



УДК

МОЖЛИВОСТІ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ІНФЛЮЦИДУ ДЛЯ КЛАСИЧНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ ГРВІ

С.О. МОКІЯ-СЕРБИНА¹, Т.К. МАВРОПУЛО¹, Н.В. МОЛОЧЕК², Н.В. ВАСИЛЕНКО¹, В.В. ЧЕЧЕЛЬ¹¹Дніпропетровська державна медична академія.²Медичний інститут УАНМ, м. Київ

Резюме. Представлены сведения о роли в противовирусной защите НК-клеток, морфологическим гомологом которых являются большие гранулярные лимфоциты (БГЛ). Показано, что превентивное применение Инфлюцида в период сезонного подъема заболеваемости респираторными инфекциями разрешает на протяжении трех месяцев значительно снизить ОРВИ у детей, посещающих дошкольные учреждения. Особое внимание уделено изучению влияния Инфлюцида в профилактическом режиме дозирования на морфологические показатели БГЛ. Выявлены изменения размеров БГЛ и их ядер, формы лимфоцитов, характера и окраски цитоплазмы, количества гранул в цитоплазме, их окраски, характера зернистости и расположения, которые опосредованно указывают на снижение цитотоксической активности НК-клеток.

Ключевые слова: НК-клетки, БГЛ, Инфлюцид, ОРВИ.

ГОСТРІ респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ) є найпоширенішими захворюваннями, що складають майже 90% усієї інфекційної патології у дітей. Особливо схильні до ГРВІ діти, які відвідують дитячі дошкільні заклади [4].

При цьому значний вплив на розвиток респіраторних інфекцій має фізіологічна незрілість імунної системи, фактори, що сприяють її послабленню (несприятливі анте- та перинатальні фактори, забруднення навколишнього середовища, паління батьків, а надто матері) та рання соціалізація.

Рання стадія інфекції, як правило, полягає у протиборстві вірусу із захисними системами організму-власника. Основна мета макроорганізму – не допустити вторгнення інфекції та ефективно захищатися від неї, якщо вторгнення все ж відбулося [1].

Найперший захисний бар'єр – це запобігання упродовженню вірусів у кожні покриви та слизові оболонки організму. У разі порушення їхньої цілісності у дію вступають механізми екстреного неспецифічного захисту (тобто природженого імунітету) – НК-клітини (натуральні кіллери), інтерферони і макрофаги.

У плода НК-клітини з'являються на 8-му тижні гестації, випереджаючи при цьому появу Т- і В-клітин. НК-клітини походять з гемопоетичної стовбурової клітини і дозрівають у кістковому мозку. Основними регуляторами перетворення стовбурових клітин кісткового мозку в функціонально активні НК-клітини є ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-5, α -ІФ і β -ІФ, що мають позитивний вплив на дозрівання цих клітин [20, 30].

НК-клітини – це CD_3^- (тобто ті, що не містять Т-клітинного рецептора), на мембрані яких експресовані CD_{56} та CD_{16} -антигени. Існує ще невеликий (близько 5%) субклас цитотоксичних Т-

лімфоцитів (CD_3^+ й CD_8^+ клітини) та природних кіллерних Т-лімфоцитів (CD_3^+ , CD_{16}^+ , CD_{56}^+) [18]. За кількістю CD_{56} і CD_{16} НК-клітини поділяють на дві функціонально різні популяції. Близько 90% клітин мають слабок вираження експресії молекул CD_{56} , але дуже добре експресують молекулу CD_{16} ($CD_{56}^+/-CD_{16}^+$). Це ефекторні цитотоксичні клітини. Менша частина НК-клітин (до 10%) добре експресують CD_{56} , утім не мають молекул CD_{16} (CD_{56}^+ , CD_{16}^-). Ці клітини продукують гамма-інтерферони, пухлиноне-критизуючий фактор, гранулоцитарно-моноцитарний колоніестимулюючий фактор та є імуно-регуляторними.

Доведено, що великі гранулярні лімфоцити (ВГЛ) – це морфологічний гомолог НК-клітин (характерна морфологічна будова НК-клітин – це ВГЛ). ВГЛ виглядають як крупні 9–15 мкм широкоплазмені лімфоцити з низьким ядерно-цитоплазматичним співвідношенням. Ядра розташовані ексцентрично, почасти вони увігнуті. У цитоплазмі на периферії знаходиться значна кількість везикул і вакуолей. Найхарактернішою рисою для ВГЛ є наявність в їхній цитоплазмі азурофільних гранул. Кількість та розмір азурофільних гранул у клітині відрізняється [6, 7]. Деякі автори вважають, що типові ВГЛ повинні містити у цитоплазмі не менше трьох гранул [36]. Іншим важливим компонентом ВГЛ є особливі субмікроскопічні утворення, що отримали назву паралельно-трубчастих структур (ПТС). Не виключено, що ПТС і гранули – різноманітні стадії дозрівання та диференціювання одного і того ж органіду або морфологічна ознака певного функціонального стану клітини [15].

Цитоплазматичні гранули відіграють головну роль у механізмах кілінгу. У цих гранулах, що

відносяться до первинних мезосомів, виявляється значна активність кислоти фосфатази та інших гідролітичних ферментів (арилсульфатази нафтилацетатестерази), а також глікопротеїнів [14, 19]. Під час хімічного дослідження ізольованих гранул було виявлено особливі цитолітичні протеїни, здатні утворювати пори в клітинах-мішенях – перфорин і цитолізін. У гранулах ВГЛ розкривається також серинова протеаза – фермент, що бере участь у механізмах утворення пороутворюючого комплексу [37, 38]. До білків, що містяться у ВГЛ і беруть участь у кілінгу, відносять також фактор некрозу пухлин і розчинний НК-цитотоксичний фактор [35].

Відомо, що НК-активність визначається морфологічними особливостями ВГЛ. Про підвищення функціональної (цитотоксичної) активності свідчить збільшення розмірів клітин, що вправно контрастує велике ядро, збільшення розмірів цитоплазми. При цьому цитоплазма характеризується збільшенням кількості та розмірів азурофільних гранул з аморфним вмістом і везикул [14, 16]. Про зниження НК-активності судять, в основному, за зменшенням кількості і розмірів гранул, їхнім рівномірним розташуванням у цитоплазмі, деструкцією гранул і заміщенням їх вакуолями [8, 9, 24].

Натуральні кіллери контролюють поверхню усіх соматичних клітин. Соматичні клітини мають на своїй поверхні молекули МНС-білків, що блокують смертоносну дію НК-клітин. Як наслідок вірусної інфекції виникає зниження концентрації молекул МНС. Виявивши таку соматичну клітину, природний кіллер вбиває її. НК-клітини можуть практично негайно дати відповідь на сторонні подразники. Час прояву активності (період розвитку цитолітичної реакції) – 3–6 годин [26–29].

Відповідно НК-клітини створюють «першу лінію захисту», що запобігає розвитку вірусних захворювань.

Якщо вірусу вдається подолати бар'єри природженого імунітету, він викликає розвиток адаптивної (специфічної) імунної відповіді з появою цитотоксичних Т-клітин, хелперних Т-клітин і противірусних антитіл. Антитіла слугують головною перешкодою для поширення віруса в інші клітини [1]. При цьому НК-клітини здатні здійснювати імунорегулюючу дію, адже вони секретують високоефективні цитокіни – ІЛ-1, ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-10, α - та γ -ІФ [13, 22, 25, 33, 34].

НК-клітини здатні індукувати синтез імуноглобулінів тільки у попередньо стимульованих В-лімфоцитах [24]. При цьому їхній імунорегулюючий вплив на синтез імуноглобулінів в організмі здійснюється в результаті дії на диференціювання В-клітин [31]. Продукувати інтерферони і цитокіни НК-клітини також здатні після дії різноманітних активаторів (віруси, бактерії, мітогени, ІЛ-2) [17].

Отже, НК-клітини в змозі практично негайно відповідати на сторонні подразники (надходження вірусів в організм) і частково контролювати противірусний захист до тих пір, поки не включиться імунна система, що більш адекватно і специфічно відповідає на виклик.

ГРВІ на сьогоднішній день є практично некерованими інфекціями. Специфічна профілактика проводиться лише проти грипу.

Деякі з препаратів, незважаючи на те, що були теоретично багатообіцяючими, так і не змогли посісти достойного місця у щоденній педіатричній практиці через низку причин: відомі обмеження процесу фармакокінетики; складнощі переведення результатів з *in vitro* в *in vivo*; недостатньо вивчено механізм і тривалість ефекту; помилки методологічного характеру, виявлені в ході випробовування ефективності [12].

Наразі спостерігається тенденція до використання комплексних препаратів рослинного походження, в тому числі гомеопатичних лікарських засобів. Одним з найвідоміших препаратів цієї групи є комплексний гомеопатичний препарат Інфлюцид (ДНУ, Німеччина). До його складу входять речовини, кожна з яких відіграє важливу роль у лікуванні та профілактиці ГРВІ.

Експериментальні дослідження, проведені Центром інтерферону та цитокінів (Росія), переконливо показали протигрипозну активність Інфлюциду та його інтерфероіндукуючого ефекту [3]. Це дозволило зробити висновок про те, що Інфлюцид являє собою цінне доповнення до базової терапії грипу та інших ГРВІ і може так само бути рекомендований для екстреної неспецифічної профілактики грипу й ГРВІ. Результати клінічних досліджень підтвердили високу ефективність та безпеку застосування Інфлюциду у дітей при захворюванні на ГРВІ [2, 5].

Встановлення того факту, що система НК-клітин відіграє важливу роль у противірусному захисті, змусило нас зайнятися вивченням впливу препарату Інфлюцид, що застосовується у профілактичному режимі дозування, на вміст і активність цих ефекторних клітин. Це особливо важливо при проведенні класичної профілактики, що передбачає прийом лікарських препаратів здоровими дітьми в період максимальної епідеміологічної загрози.

Таким чином, метою роботи була оцінка ефективності та обґрунтування можливості застосування гомеопатичного препарату Інфлюцид для класичної профілактики ГРВІ у дітей на базі вивчення клініко-епідеміологічних відомостей у зіставленні зі змінами морфологічних особливостей ВГЛ.

Матеріали та методи

Оцінку ефективності препарату Інфлюцид щодо збудувачів ГРВІ проведено за умов відкритого плацебо-контрольованого клінічного спостереження за дітьми 5–6-річного віку, які

відвідують ДДЗ в епідемічному сезоні (січень–березень) та у квітні 2009 року. Вибір дітей до групи відбувався випадковим методом одноментно, з суворим дотриманням строків проведення дослідження та врахуванням умов інфікування вірусами. Критеріями включення пацієнтів у дослідження були: діти без клінічних ознак ГРВІ; не прищеплені проти грипу, без супутніх тяжких патологій; розуміння батьками мети, завдань і ходу дослідження, а також їхня добровільна інформована згода. Критеріями виключення – застосування інших противірусних препаратів.

Було сформовано дві рівноцінні групи (за методом стратифікаційної рандомізації). Діти основної групи (n=30) одержували Інфлюцид по 1 пігулці тричі на день протягом 1 місяця, діти групи порівняння (n=30) – плацебо за тією ж схемою. Для досягнення безперервної профілактики у вихідні та святкові дні препарат видавали батькам на руки, з відповідними рекомендаціями. Якщо розвивалася ГРВІ, діти продовжували одержувати препарат, однак режим його дозування трансформовувався у лікувальну схему.

Оцінку профілактичної ефективності застосування препарату Інфлюцид проводили на підставі наступних показників: кількість дітей, які захворіли на ГРВІ в період сезонного підйому захворюваності; кількість дітей, які перенесли один епізод ГРВІ; кількість дітей, які перенесли два і більше епізодів ГРВІ; тривалість періоду від початку прийому препарату до першого епізоду ГРВІ; терміни виникнення ГРВІ у дітей протягом періоду спостереження.

ВГЛ підраховували у мазках крові (на 100 лімфоцитів) після їхнього забарвлення за методом Романовського. При цьому до ВГЛ відносили клітини, діаметр яких перевищував 9 мкм, з круглим або бобоподібним ядром, широким оточенням цитоплазми, яка вміщувала не менше трьох азурофільних інтенсивно забарвлених гранул. Визначали рівномірність забарвлення цитоплазми, наявність її дистрофічних змін,

характер зернистості, кількість гранул у клітинах, їхнє розташування в цитоплазмі, характер зернистості гранул і їхнє забарвлення.

Імунологічне дослідження проводили в динаміці: до початку і через 1, 2 місяці від початку застосування Інфлюциду. Дітям, які захворіли на ГРВІ, повторне імунологічне обстеження не проводили.

Математичне відпрацювання результатів здійснювали за допомогою статистичної програми Statistica for Windows v. 6.0. При виборі статистичного критерію орієнтувалися на характер ознаки (кількісний, порядковий, якісний), тип розподілу, кількість груп, які порівнюються (чи вони незалежні), мету цього етапу статистичної обробки. Статистичну обробку проводили з використанням непараметричних критеріїв перевірки гіпотези про різницю між середніми значеннями (Т-критерій Уїлкоксона для попарно зв'язаних вибірок, критерій Фрідмана для аналізу повторних вимірів, що пов'язані з одним і тим самим індивідом), методів оцінки ефекту при альтернативній формі результату реакції (точний критерій Фішера). Розбіжності вважали достовірними за $p < 0,05$ [10, 11].

Результати досліджень та їхнє обговорення

Відповідно до поставленої мети було проаналізовано захворюваність на ГРВІ в період сезонного епідемічного підйому в групі дітей, які отримували Інфлюцид, порівняно з групою плацебо (табл. 1). Як видно з таблиці 1, на фоні профілактичного прийому Інфлюциду одноразово захворіли на ГРВІ 4 (13,3%) дітей, у той час як в групі плацебо – 24 (80,0%) дитини, при цьому у 9 (30,0%) дітей мали місце повторні епізоди ГРВІ.

Таким чином, у період сезонного епідемічного підйому ГРВІ застосування Інфлюциду дозволяє захистити від захворювання 86,7% дітей. Виявлені розбіжності у термінах виникнення захворювання у дітей основної групи та групи порівняння наведено в таблиці 2.

Таблиця 1
Захворюваність на ГРВІ в епідсезон дітей основної групи та групи порівняння ($p < 0,05$)

Групи дітей	Кількість людей на спостереженні	Загальна кількість тих, хто захворів на ГРВІ		Кількість дітей, які перенесли два і більше епізодів ГРВІ	
		абс.	%	абс.	%
Основна	30	4*	13,3	0*	0
Порівняння	30	24	80,0	9	30,0

Таблиця 2
Динаміка частоти ГРВІ після лікування Інфлюцидом у профілактичному режимі дозування ($p < 0,05$)

Групи дітей	Загальна кількість дітей	Періоди спостереження							
		1 міс (січень)		2 міс (лютий)		3 міс (березень)		4 міс	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Основна	30	0*	0	2*	6,6	2*	6,6	3	10,0
Порівняння	30	12	40,0	9	30,0	16	53,3	4	13,3

На фоні застосування Інфлюциду (перший місяць спостереження) ніхто з дітей не захворів на ГРВІ. На другому місяці захворіли двоє дітей на 46-й і 49-й дні спостереження, відповідно через 15 і 18 днів після завершення прийому препарату. Два випадки захворювання на ГРВІ зафіксовано також на третьому і три – на четвертому місяці спостереження. Привертає до себе увагу достовірно нижча захворюваність на ГРВІ у дітей, які одержували Інфлюцид, порівняно з групою плацебо-контролю, що зберігається протягом 3 місяців.

Отже, профілактичне застосування у період сезонного підйому захворюваності на респіраторні інфекції препарату Інфлюцид дозволяє суттєво знизити частоту ГРВІ у дітей, які від-

відують ДДЗ. Протівірусна активність препарату зберігається протягом трьох місяців.

Аналіз переносимості Інфлюциду у разі призначення його у профілактичному режимі дозування показав відсутність побічних і небажаних ефектів.

Результати імунологічних досліджень у дітей основної групи свідчать, що до початку профілактичного лікування Інфлюцидом (табл. 3) кількість ВГЛ складала $5,05 \pm 0,52$ клітини. Морфологічно ВГЛ характеризувалися овальною формою ($48,89 \pm 6,00\%$), рідше визначалася неправильна ($27,42 \pm 5,61\%$) чи колоподібна ($23,64 \pm 5,40\%$) форма. Діаметр клітин складав 11–14 мкм. У $89,63 \pm 2,90\%$ клітин ядра були розташовані ексцентрично, і їхній діаметр до-

Таблиця 3
Морфологічні показники ВГЛ у динаміці лікування препаратом Інфлюцид у профілактичному режимі дозування

Показники	До лікування	Через 1 місяць лікування	Через 1 місяць після завершення лікування
	I дослідження	II дослідження	III дослідження
Кількість ВГЛ	$5,05 \pm 0,52$	$5,05 \pm 0,79$	$5,23 \pm 0,54$
Форма клітин %			
- кругла	$23,64 \pm 5,40$	$16,72 \pm 5,24$	$11,07 \pm 4,14$
- овальна	$48,89 \pm 6,00$	$28,50 \pm 7,19^1$	$17,84 \pm 3,56^{3,4}$
- неправильна	$27,42 \pm 5,16$	$56,26 \pm 7,90^1$	$71,73 \pm 5,34^{3,4}$
Діаметр клітин (мкм)			
- довгий	$14,00 \pm 0,53$	$15,41 \pm 0,50$	$13,61 \pm 0,20^{2,4}$
- короткий	$11,00 \pm 0,45$	$12,00 \pm 0,69$	$11,30 \pm 0,30$
Характер цитоплазми (%)			
- однорідний	$87,73 \pm 3,23$	$76,10 \pm 5,70$	$72,57 \pm 5,70^3$
- з дистрофічними змінами	$12,28 \pm 3,23$	$23,26 \pm 5,55$	$27,42 \pm 5,70^3$
Інтенсивність забарвлення цитоплазми (%)			
- слабобазофільна	$88,15 \pm 3,78$	$73,94 \pm 6,53$	$78,07 \pm 4,86^3$
- інтенсивнобазофільна	$11,84 \pm 3,78$	$25,41 \pm 6,37$	$21,92 \pm 4,86^3$
Розташування ядра в цитоплазмі (%)			
- ексцентричне	$89,63 \pm 2,90$	$87,70 \pm 3,89$	$89,38 \pm 3,75$
- центральне	$10,39 \pm 2,90$	$12,17 \pm 3,85$	$10,61 \pm 3,75$
Діаметр ядра (мкм)			
- довгий	$10,57 \pm 0,36$	$11,47 \pm 0,45$	$9,94 \pm 0,20^{2,4}$
- короткий	$7,76 \pm 0,24$	$8,36 \pm 0,34$	$7,15 \pm 0,28^2$
Форма ядра (%)			
- кругла	$14,94 \pm 5,69$	$6,05 \pm 2,43$	$8,61 \pm 4,27$
- овальна	$28,57 \pm 4,56$	$26,88 \pm 7,15$	$20,69 \pm 5,61$
- неправильна	$56,34 \pm 5,22$	$66,29 \pm 7,97$	$70,69 \pm 7,92$
Контур ядра (%)			
- рівний	$66,42 \pm 5,30$	$71,29 \pm 4,01$	$73,07 \pm 5,33$
- нерівний	$33,57 \pm 5,30$	$28,58 \pm 4,00$	$25,00 \pm 4,97$
Кількість гранул	$12,31 \pm 0,37$	$11,23 \pm 0,34^1$	$11,07 \pm 0,64^4$
Розташування гранул (%)			
- рівномірне	$68,63 \pm 6,43$	$81,00 \pm 4,56^1$	$96,53 \pm 2,36^{2,4}$
- скупчене	$11,63 \pm 4,64$	$10,35 \pm 3,78^1$	$1,92 \pm 1,92^{2,4}$
- ближче до ядра	$4,10 \pm 2,29$	$2,82 \pm 2,27$	$1,53 \pm 1,53$
- ближче до периферії	$10,63 \pm 4,26$	$6,41 \pm 2,30^1$	$0^{2,4}$
Інтенсивність забарвлення гранул (%)			
- інтенсивне	$29,94 \pm 5,64$	$9,76 \pm 4,20$	$23,38 \pm 6,47$
- середнє	$46,26 \pm 6,70$	$28,05 \pm 5,87^1$	$36,73 \pm 4,38$
- слабке	$27,78 \pm 5,06$	$62,57 \pm 6,45^1$	$43,84 \pm 7,08^{2,4}$
Характер зернистості (%)			
- крупна однорідна	$34,36 \pm 6,76$	$8,26 \pm 3,96^1$	$13,94 \pm 4,79^{3,4}$
- крупна неоднорідна	$36,52 \pm 6,53$	$30,52 \pm 6,17$	$33,15 \pm 2,97$
- дрібна	$29,00 \pm 5,55$	$63,05 \pm 6,32^1$	$51,10 \pm 7,67^{3,4}$

Примітка: достовірність розбіжностей ($p < 0,05$) за умови застосування Т-критерію Уїлкоксона для парно зв'язаних вибірок (¹ – достовірна різниця між результатами 1-го і 2-го досліджень, ² – достовірна різниця між результатами 2-го і 3-го досліджень, ³ – достовірна різниця між результатами 1-го і 3-го досліджень); ⁴ – достовірність розбіжностей ($p < 0,05$) критерію Фрідмана для аналізу повторних вимірів

рівнював 7,76–10,57 мкм. Переважали ядра неправильної форми ($56,34 \pm 5,22\%$) з рівним контуром ($66,42 \pm 5,53\%$).

Цитоплазма ВГЛ містила у середньому 12 гранул, розташованих переважно дифузно ($68,63 \pm 6,43\%$). У $10,63 \pm 4,26\%$ клітин гранули були розташовані біля клітинної мембрани. Інтенсивність забарвлення цитоплазматичних гранул майже у половини ВГЛ ($46,26 \pm 3,70\%$) була середньою. Інтенсивно забарвлені (азурофільні) гранули складала $25,94 \pm 5,64\%$, слабо – $27,78 \pm 5,06\%$. У гранулах переважно спостерігалася крупна однорідна ($34,36 \pm 6,76\%$) та неоднорідна ($36,52 \pm 6,53\%$) зернистість. У $87,73 \pm 3,23\%$ клітин ВГЛ цитоплазма була однорідною і лише у $12,28 \pm 3,23\%$ було виявлено дистрофічні зміни.

Як видно з наведених даних, на тлі застосування Інфлюциду у профілактичному режимі дозування та протягом наступного місяця після його відміни вміст ВГЛ залишився без змін, проте змінилися їхні морфологічні властивості. Відмічено зміну форми ВГЛ, що проявилася зниженням відсоткового вмісту клітин овальної форми і збільшенням неправильної. Достовірність змін підтверджено тільки під час прийому Інфлюциду, на відміну від періоду відміни препарату (достовірність «розбіжності ефектів» згідно з даними підрахунку критерію Фрідмана).

Протягом періоду спостереження виявлено різноспрямовану зміну діаметра довгих ВГЛ: недостовірне збільшення на тлі терапії, згодом протягом наступного місяця – достовірне зниження показників. Критерій Фрідмана показав наявність достовірних розбіжностей динаміки змін показника у різні періоди спостереження.

Привертає до себе увагу зміна характеру цитоплазми та інтенсивності її забарвлення: зменшення відсоткового складу ВГЛ, що мають однорідний характер і слабобазофільне забарвлення цитоплазми та підвищення кількості лімфоцитів з інтенсивнобазофільним забарвленням цитоплазми і дистрофічними змінами. Однак відмінності змін показників у перший і другий проміжок дослідження не були достовірними. Відрізнялися лише результати першого і останнього дослідження, тобто мала місце «рівномір-на» зміна показників під час усього періоду спостереження.

Паралельно зі зміною розмірів ВГЛ змінювалися і розміри ядер: під час застосування Інфлюциду відмічено статистично недостовірне збільшення діаметра довгих ядер, протягом першого місяця після відміни препарату – достовірне зменшення діаметра довгих та коротких ядер ВГЛ. При цьому розміри довгих і коротких ядер суттєво не відрізнялися від показників вихідного рівня. Різниця між змінами показників розмірів ядер з довгим діаметром на тлі лікування Інфлюцидом і протягом першого місяця після відміни була достовірною, ядер з коротким діаметром – недостовірною.

Особливу цікавість викликає зміна кількості гранул у цитоплазмі лімфоцитів. Протягом періоду спостереження мало місце зменшення кількості гранул у цитоплазмі ВГЛ (на тлі одержання препарату – статистично достовірне, на тлі відміни – недостовірне). При цьому динаміка зміни цього показника у різні періоди спостереження достовірно відрізнялася між собою.

Значно змінився характер розташування гранул у цитоплазмі лімфоцитів. Відмічено збільшення відсоткового вмісту ВГЛ з дифузним розташуванням гранул і зменшення кількості лімфоцитів, у яких гранули розташовано скупчено або біля мембрани цитоплазми. Слід також підкреслити, що зміна розташування гранул у цитоплазмі ВГЛ відбувалася протягом всього періоду спостереження, але статистично достовірні розбіжності між показниками було виявлено лише у другий проміжок дослідження. Різниця між цими показниками дослідження на тлі лікування Інфлюцидом достовірно відрізнялась від різниці між показниками після його відміни.

Результати проведеного аналізу свідчать також про суттєві зміни в інтенсивності забарвлення гранул і в характері їхньої зернистості. На тлі призначення препарату відмічено достовірне збільшення відсоткового складу ВГЛ зі слабоінтенсивним забарвленням гранул і зменшення – із середньоінтенсивним. Протягом наступного місяця достовірно зменшувалась кількість лімфоцитів зі слабким забарвленням гранул, однак їхній показник залишався вищим вихідного рівня. Період використання препарату і період відміни достовірно відрізнялися за характером змін цих показників.

Протягом всього періоду спостереження відмічено зменшення кількості ВГЛ, що містять гранули з крупною однорідною зернистістю, та збільшення – з дрібною. Під час прийому Інфлюциду зміни показників були достовірними, після відміни – достовірні зміни були відсутні. Різниця між цими показниками у перший і другий проміжки дослідження була достовірною.

Таким чином, на тлі застосування препарату Інфлюцид відмічено зниження показників цитотоксичності НК-клітин, що може свідчити про те, що НК-клітини «відпочивають», отже система не знаходиться у стані напруження і здатна адекватно реагувати на змінені умови.

Висновки

Таким чином, аналіз результатів спостереження за динамікою клінічних і лабораторних показників дозволив встановити, що призначення Інфлюциду в профілактичному режимі дозування сприяє достовірному зниженню цитотоксичної активності НК-клітин, на що опосередковано вказують зміни морфологічних показників ВГЛ. При цьому найшвидше і найпомітніше препарат впливає на зміну форми лімфоцитів, кількість гранул в цитоплазмі, інтенсивність їхнього забарвлення і характер зернистості: на фоні змен-

шення загальної кількості збільшується вміст слабозабарвлених гранул і гранул з дрібною зернистістю. Показано можливість збереження подібних змін протягом двох місяців (період спостереження). Зміна параметрів інших морфологічних показників відбувається відстрочено. Рівномірно односпрямовано змінюються характер та інтенсивність забарвлення ВГЛ у різні періоди спостереження – збільшується вміст лімфоцитів з дистрофічно зміненою і слабозабарвленою цитоплазмою. Нерівномірно, з більш суттєвими змінами на другому місяці спостереження, відбувається зменшення розмірів ВГЛ, що мають довгий діаметр, ядер, характеру розподілу гранул у цитоплазмі.

У ході клінічного спостереження препарат показав високу профілактичну дію (86,7%) щодо ГРВІ у період епідемічного підйому інфекційної захворюваності.

Превентивне призначення Інфлюциду сприяло зниженню протягом трьох місяців частоти,

тривалості перебігу й тяжкості ГРВІ, що супроводжувалося зниженням цитотоксичної активності НК-клітин, які відповідають за протівірусний захист.

На сьогодні немає загальноновизнаної теорії, яка пояснює механізм дії гомеопатичних засобів. Можна припустити, що застосування Інфлюциду в профілактичному режимі дозування забезпечує регулюючу дію на імунну систему організму, що проявляється змінами функціональної активності НК-клітин. Зниження показників цитотоксичності НК-клітин на тлі застосування препарату Інфлюцид, вірогідно, свідчить про те, що НК-клітини «відпочивають», отже система не знаходиться в стані напруження і здатна адекватно реагувати на змінені умови.

Механізми протівірусної дії гомеопатичного препарату Інфлюцид ще недостатньо розшифровані, проте його превентивна активність щодо запобігання розвитку ГРВІ не викликає сумнівів.

Список літератури

1. Атауллаханов Р.И., Гинзбург А.Л. Иммуитет и инфекция: динамическое противостояние живых систем. Педиатрия 2005; 4: 47–62.
2. Беш Л.В. Діти, які часто хворіють: сучасний стан, проблеми та можливості лікування. Педіатрія, акушерство та гінекологія 2006; 5: 56–58.
3. Гаращенко Т.И., Гаращенко М.В., Мезенцева М.В. Клинико-иммунологическое обоснование гомеопатических препаратов в профилактике и лечении гриппа и ОРВИ. Рус. мед. журн. 2005; 13 (13): 1432–1437.
4. Глобальный план ВОЗ по подготовке к борьбе с гриппом. WHO (СДС) CSR/GIP/2005.5.
5. Ершов Ф.И. Рациональная фармакотерапия гриппа и ОРВИ. Фармацевт. вестн. 2003; 39: 15–18.
6. Зак К.П., Бутенко А.К. «Большие гранулосодержащие лимфоциты» – новое понятие в гематологии и иммунологии. Гематология и трансфузиология 1985; 9: 45–53.
7. Зак К.П., Грузов М.А., Хоменко Б.М. и др. Ультраструктура больших гранулосодержащих лимфоцитов крови человека. Докл. АН УССР. Серия Б 1983; 4: 73–77.
8. Зак К.П., Хоменко Б.М., Афанасьева В.В. и др. Содержание и ультраструктура больших гранулосодержащих лимфоцитов (естественных клеток-киллеров) в крови больных сахарным диабетом I типа. Докл. АН УССР. Серия Б 1987; 33 (4): 3–5.
9. Зак К.П. Субмикроскопические особенности функционально различных популяций лимфоцитов крови человека. В: Стволовые клетки и опухолевый рост. К: Наук. думка; 1985: 88–94.
10. Мальцев В.И., Ефимцева Т.К., Белоусов Д.Ю. Методология проведения клинических исследований. Укр. мед. часопис 2001; 5 (25): 49–65.
11. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. М: ГЭОТАР-Мед; 2001: 256.
12. Учайкин В.Ф. Рецидивирующие инфекции у детей: применение иммуномодуляторов для лечения и профилактики. Педиатрия 2009; 87 (1): 127–132.
13. Allavena P., Scala G., Djeu L.G., et al. Production of multiple cytokines by clones of human large granular lymphocytes. Cancer immunol. Immunother. 1986; 19 (2): 121–126.
14. Chan W.C., Check I., Schick C., et al. A Morphologic and Immunologic Study of the Large Granular Lymphocyte in Neutropenia with T Lymphocytosis. Blood. 1984; 63 (5): 1133–1140.
15. Chan W.C., Link S., Mawle A., et al. Heterogeneity of large granular lymphocyte proliferations: delineation of two major subtypes. Blood. 1986; 68 (5): 1142–1153.
16. Ching C.J., Cning N., Herberman R.B. Effect of «Low-Dose» Interferon Administration on the Immunological Status of Cancer Patients. Natural Immunity, Cancer and Biologia Response Modificiers. Basel; 1986: 162–176.
17. Djeu J.Y. Release of cytokines by large granular lymphocytes. Natur. Immun. Cancer and Biol. Response Modif-I Int. Symp., Honolulu, 10–12 XI 1985. Basel; 1985: 50–55.
18. Fitzgerald-Bocarsly P., Herberman R., Hercend T., et al. A definition of natural killer cells. Immynol. Today 1988; 9 (10): 292.
19. Gioldanowski J., Lemmel E.M., Blaszczyk B. The influence of thymus hormones on the NK cells activity. Arcn. Immunol.-Therap. Exp. 1987; 35: 657–661.
20. Hackett J., Tutt M., Lipscomb M., et al. Origin and differentiation of natural killer cells. II. Functional and morphologic studies of purified NK-1.1⁺ cells. J. Immunol. 1986; 136 (8): 3124–3131.
21. Heine H. Immunologische Beistandsreaction durch Antihomotoxische Therapie bei Gelenhsent – zundungen. Biol. Med. 1998; 27 (4): 152–154.
22. Hercend T., Schmidt R.E. Characteristics and uses of natural killer cells. Immunol. Today 1988; 9 (10): 291–293.

23. Katz J.D., Mitsuyasu R., Gottlieb M.S., et al. Mechanism of defective NK cell activity in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and aids-related complex. *J. Immunol.* 1987; 139 (1): 55–60.
24. Kay N.E., Zarling J.M. Impaired Natural Killer Activity in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia is Associated with a Deficiency of Azurophilic Cytoplasmic Granules in Putative NK Cells. *Blood* 1984; 63 (2): 305–309.
25. Klatzmann D., Salmon P., Achour A., et al. A model for the pathophysiology of HIV infection // *Progr. Immunodef. Res. and Theor.: Proc. II Meet. Eur. Group Immunodef. (E. G. I. D.), Kerkrade, 11–14 VI 1986. Amsterdam; 1986; 421–426.*
26. Lanier L.L., Le A.M., Ding A., et al. Expression of Leu-19 (NKH-1) antigen on IL-2-dependent cytotoxic and non-cytotoxic T cell lines. *J. Immunol.* 1987; 138 (7): 2019–2023.
27. Lanier L.L., Phillips J.H. A Schema for the Classification of Cytotoxic Lymphocytes Based on T Cell Antigen Receptor Gene Rearrangement and Fc-receptor (CD 16) or NKH-1/Leu-19 Antigen Expression. *Natural Immunity Cancer and Biology Response Modific. Basel; 1986: 10–18.*
28. Lanier L.L., Phillips J.H. Evidence for three types of human cytotoxic lymphocytes. *Immunol. Today* 1986; 7 (5): 132–134.
29. Lanier L.L., Le A.M., Cwirla S., et al. Antigenic, functional, and molecular genetic studies of human natural killer cells and cytotoxic T lymphocytes not restricted by the major histocompatibility complex. *Federat. Proc.* 1986; 45 (12): 2823–2828.
30. Lotzova E., Savary C.A. Generation of NK cell activity from human bone marrow. *J. Immunol.* 1987; 139 (1): 279–284.
31. Morio T., Nonoyama S., Yata J. Suppression of in vitro immunoglobulin synthesis by CD 16 (Leu-11a)⁺ CD56 (NKH1, Leu-19)⁺ non-T lineage NK cells; lack of suppression of cells from immunodeficient patients. *Clin. Exp. Immunol.* 1989; 78: 159–165.
32. Papic M., Stein-Streilein J., Zakarija M. Suppression of peripheral blood natural killer cell activity by excess thyroid hormone. *J. Clin. Invest.* 1987; 79: 404–408.
33. Procopio A.D.G., Allavena P., Ortaldo J.R. Noncytotoxic functions of natural killer cells: large granular lymphocytes (LGL) produce a B cell growth factor (BCGF). *J. Immunol.* 1985; 135 (5): 3264–3271.
34. Rambaldi A., Alessio G., Rossi V., et al. Production of interleukin 1 but not of procoagulant activity by large granular lymphocytes. *Scand. J. Immunol.* 1985; 22 (4): 363–366.
35. Roozmond R.C., Urli D.C., Jansen J., et al. Liposome can function as a target for natural killer cytotoxic factor but not for tumor necrosis factor. *J. Immunol.* 1989; 142 (4): 1209–1216.
36. Timonen T.T., Ortaldo J.R., Herberman R.B. Characteristics of human large granular lymphocytes and relationship to natural killer and K cells. *J. Exp. Med.* 1981; 153 (3): 569–582.
37. Young J.D.-E., Cohn Z.A. Cell-mediated killing: a common mechanism? *Cell* 1986; 46 (5): 641–642.
38. Young J.D.-E., Liu C.-C., Leon L.G., et al. The pore-forming protein (perforin) of cytolytic T lymphocytes is immunologically related to the components of membrane attack complex of complement though cysteine-rich domains. *J. Exp. Med.* 1986; 164 (6): 2078–2082.