестов можно оценить нарушения адаптационного потенциала организма приводящее к угнетению иммунной системы под воздействием интенсивных тренировок [4, 8]. Также в настоящее время представляет интерес использование неинвазивных методов

контроля состояния организма человека. Удобным объектом является слюна, которая подходит для диагностических целей, так как содержит специфические растворимые биологические маркеры (биомаркеры). Использование слюны как нетрудоемкой для сбора биологической жидкости снимает ограничения на частоту и доступность измерений, позволяет создать удобный инструмент для ежедневной работы тренера и спортивного врача, а также индивидуального контроля оценки реакции организма на физическую нагрузку [2, 7].

Целью явилось оценка возможности применения биолюминесцентного и хемилюминесцентного анализа для неинвазивной оценки функционального состояния спортсмена при физической нагрузке.

Методы и организация исследования. Экспериментальная работа проводилась на базе Института физической культуры, спорта и туризма Сибирского федерального университета. В исследовании приняли участие профессиональные спортсмены (футболисты, n=10; спортивное ориентирование, n=17), имеющие квалификацию I разряд, КМС и МС, МСМК, ЗМС. Контрольной группой служили студенты (n=12), которые не занимались профессиональным спортом. Возраст участников исследования составил 19 ± 2 лет сопоставимых по полу. Тестирование проводили с сентября по ноябрь 2017 г, во время тренировочного процесса. Все участники получали одинаковую физическую нагрузку в виде работы в анаэробном режиме с продолжительностью 90 минут с интенсивностью в пределах 65-75% частоты сердечных сокращений от уровня покоя. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых.

Объектом исследования служила слюна, которую собирали путем сплевыванием в стерильную пробирку до и после тренировки и далее центрифугировали (Eppendorf Centrifuge 5810 r, Германия) в течение 15 минут при частоте 5000 об/мин. Для анализа использовали супернатант. Биолюминесцентное и хемилюминесцентное тестирования проводили на планшетном люминометре (Berthold Technologies, Германия).

Биолюминесцентный анализ слюны проводили в соответствии с методикой биолюминесцентного ферментативного тестирования [6]. Реакцию биотеста определяли по величине остаточного свечения (Т, %) биферментной тест-системы.

С помощью H_2O_2 -люминол зависимой хемилюминесценции оценивали антиоксидантный статус [3]. Для анализа активности каталазы использовали параметры t_0 и t_{max} , показывающие время начала хемилюминесцентной реакции в слюне при воздействии H_2O_2 и максимальный пик активности; I_{max} – максимальную интенсивность хемилюминесцентной реакции; S_{max} – максимальную площадь хемилюминесцентной кривой; U – скорость снижения хемилюминесцентной кривой.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США) с подсчетом медианы (Me) и интерквартильных разбросов (C_{25} - C_{75} перцентили). Различия между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни (t_B). Уровень статистической значимости считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Биолюминесцентное тестирование слюны показало, что величина остаточного свечения ферментативной системы до физической нагрузки у спортсменов повышено, относительно контрольной группы (рис. 1). Слюна нетренированного организма значительно тушила биолюминесцентное свечение ферментативной системы, чем слюна спортсменов. После физической нагрузки в контрольной группе изменение ферментативного состава слюны снижало индекс остаточного свечения, для спортсменов – увеличивало.

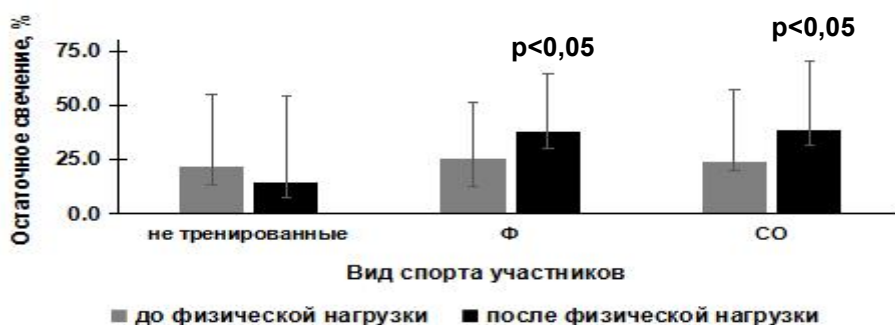


Рис. 1. Величина остаточного свечения слюны до и после физической нагрузки у спортсменов
Примечание: Не тренированные – группа контроля, Ф - футбол, СО - спортивное ориентирование; достоверность различий (p) указана относительно не тренированных.

Таким образом, физическая нагрузка активизировала изменения в составе слюны спортсменов, что усиливало активность ферментативной системы.

Анализ изменения активности ферментативной системы под воздействием слюны позволил выявить различия между спортсменами разной спортивной квалификации. Спортсмены с квалификацией 1-ый взрослый разряд ($P < 0,05$) после физической нагрузки имели отрицательную величину изменения остаточного свечения, а с квалификациями КМС, МС и МСМК – положительную величину ($P < 0,05$), что достоверно отличалось от показателей нетренированных студентов.

Таким образом, отрицательная величина изменения остаточного свечения ферментативной системы, выявленная после физической нагрузки, соответствовала группе студентов и спортсменов с 1-ым взрослым разрядом, что свидетельствует о низкой адаптации к повышенным физическим нагрузкам. Положительная величина остаточного свечения указывала на высокую квалификацию спортсмена.

Исследование хемилюминесцентной активности слюны у спортсменов после физической нагрузки обнаружил снижение хемилюминесцентных показателей t_0 , I_{max} , S_{max} и T_{max} в группе спортсменов относительно контроля (табл. 1).

Таблица 1. Показатели антиоксидантного статуса после физической нагрузки

Показатели	Студенты		Спортсмены	
t_0	243,0	(211,0;401,0)	116,0*	(106,0;116,0)
I_{max}	1193,0	(708,0;1278,0)	174,5*	(158,0;190,0)
S_{max}	39734	(25438;56430)	7662*	(7057;8234)
T_{max}	16,1	(16,1;16,1)	116,0*	(106,0;116,0)

Примечание: * статистически значимое различие между показателями хемилюминесцентного анализа спортсменов и контрольной группой при $p < 0,001$

Можно предположить, что в организме спортсменов в результате воздействия физических нагрузок происходила перестройка метаболических процессов, приводящая к повышению эффективной их работы при низких затратах энергии.

Анализ хемилюминесцентных параметров слюны у спортсменов разной квалификации обнаружил снижение времени начальной хемилюминесцентной реакции и интенсивности свечения при увеличении площади кривой и скорости ее снижения у лиц, имеющих квалификацию МС и ЗМС относительно контроля ($P < 0,001$). Для спортсменов с разрядом КМС выявлено увеличение интенсивности

хемиллюминесцентной кривой при снижении площади и скорости реакции. Таким образом, работа антиоксидантной системы слюны имела различную интенсивность для спортсменов в зависимости от их квалификации.

Активность каталазы в слюне спортсменов различалась в зависимости от вида спорта. Так, в группе спортсменов-футболистов относительно контроля до и после физической нагрузки происходило увеличение показателей t_0 , I_{max} , S_{max} . В группе спортсменов-ориентировщиков выявлено снижение t_0 , S_{max} относительно спортсменов-футболистов и лиц контрольной группы (рис. 2).

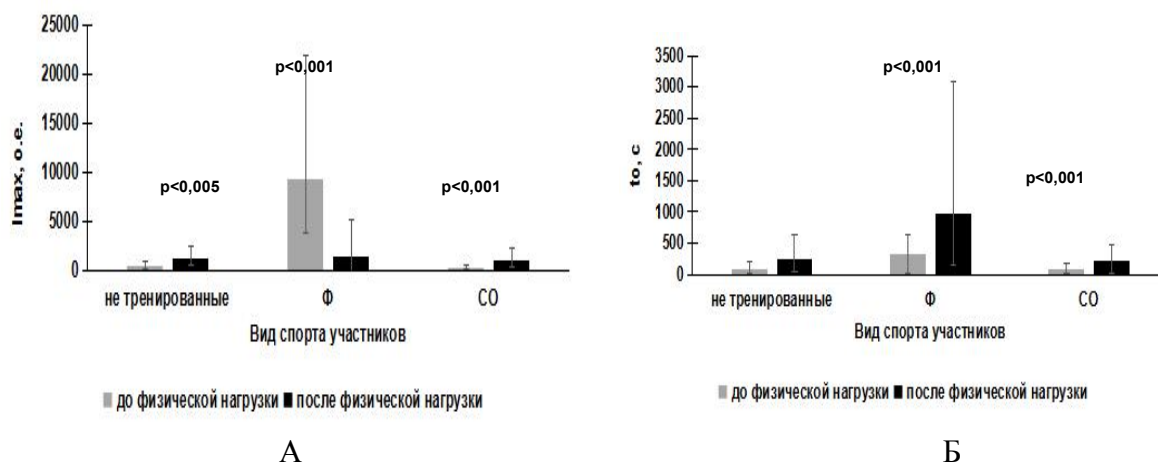


Рис. 2. Интенсивность хемиллюминесцентной реакции для спортсменов разных видов спорта до и после физической нагрузки. А- I_{max} ; Б- t_0

Примечание: (Не тренированные – группа контроля, Ф – футбол, СО–спортивное ориентирование; достоверность различий (p) указана относительно не тренированных).

Заключение. Внутриклеточный метаболизм при физической нагрузке способен адаптироваться, работая более эффективно при снижении энергозатрат. Низкая активность биоллюминесцентной системы под воздействием слюны указывало на сниженную адаптацию к физическим нагрузкам, возрастание активности - о повышенном адаптационном потенциале при усилении окислительного стресса. Таким образом, биофизические методы в тестировании слюны спортсменов можно использовать в качестве диагностического тест - контроля в тренировочном процессе с целью его коррекции.

Исследование выполнено при поддержке Красноярского краевого фонда науки в рамках реализации проекта: «Разработка экспрессного интегрального метода оценки функционального состояния спортсмена с целью эффективного управления тренировочным процессом для достижения высокого спортивного результата».

Литература.

1. Афоньшин, В. Е. Индивидуализация физической нагрузки [Текст] / В. Е. Афоньшин, М. М. Полевщиков, В. В. Роженцов // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2. — С. 240.
2. Бельская, Л. В. Перспективы использования результатов анализа слюны при планировании тренировочного режима спортсменов [Текст] / Л. В. Бельская, О.А. Голованова, В.Г. Турманидзе, Е.С. Шукайло // Омский научный вестник. – 2011. – №6. – С. 175–178.
3. Винник, Ю. С. Клинические аспекты хемилюминесцентных анализов [Текст] / Ю. С. Винник, А. А. Савченко, О. В. Перьянова, О.В. Теплякова, С.В. Якимов, Е. Ю. Тепляков, О.С. Мешкова // Сибирское медицинское обозрение. — 2006. — Т. 3. — № 40. — С. 3 — 6.
4. Еликов, А. В. Антиоксидантный статус у спортсменов при выполнении дозированной физической нагрузки и в восстановительном периоде / А. В. Еликов, А. Г. Галстян // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86. – № 2. – С. 23-31.
5. Павлов, С. Е. Принципы организации комплексного педагогического и медико-биологического тестирования квалифицированных спортсменов [Текст] / С. Е. Павлов, Д. Р. Черенков, Т. Н. Павлова, А. П. Давыдов, А. С. Павлов // Детский тренер. — 2014. — № 1. — С. 28—40.
6. Степанова, Л. В. Использование биолюминесцентного тестирования слюны в оценке физической подготовленности спортсменов разной квалификации [Текст] / Л. В. Степанова, А. М. Вышедко, О. А. Коленчукова, Г. В. Жукова, В. А. Кратасюк // Сибирское медицинское обозрение. — 2017. — №6. — С. 63 — 69.
7. Gröschl, M. Saliva: a reliable sample matrix in bioanalytics [Текст] / M. Gröschl // Bioanalysis. — 2017. — Vol. 9. — No. 8. — P.p. 655–668.
8. Pingitore A. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports [Текст] / A. Pingitore, G. P Lima, F. Mastorci, A. Quinones, G. Iervasi, C. Vassalle // Nutrition. — 2015. — Vol. 31. - No 7—8. — P.p. 916—22.

Bibliography.

1. Afonshin, V. E. Individualization of physical activity [Text] / V. E. Afonshin, M.M. Polevshchikov, V.V. Rozhentsov // Modern Problems of Science and Education. – 2016. – No. 2. — C. 240.
2. Belskaya, L.V. Prospects for using the results of saliva analysis when planning the training regime for athletes [Text] / L.V. Belskaya, O. A. Golovanova, V. G. Turmanidze, E. S. Shukaylo // Omsk Scientific Herald. — 2011. — No. 6 — P.p. 175–178.
3. Vinnik, Yu. S. Clinical aspects of chemiluminescent analyzes [Text] / Yu. S. Vinnik, A. A. Savchenko, O. V. Per'yanova, O. V. Teplyakova, S.V. Yakimov, E. Yu. Teplyakov, O.S. Meshkova // Siberian Medical Review. — 2006. — V. 3. — No. 40. — P.p. 3 - 6.
4. Elikov, A.V. Antioxidant status in athletes when performing metered exercise and during the recovery period [Text] / A.V. Elikov, A.G. Galstyan // Questions of nutrition. - 2017. — T. 86. — No. 2. — P.p.. 23-31.
5. Pavlov, S. E. Principles of organizing comprehensive pedagogical and biomedical testing of qualified athletes [Text] / S. E. Pavlov, D. R. Cherenkov, T. N. Pavlova, A. P. Davydov, A. S. Pavlov // Children's Trainer. — 2014. —No. 1. — P.p.. 28—40.
6. Stepanova, L. V. Use of bioluminescent testing of saliva in assessing the physical fitness of athletes of different qualifications [Text] / L. V. Stepanova, A. M. Vyshedko, O. A. Kolenchukova, G. V. Zhukova, V. A. Kratasyuk // Siberian Medical Review. — 2017. — №6. — P.p. 63 - 69.
7. Gröschl, M. Saliva: a reliable sample matrix in bioanalytics [Текст] / M. Gröschl // Bioanalysis. — 2017. — Vol. 9. — No. 8. — P.p. 655–668.
8. Pingitore A. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports [Текст] / A. Pingitore, G. P Lima, F. Mastorci, A. Quinones, G. Iervasi, C. Vassalle // Nutrition. — 2015. — Vol. 31. —No 7—8. — P.p. 916—22.