

## **Оценка информативности биоиндикационных методов у больных с круглогодичным аллергическим ринитом**

**Н.А.Юревич**

Харьковский национальный медицинский университет (ректор — профессор В.М.Лисовой)  
Харьков, Украина

---

С целью оценки информативности биоиндикационного метода определения цитотоксичности крови обследован 41 пациент с круглогодичным аллергическим ринитом с сенсibilизацией к грибковым аллергенам. Больные были разделены на две группы — контрольную и основную. Больные основной группы дополнительно получали противогрибковый препарат. На различных этапах лечения изучали цитотоксичность крови с помощью биосенсорной клеточной тест-системы на основе водоросли *Dunaliella viridis*; для определения информативности данного метода исследовали уровень циркулирующих иммунных комплексов, концентрацию протеинов средней молекулярной массы и содержание аутоиммунных антител. Показана тесная корреляционная зависимость между индексом цитотоксичности и другими показателями. Результаты исследования позволяют рекомендовать биоиндикационный метод для широкого применения при необходимости определения уровня цитотоксичности крови.

**Ключевые слова:** круглогодичный аллергический ринит, грибковая сенсibilизация, биоиндикационные методы.

---

### **Введение**

Многие патологические процессы в организме сопровождаются накоплением в крови цитотоксических соединений, которые в той или иной степени нарушают работу системы регуляции гомеостаза и поэтому требуют серьезного контроля за их уровнем [1, 2]. Определение уровня цитотоксичности сыворотки крови тем или иным способом позволяет оценить не только степень эндогенной интоксикации, но и эффективность проводимых лечебных мероприятий.

Одним из состояний, где данный контроль необходим, является аллергический ринит (АР), актуальность изучения которого связана с его социально-экономической значимостью для медицины и общества в целом. Кроме того важность данной проблемы обусловлена тем, что одним из этиологических факторов АР является сенсibilизация к грибковым аллергенам. Этому способствует постоянно нарастающая урбанизация, в результате которой 95% времени человек пребывает в помещениях, обсемененных примерно 250 видами плесневых грибов, способных не только оказывать токсическое воздействие и вызывать развитие микозов, но и провоцировать аллергические реакции [3, 4].

Одним из направлений лечения аллергических заболеваний, в том числе и разных форм АР, является элиминация аллергенов [13]. Смысл элиминационных мероприятий заключается в полном удалении плесневых грибов из окружения больного. По нашему мнению, этого нельзя достичь без удаления грибов из организма пациента, то есть без противогрибковой терапии. Контроль ее эффективности осуществляется, в частности, с помощью определения уровня цитотоксичности сыворотки крови тем или иным способом.

Одним из перспективных методов определения цитотоксических факторов в биологических жидкостях (например, в крови) является биоиндикационный метод, основанный на оценке специфической ответной реакции биосенсорной системы (биосенсора) при ее контакте с изучаемой жидкостью. Биосенсоры могут рассматриваться как универсальные регистраторы цитотоксических соединений различной природы [10]. Немаловажным является и тот факт, что биоиндикационные методики не требуют большого количества времени для выполнения и не столь дорогостоящи, как многие стандартные методы исследования уровня цитотоксичности [1, 5, 6].

В качестве биосенсорной системы можно использовать водоросли [8, 12], изменения свойств которых под влиянием цитотоксических факторов (изменение формы, размеров клетки, потеря подвижности, направления движения, утрата жгутиков) и используются в биоиндикационных методиках [9].

Целью работы явилась оценка информативности биоиндикационного метода определения цитотоксичности крови у больных с круглогодичным аллергическим ринитом с сенсибилизацией к грибковым аллергенам (КАР с СБГА).

### Материалы и методы исследования

Обследован 41 пациент (17 мужчин и 24 женщины) в возрасте  $34,9 \pm 12,2$  года (от 18 до 68 лет) с диагнозом КАР с СБГА, поставленным на основании клинического и аллергологического обследования (внутрикожные пробы на различные грибковые аллергены, прик-тесты на ряд бытовых аллергенов, исследование общего IgE). У всех обследованных больных из полости носа выделены грибы рода *Aspergillus* и зарегистрированы положительные кожные пробы на грибковые и бытовые аллергены.

Обследованные больные были разделены на две группы: контрольная — 19 пациентов, основная — 22 пациента. Исходные изучаемые показатели у больных обеих групп не имели достоверных различий. Всем больным проведено следующее лечение: антигистаминный препарат лоратадин по 1 таблетке (10 мг) 1 раз в сутки 15 дней, препарат из группы кромонов — кромогексал в виде 2% назального спрея (по 4 инсуффляции в сутки) 15 дней и специфическая иммунотерапия (СИТ) бытовыми аллергенами в течение 17 недель. Больные основной группы дополнительно получали противогрибковый препарат интракон по 1 таблетке (100 мг) 1 раз в сутки в течение 15 дней.

Исследование проводилось в три этапа: до начала терапии, по окончании комплексного лечения и СИТ (т.е. через 17 недель от начала лечения), через год после окончания терапии. На этих этапах цитотоксичность крови изучали с помощью биосенсорной клеточной тест-системы на основе водоросли *Dunaliella viridis* (D.v.). Для определения информативности данного метода дополнительно исследовали уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), концентрацию протеинов средней молекулярной массы (ПСМ) и содержание аутоиммунных антител по тесту на лимфоцитотоксичность (ЛЦТ) (классический метод Терасаки).

В результате негативного воздействия цитотоксических агентов на клетки биосенсорной системы изменялись их свойства: овальные в норме клетки биосенсора становились округлыми, они теряли подвижность и обнаруживали тенденцию к агрегации — образованию пальмел. После количественного учета этих изменений рассчитывали индекс цитотоксичности сыворотки ( $I_{\text{цс}}$ ):  $I_{\text{цс}} = K_{\text{цс}} / K_{\text{сп}}$ , где  $K_{\text{цс}}$  — коэффициент цитотоксичности сыворотки (определяется при инкубации биосенсора в сыворотке крови больного),  $K_{\text{сп}}$  — коэффициент спонтанной цитотоксичности (определяется при инкубации биосенсора в физиологическом растворе NaCl).  $K_{\text{цс}}$  и  $K_{\text{сп}}$  рассчитывались следующим образом:  $K_{\text{сп}} = (M_{\text{к}} + \Phi_{\text{к}} + A_{\text{к}}) / 3$ , где  $M_{\text{к}}$  — процент клеток с измененной формой при инкубации в физиологическом растворе,  $\Phi_{\text{к}}$  — процент клеток с измененными функциональными свойствами при инкубации в физиологическом растворе,  $A_{\text{к}}$  — процент агрегационных клеток при инкубации в физиологическом растворе;  $K_{\text{цс}} = (M_{\text{с}} + \Phi_{\text{с}} + A_{\text{с}}) / 3 - K_{\text{сп}} * 1 / K_{\text{сп}}$ , где  $M_{\text{с}}$  — процент клеток с измененной формой при инкубации в сыворотке крови пациента,  $\Phi_{\text{с}}$  — процент клеток с измененными функциональными свойствами при инкубации в сыворотке крови пациента,  $A_{\text{с}}$  — процент агрегационных клеток при инкубации в сыворотке крови пациента.

Если индекс цитотоксичности сыворотки превышал 1,0, то это расценивали как наличие в сыворотке крови компонентов с разной степенью цитотоксичности. В противном случае считали, что сыворотка крови не содержит цитотоксических компонентов [7, 11].

Содержание ЦИК в сыворотке крови оценивали спектрофотометрически после инкубации образцов в боратном буфере и ПЭГ при комнатной температуре. При инкубации происходит преципитация ЦИК на ПЭГ, что сказывалось на изменении оптической плотности образцов. Измерение оптической плотности проводилось спектрофотометрически на СФ-46 (Россия, ЛОМО) при длине волны  $\lambda = 450$  нм против боратного буфера.

Для определения концентрации ПСМ сыворотку крови обрабатывали раствором ТХУ, надосадочную жидкость освобождали от грубодисперсных белков, после предварительного разведения дистиллированной водой детекцию осуществляли спектрофотометрированием. По величине оптической плотности судили о содержании пептидов средней молекулярной массы. Оптическую плотность образцов измеряли на спектрофотометре СФ-46 при  $\lambda = 254$  нм

**Изменения концентрации цитотоксических факторов в сыворотке крови и иммунологических показателей у больных с хроническим аллергическим ринитом, получивших различное комплексное лечение**

Группа	Этап исследования	И <sub>цс</sub>	ЦИК	ПСМ	ЛЦТ
Контрольная	До лечения	1,85±0,04	175±29 r <sub>ицс</sub> =0,66	0,303±0,027 r <sub>ицс</sub> =0,63	40,9±9,0 r <sub>ицс</sub> =0,59
	После лечения	1,44±0,04	146±31 r <sub>ицс</sub> =0,53	0,309±0,021 r <sub>ицс</sub> =0,57	43,5±11,1 r <sub>ицс</sub> =0,59
	Через 1 год после лечения	1,44±0,03	175±39 r <sub>ицс</sub> =0,78	0,309±0,028 r <sub>ицс</sub> =0,70	48,1±8,4 r <sub>ицс</sub> =0,69
Основная	До лечения	1,85±0,06	189±35 r <sub>ицс</sub> =0,77	0,319±0,028 r <sub>ицс</sub> =0,78	44,7±8,4 r <sub>ицс</sub> =0,72
	После лечения	1,60±0,04	128±39 r <sub>ицс</sub> =0,77	0,288±0,021 r <sub>ицс</sub> =0,77	35,8±11,1 r <sub>ицс</sub> =0,73
	Через 1 год после лечения	1,22±0,08	114±26 r <sub>ицс</sub> =0,71	0,274±0,031 r <sub>ицс</sub> =0,69	34,5±7,8 r <sub>ицс</sub> =0,71

(дейтериевая лампа) относительно дистиллированной воды.

Для определения уровня ЛЦТ использовали лейкоцитарную взвесь, которую готовили из гепаринизированной крови, и инкубировали ее с гомологичной сывороткой крови при 37°C в течение 30 минут. Для образования комплекса «антиген — комплемент — антитело» по каплям вносили комплемент. После инкубации при 37°C в течение 15 минут к взвеси добавляли краситель эозин, окрашивая клетки с поврежденной полученным комплексом клеточной мембраной. Препараты окрашивали метиленовым синим, инкубировали 30 минут при 37°C и подсчитывали количество живых и мертвых клеток по дифференциальному окрашиванию эозином. Об уровне аутоиммунных антител судили по процентному соотношению живых и мертвых клеток. Нормальный уровень ЛЦТ лежит в пределах 10-30%.

### Результаты исследования и их обсуждение

Изменения концентрации цитотоксических факторов в сыворотке крови и иммунологических показателей у больных с хроническим аллергическим ринитом представлены в табл. 1.

По окончании курса лечения в контрольной группе И<sub>цс</sub> снизился до 1,44±0,04, а в основной — только до 1,60±0,04 (p<0,05). Такой эффект, вероятнее всего, мог быть обусловлен применением в основной группе фунгицидного препарата, усиливающего цитотоксичность сыворотки. Остальные исследованные показатели в основной группе достоверно снизились (табл.

1), что является одним из проявлений положительного влияния противогрибкового компонента терапии. В контрольной группе отмечено только достоверное снижение ЦИК, тогда как ПСМ и ЛЦТ имели тенденцию к росту.

Через год после лечения в основной группе произошло значительное снижение И<sub>цс</sub> — до 1,22±0,08, в то время как в контрольной только до 1,44±0,03 (p<0,05). Остальные исследованные показатели в основной группе также достоверно и значительно снизились: ЦИК — до 114±26 ед.Е, ПСМ — до 0,274±0,031 у.е., ЛЦТ — до 34,5%. В контрольной же группе И<sub>цс</sub> остался на уровне предыдущего этапа (1,44±0,03), уровень ЦИК вернулся к исходному (175±39 ед.Е), а уровень ЛЦТ даже достоверно превысил исходный (48,1±8,4%). Как и на предыдущих этапах исследования, между И<sub>цс</sub>, с одной стороны, и ЦИК, ПСМ и ЛЦТ, с другой, отмечена тесная связь (r=0,69-0,71).

### Выводы

1. Применение фунгицидной терапии при лечении больных с круглогодичным аллергическим ринитом на фоне сенсibilизации к бытовым и грибковым аллергенам приводит к значительному стойкому и достоверному снижению цитотоксических свойств сыворотки крови, оцениваемых с помощью биосенсорной тест-системы на основе водоросли *Dunaliella viridis*.

2. Результаты, полученные с помощью биосенсорной тест-системы на основе водоросли *Dunaliella viridis*, хорошо коррелируют с уровнем циркулирующих иммунных комплексов, протеинов средней молекулярной массы и со-

держанием аутоиммунных антител. В то же время использование биосенсорной тест-системы на основе водоросли *Dunaliella viridis* не требует длительного времени для выполнения и не столь дорогостояще, как другие стандар-

тные методы исследования уровня цитотоксичности. Это позволяет рекомендовать этот биоиндикационный метод для широкого применения при необходимости определить уровень цитотоксичности крови.

## Литература

1. Божков А.И. Использование водорослей в качестве клеточного биосенсора при оценке патологических состояний организма / А.И.Божков, Н.Г.Мензянова, Е.М.Климова // Горизонты биофизики. От теории к практике / Под. ред. Г.Р.Иваницкого. — Пушино: Институт теоретической и экспериментальной биофизики, 2003. — С. 66-69.
2. Використання діагностичних клітинних біосенсорів при невідкладних хірургічних станах / О.М.Клімова, А.І.Божков, В.В.Бойко, Л.А.Дроздов // Биотехнология, биотехника, пищевая технология. — 2006. — №1. — С. 105-109.
3. Дедикова И.В. Аналитический обзор литературы по проблеме аллергического ринита, вызванного эпидермальными аллергенами // Ринология. — 2006. — №2. — С. 69-71.
4. Зайков С.В. Алергічний риніт та бронхіальна астма — загальна проблема оториноларингології та алергології // С.В.Зайков, Б.М.Пухлик, І.В.Корицька // Ринология. — 2002. — №4. — С. 21-24.
5. Ласточкина П.Е. Исследование токсичности белковых препаратов методом биоиндикации // П.Е.Ласточкина, В.А.Суркина // Экология. — 1993. — №3. — С. 23-29.
6. Новые возможности выявления цитотоксических сывороточных факторов с помощью клеточных биосенсоров у больных с неотложными хирургическими заболеваниями // В.В.Бойко, Е.М.Климова, А.И.Божков, Ю.В.Дмитриев, Д.И.Александрова / Материалы XXI съезда хирургов Украины. — Т. 2. — Запорожье. — 2005. — С. 440-443.
7. Оцінка сумарних цитотоксичних факторів за зміною імунологічних показників та фізіологічного відгуку клітинного біосенсору // О.М.Клімова, А.І.Божков, Т.І.Кордон, О.В.Лавінська // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. — 2010. — Вип. 27. — С. 1-6.
8. Пономаренко С.П. Экспресс-оценка эффективности биологически активных веществ на тест-культурах // С.П.Пономаренко, Т.В.Пармикова // Альгология. — 2001. — №4. — С. 495-501.
9. Процес діагностики і прогнозу клінічного перебігу патологічного процесу: Патент UA №19128 / О.М.Клімова, А.І.Божков, В.В.Бойко. — Зареєстр. 24.02.2006. — 8 с.
10. Спосіб біосенсорної індикації цитотоксичних факторів біологічної і хімічної природи: Патент UA №08958, G01N33/15, C12Q1/04, C12M1/34 / О.М.Клімова, В.В.Божков, В.В.Бойко, Т.І.Кордон, Л.А.Дроздова, О.В.Лавінська. — Зареєстр. 28.08.2009.
11. Спосіб визначення цитотоксичності лікарських засобів: Патент на корисну модель застосування UA №10145 / В.В.Козарь, В.В.Полторац, А.І.Божков, О.М.Клімова. — Зареєстр. 06.08.2008. — 6 с.
12. Тернер Э. Биосенсоры. Основы и приложения // Э.Тернер, И.Карубе, Дж.Уилсон. — М.: Мир, 1992. — 616 с.
13. Федоскова Т.Г., Ильина Н.И. Аллергические заболевания в клинической практике // Рус. мед. журн. — 2005. — Т. 13 (15). — С. 1022-1030.

**Н.О.Юревич. Оцінка інформативності біоіндикаційних методів у хворих із цілорічним алергічним ринітом. Харків, Україна.**

**Ключові слова:** цілорічний алергічний риніт, грибкова сенсibilізація, біоіндикаційні методи.

З метою визначення інформативності біоіндикаційного методу визначення цитотоксичності крові обстежено 41 хворого з цілорічним алергічним ринітом із сенсibilізацією до грибкових алергенів. Хворі розділені на дві групи — контрольну та основну. Хворі основної групи додатково отримували протигрибковий препарат. На різних етапах лікування вивчали цитотоксичність крові за допомогою біосенсорної клітинної тест-системи на основі водорості *Dunaliella viridis*; для визначення інформативності даного методу досліджували рівень циркулюючих імунних комплексів, концентрацію протеїнів середньої молекулярної маси та зміст аутоімунних антитіл. Показано, що між індексом цитотоксичності та іншими показниками спостерігався тісний кореляційний зв'язок. Результати дослідження дозволяють рекомендувати біоіндикаційний метод для широкого використання при необхідності визначення рівня цитотоксичності крові.

**N.A.Yurevich. Evaluation of informative bioindikatsionnyh methods in patients with allergic rhinitis. Kharkiv, Ukraine.**

**Key words:** allergic rhinitis, fungal sensibilisation, bioindicative methods.

To evaluate the informativeness of bioindicative method in determination of cytotoxicity of blood in patients with perennial allergic rhinitis with sensitization to fungal allergens the study was done on 41 patients. Patients were divided into 2 groups: control, basic. Study group received additionally an antifungal drug. At various stages of treatment stud-

## КЛІНІЧНИЙ ВИПАДОК

ied the cytotoxicity of blood using biosensor cell test systems based on algae *Dunaliella viridis*; to determine the informativeness of the method investigated the level of circulating immune complexes, protein concentration of medium molecular weight and content of autoimmune antibodies.

It was shown, that close correlation was observed between the index of cytotoxicity and other investigated parameters in. The study results recommend bioindicative method for wide application if necessary, determine the level of cytotoxicity of blood.

Надійшла до редакції 24.10.2010 р.

© Український журнал екстремальної медицини імені Г.О.Можасва, 2010  
УДК 616 — 089 — 059: 616 — 005.1 — 08[ 616 — 001.31]

# Случай успешного лечения массивного внутрибрюшного кровотечения

А.С.Соколов, С.В.Кириченко, Д.Е.Якунин

Луганский государственный медицинский университет, кафедра анестезиологии, интенсивной терапии и экстренной медицинской помощи (заведующий — доцент Ю.И.Налапко),  
Луганская городская многопрофильная клиническая больница №3 (главный врач — С.Н.Жук)  
Луганск, Украина

---

В статье представлен опыт лечения геморрагического шока IV степени у пациента с внутриабдоминальным кровотечением. Показано, что четкое соблюдение протокола ведения данной категории пациентов является залогом успешной терапии и позитивного исхода.

**Ключевые слова:** геморрагический шок, внутриабдоминальное кровотечение, разрыв селезенки.

---

## Введение

Проблема своевременной объективной диагностики при внутрибрюшных кровотечениях остается чрезвычайно актуальной. Среди паренхиматозных органов брюшной полости селезенка является наиболее травмируемым органом, а соответственно — наиболее вероятной причиной внутриабдоминального кровотечения. Частота изолированного повреждения селезенки отмечается у 15-20% поступающих в стационар с подозрением на повреждение паренхиматозных органов [1, 2]. Несмотря на появление сравнительно новых визуализирующих технологий (компьютерная томография, ультразвуковая диагностика), оценка локальных изменений при травме селезенки до сегодняшнего времени остается трудной практической задачей. Данные о чувствительности клинических и специальных методов оценки травмы селезенки весьма вариабельны [2].

Выделяют одномоментный и двухмоментный разрывы селезенки. При одномоментном разрыве с самого начала имеется дефект капсулы селезенки, и в этом случае на первое мес-

то выступают симптомы внутреннего кровотечения большей или меньшей интенсивности. При двухмоментном разрыве вначале образуется подкапсульная гематома без нарушения целостности капсулы, и лишь спустя некоторое время (от нескольких дней до нескольких недель) под влиянием даже незначительной физической нагрузки возникает разрыв капсулы селезенки с опорожнением гематомы в брюшную полость и развитием внутреннего кровотечения. Такой механизм разрыва селезенки при ее закрытом повреждении наблюдают почти у 15% пострадавших [1, 3]. В этом случае диагноз в неотложной хирургии может представлять определенные трудности. Важная роль принадлежит тщательно собранному анамнезу, данным клинического и лабораторного обследований. В диагностическом отношении наиболее ценными методами исследования являются экстренная лапароскопия или лапароцентез с использованием «шарящего» катетера.

Кровотечения при разрывах селезенки носят массивный характер, сопровождаются геморрагическим шоком III-IV степени. Летальность