

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
В.А. Кратасюк
« _____ » _____ 2023 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА
06.03.01– Биология
06.03.01.07 Биофизика

Корреляционные взаимосвязи состава слюны с ее биолюминесцентным
анализом при разном виде физической нагрузке

Научный руководитель _____ доцент, к. б. н. Степанова Л. В.
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Выпускник _____ Малышева В. В.
подпись, дата инициалы, фамилия

Красноярск, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	3
Глава 1 Литературный обзор.....	5
1.1 Биохимический состав слюны в норме.....	5
1.2 Изменение физико-химического и биохимического состава слюны при физической нагрузке.....	13
1.2 Способы тестирования слюны спортсменов.....	16
1.3 Использование биолюминесцентного ферментативного биотеста в тестировании слюны.....	21
Глава 2 Материалы и методы.....	27
Глава 3 Результаты и их обсуждение.....	29
ВЫВОДЫ.....	47
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	48

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа по теме «Корреляционные взаимосвязи состава слюны с ее биолюминесцентным анализом при физической нагрузке» содержит 50 страницы текстового документа и 49 использованных источников.

Ключевые слова: БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ, БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ, NADH:FMN-ОКСИРЕДУКТАЗА, ЛЮЦИФЕРАЗА, БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ, СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ, СЛЮНА, АЭРОБНАЯ И АНАЭРОБНАЯ ФИЗИЧЕСКАЯ НАГРУЗКА, КОРЕЛЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ.

В работе представлен биолюминесцентный, спектроскопический, биохимический анализ слюны спортсменов разной спортивной квалификации, занимающихся анаэробным и аэробным видом спорта. Представлены результаты многофакторного и корреляционного анализа для возможности выявления влияния биохимических показателей слюны на изменение биолюминесцентного показателя слюны спортсменов до и после аэробной и анаэробной физической нагрузки.

Показано, что биолюминесцентный показатель слюны спортсменов до физической нагрузки, занимающихся аэробным видом достоверно выше, чем у спортсменов, занимающихся анаэробным видом. Биолюминесцентный показатель слюны спортсменов после физической нагрузки понижался и достоверно не различался. Значимое влияние на биолюминесцентный показатель слюны могут оказывать концентрация лактата и триеновых конъюгатов, а также содержание амидов группы 2, 4, олиго-полисахаридов, фосфатаз и фосфолипидов. Полагаем, что содержание триеновых конъюгатов и амидов группы 2 могут оказывать влияние при аэробной физической нагрузке, а содержание амидов группы 4, олиго-полисахаридов, фосфатаз и фосфолипидов - при анаэробной физической нагрузке.

ВВЕДЕНИЕ

Физическая нагрузка – состояние высокой функциональности организма относительно покоя. При аэробной нагрузке организмом активно потребляется кислорода для восполнения энергии. К такому типу относят длительные нагрузки. При анаэробной нагрузке потребляется энергии благодаря депонированию высокоэнергетических молекул, запасенные организмом, без участия в процессе кислорода. К данным типу относят кратковременные нагрузки [1]. Выявлено, что физической нагрузки изменяют не только биохимический состав слюны (органические и неорганические, минеральные компоненты), а также уровень гормонов и ферментов [2, 23].

Современная наука активно занимается разработкой новых неинвазивных методов исследования. Поэтому число исследований, в которых пытаются обнаружить различные биомаркеры в слюне, рассматривая ее как наиболее доступную для биохимического и молекулярного скрининга информативную биологическую среду организма, постоянно увеличивается. Компоненты биохимического состава ротовой жидкости, указывающие на физиологическое состояние организма, обуславливает диагностический потенциал этого биологического материала. Помимо этого, слюна как объект тестирования имеет ряд преимуществ: неинвазивный сбор биоматериала, длительное хранения, малый объем проб и их значительно легкие методы лабораторного анализа [3, 4].

К более популярным, часто используемым и имеющим высокие показатели чувствительности, методам компонентного тестирования ротовой жидкости относятся различные спектроскопические методы, капиллярный электрофорез, кристаллографический метод, хемилюминесцентный анализ и иммунный анализ [5 - 9].

Сочетание новых биотехнологий и биомаркеров в слюне открывает новые возможности для диагностики функционального состояния организма спортсмена во время физического напряжения. Одним из перспективных

экспресс лабораторным методом анализа слюны может служить бактериальная биолюминесцентная ферментативная система, которая позволяет определять малые изменения в слюне во время физической нагрузки организма спортсмена по изменению интенсивности биолюминесцентного свечения (повышение и понижение), где в качестве результат определяются интегральный показатель – остаточное свечение. Данный биотест дал достаточно информативные результаты в исследованиях по определению качества и загрязнения почвенных и водных сред [10 - 12]. Новые исследования указывают на то, что метод так же приемлем для мониторинга изменения метаболического состава слюны в момент восстановления спортсменов после физической нагрузки и во время нее [13].

Следовательно, интегральный биолюминесцентный показатель слюны может использоваться тренерами и спортивными врачами как надежный неинвазивный метод контроля функционального состояния организма спортсмена.

Цель исследования: выявление корреляционных взаимосвязей между биолюминесцентным показателем слюны спортсменов и ее физико-химическим, биохимическим составом при разных видах физической нагрузки.

Задачи исследования:

1. Проанализировать изменение физико-химического, биохимического состава слюны спортсменов, которые занимаются аэробным и анаэробным видом спорта;
2. Проанализировать изменение биолюминесцентного показателя слюны спортсменов при аэробной и анаэробной физической нагрузке;
3. Выявить взаимосвязь изменения биолюминесцентного показателя слюны от биохимического состава слюны спортсменов при разных видах физической нагрузки.

Глава 1 Литературный обзор

1.1 Биохимический состав слюны в норме

В состав слюны входит большое количество биологических молекул, такие как ДНК, информационная (мРНК), микроРНК, различные белковые структуры и метаболиты, а так же разнообразная микробиота [14]. Существует термин, который появился в 2008 г «саливао-мика», включающий в себя информацию о компонентном составе слюнной жидкости и включает, непосредственно, геном, эпигеном, транскриптом, протеом, метабол и микробиом [15, 16].

Известно, что молекулярный состав слюны эквивалентен молекулярному составу плазмы крови так как, слюнная жидкость – это ультрафильтрат плазмы крови. Грубо говоря, слюна – это плазма крови, но с меньшей концентрацией веществ. Например, слюнная жидкость содержит белковые молекулы, которые синтезируют слюнные железы, а так же белки, которые попадают из крови. В настоящее время выявлено 2340 белковых молекул, входящие в протеом слюны, которые в составе 20-30% обнаружены в крови [17]. Протеом плазмы крови сформирован 22 основными белками, а слюнной жидкостью 20 [18]. Так же в ротовой жидкости можно обнаружить стероидные гормоны, которые поступают из крови [19].

Исследование корреляционных взаимосвязей состава слюны и плазмы крови у людей с нормальным состоянием организма показали, что в образцах ротовой жидкости и плазмы выявляли 23 одинаковых биохимических показателей: белковый и минеральный состав, показатели перекисного окисления липидов и эндогенной интоксикации, а так же активность ферментов [14].

В настоящее время рассчитаны минимальные и максимальные концентрации биохимических компонентов в слюне и в крови (табл. 1) [14]. Показано, что диапазоны концентраций большинства показателей

перекрываются, исключениями являются общий белок, альбумин и силовые кислоты, содержание которых в плазме крови выше на порядок, чем в слюне.

Таблица 1 – Статистика биохимического состава слюны и плазмы крови

Показатель	Слюна		Плазма крови	
	n	min - max	n	min -max
pH	107	4,93 -7,25	107	6,54 - 7,99
Кальций, ммоль/л	104	0,28 -3,02	106	0,70 – 6,74
Фосфор, ммоль/л	105	0,60 – 6,96	107	0,54 - 4,55
Хлориды, ммоль/л	104	4,04 - 41,48	105	58,85 -92,35
Магний, ммоль/л	103	0,034 - 0,621	105	0,358 – 1,230
Белок, г/л	107	0,04 – 1,41	107	25,00 -120,50
Альбумин , ммоль/л	102	0,034 – 0,624	106	28,36 – 52,59
Мочевина, ммоль/л	107	1,10 – 17,27	107	1,84 -9,30
Мочевая кислота, ммоль/л	102	4,59 -451,83	107	110,09 -392,86
NO, мкмоль/л	106	11,93 -230,35	107	15,09 -165,79
Диазосоединения мкмоль/л	106	0,023 – 1,214	107	0,167 – 0,910
Сиаловые кислоты мкмоль/л	107	0,031 – 0,513	107	0,90 – 7,84
АЛТ, Е/л	107	0,85 – 14,54	107	2,69 -16,62
АСТ Е/л	107	0,67 -19,33	107	3,17 – 17,08
АСТ/АЛТ	107	0,31 – 3,20	107	0,32 -3,43
ЩФ, Е/л	107	15,21 -517,17	107	117,34 -727,96
ЛДГ, Е/л	102	193,6 – 2849,0	99	334,0 – 1154,4
ГТТ ,Е/л	102	13,8 – 30,6	101	16,0 -124,3
Каталаза, мкат/л	107	1,64 – 8,96	107	13,5 -72,3
МСМ 246 нм, уел. ед.	107	0,040 – 0,635	107	0,009 – 0,408
МСМ 280нм, уел. ед.	107	0,0390-0,545	107	0,048 – 0,460
Диеновые конъюгаты, уел. ед.	107	3,29 – 4,22	107	3,39 -4,28
Триеновые конъюгаты, уел. ед.	107	0,650 -1,354	107	0,696 – 1,510
Основания Шиффа, уел. ед.	107	0,397 – 0,729	107	0,391 – 1,195

Так же было выявлено, что концентрации биохимических показателей ротовой жидкости не различаются у людей разных полов при нормальном состоянии организма, в связи с этим нецелесообразно корректировать показатели нормы для здорового человека по половому признаку (табл. 2) [20].

Определено, что концентрация биохимических показателей ротовой жидкости изменяется с увеличением возраста у здоровых людей. Показано, что в связи с половозрастными особенностями идет проявление в разнопоказательных корреляционных взаимосвязях между определенными

метаболическими показателями в ротовой жидкости человека. Приведем в пример, что с возрастом поднимается концентрационное содержание альбумина и железа в слюне, с одновременным уменьшением рН (табл. 3) [20].

Таблица 2 - Вариации биохимического состава слюны в зависимости от пола

Параметр	Женщина (n = 29, T = 2, 05)	Мужчины (n =18, t = 2.11)
рН	6,92 ± 0,16	6,82 ± 0,22
Кальций, ммоль/л	1,16 ± 0,13	1,22 ± 0,14
Фосфор, ммоль/л	4,13 ± 0,43	4,72 ± 1,21
Натрий, ммоль/л	30,36 ± 7,53	33,85 ± 6,89
Калий, ммоль/л	37,25 ± 7,39	35,44 ± 8,11
Хлориды, ммоль/л	20,53 ± 1,87	21,06 ± 3,33
Магний, ммоль/л	0,232 ± 0,033	0,238 0 ± 0,42
Белок, мг/л	4,12 ± 0,59	3,91 ± 0,97
Мочевина, моль/л	2,19 ± 0,28	2,89 ± 0,75
Мочевая кислота, ммоль/л	101,1 ± 21,7	96,9 ± 47,7
Холестерин, ммоль/л	0,103 ± 0,023	0,102 ± 0,020
Триглицериды, ммоль/л	0,103 ± 0,097	0,054 ± 0,014
Глюкоза, ммоль/л	0,071 ± 0,013	0,095 ± 0,031
Билирубин, ммоль/л	5,40 ± 2,34	5,72 ± 2,38
Тимоловая проба	0,86 ± 0,30	0,78 ± 0,47
Амилаза Е/л	714 ± 92	594 ± 147
Альбумин, ммоль/л	0,880 ± 0,033	0,602 ± 0,173
Железо, ммоль/л	14,85 ± 5,58	12,67± 5,10
Алат, Е/л	14,06 ± 7,47	9,77 ± 3,03
Асат, Е/л	24,13 ± 7,18	30,11 ± 10,11

Непосредственно для женщин корреляция прослеживается между концентрациями ионов кальция и магния, в то время как у мужчин концентрация кальция коррелируют с неорганическим фосфором, это можно объяснить специфичностью обменных процессов в организме (табл. 4) [20].

Доказано, что неорганический элементный баланс организма человека в течение всей жизни подвергается большим колебаниям, которые зависят от генетических, временных, биосоциальных и климатических факторов [21, 22].

Таблица 3 – Биохимический состав слюны в различных возрастных группах

Параметр	Группа 1	Группа 2	Группа 3
Возраст	16,46 ± 0,75	20,48 ± 0,24	59,60 ± 4,10
pH	7,19 ± 0,12	7,44 ± 0,14	7,04 ± 0,19
Кальций, ммоль/л	0,85 ± 0,09	1,39 ± 0,29	1,51 ± 0,28
Фосфор, ммоль/л	3,32 ± 0,48	3,82 ± 0,45	4,70 ± 0,57
Калий, ммоль/л	19,45 ± 2,84	22,04 ± 3,31	27,98 ± 2,96
Хлориды, ммоль/л	22,01 ± 2,58	21,6 ± 7 3,29	33,70 ± 3,77
Магний, ммоль/л	0,246 ± 0,032	0,280 ± 0,065	0,343 ± 0,050
Белок, мг/л	0,49 ± 0,09	0,62 ± 0,15	0,79 ± 0,12
Мочевина, моль/л	6,98 ± 1,07	8,38 ± 1,82	8,94 ± 1,45
Мочевая кислота, ммоль/л	126,1 ± 23,3	175,7 ± 33,4	287,8 ± 47,4
Холестерин, ммоль/л	0,108 ± 0,015	0,112 ± 0,033	0,214 ± 0,061
Триглицериды, ммоль/л	0,064 ± 0,015	0,092 ± 0,046	0,101 ± 0,039
Глюкоза, ммоль/л	0,012 ± 0,08	0,115 ± 0,043	1,73 ± 0,29
Тимоловая проба	0,53 ± 0,14	0,61 ± 0,22	1,73 ± 0,29
Альбумин, ммоль/л	0,49 ± 0,01	0,47 ± 0,01	1,25 ± 0,26

Таблица 4 – Коэффициенты корреляции биохимических показателей слюны в группах мужчин и женщин

Параметр	Коэффициенты корреляции	
	Женщины	Мужчины
Возраст	pH (r = - 0,39)	Альбумин (r = 0,61), железо (r = 0,67),
pH	-	Мочевая кислота (r = 0,57)
Кальций, ммоль/л	Магний (r = 0,49) , Глюкоза (r = 0,44)	Фосфор(r = 0,49), Белок (r = 0,52)
Фосфор, ммоль/л	Мочевая кислота (r = 0,40)	Калий (r = 0,46), Мочевина (r = 0,53)
Калий, ммоль/л	Мочевина (r = 0,45)	Мочевина (r = 0,57), Железо (r = - 0,63)
Хлориды, ммоль/л	Триглицериды (r = 0,44)	Мочевина (r = 0,59)
Натрий, ммоль/л	Хлориды (r = 0,52)	-
Белок, мг/л	Амилаза (r = 0,48), Альбумин (r = 0,62)	Амилаза (r = 0,50), Кальций (r = 0,52)

Окончание таблицы 4

Параметр	Коэффициенты корреляции	
	Женщины	Мужчины
Мочевина, моль/л	Амилаза ($r = - 0,56$)	Фосфор ($r = 0,53$), Калий ($r = 0,57$)
Мочевая кислота, ммоль/л	Амилаза ($r = 0,64$), АсАт ($r = - 0,64$)	Глюкоза ($r = - 0,49$), АлАТ ($r = 0,57$), рН ($r = 0,59$)
Железо, мкмоль/л	-	Калий($r = - 0,63$), Альбумин($r = 0,63$)
Альбумин, ммоль/л	АлАТ($r = 0,70$), Белок ($r = 0,59$)	Железо($r = 0,63$)

Большей вариабельности в организме человека подвергаются такие макроэлементы, как натрий, кальций, калий и фосфор. Их концентрация зависит от различных биоритмов (например, сезонных, околосоточных, циркадианных и т.д.) [23].

Выявлено, что показатели ионов калия и натрия в норме зависят от суточных биоритмов. Концентрация ионов калия и натрия у здоровых мужчин больше независимо от биоритмов вследствие того, что размер слюнных желез у здоровых женщин меньше [24]. Женщины и мужчины имеют различные особенности секреции слюны, а так же эти показатели зависят от действия эстрогенов (половые гормоны) [22]. Так же установлено, что уровень содержания ионов натрия в слюне выше среднего значения у мужчин, но у женщин этот показатель имеет обратную зависимость, т. е концентрация ионов натрия принимают значения, которые ниже среднего значения. Среднесуточные значения ионов натрия составляют 7,77 ммоль/л у женщин и 8,17 ммоль/л у мужчин, а ионов калия 9,9 ммоль/л у женщин и 8,95 ммоль/л у мужчин. Изучение динамики электролитного состава в течении суток показало, что в ночные часы концентрация ионов натрия достигает максимальных значений, а затем убывает до 12-16 часов дня. При сопоставлении концентраций натрия и кальция обнаружено, что начиная с 00: 00 их концентрации наблюдаются в противофазе, но в интервале от 15 до 20 часов динамика показателей исследования не меняется.

При сопоставлении этих электролитов в составе слюнной жидкости демонстрируется почти идентичный характер изменения [25].

У людей в норме среднесуточное значение ионов кальция независимо от пола составляет 1,16 ммоль/л, а ионов фосфора 4,13 ммоль/л. Концентрация ионов кальция демонстрирует периодичность и выражает минимумы с 12 до 15 часов и в 24 часа. Существованием одного минимума с 12 до 15 часов дня отличается динамика содержания неорганического фосфора [23].

Концентрации калия, натрия, кальция и неорганического фосфора, в общем, показывают достаточно усложненный характер изменения в течение суток. Исходя из этого, для удобства оценки околосуточных изменений данных минеральных веществ, используют расчетные коэффициенты Ca/P и Na/K [23].

Из исследования было выявлено, что в утренние часы происходит уменьшение соотношения коэффициента Na/K, а во второй половине дня – рост, минимальное значение непосредственно соответствуют времени 12–15 часов [23]. Наблюдается рост коэффициента Ca/P, начиная с полуночи до 9 часов утра. Установлено наличие минимального значения данного показателя в дневные часы с 12 -15 часов и дальнейший рост с максимальным значением в 18-21 час.

Помимо неорганических элементов (калий, натрий, кальций, фосфор магний), которые всегда присутствуют в составе ротовой жидкости, можно обнаружить непостоянные. Например, при изучение макроэлементного и микроэлементного у здоровых работников ТЭЦ методом капиллярного электрофореза были выявлены ионы аммония, калия, натрия, магния и кальция. Так же были идентифицированы ионы лития, стронция, бария и марганца, но они обнаружены не во всех образцах. Концентрационные различий определяемых элементов, а также ионов аммония, натрия и кальция среди мужчин и женщин и по возрасту не выявлено [26].

Таблица 5 – Сравнение микро – и макроэлементного состава слюны в основной (не работники ТЭЦ) и контрольной (работники ТЭЦ) группах

Показатель	Гради ровочное уравнение, коэффициент корреляции	Предел обнаружения, мг/л	Основная группа n=104, мг/л	Контрольная группа n=195, мг/л	p-value*
NH ₄ ⁻	y = 0,2228x, R ² = 0,9953	0,50	239,1 ± 24,5** n = 104***	213,2 ± 19,4 n = 195	0,7578
K ⁺	y = 0,2491x, R ² = 0,9999	0,50	729,1 ± 36,9 n = 104	574,1 ± 33,6 n = 195	0,0024
Na ⁺	y = 0,1446x, R ² = 0,9995	0,50	132,7 ± 80,6 n = 104	178,1 ± 17,3 n = 195	0,2789
Li ⁺	y = 0,0333x, R ² = 0,9900	0,015	0,30±0,09 n=23	0,56 ± 0,32 n=5	0,0741
Mg ²⁺	y = 0,0613x, R ² = 0,9999	0,25	12,35 ± 0,87 n = 104	4,73 ± 0,37 n = 195	0,0063
Sr ³⁺	y = 0,2184x, R ² = 0,9998	0,025	2,87 ± 0,63 n = 14	-	-
Ba ²⁺	y = 0,3040x, R ² = 0,9987	0,010	0,58 ± 0,16 n = 32	0,60 ± 0,14 n = 8	0,4670
Mn ³⁺	y = 0,1270x, R ² = 0,9999	0,010	0,38 ± 0,08 n = 68	0,40 ± 0,02 n = 15	0,8742
Ca ²⁻	y = 0,0769x, R ² = 0,9713	0,50	63,7 ± 4,7 n = 104	65,5 ± 5,5 n = 195	0,9841

В содержании микроэлементов (катионы лития, стронция, бария и марганца) наблюдаются различия между основной (не работники ТЭЦ) и контрольной (работники ТЭЦ) группами. Так, стронций обнаружен только в слюне основной группы (не работники ТЭЦ) — у 14 человек (13,5%). Литий чаще встречается в основной группе (не работники ТЭЦ) (23 человека, 22,1%), чем в группе сравнения (работники ТЭЦ) (5 человек, 2,6%).

Барий обнаружен у 8 (4,1%) и 32 (30,8%) человек в контрольной (работники ТЭЦ) и основной группе (не работники ТЭЦ) соответственно. Следует отметить, что литий и барий только у 5 человек из контрольной (работники ТЭЦ) группы и 10 человек из основной группы (не работники ТЭЦ) встречаются совместно, в остальных случаях в образцах идентифицирован либо литий, либо барий. Для стронция и бария одновременное содержание установлено только у 2 человек из основной группы (не работники ТЭЦ).

Марганец обнаружен у 15 человек (7,7%) в контрольной группе (работники ТЭЦ) и у 68 человек (65,4%) в основной (работники ТЭЦ) [26].

1.2 Изменение физико-химического и биохимического состава слюны при физической нагрузке

При популярности развития неинвазивных экспресс методик тестирования ротовой жидкости, за последние несколько лет были проделаны множество научных исследований связанных с определением состояния иммунной системы спортсменов в процессе, который сопровождается физической нагрузкой для организма, где в качестве объекта тестирования используется ротовая жидкость. Данные исследовательские работы показали, что при силовых упражнениях у теннисистов и футболистов, а у бегунов при тренировках на различные дистанции секреция иммуноглобулина группы А (IgA) изменяется довольно существенно. При этом секреция иммуноглобулина группы А (IgA) снижалась в ротовой жидкости спортсменов, которые принимали участие в сверхмарафоне, протяженность которого составила 160 км. При всем этом у 25% спортсменов - участников супермарафона сохранялся этот пониженный уровень на временном промежутке, который составил 2 недели.

У пловцов наблюдаются различия по содержанию иммуноглобулина группы А (IgA) в ротовой жидкости. У велосипедистов в ротовой жидкости при физической нагрузке установлено однозначное достоверное снижение концентрации иммуноглобулина группы А (IgA), после снятия физического напряжения с организма спортсменов данный показатель возвращается в норму. При употреблении кофеина перед началом интенсивной нагрузки способствует повышенной секреции иммуноглобулина группы А (IgA) во время тренировочного процесса [27].

Так же достаточно глубоко изучено циклическое изменение спектра стероидных гормонов в ротовой жидкости спортсменов, занимающихся регби, волейболом, гандболом и дзюдо, непосредственно во время проведения соревнований, так и в течение восстановительного периода, продолжительностью в неделю. Во время проведения соревнований у мужчин,

так и у женщин просматривалось значительное увеличение уровня таких ферментов, как кортизол и тестостерон в ротовой жидкости спортсменов [28].

У хоккеистов во время игр дома и на выезде проводится тестирование по ротовой жидкости, которое выявляет психическое состояние спортсменов. Перед домашней игрой наблюдается повышенный уровень кортизола, а при выездной игре сравнительно показатели были сравнительно ниже. Психологическое тестирование по ротовой жидкости спортсменов выявило, что игроки чувствовали себя более уверенно, и игра в условиях домашней обстановки, а при игре на территории противников испытывали значительную соматическую и когнитивную тревожность [29].

В литературе по спортивной медицине рассматривается множество других биохимических параметров ротовой жидкости. Но особый интерес в этой сфере вызван к показателю молочной кислоты (лактат) в ротовой жидкости, так как данный показатель имеет значительно высокую степень корреляции между его содержанием в ротовой жидкости и плазме крови у спортсменов, которым давалась физическая нагрузка в виде бега на различные дистанции, составляющие протяженность от 400 м до 30 км, а также во время соревнований у теннисистов или, в общем, при нагрузках высокой мощности. Результаты исследования показали, что при хорошей подготовленности спортсменов их показатели молочной кислоты в ротовой жидкости являются значительно низкими, что составляет 2 ммоль/л, следовательно, их изменение исключено при физическом напряжении организма [30, 31].

Особо значимыми показателями контроля состояния организма спортсменов, которые приняли участи в марафонском забеге, являются биохимические показатели ротовой жидкости, которые указывают на состояния организма спортсмена во время марафонского забега, являются высокие концентрации минерального состава, свободной сиаловой кислоты, гексозамина, активность ферментов амилазы и пероксидазы [32]. Часто при биохимическом тестировании определяют активность амилазы, так как она является одним из основных ферментов ротовой жидкости. Выявлено, что

активность антиоксидантных ферментов ротовой жидкости, таких как каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза значимо коррелируют с уровнем свободных сиаловых кислот в ротовой жидкости.

Исследования, проводившиеся на кафедре биохимии в СПбГУФК им. П.Ф. Лесгафта, выявили значительное увеличение содержания мочевины в ротовой жидкости спортсменов, которые занимаются тяжелой атлетикой, после их участия стандартной тренировки [27].

Выявлено, что в процессе тренировки у спортсменов легкоатлетов изменяется содержание основных компонентов слюнной жидкости: снижается уровень ионов кальция, а так же и фосфат-ионов, увеличивается уровень содержания белка. В группе бадминтоном и волейболом наблюдается подщелачивание ротовой жидкости, а спортсменов, занимающихся футболом, наоборот, просматривается подкисление. После физической нагрузки в ротовой жидкости наблюдается снижение уровня глюкозы, не восстанавливаемая до изначального состояния, что можно интерпретировать, как свидетельство значительных энергетических затратах в организме спортсменов [33].

Следовательно можно сделать вывод от том, что состояние организма спортсмена при физическом напряжении возможно оценить по изменению таких биохимических параметров ротовой жидкости, таких как иммуноглобулин группы А (IgA), стероидных гормонов, молочной кислоте (лактату), активностям ферментов амилазы и пероксидазы и минеральному составу. В исследованиях показана достоверная корреляция при понижении концентрации иммуноглобулин группы А и увеличение концентрации стероидных гормонов, увеличение активности амилазы и пероксидазы, увеличение концентраций минерального состава с ростом физического напряжения на организм спортсмена. По концентрационному уровню молочной кислоты (лактата) и её изменению определяют уровень физической подготовленности спортсмена и величину физической нагрузки на организм, а так же вид физической нагрузки (аэробная или анаэробная) [27].

1.3 Способы тестирования слюны спортсменов

Методики исследования ротовой жидкости относят к неинвазивным методам исследования, которые используют в качестве оценки возрастного и физиологического статуса, при этом выявляя функциональное состояние организма при физическом напряжении, так же выявляют соматические заболевания, патологии слизистой ткани полости рта и слюнных желез, различные генетические биомаркеры и используют для мониторинга лекарственных средств. С появлением новых количественных методик для лабораторных исследований чаще используют смешанную слюну. Преимуществом использования ротовой жидкости в сравнении с плазмой крови – это сбор биологически информативной жидкости без повреждения тканей, что является очень удобным для диагностирования; в связи с неинвазивным проведением процедуры биологической жидкости у пациента наблюдается отсутствие психологического стресса; при сборе ротовой жидкости используются простые, распространенные и недорогие приборы и приспособления; при проведении процедуры сбора ротовой жидкости становится необязательно присутствие медицинских работников; получать данный биологический материал для исследований возможно в неограниченных повторностях; ротовая жидкость имеет свойство долгого хранения в условиях холода до начала проведения исследований [34].

Для тестирования слюны на наличие различных биохимических показателей используют множество физико-химических методов.

Перспективными считаются анализы слюны с помощью спектроскопических методов [35, 36], к ним относятся ИК – Фурье спектроскопия. Данный метод является одним из методов вибрационной спектроскопии, используемый для структурного и качественного анализа в определении изменений структуры органических молекул.

ИК – Фурье спектроскопия слюны - это экспресс тест, с помощью которого можно определять метаболические процессы, происходящие в организме.

Принцип метода заключается в выявлении специфических полос поглощения в инфракрасной области (4000—700 см⁻¹).

В инфракрасном спектре ротовой жидкости, возможно, обнаружить группы полос поглощения, которые соответствуют липидам, белкам, нуклеиновым кислотам и сахарам. Наличие полос поглощения тиоцианатных ионов является особенностью спектров ротовой жидкости.

Определять биохимический состав ротовой жидкости можно с помощью капиллярного электрофореза, основанного на фильтровании и разбавлении слюны, а так же дальнейшем разделении и количественном определении компонентов с неярным детектированием при определенной длине волны.

Преимуществом данного метода является – это незначительное количество проб для проведения анализа.

Подтверждено, что методику капиллярного электрофореза, возможно, использовать для определения биохимического анализа ротовой жидкости без значительных потерь в точности определяемого минерального состава при определенных условиях проведения эксперимента.

Недавно приобрел популярность кристаллографический метод исследования ротовой жидкости, с помощью которого возможно определять биохимический состав слюны. Данный метод основан на выявлении фаций (макроструктура биологической жидкости), формирующихся при фазовом переходе слюны из жидкости в состояние льда.

Широко среди методик распространен хемилюминесцентный анализ, который предполагает при исследовании измерение интенсивности свечения (люминесценции) органических соединений в ротовой жидкости, которые находятся при этом в возбужденном состоянии при влиянии на них различными видами энергии.

Например, антиоксидантный статус организма может быть оценен методом H_2O_2 -люминолзависимой хемилюминесценции слюны. С помощью данной методики у спортсменов в период максимального физического напряжения организма было выявлено снижение скорости работы антиоксидантной системы, что свидетельствует об интенсивности работы метаболизма организма. Было выявлено, что у спортсменов высшей квалификаций снижалась интенсивность обеззараживания свободнорадикальных продуктов окисления в момент высокой скорости реакции.

В настоящее время интенсивно в спортивной медицине используются методы иммунного анализа, такой как иммуноферментный метод исследования. Это объясняется тем, что это метод наиболее чувствителен к выявлению ферментов, которые отвечают за состояние перетренировки организма, являющейся одной из глобальных проблем в спортивной медицине.

Благодаря количественному измерению стероидных гормонов в ротовой жидкости, непосредственно кортизола и тестостерона, которое определяется на с помощью иммуноферментных наборов, что позволяет рассчитать индекс анаболизма (ИА) по данной формуле

$$ИА = \frac{C_T}{C_K} \times 100\% ,$$

где C_T – количество тестостерона, C_K – количество кортизола.

С помощью данного индекса определяют степень «равновесия» между процессами анаболизма и анаболизма. Регулярные нагрузки мышцы приводят к возникновению некоторых адаптационных реакций нейроэндокринной системы, в результате которых изменяются активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой структуры, что сказывается на уровне гормонов

кортизола и тестостерона в ротовой жидкости. В таком случае концентрации этих гормонов зависит от количества повторностей тренировок, интенсивности, типа физических упражнений, а также психологического здоровья. Понижение ИА после физического напряжения более чем на 30% свидетельствует о том, что в организме преобладает анаболический процесс над катаболическим [37 - 39].

К менее перспективным методикам тестирования слюны в спортивной практике относят - двумерный электрофорез, который проводится для разделения белков по заряду и молекулярной массе, а так же кристаллографический (тезиграфический), при котором изменяются формы кристаллов кристаллообразующим веществом при добавлении к нему ротовой жидкости. С помощью конкретных методик изменения выявляют структуры ротовой жидкости и ее метаболический состав при разных видах физической нагрузки на организм. Данные исследований по этим методикам показывают хорошую корреляцию с другими методами тестирования ротовой жидкости. Так, благодаря методу двумерного электрофореза было выявлено, что недолгая физическая нагрузка, которая сопровождается высокой интенсивности изменяет белковые компоненты, находящиеся в составе компонентов ротовой жидкости – это является подтверждением спектрального анализа [3]. Но из-за малой информативности, трудоемкости и долговременности проведения анализа, конкретные методы являются практически не используемыми при тестировании ротовой жидкости.

На данный момент времени для тестирования ротовой жидкости используется множество физико-химических методов.

Наиболее распространенными и применимыми в спортивной медицине являются хемиллюминесцентный метод и методы различных спектрометрических анализов. Это объясняется тем, что большей чувствительность данных методов к изменениям функционального состояния организма спортсмена во время физически нагрузок. Физико-химические методы, с помощью которых выявляют изменения структуры ротовой

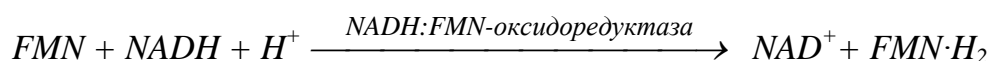
жидкости (например, кристаллографический) и ее общего биохимического состава при различных физических нагрузках, используют реже. Это вызвано малой информативностью для оценки физического состояния организма спортсменов во время тренировок и длительностью проведения анализа [37 - 39].

1.4 Использование биолюминесцентного ферментативного биотеста в тестировании слюны

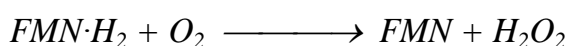
Современная наука активно занимается разработкой новых методов тестирования объектов, используя биолюминесцентное свечение. Практически значимыми являются бактериальные и светляковые биолюминесцентные системы. Однако в последние годы методы генной инженерии позволили создать рекомбинантные организмы, содержащие люциферазы из светящихся организмов, что расширило возможности биолюминесцентного анализа. Биолюминесцентные тесты по простоте и числу анализируемых веществ сравнимы со спектрофотометрическими, однако, по чувствительности и экспрессивности существенно превосходят их на два-три порядка [40].

В свете существенного интереса к феномену свечения бактерий, становится важным изучение химической основы этого явления. Из предшествующих исследований мы знаем, что бактерии светятся в результате ферментативного окисления люциферазами восстановленного флавинмоноклеотида ($FMN \cdot H_2$) и длинноцепочечного алифатического альдегида ($RCHO$) кислородом воздуха при участии люцифераз. Можно отметить, что люциферазы у всех бактерий являются флавин-зависимыми монооксигеназами.

Флавинмоноклеотид и альдегид тетрадеканаль не способны находиться в клетках бактерий в свободном виде из – за того, что $FMN \cdot H_2$ значительно быстро автоокисляется, а $RCHO$ – это яд, не производящийся организмами. Вместо этого, бактерии обладают специальными ферментативными системами, которые помогают восстановить флавинмоноклеотид и карбоновую кислоту. Бактерии катализируют реакцию восстановления FMN с помощью фермента $NADH: FMN$ -оксидоредуктазы:



Время, необходимое для завершения одного каталитического цикла в моноферментной биолюминесцентной системе, значительно превышает время жизни одного из субстратов реакции - FMN·H₂. Это связано с тем, что FMN·H₂ автокаталитически окисляется кислородом менее чем за 1 секунду:

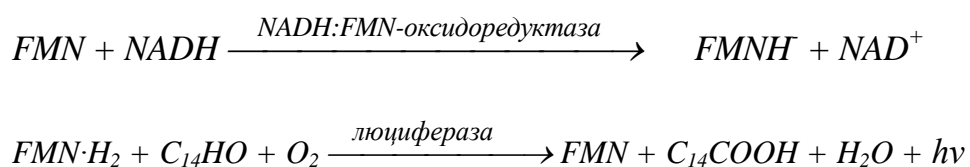


Именно поэтому при условиях запуска реакции с ограниченным количеством флавиномононуклеотида (FMN) в виде одной порции фермент успевает совершить только один оборот, что приводит к появлению люминесцентной вспышки. Поскольку восстановление FMN требует времени, реакция протекает в нестационарном режиме и затухает по экспоненте. Количество выделяемого света зависит от концентрации FMN и других компонентов реакции, а также от эффективности фермента и условий проведения реакции.

Альдегид тетрадеканаль проходит медленный процесс неферментативного окисления, скорость которого зависит от температуры и начальной концентрации. Раствор RCHO, используемый для измерения биолюминесценции, при комнатной температуре остается стабильным в течение восьми часов. Неферментативное окисление альдегида не влияет на биолюминесцентную реакцию, поскольку его скорость значительно ниже, чем у ферментативного окисления FMN·H₂. Все бактериальные люциферазы проявляют биолюминесцентную активность с альдегидами, цепь которых состоит от 8 до 16 углеродов. Предполагается, что связь альдегида с люциферазой происходит за счет гидрофобных взаимодействий между участками алифатической цепи альдегида и гидрофобными группами фермента. Чем длиннее углеродная цепь альдегида, тем крепче связь с люциферазой, что обеспечивает более эффективное превращение химической энергии в свет.

Однако, эта гипотеза не является универсальной, так как не для всех люцифераз соблюдается прямая зависимость между длиной цепи альдегида и параметрами биолюминесцентной реакции. Люциферазы проявляют специфичность к альдегидам, поскольку другие длинноцепочечные алифатические соединения, такие как кетоны, кислоты и спирты, не обнаруживают биолюминесцентной активности при взаимодействии с люциферазой. Однако, возможно, они могут реагировать с ферментом без излучения света [41, 42].

Ферменты, которые способны катализировать синтез субстратов люциферазы, могут образовывать с ней сопряженную ферментную систему. Одним из примеров такой системы является система NADH:FMN-оксидоредуктаза-люцифераза, которая осуществляет следующую последовательность ферментативных реакций:



Первая реакция, катализируемая NADH:FMN - оксидоредуктазой, сопровождается восстановлением FMN благодаря восстанавливающему реагенту являющейся восстановленной формой никотинамидадениндинуклеотида (NADH). В этой реакции NADH переходит в окисленную форму (NAD⁺), при этом идет передача молекуле FMN протона и двух электронов, при этом образуется депротонированная форма восстановленного флавина (FMN·H⁻).

В результате второй реакции, которую катализирует люцифераза, приводит к биолюминесценции. В этой реакции восстановленный флавин (FMN·H⁻) и алифатический альдегид (C₁₄OH) окисляются кислородом воздуха, что приводит к образованию окисленной формы флавина (FMN), жирной кислоты (C₁₄COOH) и испусканию кванта света. При использовании химически восстановленного FMN·H₂ для проведения биолюминесцентной реакции

наблюдается продолжительное свечение, вызванное многократными циклами фермента.

Если вмешаться в любую часть метаболизма бактериальной клетки, что повлияет на выделение компонента бактериологической биолюминесценции, то это будет заметно по уменьшению светового излучения. Токсины или тестируемые вещества, которые влияют на биолюминесцентную реакцию, будут определены как катализаторы ферментов.

Биолюминесцентное тестирование является удобным методом для проверок из-за своей простоты, быстроты, доступности и возможности автоматизации процесса, а также из-за использования небольшого количества образца. Однако, для получения повторяемых результатов при использовании светящихся бактерий необходимо контролировать состояние бактерий, используемых в тесте. Например, на фотобактерии могут влиять параметры анализируемой среды, такие как температура, рН, жесткость воды и наличие растворенного кислорода [42].

Смесь двух ферментов, включающая бактериальную люциферазу и NADH:FMN-оксидоредуктазу, является наиболее распространенной системой, применяемой в биохимических и клинических лабораторных исследованиях [43].

Например, уровень эндотоксикоза при различных заболеваниях определяется путем сравнения интенсивности свечения биолюминесцентной биферментной системы с добавлением слюны пациента. Для этого максимальную интенсивность свечения в каждом конкретном случае сравнивают с контрольным образцом, который дает максимальное свечение, и рассчитывают величину ингибирования свечения. Это значение используется для определения степени эндотоксикоза [44 - 48].

Также биолюминесцентная биферментная система используется в качестве сенсора для измерения различных дегидрогеназ. Если в биферментной системе присутствует субстрат лактатдегидрогеназы (ЛДГ), его активность определяется по интенсивности биолюминесцентного свечения. Добавление

слюны в эту биохимическую реакцию позволяет использовать ее для тестирования слюны на наличие лактата [49].

Таким образом, с помощью биолюминесцентного метода можно проводить эффективное экспресс-лабораторное диагностирование на токсичность и оценку состояния организма. Исследования показали, что этот метод также может быть использован для выявления биохимических изменений в слюне спортсменов как во время физических нагрузок, так и в период восстановления. Тестирование слюны биолюминесцентный методом может помочь оптимизировать тренировочный процесс и предотвращать перегрузки для достижения лучших результатов. Для разработки этой методики необходимо выявить закономерности и факторы, влияющие на тренировочный процесс, такие как спортивная квалификация испытуемых спортсменов и другие. Биолюминесцентное тестирование слюны представляет практический интерес для оценки функционального состояния спортсмена, как во время тренировки, так и во время соревнований, благодаря простоте анализа и возможности многократного проведения тестирования [13].

Глава 2 Материалы и методы

В исследовании принимали участие студенты Омского государственного педагогического университета, которые профессионально занимались спортом (n=50). Одни спортсмены профессионально занимались плаванием (n=25) и имели спортивную квалификацию 1 взрослый разряд (n=2), кандидат в мастера спорта (КМС) (n=11), мастер спорта (МС) (n=6), мастер спорта международного класса (МСМК) (n=6). Другие спортсмены профессионально занимались легкой атлетикой (n=25). Среди них одна группа была спринтерами (n=15), которые не имели спортивный разряд (б/р) (n=5) и имели спортивную квалификацию 1-ый взрослый разряд (n=5) и 2-ой взрослый разряд (n=5). Другая группа легкоатлетов была представлена страерами (n=10), которые не имели спортивный разряд (б/р) (n=1) и имели спортивную квалификацию 1-ый взрослый разряд (n=2), 2-ой взрослый разряд (n=3), 3-ий взрослый разряд (n=3) и кандидат в мастера спорта (КМС) (n=1). Тестируемые спортсмены были в возрасте 21-25 лет.

Тестирование спортсменов проводили в день тренировки во второй половине дня. Пловцы во время тренировки проплывали дистанцию 25 км (аэробная физическая нагрузка), а легкоатлеты пробегали 5 км (анаэробная физическая нагрузка).

В качестве материала исследования использована ротовая жидкость спортсменов. Отбор нестимулированной слюны проводили путем сплевывания до и после тренировки. В качестве емкостей для сбора использовались стерильные пластиковые пробирки.

Биохимический анализ и анализ инфракрасной (ИК) – Фурье - спектроскопии слюны был выполнен сотрудниками ООО «Ом-Лаб» (г. Омск). Измеряли кислотно-щелочной показатель (pH) слюны и определяли содержание в ней лактата (L), общего белка (B), активности каталазы (Kt), супероксиддисмутазы (SOD), перекисного окисления липидов: диеновых конъюгатов (DK), триеновых конъюгатов (TK), оснований Шиффа (OH),

катионов аммония (NH₄), ионов калия (K), магния (Mg), натрия (Na) и кальция (Ca). Измеряли спектры поглощения аминов группы A, 1, 2, 3, 4; фосфолипидов; тиоцианатов; нуклеиновых кислот; метиленовые группы боковых цепей олигосахаридов, полисахаридов, фосфатаз, фосфолипидов; метиленовые группы боковых цепей аминокислот, липидов, белков.

Биолюминесцентное тестирование слюны проведено с использованием иммобилизованного биолюминесцентного реагента «Энзимоллюм» (ИБФ СО РАН, Красноярск), содержащего комплект субстратов и лиофилизированные препараты высокоочищенных ферментов (0,4 мг/мл люциферазы и 0,18 ед. активности NADH: FMN - оксидоредуктазы). Субстратом, катализирующим биолюминесцентное свечение реакционной смеси, служил 0,16 мМ водный раствор фламиноуклеотида (ФМН) (Serva, Германия).

Биолюминесцентное свечение регистрировали на портативном люменометре «Люмишот» (ООО «НПП» Прикладные биосистемы, Красноярск).

Для контрольного тестирования биолюминесцентной тест-системы в кювету последовательного добавили 1 реагент «Энзимоллюм», 300 мкл дистиллированной воды и 10 мкл ФМН. Опытное измерение проводили при последовательном внесении в кювету 1 реагента, 260 мкл дистиллированной воды, 40 мкл слюны и 10 мкл ФМН. Регистрировали величину максимальной интенсивности свечения. Опытные измерения проводили с 2-я повторениями.

Реакцию биотестов определяли по величине остаточного свечения (интегрального биолюминесцентного показателя), вычисляемой по формуле:

$$T = \frac{I}{I_k} \cdot 100\%$$

где I_k - средняя величина максимальной интенсивности свечения контроля, I - величина максимальной интенсивности свечения при тестировании слюны.

Математическую обработку данных проводили в языке программирования R (*Bell Labs., США*) с использованием пакета визуализации

данных ggplot2. Описание выборки производили с помощью подсчёта медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [C25 – C75]. Различия между зависимыми группами оценивали по критерию Вилкоксона, между независимыми группами - по критерию Манна-Уитни, корреляционный анализ - по критерию Спирмена. Кластеризация данных проведена методом к-средних в языке программирования Python (Python Software Foundation License). Проведено 4 итераций. Уровень статистической значимости считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Глава 3 Результаты и их обсуждения

Обобщенные результаты физико-химического и биохимического анализа слюны спортсменов до и после физической нагрузки показали, что после нагрузки достоверно повышалась концентрация общего белка ($p = 0,00004$) и возрастал показатель pH ($p = 0,00001$), а также достоверно понижалась активность каталазы ($p = 0,02$). Остальные показатели достоверно не изменялись (табл. 6). Интенсивность полос поглощения различных функциональных групп амидов, сахаров, аминокислот и фосфолипидов до и после нагрузки достоверно не различались (табл. 7).

Таблица 6 – Физико-химический и биохимический состав слюны спортсменов до и после физической нагрузки (Me [C25 – C75])

Биохимические показатели	До физической нагрузки	После физической нагрузки
Концентрация лактата (L), ммоль/л	2,4 [1,7 - 3,6]	3 [1,9 – 5]
Концентрация общего белка (B) , г/л	0,4 [0,2 - 0,6]	0,6 [0,5 – 0,9] ($p = 0,00004$)
Активность каталазы (Kt), мкат/л	430236 [326340 – 488844]	427572 [352980 – 568764] ($p = 0,02$)
Активность супероксиддисмутазы (СОД), ед, акт./мг	134,2 [60,5 - 173,7]	121,1 [63,2 - 205,3]
Диеновые конъюгаты (DK), нмоль/мл	3,9 [3,7 – 4]	3,9 [3,8 – 4]
Триеновые конъюгаты (ТК), нмоль/мл	1,3 [1,2 -1,5]	1,3 [1,2 -1,5]
Основания Шиффа (ОН), нмоль/мл	0,5 [0,4 – 0,5]	0,4 [0,4 – 0,5]
Концентрация аммония (NH ₄) , ммоль/л	0,1 [0 – 0,1]	0,1 [0,1 - 0,1]
Концентрация калия (K), ммоль/л	9,7 [6,7 - 10,7]	9,2 [7,6 -11]
Концентрация натрий (Na), ммоль/л	10,3 [6,7 - 18,5]	8,5 [6,3 – 11,1]
Концентрация магния (Mg), ммоль/л	0,2 [0,2 – 0,2]	0,3 [0,2 – 0,3]

Окончание таблицы 6

Биохимические показатели	До физической нагрузке	После физической нагрузке
Концентрация кальция (Ca), ммоль/л	1 [0,7 -1,2]	1,1 [0,9 -1,2]
pH	6,9 [6,6 – 7,2]	7,1 [7 - 7,3] (p = 0,00001)

Таблица 7 – Интенсивность полос поглощения слюны спортсменов до и после физической нагрузки (Me [C25 – C75])

Интенсивность поглощения, %	До физической нагрузки	После физической нагрузки
Амид А (АА)	20 [7,34 - 4]	18,6 [11,5 - 34,4]
Амид 1 (А 1)	15,8 [1,4 – 31,6]	8,4 [1,4 - 31,6]
Амид 2 (А 2)	30,2 [20 – 47]	29,8 [20 - 40]
Амид 4 (А 4)	65,9 [64,2 - 69,8]	68,4 [64,2 - 72,6]
Метиленовые группы липидов слизистой оболочки полости рта (MGLSOPR)	40 [32,6 – 54,4]	44,2 [33 - 53]
Тиоцианаты (Thiocyanates)	87,4 [84,6 - 93]	87,4 [84,6 - 91,6]
Метиленовые группы боковых цепей аминокислот, липидов, белков (MGBCALB)	48,4 [38,6 -55]	47 [40 – 60]
Фосфолипиды (Phospholipids)	76 [76 – 80]	78,5 [78,5 -78,6]
Нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) (DR)	45,9 [38,6 -50,2]	48,4 [37,2 -54,9]
Олигосахариды, полисахариды, фосфатазы фосфолипиды (OPFAFL)	89,7 [89,7 – 93]	91,3 [88,8 -94,4]

Биолюминесцентный показатель слюны после физической нагрузки недостоверно снижался (рис.1.). Были выявлены обратные корреляционные взаимосвязи величины остаточного свечения с содержанием триеновых конъюгатов ($r = -0,4$) и показатель pH слюны ($r = -0,4$) до физической нагрузки, а после нагрузки - с содержанием триеновых конъюгатов ($r = -0,5$) и ионами магния ($r = 0,4$) (табл. 8, 9), что указывало о возможности их влияния на повышение или снижение биолюминесцентного показателя слюны.

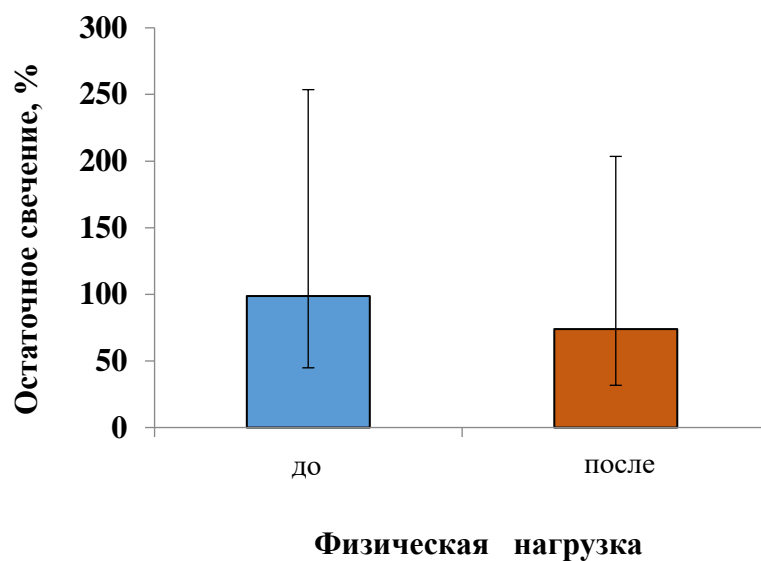


Рисунок 1 - Влияние слюны спортсменов до и после физической нагрузки на интенсивность свечения биотеста

Таблица 8 – Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением до нагрузки и биохимическими показателями слюны

Показатели слюны	Остаточное свечение до нагрузки, %
Концентрация триеновые конъюгатов (ТК), нмоль/мл	- 0,4
pH	- 0,4

Таблица 9 – Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением после нагрузки и биохимическими показателями слюны

Показатели слюны	Остаточное свечение после нагрузки, %
Концентрация триеновые конъюгатов (ТК), нмоль/мл	- 0,5
Концентрация магния (Mg), ммоль/л	0,4

Многофакторный анализ ANOVA выявил биохимические показатели слюны, значимо влияющие на биолюминесцентный показатель слюны. На повышение биолюминесцентного показателя слюны до физической нагрузки значимо влияли содержание лактата ($p = 0,07$), триеновых конъюгатов ($p = 0,02$), амидов группы 2, 4 ($p = 0,05$), олиго-полисахаридов, фосфатаз и фосфолипидов ($p = 0,04$) (табл. 10). На понижение биолюминесцентного показателя слюны после физической нагрузки значимо влияли все вышеперечисленные биохимические показатели слюны, кроме амида группы 4.

Известно, что кислотность NH-группы в амиде группы 4 выше, чем в амидах других групп [23]. Следовательно, повышение биолюминесцентного показателя слюны до физической нагрузки могло быть вызвано повышенной кислотностью слюны.

Таблица 10 – Биохимические показатели слюны, значимо влияющий на интегральный биолюминесцентный показатель до и после физической нагрузки (критерий Фишера)

Биохимические показатели слюны	Критерий Фишера при уровне значимости $p < 0,05$	
	До физической нагрузки	После физической нагрузки
Концентрация лактата (L), ммоль/л	3,727 ($p = 0,07$)	3,659 ($p = 0,07$)
Концентрация триеновых конъюгатов (ТК), нмоль/мл	6,452 ($p = 0,02$)	6,120 ($p = 0,02$)
Содержание амида группы 2 (A2), %	4,226 ($p = 0,05$)	4,057 ($p = 0,07$)
Содержание амида группы 4 (A4), %	3,069 ($p = 0,09$)	-
Содержание тиоцианатов (Thiocyanates), %	12,911 ($p = 0,001$)	11,722 ($p = 0,002$)

Окончание таблицы 10

Биохимические показатели слюны	Критерий Фишера при уровне значимости $p < 0,05$	
	До физической нагрузки	После физической нагрузки
Содержание олигосахаридов, полисахаридов, фосфатаз, фосфолипидов (OPFAFL), %	4,364 ($p = 0,04$)	4,594 ($p = 0,04$)

Кластерный анализ результатов тестирования слюны выявил две группы данных независимо от пола и квалификации спортсменов, различающихся по аэробному и анаэробному виду физической нагрузки (рис. 2.).

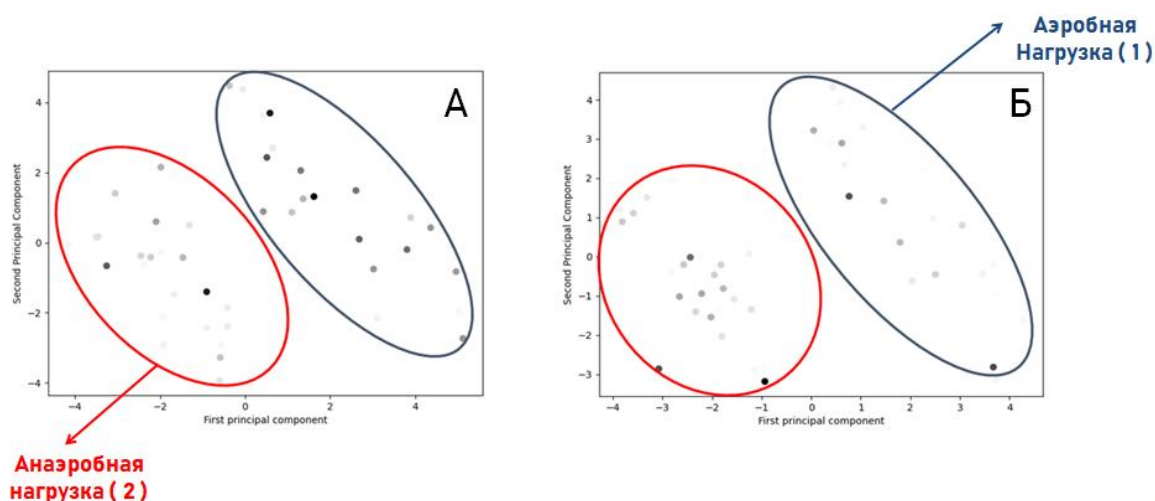


Рисунок 2 – Кластерный анализ данных до нагрузки (А) и после нагрузки (Б)

Анализ результатов биохимического тестирования слюны показал, что аэробная нагрузка (кластер 1) отличалась от анаэробной (кластер 2) достоверным повышением активности каталазы ($p = 0,0007$) (табл. 11). Оба вида физической нагрузки вызывали достоверное повышение концентрации общего белка ($p = 0,006$) и показателя рН слюны ($p = 0,0002$).

Анализ результатов спектроскопического тестирования слюны показал, что аэробная нагрузка достоверно понижала интенсивность полос поглощения амидов групп А ($p = 0,03$) и 4 ($p = 0,007$), и повышала - для нуклеиновых кислот ($p = 0,02$), олиго - полисахаридов, фосфатаз и фосфолипидов ($p = 0,02$). Анаэробная нагрузка достоверно повышала интенсивность полос поглощения амидов групп 1 ($p = 0,004$) и 2 ($p = 0,01$), и понижала - для метиленовых групп белков, аминокислот, липидов ($p = 0,04$) (табл. 12).

Таблица 11 – Физико-химический и биохимический состав слюны спортсменов до и после физической нагрузки (Ме [C25 – C75])

Показатели слюны	Аэробная нагрузка (кластер 1)		Анаэробная нагрузка (кластер 2)	
	до	после	до	после
Концентрация лактата (L), ммоль/л	2,6 [1,6 - 3,6]	2,4 [1,6 - 4,6]	2,3[1,7- 3,7]	3,6 [2,1 - 5,7]
Концентрация общего белка (B) , г/л	0,3 [0,2 – 0,6]	0,6 [0,4 - 0,9] ($p=0,006$)	0,4 [0,2 - 0,6]	0,7 [0,5 - 0,9] ($p=0,0002$)
Активность каталазы (Kt), мкат/л	298368 [255744 - 378288]	354312 [293040 - 400266] ($p=0,0007$)	485514 [447552 - 579420]	572760 [532800 - 679320]
Активность супероксиддисмутазы (СОД), ед, акт./мг	139,5 [76,3 - 163,2]	188,2 [105,3 - 227,6]	127,6 [42,1 - 205,3]	73,7 [50 - 121,1]
Диеновые конъюгаты (DK), нмоль/мл	3,9 [3,8 - 4,1]	4 [3,9 - 4,1]	3,8 [3,7 - 4]	3,8 [3,7 - 3,9]
Триеновые конъюгаты (TK), нмоль/мл	1,3 [1,2 - 1,3]	1,2 [1,2 - 1,4]	1,4 [1,3 - 1,5]	1,4 [1,3 - 1,5]
Основания Шиффа (OH), нмоль/мл	0,5 [0,4 - 0,5]	0,5 [0,4 - 0,5]	0,4 [0,4 - 0,5]	0,4 [0,4 - 0,4]
Концентрация аммония (NH ₄) , ммоль/л	0,1 [0 - 0,1]	0,1[0,1 - 0,1]	0,1 [0,1 - 0,1]	0,1 [0,1 - 0,1]
Концентрация калия (K), ммоль/л	7,3 [5,4 - 10,3]	7,7 [6,1 - 10,6]	9,9 [8,6 - 10,8]	9,7 [8,3 - 11,7]
Концентрация натрия (Na), ммоль/л	8,8 [4,4 - 18,5]	7,9 [4,8 - 12,6]	12,5 [9,1 - 18,9]	8,7 [7,3 - 11,1]
Концентрация магния (Mg), ммоль/л	0,2 [0,2 - 0,5]	0,3 [0,2- 0,3]	0,2 [0,2 - 0,3]	0,2 [0,1 - 0,3]
Концентрация кальция (Ca), ммоль/л	0,8 [0,6 - 1,2]	1,1 [0,9 - 1,2]	1,1 [0,8 - 1,2]	1,1 [0,8 - 1,3]
pH	7 [6,6 - 7,2]	7,2 [7- 7,4] ($p=0,0006$)	6,9 [6,6 - 7,3]	7 [6,9 - 7,2] ($p=0,006$)

Таблица 12 – Интенсивность полос поглощения слюны спортсменов до и после физической нагрузки (Ме [С25 – С75])

Интенсивность поглощения, %	Аэробная нагрузка (кластер 1)		Анаэробная нагрузка (кластер 2)	
	До	После	До	после
Амид А (АА)	29,8 [11,6 - 64,2]	15,2 [11,9 - 22,9] (p=0,03)	16,5 [4,2 - 31,2]	33 [11,5 - 44,2]
Амид 1 (А1)	15,8 [1,4 - 34,4]	4,9 [1,4 - 13]	14,4 [1,4 - 31,6]	25,6 [1,4 - 33] (p=0,004)
Амид 2 (А2)	35,8 [24,2 - 48,8]	30,2 [21,4 - 37,2]	25,6 [15,8 - 35,8]	27 [20 - 47,2] (p=0,01)
Амид 4 (А4)	65,9 [57,2 - 71,2]	65,6 [57,2 - 69,8] (p=0,007)	65,9 [65,6 - 68,4]	69,8 [68,4 - 74]
Метиленовые группы липидов слизистой оболочки полости рта (MGLSOPR)	48,4 [33 - 58,6]	40,9 [33,7 - 51,6]	37,9[27,4 - 47]	45,6[31,2 - 53]
Тиоцианаты (Thiocyanates)	90,2 [84,6 -93]	88,8 [86 - 94,4]	87,1 [82,8 - 90,2]	86[83,2 - 90,2]
Метиленовые группы боковых цепей аминокислот, липидов, белков (MGBCALB)	48,8 [44,2 -57,2]	47,7[38,6 - 60]	45,8 [37,2 - 53]	45,6 [40 -57,2] (p=0,04)
Фосфолипиды (Posfolipid)	76 [71,6 - 77,2]	78,5 [74,7 - 78,5]	76 [76 - 80]	78,6[78,5 -82,8]
Нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) (DR),	45,9 [40 - 60]	46,4 [35,1 - 54,6] (p=0,02)	45,9 [33 - 48,4]	48,4[43,4 -55,3]
Олигосахариды, полисахариды, фосфатазы фосфолипиды (OPFAFL)	89,7 [89,7 - 93]	91,3 [88,1 - 94,4] (p=0,02)	89,7 [88,8 - 93]	91,3[89,8 -94,4]

Результаты билюминесцентного анализа слюны спортсменов показали, что до физической нагрузки билюминесцентный показатель слюны спортсменов, занимающихся аэробной физической нагрузкой достоверно выше ($p = 0,004$), чем у спортсменов, занимающихся анаэробной нагрузкой. После

физической нагрузки билюминесцентный показатель слюны спортсменов обеих групп снижался и достоверно не различался (рис. 3).

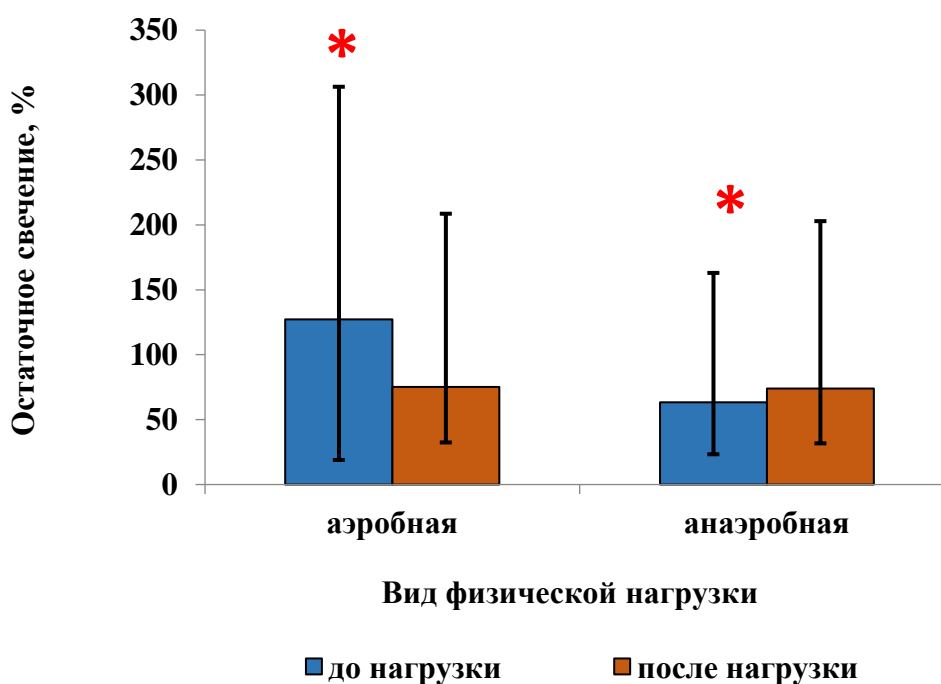


Рисунок 3 - Влияние слюны спортсменов до и после разного вида физической нагрузки на интенсивность свечения биотеста
Примечание: * - достоверность различий между показателями до нагрузки ($p=0,004$)

Многофакторный анализ не выявил компонентов слюны, значимо влияющих на повышение или понижение билюминесцентного показателя слюны при аэробной и анаэробной нагрузке.

Согласно корреляционным взаимосвязям возможное влияние на повышение билюминесцентного показателя слюны до нагрузки у спортсменов, занимающихся аэробной нагрузкой (кластер 1), могли оказывать концентрация лактата ($r = 0,4$), общего белка ($r = 0,4$), содержание ионов кальция ($r = 0,4$), калия ($r = 0,4$), магния ($r = 0,4$) и активность каталазы ($r = 0,5$), а на понижение билюминесцентного показателя могли влиять содержание тиоцианатов ($r = - 0,6$), метиленовые группы аминокислот, липидов и белков ($r = - 0,5$) (табл. 13.1, 13.2, рис. 4А).. Для спортсменов,

занимающихся анаэробной нагрузкой (кластер 2), возможное влияние на повышение билюминесцентного показателя слюны до нагрузки могла оказывать концентрация общего белка ($r = -0,6$) и содержание амидов группы 4 группы ($r = -0,4$), а на понижение – содержание тиоцианатов ($r = -0,4$), олигополисахаридов, фосфатаз и фосфолипидов ($r = -0,4$) (табл. 14.1, 14.2, рис.4Б).

Таблица 13.1 – Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и биохимическими показателями слюны при аэробной нагрузке (кластер 1)

Биохимические показатели слюны	Остаточное свечение, %	
	до нагрузки	после нагрузки
Концентрация лактата, ммоль/л	0,4	-
Концентрация ионов калия, ммоль/л	0,4	-
Концентрация ионов магния, ммоль/л	0,4	-
Концентрация ионов кальция, ммоль/л	0,4	-
Активность каталазы, мкат/л	0,5	-
Содержание триеновых конъюгатов, нмоль/мл	-0,5	-
Концентрация общего белка, ммоль/л	0,4	-
Концентрация диеновых конъюгатов, нмоль/мл	-	-0,4
pH	-	-0,5

Таблица 13.2 – Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и показателями интенсивности полос поглощения слюны при аэробной нагрузке

Показатели слюны	Остаточное свечение, %	
	до нагрузки	после нагрузки
Содержание тиоцианатов, %	-0,6	-0,4
Содержание аминокислот, липидов, белков, %	-0,5	-
Содержание амида группы 4, %	-	-0,4

Таблица 14.1 – Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и биохимическими показателями слюны при анаэробной нагрузке (кластер 2)

Биохимические показатели слюны	Остаточное свечение, %	
	до нагрузки	после нагрузки
Концентрация Общего белка, ммоль/л	0,4	-

Таблица 14.2 – Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и показателями интенсивности полос поглощения слюны при анаэробной нагрузке (кластер 2)

Показатели слюны	Остаточное свечение, %	
	до нагрузки	после нагрузки
Содержание амида 4, %	0,5	-
Содержание тиоцианатов, %	- 0,6	-
Содержание олиг-полисахаридов, фосфатаз, фосфолипидов, %	- 0,4	- 0,4
Содержание амида А, %	-	- 0,4

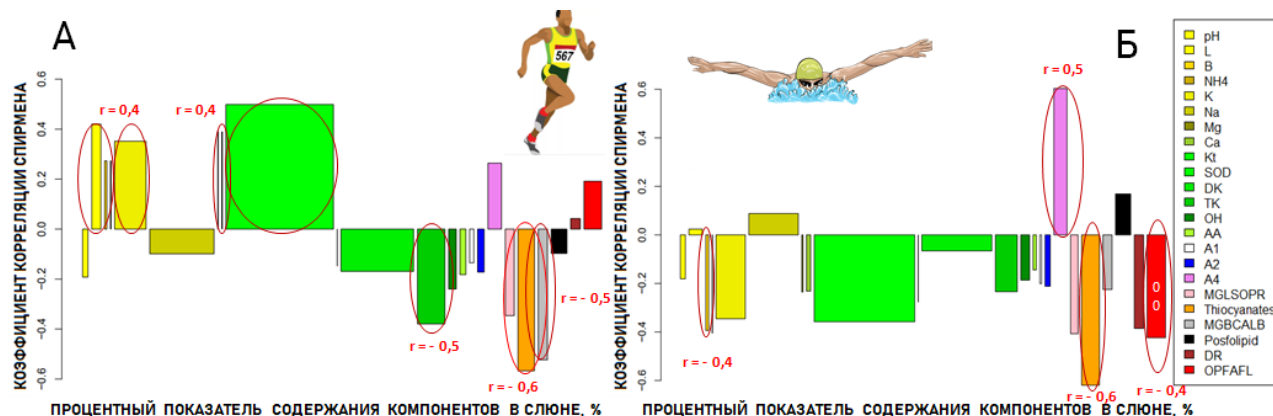


Рисунок 4 - Изменение показателей слюны до анаэробной (А) и аэробной (Б) физической нагрузки

Примечание: Столбцы, расположенные выше оси x, показывают возможное влияние на повышение интегрального биолуминесцентного показателя; столбцы, расположенные ниже оси x, указывают на снижение. Длина столбцов обозначает роль значимости компонента слюны для интегрального биолуминесцентного показателя. Ширина столбцов обозначает процентное содержание компонентов в слюне

Физическая нагрузка понижала средний биоломинесцентный показатель слюны спортсменов, занимающихся аэробной или анаэробной нагрузкой (рис.3). Согласно корреляционным взаимосвязям при аэробной физической нагрузке на понижение биоломинесцентного показателя слюны возможное влияние могли оказывать содержание тиоцианатов ($r = - 0,6$), амидов группы 4 ($r = - 0,4$), концентрации диеновых конъюгатов ($r = - 0,4$) и показатель pH ($r = - 0,5$) табл. 13.1, 13.2, 14.2, 14.2, рис.5Б). При анаэробной физической нагрузке на понижение биоломинесцентного показателя слюны возможное влияние могли оказывать содержание олиго-полисахаридов, фосфатаз, фосфолипидов ($r = - 0,4$) и амидов группы А ($r = - 0,4$) (табл. 13.1, 13.2, 14.2, 14.2, рис.5Б).

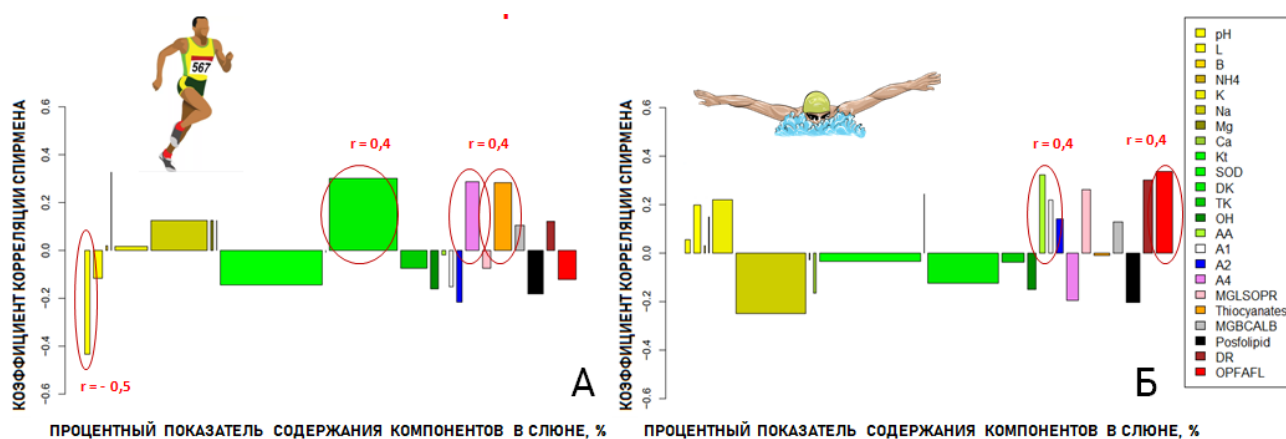


Рисунок 5 - Корреляция показателей слюны после анаэробной (А) и аэробной (Б) физической нагрузкой.

Примечание: Столбцы, расположенные выше оси x, показывают возможное влияние на повышение интегрального биоломинесцентного показателя; столбцы, расположенные ниже оси x, указывают на снижение. Длина столбцов обозначает роль значимости компонента слюны для интегрального биоломинесцентного показателя. Ширина столбцов обозначает процентное содержание компонентов в слюне

Результаты биоломинесцентного тестирования слюны спортсменов разной спортивной классификации показали, что биоломинесцентный показатель слюны после нагрузки понижался для КМС и повышался для всех остальных (рис. 6).

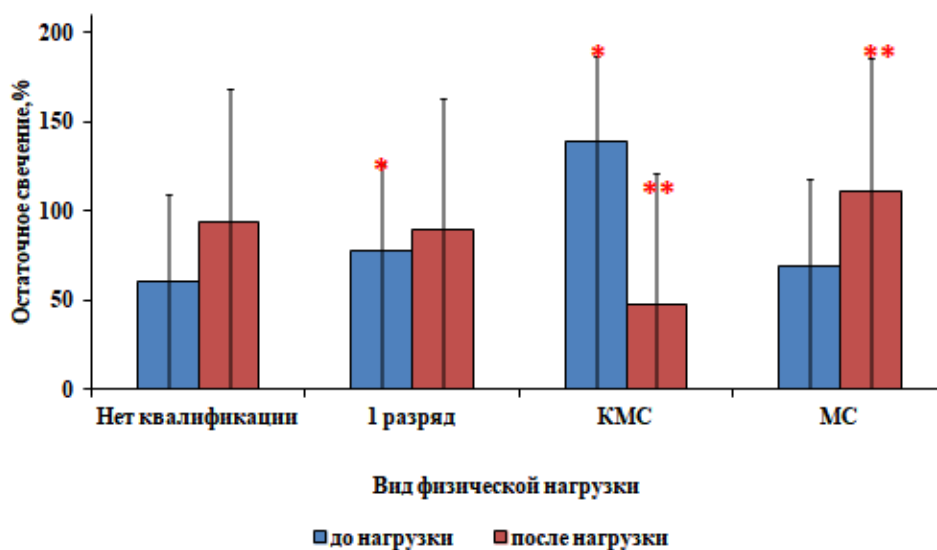


Рисунок 6 - Влияние слюны спортсменов разной спортивной квалификации до и после физической нагрузки на интенсивность свечения биотеста

Корреляционный анализ показал, что для спортсменов, имеющих 1 взрослый разряд и занимающихся анаэробной нагрузкой, на повышение биOLUMиНесцентного показателя слюны возможное влияние могли оказывать концентрации диеновых конъюгатов ($r = 0,5$) и содержание тиоцианатов ($r = 0,4$), а на понижение биOLUMиНесцентного показателя слюны - показатель pH ($r = \dots$), концентрация ионов аммония ($r = - 0,6$), магния ($r = - 0,5$), содержание метиленовых групп липидов полости рта ($r = - 0,4$), амидов групп 4 ($r = - 0,4$), 2 ($r = - 0,5$), 1 ($r = - 0,8$), А ($r = - 0,7$), содержание нуклеиновых кислот ($r = - 0,4$) (табл. 15.1, 15.2, рис.7А). Для спортсменов, имеющих 1 взрослый разряд и занимающихся аэробной нагрузкой, на повышение биOLUMиНесцентного показателя слюны возможное влияние могли оказывать концентрация триеновых конъюгатов ($r = 0,9$), концентрация ионов аммония ($r = 0,6$), а на понижение биOLUMиНесцентного показателя слюны - содержание тиоцианатов ($r = - 0,6$), метиленовые группы аминокислот, липидов и белков ($r = - 0,6$) табл. 15.1 , 15.2, рис.7Б).

Таблица 15.1 – Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и биохимическими показателями слюны после нагрузки у спортсменов со спортивной квалификацией 1 разряд

Показатели слюны	Остаточное свечение после физической нагрузки, %	
	анаэробная нагрузка	аэробная нагрузка
pH	- 0,4	-
Концентрация амонийя, ммоль/л	- 0,6	0,6
Концентрация магния, ммоль/ л	- 0,5	-
Концентрация триеновых конъюгатов, нмоль/мл	0,9	- 0,4
Концентрация диеновых конъюгатов, нмоль/мл	-	0,5
Концентрация лактата, ммоль/л	-	- 0,5

Таблица 15.2 - Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и показателями интенсивности полос поглощения слюны после нагрузки у спортсменов со спортивной квалификацией 1 разряд

Показатели слюны	Остаточное свечение после физической нагрузки, %	
	анаэробная нагрузка	аэробная нагрузка
Содержание метиленовых групп липидов слизистой оболочки полости рта, %	-0,4	-
Содержание амидов 4, %	-0,4	-
Содержание амидов 2, %	- 0,5	
Содержание амидов 1, %	- 0,8	-0,4
Содержание амидов А, %	- 0,7	-
Содержание нуклеиновых кислот, %	- 0,4	-
Содержание тиоцианатов, %	0,4	- 0,6
Содержание метиленовых групп аминокислот, липидов, белков, %	-	- 0,6

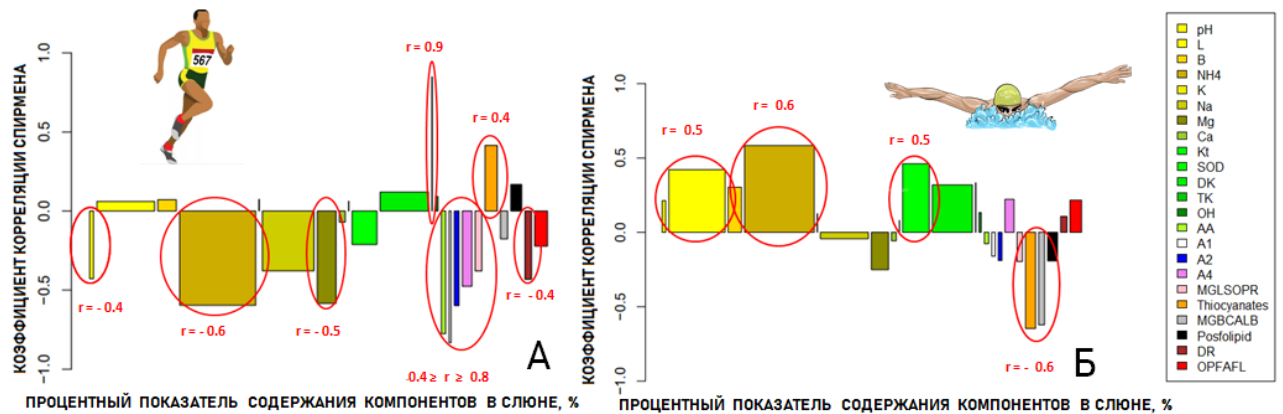


Рисунок 7 - Корреляция показателей слюны спортсменов 1 разряда после анаэробной (А) и аэробной (Б) физической нагрузкой

Примечание: Столбцы, расположенные выше оси x, показывают возможное влияние на повышение интегрального биOLUMИнесцентного показателя; столбцы, расположенные ниже оси x, указывают на снижение. Длина столбцов обозначает роль значимости компонента слюны для интегрального биOLUMИнесцентного показателя. Ширина столбцов обозначает процентное содержание компонентов в слюне

Корреляционный анализ показал, что для спортсменов, имеющих квалификацию КМС и занимающихся анаэробной нагрузкой, на повышение биOLUMИнесцентного показателя слюны возможное влияние могли оказывать концентрация лактата ($r = 0,5$) и содержание амида группы 4 ($r = 0,4$), а на понижение биOLUMИнесцентного показателя слюны – концентрация ионов калия ($r = - 0,7$) и содержание амида группы А ($r = - 0,7$) (табл. 16.1, 16.2, рис.8А). Для спортсменов, имеющих квалификацию КМС и занимающихся аэробной нагрузкой, на повышение биOLUMИнесцентного показателя слюны возможное влияние могли оказывать показатель рН ($r = 0,8$), активность каталазы ($r = 0,6$), концентрации диеновых и триеновых конъюгатов ($r = 0,5$), концентрация основания Шиффа ($r = 0,4$), а на понижение биOLUMИнесцентного показателя слюны - концентрация ионов калия ($r = -0,7$), содержание метиленовых групп липидов полости рта ($r = - 0,8$), метиленовых групп аминокислот, липидов и белков ($r = - 0,6$) (табл. 16.1, 16.2, рис.8Б).

Таблица 16.1 – Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и биохимическими показателями слюны после нагрузки у спортсменов со спортивной квалификацией КМС

Биохимические показатели слюны	Остаточное свечение после нагрузки, %	
	анаэробная нагрузка	аэробная нагрузка
Концентрация лактата, ммоль/л	0,5	-
Концентрация калия, ммоль/л	- 0,7	-0,7
pH	-	0,8
Активность каталазы, мкат/л	-	0,6
Концентрация триеновых конъюгатов, нмоль/мл	-	0,5
Концентрация оснований Шиффа, нмоль/мл	- 0,7	0,4

Таблица 16.2 Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и показателями интенсивности полос поглощения слюны после нагрузки у спортсменов со спортивной квалификацией КМС

Показатели слюны	Остаточное свечение после нагрузки, %	
	анаэробная нагрузка	аэробная нагрузка
Содержание амидов А, %	- 0,7	0,8
Содержание амидов 4, %	0,4	-
Содержание нуклеиновых кислот, %	- 0,4	-
Содержание метиленовых групп липидов слизистой оболочки полости рта, %	-	- 0,8
Содержание метиленовых групп аминокислот, липидов, белков, %	-	- 0,6

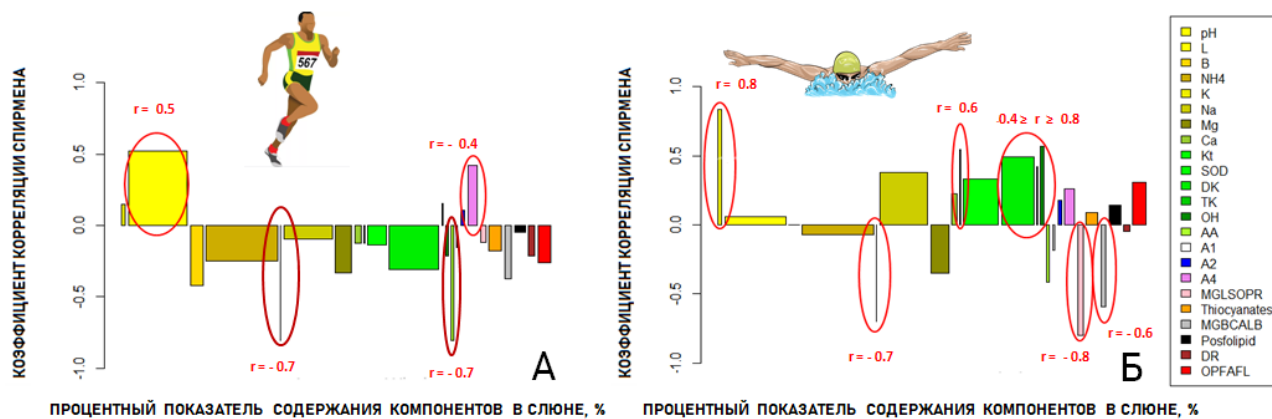


Рисунок 8 - Корреляция показателей слюны спортсменов КМС после анаэробной (А) и аэробной (Б) физической нагрузкой

Примечание: Столбцы, расположенные выше оси x, показывают возможное влияние на повышение интегрального биолуминесцентного показателя; столбцы, расположенные ниже оси x, указывают на снижение. Длина столбцов обозначает роль значимости компонента слюны для интегрального биолуминесцентного показателя. Ширина столбцов обозначает процентное содержание компонентов в слюне

Корреляционный анализ показал, что для спортсменов, имеющих квалификацию МС, МСМК и занимающихся анаэробной нагрузкой, на повышение биолуминесцентного показателя слюны возможное влияние могли оказывать показатель рН ($r = 0,7$), содержание метиленовых групп аминокислот, липидов и белков ($r = 0,5$), метиленовых групп аминокислот полости рта ($r = 0,7$), содержание нуклеиновых кислот ($r = 0,5$), а на понижение биолуминесцентного показателя слюны - концентрация ионов аммония ($r = -0,7$), натрия ($r = 0,6$), магния ($r = 0,8$), кальций ($r = 0,6$), содержание фосфолипидов ($r = -0,6$) (табл. 17.1, 17.2, рис. 9А). Для спортсменов, имеющих квалификацию МС, МСМК и занимающихся аэробной нагрузкой, на повышение биолуминесцентного показателя слюны возможное влияние могли оказывать концентрация лактата ($r = 0,9$), концентрация ионов магния ($r = 0,5$), содержание амида группы 4 ($r = 0,9$), содержание олиго - полисахаридов, фосфатаз и фосфолипидов ($r = 0,4$), а на понижение биолуминесцентного показателя слюны - показатель рН ($r = -0,6$), концентрация оснований Шиффа ($r = -0,6$) и содержание тиоцианатов ($r = 0,4$) (табл. 17.1, 17.2, рис. 9А).

Таблица 17.1 – Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и биохимическими показателями слюны после нагрузки у спортсменов со спортивной квалификацией МС

Биохимические показатели слюны	Остаточное свечение после нагрузки, %	
	анаэробная нагрузка	аэробная нагрузка
рН	0,7	- 0,6
Концентрация аммония, ммоль/л	- 0,7	-
Концентрация натрия, ммоль/л	- 0,6	-
Концентрация магния, ммоль/л	- 0,8	0,5
Концентрация кальция, ммоль/л	-0,6	-
Концентрация лактата, ммоль/л	-	0,9
Концентрация Оснований Шиффа, ммоль/мл	-	- 0,7

Таблица – 17.2 Корреляционная взаимосвязь между остаточным свечением и показателями интенсивности полос поглощения слюны после нагрузки у спортсменов со спортивной квалификацией МС

Биохимические показатели слюны	Остаточное свечение после нагрузки, %	
	анаэробная нагрузка	аэробная нагрузка
Содержание метиленовых групп липидов слизистой оболочки полости рта, %	0,7	0,6
Содержание метиленовых групп аминокислот, липидов, белков, %	0,5	0,5
Содержание нуклеиновые кислоты, %	0,5	0,4
Содержание фосфолипидов, %	- 0,6	- 0,8
Содержание амида 4, %	-	0,9
Содержание тиоцианатов, %	-	0,4
Содержание олиго – полисахаридов, фосфатаз, фосфолипидов, %	-	0,4

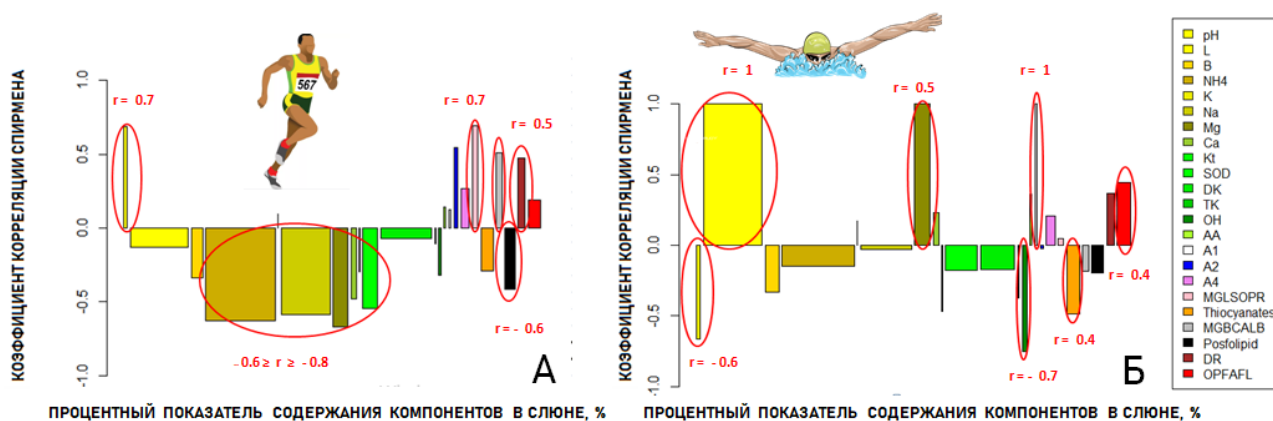


Рисунок 9 - Корреляция показателей слюны спортсменов МС после анаэробной (А) и аэробной (Б) физической нагрузкой

Примечание: Столбцы, расположенные выше оси x, показывают возможное влияние на повышение интегрального биолюминесцентного показателя; столбцы, расположенные ниже оси x, указывают на снижение. Длина столбцов обозначает роль значимости компонента слюны для интегрального биолюминесцентного показателя. Ширина столбцов обозначает процентное содержание компонентов в слюне

Таким образом, основными показателями слюны, способными оказывать влияние на биолюминесцентный показатель слюны спортсмена независимо от вида физической нагрузки и квалификации спортсмена могут быть латат, триеновые конъюгаты, амид 4, тиоцианаты, олиго – поли сахараиды, фосфатазы фосфолипидв. Наблюдаемое понижение биолюминесцентного показателя слюны после физической нагрузки у начинающих спортсменов (квалификация без разряда и 1 взрослый разряд) может быть связано с понижение концентрации триеновых конъюгатов, амида 4, тиоцианатов. Повышение биолюминесцентного показателя слюны после физической нагрузки у спортсменов высокой квалификации может быть связано с повышением концентрации метиленовых групп липидов слизистой оболочки полости рта, метиленовых групп аминокислот, липидов, белков и нуклеиновых кислот.

ВЫВОДЫ

1. Концентрация общего белка и показатель рН слюны повышались независимо от вида физической нагрузки. Повышенная активность каталазы в слюне отличало аэробную нагрузку от анаэробной.

2. БиOLUMиНесцентный показатель слюны спортсменов до физической нагрузки, занимающихся аэробным видом достоверно выше, чем у спортсменов, занимающихся анаэробным видом. БиOLUMиНесцентный показатель слюны спортсменов после физической нагрузки понижался и достоверно не различался.

3. Согласно многофакторному анализу значимое влияние на биOLUMиНесцентный показатель слюны могут оказывать концентрация лактата и триеновых конъюгатов, а также содержание амидов группы 2, 4, олигополисахаридов, фосфатаз и фосфолипидов. Полагаем, что содержание триеновых конъюгатов и амидов группы 2 могут оказывать влияние при аэробной физической нагрузке, а содержание амидов группы 4, олигополисахаридов, фосфатаз и фосфолипидов - при анаэробной физической нагрузке.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Капилевич, Л. В. Физиология человека. Спорт : учебное пособие для вузов / Л. В. Капилевич. — Москва // Издательство Юрайт. - 2023. - 142 с.
2. Ljungberg, G. Saliva and marathon running / G. Ljungberg, T. Ericson, B. Ekblom, D. Birkhed // Scandinavian Journal of medicine & science in sports. – 1997. – №7. – С. 214–219.
3. Бельская, Л. В. Перспективы использования результатов анализа слюны при планировании тренировочного режима спортсменов / Л. В. Бельская, О. А. Голованова, В. Г. Турманидзе, Е. С. Шукайло // Омский научный вестник. - 2011. - №6 (102). - С. 175-178.
4. Koshechkin, K. A. The review of the list and the features of the software for statistical data processing when performing expert work / K. A. Koshechkin, A.V. Kozlovich, V.N. Kotikov, A.N. Mironov // Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products Bulletin. – 2014. - №3. – С. 46–51.
5. Belskaya, L. V. Application of first spectroscopy for study of the saliva composition / L. V. Belskaya, E. A. Sarf, N. A. Makarova // Journal of applied spectroscopy – 2018. - № 3. - С. 437 – 442.
6. Belskaya, L. V. Application of capillary electrophoresis to determine the mineral composition of human saliva / L. V. Belskaya // Bulletin of Science and Practice. – 2017. - № 2. - С. 132 – 140.
7. Бельская, Л. В. Экспериментальное исследование кристаллизации биологических жидкостей / Л. В. Бельская, О. А. Голованова, Е. С. Шукайло, В. Г. Турманидзе // Вестник ОНЗ РАН. – 2011. -№ 3.- NZ6012.
8. Vinnik, Yu. S. The clinical aspects of chemiluminescent analysis use / Yu. S. Vinnik, A. A. Savchenko, O. V. Peryanova, O. V. Teplyakova, S. V. Yakimov, E. Yu. Teplyakov, O. S. Meshkova // Siberian medical review. – 2006. – №3. –С. 3–6.

9. Троицкая, Е. В. Диагностическое значение определения концентраций иммуноглобулинов в секрете ротовой полости / Е. В. Троицкая, И. П. Корюкина, Т. Ю. Цветкова, Л. В. Софронова // Пермский медицинский журнал. -2011. - № 3. – С. 75-79.

10. Esimbekova, E.N. Scientific Basis and Application Enzymatic Biotesting / E.N Esimbekova., I.G. Torgashina., V.P. Kalyabina., V.A. Kratasyuk // Contemporary Problems of Ecology. – 2021. - № 3. – С. 290 –304.

11. Esimbekova, E. N. Disk-shaped immobilized multicomponent reagent for bioluminescent analyses: Correlation between activity and composition / E. N. Esimbekova, V. A. Kratasyuk, I. G. Torgashina // Enzyme and Microbiological Technology. – 2007. – Volume 40, Issue 2. – С.343 – 346.

12. Kratasyuk, V. A. Polymer immobilized Bioluminescent systems for biosensors and bioinvestigations / V. A. Kratasyuk, E. N. Esimbekova // The PBM Series. – 2003. – С. 307–343.

13. Гриценко, Е. В. Билюминесцентный контроль тренировочного процесса / Е. В. Гриценко, С. В. Бородулин, В. О. Бытев, В. А. Кратасюк // Сборник материалов 7 Всероссийской конференции по гомеостазу, апрель. – 1996. –С. 232–233.

14. Бельская, Л.В. Корреляционные взаимосвязи состава слюны и плазмы крови в норме/ Л. В. Бельская, Е. А. Сарф, В. К. Косенок // Клиническая лабораторная диагностика. – 2018. – С. 477 – 482.

15. Zhang, Y. The Emerging Landscape of Salivary Diagnostics / Y. Zhang, J. Sun, C. Lin, E. Abemayor, M.B. Wang, D.T Wong // OHDM. - 2014. - № 2. – С. 10 -200.

16. Wong, D.T. Salivaomics / D.T Wong // Journal of the American Dental Association. – 2012. - № 2. - С.19 - 24.

17. Bandhakavi, S. A dynamic range compression and three-dimensional peptide fractionation analysis platform expands proteome coverage and the diagnostic potential of whole saliva / S. Bandhakavi, M.D. Stone, G. Onsongo, S.K. Van Riper, T.J. Griffin // Proteome Res. – 2009. – № 2. - С. 8.

18. Loo, J. A. Comparative human salivary and plasma proteomes / J. A. Loo, W. Yan, P. Ramachandran, D.T. Wong // Dent.Res – 2010. - № 2. – С. 89.
19. Goswami, Y. Salivary Biomarkers-A Review of Powerful Diagnostic tool / Y. Goswami, R. Mishra, A. P. Agrawal, L.A. Agrawal // Journal of Dental and MedicalSciences. – 2015. - № 3. – С. 7-80.
20. Бельская, Л. В. Половозрастные особенности биохимического состава слюны человека. Л. В. Бельская, В. К. Косенок, Е. А. Сафф, А. В. Титов, С. П. Шалыгин // Бутлеровские чтения. - 2014. - № 7. – С. 122-126.
21. Радыш, И.В. Суточные изменения концентрации макро - и микроэлементов в слюне здоровых женщин / И.В. Радыш, Т.Н. Умнова, В.В. Скальный, В.И. Торшин, Б.Б. Радыш, А.Е. Северин // Вестник восстановительной медицины.- 2013. - № 2.- С. 52-54.
22. Neyraud, E. Variability of human saliva composition: Possible relationships with fat perception and liking / E. Neyraud, O. Palicki, C. Schwartz, S. Nicklaus, G. Feron // Archives of Oral Biology. - 2012. - № 2. - С.556-566.
23. Бельская, Л.В. Околосуточная динамика минерального состава слюны человека / Л. В. Бельская, Е. А. Сафф // Сборник докладов Седьмой Международной научной конференции. – 2017. - № 1 – С. 41- 42.
24. Бельская, Л.В. Биохимические методы исследования слюны в лабораторной диагностике / Л. В. Бельская, Е. А. Сафф // Омск: ИНТЕХ. - 2013. – 75 С.
25. Бельская, Л. В. Хронофизиологические особенности электролитного состава слюны человека в норме / Л. В. Бельская, Е. А. Сафф, В. К. Косенок, Ж. Массард // Экология человека. - 2018. - № 5. - С. 28–32.
26. Сафф, Е.А. Определение макро- и микроэлементного состава слюны работников ТЭЦ / Е.А. Сафф, Н. А. Макарова, Л. В. Бельская // Экология человека. – 2022 - № 4.- С. 285–295.
27. Михайлов, С. С. Слюна как объект биохимического контроля в спорте / С. С. Михайлов, Е. В. Розенгарт // Ученые записки университета им. П. Ф. Лесгафта. – 2008. – №6. – С. 57–61.

28. Edwards, D. A. Intercollegiate soccer: Saliva cortisol and testosterone are elevated during competition, and testosterone is related to status and social connectedness with teammates / D. A. Edwards, K. Wetzel, D. R. Wyner // *Physiology & Behavior*. – 2006. – № 87. – С. 135–143.
29. Carré, J. Pre-competition hormonal and psychological levels of elite hockey players: Relationship to the ‘home advantage’ / J. Carré, C. Muir, J. Belanger, S. K. Putnam // *Physiology & Behavior*. – 2006. – № 89. – С.392–398.
30. Ясен, П. ЧСС, лактат и тренировки на выносливость / П. Ясен. – Пер. с англ. – Мурманск : Тулома, 2006. – 160 с.
31. Karatosun, H. Blood and saliva lactate levels during recovery from supramaximal exercise / H. Karatosun, C. Cetin, M. L. Baydar // *Saudi. Med. J.* – 2005. – Vol. 26, №11. – С. 1831–1832.
32. Матвеев, Л. П. Теория и методика физической культуры (общие основы теории и методики физического воспитания; теоретико-методические аспекты спорта и профессио-нально-прикладных форм физической культуры) : учебник / Л. П. Матвеев. – Москва : Физкультура и спорт, 1991. – 543 с.
33. Чиканова, Е.С. Биожидкости и фракталы: количественный критерий самоорганизации капли / Е. С. Чиканова, В. Б. Федосеев, О. А. Голованова // *Вестн. Ом. Ун-та.* – 2015. – №4. – С. 45–49.
34. Вавилова, Т. П. Биохимия тканей и жидкостей полости рта : учебное пособие / Т. П. Вавилова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 208 с.
35. Зубарева, Г. М. Инфракрасная спектрометрия в изучении ротовой жидкости для диагностических целей / Г. М. Зубарева, В. М. Микин, Г. Е. Бордина, И. А. Беляева, Н. П. Лопина, С. М. Зубарев, А. В. Каргаполов // *Стоматология.* – 2009. - № 5. – С. 7—10.
36. Seredin, P. The investigations of changes in mineral–organic and carbon–phosphate ratios in the mixed saliva by synchrotron infrared spectroscopy / P. Seredin, D. Goloshchapov, V. Kashkarov, Y. Ippolitov, K. Bambery // *Results in Physics.* – 2016. - № 6. – С. 315—321.

37. Диденко, С.Н. Особенности гормонального статуса юных гандболистов/С.Н. Диденко, Г. Д. Алексанянц // Педагогико-психологические и медико-биологические проблемы физической культуры и спорта. – 2014. – №4. – С. 42–46.
38. Banfi, G. Usefulness of Free Testosterone/Cortisol Ratio during a Season of Elite Speed Skating Athletes / G. Banfi, M. Marinelli, G. S. Roi, V Agape // Int J Sports Med. – 1993. – Volume 14, №7. – С. 373–379.
39. Chang, C. K. Responses of saliva testosterone, cortisol, and testosterone-to-cortisol ratio to a triathlon in young and middle-aged males / C.K. Chang, H.F. Tseng, H.F. Tan, Y. D. Hsuuw, J. Lee-Hsieh // Biology of Sport. – 2005. – Volume 22, №3. – С. 227–235.
40. Экологическая биофизика. Учебное пособие в 3 т. Под ред. И. И. Гительзона, Н. С. Печуркина. Т. 1. Фотобиофизика экосистем / И. И. Гительзон, В. А. Кратасюк, В. Н. Лопатин и др. – Москва: Логос, 2002. – 328 с.
41. Немцева, Е. В. Механизм электронного возбуждения в биолюминесцентной реакции бактерий / Е. В. Немцева, Н. С. Кудряшева // Успехи химии. – 2007. – 76 (1). – С. 101–112.
42. Кудряшева, Н. С. Физико-химические основы биолюминесцентного анализа: учебное пособие / Н. С. Кудряшева, В. А. Кратасюк, Е. Н. Есимбекова. – Красноярск : Краснояр. гос.ун-т., 2002. – 154 с.
43. Руководство по биолюминесцентному тестированию на токсичность [Электронный ресурс] : Практическое руководство. – Москва. – Режим доступа: http://www.pribori.com/lumitesteria/reagent-20/bio_tox.html
44. Воеводина, Т. В. Биолюминесцентный метод оценки степени тяжести состояния больных с выраженной эндогенной интоксикацией организма / Т.В. Воеводина, О.Е. Нифантьев, А.Н. Ковалевский, В.Р. Шульц, В. А. Кратасюк // Лабораторное дело. – 1990. – №9. – С.23–25.
45. Esimbekova, E. N. Application of enzyme bioluminescence in ecology / E. N. Esimbekova, V. A. Kratasyuk, O. Shimomura // Advances in Biochemical Engineering. – 2014. – Vol. 144. – С. 67–109.

46. Esimbekova, E. N. Bioluminescent method to determine non-specific endotoxigenesis in therapy / E. N. Esimbekova, V. A. Kratasyuk, V. V. Abakumova // Luminescence. – 1999. – №14. – C. 197–198.

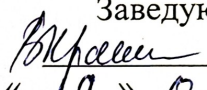
47. Kratasyuk, V. A. Applications of luminous bacteria enzymes in toxicology / V. A. Kratasyuk, E. N. Esimbekova // Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening. – 2015. – Volume 18, Issue 10. –C. 952–959.

48. Voevodina, T. V. Bioluminescent technique to analyse degree of endotoxigenesis / T. V. Voevodina, A. N. Kovalevskii, V. A. Kratasyuk, V. R. Schultz, O. E. Nifantsev // In: Proceeding of the First International School "Biological Luminescence", Wroclaw, Poland, June 20–23, 1989, World Scientific Publishing Co. – 1990, Singapore, –C.573–581.

49. Davies, R. H. Lactate assay based on bacterial bioluminescence: enhancement, dry reagent development, and miniaturization / R. H. Davies, J. W. Corry, J. D. Andrade // Bioluminescence & Chemiluminescence: Progress & Current Applications / Singapore. – 2002. – C. 441–442.


Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»


Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра биофизики

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой
 В.А. Кратасюк
« 19 » 06 2023 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА
06.03.01– Биология
06.03.01.07 Биофизика

Корреляционные взаимосвязи состава слюны с ее биолюминесцентным
анализом при разном виде физической нагрузке

Научный руководитель  19.06.2023 доцент, к. б. н. Степанова Л. В.
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Выпускник  19.06.2023 Малышева В. В.
подпись, дата инициалы, фамилия

Красноярск, 2023