

УДК 612.013.1 (045)

Оригинальная статья

## ВЛИЯНИЕ ПИТЬЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ АЛЬФА-АМИЛАЗЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У СТУДЕНТОВ С ПРЕДИКТОРОМ ВОСПАЛЕНИЯ И БЕЗ НЕГО НА ФОНЕ УЧЕБНОГО СТРЕССА

**Г. М. Баишева** — ФГБОУ ВО «Самарский ГМУ» Минздрава России, профессор кафедры нормальной физиологии с курсом безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф, доктор медицинских наук; **К. Н. Мельник** — ФГБОУ ВО «Самарский ГМУ» Минздрава России, аспирант кафедры нормальной физиологии с курсом безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф, ГБУЗ СО «Тольяттинская городская клиническая больница № 5», лаборатория Городского центра по профилактике и борьбе со СПИД, врач клинической лабораторной диагностики.

## INFLUENCE OF DRINKING BEHAVIOR ON THE CONTENT OF ALPHA-AMYLASE OF ORAL FLUID IN STUDENTS WITH AND WITHOUT PREDICTOR OF INFLAMMATION ON THE BACKGROUND OF EDUCATIONAL STRESS

**G. M. Baisheva** — Samara State Medical University, Professor of Department of Physiology, with the Course of Life Safety and Disaster Medicine, DSc; **K. N. Melnik** — Samara State Medical University, Post-graduate of Department of Physiology, Togliatti Clinical Hospital №5, Physician of Laboratory Diagnostics.

Дата поступления — 15.11.2018 г.

Дата принятия в печать — 28.02.2019 г.

**Баишева Г. М., Мельник К. Н.** Влияние питьевого поведения на содержание альфа-амилазы ротовой жидкости у студентов с предиктором воспаления и без них на фоне учебного стресса. Саратовский научно-медицинский журнал 2019; 15 (1): 9–13.

**Цель:** изучить содержание  $\alpha$ -амилазы (sAA) в ротовой жидкости у здоровых молодых людей в зависимости от наличия предиктора воспалительных заболеваний полости рта при физиологически откорректированном поведении на фоне учебного стресса. **Материал и методы.** В течение трех месяцев изучали три группы: основную (30 чел.), в которой употребляли воду, обработанную электромагнитным аппаратом ОАО «Аква-Система», из расчета 30–35 мл на 1 кг массы тела; плацебо-группу (30 чел.), в которой употребляли воду, обработанную плацебо-прибором, не имеющим внутри корпуса электромагнитного устройства, из расчета 30–35 мл на 1 кг массы тела; контрольную (25 чел.), в которой сохранялось индивидуальное питьевое поведение исследуемых. Для выявления особенностей колебаний sAA группы разделены на субпопуляции с предиктором воспалительных заболеваний полости рта ( $IL-1\beta > 212$  пг/мл) и без такового ( $IL-1\beta \leq 212$  пг/мл). Уровень активности sAA определяли колориметрическим методом на автоматизированном оборудовании Cobas C111 (Roche), концентрацию  $IL-1\beta$  — методом ИФА на фотометре Infinity F50 (Tecan). **Результаты.** Активность секреторной sAA к концу исследования в основной группе снизилась. В субпопуляции с предиктором воспалительных стоматологических заболеваний основной группы активность sAA снизилась в 2,5 раза, в субпопуляции без предиктора воспалительных изменений наблюдалось снижение активности фермента в основной группе и повышение в контрольной. Процент симпатотоников к концу эксперимента в основной группе был ниже, чем в группах плацебо и контроля. **Выводы.** Выявлена зависимость между снижением уровня активности  $\alpha$ -амилазы ротовой жидкости и откорректированным питьевым поведением в субгруппе людей без предиктора воспалительных заболеваний полости рта, употребляющих доочищенную электромагнитным способом воду в количестве не менее 30–35 мл/кг массы тела.

**Ключевые слова:** амилаза, ротовая жидкость, стресс, интерлейкин-1 $\beta$ , питьевое поведение.

**Baisheva GM, Melnik KN.** Influence of drinking behavior on the content of alpha-amylase of oral fluid in students with and without predictor of inflammation on the background of educational stress. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2019; 15 (1): 9–13.

**The aim:** to study the content of  $\alpha$ -amylase in oral fluid in healthy young people (mean age 18 years), depending on the presence of a predictor of inflammatory diseases of the oral cavity in physiologically adjusted drinking behavior against the background of educational stress. **Material and Methods.** For three months, we studied three groups: the main group (30 people, consumed water 30–35 ml per 1 kg of body weight treated with the electromagnetic device), a placebo group (30 people used water 30–35 ml per 1 kg of body weight, but consumed water with a placebo device that does not have an electromagnetic base) and a control one (25 people who do not change their water drinking behavior). To identify the features of sAA oscillations, all groups were divided into subpopulations with predictors of inflammatory diseases of the oral cavity ( $IL-1\beta > 212$  pg/ml) and without such status ( $IL-1\beta \leq 212$  pg/ml). The level of  $\alpha$ -amylase activity was determined by a colorimetric method on Cobas C111 automated equipment (Roche), the concentration of  $IL-1\beta$  was detected by ELISA on an Infinity F50 photometer (Tecan). **Results.** Secretory alpha-amylase activity by the end

of the study decreased in the main group; in the placebo and control groups, baseline values were exceeded. In the subpopulations with predictors of inflammatory dental diseases ( $IL-1\beta \leq 212$  pg/ml) of the main group, the sAA activity decreased by 2.5 times; in the subpopulations without predicates of inflammatory changes ( $IL-1\beta \leq 212$  pg/ml), a significant decrease in enzyme activity in the main group was observed and an increase in the control. The percentage of sympathotonics at the end of the experiment in the main group was lower than in the placebo and control groups. **Conclusion.** A relation was found between a decrease in the level of  $\alpha$ -amylase activity in the oral fluid and corrected water drinking behavior in a subgroup of people without predictors of inflammatory diseases of the oral cavity, using water in an amount of at least 30–35 ml/kg body weight that was purified by an electromagnetic method.

**Key words:** amylase, saliva, stress,  $IL-1\beta$ , drinking water behavior.

**Введение.** Все более пристальное внимание исследователей привлекает взаимодействие нейроэндокринной и иммунной систем, что нашло свое выражение в появлении термина «психоиммунология» [1]. Одним из связующих звеньев между автономной нервной и иммунной системами служит альфа-амилаза. Результаты исследований у человека и животных демонстрируют, что автономная нервная система принимает значимое участие в секреции альфа-амилазы ротовой жидкости (sAA) с вкладом как альфа-адренергических, так и бета-адренергических механизмов, в связи с этим sAA может рассматриваться как косвенный показатель ее активации [2]. Саливадиагностика помогает определить стресс двух типов: хронический, ассоциированный с увеличением количества кортизола в слюне и снижением IgA и лизоцима; острый, связанный с повышением активности альфа-амилазы [3]. Кроме того, в модулировании различных аспектов социального и эмоционального поведения играют роль цитокины [4]. Так, ИЛ-1 $\beta$ , помимо ключевой роли медиатора воспаления при периодонтите [5], тесно коррелирует с состоянием гнева [4]. Каждый из этих критериев ротовой жидкости имеет свои сильные и слабые стороны, учитывая недостаточное количество данных, имеющееся на настоящий момент [6].

Существует корреляция между уровнем кортизола слюны и активностью альфа-амилазы, в синтезе которой участвует автономная нервная система с преобладанием влияния симпатического отдела через запуск вторичных посредников, в том числе кальция [7]. Стресс-индуцированные состояния способствуют хронической активации симпатической системы и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, что ведет к развитию хронических воспалительных заболеваний, в том числе полости рта [8–12]. В противоположность этому, физиологическая коррекция питьевого поведения, согласно данным L. Rijnboom et al. [13], приводит к уменьшению активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (НРА), уменьшает стрессочувствительность, регулирует симпатическую / парасимпатическую активность [14].

**Цель:** изучить содержание  $\alpha$ -амилазы в ротовой жидкости у здоровых молодых людей в зависимости от наличия предиктора воспалительных заболеваний полости рта при физиологически откорректированном питьевом поведении на фоне учебного стресса.

**Задачи:**

1. Измерить концентрацию ИЛ-1 $\beta$  ротовой жидкости у здоровых молодых добровольцев.
2. Определить уровень активности секреторной альфа-амилазы на фоне коррекции питьевого поведения.
3. Выяснить уровень симпатикотонии участников в условиях учебного стресса.

**Материал и методы.** В исследовании приняли участие 85 человек обоего пола (средний возраст 18 лет) из 193 желающих. Проведено открытое, сравнительное, контролируемое в параллельных группах исследование, проходившее в три этапа: первичный сбор данных, или первый этап (20.09.2014), второй этап (08.11.2014), третий этап (20.12.2014). Сформированы три репрезентативные группы:

основная (30 человек, употребляли 30–35 мл воды на 1 кг массы тела, обработанной электромагнитным аппаратом ОАО «Аква-Система» (Москва));

плацебо-группа (30 человек, употребляли 30–35 мл воды на 1 кг массы тела, обработанной плацебо-прибором, не имеющим внутри корпуса электромагнитного устройства);

контрольная (25 человек, не меняющих свое питьевое поведение).

Участники использовали в приборах (модель «аквадиск-кувшин») предварительно очищенную с помощью бытовых фильтров воду из централизованных источников, а также бутилированную воду. Электромагнитное воздействие устройства (согласно инструкции) приводит к преобразованию структуры воды (технология TWS — патент РФ №2192902 «Способ передачи и записи энергоинформационных потоков на вещество или комбинацию веществ»), что сокращает избыточное содержание вредных примесей: согласно заключению аналитического центра химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (протокол №4145 от 23.04.2002), концентрация железа уменьшается в 3–5 раз, азота аммонийного в 3 раза, хлора активного и сероводорода в 2 раза (<https://www.aqvadisk.ru/articles/147/84/issledovaniya.html>).

Критерии включения в исследование: клинически здоровые студенты-добровольцы разных полов (18–20 лет). Критерии исключения: неконтролируемая гипертензия, сахарный диабет, заболевания сердца, легких и почек; прием медикаментов, которые влияют на аппетит или вес тела; онкологические заболевания.

Формирование групп проходило случайным способом (рандомизацией) после получения постановления о соответствии исследования этическим нормам и информированного письменного согласия от участников (протокол №124 от 10.10.2012 комитета по биоэтике при СамГМУ).

Содержание альфа-амилазы ротовой жидкости определяли колориметрическим методом на автоматизированном оборудовании Cobas C111 (Roche) и коммерческих тест-системах этой же компании. Пробы хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$  до момента исследования (не дольше двух недель), после полного размораживания их тщательно перемешивали, осадок отделяли центрифугированием 15 минут при 1500 g. В течение получаса перед началом измерений пробы находились при комнатной температуре. Далее материал разводился физиологическим раствором (в эмпирически подобранном титре 1:100).

**Ответственный автор** — Мельник Кристина Николаевна  
Тел.: +7 (927) 7858818  
E-mail: melnikkn@mail.ru

Таблица 1

**Содержание альфа-амилазы в ротовой жидкости студентов всех групп на 1–3-м этапах исследования**

sAA, МЕ/л	Основная группа (1), Ме (25%; 75%)	Плацебо-группа (2), Ме (25%; 75%)	Контрольная группа (3), Ме (25%; 75%)	p, ККУ	p, КМУВ (1)-(2)	p, КМУВ (1)-(3)	p, КМУВ (2)-(3)
1-й этап	272,2 (125,8–426,9)	371,2 (116,1–714,6)	395,5 (137,1–889,5)	0,547	0,331	0,381	0,735
2-й этап	167,9 (35,0–308,4)	259,9 (70,1–401,2)	112,0 (42,0–662,7)	0,263	0,095	0,348	0,892
3-й этап	249,9 (112,0–475,1)	292,5 (121,1–529,9)	565,9 (122,4–852,5)	0,184	0,313	0,068	0,379

Примечание: sAA — альфа-амилаза; ККУ — критерий Краскела-Уоллиса; КМУВ — критерий Манна-Уитни-Вилкоксона.

Таблица 2

**Содержание альфа-амилазы ротовой жидкости в субпопуляциях без предикторов воспаления (с ИЛ-1β ≤ 212 пг/мл) на 1–3-м этапах исследования**

sAA, МЕ/л	Основная группа (1), Ме (25%; 75%)	Плацебо-группа (2), Ме (25%; 75%)	Контрольная группа (3), Ме (25%; 75%)	p, ККУ	p, КМУВ (1) — (2)	p, КМУВ (1) — (3)	p, КМУВ (2) — (3)
1-й этап	266,0 (68,1–386,5)	556,3 (118,6–878,1)	395,5 (154,3–910,8)	0,105	0,038	0,140	0,894
2-й этап	167,9 (64,6–333,5)	274,5 (67,6–564,9)	475,6 (62,2–951,2)	0,206	0,157	0,126	0,585
3-й этап	245,4 (81,7–578,5)	264,5 (108,9–529,9)	620,8 (264,9–941,6)	0,05	0,405	0,019	0,095

Примечание: sAA — альфа-амилаза; ИЛ-1β — интерлейкин-1β; ККУ — критерий Краскела-Уоллиса; КМУВ — критерий Манна-Уитни-Вилкоксона.

Концентрацию интерлейкина-1β определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) на фотометре Infinity F50 (Tecan) коммерческими тест-системами фирмы ВектоБест (Новосибирск). В качестве материала использовали супернатант ротовой жидкости, полученный центрифугированием проб в пробирках типа эппендорф на 1,5 мл в течение 15 минут при 10000g и температуре 4°C [15].

Состояние автономной нервной системы оценивали путем вычисления вегетативного индекса Кердо по формуле  $Index = 100 * (1 - DA / Пульс)$ , где DA — диастолическое давление в мм рт.ст. [16].

Статистическая обработка включала проверку вариационных рядов на нормальность распределения по критерию Шапиро — Уилка. В дальнейшем использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела — Уоллиса (ККУ), а также попарные сравнения групп по непараметрическому критерию Манна — Уитни — Вилкоксона в случае получения статистически значимых различий в дисперсионном анализе. Числовые значения биохимических показателей приведены в виде медианы и квартилей (25% и 75%). Различия между вариационными рядами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

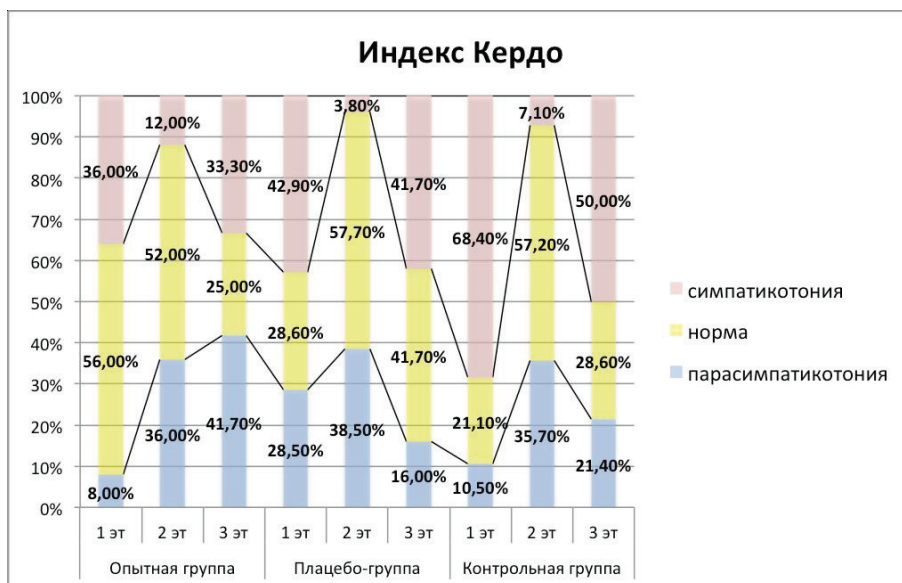
**Результаты.** На первом, докоррекционном, этапе концентрация альфа-амилазы ротовой жидкости различалась незначительно и составила 272,2 (125,8–426,9) МЕ/л для основной группы, 371,2 (116,1–714,6) МЕ/л для плацебо-группы и 395,5 (137,1–889,5) МЕ/л в контроле. На втором этапе исследования проявилась тенденция к снижению содержания sAA ротовой жидкости во всех группах; по завершении — к понижению, при этом уровень альфа-амилазы был ниже исходных значений в основной и плацебо- группах, в контроле он превысил исходные показатели (все данные не отличаются статистической значимостью) (табл. 1).

Для выявления особенностей колебаний sAA все группы разделены на субпопуляции с предиктором воспалительных заболеваний полости рта (ИЛ-1β > 212 пг/мл) и без таковых явлений (ИЛ-1β ≤ 212 пг/мл).

В субпопуляции с предиктором воспалительных стоматологических заболеваний (ИЛ-1β > 212 пг/мл) не было статистически значимых изменений между подгруппами, тем не менее прослеживалась тенденция к снижению содержания альфа-амилазы в основной группе к завершению исследования (1-й этап: 331,2 (167,2–1099,7) МЕ/л; 3-й этап: 269,3 (128,1–451,1) МЕ/л, в отличие от групп плацебо (1-й этап: 173,8 (72,6–362,5) МЕ/л; 3-й этап: 380,6 (123,4–1045,3) МЕ/л) и контроля (1-й этап: 467,6 (105,3–892,1) МЕ/л; 3-й этап: 568,9 (255,7–568,9) МЕ/л).

В субпопуляциях без предиктора воспалительных процессов полости рта обнаружены статистически значимые изменения в основной и контрольной группах на третьем этапе. Они отражали снижение уровня фермента в основной и его увеличение в контрольной группе, уменьшение концентрации альфа-амилазы в плацебо-группе оказалось статистически незначимым (табл. 2).

При попарном сравнении групп статистически достоверные изменения зафиксированы и в плацебо-группе: субпопуляция плацебо-группы без предиктора воспалительных заболеваний полости рта (ИЛ1β ≤ 212 пг/мл) на втором этапе исследования демонстрирует более выраженное снижение уровня данного фермента в ротовой жидкости на 25,85% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с аналогичным периодом субпопуляции плацебо-группы (ИЛ1β > 212 пг/мл) с предиктором воспалительных заболеваний, где снижение содержания составляет 21,97% ( $p = 0,031$ ). Обе субпопуляции группы плацебо демонстрируют снижение концентрации альфа-амилазы в данный



Динамика индекса Кердо в группах студентов на 1–3-м этапах исследования

период. Сходная тенденция наблюдалась в парных тестах на втором этапе в основной группе как в субпопуляции  $ИЛ-1\beta \leq 212$ , где снижение уровня амилазы составило 46,04%, так и в субпопуляции  $ИЛ-1\beta > 212$  со снижением 64,25%, но без статистической значимости ( $p=0,514$  и  $p=0,129$ ). При этом в группе контроля за аналогичный период снижение содержания амилазы было менее выраженным и составило 29,22% ( $p=0,588$ ) в субпопуляции  $ИЛ-1\beta \leq 212$ .

В процессе исследования все испытуемые продемонстрировали достаточно высокий уровень симпатикотонии, который снизился на втором этапе и вновь повысился на третьем этапе эксперимента, что можно связать с усилением состояния тревожности перед экзаменационной сессией. Тем не менее к концу эксперимента в основной группе наблюдалось снижение процента симпатотоников до 33,33%, тогда как в группе плацебо количество симпатотоников составило 41,67%, а в контроле 50%. Изменения величины индекса Кердо представлены на рисунке.

**Обсуждение.** Содержание альфа-амилазы ротовой жидкости (sAA) у участников всех групп в процессе эксперимента превышала нормальные величины: у здоровых, физически активных взрослых в состоянии покоя уровень sAA обычно находится в пределах 50–175 МЕ/мл, при этом стресс вызывает двукратное увеличение: до 110–350 МЕ/мл [17]. В изменениях содержания данного фермента во всех группах и на всех трех этапах эксперимента прослеживалась определенная логика. Так, суммарные показатели уровня альфа-амилазы имели тенденцию к снижению в основной группе на втором и третьем этапах исследования, при этом активность фермента в группах плацебо и контроль повысилась на третьем этапе, что может отражать благоприятное влияние коррективы питьевого поведения на мукозальный иммунитет в целом. Учитывая то, что уровень sAA у всех участников превышал нормальные показатели, необходимо было выяснить, связано ли это с воспалительными заболеваниями полости рта или же подобная активность вызвана учебным стрессом. В ходе обработки данных выяснено, что, несмотря на отсутствие жалоб со стороны участников на наличие стоматологических воспалительных заболеваний, существует необходимость разделения групп на суб-

популяции в зависимости от значения  $ИЛ-1\beta$ , что позволило нам выявить достоверные закономерности, скрытые при анализе усредненных цифр. Уровень  $ИЛ-1\beta$  свыше 212 пг/мл [5] — это порог, прогнозирующий периодонтит (78% чувствительность и 100% специфичность). С разделением на субпопуляции у участников без предиктора воспалительных заболеваний (значения  $ИЛ-1\beta \leq 212$  пг/мл) зафиксировано статистически достоверное снижение альфа-амилазы на третьем этапе исследования в основной группе относительно контрольной (см. табл. 2). При этом показатели альфа-амилазы недостоверно повысились как в группе плацебо (+24%), так и в контроле (+36,7%).

Разделение групп на субпопуляции показало, что даже у лиц без предиктора воспаления в полости рта содержание sAA превышало норму, что позволяет отнести эти изменения за счет стресс-индуцированного состояния. В процессе исследования все испытуемые продемонстрировали достаточно высокий уровень симпатикотонии (см. рисунок), который снизился на втором и вновь повысился на третьем этапе эксперимента, что можно связать с повышенной нагрузкой перед экзаменационной сессией. Тем не менее к концу эксперимента в основной группе наблюдалось уменьшение процента лиц с симпатикотонией.

Таким образом, статистически значимые изменения, а также тенденции, демонстрирующие улучшение состояния мукозального иммунитета и снижение тонуса симпатической нервной системы, свидетельствуют о благоприятном воздействии откорректированного питьевого поведения на участников настоящего исследования.

#### Выводы:

1. Выявлена зависимость между снижением уровня альфа-амилазы ротовой жидкости и откорректированным питьевым поведением в подгруппе людей без предиктора воспалительных заболеваний полости рта ( $ИЛ-1\beta$  в ротовой жидкости менее 212 пг/мл), употребляющих доочищенную электромагнитным способом воду в количестве не менее 30–35 мл/кг.

2. Повышение содержания альфа-амилазы ротовой жидкости у обследованных молодых людей в значительной степени связано с повышением тонуса симпатической нервной системы.

3. Изменение питьевого поведения способствует снижению напряженности симпатической нервной системы, что проявляется в уменьшении количества участников с симпатикотонией.

**Конфликт интересов** не заявляется.

**Авторский вклад:** концепция и дизайн исследования — Г.М. Баишева, К.Н. Мельник; получение данных — К.Н. Мельник; анализ данных — Г.М. Баишева, К.Н. Мельник; интерпретация результатов — Г.М. Баишева, К.Н. Мельник; написание статьи — Г.М. Баишева, К.Н. Мельник; утверждение рукописи для публикации — Г.М. Баишева.

#### References (Литература)

1. Delves PJ, Martin SJ, Burton DR, Roitt IM. *Roitt's Essential Immunology Textbook*, 13th edition, 2017; 576.
2. Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. *J Psychoneuroendocrinology* 2009; 34 (4): 486–96.
3. Yang CJ. The pro-inflammatory cytokines, salivary cortisol and alpha-amylase are associated with generalized anxiety disorder (GAD) in patients with asthma. *Neurosci Lett* 2017; 24 (656): 15–21.
4. La Fratta I, Tatangelo K. The plasmatic and salivary levels of IL-1 $\beta$ , IL-18 and IL-6 are associated to emotional difference during stress in young male. *Sci Rep* 2018; 18 (1): 3031.
5. Sanchez GA, Miozza VA, Delgado A, Busch L. Salivary IL-1 $\beta$  and PGE2 as biomarkers of periodontal status, before and after periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 2013; 40 (12): 1112–7.
6. Obayashi K. Salivary mental stress proteins. *Clin Chim Acta* 2013; 425: 196–200.
7. Strahler J, Skoluda N, Kappert MB, Nater UM. Simultaneous measurement of salivary cortisol and alpha-amylase: Application and recommendations. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 2017; 83: 657–77.
8. Esch T, Stefano GB. The neurobiology of pleasure, reward processes, addiction and their health implications. *Neuro Endocrinol Lett* 2004; 25: 235–51.
9. Straub RH. Evolutionary medicine and chronic inflammatory state — known and new concepts in pathophysiology. *J Mol Med (Berl)* 2012; 90: 523–34.
10. Danese A, McEwen BS. Adverse childhood experiences, allostasis, allostatic load, and age-related disease. *Physiol Behav* 2012; 106: 29–39.
11. Epstein JM, Parker J, Cummings D, Hammond RA. Coupled contagion dynamics of fear and disease: mathematical and computational exploration. *PLoS One* 2008; 3: 3955.
12. Svechnikova MV, Gil'mijarov JeM, Selezneva IA, Fedjaev IM. Metod diagnostiki stomatitov pri gemoblastozah po sodержaniju antitel A i G k gliadinu i transglutaminaze. *Science and Innovations in Medicine* 2016; 2 (2): 63–7. Russian (Свечникова М.В., Гильмияров Э.М., Селезнева И.А., Федяев И.М. Метод диагностики стоматитов при гемобластозах по содержанию антител А и G к глиадину и трансглутаминазе. *Наука и инновации в медицине* 2016; 2 (2): 63–7).
13. Priumboom L, Reheis D. Intermittent drinking, oxytocin and human health. *Med Hypotheses* 2016; 92: 80–3.
14. Krause EG, de Kloet AD, Flak JN, et al. Hydration state controls stress responsiveness and social behavior. *J Neurosci* 2011; 31: 5470–6.
15. Melnik KN, Baisheva GM, Gilmijarova FN, Alpatova TA. Salivadiagnostika kak metod opredelenija immunologicheskoy adaptacii k uchebnomu stressu v uslovijah razlichnogo pit'evogo povedenija. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics* 2018; 63 (6): 353–7. Russian (Мельник К.Н., Баишева Г.М., Гильмиярова Ф.Н., Алпатова Т.А. Саливадиагностика как метод определения иммунологической адаптации к учебному стрессу в условиях различного питьевого поведения. *Клиническая лабораторная диагностика* 2018; 63 (6): 353–7).
16. Lavrov OV, Pjatin VF, Shirolapov IV. Stress-inducirovannye osobennosti immunologicheskikh pokazatelej u ljudej differencirovannyh vegetativno-gormonal'nyh klasterov. *Medical Immunology* 2013; 15 (3): 283–8. Russian (Лавров О.В., Пятин В.Ф., Шиrolapov И.В. Стресс-индуцированные особенности иммунологических показателей у людей дифференцированных вегетативно-гормональных кластеров. *Медицинская иммунология* 2013; 15 (3): 283–8).
17. Rohleder N, Nater UM. Determinants of salivary alpha-amylase in humans and methodological considerations. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34: 469–85.