

Оригинално проучване

Патентована смес от пѣдпѣдѣчи яйца за намаляване на силата на назалната провокация със стандартизирано въздействие от алергени: рандомизирано, двойно-сляпо, плацебо-контролирано проучване

Annie-Claude Benichou¹, Marion Armanet¹, Anthony Bussière², Nathalie Chevreau³, Jean-Michel Cardot⁴ & Jan Tѣtard²

¹Stragen Services SAS, Lyon, France

²Stragen Pharma SA, Geneva, Switzerland

³Chevreau Consulting LLC, Salt Lake City, Utah

⁴Universitѣ d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Ключови думи

Алергени пренасяни по въздуха, алергични ринити, хранителна добавка, пѣдпѣдѣчи яйца, рандомизирано двойносляпо клинично проучване, Sniztop

Контакти

Marion Armanet, Stragen Services, 52 rue de la Rѣpublique, 69002 Лион, Франция.

Тел: +33 4 78 42 95 26; Fax: +33 4 78 42 55 71;

E-mail: medaffairs@stragen.com

Информация за финансиране

Проучването е финансирано от спонсора, Stragen Pharma SA.

Получено: 4 март 2014;

Преработено: 11 юни 2014;

Прието: 12 юни 2014

doi: 10.1002/fsn3.147

Кратък преглед

Все повече зачестяват случаите на случайни симптоми на ринит, причинени от излагане на замърсяване или алергени. Въз основа първо на емпиричните наблюдения за по-редките прояви на алергии при фермерите, отглеждащи пѣдпѣдѣчи, и след това на научните трудове за свойствата на овомукоидите, ние разработихме хранителна добавка за облекчаване на такива случайни симптоми на ринит. Целта на проучването е да се определи дали една еднократна орална доза от изследвания продукт отслабва назалната провокация и другите симптоми, свързани с алергичен процес, след излагане на стандартизирано въздействие от алергени, в сравнение с плацебо. Наети са здрави индивиди за участие в рандомизирано, двойно-сляпо, кръстосано рандомизирано, плацебо-контролирано клинично изпитване. На участниците се дава еднократна доза или от активния продукт на проучването (патентована смес от пѣдпѣдѣчи яйца) или плацебо, едновременно със стандартизирано въздействие от алергени. Първичният показател за оценяване е измерване на пиковия назален инспираторен поток (PNIF), а вторичният показател за оценяване е начина, по който участниците оценяват благосъстоянието си на базата на резултатите от Визуална Аналогова Скала (Visual Analog Scale - VAS) за симптоми на алергия, както и количеството на имуноглобулин Е. В протоколния анализ са били включени и оценени четирийсет и три здрави участници. Постепенното увеличаване на PNIF от изходното ниво до Време 120 отразява нормалното, постепенно възстановяване от назална обструкция, предизвикана от въздействието на алергени, както при активната, така и при плацебо групата. На всички етапи след въздействието от алергени, при активната група се наблюдават по-високи стойности на PNIF в сравнение с плацебо групата, което показва, че активният продукт се свързва с по-малко симптоми и намаляване на интензивността на тези симптоми. Активният продукт също така води до статистически значимо подобрение на повечето от възприятията на хората за благосъстоянието им въз основа на резултатите от VAS. Не са наблюдавани нежелани странични ефекти, настъпили по време на проучването. В заключение, хранителната добавка, състояща се от патентована смес изработена от пѣдпѣдѣчи яйца, дава възможност за бързо и ефикасно облекчаване на алергичните симптоми на ринит, причинен от най-разпространените алергени от дома и от външната среда, без нежелани странични ефекти.

Въведение

Поддържането на здравето на дихателната система е едно от най-големите предизвикателства, пред които сме изправени днес, с продължаващото

излагане на замърсяване от промишлени и автомобилни газове, цигарен дим и алергени от дома и от външната среда. Групите, които са особено уязвими са тези, които развиват свръхчувствителност

© 2014 Stragen Pharma S.A. Food Science & Nutrition публикувано от Wiley Periodicals, Inc. Това е статия със свободен достѣп при условията на Creative Commons Attribution License, което позволява използване, разпространение и възпроизвеждане на всякакъв носител, при условие, че оригиналното проучване е правилно цитирано.

към алергени от растителен или животински произход, като полени от дървета, треви и плевели, косми и пърхот от домашни любимци и домашни акари. (Ring et al. 2012; Asthma and Allergy Foundation of America 2010). При тези индивиди, излагането предизвиква временно възпаление на лигавицата на носа, което причинява различна степен на дискомфорт. Симптомите се характеризират с епизодична назална обструкция, ринорея, кихане и/или сърбеж с или без участието на очната лигавица (Bousquet et al. 2008). Тези алергични реакции временно намаляват качеството на живот, като ограничават възможността за участие в социални дейности, а често налагат и използването на противоалергични продукти.

Симптомите на алергичен ринит са резултат главно от имуноглобулин Е (IgE)-медиран временен имунен отговор срещу причинители от околната среда. При индивиди с чувствителна имунна система, алерген специфичните IgE антитела, произведени в отговор на алергени от околната среда, се свързват с мембраните на мастоцитите и базофилите (Bousquet et al. 2008). Последващо излагане на същите алергени причинява кръстосано свързване (омрежване) на свързаните IgE от тези алергени, което активира мастоцитите и базофилите и води до клетъчна дегранулация и временно освобождаване на проинфламаторни медиатори, включително хистамин. Този каскаден път е отговорен за моменталните симптоми, които могат да започнат в рамките на няколко минути след излагането на алергена (Calderon et al. 2007).

В началото на 70-те години на XX век, един френски общо практикуващ лекар е забелязал, че земеделските производители, които отглеждали пъдпъдъци (*Coturnix coturnix*) са имали по-малко симптоми на алергии, отколкото населението като цяло в същата област. Той давал сурови пъдпъдъчи яйца на своите алергични пациенти, включително деца и възрастни, и наблюдавал намаляването на техните симптоми (Truffier 1978). След това, това откритие е било изследвано при няколко клинични изпитвания при хора, извършени от по-голяма група лекари под ръководството на високо уважавания френски алерголог д-р G. Bruttmann. При тези проучвания лица, страдащи от алергии към алергени от дома и от външната среда, са получавали таблетки от прах от пъдпъдъчи яйца или плацебо. Резултатите от тези изпитвания показват, че консумацията на прах от пъдпъдъчи яйца води до облекчаване на симптомите при тези участници, с добра поносимост към приложения продукт (Bruttmann 1995). През 2012 година от Prelipcean (Teuşan) et al. е описано, че в състава на пъдпъдъчните яйца има около 68% вода, 12% протеини, включително овомукоиди, 10% мазнини, 8% минерали и 2 % въглехидрати. След това е извършено ин витро изследване за определяне на основните биологично активни

вещества и съответния им механизъм на действие. Тези изследвания предполагат, че протеиновите фракции, съдържащи се в пъдпъдъчните яйца, включително овомукоиди и овоинхибитори, действат като серин протеазни инхибитори (Feeney et al. 1969; Takahashi et al. 1994; Vergnaud и Bruttmann 2007).

Определени алергени от дома и от външната среда, като полени, плесени, животински пърхот и домашен прах, съдържат протеазни ензими. Когато те бъдат вдишани и влязат в директен контакт с ендотела на носната кухина, тези протеазни ензими могат да увредят тъканите и да предизвикат временен IgE-медиран алергичен възпалителен отговор (Widmer и Whittaker 2000). Чрез инхибиране на протеазите, биологично активните вещества от пъдпъдъчните яйца смекчават епизодичните симптоми на алергични реакции.

Освен това, токсикологичните изследвания, включително еднократно и многократно приложение при плъхове, както и ин витро проучванията, показват добра поносимост на продукта от хомогенат от пъдпъдъчи яйца, без мутагенни или генотоксични ефекти (Bruttmann 1995). Следователно, целта на това проучване е да се определи дали патентованата хранителна добавка на основа пъдпъдъчи яйца, приета еднократно от здрави индивиди, ще облекчи или намали физическите симптоми на алергия при излагане на комбинация от често срещани алергени от дома и от околната среда.

Материали и методи

Това проучване е проведено в съответствие с Хелзинкската Декларация и препоръките за добра клинична практика (ICH-GCP). Проучването е одобрено от IntegReview Ethical Review Board. Проучването е проведено от 20 юни 2013 до 26 октомври 2013 в клиничен център в Северна Америка (Калифорния).

Участници

Участниците в проучването са набрани чрез методика за набиране онлайн или от бази данни. Участниците са записани за проучването, ако са отговаряли на следните критерии: здрави доброволци на възраст между 18 и 60 години; периодично получаващи симптоми на алергичен ринит, при които не се е налагало ежедневно приемане на противоалергични лекствени продукти; изходни стойности на пиковия назален инспираторен поток (PNIF) по-големи от 100 L/min (средно от три отчитания) и със спад в PNIF >30 L/min след илагане на алергени; оценени от участниците в проучването като лица в добро общо здраве въз основа на тяхната медицинска история. Критериите за включване, отнасящи се до изходната стойност на PNIF и спадането на PNIF след излагане на алергени, са създадени за да се избегнат хора, които вече имат нисък PNIF на изходния етап на проучването поради съпътстващо заболяване, и хора,

които не развиват симптоми вследствие на въздействие на алергени. Минималната стойност от 100 L/min на изходния етап е определена в съответствие с резултатите от Ottaviano et al. (2006), а диапазонът на спад на PNIF се основава на работата на Scadding et al. (2012). Основните критерии за изключване включват хронични заболявания, сърдечни заболявания, респираторни заболявания или нарушения на дихателните пътища, хронична употреба на антихистамини (повече от три пъти на седмица) и известна чувствителност към съставките на продукта. Всички участници са подписали формуляр за информирано съгласие.

Дизайн на проучването

Това проучване е рандомизирано, двойно-сляпо, кръстосано рандомизирано, плацебо-контролирано клинично изпитване. Участниците получават или една перорална доза от патентованата хранителна добавка на основа пълнозърнени яйца (PBQE) или изглеждащо по същия начин плацебо, веднага след прилагане на въздействие от алергени. Първичната променлива е PNIF като показател за назална конгестия. Вторичните променливи са оценяване на симптомите на носа и очите с помощта на 100-mm Визуална Аналогова Скала (Visual Analog Scale - VAS) и общо количество на IgE в кръвта.

Проучването се състои от три посещения, между които има поне 7 дни: Посещение 1 (Скринингово посещение) на Ден -7, Посещение 2 (ТЕСТ 1) на Ден 0 и Посещение 3 (ТЕСТ 2 – последно посещение за проучването) на Ден 7 (Фиг. 1).

Изисква се една седмица на изчистване от каквито и да било антихистамини и/или противоалергични продукти за всички участници между посещенията.

Посещение 1 включва записването на демографски данни, медицинска история, предишни и съпътстващи медикаменти, както и физически преглед, жизнени показатели, антропометрични мерки, протокол за излагане на антигени, проба от урина при жените (за провеждане на тестове за бременност), измерване преди излагане на алергени и след това многократни измервания на PNIF през 1 час, самооценка на симптомите на участниците чрез оценяване на VAS на същите етапи от време,

което е - преди излагане на алергени и Време = 10 (10 минути след излагане на алергени), Време = 20, Време = 30, Време = 45 и Време = 60.

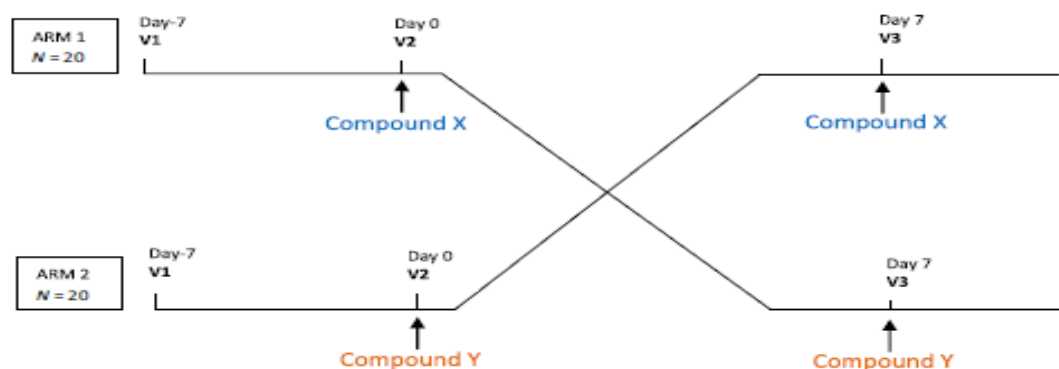
За Посещения 2 и 3, участниците пристигат в клиниката, след като са гладували поне 6 часа. Посещения 2 и 3 включват записване на междувременно появила се медицинска история и съпътстваща история на приеманите медикаменти, оценка на жизнените показатели, дозиране на продукта на проучването, измерване на PNIF преди излагане и след това многократно след излагане на алергени в рамките на 2 часа (Време = 0, Време = 15, Време = 30, Време = 60, Време = 90 и Време = 120 минути), както и самооценка на участниците за техните симптоми чрез оценяване на VAS на същите периоди от време. Лабораторните изследвания, проведени при Посещение 2, включват измерване на общото количество IgE в серума, пълна кръвна картина (ПКК), както и взета кръв преди излагането на антигени и при Време = 120 min. Лабораторните изследвания, проведени при Посещение 3, включват ПКК, както и взета кръв преди излагането на антигени и при Време = 120 минути.

Изследователят има възможност да осигури 50 mg Бенадрил (дифенхидрамин) като животоспасяващо лекарство за участниците, ако е необходимо. При недостиг или липса на това животоспасяващо лекарство, не е позволено провеждането на процедури, свързана с назална обструкция или алергия, докато участникът участва в изследването.

Обработване на проучването

Продуктите за изследването са дъвчащи таблетки с активно вещество или плацебо. Таблетката с активно вещество съдържа патентована смес, направена от пълнозърнени яйца от *C. coturnix* (PBQE) и съответстващите им плацебо таблетки, съдържащи сорбитол. Както активните (SniZtop), така и плацебо таблетките са осигурени от спонсора на проучването (Stragen Pharma SA, Женева, Швейцария). PBQE се произвежда в съответствие със стандартите за качество, изисквани за производството на хранителни добавки, и се контролира, включително съдържанието на протеини и овомукоиди, с цел да се осигури окончателното качество на продукта.

Фигура 1. Алгоритъм на проучването с кръстосан дизайн.



Участниците са инструктирани бавно да сдъвчат две таблетки, след като са били изложени на въздействието на алергени. На включените участници са дадени рандомизирани номера за определяне на последователността на приложение на продукта при проучването. В съответствие със слепия кръстосан дизайн, участниците получават или две таблетки с активно вещество, съпътствано от въздействие на алергени, при Посещение 2 и две таблетки с плацебо при Посещение 3, или обратното, което свежда до минимум риска от ефект на инерция.

Процедури

Протокол за излагане на антигени

Избрано е назално въздействие с алергени, за да се възпроизведат алергичните симптоми на ринит, както преди това е било изследвано от Scadding et al. (2012). При всяко посещение, участниците са били изложени на въздействие от алергени, състоящо се от две впръсквания във всяка ноздра на стандартизирана доза от 10,000 BAU/mL (BAU, биоеквивалентна алергична единица) на комбинация от следните аерозолирани антигени, определяни в световен мащаб като алергени (доставчик: HollisterStier Allergy, Спокейн, Вашингтон): дървесни полени (микс от *Quercus rubra*, *Quercus virginiana*, *Quercus alba*; микс от *Betula papyrifera*, *Betula nigra*, *Betula alba*; *Juniperus ashei*; *Carya pecan* [illinoensis]); полени от треви (*Cynodon dactylon*, *Poa pratensis*, *Festuca elatior* [pratensis], *Sorghum halepense*, *Lolium perenne*); акари, котешки пърхот и кучешки пърхот. В нашето изследване, дозата от алергени е зададена на 10,000 BAU/mL въз основа на проучването на Scadding et al., при което тази доза от алергени води до значителен спад в средната стойност на PNIF.

Пиков назален инспираторен поток

Измервателят на PNIF е въведен през 1980 година от Youlten. Той представлява маска за лице, която се прилага върху носа на участника. Когато участникът вдишва, като държи устата си затворена, има показалец, който показва свързания назален инспираторен поток. PNIF е призната за обективна, възпроизводима мярка за носната проходимост (Ottaviano et al. 2006). Ottaviano et al. (2006) съобщават за средни стойности на PNIF от около 120–140 L/min при здрави индивиди на възраст между 16 и 84 години. В нашето изследване, при всяко посещение се извършва обективна оценка на назалните симптоми и отговора към алергени чрез измерване на PNIF с помощта на PNIF измервател, който преставлява пластмасова маска за лице, свързана с пластмасова тръба. Маската е оформена така, че да бъде удобна за лицето и е подобна на маската за обдишване, която се прилага на лицето по време на упойка. Участниците са помолени да издишат, след това да поставят маската върху носа и устата си и след това да затворят устата си и да вдишат рязко през носа. След това маската се сваля от лицето и се измерва скалата на тръбата чрез количествено определяне на движението, което е

настъпило по време на вдишването. Цялата процедура трае по малко от 30 секунди. При участниците се измерва PNIF преди излагане на алергени и след това на няколко етапа във времето след въздействие от алергени. Тъй като изглежда, че PNIF стойностите са свързани с опит при практикуване на процедурата (Ottaviano et al. 2006), участниците първо са помолени да извършат два теста за обучение с PNIF устройството, преди излагането на алергени. След излагането на алергени са извършени три последователни измервания на PNIF и след това са записани на всеки определен етап от време; записаната стойност на даден етап от време отговаря на средната стойност на тези три измервания. Важно е да се отбележи, че преди започване на каквито и да било измервания, участниците трябва да се аклиматизират в стаята за 1 час, което осигурява очистване от алергени от околната среда.

Самооценка на симптомите на ринит

При всяко посещение, в началото и след въздействието на алергени, се оценяват симптомите на носа и очите на всеки участник, който класира симптомите си на базата на VAS. Симптомите включват сърбеж в носа, сърбеж в очите, хрема, запушване на носа, съзене на очите и кихане и се оценяват по 100-mm VAS, като 0 означава никакви симптоми, а 100 означава екстремно силни симптоми. Оценяването на VAS е признато за уместен метод за оценка на тежестта на ринит (Bousquet et al. 2007).

Статистически анализ

Размерът на пробата се изчисляват на базата на основния параметър, PNIF, използвайки резултатите от изследователно проучване, проведено при седем завършени обекти. Критерият, който се взема предвид за изчисляване на броя на участниците, е средната стойност, изчислена за период от 120 минути след прилагане на алергена на база наблюдаваното подобрение на PNIF. Въз основа на този анализ, са необходими 34 двойки участници с $a = 0.05$ и $b = 0.2$ (т.е. мощност 80%). Като се има предвид ставката на отпадане от ~20%, е предвидено в проучването да вземат участие 40 оценени доброволци ($n = 40$).

Резултатите от PNIF и назалните симптоми според VAS се анализират с помощта на общи линейни модели. За цялостния анализ, факторите, които се вземат предвид, са участника, продукта, посещението и етапите от време, както и съответните взаимодействия между факторите. Извършен е ретроспективен анализ (коригиран t-test за разлика) с помощта на най-малкия квадрат и вероятността, оценена на база на различията на време 9 на взаимодействието на продукта. За анализа етап по етап факторите, които са взети предвид, са участника, продукта и посещението.

Освен това, е извършен тест Friedman (непараметричен подход) на резултатите от PNIF за

потвърждаване на съгласуваността на резултатите, както посредством параметрични, така и посредством непараметрични подходи.

Проведено е тестване на хипотезите за ефективността на крайните точки по време на изследването посредством грешка Тип I $\alpha = 0.05$.

Резултати

Популация

Отсяти са 94 здрави индивиди, от които 46 са се провалили при отсяването, а 48 са включени и произволно са насочени за лечение. От тези 48 участници, 43 са завършили проучването, докато пет от участниците са присъствали само на първите две посещения и след това е загубена връзка с тях и е било невъзможно да бъдат проследени. Средната възраст е била 32 години, в диапазон от 20 до 58 години; 52% от участниците са мъже, а 48% са жени. За всеки участник са записани и семейното положение и етническата принадлежност. Основните причини за дисквалификация са били критериите за подбор. Основанията за предсрочно прекратяване включват загуба на възможност за проследяване ($n = 4$) и прекратяване на проучването по искане на участника, без проблеми с безопасността ($n = 1$). Двама от участниците са разгледани като гранични по отношение на критериите за включване, един с BMI = 35.39 и един с изходно ниво на PNIF = 93.33 L/min; независимо от това, тези участници са били включени след индивидуален преглед от страна на специалистите, провеждащи проучването, и са разгледани в настоящия анализ.

Проведен е анализ (per protocol - PP) за оценка на параметрите за ефикасност на проучването. Всички участници, които са отговорили на изискванията на протокола ($n = 43$), тоест всички доброволци, с изключение на тези със "статут на предсрочно прекратяване" са включени в анализа.

Също така е съставена PP подгрупа, изключваща участници 1077, 1083, 1065, и 1066, които са проявили екстремно поведение. Изследователят определя тези участници в своя преглед като свързани със стойности, които не са в съответствие с очакваната посока на промяна, въпреки това, че те отговарят на всички критерии за прием. Този втори набор от данни е от $n = 39$.

PNIF резултати

PNIF се използва за оценка на проходимостта на носа, свързана с възпалителни и обструктивни причини. Проведени са три измервания на всеки времеви етап и е анализирана средната стойност от тези три стойности.

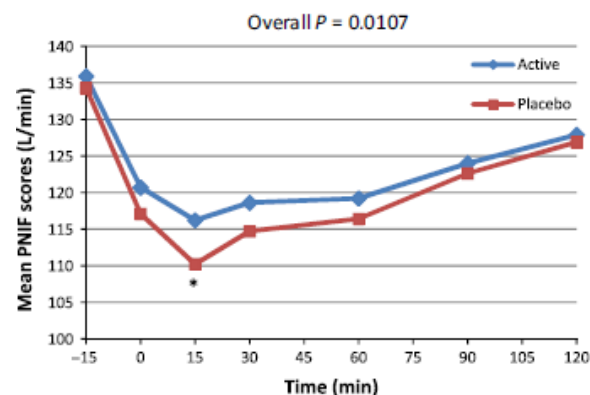
PP анализът ($n = 43$) показват, че и двете групи (приемащи активно вещество и плацебо) имат значителен спад в стойностите на PNIF, свързано с еднократно въздействие от алергени, последвано от постепенно увеличаване на PNIF от началния етап до Време 120, което отразява нормалното, постепенно възстановяване от назалната обструкция, предизвикана от въздействието на алергените. На

всички времеви етапи след излагането на алергени, активната група има по-високи стойности на PNIF в сравнение с плацебо групата, което показва, че активният продукт се свързва с по-малко симптоми и намален интензитет на тези симптоми.

Активната група и плацебо групата имат най-голяма разлика в стойностите на PNIF на Време 15 (116.16 към 110.16, съответно) след излагането на алергени, което демонстрира бързия отговор, свързан с приемането на активния продукт, с незабавно намаляване на симптомите, индуцирани от алергените (Фиг. 2 и Таблица 1). И при двете групи се наблюдава прогресивно връщане към изходните стойности на PNIF през следващите 120 минути.

При PP подгрупата ($n = 39$) са наблюдавани подобни резултати, с най-голяма разлика в стойностите на PNIF между активната група и плацебо групата при Време 15 (112.09 към 105.81) (Фиг. 3).

При PP анализа настъпва значителна разлика в PNIF за периода 0-120 минути след въздействието от алергени ($P = 0.0107$). Общите средни стойности са 121.7 към 117.6 за активната и плацебо групата, съответно. Многократното ретроспективно сравнение показва тенденция към статистически значима разлика на етапа Време 15 минути ($P = 0.0620$). Непараметричният подход показва статистически значима разлика за периода 0-120 минути ($P = 0.0410$). При разглеждане на данните етап по етап, статистически значима разлика настъпва при 15 минути ($P = 0.0235$).



Фигура 2. Средна стойност на пиковия назален инспираторен поток (PNIF) за активната група и плацебо групата в зависимост от времето в минути за $n = 43$ (популация по протокол). *Пределна значимост на етап 15 минути, $P = 0.0620$ (ретроспективен анализ).

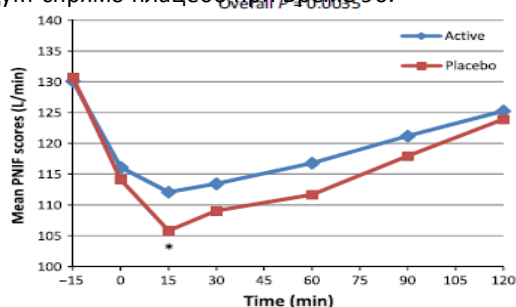
Провежда се вторичен анализ на промяната спрямо изходното ниво (прогресията срещу изходните коригирани параметри) за всички етапи ($\text{PNIF}(t) - \text{PNIF}(\text{Pre}) / \text{PNIF}(\text{Pre}) \times 100$ (Таблица 2 и Фиг. 4). При прогресията срещу изходните коригирани параметри се наблюдава значителна цялостна разлика ($P = 0.0051$) с тенденция към статистически значима разлика на Време 15 минути ($P = 0.0602$). Проведен е непараметричен анализ, който показва подобни резултати. Както е показано на Фигура 4, когато се разглеждат разликите в стойностите на PNIF спрямо изходното ниво, се наблюдава подобрение от 27.7%

на етап 15 минути след излагане на алергени при участниците, приемащи активния продукт спрямо плацебо, и подобрене от 23.8% за активния продукт на Време 90 спрямо плацебо.

PNIF	Product	N	Mean (L/min)	SD (L/min)	SEM (L/min)
Preallergen exposure	Active	43	135.93	44.189	6.739
	Placebo	43	134.26	38.523	5.875
Time 0	Active	43	120.74	38.275	5.837
	Placebo	43	117.13	36.237	5.526
Time 15	Active	43	116.16	36.311	5.537
	Placebo	43	110.16	36.592	5.580
Time 30	Active	43	118.57	41.440	6.320
	Placebo	43	114.65	41.913	6.392
Time 60	Active	43	119.19	36.040	5.496
	Placebo	43	116.40	42.559	6.490
Time 90	Active	43	123.95	36.308	5.537
	Placebo	43	122.64	42.883	6.540
Time 120	Active	42	127.86	40.100	6.188
	Placebo	42	126.90	41.17	6.355

Таблица 1. Пиков назален инспираторен поток (PNIF) – сравнение между активно вещество и плацебо.

Подобни анализи са извършени при PP подгрупата от $n = 39$. По отношение на стойностите на PNIF, консумацията на активния продукт води до значително подобрене дишане през носа в сравнение с плацебо ($P = 0.0035$). Изводът от ретроспективното сравнение показва тенденция към статистически значима разлика при Време 15 минути ($P = 0.0556$). При разглеждане на данните етап по етап, настъпва статистически значима разлика на 15 минути ($P = 0.0290$). Непараметричният анализ показва подобни резултати. При прогресирането в сравнение с изходните коригирани параметри се наблюдава цялостна разлика ($P = 0.0002$) със статистически значими разлики при Време 15 и 60 минути ($P = 0.0271$ и 0.0287 , съответно) и тенденция към статистически значима разлика при време 30 ($P = 0.0533$). При разглеждане на данните етап по етап, се наблюдава разлика основно на етапи 15 минути ($P = 0.0261$) и 60 минути ($P = 0.0582$). Извършен е непараметричен анализ, който показва подобни резултати (Таблица 2 и Фиг. 5). При разглеждане на разликите в стойностите на PNIF спрямо изходните стойности, изразени като процент от изходните стойности, при Време 15 минути след излагане на алергени, прилагането на активния продукт води до подобрене от 31.8% в сравнение с плацебо. Също така се наблюдава подобрене от 36.5% за активния продукт спрямо плацебо при Време 90.



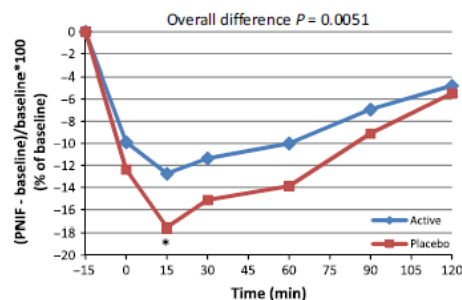
Фигура 2. Средна стойност на пиковия назален инспираторен поток (PNIF) за активната група и плацебо групата в зависимост от времето в минути за $n = 39$ (популация по протокол). *Пределна значимост на етап 15 минути, $P = 0.0556$ (ретроспективен анализ).

VAS резултати

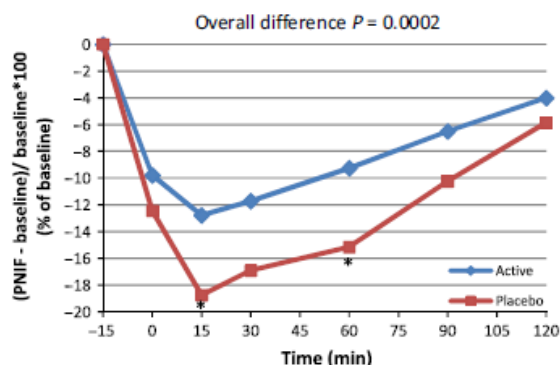
Приемането на активния продукт води до значителни подобрения спрямо плацебо при участниците, които оценяват усещанията за благосъстоянието си на база на субективните VAS резултати за следните алергични симптоми: назална обструкция ($P = 0.0002$), ринорея ($P = 0.0001$), съзене на очите ($P = 0.029$), сърбеж в очите ($P = 0.006$) и сърбеж в носа ($P = 0.009$). Не са открити статистически значими разлики по отношение на кихането ($P = 0.5340$) (Таблица 3 и Фиг. 6).

(PNIF – baseline)/ baseline × 100	Product	N	Mean (% of baseline)	SD (% of baseline)	SEM (% of baseline)
Preallergen exposure	Active	39	0.00	0.00	0.00
	Placebo	39	0.00	0.00	0.00
Time 0	Active	39	-9.79	13.03	2.09
	Placebo	39	-12.44	12.03	1.93
Time 15	Active	39	-12.79	17.19	2.75
	Placebo	39	-18.75	13.02	2.08
Time 30	Active	39	-11.72	20.06	3.21
	Placebo	39	-16.91	13.72	2.20
Time 60	Active	39	-9.26	20.19	3.23
	Placebo	39	-15.15	14.20	2.27
Time 90	Active	39	-6.51	16.45	2.63
	Placebo	39	-10.25	14.90	2.39
Time 120	Active	39	-4.01	14.96	2.40
	Placebo	39	-5.85	16.41	2.63
Preallergen exposure	Active	43	0.00	0.00	0.00
	Placebo	43	0.00	0.00	0.00
Time 0	Active	43	-9.89	13.26	2.02
	Placebo	43	-12.37	12.06	1.84
Time 15	Active	43	-12.75	17.75	2.71
	Placebo	43	-17.62	14.05	2.14
Time 30	Active	43	-11.36	20.19	3.08
	Placebo	43	-15.14	14.46	2.20
Time 60	Active	43	-10.01	20.72	3.16
	Placebo	43	-13.89	14.72	2.24
Time 90	Active	43	-6.93	18.30	2.79
	Placebo	43	-9.10	15.77	2.40
Time 120	Active	43	-4.78	16.51	2.52
	Placebo	43	-5.47	17.51	2.67

Таблица 2. Пиков назален инспираторен поток (PNIF) – сравнение между активно вещество и плацебо по отношение на отклоненията спрямо изходните стойности.



Фигура 4. Средно отклонение на пиковия назален инспираторен поток (PNIF) от изходните стойности: $(\text{PNIF}(t) - \text{PNIF}(\text{pre}))/\text{PNIF}(\text{Pre}) \times 100$ за активната и плацебо групите според времето в минути за $n = 43$ (популация по протокол).



Фигура 5. Средно отклонение на пиковия назален инспираторен поток (PNIF) от изходната стойност: $(PNIF(t) - PNIF(Pre))/PNIF(Pre) \times 100$ за активната и плацебо групите според времето в минути за $n = 39$ (подгрупа по протокол). *Значима разлика при време 15 и 60 минути, $P = 0.0271$ и 0.0287 , съответно.

Резултати за общо IgE

Не е открита статистически значима разлика по отношение на общото количество IgE между активната група и плацебо групата, както преди въздействието от алергени ($P = 0.272$), така и при Време 120 минути ($P = 0.250$) (Таблица 4). Въз основа на тези резултати не изглежда, че активния продукт влияе на нивата на IgE антителата.

Медикаменти за спешна помощ

По време на хода на това проучване не се е налагало използването на противоалергични животоспасяващи медикаменти.

Поносимост

Продуктът е безопасен и се понася добре въз основа на еднократно проложение на две таблетки на посещение. По време на проучването не са настъпили никакви сериозни или несериозни нежелани събития. Жизнените показатели (кръвно налягане, сърдечна честота, телесна температура, дихателна честота) са оценявани при всяко посещение преди въздействието от алергени и прилагането на продукта, а CBC се оценява преди въздействието и при Време 120. Не са наблюдавани клинично значими изменения, както при жизнените показатели, така и при лабораторните данни при двете групи.

VAS symptoms from 0 to 120 min			Mean	SD	SEM	P
	Product	N	(no unit)	(no unit)	(no unit)	
Nasal obstruction	Active	41	17.07	16.18	2.527	0.0002
	Placebo	41	20.78	19.61	3.063	
Rhinorrhea	Active	41	8.92	14.61	2.282	0.0001
	Placebo	41	12.63	19.28	3.011	
Watery eyes	Active	41	7.13	14.15	2.210	0.029
	Placebo	41	8.9	18.7	2.920	
Itchy eyes	Active	41	7.08	13.97	2.182	0.006
	Placebo	41	9.34	18.21	2.844	
Itchy nose	Active	41	10.94	16.38	2.558	0.009
	Placebo	41	13.2	19.3	3.014	
Sneezing	Active	41	2.91	7.3	1.140	0.5340
	Placebo	41	2.62	7.91	1.235	

Таблица 3. VAS стойности - сравнение между активната група и плацебо групата.

N представлява броя на участниците, които имат пълни чифтове от времеви точки за сравнение.

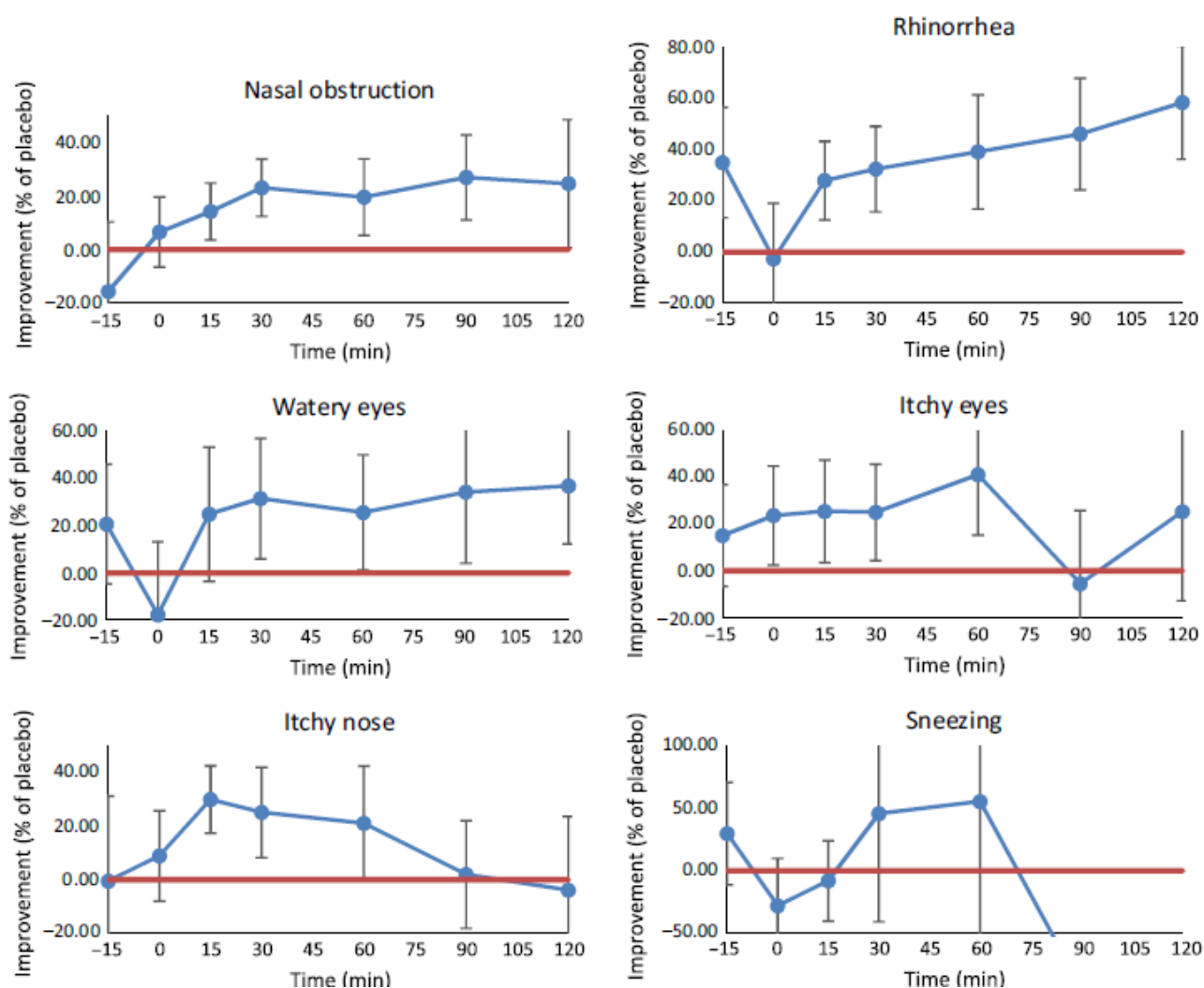
Обсъждане

В настоящото проучване е използвано стандартизирано въздействие от алергени за предизвикване на симптоми на алергичен ринит при здрави участници, с цел определяне на ефикасността и безопасността на хранителната добавка, PBQE, по отношение на смекчаването на тези симптоми. Алергичният ринит се изразява в състоянието на носната лигавица и очите, поради преходна имунна реакция, медирана от IgE антитела. Съответните епизодични симптоми включват главно ринорея, назална обструкция, сълзене и сърбеж в очите и кихане (Pawankar et al. 2012).

Определено е при това клинично изпитване да се използва силно концентриран назален алерген, състоящ се от най-разпространените алергени от дома и от външната среда. Активният продукт на проучването осигурява значително подобрене на стойностите на PNIF и свързаните алергични симптоми, започващи от Време 15 след въздействието от алергени, което илюстрира неговия бърз ефект по отношение на свързаните алергични симптоми. Важно е да се отбележи, че подобренията в обективните PNIF измервания на назалната обструкция корелират със самооценките на участниците за възприетия им относно облекчаване на симптомите. Параметричните и непараметричните анализи показват сходни резултати със засилване на наблюдаваната ефективност на активния продукт на проучването.

Това проучване показва, че активният продукт е ефективен при здрави лица, изложени на голямо количество алергени. При нормални условия на околната среда, където понякога страдащите от алергии са изложени на въздействието на алергени, епизодичните алергични симптоми могат да бъдат тежки. Когато симптомите се появяват периодично при тези условия, многократната употреба на активния продукт на проучването може да осигури дълготрайно облекчаване. Това е демонстрирано в предишни двойно-слепи, плацебо-контролирани клинични проучвания, проведени от Bruttman (1995). При тези проучвания участниците, които са били изложени на естествено срещащи се, непрекъснати въздействия от алергени, в резултат на това страдащи от целогодишни и индуцирани от полени сезонни ринити. Прилагането на хомогенат от пълнозърнени яйца при тези индивиди ежедневно за продължителен период (с продължителност няколко месеца) е довело до значително подобрене на алергичните симптоми и намаляване на необходимостта от използването на животоспасяващи медикаменти.

Резултатите от това проучване показват, че не настъпва промяна в общото количество IgE в плазмата след прием на активния продукт на проучването. Това подсилва хипотезата, че овомукоидът, който се съдържа в активния продукт, действа чрез механизъм, независим от IgE антителата, като вместо това



Фигура 6. Процент на подобрение на средните VAS резултати, свързани с активния продукт спрямо плацебо: (VASplacebo - VASactive)/VASplacebo. Всички данни над червената линия показват, че разликите между активния продукт и плацебo са значителни.

намалява каскадата от имунни отговори, които видят до алергична реакция. Това е в съответствие с хипотезата, че овомукоидите от пълпиджи яйца инхибират серин протеазите, които действат като химични посредници, участващи в алергичния отговор. Ще бъдат извършени допълнителни изследвания, за да се характеризира инхибиторното действие на PBQE срещу специфични серин протеази, които се срещат в домашния прах и поленовите зърна.

Кратък период след времето на приемане, последващо излагането на алергени, активният продукт на проучването осигурява значително затихване на алергичната реакция и бързо облекчаване на алергичните симптоми. При този естествено произведен продукт липсват основните недостатъци и неблагоприятни странични ефекти, като например сънливост. Въпреки това, активният продукт на проучването трябва да бъде противопоказан при лица, които имат алергия към яйца.

Таблица 4. Серумен IgE - сравнение между активна група и плацебо.

SERUM IgE	Product	N	Mean (IU/mL)	SD (IU/mL)	SEM (IU/mL)	P
Preallergen exposure	Active	25	224.44	465.791	93.158	0.272
	Placebo	22	305.36	487.503	103.936	
Postallergen exposure	Active	25	224.68	464.643	92.929	0.250
	Placebo	22	307.14	490.131	104.496	

Отклонението в размера на извадката се дължи на загуба и липса на данни. Изпитването за значимост се извършва с помощта на тест на Wilcoxon Mann-Whitney. N представлява броя на участниците. IU, International Unit - Международна единица.

Заклучение

Доказано е, че хранителната добавка, съдържаща патентована смес от пълпидъчи яйца, е ефективна при облекчаване на алергичните симптоми, след излагане на стандартизирано въздействие на алергени. Прилагането на една еднократна орална доза води до обективно подобрение на дишането през носа, доказано чрез измервания на PNIF, както и подобрение на други алергични симптоми, включително сърбеж в носа, сърбеж в очите, хрема, запушване на носа и сълзене на очите, самооценени от участниците по отношение на благосъстоянието им, с помощта на субективната VAS Скала за симптоми. Подобрението на алергичните симптоми се наблюдава 15 минути след приема на продукта, което показва бързодействащите свойства на този продукт. Потвърдено е, че активният продукт на проучването е безопасен и поносим, без поява на нежелани странични ефекти по време на проучването.

Благодарности

Проучването е подкрепено от спонсора, Stragen Pharma SA. Бихме искали да благодарим на Nathalie Chevreau и Jay Udani за проектирането на проучването, както и на Udani за набирането на участниците и провеждането на проучването и на Jean-Michel Cardot за извършването на статистическия анализ.

Конфликт на интереси

Anthony Bussière и Jan Tétard са наети от Stragen Pharma SA, а всички други автори са консултанти за Stragen Pharma SA.

Референции

1. Asthma and Allergy Foundation of America. 2010. Allergy facts and figures. Available at http://www.aafa.org/display.cfm?id=9&sub=30#_ftnref2 (accessed 12 February 2014).
2. Bousquet, P. J., C. Combescure, F. Neukirch, J. M. Klossek, H. Méchin, J.-P. Daures, et al. 2007. Visual analog scales can assess the severity of rhinitis graded according to ARIA guidelines. *Allergy* 62:367–372.
3. Bousquet, J., N. Khaltaev, A. A. Cruz, J. Denburg, W. J. Fokkens, A. Togias, et al. 2008. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration

- with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy* 63(Suppl. 86):8–160.4. Bruttman, G. 1995. "Ovix" Quail egg homogenate: a clinical evaluation. *La Medicina Biologica*. 2:25–29.
5. Calderon, M. A., B. Alves, M. Jacobson, B. Hurwitz, A. Sheikh, and S. Durham. 2007. Allergen injection immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. *Cochrane Database of Syst. Rev. Issue 1:Art. No.: CD001936*.
 6. Feeney, R. E., G. E. Means, and J. C. Bigler. 1969. Inhibition of human trypsin, plasmin, and thrombin by naturally occurring inhibitors of proteolytic enzymes. *J. Biol. Chem.* 244:1957–1960.
 7. Ottaviano, G., G. K. Scadding, S. Coles, and V. J. Lund. 2006. Peak nasal inspiratory flow; normal range in adult population. *Rhinologys* 44:32–35.
 8. Pawankar, R., C. Bunnag, N. Khaltaev, and J. Bousquet. 2012. Allergic rhinitis and its impact on asthma in Asia pacific and the ARIA update 2008. *World Allergy Organ J.* 5(Suppl. 3):S212–S217.
 9. Prelipcean (Teușan), A., A. Prelipcean, and V. Teușan. 2012. Investigations on the structure, chemical composition and calorificity of the quail eggs, deposited at the plateau phase of the laying period. *Lucrări Științifice – Seria Zootehnie* 57:113–120.
 10. Ring, J., C. Akdis, H. Behrendt, R. P. Lauener, G. Schäppi, M. Akdis, et al. 2012. Davos declaration: allergy as a global problem. *Allergy* 67:141–143.
 11. Scadding, G. W., M. A. Calderon, V. Bellido, G. K. Koed, N.-C. Nielsen, K. Lund, et al. 2012. Optimisation of grass pollen nasal allergen challenge for assessment of clinical and immunological outcomes. *J. Immunol. Methods* 384:25–32.
 12. Takahashi, K., S. Kitao, M. Tashiro, T. Asao, and M. Kanamori. 1994. Inhibitory specificity against various trypsin and stability of ovomucoid from Japanese quail egg white. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* 40:593–601.
 13. Truffier, J. C. 1978. Approche thérapeutique de la maladie allergique par ingestion d'oeufs de caille. *La Clinique* 22:2–4.
 14. Vergnaud, S., and G. Bruttman. 2007. Effetto inibitorio dell'ovomucoide di uovo di quaglia gaipponese sull'attività. *La Medicina Biologica* 2:5–13.
 15. Widmer, Hayes, and Kumar Whittaker. 2000. Substrate preference profiles of proteases released by allergenic pollens. *Clin. Exp. Allergy* 30:571–576.