

УДК 602.68:57.083

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К ЭНДОГЕННЫМ БИОРЕГУЛЯТОРАМ ДЛЯ ОЦЕНКИ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ СПОРТСМЕНОВ-ФИГУРИСТОВ

© 2022 г. М. А. Мягкова¹, С. Н. Петроченко¹*, Е. А. Орлова¹,
И. Е. Зеленкова², Ф. М. Шветский³

¹ФГБУН Институт физиологически активных веществ РАН,
Черноголовка, Московская область, Россия

²АНО Инновационный центр Олимпийского комитета России, Москва, Россия

³ФГБУ “Государственный научный центр лазерной медицины” ФМБА России, Москва, Россия

*E-mail: dianark777@mail.ru

Поступила в редакцию 25.03.2021 г.

После доработки 21.09.2021 г.

Принята к публикации 15.12.2021 г.

Проведено определение биохимических и иммунологических показателей, отражающих состояние регуляторных систем организма, участвующих в адаптации к физической нагрузке. В исследовании принимали участие 10 фигуристов, занимающихся парным катанием. Средний возраст 16 ± 0.4 лет, спортивный стаж 9 ± 1 лет. Результаты биохимического анализа показали соответствие норме основных показателей: прямой билирубин, кальций общий, магний, железо. У троих спортсменов наблюдали 1.5–2-кратное снижение глюкозы и повышение уровня креатинина, что характеризует скорость накопления и расхода энергии в зависимости от функционального состояния спортсмена. В процессе динамических наблюдений на фоне больших тренировочных нагрузок обнаружена консервативность в измерении биохимических показателей. На протяжении 5 этапов исследования в течение 62 дней подготовки спортсменов к соревнованиям не выявлены отчетливые сдвиги биохимических показателей в сторону напряжения адаптации и ухудшения восстановления. В отличие от общепринятых показателей биохимического анализа, полученные результаты иммуноанализа были информативны и позволили установить в динамике тренировок значимость эндогенных регуляторов адаптации к физической нагрузке. Методом иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови спортсменов измеряли уровень естественных антител к серотонину, гистамину, дофамину, глутамату, γ -аминомасляной кислоте (ГАМК), орфанину, β -эндорфину, ангиотензину. Установлено, что каждый спортсмен характеризуется индивидуальным иммунопрофилем. Уровень антител к β -эндорфину находился в границах нормы, кроме его снижения у двоих спортсменов. Уровень антител к орфанину у большинства был выше нормы, что может быть связано с ингибиторным контролем болевого сигнала. Показатели для антител к серотонину выше нормы у 80%, к дофамину – у 30% спортсменов, что указывает на активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС). При сравнении уровней антител к ГАМК и глутамату в индивидуальных образцах обнаружили превышение показателей нормы для всех обследуемых. Наиболее информативно значимыми для прогноза “слабых” звеньев адаптации являются иммунологические показатели антител к ГАМК и глутамату, орфанину, серотонину.

Ключевые слова: естественные антитела, эндогенные биорегуляторы, адаптационный ресурс, спортивная нагрузка, иммуноферментный анализ.

DOI: 10.31857/S0131164622030110

Разработка новых подходов оценки функционального состояния и потенциальных возможностей организма человека является актуальной задачей, как для современного спорта высших достижений, так и для организации процесса регулярных занятий физкультурой населением. Исследование реальных возможностей роста мастерства и результатов у квалифицированных

спортсменов в немалой степени определяется эффективностью адаптационных свойств организма к возрастающим физическим нагрузкам [1, 2]. Известно, что адаптационный потенциал организма характеризуется состоянием системы эндогенных биорегуляторов (ЭБ), обеспечивающих биохимическое гомеостатическое равновесие [3, 4]. Предрасположенность человека к различным за-

болеваниям, а также его физический и психоэмоциональный потенциал зависят от регуляторных характеристик системы ЭБ [5, 6]. При подготовке специалистов для работы в экстремальных условиях, включая спортивную деятельность, трудно объективно оценить момент достижения человеком своего предела, поэтому возможны как избыточные нагрузки с негативными последствиями для здоровья, так и недостаточность нагрузок [7]. В последние годы у специалистов возникает вопрос о необходимости максимального расширения перечня методов определения клинико-лабораторных биохимических, иммунологических показателей ресурсов адаптации [3]. Анализ динамики изменения таких показателей позволит объективно оценивать особенности процесса восстановления после нагрузки в экстремальных условиях, своевременно регламентировать тренировочные периоды, при этом прогнозировать уровень спортивных достижений. В связи с этим, создание диагностических тестов определения и мониторинга в динамике ЭБ является актуальной задачей. В настоящее время разработаны аналитические методы измерения уровня естественных антител (e-At), отражающих состояние системы эндогенных биорегуляторов, участвующих в молекулярных механизмах процесса адаптации [8]. Важное место в поддержании гомеостатического равновесия занимают ЭБ опиоидной, серотонинэргической, гамкергической систем [5]. Поэтому данное исследование включало измерение уровня e-At к указанной панели биорегуляторов. Это антитела к β -эндорфину, орфанину, серотонину, дофамину, гистамину, ангиотензину, глутамату и γ -аминомасляной кислоте (ГАМК). Цель настоящей работы заключалась в определении биохимических и иммунологических показателей в сыворотке крови спортсменов-фигуристов в динамике тренировочного цикла для выявления биологических прогностических маркеров ресурсов адаптации.

МЕТОДИКА

Объектом исследования являлись 10 спортсменов-фигуристов парного катания квалификации Кандидат в мастера спорта (КМС), Мастер спорта (МС), средний возраст 16 ± 0.4 лет, спортивный стаж 9 ± 1 лет. Спортсмены находились в режиме ежедневных тренировок с 6-часовой нагрузкой в день. Контрольную группу сравнения ($n = 10$) составили регулярно тренирующиеся спортсмены одинакового возраста и пола с обследуемыми фигуристами, отличающиеся уровнем физической подготовленности, занимающиеся оздоровительной физкультурой с нагрузкой не менее 3-х ч в неделю. Образцы были предоставлены спортивной школой олимпийского резерва "Воробьевы Горы" и фитнес учреждением

"Спорт Форум" (г. Москва). На момент обследования спортсмены не имели хронических и острых инфекционных заболеваний.

Забор образцов сыворотки крови для исследования в группах фигуристов и спортсменов контрольной группы проводили в соответствии с учебно-тренировочным процессом, запланированным тренером, с интервалом 14 дней. Длительность исследования распределялась на 5 этапов и составляла 62 дня. Перед началом соревнований провели заключительный 5-й забор образцов крови для анализа. Для выполнения процедуры анализа пробирки с образцами крови помещали в термостат на 30 мин при $T 37^{\circ}\text{C}$, затем образовавшуюся сыворотку центрифугировали при 3000 об./мин (центрифуга *Centrifuge CM-6M*, "ELMI Ltd.", Латвия). Далее тестировали полученные образцы.

Биохимические исследования и определение показателей формулы периферической крови проводили по унифицированным методам, принятым для обследования спортсменов [9, 10]. В каждом образце крови проанализировали следующие показатели: количество эритроцитов (RBC), ретикулоцитов (RET), тромбоцитов (PLT), концентрацию гемоглобина (HGB, г/л), гематокрит (HCT, %), средний объем эритроцитов (MCV, фл.), тромбоцитов (MPV, фл.), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH, пг.) и среднюю концентрацию клеточного гемоглобина (MCHC, г/л). Также рассчитали показатели лейкоцитарной формулы – относительное и абсолютное количество нейтрофилов (NEUT, % и $10^9/\text{л}$), лимфоцитов (LYMPH, % и $10^9/\text{л}$), моноцитов (MONO, %, и $10^9/\text{л}$), эозинофилов (EOS, % и $10^9/\text{л}$) и базофилов (BASO, %, и $10^9/\text{л}$). При проведении биохимического анализа крови определяли уровень кортизола, тестостерона (нмоль/л), железа, креатинина, прямого и общего билирубина (мкмоль/л), мочевины, глюкозы, кальция общего, магния (ммоль/л), общего белка, АЛТ, АСТ (ЕД/л). Работу выполняли с использованием гематологического анализатора *Sysmex XN 2000 AP 795756* (ООО "Сисмекс РУС", Россия)

Определение антител к регуляторам адаптации при нагрузке осуществляли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) [11]. ИФА выполняли на полистирольных планшетах фирмы "Nunc" (Дания). Учет результатов ИФА проводили на спектрофотометре с вертикальным ходом луча фирмы "Thermo" (Финляндия) при длине волны 450 нм.

Иммунохимическое исследование методом ИФА включало следующие этапы: 1) иммобилизацию комплекса синтетического антигена, состоящего из конъюгата-гаптена, производного β -эндорфина, орфанина, серотонина, дофамина, гистамина, ангиотензина, глутамата и ГАМК

с полимерным носителем на полистирольном планшете; 2) связывание указанного выше антигена со специфическими антителами анализируемого образца; 3) выявление образовавшегося иммунного комплекса с помощью антивидовых антител, меченных пероксидазой хрена; 4) измерение ферментативной активности в образовавшемся иммунном комплексе.

Для проведения ИФА использовали «Набор реагентов для иммуоферментного определения антител к эндогенным биорегуляторам в сыворотке крови «АДИМУСТАТ®» (ФСР 2010/08813) (ООО «Дианарк», Россия). Результаты измерения в ИФА оптической плотности (ОП) выражают в условных единицах (KOD_{450}) и рассчитывают по формуле $KOD_{450} = \frac{ОП \text{ анал.обр.} - ОП \text{ контр.обр.}}{ОП \text{ контр.обр.}}$. Синтез конъюгированных антигенов и условия проведения анализа выполняли в соответствии с разработанной нами ранее схемой [8]. Результаты исследований оценивали с использованием средней арифметической величины (M), их стандартного отклонения (s). Анализ различий показателей, измеренных в процессе этапов тренировки, проводили при помощи парного критерия Стьюдента. Достоверность различий показателей у спортсменов и испытуемых из контрольной группы проводили, используя критерий Стьюдента. Для анализа данных использовали пакеты программ Биостат и Статистика 6.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено обследование 10 спортсменов, занимающихся парным фигурным катанием. Анализ образцов сыворотки крови на начальном и последующих этапах тренировок включал биохимическое и иммунологическое исследование, а также определение показателей формулы периферической крови. Результаты определения указанных показателей представлены в таблицах для группы девушек и юношей. Обнаружено (табл. 1), что уровень эритроцитов, гемоглобина, ретикулоцитов, средний объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроците у всех спортсменов были в норме. В группе фигуристок-девушек можно отметить незначительное снижение показателя гематокрита у спортсменок № 2 и 5. У фигуристки № 3 – повышенное содержание тромбоцитов. В группе фигуристов–юношей повышены показатели среднего объема тромбоцитов. У спортсменов № 2 и 3 снижено содержание лейкоцитов, а у фигуриста № 3 вдвое снижен показатель тромбоцитов. У спортсмена № 2 понижен гематокрит. Рассматривая показатели лейкоцитарной формулы, можно отметить, что у 50% фигуристов как девушек (№ 1, 2), так и юношей (№ 1, 3, 4) снижение количества нейтрофилов и увеличение лимфоцитов. Увеличение эозинофи-

лов и базофилов обнаружено в группе юношей (спортсмены № 3 и 4). Таким образом, отклонения в лейкоцитарной формуле наблюдали у 6 спортсменов из 10 обследуемых. Важно подчеркнуть, что в дальнейшем, на протяжении всего периода исследования, обнаружены незначительные колебания индивидуальных показателей клинического анализа крови в группе спортсменов-фигуристов (юношей и девушек). Эти отклонения не были достоверными по сравнению с контролем и точкой измерения, полученной на первоначальном этапе. Общая картина индивидуальных показателей клинического анализа крови спортсменов сохранялась вплоть до начала соревнований.

Для спортсменов-фигуристов проведен биохимический анализ крови в динамике на четырех этапах тестирования (табл. 2). Получены следующие результаты. Прямой билирубин, кальций общий, магний были в норме у всех обследуемых. У троих спортсменов (№ 2 и 3 в группе девушек и № 3 в группе юношей) наблюдали 1.5–2-кратное снижение глюкозы. Уровень железа был в норме у 90% спортсменов. Исключение составил спортсмен № 4 в группе юношей. Были завышены показатели АСТ для спортсменов № 2 и 1 в группе девушек и юношей соответственно. При этом показатели билирубина у этих спортсменов оставались в норме. Значительное повышение общего билирубина (на 14 мкМ) зарегистрировано лишь у фигуриста № 4 в группе юношей. Уровень тестостерона на протяжении всего исследования был существенно снижен в группе фигуристок-девушек. В группе юношей этот показатель соответствовал норме на всех этапах тестирования. Уровень креатинина у юношей (№ 1, 3, 5) превышал норму на всех этапах тестирования. Результаты биохимического анализа для обследуемых спортсменов на каждом этапе тренировок не отличались достоверностью отклонения от полученных при первоначальном измерении.

В образцах сыворотки крови спортсменов контрольной группы не обнаружены достоверные изменения между показателями, полученными на различных этапах тренировок. В табл. 2 для сравнения приведены данные усредненных значений, полученных на протяжении 5-и этапов тренировок для юношей и девушек.

Далее представлены результаты динамики изменения иммунологических показателей у фигуристов в процессе тренировочного цикла подготовки к соревнованиям с интервалом забора образцов сыворотки крови 14 дней.

На начальном этапе тренировок (табл. 3) иммунологические показатели для β -эндорфина в основном у всех спортсменов достоверно не отличались от нормы. Только для спортсменов под № 1 в группе девушек его уровень значительно

Таблица 1. Индивидуальные показатели клинического анализа крови в группе спортсменов-фигуристов

Спортсмен № п/п	HCT	PLT	MPV	WBC	NEUT%	LYM%	EO%	BASO%
Девушки								
1	44.00	292.00	9.90	4.44	32.10↓	55.40↑	3.20	0.70
2	40.50↓	318.00	9.60	4.90	45.70↓	43.30↑	1.40	0.80
3	40.90	372.00↑	10.10	6.28	52.80	36.10	2.20	0.60
4	42.50	290.00	9.00	5.70	51.30	33.30	4.90	0.90
5	39.90↓	281.00	10.20	5.08	53.20	35.80	3.50	0.80
Юноши								
1	44.30	196.00	10.70↑	4.76	41.20↓	45.20↑	4.60	0.80
2	40.50↓	234.00	10.80↑	3.58↓	49.10	35.50	7.00↑	0.60
3	45.60	144.00↓	12.40↑	3.29↓	39.90↓	44.10↑	3.60	1.50↑
4	49.00	226.00	10.70↑	4.70	41.00↓	46.20↑	3.00	1.10
5	45.00	236.00	11.20↑	5.11	67.30	20.00	3.70	0.80

Примечание: ↑ – увеличение показателя при сравнении с референсными значениями ($p < 0.05$), ↓ – снижение показателя при сравнении с референсными значениями ($p < 0.05$).

снижен, а в группе юношей повышен. К заключительному, пятому этапу тренировок указанные показатели сохранили тенденцию к снижению для всех спортсменов (табл. 3). В дополнение произошло уменьшение уровня е-Ат к β-эндорфину для фигуристов под № 3 в группах девушек и юношей. К началу тренировок показатели орфанина превышают норму у всех спортсменок группы девушек и фигуристов № 1 и 4 в группе юношей (табл. 3). На протяжении всего периода подготовки к соревнованиям для фигуристок-девушек сохранились повышенные показатели орфанина. А в случае рассмотрения юношеской группы отмечена тенденция к снижению этих показателей у всех спортсменов. Для фигуриста № 5 этой группы обнаружен достоверный спад уровня е-Ат к орфанину. Иммунологические показатели для серотонина и дофамина достоверно отличались от нормы для фигуристов № 2, 4 и 5 в группе девушек и № 2 и 4 в группе юношей на начальном этапе. Эта тенденция оставалась стабильной и к заключительному этапу тренировок. Уровни иммунологических показателей для гистамина у всех фигуристов в основном соответствовал норме на протяжении всего периода исследования. Исключение составили спортсмены под № 1 в группе девушек и № 5 в группе юношей, обладающие достоверно низкими показателями. Показатели ангиотензина достоверно не отличались от нормы, но имели тенденцию к возрастанию. Только для спортсмена-юноши № 5 на заключительном этапе обнаружено достоверное снижение

уровня е-Ат к ангиотензину. Показатели глутамата и ГАМК на начальном этапе либо соответствовали контрольным значениям, либо достоверно отличались от них в сторону повышения и сбалансированности для спортсменов группы девушек и юношей. Эта тенденция обнаружена и при анализе образцов на всех этапах подготовки. Исключение составил фигурист-юноша № 5, у которого произошло достоверное падение показателя ГАМК. При анализе е-Ат к указанным выше регуляторам адаптации в образцах сыворотки крови спортсменов контрольной группы не обнаружены достоверные изменения между показателями, полученными на различных этапах тренировок. В табл. 3 для сравнения представлен результат усредненных значений, полученных на протяжении 5-и этапов тренировок для юношей и девушек.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Физиологические резервы адаптации связаны с интенсивностью и длительностью работы органов и систем организма, их нейрогуморальной регуляцией, что в дальнейшем выражается повышением уровня выносливости, работоспособности [12]. Формируется специальный функционал системы адаптации к конкретной деятельности человека. Как известно, неправильное соотношение нагрузок и методов восстановления может привести к возникновению переутомления и перенапряжения, характеризующихся первоначально падением резервных возможностей организма к нагрузкам. При этом отмечаются психоэмоцио-

Таблица 2. Изменения индивидуальных показателей биохимического анализа крови в группе спортсменов-фигуристов в динамике

Спортсмен № п/п	Тестостерон	Железо	АСТ	Билирубин прямой	Билирубин общий	Глюкоза	Кальций общий	Креатинин	Магний
Девушки									
1	0.86↓	28.26	23.21	2.37	8.20	4.31	2.45	70.91	0.85
	1.01↓	20.05	23.18	2.54	9.15	4.12	2.19	70.03	0.81
	1.12↓	16.13	22.15	2.42	9.57	4.11	2.21	71.01	0.78
	1.19↓	14.07	22.94	2.41	10.12	4.05	2.35	69.15	0.77
	1.25↓	17.55	23.23	2.61	9.23	4.11	2.21	65.99	0.79
2	0.54↓	24.17	37.12↑	4.95	21.90	4.09	2.51	80.00	0.83
	1.01↓	26.17	35.25↑	6.31	21.62	3.99	2.25	77.09	0.85
	1.11↓	27.13	34.99↑	5.24	20.85	4.16	2.23	81.97	0.82
	0.86↓	28.26	30.12↑	5.18	20.97	4.11	2.34	82.12	0.81
	0.99↓	27.21	29.03↑	5.88	23.22	4.25	2.22	81.00	0.83
3	1.38↓	23.74	17.24	2.68	6.88	4.34	2.43	85.45	0.86
	1.78↓	24.13	15.31	2.71	7.54	4.36	2.53	79.25	0.84
	1.54↓	23.99	16.03	2.65	7.99	4.21	2.51	81.39	0.79
	1.71↓	25.81	16.39	2.87	8.04	4.25	2.43	80.80	0.81
	1.67↓	24.02	15.38	2.79	8.92	4.05	2.39	81.33	0.77
4	2.18↓	16.42	13.29	2.89	11.66	4.06	2.55	90.91	0.85
	2.22↓	18.16	13.35	2.91	11.11	4.01	2.31	89.87	0.88
	2.24↓	20.21	15.33	3.02	10.69	3.99	2.51	100.31	0.86
	2.17↓	22.57	19.17	3.16	11.38	4.21	2.53	99.64	0.79
	2.33↓	26.12	18.65	3.55	12.09	4.19	2.21	98.13	0.81
5	1.19↓	14.07	18.92	2.31	7.94	4.08	2.51	83.52	0.84
	1.91↓	18.31	19.01	2.99	7.96	4.05	2.32	97.91	0.81
	1.23↓	21.03	19.63	2.96	8.09	4.11	2.21	103.01	0.82
	2.13↓	22.87	21.31	3.01	8.05	4.16	2.55	99.61	0.79
	2.19↓	21.16	22.18	3.15	7.98	4.03	2.36	98.17	0.81
Контрольная группа									
Среднее по группе, $M \pm m$	2.51 ± 0.19	15.53 ± 2.19	15.01 ± 2.95	3.12 ± 0.96	7.17 ± 1.65	4.05 ± 0.09	2.29 ± 0.03	78.00 ± 3.49	0.78 ± 0.03
Норма	Менее 4.6	6.6–26 мкмоль/л	0–32 Ед/л	1.5–29.1 мкмоль/л	2.5–55.0 мкмоль/л	3.9–6.1 ммоль/л	2.20–2.55 ммоль/л	62–106 ммоль/л	0.70–0.86 ммоль/л

Таблица 2. Окончание

Спортсмен № п/п	Тестостерон	Железо	АСТ	Билирубин прямой	Билирубин общий	Глюкоза	Кальций общий	Креатинин	Магний
Юноши									
1	21.66	18.31	22.30	43.72↑	19.01	2.38↓	2.54	119.09↑	0.80
	21.91	20.20	20.99	42.11↑	18.91	1.99↓	2.55	119.64↑	0.85
	19.64	19.03	21.54	40.13	19.19	2.01↓	2.51	125.55↑	0.84
2	20.31	19.78	18.18	39.17↑	20.12	2.21↓	2.45	125.9↑	0.83
	19.75	18.37	19.78	31.29↑	20.18	2.09↓	2.26	127.1↑	0.88
	19.89	25.05	19.50	4.13	55.32↑	4.28	2.45	90.91	0.83
3	18.99	23.12	20.31	7.74	57.18↑	5.01	2.27	97.33	0.88
	20.25	24.17	20.67	7.19	59.99↑	5.97	2.31	96.57	0.81
	19.00	22.74	19.67	8.12	59.74↑	5.27	2.49	95.12	0.79
4	21.37	21.18	21.34	5.78	56.31↑	4.19	2.50	97.18	0.81
	13.11	18.14	19.50	2.58	9.95	2.72↓	2.48	119.09↑	0.88
	15.68	19.67	19.06	2.33	10.55	2.01↓	2.49	100.97↑	0.81
5	19.34	19.33	18.37	2.91	10.78	2.02↓	2.51	123.91↑	0.85
	17.54	23.18	17.99	3.71	11.92	2.33↓	2.41	124.03↑	0.79
	18.44	21.71	18.67	3.24	10.73	2.18↓	2.38	120.87↑	0.87
6	24.11	48.04↑	19.50	4.28	18.11↑	5.28	2.47	98.18	0.83
	23.95	45.08↑	18.39	4.17	19.09↑	4.99	2.54	100.03	0.79
	25.02	48.71↑	17.99	4.08	20.20↑	4.18	2.35	105.01	0.81
7	24.01	47.34↑	19.00	4.03	18.97↑	4.15	2.22	99.17	0.84
	24.17	47.91↑	18.97	4.08	19.36↑	4.24	2.29	98.64	0.83
	14.18	24.50	19.50	3.76	11.32	2.00↓	2.47	124.55↑	0.84
8	17.55	25.61	19.97	3.55	12.87	2.06↓	2.55	131.28↑	0.81
	15.16	23.12	17.99	3.15	10.28	1.58↓	2.51	132.01↑	0.79
	18.97	24.01	19.64	3.24	11.09	1.99↓	2.34	129.13↑	0.82
9	16.85	24.27	18.39	4.01	12.66	2.15↓	2.21	131.05↑	0.81
	Контрольная группа								
	Среднее по группе, $M \pm m$	21.39 ± 1.26	18.50 ± 2.35	16.94 ± 1.09	4.15 ± 1.03	17.02 ± 5.09	4.05 ± 0.56	2.24 ± 0.09	73.00 ± 5.35
Норма	9.0–38.0 нмоль/л	6–26 Мкмоль/л	0–32 Ед/л	1.5–29.1 мкмоль/л	2.5–55.0 мкмоль/л	3.9–6.1 ммоль/л	2.20–2.55 ммоль/л	62–106 ммоль/л	0.70–0.86 ммоль/л

Примечание: обозначения см. табл. 1.

Таблица 3. Изменение индивидуальных показателей естественных антител в сыворотке крови в динамике для группы спортсменов-фигуристов
Показатели уровня естественных антител (*KOD*₄₅₀ ИФА) в сыворотке крови обследуемых фигуристов, выраженные в условных единицах

Спортсмен № п/п	исследуемые эндогенные биорегуляторы										ГАМК	глутамат
	β-эндорфин	серотонин	дофамин	гистамин	орфанин	ангиотензин	ГАМК	глутамат				
Девушки												
1	0.41↓	0.74	0.71	0.43↓	1.26↑	0.55	0.54↓	0.84				
	0.39↓	0.72	0.69	0.41↓	1.23↑	0.57	0.51↓	0.86				
	0.42↓	0.75	0.72	0.39↓	1.27↑	0.53	0.56↓	0.83				
	0.40↓	0.73	0.68	0.44↓	1.25↑	0.59	0.58↓	0.85				
	0.41↓	0.74	0.67	0.42↓	1.31↑	0.62	0.62↓	0.81				
2	0.79	1.37↑	1.19↑	0.73	1.14↑	1.07↑	1.29↑	1.38↑				
	0.77	1.35↑	1.16↑	0.71	1.11↑	1.03↑	1.26↑	1.35↑				
	0.75	1.38↑	1.12↑	0.74	1.09↑	1.05↑	1.24↑	1.39↑				
	0.81	1.36↑	1.17↑	0.72	1.16↑	1.01↑	1.27↑	1.41↑				
	0.79	1.32↑	1.05↑	0.75	1.08↑	0.97↑	1.31↑	1.45↑				
3	0.65	0.93	0.94	0.71	0.76	0.76	0.92	0.96				
	0.62	0.95↑	0.96	0.73	0.72	0.75	0.90	0.97				
	0.64	0.92	0.93	0.69	0.77	0.72	0.87	0.95				
	0.61	0.97↑	0.91	0.66	0.79	0.74	0.86	0.99				
	0.56↓	0.91	0.84	0.65	0.82	0.71	0.89	1.08↑				
4	0.68	1.23↑	1.17↑	0.83↑	1.94↑	0.81↑	1.05↑	1.21↑				
	0.66	1.21↑	1.15↑	0.86↑	1.91↑	0.79↑	1.03↑	1.23↑				
	0.69	1.19↑	1.12↑	0.84↑	1.96↑	0.83↑	1.07↑	1.20↑				
	0.63	1.22↑	1.16↑	0.81↑	1.92↑	0.80↑	1.04↑	1.21↑				
	0.71	1.24↑	1.11↑	0.95↑	1.06↑	0.87↑	1.14↑	1.19↑				
5	0.67	1.25↑	1.18↑	0.71	1.18↑	0.76↑	0.97	1.22↑				
	0.66	1.21↑	1.19↑	0.69	1.15↑	0.77↑	0.94	1.20↑				
	0.62	1.24↑	1.16↑	0.67	1.17↑	0.74↑	0.98	1.18↑				
	0.64	1.26↑	1.15↑	0.70	1.19↑	0.78↑	0.96	1.23↑				
	0.67	1.25↑	1.18↑	0.71	1.18↑	0.76↑	0.97	1.22↑				
Контрольная группа												
Среднее по группе <i>KOD</i> ₄₅₀ ИФА, <i>M</i> ± <i>m</i>	0.68 ± 0.12	0.89 ± 0.15	0.80 ± 0.11	0.67 ± 0.16	0.76 ± 0.09	0.58 ± 0.07	0.87 ± 0.12	0.85 ± 0.13				

Таблица 3. Окончание

Показатели уровня естественных антител (KOD_{450} ИФА) в сыворотке крови обследуемых фигуристов, выраженные в условных единицах										
исследуемые эндогенные биорегуляторы										
Спортсмен № п/п	Юноши									
	β -эндорфин	серотонин	дофамин	гистамин	орфанин	ангиотензин	ГАМК	глутамат		
1	0.85↑	0.91	0.76	0.63	1.14↑	0.74	0.92	1.11↑		
	0.87↑	0.89	0.77	0.65	1.11↑	0.71	0.90	1.07↑		
	0.83↑	0.87	0.74	0.61	1.09↑	0.73	0.87	1.03↑		
	0.81↑	0.83	0.72	0.59	1.05↑	0.69	0.94	1.01↑		
	0.76↑	0.86	0.76	0.52	0.92	0.67	0.91	0.96		
2	0.79	1.22↑	1.05↑	0.73	0.96	1.05↑	1.38↑	1.29↑		
	0.76	1.19↑	1.02↑	0.75	0.94	1.01↑	1.32↑	1.25↑		
	0.78	1.15↑	1.06↑	0.71	0.91	0.98↑	1.28↑	1.26↑		
	0.71	1.12↑	1.03↑	0.69	0.87	0.92↑	1.24↑	1.21↑		
	0.68	0.99↑	1.01↑	0.65	0.89	0.82↑	1.07↑	1.22↑		
3	0.59	0.93	0.94↑	0.67	0.91	0.84↑	1.18↑	1.11↑		
	0.56	0.95	0.97↑	0.64	0.89	0.86↑	1.22↑	1.16↑		
	0.54	0.91	0.95↑	0.69	0.85	0.82↑	1.25↑	1.18↑		
	0.51↓	0.89	0.93↑	0.65	0.87	0.80↑	1.29↑	1.21↑		
	0.49↓	0.88	0.91↑	0.63	0.82	0.77↑	1.48↑	1.25↑		
4	0.71	1.24↑	1.11↑	0.95↑	1.06↑	0.87↑	1.14↑	1.19↑		
	0.69	1.22↑	1.07↑	0.91↑	1.09↑	0.89↑	1.10↑	1.23↑		
	0.66	1.26↑	1.03↑	0.94↑	1.03↑	0.85↑	1.15↑	1.25↑		
	0.63	1.23↑	0.94↑	0.92↑	1.06↑	0.88↑	1.17↑	1.21↑		
	0.62	1.21↑	0.83	0.93↑	1.08↑	0.84↑	1.12↑	1.26↑		
5	0.51↓	0.93	0.86	0.56	0.68	0.62	0.82	0.93		
	0.55↓	0.89	0.81	0.54	0.65	0.65	0.80	0.91		
	0.54↓	0.84	0.78	0.53↓	0.69	0.63	0.77↓	0.86		
	0.53↓	0.81	0.84	0.51↓	0.63	0.60	0.71↓	0.80		
	0.51↓	0.78	0.68	0.43↓	0.51↓	0.59	0.65↓	0.73		
Контрольная группа										
Среднее по группе KOD_{450} ИФА, $M \pm m$	0.69 ± 0.12	0.85 ± 0.15	0.79 ± 0.11	0.68 ± 0.17	0.76 ± 0.09	0.58 ± 0.08	0.87 ± 0.10	0.85 ± 0.13		

Примечание: ИФА – иммуноферментный анализ. ↑ – увеличение показателя при сравнении со значениями контроля ($p < 0.05$), ↓ – снижение показателя при сравнении со значениями контроля ($p < 0.05$).

нальные расстройства, снижение физической и умственной работоспособности. То есть в покое, без заметной физической нагрузки, физиологические системы обеспечивают удовлетворительное самочувствие и работоспособность человека. Но уже при средней физической нагрузке у человека с низкими резервами адаптационных систем организма проявляются “слабые” звенья, что позволяет судить о приближении к той черте, за которой может появиться болезнь. Отсюда повышаются требования к средствам диагностики с необходимостью выявления самых ранних “тревожных” симптомов нарушений процессов адаптации.

На сегодняшний день в основном используют спектр биохимических, физиологических и психофизиологических методов [13]. Собран большой фактический материал об определении множества биохимических показателей, которые могут быть маркерами развития таких нежелательных процессов, как утомление, истощение, перенапряжение и перетренированность [14, 15]. При этом, как показывает опыт, ни один из них не может являться универсальным и полностью характеризовать состояние подготовленности организма к изменяющейся физической нагрузке. Проведенные исследования, направленные на поиск и раскрытие механизмов адаптации, показали необходимость совершенствования программы мониторинга в тренировочных мероприятиях, позволяющей своевременно предотвратить и скорректировать ранние симптомы перенапряжения.

В последнее время все больше внимания уделяется изучению иммунной системы спортсмена и ее роли в адаптации к нагрузкам [16, 17]. Показано, что при нагрузках у спортсменов высшей квалификации изменяется уровень показателей *T*- и *B*-клеточного звеньев иммунного ответа, что угнетение *T*-клеточного иммунитета влечет за собой активацию *B*-системы гуморального иммунитета [18]. Одним из основных параметров гуморального звена иммунной системы человека являются естественные антитела (е-Ат), направленные к самым различным эндогенным молекулам. Совокупность е-Ат отражает и регулирует индивидуальный молекулярно-клеточный состав организма [6, 7]. При различных патологических состояниях количество е-Ат в кровотоке достоверно изменяется. Следует отметить, что изменение уровня е-Ат к некоторым эндогенным молекулам возникает уже на доклинической стадии, это делает возможным предсказать заболевание до появления характерных симптомов. Именно характеристика иммунологических параметров е-Ат используется в определении ресурсов здоровья. Для создания методов диагностики важно оценить функционирование систем, участвующих в процессе адаптации к физической нагрузке

и отражающих состояние здоровья обследуемого лица. В первую очередь, это работоспособность, которая характеризуется состоянием сердечно-сосудистой и нервной систем, поддерживается энергетическим балансом, отражается в психоэмоциональном статусе. Уровень энергетического ресурса обеспечивается сбалансированным состоянием системы торможения и возбуждения. За сохранение этого баланса отвечают ГАМК и глутамат [19]. В регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы участвуют биогенные амины (гистамин, серотонин), ренин-ангиотензиновая система (ангиотензин), катехоламины (дофамин) [20]. Состояние психоэмоционального статуса, проявляющееся в настроении индивидуума, в его стрессоустойчивости, способности к мотивации на успех, удовлетворенности жизненными событиями, поддерживают биохимические системы, включающие эндогенные биорегуляторы – эндорфин, серотонин, дофамин, орфанин [21]. Важную роль в процессе адаптации играет способность восприятия болевого порога. Боль является сигналом не только психоэмоционального поведения, но и отражает состояние костно-мышечной системы, способность к восстановлению. Основными представителями противоболевой системы являются орфанин и эндорфин [22, 23].

При оценке адаптационных ресурсов человека важно учитывать сочетание иммунологических показателей, которые отражают реакцию многофакторности взаимодействия регуляторов биохимических систем на тот или иной стимул.

В работе проводили определение биохимических маркеров и иммунологических показателей, отражающих регуляцию адаптации к нагрузке. Из литературных данных известно о взаимосвязи нарушений сердечного цикла со снижением концентрации некоторых электролитов крови (магния, кальция, калия, железа, йода), ответственных за формирование фаз реполяризации миокарда, прохождения ионов через каналы мембран миокардиальных клеток [5]. Биохимический анализ, выполненный на начальном этапе, показал, что прямой билирубин, кальций общий, магний, железо были в норме у всех обследуемых. Обнаружены завышенные показатели АСТ для двух спортсменов в группе девушек и юношей. При этом показатели билирубина оставались в норме. Значительное повышение общего билирубина (на 14 мкМ) зарегистрировано лишь у одного фигуриста в группе юношей. У троих спортсменов наблюдали 1.5–2-кратное снижение глюкозы. Повышение уровня креатинина на 13–18 мкМ выявлено у троих спортсменов в группе юношей. Эти показатели характеризуют скорость накопления и расхода энергии в зависимости от функционального состояния спортсмена [12]. Наблюдали отклонения в лейкоцитарной формуле: у 4 спортсменов из 10 было снижено содержание нейтрофи-

лов и, соответственно повышено содержание лимфоцитов, у одного – повышен уровень эозинофилов (на 2%) и снижен уровень лейкоцитов. У одного спортсмена было снижено содержание лейкоцитов, нейтрофилов, повышено содержание лимфоцитов и базофилов. Отклонения в лейкоцитарной формуле наблюдали у 6 спортсменов из 10. Следует отметить, что описанные выше гематологические и биохимические показатели не обладают должной чувствительностью к изменяющимся условиям нагрузки для спортсменов за небольшие промежутки времени. В процессе динамических наблюдений на фоне больших тренировочных нагрузок не выявлены отчетливые сдвиги указанных показателей в сторону напряжения адаптации и ухудшения восстановления. По изменению показателя только одного вида нельзя достоверно судить о функциональном состоянии спортсмена, поэтому дальнейшее исследование подкреплено иммунологическими данными.

Перспективными маркерами, оценивающими ресурс организма к экстремальным нагрузкам, являются факторы гуморального иммунитета – естественные антитела (е-Ат) к регуляторам адаптации. Анализ иммунологических показателей, уровней е-Ат у фигуристов показал, что каждый спортсмен характеризуется индивидуальным иммунопрофилем, т.е. индивидуальными сочетаниями уровней е-Ат к биомолекулам, включенным в регуляцию систем адаптации к нагрузке.

Так, в системе опиоидных пептидов, уровень антител к β -эндорфину в целом у обследованных фигуристов находился в границах нормы, сниженным был у двоих спортсменов. С другой стороны, уровень антител к орфанину у большинства – выше нормы. Данные показатели свидетельствуют об активации орфанинергической системы, которая может быть связана как с регуляцией антиноцицепции, т.е. ингибиторным контролем болевого сигнала, так и с участием в механизмах вознаграждения и удовольствия, в частности, активацией “состояние благополучия” [22, 24].

Известно, что психологические стрессы и физические нагрузки влияют на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему (ГГНС). Организм при этом реагирует увеличением циркулирующих катехоламинов и биогенных аминов, которые, как широко признано, изменяют иммунную функцию [21]. У обследованных фигуристов выявлено повышение содержания е-Ат к катехоламинам и биогенным аминам: уровень антител к серотонину – выше нормы у 80%, к дофамину – у 30% спортсменов, что, по-видимому, указывает на активацию ГГНС.

Адекватная регуляция нервной системы является наиболее важным критерием успешной дея-

тельности спортсмена. Эта регуляция осуществляется за счет таких медиаторов, как ГАМК и глутамат, ингибирующего и возбуждающего нейротрансмиттеров. Сравнение уровней е-Ат к ГАМК и глутамату в индивидуальных образцах показало-превышение по сравнению с нормой этих показателей для всех обследуемых спортсменов. Этот факт является положительным признаком, так как указывает на баланс в системе возбуждения/торможения. Необходимо отметить, к заключительному этапу подготовки у трех спортсменов группы юношей этот баланс был нарушен. Снижился уровень медиатора торможения, что в дальнейшем может стать причиной истощения энергетических ресурсов организма.

В целом, характеристикой обследованной группы является высокая стабильность иммунопрофилей на протяжении всего исследования (2 мес., 62 дня). У каждого спортсмена к заключительному этапу не было обнаружено достоверных изменений по сравнению с начальным периодом обследования по всем иммунопоказателям. Этот факт может свидетельствовать об успешной адаптации к тренировочному процессу.

Следует отметить, что наиболее значимыми среди изученных иммунопоказателей оказались е-Ат к орфанину, серотонину, ГАМК и глутамату. Этот факт необходимо учитывать при составлении диагностической панели иммуномаркеров для определения “слабых” звеньев ресурсного состояния спортсменов-фигуристов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено определение биохимических и иммунологических показателей для оценки ресурсов адаптации фигуристов к физической нагрузке в процессе тренировки и подготовки к соревнованиям. Показано, что на характер адаптации к нагрузкам оказывает влияние исходный уровень функционального состояния и способность к восстановливанию на момент тестирования. Определение гематологических и биохимических показателей не отражает в достаточной степени ресурсное состояние спортсмена. Наиболее информативно значимыми для установления “слабых” звеньев адаптации является использование иммунологических показателей на основе определения естественных антител, специфически взаимодействующих с эндогенными регуляторами основных систем биохимического гомеостаза.

Этические нормы. Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены локальным биоэтическим комитетом Института физиологически активных

веществ РАН (Черноголовка, Московская область).

Информированное согласие. Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие, подписанное им после разъяснения ему потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования.

Финансирование работы. Работа выполнена в соответствии с исследованием, согласно Госрегистрации № 01200952666.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Макарова Г.А., Волков С.В., Холявко Ю.А., Локтев С.А. Синдром перетренированности у спортсменов // Физическая культура, спорт – наука и практика. 2014. № 3. С. 29.
2. Захарьева Н.Н., Яшкина Е.Н. Прогностическое значение физиологического тестирования для спортивного отбора перспективных гимнасток-художниц высокой квалификации // Теория и практика физической культуры и спорта. 2017. № 1. С. 75.
3. Евтух А.В., Квашук П.В., Шустин Б.Н. Научно-методические основы многолетней подготовки спортсменов // Вестник спортивной науки. 2008. № 4. С. 16.
4. Пальцев М.А., Полетаев А.Б., Сучков С.В. Аутоиммунитет и аутоиммунный синдром: границы нормы и патологии // Вестник РАМН. 2010. № 8. С. 1.
5. Киселев Л.В. Системный подход к оценке адаптации в спорте. Красноярск: Красноярский университет, 2012. С. 176.
6. Мягкова М.А., Морозова В.С. Естественных антител и их физиологические функции // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. 2014. № 3. С. 75.
7. Крыжановский Г.Н., Акмаев И.Г., Магаева С.В., Морозов С.Г. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в норме и патологии. М.: Медицинская книга, 2010. С. 288.
8. Петроченко С.Н., Боброва З.В., Мягкова М.А. и др. Определение антител к эндогенным биорегуляторам для оценки функционального состояния здоровья спортсменов // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т. 62. № 2. С. 346.
9. Никулин Б.А., Родионова И.И. Биохимический контроль в спорте / Научно-методическое пособие. М.: Советский спорт, 2011. С. 229.
10. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Практическое руководство. М.: Медицина, 2007. С. 544.
11. Мягкова М.А., Петроченко С.Н., Левашова А.И. Оценка адаптационных возможностей организма на основе анализа естественных антител к эндогенным биорегуляторам // Biomedical Chemistry: Research and Methods. 2018. Т. 1. № 3. С. e00038.
12. Иорданская Ф.А. Нарушения показателей “срочной” адаптации в процессе напряженной тренировочной работы высококвалифицированных спортсменов и средства квалифицированных спортсменов и средства их профилактики // Вестник спортивной науки. 2018. № 3. С. 35.
13. Кулиненко О.С. Биохимия в практике спорта. М.: Спорт, 2019. С. 184.
14. Спасский А.А., Мягкова М.А., Левашова А.И. и др. Методология комплексной оценки адаптационного потенциала спортсмена к нагрузке // Спортивная медицина: наука и практика. 2019. № 3. С. 49.
15. Buysse L., Decroix L., Timmermans N. et al. Improving the Diagnosis of Nonfunctional Overreaching and Overtraining Syndrome // Med. Sci. Sports Exerc. 2019. V. 51. № 12. P. 2524.
16. Макарова Г.А., Холявко Ю.А., Верлина Г.В. Клинико-лабораторное обследование спортсменов высшей квалификации: основные направления совершенствования // Лечебная физкультура и спортивная медицина. 2013. № 7(115). С. 4.
17. Lee E.C., Fragala M.S., Kavouras S.A. et al. Biomarkers in sports and exercise: tracking health, performance, and recovery in athletes // J. Strength Cond. Res. 2017. V. 31. № 10. P. 2920.
18. Blume K., Körber N., Hoffmann D., Wolfarth B. Training Load, Immune Status, and Clinical Outcomes in Young Athletes: A Controlled, Prospective, Longitudinal Study // Front. Physiol. 2018. V. 9. P. 120.
19. Maddock R.J., Casazza G.A., Fernandez D.H., Maddock M.I. Acute modulation of cortical glutamate and GABA content by physical activity // J. Neurosci. 2016. V. 36. № 8. P. 2449.
20. Zuo L.-J., Yu Sh.-Y., Hu Y. et al. Serotonergic dysfunctions and abnormal iron metabolism: relevant to mental fatigue of Parkinson disease // Sci. Rep. 2016. V. 6. № 1. P. 19.
21. Dhabhar F.S. Effects of stress on immune function: The good, the bad, and the beautiful // Immunol. Res. V. 58. № 2–3. P. 193.
22. Lambert D.G. The nociception, orphanin FQ receptor: a target with broad therapeutic potential // Nat. Rev. Drug Discov. 2008. V. 7. № 8. P. 694.
23. Isaev A.P., Erlikh V., Zalyapin V. et al. The immune system of athletes of different sports // Pedagogics, Psychology, Medical-biological Problems of Physical Training and Sports. 2018. № 6. P. 280.
24. Martínez-Silván D., Díaz-Ocejo J., Murray A. Predictive Indicators of Overuse Injuries in Adolescent Endurance Athletes // Int. J. Sports Physiol. Perform. 2017. V. 12. Suppl 2. P. S2153.

Determination of Antibodies to Endogenous Bioregulators for Assessing the Physical Activity of Figure

M. A. Myagkova^a, S. N. Petrochenko^{a, *}, E. A. Orlova^a, I. E. Zelenkova^b, F. M. SHvetskij^c

^a*Institute of Physiologically Active Substances RAS, Chernogolovka, Moscow Region, Russia*

^b*Russian Olympic Committee Innovation Center, Moscow, Russia*

^c*Skobelkin State Scientific Center of Laser Medicine FMBA, Moscow, Russia*

*E-mail: dianark777@mail.ru

The determination of biochemical and immunological indicators reflecting the state of the regulatory systems of the body involved in adaptation to physical activity was carried out. The study involved 10 figure skaters engaged in pair skating. The average age is 16 ± 0.4 years, sports experience is 9 ± 1 years. The results of the biochemical analysis showed compliance with the norm of the main indicators: direct bilirubin, calcium, magnesium, iron. In three athletes, a 1.5–2-fold decrease in glucose and an increase in creatinine levels were observed, which characterizes the rate of energy accumulation and consumption depending on the functional state of the athlete. In the process of dynamic observations against the background of large training loads, conservatism in the measurement of biochemical parameters was found. During the 5 stages of the study, during the 62 days of athletes' preparation for competitions, there were no distinct shifts in biochemical parameters in the direction of adaptation stress and deterioration of recovery. In contrast to the generally accepted indicators of biochemical analysis, the obtained results of immunoassay were informative and allowed us to establish the importance of endogenous regulators of adaptation to physical activity in the dynamics of training. The ELISA method was used to measure the level of natural antibodies to serotonin, histamine, dopamine, glutamate, GABA, orphanin, β -endorphin, and angiotensin in the blood serum of athletes. It is established that each athlete is characterized by an individual immunoprofil. The level of antibodies to β -endorphin was within the normal limits, except for its decrease in two athletes. The level of antibodies to orphanin in the majority was higher than normal, which may be associated with inhibitory control of the pain signal. The indicators for antibodies to serotonin are higher than normal in 80%, to dopamine – in 30% of athletes, which indicates the activation of HGNS. A comparison of the levels of antibodies to GABA and glutamate in individual samples showed that the norm values were exceeded for all the subjects. The most informatively significant for establishing the “weak” links of adaptation are the immunological indicators of antibodies to GABA and glutamate, orphan, serotonin.

Keywords: natural antibodies, endogenous bioregulators, adaptation resource, sports load, linked immunosorbent assay.