



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **55905** (13) **U**  
(51) МПК (2009)  
**G01N 33/48**  
**A61B 10/00**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ФУНГІЦИДНОЇ ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ЦІЛОРІЧНИЙ АЛЕРГІЧНИЙ РИНИТ**

1

2

(21) u201008268

(22) 02.07.2010

(24) 27.12.2010

(46) 27.12.2010, Бюл.№ 24, 2010 р.

(72) ЮРЕВИЧ НАДІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА

(73) ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб оцінки ефективності терапії хворих,  
що включає визначення цитотоксичних сироват-  
кових компонентів крові в присутності одноклі-

тинної водорості *Dunaliella viridis* з наступним  
визначенням індексу цитотоксичності, який **відрі-  
зняється** тим, що фунгіцидну терапію хворих на  
цілорічний алергічний риніт оцінюють як ефекти-  
вну при зниженні індексу цитотоксичності в клі-  
тинній тест-системі *Dunaliella viridis* по відношен-  
ню до попередніх значень на 11% та більше, при  
неефективній терапії призначення протигрибко-  
вого препарату продовжують.

Корисна модель відноситься до медицини, а  
саме до отоларингології, і може бути використа-  
ною для оцінки ефективності фунгіцидної терапії  
у хворих на хронічний цілорічний алергічний ри-  
ніт.

За даними ВООЗ, алергічні захворювання  
займають 3 місце за поширеністю після серцево-  
судинних і онкологічних. В різних країнах на але-  
ргію страждають від 10 до 30% населення. 15,5%  
цих захворювань приходить на частку алергіч-  
ного риніту (АР), що діагностується у 10-25% на-  
селення України незалежно від віку і статті, а в  
окремих країнах - у 40% населення [ARIA. Аллер-  
гический ринит и его влияние на бронхиальную  
астму // Аллергология. - 2000 (Приложение). -  
№3. - С.43-56.; Зайков С.В., Пухлик Б.М., Коряць-  
ка І.В. Алергічний риніт та бронхіальна астма -  
загальна проблема оториноларингології та алер-  
гології // Ринологія. - 2002. - №4. - С.21-24.].

Це захворювання, на думку вчених, погіршує  
якість життя навіть більше, ніж бронхіальна ас-  
ма, тісний зв'язок з якою в останні роки переко-  
нливо доведений: АР є чинником ризику форму-  
вання бронхіальної астми і передусім її розвитку в  
43-64% випадків [Зайков С.В., Пухлик Б.М., Кори-  
цька І.В. Алергічний риніт та бронхіальна астма -

загальна проблема оториноларингології та алер-  
гології // Ринологія. - 2002. - № 4. - С.21-24.].

Актуальність проблеми АР зв'язана також і з  
тим, що одним з найважливіших етіологічних фа-  
кторів його розвитку є грибкова сенсibiliзація, а  
постійно наростаюча урбанізація приводить до  
того, що до 95% часу людина перебуває в при-  
міщеннях, засіяних приблизно 250 видами пліс-  
невих грибів, здатних не тільки токсично вплива-  
ти і викликати розвиток мікозів, але і провокувати  
алергічні реакції [Желтикова Т.М., Антропова  
А.Б., Мокроносова М.А., Биланенко Е.Н., Мокеєва  
В.Л. Чекунова Л.Н., Петрова-Никитина А.Д. Мико-  
генная аллергия - проблема современного мега-  
полиса. // Успехи медицинской микологии. - Т.1. -  
М.: Национальная академия микологии, 2003. -  
С.222-223]. Від 2 до 14% населення Землі страж-  
дає підвищеною чутливістю до пліснявих грибів, з  
них до 6% приходить на АР [Дедикова І.В. Ана-  
литический обзор литературы по проблеме  
аллергического ринита, вызванного эпидермаль-  
ными аллергенами. // Ринологія. - 2006. - №2. -  
С.69-71; Пухлик С.М., Дедикова І.В., Романовс-  
кая І.И. Иммобилизация аллергена на носители  
- новая технология для специфической иммуно-  
терапии круглогодичного аллергического ринита.

(19) **UA** (11) **55905** (13) **U**

// Журнал вушних, носових і горлових хвороб. - 2003, - №3. - С.217.].

Гриби можуть бути неспецифічними імунними тригерами при розвитку алергійних захворювань і підсилювати реакцію на інші алергени, зокрема кліщові і пилові (поєднувані в поняття побутових алергенів), що надходять в організм інгаляційним шляхом [Желтикова Т.М., Антропова А.Б., Мокроносова М.А., Биланенко Е.Н., Мокеєва В.Л. Чекунова Л.Н., Петрова-Никитина А.Д. Микогенная аллергия - проблема современного микопатолога. // Успехи медицинской микологии. - Т.1. - М.: Национальная академия микологии, 2003. - С.222-223].

Лікування алергічних захворювань, у тому числі і різних форм АР, як вказує офіційний документ ВООЗ (1997), включає 4 основні напрямки: 1) освіту хворих; 2) елімінаційну терапію; 3) фармакотерапію; 4) специфічну імунотерапію (CIT) алергенами.

Елімінаційна терапія передбачає повне видалення грибів із оточення хворого та із його організму за допомогою в тому числі і протигрибкової (фунгіцидної) терапії. Ефективність фунгіцидної терапії головним чином обумовлює ефективність всього терапевтичного комплексу, який призначають хворим на АР, тому оцінка ефективності такої терапії є важливою задачею практичної охорони здоров'я.

Останнього часу в біології та медицині для цього широко застосовують біосенсиори, що мають високу чутливість, специфічність, швидкість та потребують мікродоз досліджуваного матеріалу [Пат. №48134, Україна, МПК: G01N33/15, C12Q1/04, C12M1/34. Спосіб біосенсорної індикації цитотоксичних факторів біологічної і хімічної природи / Клімова О.М., Божков В.В., Бойко В.В., Кордон Т.І., Дроздова Л.А., Лавінська О.В., ДУ "Інститут загальної та невідкладної хірургії АМНУ" - 3. №u200908958; заявл. 28.08.2009; опубл. 10.03.2010, Бюл. №5].

Даний спосіб оцінки ефективності терапії є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю та результатом, який може бути досягнутим, тому його обрано за прототип.

В основу корисної моделі покладено задачу оцінки ефективності фунгіцидної терапії хворих на цілорічний алергічний риніт (ЦАР).

Задачу, яку покладено в основу корисної моделі, вирішують тим, що у відомому способі оцінки ефективності терапії хворих, що включає визначення цитотоксичних сироваткових компонентів крові в присутності одноклітинної водорості *Dunaliella viridis* з наступним визначенням індексу цитотоксичності, згідно з корисною моделлю, фунгіцидну терапію хворих на цілорічний алергічний риніт оцінюють як ефективну при зниженні індексу цитотоксичності в клітинній тест-системі *Dunaliella viridis* по відношенню до попе-

редніх значень на 11% та більше, при неефективній терапії призначення протигрибкового препарату продовжують.

Технічний ефект корисної моделі, а саме можливість оцінки ефективності лікування, обумовлений тим, що індивідуалізують термін лікування, що підвищує цінність фунгіцидної терапії хворих на хронічний ЦАР.

Спосіб виконують наступним чином.

Для оцінки ефективності фунгіцидної терапії у хворих на ЦАР визначають цитотоксичні сироваткові компоненти крові в присутності одноклітинної водорості *Dunaliella viridis*. Визначають індекс цитотоксичності. Фунгіцидну терапію оцінюють як ефективну при зниженні індексу цитотоксичності в клітинній тест-системі *Dunaliella viridis* по відношенню до попередніх значень на 11%. та більше При неефективній терапії призначення протигрибкового препарату продовжують.

Кількісні та якісні ознаки способу визначені експериментально.

Було обстежено 103 хворих з діагнозом цілорічний алергічний риніт із грибовою сенсibiliзацією.

Клінічний діагноз виставлявся на підставі скарг і анамнезу, даних спеціального оториноларингологічного обстеження, рутинного лабораторного й інструментального обстеження, а також результатів алергологічного (прик-тести на побутові і внутрішньошкірні проби на грибові алергени різних серій, мазки-відбитки з порожнини носа на еозинофіли), імунологічного і біохімічного обстеження. Крім того, вивчалася транспортна функція миготливого епітелію порожнини носа і вимірюлося рН носового секрету, проводилися імунологічні дослідження, лімфоцитотоксичність, білкові фракції в сироватці крові, дослідження вмісту цитотоксичних сироваткових компонентів. Для діагностики і лікування хворих на ЦАР використовували вітчизняні алергени виробництва Вінницького підприємства «Імунолог», зареєстровані на Україні.

Слід також зазначити, що в групі відбиралися тільки ті хворі, у яких з порожнини носа висівали плісняві гриби.

Усі хворі були розділені на дві клінічні групи. Хворі першої групи одержували фунгіцидну терапію, а хворі другої групи її не одержували.

Метою експерименту було дослідження вмісту цитотоксичних сироваткових компонентів у хворих із хронічним ринітом, що одержували різне комплексне лікування, за допомогою клітинної тест-системи, основою якої є одноклітинна водорість *Dunaliella viridis*. Зміну концентрації цитотоксичних факторів у сироватці крові реєстрували за індексом цитотоксичності, що залежить від морфології клітин біосенсора і його функціональних властивостей (табл.).

Таблиця

Зміна концентрації цитотоксичних факторів у сироватці крові хворих із цілорічним алергічним хронічним ринітом, що одержували різне комплексне лікування.

	Дослідження	Морфологія клітин біосенсора		Функціональні властивості біосенсора			Індекс цитотоксичності
		% округл.	% овальн.	% рухливих	% нерухливих	% перехідних	
I група	1 дослідження	48,8±1,9	51,2±1,9	47,6±3,7	45,7±3,1	6,7±1,3	1,8±0,02
	Через 17 тижнів після лікування	41,3±1,3	58,7±1,3	56,3±2,8	36,1±3,4	8,3±1,3	1,6±0,02
	Через 1 рік після лікування	13,8±2,2	86,2±2,2	76,0±4,2	20,8±3,7	3,8±1,2	1,2±0,03
II група	1 дослідження	48,5±1,9	51,5±1,9	48,6±3,2	44,8±3,4	6,6±1,5	1,9±0,02
	Через 17 тижнів після лікування	34,8±1,9	65,2±1,9	60,1±2,0	31,2±1,6	9,2±1,5	1,4±0,02
	Через 1 рік після лікування	30,9±1,7	68,3±1,9	64,2±2,2	29,4±1,6	7,5±1,1	1,4±0,02

В момент першого обстеження у хворих другої групи індекс цитотоксичності трохи перевищував такий у хворих першої групи, обстежених у ці ж терміни. У результаті лікування в обох групах виявили зниження цитотоксичності в клітинній тест-системі *Dunaliella viridis* (D.v.).

У хворих першої групи на фоні фунгіцидної терапії цитотоксичність була більш високою, чим у хворих другої групи в ранній термін після лікування - через 17 тижнів - індекс цитотоксичності склав 1,6, а в хворих другої групи - 1,4 відповідно. У віддалений термін після лікування - через один рік - цитотоксичність у хворих першої групи була вірогідно нижче вихідних значень і значень цього показника в хворих другої групи.

Як відомо, максимальний негативний ефект середовищних факторів виявляється в тому, що в біосенсорній культурі відбувається трансформація клітин зі зміною морфологічних і функціональних властивостей, що виражається в утворенні значної кількості округлих і/чи нерухомих клітин, а іноді приводить до агрегації - утворенню пальмел. Що стосується структури, морфології і функціональних змін клітинного біосенсора D.v., то ці показники в обох групах у різний термін обстеження змінювалися неоднозначно. При інкубації клітинної тест-системи із сироваткою крові пацієнтів першої і другої груп до лікування близько 48% клітин D.v. змінювали форму з овальної на округлу, при цьому кількість нерухомих клітин склала близько 45 %. Такі цифри свідчать про високий вміст у досліджуваному матеріалі різних цитотоксичних факторів.

При першому обстеженні після лікування в сироватці крові другої групи кількість округлих клітин зменшилося до 34,8% при тому, що в першій групі пацієнтів даний показник зменшився незначно і склав 41,3%. Такий ефект може бути обумовлений застосуванням у першій групі фунгіцидного препарату, що підсилює цитотоксичність сироватки.

Дослідження цитотоксичних властивостей сироватки хворих хронічним ринітом у віддаленому періоді виявило зворотну тенденцію: у першій групі хворих, що одержували фунгіцидну терапію, встановлене позитивне зниження відсотка округлих клітин до 13,8% при вихідному 48,8%, при тому, що в другій групі пацієнтів даний показник вірогідно не змінився і склав 30,9%. Що стосується

функціональних властивостей клітин тест-системи D.v., то в першій групі пацієнтів кількість нерухомих і перехідних форм у загальній сумі склало 24,6%, що на 21,1% нижче, ніж при первинному дослідженні і на 12% нижче, ніж сумарна кількість клітин зі зміненими функціональними властивостями в другій групі у віддалений період після лікування. При цьому в другій групі хворих дані показники вірогідно не відрізнялися від показників, отриманих у ранній термін обстеження.

Спосіб ілюструють наступні приклади.

Приклад 1.

Хвора Е., надійшла зі скаргами на постійне порушення носового дихання, приступи чхання, сверблячку в носі, погіршення нюху, головний біль. Страждає алергічним ринітом більше 5 років.

Об'єктивно в порожнині носа - слизувате відокремлюване, слизова оболонка гіперемована з ціанотичним відтінком, з набряком. У мазках з носа на еозинофіли - 15% еозинофілів. Сахаринова проба - 37 хвилин, рН носового секрету 8.1. При виконанні прик-тестів і внутрішньошкірних алергологічних тест-визначалася сенсibiliзація до алергену з гриба *Aspergillus mixt.* (серія F-As-1) і побутових алергенів серії 025-4/1, Мітч. Вміст імуноглобулінів G-12,3 і E-169,7МО/мл відповідно. Показники рівня циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) - 184,1у.о., пептидів середньої молекулярної маси (ПСМ) -0,314 у.о., лімфоцитотоксичність - 44,5%. Індекс цитотоксичності 1,8.

Після встановлення діагнозу (цілорічний алергічний риніт із грибковою сенсibiliзацією) хвора одержувала наступне лікування: специфічна імунотерапія (CIT) ін'єкціями суміші побутових алергенів протягом 16,5 тижнів, антигістамінний препарат лоратадин по 1 таблетці 1 раз у добу і препарат із групи кромонів - кромогексал у виді 2% спрею. Також призначався протигрибковий препарат інтракон (інтраконазол) по 1 таблетці (100 мг) 1 раз у добу протягом 15 днів.

Контроль результатів лікування проводився після закінчення CIT і через рік після закінчення CIT.

По закінченні CIT у хворої мало місце значне поліпшення. Це виявлялося у прояві захворювання й у результатах об'єктивного дослідження (значно покращилося носове дихання, не турбують

приступи чхання, сверблячка в носі, значно відновився нюх, головний біль не турбує. Об'єктивно в порожнині носа - відокремлюваного немає, набряк слизової оболонки порожнини носа регресував). У мазках з носа на еозинофіли - 7,1% . Сахарінова проба - 16 хвилин. Показники прик-тестів і внутрішньошкірних алергологічних тестів практично не змінилися. Позитивна тенденція спостерігалася й в імунологічних показниках. Вміст імуноглобулінів G - 13,3 і E - 110,7МО/мл. Індекс цитотоксичності - 1,6.

Через рік після закінчення СІТ вищевикладене поліпшення виявилось досить стійким. Хвора відзначала практично вільне носове дихання, не турбували приступи чхання, сверблячка в носі, нюх збережений, головний біль не турбував. Об'єктивно в порожнині носа - знову з'явився набряк слизової оболонки порожнини носа. У мазках з носа на еозинофіли -10% еозинофілів. Сахарінова проба - 25 хвилин. Показники прик-тестів і внутрішньошкірних алергологічних тестів практично не змінилися. Позитивна тенденція спостерігалася й в імунологічних показниках. Вміст імуноглобулінів G - 13,1 і E - 109,2МО/мл. Індекс цитотоксичності 1,4.

#### Приклад 2.

Хвора М., надійшла в лікарню зі скаргами на постійне порушення носового дихання, приступи чхання, сверблячку в носі, погіршення нюху, головний біль. Об'єктивно в порожнині носа - слизувате відокремлюване, слизова оболонка гіперемована з ціанотичним відтінком, з набряком. З анамнезу відомо, що страждає алергічним ринітом більше 5 років.

У мазках з носа на еозинофіли - 19,6% еозинофілів. Сахарінова проба - 32 хвилини, рН носового секрету 8,1. При виконанні прик-тестів і внутрішньошкірних алергологічних тестів визначалася сенсibilізація до алергену з гриба *Aspergillus mixt.* (серія F-As-1) і побутових алергенів 027-3/1. Вміст імуноглобулінів G - 12,4 і E - 170,2МО/мл. Показники ЦІК - 194,1у.о., ПСМ - 0,316у.о., лімфоцитотоксичність - 44,5%. Індекс цитотоксичності 1,8.

Після встановлення діагнозу (цілорічний алергічний риніт із грибковою сенсibilізацією) хворій призначено курс специфічної імунотерапії ін'єкціями суміші побутових алергенів протягом 16,5 тижнів, антигістамінний препарат лоратадин по 1 таблетці 1 раз у добу і препарат із групи кромонів - кромогексал у виді 2% спрею, також був призначений протигрибковий препарат інтракон (інтракона-

зол) по 1 таблетці (100мг) 1 раз у добу протягом 30 днів.

Ефективність лікування оцінювалася перерахованими вище клінічними і додатковими методами дослідження на наступних етапах: перед лікуванням, по закінченні СІТ і через рік після закінчення СІТ. Також варто відзначити, що по закінченні СІТ у хворої М. мало місце поліпшення. Це виявлялося у прояві захворювання й у результатах об'єктивного дослідження (значно покращилося носове дихання, не турбують приступи чхання, сверблячка в носі, значно відновився нюх, головний біль не турбує. Об'єктивно в порожнині носа - відокремлюваного немає, набряк слизової оболонки порожнини носа регресував). У мазках з носа на еозинофіли -7,4% еозинофілів. Сахарінова проба - 21 хвилини. Показники прик-тестів і внутрішньошкірних алергологічних тестів практично не змінилися. Позитивна тенденція спостерігалася й в імунологічних показниках. Вміст імуноглобулінів G - 13,2 і E - 107,2МО/мл. Індекс цитотоксичності 1,6.

Через рік після закінчення СІТ дане поліпшення виявилось більш стійким. Вищевикладені показники практично не змінилися. Хвора відзначала практично вільне носове дихання, не турбують приступи чхання, сверблячка в носі, нюх збережений, головний біль не турбує. Об'єктивно в порожнині носа - відокремлюваного немає, набряк слизової оболонки порожнини носа регресував). У мазках з носа на еозинофіли - 7,3% еозинофілів. Сахарінова проба - 22 хвилини. Показники прик-тестів і внутрішньошкірних алергологічних тестів практично не змінилися. Позитивна тенденція спостерігалася й в імунологічних показниках. Вміст імуноглобулінів G - 13,3 і E - 109,2МО/мл. Індекс цитотоксичності 1,2.

Таким чином, в момент першого обстеження в обох хворих індекс цитотоксичності перевищував гранично допустимі значення. У результаті лікування в обох хворих виявили зниження цитотоксичності в клітинній тест-системі D.v. до 1.6. У віддалений термін після лікування - через один рік - цитотоксичність в обох хворих вірогідно знизилася. Однак у хворої М., у якої проводилася протигрибкова терапія 30 днів, індекс став нижче - 1,2, чим у хворої Е - 1,4.

Отримані результати свідчать про ефективність протигрибкової терапії як елімінаційного компонента комплексного лікування пацієнтів, що страждають ЦАР.