

фенотипов А (II) и АВ (IV) по сравнению с бойками, ополян и покутян. Анализом сочетание ассоциаций антигенов АВ0 и резус доказано, что в популяции населения области преобладали дети с А (II) Rh<sup>+</sup> (48,32%), на втором месте были дети с фенотипом 0 (I) Rh<sup>+</sup> (23,41%), на третьем – В (III) Rh<sup>+</sup> (14,33%). Установлено ассоциации антигенов АВ0 и Rh и некоторыми мультифакторный заболеваниями.

**Ключевые слова:** генетическая структура, этнические группы, антигены групп крови систем АВ0 и резус.

Z.R. Kocherha, L.Ye. Kovalchuk, R.I. Bahrynovskiy

#### Assessment of Genetic Structure of Child Population in Prykarpattia According to the AB0 and Rh Blood Group Antigens Distribution

**Summary.** This research work is a part of comprehensive study of the genetic material of the population of Ivano-Frankivsk region, including ethnic groups according to the AB0 and Rh blood group antigens distribution. The genetic structure of the child population of different ethnic groups (Hutsuls, Boikos, Opoliany and Pokuttia) in Ivano-Frankivsk region has been determined according to the distribution of

AB0 and Rh blood group antigens carriers. For this purpose, the original medical reports of the children's out-patient clinics in district centers of the region and in Ivano-Frankivsk city as well as the statistical reporting materials of the organization-methodic department of the regional children's clinical hospital have been thoroughly analyzed. Taking into account the number of individuals with different phenotypes it became possible to make up the following set with the decrease in number of carriers with different blood groups according to the AB0 system: A(II)>0(I)>B(III)>AB(IV). Among the ethnic groups of Prykarpattia Hutsuls were distinguished by the benefits of phenotypes A(II) and AB(IV) as compared with Boikos, Opoliany and Pokuttiany. Analysis of the combination of AB0 and Rh antigen associations proved that children with phenotype A(II) Rh<sup>+</sup> (48.32 %) prevailed in the population of the region, children with phenotype 0(I) Rh<sup>+</sup> (23.41%) took the second position, children with phenotype - B(III) Rh<sup>+</sup> (14.33%) were the third. As part of the study it became possible to establish the associations of AB0 and Rh antigens and some multifactorial diseases.

**Key words:** genetic structure, ethnic groups, AB0 and Rh blood group antigens.

Надійшла 02.04.2013 року.

УДК 617.711-044.4-089.

N.Y. Krytsun, R.L. Vadyuk, A.N. Nykoluk, M.D. Vershynina

#### Experimental Reproduction of Pterygium

Ivano-Frankivsk National Medical University

Filatov Institute of Ophthalmology and Tissue Therapy in the Academy of Medical Sciences of Ukraine

**Summary:** Dystrophic processes of the eyeball take the second place after the inflammatory eye diseases. The experiment was conducted on 28 eyes of 14 chinchilla rabbits weighing 2.5-3.5 kg, males. We have developed a technique that was used in the three experimental groups. All rabbits were submitted to the same manipulation depending on the study group. The data obtained testify that combination of partial removal of the limbal zone and application using n-heptanol with maximum fixation of conjunctival flap to the cornea with greater number of sutures, give progress to clinical symptoms that correspond to pterygium. In the experiment in vivo a model of degenerative and proliferative process was developed, it was displayed as the growth of the conjunctiva to the cornea of a rabbit that correspond to the clinical manifestations of pterygium. The features of post-operative course of proposed degenerative and proliferative process model, followed by conjunctival growth on the cornea of a rabbit; the dynamics of clinical manifestations in different terms was described.

**Key words:** pterygium, modeling of degenerative and proliferative process, n-heptanol.

**Introduction.** Dystrophic processes of the eyeball take the second place after the inflammatory eye diseases. Pterygium is one of the manifestations of dystrophies of the anterior segment of the eye [6]. Pterygium is a benign fibrovascular formation, represented as a growth of conjunctival tissue from the limbus toward corneal center, that occurs apparently due to the hyperproliferation of limbal epithelial cells, accompanied by the formation of newly formed blood vessels [16].

Some authors are compelled to believe that the trigger of pterygium is a continuous or recurrent inflammation of conjunctiva, leading to numerous reactive and degenerative changes of the epithelial cover of the eyeball [17]. A newly formed vessels appear. A hyperplasty of epithelial cells develops, that leads to the reduce of transparency of superficial layers of the cornea and to blurred vision [7, 19].

To sum up, it should be noted that the study of the mechanisms of progression and recurrence of pterygium is of a great interest at this time.

According to the literature processed all previous researchers who studied pterygium and create new methods of surgical

treatment, did not settle the goal to recreate pterygium in the experiment, because they carried out only clinical trials or reconstructed postoperative condition in the experiment, in particular devitalized cornea and bare sclera, that were used as a ground for various barrier treatment of pterygium later [8].

Since by that time it's not definitively known what leads to pterygium formation, the experimental model of pterygium doesn't exist.

**The aim** - to develop an experimental model of degenerative and proliferative process, accompanied by the growth of conjunctiva on the cornea, which resembles pterygium by its clinical manifestation.

**Material and methods.** The experiment was conducted on 28 eyes of 14 chinchilla rabbits weighing 2.5-3.5 kg, males. Experimental simulation was performed on a base of vivarium of SI "Filatov Institute of Ophthalmology and Tissue Therapy NAMS of Ukraine". Observation care, surgical procedures on the animals, as well as their withdrawal from the experiment were carried out in the accordance to the international rules of work with experimental animals (Helsinki Declaration on the use of animals in experimental research 1964 - 2000).

We have developed a technique that was used in the three experimental groups. All rabbits were submitted to the same manipulation depending on the study group. Additional corneal anesthesia with 0.5% alkainum solution was conducted after general anesthesia with thiopental sodium 0.1% in a dose 1ml/1kg of weight. During anesthesia triangular shape corneal deepithelization in the upper segment from 11 to 1 o'clock using a rounded scarifier blade was conducted under the operating microscope (the experiment was not carried out in the inner corner of the eye due to the presence of the third eyelid). Then at 12 o'clock 0.5 ml 2% lidocaine solution was injected under the conjunctiva (for the detachment of conjunctiva from the episclera). Conjunctiva was dissected out of the limbus from 11 to 1 o'clock with scissors. The excision of limbal stripe 1cm length and 0.3 cm thick with the blade was made. Then application of 1x0,5cm filter paper strip, soaked in n-heptanol for removal of

all limbal cells in the area was performed in the same place for 5 minutes (300 sec.). This alcohol was used for the first time by Fridenvold in his experimental work on the removal of corneal epithelial cells of rabbits; later Krause used n-heptanol demonstrating histologically that all stem cells die off by the limbal applications of n-heptanol exactly within 300 seconds [14]. Immediately after this the eyeball was washed by isotonic NaCl solution for one minute. Then the covering of deepithelized cornea with conjunctival flap on the stem and fixation of the flap to the cornea by silk 10/0 sutures was performed. In the postoperative period, beginning from the first day of the experiment, all animals were prescribed 30% sulfacylum natrium solution 4 times daily for 10 days.

All rabbits were divided into three experimental groups: in the group 1 the simulations of degenerative process was performed on 5 rabbits (10 eyes), where the partial removal of limbal area without application of n-heptanol and fixation of conjunctiva to the cornea with one interrupted suture was used; in the group 2 the simulations of degenerative process was performed on 5 rabbits (10 eyes), where it was used the combined removal of limbal zone using n-heptanol and fixation of conjunctiva to the cornea with one interrupted suture; in the 3rd group of test animals we combined the removal of part of limbal zone using n-heptanol and fixing of conjunctival flap to the cornea with 10 interrupted sutures.

The course of the process in the dynamics was monitored by biomicroscopy and photo fixation. The evaluation of the inflammatory reaction was carried out according to the point system criteria by T.B.Haydamaka [5], the degree of corneal vascularization was assessed in points by V.M. Nepomyaschaya [9], the degree of corneal opacity as a result in the corneal conjunctivization at the end of the experiment was assessed in scores by a scale of V.V. Voyno-Yasenetskiy [3].

**Results.** After the observation the following results are obtained. In group 1 of laboratory animals, in which we used the removal of the part of limbal zone and fixing of prepared conjunctiva with one interrupted suture, on the second day after the surgery biomicroscopy examination of anterior segment revealed signs of postoperative inflammatory reaction: conjunctival hyperemia, presence of mild mucous discharge. In place of conjunctival fixation to the cornea we observed infiltration of corneal tissue, however the surrounding cornea remained transparent (Figure 1). On the fifth day all signs of inflammation subsided. The suture on the cornea was cut on 8-9th day of observation. Conjunctiva had slipped from the cornea and stuck to the limbus arbitrarily. By the 20th day of the experiment, no signs of inflammation was observed.

At the end of the experiment in the place of partial removal of limbal zone it was observed corneal opacity at 1-2 mm from the limbus without any signs of increased vascularization or growth of the conjunctiva (Figure 2).

In group 2 of laboratory animals we combined the removal of limbal zone using n-heptanol alcohol and fixation of conjunctiva to the cornea with one interrupted suture. On the second day after the surgery biomicroscopy of anterior segment of the eye revealed a severe signs of inflammation. In the place of fixation of conjunctiva to the cornea we observed conjunctival infiltration, edema, and severe hyperemia. Signs of burn of limbus and conjunctiva were obvious (Figure 3). Corneal suture was cut at 8-9th day of observation. Conjunctiva had slipped from the cornea and stuck to the limbus arbitrarily. Signs of inflammation subsided to 10-12th day. The process of corneal vascularization was starting.

At the end of the experiment a severe increase of vascular network of the conjunctiva, its little growing on the cornea at a distance up to 3 mm, corneal vascularization were observed (Figure 4).

In the 3rd group of test animals we combined the removal of limbal zone using n-heptanol and fixing of conjunctival flap to

the cornea with 10 interrupted sutures.

On the second day after the surgery at biomicroscopy of anterior segment of the eye severe signs of inflammation were observed. In the place of conjunctival fixation the to the cornea it was seen corneal infiltration, conjunctival edema and significant hyperemia (Figure 5). Signs of inflammation subsided to 10-12th day. Conjunctiva nearly adhered to the cornea. At the end of the experiment a fleshy growth of the conjunctiva to the cornea was observed at 4-5 mm distance from the limbus, and increased vascular network in a place of conjunctival transition to the cornea (Figure 6).

As a result, the data obtained testify that combination of partial removal of the limbal zone and application using n-heptanol with maximum fixation of conjunctival flap to the cornea with greater number of sutures, give progress to clinical symptoms, that correspond to pterygium [10].

## Conclusions

1. In the experiment in vivo a model of degenerative and proliferative process was developed, it was displayed as the growth of the conjunctiva to the cornea of a rabbit that correspond to the clinical manifestations of pterygium.

2. The features of postoperative course of proposed degenerative and proliferative process model, followed by conjunctival growth on the cornea of a rabbit; the dynamics of clinical manifestations in different terms was described.

## References

1. Билалов Э. Н. Изменения биохимических параметров слезной жидкости как один из факторов патогенеза пteryгиума / Э. Н. Билалов // Клиническая офтальмология. Библиотека РМЖ. – 2005. – Том 6, №3. – С.123-125.
2. Бородин Ю. И. Отдаленные результаты комбинированного лечения рецидивирующего пteryгиума / Ю. И. Бородин, В. В. Вальский, Е. Н. Вериго // Офтальмология. – 2007. – Том 4, №3. – С. 29-33.
3. Войно-Ясенецкий В. В. Тканевая несовместимость при пересадке роговой оболочки: дис. д-ра мед. наук 14.00.08. – Одеса, 1961. – 436с.
4. Волоховская З. П. Атипизм конъюнктивального эпителия на месте удаленного пteryгиума / З. П. Волоховская, Р. А. Байраммурадов, Г. Н. Гапурова // Здравоохр. Туркменистана. – 1988. – 6(342). – С.19-22.
5. Гайдамака Т. Б. Новый способ моделирования вирусного кератита / Т. Б. Гайдамака // Офтальмол. журн. – 1999. – №6. – С. 429 - 431.
6. Житенко Н. А. Новые элементы диагностики, терапевтического и хирургического лечения пteryгиума: дис. канд. мед. наук. – С., 2008. – 105с.
7. Золотарев А. В. Хирургическое лечение рецидивирующего пteryгиума с пластикой силиковысушенной амниотической мембраной / А. В. Золотарев, Е. С. Милюдин // Вестн. офтальмол. – 2007. – №1. – С.39-42.
8. Ломухина Е. А. Экспериментально-гистологическое обоснование заместительной пластики аллоплантом при обширных пteryгиумах: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук. Е. А. Ломухина – Ор., 2007 19с.
9. Непомящая В. М. Применение сыворотки ожоговых реконвалесценто́в при лечении ожогов глаз различной этиологии: дис. канд. мед. наук: 14.00.08 / Непомящая В. М. – Одеса, 1968. – 421с.
10. Титаренко З. Д. Пteryгиум / Титаренко З.Д., Гончар П.Ф., Титаренко И.В. – Кишеньов, 1992. – 86с.
11. Черидниченко Л. П. Роль эколого-географических факторов в развитии пteryгиума / Черидниченко Л.П., Корняк Г.В., Житенко Н.А. // Мед. Вестник Северного Кавказа. – 2006. – С.56-57.
12. Diaz-Gonzalez J.A. Role of concanavalin A lectin recognition of pterygium remnant after surgical excision: Preliminary results of a prospective study / Diaz-Gonzalez J.A., Mayoral-Chavez M.A. // Indian J Ophthalmol. – 2007. – Vol.55. – P.349-353.
13. Dzunic B. Analysis of pathophysiological characteristics of pterygium / Dzunic B. // Bosnian J basic medical sciences. – 2010. – Vol. – 10(4). – P.307-313.
14. Kruse F. E. Conjunctival Transdifferentiation. Is due to the incomplete Removal of Limbal Basal Epithelium / Kruse F. E., Chen J. Y. // Invest



Figure 1. Photo of rabbit eye group 1, 1st day after the surgery



Figure 2. Photo of rabbit eye group 1, one month after the surgery



Figure 3. Photo of rabbit eye group 2, 1st day after the surgery

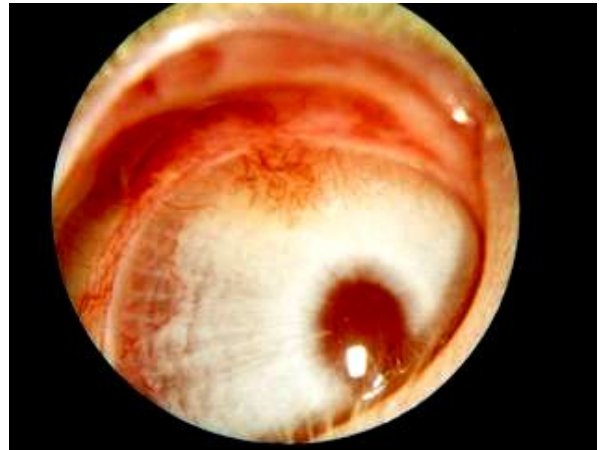


Figure 4. Photo of rabbit eye group 2, one month after the surgery



Figure 5. Photo of rabbit eye group 3, 1st day after the surgery



Figure 6. Photo of rabbit eye group 3, one month after the surgery

Ophthalmol Vis Sci –1990.–Vol. 31.–P. 1903-1913.

15. Golu T. Pterygium: histological and immunohistochemical aspects / Golu T., Mogoanta L., Streba C.T., Pirici D.N., Malaescu D., Mateescu G.O. // Rom J Morphol. Embryol – 2011. – Vol.52, (1). – P.153-158.

16. Isyaku M. Treatment of pterygium / Isyaku M. // Annals African Medicine – 2011. – Vol.10. No3 – P.197-203.

17. Lee J. K. Endothelial progenitor cells in pterygium pathogenesis / Lee J. K., Song Y. S., Ha H. S., Park J. H., Kim M. K., Park A. J., Kim J. C. // Eye. – 2007. – Vol.21. – P.1186-1193.

18. Sjo N. C. Human papillomavirus and pterygium / Sjo N. C., Buchwald C. V., Prause J. U. // Br.J. Ophthalmol. – 2007. – Vol.91. – P.1016-1018.

19. Wang I-J. Mechanism of Abnormal Elastin Gene Expression in the Pinguecular Part of Pterygia / Wang I-J., Hu F. R., Peh-Jer Chen P. J., Lin C. T. // Am. J. Pathol. – 2000. – Vol.157, №4. – P.1269-1275.

Крицун Н.Ю., Вадюк Р.Л., Николок А.М., Вершиніна М.Д.

#### Відтворення птеригіуму в експерименті

**Резюме.** Дистрофічні ураження очного яблука займають друге місце після запальних захворювань органу зору. Експеримент

проведено на 28 очах 14 кроликів породи шиншила вагою 2,5-3,5кг, самцях. Нами була розроблена методика, яку ми використали в трьох дослідних групах. Усім кроликам були проведені однакові маніпуляції в залежності від групи дослідження. Отримані результати свідчать про те, що завдяки поєднанню видалення частини лімбальної зони та використанню аплікацій n-гептанолу з максимальною фіксацією лоскута кон'юнктиви на рогівці великою кількістю швів розвинувся клінічний симптомокомплекс, який відповідає птеригіуму. В експерименті *in vivo* розроблено модель дегенеративно-проліферативного процесу, який супроводжується наростанням кон'юнктиви на рогівку кроля, що відповідає клінічним проявам птеригіуму. Вивчені особливості післяопераційного перебігу запропонованого моделювання дегенеративно-проліферативного процесу, який супроводжується наростанням кон'юнктиви на рогівку кроля, описано динаміку клінічних проявів у різні його терміни.

**Ключові слова:** птеригіум, моделювання дегенеративно-проліферативного процесу, n-гептанол.

Received 04.03.2013.

УДК 616.12.-005.4-009.1-039.1:612.017.1

Лизогуб В.Г., Завальська Т.В., Саюк М.В., Халед Ахмад Халіль Абу Сара

#### Порушення імунологічного статусу у хворих на стабільну та нестабільну стенокардію

Кафедра внутрішньої медицини № 4 (зав. каф. – проф. В.Г. Лизогуб)

Національного медичного університету імені О.О. Богомольця

Кафедра терапії і сімейної медицини ФПО (зав. каф. – проф. Л.В. Глушко)

Івано-Франківського національного медичного університету

**Резюме.** Обстежено 67 хворих на нестабільну стенокардію (НС) - 30 хворих, у яких уперше виникла стенокардія (УВС) і 37 хворих з прогресуючою стенокардією (ПрС), 27 хворих на СС напруги II-III функціональних класів та 22 здорові особи. Визначення популяції і субпопуляцій лімфоцитів сироватки крові проводили методом моноклональних антитіл. Визначення імуноглобулінів Ig G, A, M та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові проводили за методом Манчіні. Результати дослідження показали, що у хворих зі СС та НС відбуваються порушення клітинного і гуморального імунітету, що проявляється дисбалансом субпопуляцій лімфоцитів: у хворих на СС – зниженням рівня Т-хелперів (CD4+), а у хворих на НС - підвищенням рівня Т-хелперів (CD4+), В-лімфоцитів (CD22+) і зниженням рівня Т-супресорів (CD8+). Зміни гуморального імунітету у хворих на СС характеризуються підвищенням рівня ЦІК, а у хворих на НС - підвищенням рівня IgG і ЦІК.

**Ключові слова:** стабільна стенокардія, нестабільна стенокардія, клітинний імунітет, гуморальний імунітет, лімфоцити.

#### Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Вивчення імунологічних змін у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) до теперішнього часу зводиться, в основному, до визначення показників гуморального імунітету, в той час, як стану клітинного імунітету при цьому захворюванні присвячені лише поодинокі роботи [6,9,10]. Аналіз клінічних і імунологічних даних у хворих на ІХС дозволив виявити суттєвий дисбаланс імунної відповіді, яка характеризується високою активністю гуморального імунітету на фоні помірного порушення Т-клітинної ланки імунітету [7,11]. Що стосується окремих субпопуляцій лімфоцитів, дані літератури носять суперечливий характер. Так, в одних дослідженнях [4] знайшли зростання кількості CD4+ лімфоцитів, особливо при нестабільній стенокардії (НС) з незмінною кількістю CD8+ лімфоцитів, а в інших [11] відзначили, навпаки, зменшення субпопуляції CD4+клітин і природних кілерів. Отримані дані про збільшення рівня клітин-супресорів CD8+ [7]. Виходячи із представлених робіт, деякі вчені схильні до гіпо-

тези про переважну активацію, а не депресію лімфоцитів і лейкоцитів, в цілому, в динаміці ІХС, розцінюючи їх іноді як прогностичний фактор подальшого протікання захворювання [2]. Отже, питання порушення імунологічного статусу у хворих на ІХС потребує подальшого вивчення.

**Мета роботи:** визначити зміни клітинного та гуморального імунітету у хворих на стабільну та нестабільну стенокардію.

#### Матеріал і методи дослідження

Обстежено 67 хворих на нестабільну стенокардію (НС) віком від 55 до 69 років (середній вік склав 61,6±7,5 роки) - 20 хворих з уперше виниклою стенокардією і 47 хворих з прогресуючою стенокардією та 27 хворих на СС напруги II-III функціональних класів. Контрольну групу (КГ) склали 22 здорові особи.

Діагноз НС встановлювали на підставі загальноприйнятих критеріїв, що запропоновані експертами ВООЗ [3]. В обстеження не включали хворих із серцевою недостатністю ІІ та ІІІ стадії, фібриляцією передсердь, супутніми захворюваннями в стадії декомпенсації, онкологічними захворюваннями, захворюваннями опорно-рухового апарату.

Визначення популяції і субпопуляцій лімфоцитів проводили методом моноклональних антитіл (визначення фенотипування лімфоцитів в тестах розеткоутворення з частинками, покритими моноклональними антитілами CD3+, CD4+, CD8+, CD22+), де CD3+ - популяція Т-лімфоцитів, CD4+ – субпопуляція Т-хелперів, CD8+ - субпопуляція Т-супресорів, CD22+ - популяція В-лімфоцитів. Визначення імуноглобулінів Ig G, A, M та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові проводили за методом Манчіні.

#### Результати дослідження та їх обговорення

Під час порівняння імунологічного статусу хворих зі стабільним перебігом ІХС та нестабільним перебігом ІХС з КГ відповідно виявлено більше достовірних змін за певними показниками у хворих на НС. Результати досліджень наведено в таблиці 1.

При стабільному перебігу ІХС, порівняно з КГ виявлено достовірні зміни тільки за рівнями чотирьох показників: