Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України

Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

РАЙКЕВИЧ ВОЛОДИМИР ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК: 616.381–002–036.11–085:615.38

ДИСЕРТАЦІЯ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ PRP-ТЕРАПІЇ ПРИ ЛІКУВАННІ ТРОФІЧНИХ ВИРАЗОК

222 "Медицина"
22 "Охорона здоров'я"

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело _____ Райкевич В. В.

Науковий керівник – **Кліщ Іван Миколайович**, заслужений діяч науки і техніки України, доктор біологічних наук, професор

Тернопіль – 2026

АНОТАЦІЯ

Райкевич В. В. Експериментальне обґрунтування використання PRP-терапії при лікуванні трофічних виразок. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 “Медицина” (22 “Охорона здоровя”). – Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров’я України. Тернопіль, 2026.

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров’я України, Тернопіль, 2026.

Дисертаційна робота присвячена вирішенню актуального завдання експериментальної патофізіології – встановленню патогенетичних закономірностей розвитку системних і тканинних порушень при трофічній виразці шкіри у щурів і науковому обґрунтуванню ефективності місцевого застосування плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), як патогенетично спрямованого методу корекції виявлених порушень.

Дослідження виконано на білих щурах-самцях лінії Wistar, розподілених на групи інтактного контролю, нелікованої патології та патології з PRP-терапією, з виведенням тварин на 3-тю, 7-му, 14-ту, 21-шу та 28-му добу. Модель трофічної виразки відтворювали за методикою, що передбачала висічення повношарового клаптя з подальшою аплікацією 10-відсоткового розчину хлориду кальцію. Автологічну PRP отримували методом подвійного центрифугування венозної крові тварин і вводили місцево дворазово. Для оцінки стану прооксидантно-антиоксидантної системи, маркерів ендогенної інтоксикації та функціонального стану печінки використано спектрофотометричні біохімічні методики; концентрацію імуноглобулінів визначали методом імуноферментного аналізу; структурні зміни шкіри,

печінки й нирок оцінювали методом світлової мікроскопії гістологічних препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином; статистичну обробку виконано з розрахунком t-критерію Стьюдента, кореляційного та множинного регресійного аналізу.

На основі комплексного динамічного дослідження встановлено цілісну патогенетичну послідовність розвитку системних порушень при експериментальній трофічній виразці шкіри у щурів із максимальною вираженістю всіх ланок процесу на 7–14-ту доби спостереження та неповним відновленням показників до фізіологічної норми навіть на 28-му добу за умов відсутності лікування.

Дослідженням базового патологічного профілю тварин з модельованою трофічною виразкою без лікування встановлено, що еритроцитарний індекс інтоксикації зростає вже на 3-тю добу на 41,6 % відносно контролю, досягає максимуму на 14-ту добу ((95,96 ± 0,88) %; приріст 102,2 %; $p<0,001$) і залишається вірогідно підвищеним на 28-му добу (приріст 59,3 %). Синхронно зростає вміст церулоплазміну (максимальний приріст 263,7 % на 14-ту добу) та обох фракцій молекул середньої маси, при цьому вміст $МСМ_{254}$ нормалізується до 28-ї доби, тоді як $МСМ_{280}$ залишається вірогідно підвищеним (на 20,0 %), що вказує на різну кінетику елімінації ендотоксинів.

Встановлено диференційовану кінетику гуморальної імунної відповіді: максимум IgA (+130,8 %) та IgM (+55,2 %) на 14-ту добу за більш раннього піка IgG на 3-тю добу (+28,4 %). Доведено дисбаланс системи «перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист»: приріст дієнових кон'югатів до 282,9 % і малонового діальдегіду до 154,3 % на 7-му добу супроводжується компенсаторною гіперактивацією супероксиддисмутази (до 134,5 %) та каталази (до 346,2 %) на 14-ту добу на тлі критичного виснаження відновленого глутатіону (–55,9 % на 7-му добу, тобто випереджаючи пік накопичення продуктів пероксидації). Доведено, що гіперферментемія АсАТ (+57,5 %) та АлАТ (+95,1 %) хронологічно повністю збігається з піком

системної ендогенної інтоксикації, що доводить наявність патогенетичної осі «шкіра – ендотоксикоз – печінка».

Порівняльним дослідженням ефективності PRP–терапії кількісно доведено виражений коригувальний ефект місцевого застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, на всі досліджені ланки системних порушень: зниження еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ) на 18,6 % на висоті процесу та на 12,1 % наприкінці спостереження, зменшення гіперпродукції церулоплазміну на 26,8 % на 28-му добу, редукцію компенсаторної гіперактивації антиоксидантних ферментів (зниження активності каталази у 3,1 раза порівняно з нелікованою групою) на тлі прискореного відновлення пулу глутатіону вже з перших діб лікування, а також практично повну нормалізацію активності печінкових трансаміназ до 28-ї доби (АлАТ – (102,18 ± 1,05) Од/л проти контрольних (99,00 ± 1,09) Од/л).

Морфологічними дослідженнями встановлено, що трофічна виразка шкіри без лікування на 3–7-му доби характеризується фібринозно-некротичними нашаруваннями, лейкоцитарною інфільтрацією та деструкцією колагенових волокон дерми; на 14–21-шу доби – формуванням морфологічно незрілого епітелію на тлі хронічного запалення; на 28-му добу – лише «повзучою» неповною епітелізацією з повною втратою пілосебацейних одиниць. Паралельно в печінці виявлено прогресуючі дистрофічно-деструктивні зміни гепатоцитів (дилатація синусоїдів, дискомплексація печінкових балок, мікровезикулярна жирова дистрофія), що на 28-му добу переходять у глибоку дистрофію з явищами некробіозу; у нирках – прогресуюче ураження канальцевого апарату з втратою щіточкової облямівки, деформацією ниркових тілець та появою гіалінових циліндрів. За умов PRP–терапії морфологічна картина шкіри демонструє прискорену динаміку – від ранньої проліферації епітеліоцитів і чіткої демаркаційної зони вже на 3-тю добу до практично повної епітелізації на 14-ту добу та морфологічно зрілого регенерату з відновленою стратифікацією епідермісу, впорядкованою

колагеновою сіткою дерми й активним розвитком волосяних фолікулів на 28-му добу. Аналогічно печінка демонструє раннє відновлення балкової гістоархітектоніки (двоядерні гепатоцити як маркер регенерації вже на 3-тю добу) з практично повною нормалізацією структури на 28-му добу; у нирках відмічено прогресивне відновлення щіточкової облямівки канальців та гемомікроциркуляції з нормалізацією кірково-мозкової диференціації до 21-28-ї доби, що засвідчує виражений нефро- та гепатопротекторний ефект тромбоцитарно збагаченої плазми.

Провдено кореляційно-регресійний аналіз показників і статистично об'єктивізовано патогенетичну єдність досліджуваних систем: встановлено дуже сильний обернений зв'язок між вмістом малонового діальдегіду та відновленого глутатіону ($r = –0,932$; $p < 0,001$), тісні прямі зв'язки в межах ферментної ланки антиоксидантного захисту ($r = 0,90–0,93$), а також між інтегральним показником ендогенної інтоксикації та активністю печінкових трансаміназ ($r = 0,86–0,90$); побудовано регресійну модель прогнозування ступеня виснаження глутатіонового статусу за рівнем малонового діальдегіду (Глутатіон = 0,768 – 0,0609×МДА; $R^2 = 0,868$; $F = 52,62$; $p < 0,001$), яка має самостійне практичне значення для лабораторного моніторингу тяжкості оксидативного стресу. Дістало подальшого розвитку наукове положення про доцільність застосування біотехнологічних препаратів тромбоцитарного походження як патогенетично спрямованого, багатоцільового методу корекції хронічного ранового процесу, здатного одночасно й синергічно впливати на кілька ключових ланок його патогенезу.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у системному патогенетичному обґрунтуванні взаємозв’язку між місцевими та органо–системними порушеннями при експериментальній трофічній виразці шкіри та доведенні високої терапевтичної ефективності плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), як патогенетично спрямованого засобу їх корекції.

Уперше на єдиній експериментальній моделі механо-хімічної трофічної виразки у щурів встановлено цілісну часову та патогенетичну послідовність розвитку системних порушень з деталізацією кінетики їх затухання чи хронізації:

Доведено існування патогенетичної осі «шкіра – ендотоксикоз – печінка», що підтверджується хронологічним збігом піка системного ендотоксикозу (максимум еритроцитарного індексу інтоксикації та ліпопероксидації) з вершиною синдрому цитолізу гепатоцитів. Встановлено диференційовану кінетику елімінації ендотоксинів та імунних комплексів, де нормалізація $МСМ_{254}$ супроводжується збереженням підвищеного рівня $МСМ_{280}$ навіть на 28-му добу нелікованої патології. Розкрито хронологію гуморальної імунної відповіді за умов тривалого ранового процесу: ранній пік IgG передує відтермінованій гіперактивації IgA та IgM на 14-ту добу. Доведено хронологічний розрив між оксидативним пошкодженням і ферментним захистом: критичне виснаження відновленого глутатіону передує максимальній компенсаторній гіперактивації супероксиддисмутази та каталази.

Уперше здійснено комплексне співставлення біохімічних маркерів із паралельним морфологічним моніторингом одразу трьох органів-мішеней (шкіри, печінки та нирок). Доведено, що вогнищеве деструктивне ушкодження шкіри без лікування призводить до прогресуючих системних вісцеральних уражень – некробіотичних змін гепатоцитів та деструкції канальцевого апарату нирок із втратою щіточкової облямівки.

Уперше кількісно доведено та морфологічно верифіковано мультитаргетний коригувальний ефект PRP-терапії: прискорення епітелізації та відновлення повноцінного колагенового каркаса й придатків шкіри; пригнічення ендотоксикозу та швидку елімінацію запального протеолізу; гепато- та нефропротекторний ефекти місцевого застосування PRP з

відновленням балкової гістоархітектоніки печінки, нормалізацією рівня трансаміназ та регенерацією канальцевого епітелію нирок.

Уперше за допомогою математичного кореляційно-регресійного аналізу статистично об'єктивовано патогенетичну єдність порушень між рівнями пероксидації, ендотоксикозу та ферментної ланки (r = 0,86–0,93) і побудовано регресійну модель прогнозування стану глутатіонового резерву за рівнем малонового діальдегіду.

Набуло подальшого розвитку наукове положення щодо доцільності використання біотехнологічних засобів збагаченої тромбоцитами плазми як багатокомпонентного патогенетичного методу лікування хронічних ран, здатного синергічно коригувати як місцеві регенеративні процеси, так і системні вісцеральні ускладнення.

Практичне значення одержаних результатів. Обґрунтовано протокол місцевого застосування PRP (дворазова аплікація 0,5 мл/100 г маси тіла на 1-шу та 3-тю доби, отримання методом подвійного центрифугування) для лікування трофічних виразок. Визначено коло найбільш інформативних лабораторних маркерів (ЕІІ, церулоплазмін, МДА, глутатіон, АсАТ/АлАТ) для моніторингу тяжкості та ефективності лікування, доступних у стандартній клініко-діагностичній лабораторії. Розроблена регресійна модель (R^2=0,868) є додатковим інструментом оцінки тяжкості оксидативного стресу за одним показником, що особливо актуально для закладів охорони здоров'я з обмеженими лабораторно-діагностичними можливостями. Встановлені терміни морфологічного й біохімічного відновлення тканин (початок вираженої позитивної динаміки з 7-ї доби, наближення до фізіологічної норми до 28-ї доби) можуть слугувати орієнтиром для оцінки клінічної ефективності лікування та планування повторних курсів терапії.

Матеріали дисертації рекомендовано для використання в науково-дослідній роботі установ біомедичного профілю та в навчальному процесі

кафедр хірургічного, дерматологічного профілю закладів вищої медичної освіти.

Ключові слова: трофічна виразка, плазма, збагачена тромбоцитами, PRP-терапія, ендогенна інтоксикація, оксидативний стрес, антиоксидантний захист, імунологічний статус, гістоморфологія.

ABSTRACT

Raikevych V. V. Experimental substantiation of the use of PRP-therapy in the treatment of trophic ulcers. – Qualifying scientific work published as a manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy degree in specialty 222 "Medicine" (22 "Health Care"). – I. Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2026.

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2026.

This dissertation is devoted to addressing a relevant task of experimental pathophysiology, namely establishing the pathogenetic patterns of systemic and tissue disorders in experimental skin trophic ulcer in rats and providing a scientific rationale for the efficacy of local application of platelet-rich plasma (PRP) as a pathogenetically targeted method for correcting the identified impairments.

The study was performed on white male Wistar rats divided into intact control, untreated pathology, and PRP-treated pathology groups, with animals euthanized on days 3, 7, 14, 21, and 28. The trophic ulcer model was reproduced via excision of a full-thickness skin flap followed by the application of a 10 % calcium chloride solution. Autologous PRP was obtained by double centrifugation of the animals' venous blood and administered locally twice. Spectrophotometric biochemical techniques were used to evaluate the prooxidant-antioxidant system, endogenous intoxication markers, and liver functional status; immunoglobulin concentrations were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); structural

changes in the skin, liver, and kidneys were assessed by light microscopy of hematoxylin and eosin-stained histological sections; statistical analysis included Student's *t*-test, correlation analysis, and multiple regression analysis.

Based on a comprehensive dynamic study, a complete pathogenetic sequence of systemic disorder development in experimental skin trophic ulcer in rats was established, characterized by the peak severity of all process components on days 7–14 of observation and incomplete recovery of parameters to the physiological norm even by day 28 in the absence of treatment.

Investigation of the baseline pathological profile in animals with modeled untreated trophic ulcer revealed that the erythrocyte intoxication index increases as early as day 3 by 41.6 % relative to the control, peaks on day 14 ((95.96 ± 0.88) %; an increase of 102.2 %; $p < 0.001$), and remains significantly elevated on day 28 (an increase of 59.3 %). Ceruloplasmin levels rise synchronously (a maximum increase of 263.7 % on day 14), as do both fractions of middle-molecule peptides, with MSM_{254} normalizing by day 28, while MSM_{280} remains significantly elevated (by 20.0 %), indicating differential elimination kinetics of endotoxins. A differentiated kinetics of the humoral immune response was established: peak levels of IgA (+130.8 %) and IgM (+55.2 %) occurred on day 14, preceded by an earlier IgG peak on day 3 (+28.4%). An imbalance in the "lipid peroxidation – antioxidant defense" system was demonstrated: an increase in diene conjugates up to 282.9% and malondialdehyde up to 154.3 % on day 7 was accompanied by compensatory hyperactivation of superoxide dismutase (up to 134.5 %) and catalase (up to 346.2 %) on day 14 against a background of critical reduced glutathione depletion (–55.9 % on day 7, preceding the peak accumulation of peroxidation products). Hyperfermentemia of AST (+57.5 %) and ALT (+95.1 %) chronologically fully coincided with the peak of systemic endogenous intoxication, proving the existence of a "skin – endotoxicosis – liver" pathogenetic axis.

A comparative evaluation of PRP therapy efficacy quantitatively proved a pronounced corrective effect of local platelet–rich plasma application on all studied

links of systemic disorders: a reduction in the erythrocyte intoxication index by 18.6 % at the peak of the process and by 12.1 % at the end of observation, a decrease in ceruloplasmin hyperproduction by 26.8 % on day 28, a reduction in compensatory hyperactivation of antioxidant enzymes (a 3.1–fold decrease in catalase activity compared to the untreated group) alongside accelerated recovery of the glutathione pool starting from the initial days of treatment, as well as near-complete normalization of liver transaminase activity by day 28 (ALT – (102.18 ± 1.05) U/L vs. control (99.00 ± 1.09) U/L).

Morphological studies demonstrated that untreated skin trophic ulcer on days 3–7 is characterized by fibrinous-necrotic debris, leukocytic infiltration, and destruction of dermal collagen fibers; on days 14–21, by the formation of morphologically immature epithelium amidst chronic inflammation; and on day 28, only by "creeping" incomplete epithelialization with total loss of pilosebaceous units. Concurrently, progressive dystrophic-destructive changes in hepatocytes were detected in the liver (sinusoidal dilation, trabecular disorganization, microvesicular fatty dystrophy), progressing to profound dystrophy with necrobiosis by day 28; in the kidneys, progressive damage to the tubular apparatus with loss of the brush border, glomerular deformation, and the presence of hyaline casts was observed. Under PRP therapy, skin morphology demonstrated accelerated dynamics-from early epitheliocyte proliferation and a distinct demarcation zone as early as day 3, to near-complete epithelialization by day 14, and a morphologically mature regenerate with restored epidermal stratification, organized dermal collagen framework, and active hair follicle development by day 28. Similarly, the liver showed early restoration of trabecular histoarchitecture (binucleated hepatocytes as a marker of regeneration as early as day 3) with near-complete structural normalization by day 28; the kidneys demonstrated progressive restoration of the tubular brush border and hemomicrocirculation with normalization of corticomedullary differentiation by days 21–28, testifying to a pronounced nephro- and hepatoprotective effect of platelet-rich plasma.

Correlation and regression analyses were performed, statistically objectifying the pathogenetic unity of the studied systems: a very strong inverse relationship was established between malondialdehyde and reduced glutathione content ($r = –0.932$; $p < 0.001$), along with strong direct correlations within the antioxidant enzyme link ($r = 0.90–0.93$) and between the integral index of endogenous intoxication and hepatic transaminase activity ($r = 0.86–0.90$). A regression model for predicting the degree of glutathione depletion based on malondialdehyde levels was constructed Glutathione = $0.768 – 0.0609 \times$MDA; $R^2 = 0.868$; $F = 52.62$; $p < 0.001$), which holds independent practical value for laboratory monitoring of oxidative stress severity. The scientific concept regarding the feasibility of using platelet-derived biotechnological products as a pathogenetically targeted, multi-target method for correcting chronic wound processes-capable of simultaneously and synergistically influencing several key pathogenetic links-has been further developed.

Scientific novelty of the obtained results lies in the systemic pathogenetic substantiation of the relationship between local and organ-systemic impairments in experimental skin trophic ulcer and in proving the high therapeutic efficacy of platelet-rich plasma (PRP) as a pathogenetically targeted tool for their correction.

For the first time on a single experimental model of mechano-chemical trophic ulcer in rats, a complete temporal and pathogenetic sequence of systemic disorder development was established, with detailed kinetics of their resolution or chronicity:

The existence of a "skin – endotoxicosis – liver" pathogenetic axis was proven, supported by the chronological coincidence of the peak of systemic endotoxicosis (maximum erythrocyte intoxication index and lipid peroxidation) with the peak of hepatocyte cytolysis syndrome.

Differential elimination kinetics of endotoxins and immune complexes were established, wherein MSM_{254} normalization is accompanied by persistently elevated MSM_{280} levels even on day 28 of untreated pathology.

The chronology of the humoral immune response under conditions of a prolonged wound process was elucidated: an early peak of IgG precedes the delayed hyperactivation of IgA and IgM on day 14.

A chronological gap between oxidative damage and enzymatic defense was demonstrated: critical depletion of reduced glutathione precedes the maximum compensatory hyperactivation of superoxide dismutase and catalase.

For the first time, a comprehensive comparison of biochemical markers was carried out with parallel morphological monitoring of three target organs simultaneously (skin, liver, and kidneys). It was proven that focal destructive skin injury without treatment leads to progressive systemic visceral damage-necrobiotic changes in hepatocytes and destruction of the renal tubular apparatus with loss of the brush border.

For the first time, the multi-target corrective effect of PRP therapy was quantitatively proven and morphologically verified: accelerated epithelialization and restoration of a full-fledged collagen matrix and skin appendages; suppression of endotoxicosis and rapid elimination of inflammatory proteolysis; and hepato- and nephroprotective effects of local PRP application with restoration of hepatic trabecular histoarchitecture, normalization of transaminase levels, and regeneration of renal tubular epithelium.

For the first time using mathematical correlation and regression analysis, the pathogenetic unity of impairments among lipid peroxidation, endotoxicosis, and enzymatic links ($r = 0.86–0.93$) was statistically objectified, and a regression model for predicting the state of the glutathione reserve based on malondialdehyde levels was constructed.

The scientific concept regarding the feasibility of utilizing platelet-rich plasma biotechnological products as a multi-component pathogenetic method for treating chronic wounds-capable of synergistically correcting both local regenerative processes and systemic visceral complications-has been further developed.

Practical significance of the obtained results. A protocol for the local application of PRP (two-fold application of 0.5 mL/100 g body weight on days 1 and 3, obtained via double centrifugation) for the treatment of trophic ulcers was substantiated. A set of the most informative laboratory markers (erythrocyte intoxication index, ceruloplasmin, MDA, glutathione, AST/ALT) for monitoring disease severity and treatment efficacy-accessible in standard clinical diagnostic laboratories-was defined. The developed regression model serves as an additional tool for evaluating the severity of oxidative stress based on a single parameter, which is particularly relevant for healthcare facilities with limited diagnostic capabilities. The established timelines of morphological and biochemical tissue recovery (onset of marked positive dynamics from day 7, approaching physiological norms by day 28) can serve as guidelines for assessing clinical treatment efficacy and scheduling repeat therapeutic courses. The materials of the dissertation are recommended for use in the research activities of biomedical institutions and in the educational process of surgical and dermatological departments at higher medical education institutions.

Keywords: trophic ulcer, platelet-rich plasma, PRP therapy, endogenous intoxication, oxidative stress, antioxidant defense, immunological status, histomorphology.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Райкевич В. В., Кліщ І. М. Динаміка показників ендогенної інтоксикації, антиоксидантної та імунної системи при модельованій трофічній виразці у щурів. *Медична та клінічна хімія*. 2026. № 1. С. 106–114. DOI: https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/MCC/uk/article/view/16021 *(Здобувачем проведено дослідження, статистичну обробку даних, проаналізовано*

одержані результати, підготовлено статтю до друку; Кліщ І. М. надавав консультативну допомогу)

2. Райкевич В. В., Кліщ І. М. Морфологічна оцінка дезінтеграції гістоархітектоніки шкіри при трофічних виразках. *Перспективи та інновації науки*. 2026. № 3 (61). С. 2626–2641. DOI: https://doi.org/10.52058/2786-4952-2026-3(61)-2626-2641 *(Здобувачем проведено дослідження, проаналізовано одержані результати, підготовлено статтю до друку; Кліщ І. М. надавав консультативну допомогу)*

3. Райкевич В. В., Кліщ І. М. Імуноморфологічні особливості перебігу експериментальної трофічної виразки при застосуванні плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP). *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2026. Т. 25, № 2. С. 81–86. DOI: https://doi.org/10.24061/1727-0847.25.2.2026.22 *(Здобувачем проведено дослідження, статистичну обробку даних, проаналізовано одержані результати, підготовлено статтю до друку; Кліщ І. М. надавав консультативну допомогу)*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

4. Смірнов С. М., Янчевський О. В, Райкевич В. В. Обгрунтування використання стовбурових клітин та prp при лікуванні трофічних виразок (Огляд літератури). *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXVII наук.-практ. конф., присвяченої 170–літньому ювілею Івана Горбачевського (м. Тернопіль, 13–14 червня 2024 р.). Тернопіль : Укрмедкнига, 2024. С. 96–98.

5. Райкевич В. Патогенетичні аспекти розвитку ендотоксикозу та активації вільнорадикальних процесів при атрофічних виразках. *Майбутнє за наукою :* матеріали 30-го Ювілейного конгресу студентів та молодих учених (м. Тернопіль, 31 березня – 3 квітня 2026 р.). Тернопіль : Укрмедкнига, 2026. С. 116.

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень 18

Вступ 19

Розділ 1 Патофізіологічні аспекти хронізації трофічних виразок та біологічне обґрунтування застосування плазми, збагаченої тромбоцитами (огляд літератури) 29

1.1 Епідеміологічні закономірності, медико-соціальне значення та патофізіологічні механізми формування трофічних виразок нижніх кінцівок різного генезу 29

1.2 Сучасні стандарти та підходи до лікування хронічних ран: можливості, критичні обмеження та недоліки традиційних методів 37

1.3 Молекулярно-біологічні властивості плазми, збагаченої тромбоцитами: роль факторів росту та цитокінів у регуляції ранового процесу 44

1.4 Сучасний досвід, суперечливі питання та клініко-експериментальні перспективи застосування PRP-терапії та мезенхімальних стромальних клітин у лікуванні хронічних ран 56

Розділ 2 Матеріали і методи дослідження 65

2.1 Об’єкт дослідження та дизайн експерименту 65

2.2 Методика моделювання трофічної виразки 66

2.3 Структура експерименту 66

2.4 Отримання PRP та протокол її застосування 67

2.5 Оцінка запального процесу, ендогенної інтоксикації та окисно-антиоксидантного балансу 68

2.6 Гістологічні методи 69

2.7 Статистичне опрацювання результатів 69

Розділ 3 Динаміка показників ендогенної інтоксикації та реакцій антиоксидантної та імунної систем при модельованих трофічних виразках 71

3.1 Динаміка показників ендогенної інтоксикації при модельованій трофічній виразці 71

3.2 Динаміка вмісту церулоплазміну в сироватці крові при модельованій трофічній виразці 73

3.3 Динаміка вмісту молекул середньої маси в сироватці крові при модельованій трофічній виразці у щурів 75

3.4 Динаміка змін рівнів імуноглобулінів класів А, М та G у сироватці крові при модельованій трофічній виразці у щурів 78

3.5 Динаміка показників перекисного окиснення ліпідів при модельованій трофічній виразці у щурів 81

3.6 Активність антиоксидантних ферментів при модельованій трофічній виразці шкіри та м'яких тканин у щурів 83

3.7 Активність печінкових трансаміназ при модельованій трофічній виразці шкіри та м'яких тканин у щурів 88

Розділ 4 Вплив плазми, збагаченої тромбоцитами, на процеси ліпоперокисидації, антиоксидантної системи, ендогенної інтоксикації, стан плазматичних мембран та гуморальної ланки імунітету у тварин з експериментальною трофічною виразкою шкіри 93

4.1 Вплив PRP-терапії на показники ендогенної інтоксикації при модельованому трофічному виразковому ураженні шкіри у щурів 93

4.2 Динаміка рівня церулоплазміну при модельованій трофічній виразці шкіри у щурів під впливом PRP-терапії 97

4.3 Динаміка вмісту молекул середньої маси в сироватці крові щурів за умов моделювання трофічної виразки шкіри під впливом PRP-терапії 102

4.4 Вплив PRP-терапії на зміни рівнів імуноглобулінів класів A, M та G у сироватці крові при модельованій трофічній виразці шкіри у щурів 104
4.5 Вплив PRP-терапії на динаміку показників перекисного окиснення ліпідів при модельованій виразці шкіри у щурів 108
4.6 Вплив PRP-терапії на активність антиоксидантних ферментів при модельованій виразці шкіри у щурів 113
4.7 Вплив PRP-терапії на активність трансаміназ у плазмі крові при модельованій виразці шкіри у щурів 120
4.8 Кореляційний аналіз взаємозв'язків досліджуваних показників 126
4.9 Множинний регресійний аналіз 130
Розділ 5 Морфологічна оцінка дезінтеграції гістоархітектоніки шкіри при трофічних виразках та за умов застосування PRP-терапії 135
5.1 Морфологічна оцінка дезінтеграції гістоархітектоніки шкіри при трофічних виразках 135
5.2 Мікроскопічні зміни структурних компонентів печінки при хронічних трофічних виразках та за умов застосування PRP-терапії 147
5.3 Ремоделювання структурних компонентів нирки при хронічних трофічних виразках та за умов корекції 159
Розділ 6 Аналіз та узагальнення результатів дослідження 171
Висновки 184
Список використаних джерел 187
Додатки 210

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза;

АсАТ – аспартамінотрансфераза;

АФК – активні форми кисню;

ДК – дієнові кон’югати

ЕІ – ендогенна інтоксикація;

ЕІІ – еритроцитарний індекс інтоксикації;

ІЗА – імунозапальний індекс;

КТ – каталазна активність;

МДА – малоновий діальдегід;

МСМ – молекули середньої маси;

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів;

СОД – супероксиддисмутаза

ТБК – тіобарбітурова кислота;

Ig – імуноглобулін;

IL – інтерлейкін;

PDGF – тромбоцитарний фактор росту;

PRP – плазма, збагачена тромбоцитами (Platelet–Rich Plasma);

SH–групи – сульфгідрильні групи;

TGF-β – трансформуючий фактор росту–бета;

VEGF – судинний ендотеліальний фактор росту.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Трофічні виразки нижніх кінцівок та інших ділянок тіла продовжують залишатися однією з найбільш складних, соціально значущих і водночас недостатньо вирішених міждисциплінарних проблем сучасної медицини, що перебуває на межі судинної хірургії, ангіології, дерматології, ендокринології, комбустіології та регенеративної медицини. Поширеність хронічних ран серед загальної популяції розвинених країн становить 1,5–2,2 %, а серед осіб віком понад 65 років цей показник зростає до 4–5 % [1, 2], що у зв'язку з тенденцією до старіння населення та невпинним поширенням хронічних неінфекційних захворювань (цукрового діабету, хронічної венозної та артеріальної недостатності) дає підстави прогнозувати подальше зростання кількості таких хворих у найближчі десятиліття. Венозні трофічні виразки становлять від 70 % до 80 % усіх клінічних випадків [1, 3], артеріальні (ішемічні) – 10–20 %, решта припадає на нейротрофічні, змішані, пролежневі та інфекційні дефекти [2, 3]. Особливо несприятливою є категорія пацієнтів із синдромом діабетичної стопи, прижиттєвий ризик розвитку виразкового дефекту в яких сягає 19–34 % [3], а сама патологія є причиною понад 80 % усіх нетравматичних ампутацій нижніх кінцівок у світі.

Медико-соціальний тягар трофічних виразок посилюється хронічним больовим синдромом, персистувальною ексудацією, тривалою непрацездатністю, значними прямими й непрямими економічними витратами системи охорони здоров'я, а також розвитком тривожно-депресивних розладів у понад двох третин хворих. Незважаючи на суттєвий прогрес у розробці стандартів місцевого і системного лікування хронічних ран, частота рецидивування навіть за умов досягнення повної епітелізації залишається надзвичайно високою (60–70 % протягом п'яти років), а класичні методи консервативної терапії часто виявляються недостатньо ефективними через

складний, багатокомпонентний патогенез хронізації ранового процесу, в основі якого лежить тріада: ендотеліальна дисфункція, хронічна тканинна гіпоксія та персистуюча патологічна імунозапальна відповідь [101, 105]. Ключовими молекулярно-клітинними тригерами блокади фізіологічного репаративного каскаду виступають протеолітичний дисбаланс (гіперпродукція матриксних металопротеїназ на тлі дефіциту їх тканинних інгібіторів), недостатність ендогенного ангіогенезу та персистенція бактеріальних біоплівок, що в сукупності підтримують хибне коло хронічного запалення, оксидативного стресу та ендогенної інтоксикації [102, 105, 106].

У цьому контексті особливого наукового і практичного інтересу набуває розробка та експериментальне обґрунтування патогенетично спрямованих методів стимуляції репаративної регенерації тканин, здатних одночасно впливати на кілька ключових ланок хронізації ранового процесу. Одним із таких перспективних біотехнологічних підходів є застосування аутологічної плазми, збагаченої тромбоцитами (Platelet-Rich Plasma, PRP) – біологічного препарату [28], що містить надфізіологічну концентрацію тромбоцитів та цілий спектр факторів росту (тромбоцитарного фактора росту PDGF, трансформувального фактора росту-β, TGF-β, судинного ендотеліального фактора росту VEGF, інсуліноподібного фактора росту-1 IGF-1), цитокінів та інших біологічно активних молекул [28, 101], здатних стимулювати хемотаксис і проліферацію фібробластів, ангіогенез, синтез компонентів позаклітинного матриксу та модуляцію локального імунозапального мікрооточення рани [28, 101, 105]. Попри значну кількість клінічних і доклінічних публікацій щодо ефективності PRP-терапії при різних типах хронічних ран [28, 105], більшість наявних досліджень зосереджені на оцінці окремих, ізольованих ланок патогенезу (переважно клінічної динаміки загоєння або обмеженого кола лабораторних показників), тоді як комплексне, системне вивчення взаємопов'язаних змін ендогенної інтоксикації, оксидативного стресу, антиоксидантного захисту, гуморального імунітету та

функціонально-морфологічного стану віддалених органів-мішеней (печінки, нирок) у динаміці застосування PRP-терапії на єдиній експериментальній моделі, з наступним статистичним підтвердженням виявлених взаємозв'язків, залишається недостатньо висвітленим у сучасній науковій літературі [28, 102, 105, 106, 107]. Це й зумовило актуальність, мету та завдання нашого дисертаційного дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження є частиною планової міжкафедральної науково-дослідної роботи Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України на тему: «Дослідження патогенетичних закономірностей розвитку посттравматичних і запально-дегенеративних ушкоджень органів і систем та їх корекція» (номер державної реєстрації: 0124U000154. Здобувач є співвиконавцем зазначеної науково-дослідної роботи.

Мета дослідження: встановити патогенетичні закономірності розвитку системних і тканинних порушень при експериментальній трофічній виразці шкіри у щурів та експериментально обґрунтувати доцільність застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, як патогенетично спрямованого методу корекції виявлених порушень.

Завдання дослідження:

1. Відтворити адекватну експериментальну модель хронічної трофічної виразки шкіри у щурів та вивчити динаміку показників ендогенної інтоксикації (еритроцитарного індексу інтоксикації, молекул середньої маси, церулоплазміну) на етапах розвитку патологічного процесу.

2. Дослідити динаміку змін гуморальної ланки імунітету (імуноглобулінів класів А, М, G) у сироватці крові тварин із модельованою трофічною виразкою шкіри.

3. Встановити закономірності змін показників перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду) та активності

ферментної (супероксиддисмутази, каталази) і неферментної (відновленого глутатіону) ланок антиоксидантного захисту, а також активності амінотрансфераз (АсАТ, АлАТ) як маркерів функціонального стану печінки в динаміці експериментальної патології.

4. Оцінити коригувальний вплив місцевого застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, на динаміку зазначених показників ендогенної інтоксикації, оксидативного стресу, антиоксидантного захисту та функціонального стану печінки порівняно з нелікованою патологією.

5. Провести патоморфологічне дослідження структурних змін шкіри, печінки та нирок при модельованій трофічній виразці та за умов застосування PRP-терапії на всіх термінах спостереження.

6. Здійснити кореляційно-регресійний аналіз взаємозв'язків між досліджуваними біохімічними показниками з метою статистичного підтвердження патогенетичної єдності виявлених системних порушень.

7. Узагальнити отримані експериментальні дані та сформулювати цілісну патогенетичну концепцію розвитку і корекції трофічної виразки шкіри, обґрунтувавши науково-практичне значення застосування PRP-терапії.

Об'єкт дослідження: трофічні патогенетичні закономірності розвитку системних і тканинних порушень при експериментальній трофічній виразці шкіри.

Предмет дослідження: показники ендогенної інтоксикації та реакція антиоксидантної та імунної систем при модельованих трофічних виразках; особливості впливу PRP-терапії на рівень ендогенної інтоксикації, інтенсивності оксидативних процесів, стан захисних систем організму й імунологічну реактивність у тварин з трофічними шкірними виразками.

Методи дослідження: експериментальний – для відтворення моделі хронічної трофічної виразки шкіри та застосування PRP-терапії за розробленим протоколом; біохімічні – для оцінки стану прооксидантно-антиоксидантної системи (вміст дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду,

активність супероксиддисмутази та каталази, вміст відновленого глутатіону), маркерів ендогенної інтоксикації (еритроцитарний індекс інтоксикації, молекули середньої маси, церулоплазмін) та активності амінотрансфераз (АсАТ, АлАТ) у сироватці крові; імунологічні – для визначення концентрації імуноглобулінів класів A, M, G методом імуноферментного аналізу; гістологічні – для морфологічної верифікації структурних змін шкіри, печінки та нирок із застосуванням світлової мікроскопії забарвлених гематоксиліном та еозином препаратів; статистичні – для варіаційно-статистичної обробки цифрових даних, включаючи кореляційний та регресійний аналіз.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше на основі комплексного динамічного дослідження встановлено цілісну патогенетичну послідовність розвитку системних порушень при експериментальній трофічній виразці шкіри у щурів, яка включає хронологічно узгоджену активацію процесів ендогенної інтоксикації, оксидативного стресу, гуморального імунітету та вторинного функціонально-морфологічного ураження печінки й нирок із максимальною вираженістю всіх ланок процесу на 7–14-ту добу спостереження та неповним відновленням показників до фізіологічної норми навіть на 28-му добу за умов відсутності лікування.

Уперше показано, що інтегральний показник ендогенної інтоксикації (еритроцитарний індекс інтоксикації) при модельованій трофічній виразці зростає вже на 3-тю добу спостереження на 41,6 % відносно контрольних значень, досягає максимуму на 14-ту добу (приріст 102,2 %; $p<0,001$) і залишається вірогідно підвищеним навіть на 28-му добу (приріст 59,3 %), що синхронізовано з динамікою гострофазового білка церулоплазміну (максимальний приріст на 14-ту добу – 263,7 % відносно контролю) та обох фракцій молекул середньої маси, при цьому встановлено різну швидкість нормалізації окремих фракцій ендотоксинів: рівень $МСМ_{254}$ нормалізувався вже до 28-ї доби ($p=0,438$ порівняно з контролем), тоді як $МСМ_{280}$ залишався

вірогідно підвищеним (на 20,0 %; p=0,012), що свідчить про різну кінетику елімінації низько- та середньомолекулярних ендотоксинів.

Уперше встановлено закономірності активації гуморальної ланки імунітету при трофічній виразці шкіри, а саме диференційовану кінетику окремих класів імуноглобулінів: максимальне зростання рівня IgA (на 130,8 % відносно контролю) та IgM (на 55,2 %) зафіксовано на 14-ту добу, тоді як пік концентрації IgG припадав на більш ранній термін (3-тя доба, приріст 28,4 %) з подальшим поступовим, проте неповним зниженням до кінця спостереження, що відображає різну тривалість імунологічної пам'яті окремих класів антитіл у відповідь на персистуючу антигенну стимуляцію з вогнища хронічного ушкодження шкіри.

Отримало подальший розвиток наукове обґрунтування ролі дисбалансу в системі «перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист» у патогенезі хронізації ранового процесу: доведено, що зростання вмісту первинних (дієнові кон'югати, максимальний приріст 282,9 % на 7-му добу) та кінцевих (малоновий діальдегід, максимальний приріст 154,3 % на 7-му добу) продуктів ліпопероксидації супроводжується компенсаторною гіперактивацією ферментної ланки антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази – до 134,5 % від контролю та каталази – до 346,2 % від контролю на 14-ту добу) на тлі прогресуючого виснаження неферментного тіолового пулу – вмісту відновленого глутатіону, мінімальне значення якого зафіксовано вже на 7-му добу експерименту, тобто випереджає за часом пік накопичення продуктів пероксидації.

Уперше отримано нові дані щодо динаміки функціонального стану печінки при трофічній виразці шкіри: встановлено, що гіперферментемія АсАТ та АлАТ хронологічно повністю збігається з піком системної ендогенної інтоксикації та ліпопероксидації, що доводить наявність патогенетичної осі «шкіра – ендотоксикоз – печінка» та системний, а не суто локальний характер деструктивних наслідків трофічної виразки шкіри.

Уперше експериментально доведено та кількісно охарактеризовано виражений патогенетично спрямований коригувальний ефект місцевого застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, на всі досліджені ланки системних порушень: показано достовірне зниження показника ендогенної інтоксикації (на 18,6 % на висоті процесу та на 12,1 % наприкінці спостереження порівняно з нелікованою патологією), зменшення гіперпродукції церулоплазміну (на 26,8 % на 28-му добу), прискорене зниження вмісту продуктів ліпопероксидації, редукцію компенсаторної гіперактивації ферментів антиоксидантного захисту (зниження активності каталази у 3,1 раза на 28-му добу порівняно з нелікованою групою) на тлі прискореного відновлення пулу відновленого глутатіону вже з перших діб лікування, а також практично повну нормалізацію активності печінкових трансаміназ до 28-ї доби спостереження.

Уперше на єдиній експериментальній моделі проведено комплексне зіставлення динаміки біохімічних показників із морфологічною картиною структурних змін одразу трьох органів-мішеней (шкіри, печінки, нирок), що дозволило довести хронологічну та патогенетичну узгодженість місцевих морфологічних і системних лабораторних проявів ранового процесу на всіх його фазах – альтерації, ексудації, проліферації та ремоделювання; показано, що застосування PRP-терапії забезпечує не лише біохімічну, а й морфологічно верифіковану прискорену й структурно повноцінну регенерацію тканин шкіри (з відновленням стратифікації епідермісу, впорядкованого колагенового каркаса дерми та шкірних придатків), а також відновлення гістоархітектоніки печінки і нирок, наближене до інтактної тканини вже на 28-му добу спостереження.

Уперше за допомогою кореляційно-регресійного аналізу статистично об'єктивізовано патогенетичну єдність досліджуваних систем: встановлено дуже сильний обернений кореляційний зв'язок між вмістом малонового діальдегіду та відновленого глутатіону ($r = –0,932$; $p < 0,001$), тісні прямі

зв'язки між активністю ферментів антиоксидантного захисту та вмістом продуктів пероксидації ($r = 0,90–0,93$), а також між інтегральним показником ендогенної інтоксикації і активністю печінкових трансаміназ ($r = 0,86–0,90$); побудовано регресійну модель прогнозування ступеня виснаження глутатіонового статусу за рівнем малонового діальдегіду ($R^2 = 0,868$; $p < 0,001$), яка має самостійне практичне значення для лабораторного моніторингу тяжкості оксидативного стресу.

Дістало подальшого розвитку наукове положення про доцільність застосування біотехнологічних препаратів тромбоцитарного походження як патогенетично спрямованого, багатоцільового методу корекції хронічного ранового процесу, здатного одночасно й синергічно впливати на кілька ключових ланок його патогенезу – локальну тканинну деструкцію, системний оксидативний стрес, ендогенну інтоксикацію та вторинне ураження внутрішніх органів, що розширює наявні уявлення про механізми терапевтичної дії PRP і створює наукове підґрунтя для подальшої клінічної апробації цього методу лікування хворих на трофічні виразки.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані в дисертаційній роботі результати мають як теоретичне, так і прикладне практичне значення для експериментальної та клінічної медицини. Експериментально обґрунтована ефективність місцевого застосування автологічної плазми, збагаченої тромбоцитами, за розробленим протоколом (дворазова аплікація в дозі 0,5 мл на 100 г маси тіла тварини на 1-шу та 3-тю добу від моменту моделювання патології) створює підґрунтя для розробки та вдосконалення клінічних протоколів лікування хворих на трофічні виразки різного генезу з використанням PRP-терапії.

Встановлене коло найбільш інформативних лабораторних маркерів (еритроцитарний індекс інтоксикації, вміст церулоплазміну, малонового діальдегіду, відновленого глутатіону, активність АсАТ і АлАТ), динаміка яких найточніше відображає тяжкість патологічного процесу та ефективність його

корекції, може бути рекомендоване для впровадження в клінічну лабораторну практику з метою об'єктивного моніторингу перебігу ранового процесу та своєчасної корекції лікувальної тактики у хворих на трофічні виразки.

Розроблена та статистично верифікована регресійна модель прогнозування ступеня виснаження антиоксидантного (глутатіонового) резерву організму за рівнем малонового діальдегіду ($R^2 = 0,868$) є економічно доцільним і високоінформативним інструментом для швидкої лабораторної оцінки тяжкості оксидативного стресу без необхідності визначення повного спектра антиоксидантних показників, що є особливо актуальним для закладів охорони здоров'я з обмеженими лабораторно-діагностичними можливостями.

Отримані дані щодо строків та послідовності морфологічного відновлення тканин шкіри, печінки та нирок за умов PRP-терапії можуть бути використані для обґрунтування оптимальних термінів оцінки клінічної ефективності лікування та планування повторних курсів терапії у клінічній практиці.

Результати дослідженням можуть бути використані в навчальному процесі кафедр хірургічного профілю, дерматології, ендокринології закладів вищої медичної освіти України при викладанні розділів, присвячених патогенезу хронічних ран та сучасним методам регенеративної медицини, а також у науково-дослідній роботі установ біомедичного профілю, що займаються вивченням механізмів дії тромбоцитарних біотехнологічних препаратів.

Матеріали дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес на кафедрах патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною, функціональної і лабораторної діагностики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров’я України.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно визначено напрямок і масштаб наукового пошуку, здійснено патентно-інформаційний

аналіз, опрацьовано наукову літературу за темою роботи, сформульовано мету та завдання дослідження. Моделювання трофічної виразки шкіри та інтерпретація біохімічних показників виконані здобувачем особисто. Експериментальну частину роботи реалізовано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Дисертант самостійно опрацював отримані експериментальні дані, сформулював висновки та практичні рекомендації, а також написав усі розділи дисертаційної роботи. У спільних публікаціях ключові ідеї та результати належать здобувачеві; особисті наукові здобутки відображено в актах впровадження.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційного дослідження оприлюднено на підсумковій LXVII науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», присвяченій 170-літньому ювілею Івана Горбачевського (м. Тернопіль, 13–14 червня 2024 року); 30-му Ювілейному конгресі студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою» (м. Тернопіль, 31 березня – 03 квітня 2026 року).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 5 наукових праць, з них 3 статті у фахових виданнях України, 2 публікації у матеріалах науково-практичної конференції та конгресу.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 213 сторінках і складається із вступу, 6 розділів, висновків, списку використаних джерел (162 бібліографічних описів) і додатків. Робота ілюстрована 47 рисунками і містить 24 таблиці. Список використаних джерел і додатки викладено на 26 сторінках.

РОЗДІЛ 1
ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ХРОНІЗАЦІЇ ТРОФІЧНИХ ВИРАЗОК ТА БІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ ПЛАЗМИ, ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Епідеміологічні закономірності, медико-соціальне значення та патофізіологічні механізми формування трофічних виразок нижніх кінцівок різного генезу

Трофічні виразки нижніх кінцівок (ТВНК) на сучасному етапі розвитку медичної науки представляють одну з найбільш складних та невирішених міждисциплінарних проблем, що перебуває на стику судинної хірургії, ангіології, дерматології, ендокринології та регенеративної медицини, яка наразі активно впроваджує новітні біотехнологічні підходи для стимуляції репарації тканин [1, 2, 11]. Актуальність цієї патології та її вагоме медико-соціальне значення чітко окреслюються результатами масштабних епідеміологічних досліджень. У розвинених країнах світу поширеність хронічних ран серед загальної популяції коливається в межах 1,5–2,2 %. Проте цей показник має виражену кореляцію з віком: серед осіб старше 65 років частота виявлення виразкових дефектів зростає до 4–5 %, а за прогнозами демографічних аналітиків, у зв’язку із загальною тенденцією до старіння населення та невпинним поширенням хронічних неінфекційних захворювань, у найближчі десятиліття очікується подальше збільшення кількості таких пацієнтів [1, 2].

Епідеміологічна структура ТВНК демонструє чітке домінування судинних захворювань як первинних тригерів патології. Провідне місце посідають хронічні захворювання вен: венозні трофічні виразки, що формуються на тлі варикозної та посттромботичної хвороб, сукупно становлять від 70 % до 80 % усіх клінічних випадків. Артеріальні, або ішемічні

виразки, патогенетично пов'язані з облітеруючим атеросклерозом, ендартеріїтом або діабетичною макроангіопатією, діагностуються у 10–20 % хворих. Решта випадків розподіляється між нейротрофічними, змішаними (артеріовенозними), пролежневими, токсичними та інфекційними дефектами , лікування яких вимагає розробки комплексних регенераторно-міметичних протоколів [11].

Окрему, найбільш прогностично несприятливу категорію становлять пацієнти із синдромом діабетичної стопи (СДС). За даними міжнародних консорціумів, прижиттєвий ризик розвитку виразкового дефекту у пацієнта з цукровим діабетом становить від 19 % до 34 %. Саме патологія СДС виступає причиною понад 80 % усіх нетравматичних ампутацій нижніх кінцівок у світі, що супроводжується катастрофічно високими показниками післяопераційної летальності, ранньої інвалідизації та тотальної десоціалізації хворих [3]. Медико-соціальний тягар ТВНК посилюється хронічним больовим синдромом, персистувальною ексудацією, неприємним запахом та різким обмеженням мобільності пацієнтів, що призводить до розвитку глибоких тривожно-депресивних розладів у понад двох третин хворих [1, 4]. Модифікація локального ранового середовища та скорочення термінів епітелізації за допомогою сучасних автологічних концентратів тромбоцитів розглядається як один із найбільш перспективних шляхів подолання цієї кризи [11, 12].

Додатковим викликом для системи охорони здоров'я є схильність ТВНК до рецидивування: навіть за умов досягнення повної епітелізації венозних ран частота їх повторного відкриття протягом 5 років становить 60–70 %, а за відсутності радикальної хірургічної або компресійної корекції макрогемодинаміки цей показник перевищує 80 %. Така стійкість патологічного процесу зумовлює гостру потребу у глибокому вивченні клітинних механізмів тканинної регенерації та розробці чітко стандартизованих біотехнологічних протоколів локальної терапії [12, 13]. З

патофізіологічного погляду трофічна виразка не є самостійною нозологічною формою, а є інтегральним деструктивним фіналом тривалих патологічних процесів, який свідчить про повне виснаження компенсаторно-адаптаційних та біоенергетичних ресурсів тканин. Перехід гострої рани у хронічну форму та її тривала зупинка, або «застрягання», у персистуючій фазі запалення обумовлені формуванням специфічного, патологічно зміненого локального мікрооточення. Ключовою фундаментальною ланкою цього процесу виступає тріада: ендотеліальна дисфункція, хронічна тканинна гіпоксія та персистуюча імунна відповідь [5, 14]. При венозному генезі виразок пусковим механізмом є розвиток стійкої венозної гіпертензії, яка виникає внаслідок клапанної недостатності, рефлюксу крові чи оклюзії глибоких вен. Підвищення гідростатичного тиску в мікроциркуляторному руслі запускає каскад мікросудинних розладів: капіляри подовжуються, стають звивистими, різко зростає проникність судинної стінки. Це призводить до масивної екстравазації рідкої частини крові, плазмових білків та еритроцитів в інтерстицій. Полімеризація екстравазального фібриногену призводить до формування щільних «фібринових манжет» навколо капілярів, що створює потужний фізичний бар’єр для дифузії кисню та поживних речовин до клітин. Одночасно з цим руйнування еритроцитів супроводжується вивільненням вільного заліза, яке виступає потужним прооксидантом та індуктором хронічного запалення.

Важливим феноменом венозної гіпертензії є так званий «лейкоцитарний трапінг» (утримання лейкоцитів): зниження швидкості зсуву крові в розширених капілярах активує молекули адгезії (ICAM-1, VCAM-1, E-селектин) на ендотеліоцитах, що зумовлює прилипання нейтрофілів і моноцитів, їх активацію та подальшу дегрануляцію прямо в судинному руслі та навколосудинному просторі. Наслідком цього стає неконтрольований протеоліз та блокування природного заживлення, що диктує необхідність застосування автологічних концентратів тромбоцитів, параметри та стандартизація класифікації яких активно вивчаються у сучасній

регенеративній медицині [15, 16]. На противагу венозному патогенезу, при артеріальній недостатності деструкція тканин запускається механізмом критичного зменшення припливу крові.

Оклюзійно-стенотичні ураження магістральних артерій зумовлюють падіння перфузійного тиску нижче критичного рівня, необхідного для підтримання життєдіяльності клітин. Виникає виражена ішемія, яка призводить до миттєвого блокування аеробного дихання та мітохондріального окисного фосфорилювання в клітинах. Клітини переходять на анаеробний гліколіз, що супроводжується швидким виснаженням запасів аденозинтрифосфату (АТФ), накопиченням лактату та розвитком локального внутрішньо- та позаклітинного ацидозу. В умовах дефіциту енергії порушується робота іонних насосів плазматичних мембран, виникає перевантаження цитозолю іонами кальцію, що активує внутрішньоклітинні лізосомальні ферменти (протеази, фосфоліпази) та запускає механізми некрозу й апоптозу ендотеліоцитів, фібробластів і кератиноцитів. Для нівелювання цих деструктивних процесів та регенераторного захисту зазначених клітинних популяцій патогенетично обґрунтованим є локальне застосування автологічних концентратів тромбоцитів, клітинні механізми дії та цитопротекторний потенціал яких виступають об'єктом сучасних біотехнологічних досліджень [17].

При цукровому діабеті описані судинні та ішемічні механізми химерно переплітаються з явищами вираженої периферичної сенсомоторної та автономної нейропатії на тлі хронічної гіперглікемії. Глюкозотоксичність та накопичення кінцевих продуктів прискореного глікування (AGEs) руйнують vasa nervorum, викликаючи демієлінізацію нервових волокон. Втрата больової і тактильної чутливості призводить до постійної неконтрольованої мікротравматизації стопи, а порушення вегетативної регуляції викликає ангідроз, розтріскування шкіри та відкриття артеріовенозних шунтів, які «обкрадають» нутрієнтне капілярне русло, поглиблюючи ішемію за

нормального магістрального кровотоку. Таке критичне збіднення локальної мікроциркуляції блокує надходження ендогенних репаративних субстратів, що робить патогенетично необхідним застосування зовнішніх біоактивних концентратів, здатних стимулювати неоангіогенез та клітинну проліферацію за рахунок дегрануляції тромбоцитарних факторів [18, 19].

Незважаючи на відмінності в початкових етапах, усі описані патогенетичні шляхи сходяться в єдиній точці – формуванні персистуючої, неконтрольованої фази запалення, яка блокує фізіологічний регенераторний каскад і перетворює рану на хронічну виразку. У нормі фаза запалення триває кілька діб, після чого запальний клітинний інфільтрат елімінується, поступаючись місцем процесам проліферації, неоангіогенезу та регенерації. У хронічній виразці цей перехід є заблокованим через три базові молекулярно-клітинні тригери хронізації: протеолітичний дисбаланс, дефіцит ендогенних стимуляторів ангіогенезу та стійку персистенцію бактеріальних біоплівок, які сукупно підтримують хибне коло тканинної деструкції [20–22].

Протеолітичний дисбаланс є наслідком безперервного хемотаксису та активації нейтрофілів і макрофагів у зоні дефекту. Ці клітини секретують колосальну кількість прозапальних цитокінів, зокрема інтерлейкінів (IL-1beta, IL-6, IL-8) та фактора некрозу пухлин-alpha (TNF-alpha). Під впливом такого цитокінового пресингу клітини рани починають гіперпродукувати матриксні металопротеїнази, переважно колагенази (MMP-1, MMP-8) та желатиназу (MMP-9), а також нейтрофільну еластазу. У фізіологічних умовах активність цих ферментів жорстко контролюється тканинними інгібіторами металопротеїназ (TIMPs). Проте в мікрооточенні хронічної виразки баланс зміщується в бік протеолізу: концентрація MMP зростає в десятки та сотні разів на тлі відносного або абсолютного дефіциту TIMPs.

Цей «протеолітичний вибух» призводить до того, що новоутворені молекули колагену, фібронектину та вітронектину руйнуються швидше, ніж фібробласти встигають їх синтезувати. Ба більше, надлишок протеаз

розщеплює компоненти базальної мембрани, руйнує рецептори до факторів росту на поверхні збережених клітин та безпосередньо деградує самі ендогенні фактори росту, позбавляючи тканини стимулів до поділу та міграції [23, 24].

Дефіцит ендогенного ангіогенезу в патогенетичному ракурсі хронічної рани виглядає парадоксально, оскільки гіпоксія є класичним стимулятором судинного росту. За нормальних умов гіпоксія активує транскрипційний фактор HIF-1alpha, який запускає синтез судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) та фактора росту фібробластів (FGF).

Проте в патологічному мікрооточенні ТВНК цей механізм виявляється повністю здепресованим. По-перше, тривалий оксидативний стрес та висока концентрація вільних радикалів кисню індукують передчасне старіння (реплікативне старіння) місцевих фібробластів та ендотеліоцитів, роблячи їх рефрактерними до будь-яких стимулювальних сигналів. По-перше, навіть ті молекули VEGF та FGF , які виділяються клітинами, миттєво піддаються ферментному розщепленню згаданими вище металопротеїназами та еластазою. Як наслідок, у хронічній рані зупиняється формування нових капілярів, відсутній приплив кисню та поживних речовин, що робить неможливим утворення повноцінної грануляційної тканини та блокує процеси епітелізації з країв рани [21, 22].

Персистенція високорезистентних бактеріальних біоплівок виступає третім, найважливішим чинником, який остаточно замикає хибне коло хронізації процесу. Понад 80% хронічних виразок колонізовані не поодинокими планктонними бактеріями, а складноорганізованими мікробними асоціаціями, зануреними у вироблений ними самими захисний полімерний матрикс (екзополісахаридний екзудат). Біоплівка надійно захищає патогени від дії факторів гуморального та клітинного імунітету макроорганізму (антитіл, системи комплементу, фагоцитів), а також підвищує їхню стійкість до системних і топічних антибактеріальних препаратів у сотні разів. Нейтрофіли, намагаючись знищити біоплівку, мігрують до рани, проте

не здатні пенетрувати її матрикс і фагоцитувати бактерії. Внаслідок цього відбувається так званий «фрустрований фагоцитоз»: масово гинучи на поверхні біоплівки, імунні клітини вивільняють у навколишнє середовище нові порції лізосомальних ферментів, агресивних інтермедіатів кисню та прозапальних медіаторів.

Це забезпечує постійний приплив нових хвиль запальних клітин, підтримуючи високий рівень альтерації та деструкції навколишніх тканин, повністю виключаючи можливість переходу рани до фази проліферації та провокуючи розвиток вираженого локального і системного оксидативного стресу з накопиченням токсичних продуктів ліпопероксидації [25].

Окреслена патогенетична незавершеність існуючих стандартів лікування, які переважно спрямовані на макрогемодинамічну корекцію (флебектомія, ендоваскулярні втручання, компресійна терапія) або механічне та антисептичне очищення рани, демонструє обмежений терапевтичний потенціал, оскільки вони не здатні нівелювати базові молекулярно-клітинні тригери хронізації на мікрорівні. Це обґрунтовує гостру необхідність зміни вектора медичного пошуку та впровадження наукомістких технологій регенеративної медицини, заснованих на використанні автологічних концентратів біоактивних молекул для спрямованої репарації дефектів [26, 27].

Застосування біоінженерних матриксів, безклітинних дериватів, стовбурових клітин та спрямованого таргетного впливу на молекули-регулятори ранового мікросередовища дозволить безпосередньо модифікувати локальний цитокіновий та протеолітичний профіль, деструктувати бактеріальні біоплівки, ресенситизувати клітини до факторів росту й трансформувати хронічний деструктивно-запальний процес [23] у фізіологічно контрольоване відновлення анатомічної та функціональної архітектоніки м'яких тканин за допомогою автологічних факторів регенерації [28].

Таким чином, узагальнення сучасних епідеміологічних та клініко-патофізіологічних даних дозволяє констатувати, що трофічні виразки нижніх

кінцівок є масштабною медико-соціальною проблемою, поширеність якої неухильно зростає зі старінням популяції та збільшенням частоти судинної й ендокринної патології. Незважаючи на різне етіологічне походження (венозне, артеріальне чи діабетичне), хронізація виразкових дефектів підпорядковується єдиному патогенетичному вектору. Ключовим бар'єром на шляху до успішної регенерації є формування специфічного, стійкого до стандартної терапії патологічного мікрооточення рани.

Замість фізіологічного переходу до фаз проліферації та епітелізації, рановий процес стабільно «застрягає» у персистуючій фазі запалення. Цей патологічний стан підтримується трьома взаємопов'язаними молекулярно-клітинними чинниками: критичним протеолітичним дисбалансом із руйнацією міжклітинного матриксу через гіперпродукцію матриксних металопротеїназ, глибоким пригніченням процесів ендогенного ангіогенезу в умовах хронічної тканинної гіпоксії та персистенцією високорезистентних бактеріальних біоплівок, які стимулюють безперервну альтерацію тканин.

Окреслена незавершеність існуючих стандартів лікування, орієнтованих переважно на корекцію макрогемодинаміки та симптоматичний топічний догляд, обґрунтовує стратегічну необхідність зміни вектора медичного пошуку. Пріоритетним напрямом сучасної ангіохірургії та комбустіології стає розробка наукомістких технологій регенеративної медицини, здатних безпосередньо модифікувати локальний мікропрофіль виразки, розірвати хибне коло запалення та трансформувати хронічний деструктивний процес у фізіологічне відновлення архітектоніки м'яких тканин.

У цьому контексті найбільш патогенетично виправданим, безпечним та доступним методом клітинно-опосередкованої стимуляції є застосування автологічної плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP). Завдяки здатності виступати в ролі депо надфізіологічних концентрацій поліпептидних сигнальних молекул (PDGF, TGF-beta, VEGF, bFGF), PRP-терапія дозволяє

подолати регенераторне «старіння» резидентних клітин, ініціювати мітогенез фібробластів та локальний капілярогенез у перивиразковій зоні.

Проте, незважаючи на вагомий клінічний потенціал, аналіз світових результатів виявляє суттєві наукові прогалини: повну відсутність міжнародної та вітчизняної стандартизації лабораторних протоколів сепарування крові, значні коливання кінцевої концентрації тромбоцитів, а також гостру наукову дискусію щодо доцільності збереження чи елімінації лейкоцитарної фракції (L-PRP проти P-PRP) в умовах хронічного протеолітичного стресу рани. Крім того, у найбільш торпідних випадках ізольована PRP-терапія демонструє обмежену тривалість дії, що вимагає її патогенетичного порівняння та інтеграції з передовими високотехнологічними клітинними продуктами, зокрема мезенхімальними стромальними клітинами (МСК), які володіють вираженим імуномодулюючим та адаптивним паракринним ефектом.

Зазначені суперечності, необхідність чіткого з'ясування дозозалежних ефектів клітинних компонентів тромбоцитарних концентратів, а також потреба в розробці експрес-технологій «біля ліжка хворого» (Point-of-Care) обґрунтовують доцільність нашого власного експериментального дослідження. Воно спрямоване на встановлення фундаментальних закономірностей репаративного гістогенезу залежно від клітинного профілю, архітектоніки та кінетики вивільнення факторів росту різних фракцій PRP, що дозволить оптимізувати і стандартизувати біотехнологічні підходи до лікування трофічних виразок нижніх кінцівок.

1.2 Сучасні стандарти та підходи до лікування хронічних ран: можливості, критичні обмеження та недоліки традиційних методів

Сучасна медична парадигма трактує трофічні виразки нижніх кінцівок (ТВНК) не як ізольоване локальне ураження покривних тканин, а як деструктивну маніфестацію глибоких системних, регіонарних судинних,

неврологічних та метаболічних патофізіологічних порушень, серед яких особливе місце посідають хронічна гіперглікемія та зумовлена нею дисфункція клітинних структур [30]. Поліетіологічна природа цих хронічних ран зумовлює високу складність їхнього курування. Провідне місце в структурі патології посідає термінальна стадія хронічних захворювань вен (клас С6 за міжнародною класифікацією CEAP), що становить 70–80 % випадків, а також облітеруючі захворювання периферичних артерій та синдром діабетичної стопи, де ключовим фактором деструкції виступає індукований діабетом оксидативний стрес [31, 32]. Незважаючи на впровадження стандартизованих міжнародних протоколів, лікування ТВНК характеризується торпідним перебігом, низькою швидкістю епітелізації та вкрай високою частотою рецидивування, яка досягає 30–60 % протягом першого року після закриття дефекту. Це диктує гостру потребу в критичному аналізі можливостей та обмежень чинних методів і обґрунтовує необхідність пошуку біотехнологічних рішень, зокрема використання клітинних секретомів та паракринних факторів тромбоцитарного походження [34].

Базовий алгоритм локального менеджменту хронічної рани сьогодні ґрунтується на концепції підтримання оптимального вологого мікросередовища (протокол TIME), яка остаточно замінила застарілу практику висушування рани під марлевими пов'язками. Проте ефективність цих заходів часто нівелюється локальним дисбалансом молекулярних регуляторів, активацією вільнорадикальних процесів та деградацією позаклітинного матриксу, що вимагає таргетного біохімічного контролю ранового ложа [38, 39].

Чинні стандарти локального менеджменту передбачають диференційоване використання інтерактивних покриттів (гідрогелів, альгінатів, поліуретанових пін та колагенових матриксів), дія яких спрямована на контроль ранового середовища та блокування надлишкової активності желатиназ (ММР-2, ММР-9), що запобігає неконтрольованій деградації компонентів позаклітинного матриксу [40–42]. У сфері топічної

антимікробної терапії відбувся перехід до біосумісної санації з використанням поверхнево-активних антисептиків та покриттів із наночастинками срібла, впровадження яких обґрунтоване сучасними дослідженнями механізмів цитопротекції та оптимізації локального клітинного мікрооточення [43, 45]. Паралельно з топічною терапією невід'ємною ланкою є корекція системних етіологічних чинників: еластична компресія, вазоактивні препарати та розвантаження стопи, які мають на меті не лише гемодинамічний ефект, а й патогенетичне зниження титру прозапальних цитокінів IL-1\beta, TNF-\alpha, ліквідацію ендотеліальної дисфункції та нормалізацію клітинного метаболізму, порушеного внаслідок судинної чи ендокринної патології [47–51]. Еволюція хірургічного та біотехнологічного компонентів продемонструвала необхідність поєднання мініінвазивної корекції макрогемодинаміки з високотехнологічними методами локальної стимуляції репарації, де провідне місце посідає застосування автологічних концентратів, здатних трансформувати хронічний деструктивний процес у фізіологічне загоєння [55, 57].

Як додаткові методи стимуляції репарації в сучасній практиці застосовують терапію негативним тиском (NPWT) та аутологічну багату на тромбоцити плазму (PRP). Доцільність інтеграції цих біотехнологічних підходів у стандарти лікування зумовлена значною поширеністю торпідних виразок серед пацієнтів старших вікових груп, високим ризиком інвалідизації хворих, а також можливістю ефективного нівелювання больового синдрому та маркерів ендогенної інтоксикації, що супроводжують хронічний рановий процес [58–61].

Проте, попри значну диверсифікацію та уявну технологічність цього арсеналу, реальна клінічна ефективність лікування ТВНК практично досягла свого плато через низку критичних патофізіологічних, біомеханічних та методологічних обмежень традиційних підходів. Проведений глибокий аналіз діючих терапевтичних та хірургічних алгоритмів дозволяє чітко

диференціювати потенціал та недоліки кожного з них у розрізі молекулярно-клітинних процесів рани.

Локальні інтерактивні ранові покриття (гідрогелі, поліуретанові піни, альгінати), попри свою високу сорбційну та гідробалансуючу здатність, виконують виключно симптоматичну роль. Головне обмеження цих засобів полягає в тому, що вони є пасивними регуляторами середовища: вони абсорбують екссудат та дещо знижують концентрацію вільних протеаз за рахунок сорбції, проте жодним чином не модифікують первинне джерело хронічного запалення. Їхнє застосування вимагає безперервного моніторингу та частої зміни залежно від динаміки рани, що за умов високої вартості сучасних атравматичних пов'язок створює значний економічний тягар. Патофізіологічною причиною їхньої кінцевої неефективності є неспроможність вплинути на глибокі порушення тканинного метаболізму та безсилість проти зрілих бактеріальних біоплівок, які залишаються інтактними під шаром будь-якого гідрогелю.

Еластична компресійна терапія (бандажі короткої розтяжності, медичний трикотаж) має високий рівень докадовості у лікуванні венозних виразок, оскільки ефективно усуває макрогемодинамічний рефлюкс, зменшує набряк та локально знижує прозапальний пул інтерлейкінів. Проте цей метод має жорсткі гемодинамічні обмеження та є категорично протипоказаним пацієнтам із супутньою артеріальною недостатністю при зниженні кісточково-плечового індексу (КПІ) менше 0,6. Спроба застосування компресії у цієї категорії хворих неминуче призводить до критичного перекриття колатерального припливу крові та розвитку гострого некрозу тканин. Крім того, серйозним недоліком залишається низький комплаєнс: стійкий больовий синдром, ексудативні дерматози, виражений свербіж та температурний дискомфорт у літній період змушують понад 40% пацієнтів самовільно порушувати режим компресії, що нівелює весь попередній терапевтичний ефект.

Системна та локальна антибіотикотерапія демонструє повну терапевтичну неспроможність у закритті хронічних виразок і має застосовуватися виключно при гострих інфекційних ускладненнях (флегмона, бешиха, сепсис). Головним недоліком є те, що традиційні антибактеріальні агенти розраховані на знищення планктонних форм мікроорганізмів, тоді як у ложі ТВНК бактерії існують у вигляді високоструктурованих біоплівок. Щільний екзополісахаридний матрикс біоплівки обмежує дифузію антибіотиків, у результаті чого їхня концентрація в глибоких шарах падає нижче мінімальної пригнічувальної. Це не лише унеможливлює ерадикацію патогенів, а й патофізіологічно стимулює селекцію штамів із множинною антибіотикорезистентністю, додатково виснажуючи місцевий імунітет.

Методи хірургічної реваскуляризації та флебектомії (зокрема малоінвазивні ЕвЛК, РЧА, балонна ангіопластика) спрямовані на радикальне усунення етіологічного фактора на макрогемодинамічному рівні – відновлення магістрального припливу чи ліквідацію венозного застою. Проте клінічний досвід доводить, що навіть технічно бездоганно виконане втручання не є гарантією швидкого закриття виразки. Недолік полягає в тому, що відновлення макротоку крові не здатне миттєво реконструювати зруйновану мікроциркуляторну сітку та нормалізувати клітинний метаболізм. Локальні тканини навколо виразки залишаються в стані хронічної ішемії та дистрофії через глибокі структурні зміни капілярів, що підтримує тривале існування виразкового дефекту навіть після усунення первинної судинної причини.

Апаратна терапія негативним тиском (NPWT) та застосування аутологічної багатої на тромбоцити плазми (PRP) є значним кроком уперед, оскільки забезпечують постійну евакуацію ексудату, зменшують інтерстиціальний набряк та постачають у рану депо ендогенних факторів росту (PDGF, VEGF). Проте критичним обмеженням NPWT є неможливість її використання при невирішеній магістральній ішемії кінцівки та потреба у постійному перебуванні пацієнта в стаціонарі через прив'язку до дорогого

обладнання. З патофізіологічного погляду головна причина обмеженої ефективності PRP та NPWT криється в тому, що клітини-мішені (фібробласти та кератиноцити) в ложі хронічної рани перебувають у стані реплікативного старіння, через що вони втрачають рецептори до факторів росту та стають абсолютно нечутливими до будь-якої екзогенної біостимуляції.

Головною нерозв'язаною фундаментальною проблемою традиційних підходів є ігнорування фенотипу клітинного старіння (*cellular senescence*) резидентних клітинних популяцій у ложі хронічної рани [69]. Тривалий оксидативний стрес, персистувальна гіпоксія та прозапальний цитокіновий пресинг переводять місцеві фібробласти та кератиноцити у незворотний стан арешту клітинного циклу. Ці скомпрометовані клітини повністю втрачають свій міграційний та реплікативний потенціал, ба більше – вони набувають вираженого прозапального секреторного фенотипу (senescence-associated secretory phenotype, SASP), самостійно підтримуючи деструкцію позаклітинного матриксу через паракринну гіперсекрецію матриксних металопротеїназ, прозапальних інтерлейкінів та хемокінів [70]. Крім того, традиційні методи санації виявляються патогенетично неспроможними проти феномену «фрустрованого фагоцитозу», коли ефекторні імунні клітини макроорганізму, намагаючись елімінувати зрілі бактеріальні біоплівки, масово гинуть шляхом ефероцитарного збою та некроптозу, вивільняючи додаткові порції лізосомальних ферментів, агресивних гідролаз та активних форм кисню, що запускає каскад вільнорадикальних реакцій і незворотно поглиблює вторинну альтерацію та системний оксидативний стрес [25].

Окреслена патогенетична незавершеність чинних лікувальних алгоритмів та стабільно висока частота рецидивування захворювання зумовлюють об'єктивну необхідність кардинальної зміни вектора медичного пошуку. Пріоритетним і стратегічно виправданим напрямом сучасної

ангіології та судинної хірургії є розробка й упровадження наукоємних технологій регенеративної медицини [26–28].

Застосування біоінженерних тривимірних матриксів-скаффолдів, клітинних дериватів (молекулярно-транспортних екзосом), молекулярно-генетичного профілювання рани в режимі реального часу та таргетних засобів біохімічної деструкції мікробних біоплівок дозволить безпосередньо модифікувати локальний мікроокружний профіль. Це відкриває реальні можливості для подолання рефрактерності клітин до ендогенних сигналів проліферації, розриву хибного кола хронічного запалення та трансформації деструктивно-ішемічного процесу у фізіологічне відновлення анатомічної архітектоніки м'яких тканин.

Таким чином, сучасна парадигма лікування трофічних виразок нижніх кінцівок еволюціонувала від етапного симптоматичного догляду до патогенетично обґрунтованої мультидисциплінарної стратегії. Проте терапевтичний потенціал існуючих стандартних консервативних та хірургічних методів практично досяг свого плато, що підтверджується стабільно високим відсотком рецивидування, тривалим терміном госпіталізації та хронізацією процесу. Найбільш вразливими ланками сучасної курації пацієнтів залишаються відсутність системного урахування фенотипу локального клітинного старіння (*SASP*), висока резистентність мікробних асоціацій у формі біоплівок та брак об'єктивних високотехнологічних критеріїв прогнозування перебігу ранового процесу. Окреслені обмеження визначають пріоритетність подальших світових наукових пошуків, спрямованих на розробку персоналізованих методів біотерапії, клітинних технологій (зокрема, використання мезенхімальних стромальних клітин та їх паракринних факторів) та систем цифрового моніторингу, що дозволить принципово підвищити ефективність надання медичної допомоги та покращити якість життя цієї складної категорії пацієнтів.

1.3 Молекулярно-біологічні властивості плазми, збагаченої тромбоцитами: роль факторів росту та цитокінів у регуляції ранового процесу

Системний аналіз результатів сучасних експериментальних та фундаментальних клінічних досліджень свідчить, що лікування хронічних ран різної етіології – до яких традиційно відносять діабетичні виразки стопи, трофічні виразки венозного та артеріального генезу, а також тривало невиліковні пролежні – залишається однією з найбільш складних, медико-соціально обтяжливих та вартісних проблеми сучасної регенеративної медицини та пластичної хірургії [76]. Особливістю патоморфологічної картини таких ранових дефектів є їх тривала персистенція у фазі хронічного запалення, зумовлена порушенням клітинної проліферації, вираженою локальною гіпоксією, мікроциркуляторними розладами та дисбалансом між процесами анаболізму та катаболізму позаклітинного матриксу [77].

За останні два десятиліття прискіпливу увагу дослідників у всьому світі привертає застосування збагаченої тромбоцитами плазми ((Platelet-Rich Plasma, PRP) як ефективного засобу для прискорення загоєння ран, оскільки в експериментах *in vitro* на кератиноцитах лінії HaCaT доведено її здатність стимулювати швидку міграцію клітин та зумовлювати ап-регуляцію (підвищення експресії) важливих регуляторів клітинного циклу – цикліну А та CDK4 [78].

Крім того, у клінічній практиці значний терапевтичний потенціал демонструє використання не лише автологічної, а й алогенної (донорської) плазми, збагаченої тромбоцитами, яка зарекомендувала себе як ефективний та безпечний ад'ювантний метод локальної терапії у комплексному лікуванні пацієнтів із хронічними ранами [79].

Фундаментальне молекулярне обґрунтування регенераторного ефекту PRP базується на прецизійній взаємодії цих сигнальних молекул із мембранними тирозинкіназними рецепторами клітин-мішеней у рані, що

запускає внутрішньоклітинні каскади (транскрипційні шляхи MAPK/ERK, PI3K/Akt та Smad), відповідальні за три ключові репаративні процеси: неоангіогенез, клітинну проліферацію та колагеногенез.

Молекулярний механізм індукції ангіогенезу за допомогою PRP є багатокомпонентним та спрямований на відновлення мікроциркуляторного русла в умовах хронічної тканинної гіпоксії. Головним медіатором цього процесу виступає судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), що вивільняється тромбоцитами у високій концентрації. VEGF селективно зв'язується з рецепторами VEGFR-1 та VEGFR-2 на ендотеліоцитах капілярів, що ініціює фосфорилювання внутрішньоклітинних доменів і запускає каскад проліферації та міграції судинних клітин. Цей ефект синергічно посилюється основним фактором росту фібробластів (bFGF), який стимулює утворення нових капілярних трубок, та тромбоцитарним фактором росту (PDGF, представленим ізоформами AA, BB та AB). PDGF виконує критичну роль на фінальних етапах ангіогенезу: він виступає потужним хемоаттрактантом та мітогеном для перицитів і гладком'язових клітин, які мігрують до новоутворених ендотеліальних трубок, стабілізують їхні стінки та формують функціонально зрілі, резистентні до регресу мікросудини.

Таким чином, PRP здатна суттєво підвищувати ангіогенний потенціал стовбурових клітин, отриманих з жирової тканини, а також стимулювати ендотеліальні клітини шкірних мікросудин (зокрема після радіаційного опромінення), що забезпечує відновлення мікроциркуляторного русла та перфузії в ушкоджених зонах [80, 82].

Клітинна проліферація та міграція в ложі виразки під дією PRP активуються за рахунок відновлення рецепторного сигналу, здепресованого хронічним запаленням. PDGF та bFGF виступають первинними мітогенами для клітин мезенхімального походження. Зв'язуючись із відповідними рецепторами (PDGFR- alpha та PDGFR-beta), вони індукують рекрутування і хемотаксис моноцитів, макрофагів і фібробластів із перифокальних

тканин безпосередньо в зону дефекту. Одночасно з цим епідермальний фактор росту (EGF) та фактор росту кератиноцитів (KGF), що містяться у мікрооточенні PRP, координують процеси крайової епітелізації. Вони безпосередньо стимулюють проліферацію та горизонтальну міграцію базальних кератиноцитів по поверхні утвореного грануляційного матриксу, що забезпечує швидке відновлення бар'єрної функції шкіри та закриття рани [83].

Колагеногенез та ремоделювання екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ) регулюються переважно через механізми дії трансформуючого фактора росту бета (TGF-beta 1 та TGF-beta 2), який є ключовим анаболічним цитокіном у складі PRP. TGF-beta зв'язується з гетеротетрамерним рецепторним комплексом на поверхні фібробластів, активуючи фосфорилювання білків Smad2/3, які транспортуються в ядро клітини й безпосередньо індукують транскрипцію генів, відповідальних за синтез структуроутворювальних протеїнів. Це призводить до масивного вироблення фібробластами колагену I та III типів, фібронектину, вітронектину та глікозаміногліканів.

Крім стимуляції анаболізму, TGF-beta одночасно пригнічує катаболізм матриксу: він блокує транскрипцію матриксних металопротеїназ (MMP) та стимулює експресію їхніх тканинних інгібіторів (TIMPs). Ефективність таких підходів підтверджена в експериментальних дослідженнях: зокрема, на моделях затримки загоєння ран у тварин було продемонстровано потенціал клітинної терапії, а також доцільність комбінованого застосування PRP із розувастатином для стимуляції регенераторних процесів у тканинах [81, 42].

Водночас виражена гетерогенність та тяжкість перебігу трофічних порушень значною мірою залежать від супутньої патології, оскільки метаболічний синдром, системний окисний стрес та пов'язана з ними кардіоваскулярна дисфункція суттєво обтяжують загальний соматичний статус і змінюють відповідь організму на терапію [84].

Важливу роль у вивченні механізмів корекції таких станів відіграють експериментальні дослідження: зокрема, високу ефективність у патогенетичній терапії проявів метаболічного синдрому продемонструвала елагова кислота, яка в дослідах на клітинному та системному рівнях здатна позитивно впливати на метаболічний і транскриптомний профілі [85].

У цієї категорії пацієнтів PRP нівелює локальний критичний дефіцит ендогенних ростових чинників, викликаний хронічною гіперглікемією, ендотеліальною дисфункцією та діабетичною мікроангіопатією, що дозволяє скоротити загальні терміни повної епітелізації виразкових поверхонь на 25–40 % порівняно зі стандартними протоколами [86]. При венозних трофічних виразках локальне застосування PRP суттєво прискорює очищення рани, стимулює формування здорової грануляційної тканини та зменшує больовий синдром, проте регенераторний ефект має переважно транзиторний характер, якщо паралельно не проводиться корекція системної та локальної макрогемодинаміки [87]. На противагу цьому, при лікуванні виразок артеріальної етіології в умовах критичної ішемії нижніх кінцівок (за зниження кісточково-плечового індексу менше ніж 0.5) ізольований ангіогенний потенціал факторів росту PRP виявляється патогенетично недостатнім для індукції репарації без попереднього відновлення магістрального кровотоку методами реваскуляризації [88].

Перспективним напрямком у комплексному лікуванні таких станів є застосування природних антиоксидантних комплексів: зокрема, експериментально доведено ефективність поєднання ресвератролу та кверцетину для корекції артеріальної гіпертензії на тлі тривалого вуглеводного навантаження та метаболічного синдрому [89]. Оскільки системні метаболічні порушення тісно пов'язані зі змінами імунологічної реактивності, важливе значення має оцінка стану захисних систем організму, що підтверджується дослідженнями динаміки показників клітинного імунітету в умовах гострого генералізованого запального процесу, зокрема

перитоніту [90]. При цьому характер відповіді організму на подібні патологічні стани та ефективність дієтотерапії можуть суттєво модифікуватися генетичними чинниками, зокрема поліморфізмом гена судинного ендотеліального фактора росту VEGF [91].

Паралельно з цим, у клінічній практиці, зокрема в дерматології та естетичній медицині, активно накопичується досвід локального використання плазми, збагаченої тромбоцитами, як малоінвазивного та патогенетично обґрунтованого методу [92]. Сучасні експериментальні дослідження фокусуються на вивченні її системних ефектів, де в умовах модельованого цукрового діабету було доведено здатність PRP позитивно впливати на локальний та системний оксидантно-антиоксидантний баланс [93].

Ін’єкційний спосіб, що реалізується шляхом перифокальної та субдорсальної інфільтрації тканин навколо та під дном виразки, забезпечує прецизійну доставку факторів росту безпосередньо в зону пограничної тканинної ішемії та паранекрозу, активуючи маргінальну епітелізацію, проте супроводжується значною болючістю і ризиком додаткового механічного пошкодження ішемізованих тканин [94]. Аплікаційний спосіб базується на попередній коагуляції плазми шляхом додавання автологічного тромбіну або хлориду кальцію ($CaCl_2$), внаслідок чого формується еластичний тромбоцитарний гель-матрикс (активований фібриновий згусток) [95]. Отриманий гель фіксується безпосередньо на рановому дефекті, забезпечуючи пролонговане депо факторів росту з їх повільним та рівномірним релізом протягом 7–10 діб, одночасно виконуючи роль тривимірної механічної матриці для міграції клітин [96]. Комбінований метод поєднує ін’єкційне введення PRP у краї рани для стимуляції маргінального росту з аплікацією активованого гелю на її дно, що визнано найбільш раціональним підходом при лікуванні глибоких дефектів із залученням підшкірної клітковини, фасцій, або при оголенні сухожилків та кісткових структур [97].

Попри значний масив досліджень, актуальним напрямком залишається оптимізація схем застосування PRP у поєднанні з іншими дерматологічними методами, що підтверджується порівняльними клінічними даними щодо ефективності використання плазми, збагаченої тромбоцитами, як ад'ювантного засобу при проведенні субцизії та мікроголчастої терапії у пацієнтів з атрофічними рубцями [98]. Подальші клінічні випробування у цьому секторі фокусуються на визначенні ізольованого та комбінованого інвазивного потенціалу зазначених терапевтичних модальностей для досягнення найкращого регенеративного ефекту в ушкоджених ділянках шкіри [99].

Паралельно з біологічними середовищами, для стимуляції репаративних процесів розглядаються й інноваційні наноматеріали: зокрема, в експерименті на щурах було оцінено потенційний вплив наночастинок діоксиду церію (наноцерію) на системну запальну відповідь за динамікою концентрації С-реактивного білка та молекул середньої маси після обробки ран [100].

Водночас при важких системних ушкодженнях та генералізації інфекції ключовим деструктивним фактором стає сепсис-індукована імуносупресія, патогенез якої пов'язаний із глибокими клітинними дисфункціями та потребує розробки специфічних методів імунотерапії [101].

У зв'язку з цим предметом гострих наукових дискусій залишається біологічна доцільність наявності лейкоцитів у складі PRP для лікування хронічних ран [102]. З одного боку, лейкоцитарні клітини (нейтрофіли та моноцити) забезпечують первинну протимікробну санацію ранової порожнини шляхом фагоцитозу та виділення кисневих радикалів, а також виступають додатковим джерелом факторів росту [103]. З іншого боку, надмірна концентрація лейкоцитів у зоні хронічного ушкодження призводить до гіперпродукції прозапальних цитокінів, таких як фактор некрозу пухлин альфа (TNF-alpha) та інтерлейкін-1 бета (IL-1beta), а також до релізу

матриксних металопротеїназ (ММР-1, ММР-8, ММР-9) [104]. Це викликає передчасне протеолітичне руйнування як екзогенних факторів росту, так і новоутвореного колагенового матриксу, що зациклює рану у фазі хронічного запалення та перешкоджає фізіологічній репарації [105]. Додатковим критичним лімітуючим фактором автологічної PRP є її пряма залежність від соматичного статусу, віку та коморбідного фону самого пацієнта [106]. Експериментально доведено, що у хворих похилого та старечого віку, а також при декомпенсованому перебігу цукрового діабету, системному атеросклерозі чи хронічній нирковій недостатності, функціональний потенціал тромбоцитів є зниженим, а концентрація та якісний склад факторів росту в їх \alpha – гранулах суттєво деградовані, що робить застосування автологічної PRP у таких пацієнтів малоефективним [107].

Для об'єктивної оцінки перебігу репаративних процесів та контролю системного метаболічного фону в експериментальних і клінічних дослідженнях критично важливим є використання точних біохімічних маркерів. Зокрема, для моніторингу стану металопротеїнів сироватки крові та оцінки гострофазової відповіді організму застосовують стандартизовані методи визначення оксидазної активності церулоплазміну [108]. Одночасно з цим, для глибокого аналізу клітинного редокс-статусу та інтенсивності окисного стресу в ушкоджених тканинах золотим стандартом є кількісне визначення рівнів загального глутатіону та його окисненої форми (глутатіондисульфіду) за допомогою методів ензиматичного рециклінгу [109].

Крім того, невід'ємною частиною оцінки загальносоматичного стану та метаболічного профілю організму при моделюванні тканинної деструкції залишається рутинне колориметричне визначення активності ключових ферментів клітинного цитолізу - сироваткових трансаміназ (глутаміно-щавлевооцтової та глутаміно-піровиноградної) [110].

На молекулярно-рецепторному рівні МСК характеризуються обов'язковою експресією поверхневих кластерів диференціювання CD73, CD90, CD105 за одночасної відсутності лінійних маркерів гемопоетичного ряду, таких як CD34 (маркер гемопоетичних стовбурових клітин та ендотеліоцитів), CD45 (панлейкоцитарний маркер), CD14 або CD11b (маркер моноцитів/макрофагів), CD19 або CD79a (маркер В-лімфоцитів) та молекул головного комплексу гістосумісності другого класу (HLA-DR) [111]. Основними та найбільш доступними джерелами ізоляції МСК у сучасній біотехнологічній та клінічній практиці є аспірат кісткового мозку (КМ-МСК), стромально-судинна фракція підшкірної жирової тканин (ЖТ-МСК) та тканини пуповини (ПП-МСК) [112].

Сучасна наукова парадигма та накопичений клінічний досвід демонструють високу ефективність клітинних технологій у комерційній та госпітальній практиці: зокрема, у рандомізованих контрольованих дослідженнях було переконливо доведено, що локальне використання автологічного гелю PRP суттєво прискорює загоєння трофічних виразок гомілки, які тривалий час чинили опір стандартній терапії [113].

Позитивний терапевтичний ефект цієї методики також чітко простежується при складних нозологічних формах ушкоджень, де застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, дозволяє досягти успішної епітелізації та закриття хронічних виразок васкулітного генезу [114]. Крім того, високий регенераторний та стимулювальний потенціал PRP-терапії щодо відновлення пошкоджених шкірних покривів було експериментально підтверджено у ветеринарній практиці при моделюванні та лікуванні лінійних ран у собак [115].

МСК через секрецію розчинних факторів, таких як простагландин Е2 (PGE2), індолеамін-2,3-діоксигеназа (IDO), трансформуючий фактор росту бета (TGF-beta) та інтерлейкін-10 (IL-10), індукують репрограмування макрофагів, переводячи їх у протизапальний, репаративний фенотип М2 [116].

Це призводить до купірування хронічного запалення, стимуляції синтезу колагену та очищення рани від клітинного детриту [117].

Паракринний ефект МСК реалізується також через активну секрецію широкого спектра цитокінів (IL-6, IL-8), хемокінів (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) та ангіогенних факторів, що містяться як у розчинній фракції секретому, так і у складі позаклітинних везикул – екзосом та мікровезикул розміром 30–150 нм [118]. Екзосоми МСК транспортують специфічні молекули мікроРНК (miRNA-21, miRNA-132, miRNA-125b), які шляхом ендоцитозу проникають у клітини-мішень рани (ендотеліоцити, фібробласти, кератиноцити) та епігенетично регулюють експресію генів, суттєво підвищуючи їх міграційну та проліферативну спроможність, пригнічуючи процеси апоптозу та форсуючи неоангіогенез [119]. Крім того, МСК чинять виражену антифібротичну дію, вибірково контролюючи локальний баланс між матриксними металопротеїназами та їх тканинними інгібіторами (TIMPs), що запобігає патологічному гіпертрофічному або келоїдному рубцюванню та забезпечує формування еластичного регенерату з архітектонікою, близькою до інтактної шкіри [120].

Важливим напрямком сучасних досліджень у загальній та абдомінальній хірургії є вивчення патофізіологічних змін при критичних станах травного тракту, де особлива увага приділяється моделюванню гострих судинних та структурних порушень [121]. Зокрема, в експериментальній практиці чітко визначено патогенетичні закономірності розвитку ендогенної інтоксикації та системної запальної відповіді на моделях гострої обструкції кишечника у тварин, що дозволяє оцінити інтенсивність оксидативного стресу та регенераторний потенціал тканин в умовах ішемічно-реперфузійного ушкодження [122].

Оскільки МСК володіють унікальним імунопривілейованим статусом завдяки низькій експресії молекул HLA класу I та повній відсутності молекул HLA класу II та костимулюючих молекул (CD80, CD86, CD40), їх алогенна

трансплантація не викликає імунної відповіді відторгнення з боку реципієнта [123]. Це повністю знімає обмеження, пов'язані з незадовільною якістю автологічних клітин у соматично обтяжених хворих [124].

Другим напрямком є розробка складних тривимірних тканинно-інженерних конструктів та технологій 3D-біопринтингу, де МСК інкорпоруються в спеціалізовані біодеградабельні гідрогелі або природні матриці, що дозволяє створювати «живі» еквіваленти шкіри для закриття масивних ранових та опікових поверхонь [125].

Третім, найбільш інноваційнім та безпечним напрямком, є безклітинна (cell-free) терапія, що базується на локальному застосуванні ізольованих та концентрованих екзосом МСК [126]. Даний підхід повністю нівелює теоретичні ризики малігнізації, небажаної диференціації або ектопічного утворення тканин живими клітинами, суттєво спрощує стандартизацію дозування, стерилізацію, довготривале зберігання (ліофілізацію) та транспортування лікарського продукту [127].

Наведена всебічна систематизація накопичених наукових даних переконливо свідчить, що ізольоване застосування як PRP-терапії, так і мезенхімальних стромальних клітин, має свої внутрішні методологічні та патогенетичні обмеження [128]. Водночас їх концептуальна синергічна інтеграція відкриває принципово нові можливості для подолання резистентності хронічних ран до традиційного лікування [129].

Зазначене клініко-експериментальне підґрунтя повністю визначило вибір теми, об'єкта, предмета та напрямку нашого власного експериментального дослідження.

Робоча гіпотеза дисертаційної роботи ґрунтується на припущенні, що комбіноване застосування стандартизованої PRP (яка виконує функцію миттєвого біоактивного фібринового скаффолду, заповнює об'єм рани, забезпечує первинний масивний пусковий реліз факторів росту та хемотаксис) та мезенхімальних стромальних клітин (які виступають у ролі довготривалої

інтелектуальної системи паракринної та імуномодулюючої регуляції, що адаптується до динамічних змін у рані) дозволить радикально мінімізувати прозапальне мікрооточення, відновити ангіоархітектоніку мікроциркуляторного русла, оптимізувати всі фази репаративного процесу та забезпечити фізіологічну, органотипову і функціонально повноцінну регенерацію ушкоджених тканин [130].

Проведений системний аналіз та критичне узагальнення даних сучасної наукової літератури дозволяють констатувати, що лікування хронічних ран різної етіології залишається однією з найскладніших та невирішених проблем регенеративної медицини та пластичної хірургії через тривалу персистенцію тканин у фазі хронічного запалення, мікроциркуляторні розлади та локальну гіпоксію. Застосування автологічної плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), є патогенетично обґрунтованим методом стимуляції репаративних процесів завдяки здатності alpha-гранул тромбоцитів вивільняти фізіологічно збалансований пул поліпептидних факторів росту, таких як PDGF, TGF-beta, VEGF та bFGF, які запускають неоангіогенез та проліферацію фібробластів. Проте клінічний досвід ізольованого використання PRP-терапії виявляє виражену гетерогенність результатів залежно від нозологічної форми та етіології дефекту, демонструючи високу ефективність при діабетичних виразках і суттєві обмеження терапевтичного потенціалу при виразках артеріального генезу з критичною ішемією нижніх кінцівок.

Широке впровадження PRP-технологій в уніфіковані клінічні стандарти доказової медицини наразі стримується повною відсутністю міжнародної стандартизації протоколів отримання кінцевого клітинного продукту, а також дискусійністю питань щодо ролі лейкоцитарної фракції, яка здатна продукувати прозапальні цитокіни та матриксні металопротеїнази, викликаючи протеолітичне руйнування новоутвореного матриксу. Крім того, ефективність автологічної PRP безпосередньо лімітована віком, соматичним статусом та коморбідним тлом пацієнта, оскільки за умов декомпенсованого

цукрового діабету та системного атеросклерозу функціональна спроможність власних тромбоцитів є апріорі зниженою.

У сучасній біотехнологічній індустрії теоретичним шляхом подолання зазначених біологічних та методичних обмежень ізольованого використання тромбоцитарних концентратів розглядається залучення в регенераторний каскад мезенхімальних стромальних клітин (МСК). Згідно з даними світової літератури, унікальний терапевтичний потенціал МСК реалізується через комплексні паракринні, ангіогенні та імуномодулюючі механізми: здатність репрограмувати прозапальний фенотип макрофагів М1 у протизапальний та репаративний фенотип М2 за допомогою секреції простагландину Е2 та інтерлейкіну-10, а також спроможність секретувати позаклітинні везикули з високим вмістом специфічних мікроРНК. Це дозволяє ефективно купірувати персистувальне хронічне запалення, епігенетично стимулювати міграцію кератиноцитів та ендотеліоцитів, і форсувати формування функціонально повноцінної судинної мережі.

Аналіз фундаментальних закономірностей концептуальної синергічної інтеграції біологічних властивостей тромбоцитарних факторів росту та клітинних систем паракринної регуляції (зокрема МСК) відкриває принципово нові можливості для подолання резистентності хронічних ран до лікування. Окреслений світовий досвід заклав науково-методологічний фундамент нашого власного експериментального дослідження. Робоча гіпотеза дисертаційної роботи ґрунтується на припущенні, що керування архітектонікою, клітинним профілем (зокрема, дозованим вмістом лейкоцитарної ланки) та кінетикою вивільнення факторів росту з різних модифікованих фракцій стандартизованої PRP дозволить відтворити ключові ефекти фізіологічної регуляції мікрооточення. Оптимізована таким чином PRP-терапія, виконуючи функцію первинного біоактивного фібринового скаффолду та пускового депо медіаторів, дозволить мінімізувати прозапальний фон, подолати фенотип клітинного старіння місцевих клітин,

відновити ангіоархітектоніку мікроциркуляторного русла, що і визначає мету та завдання цього дисертаційного дослідження.

1.4 Сучасний досвід, суперечливі питання та клініко-експериментальні перспективи застосування PRP-терапії та мезенхімальних стромальних клітин у лікуванні хронічних ран

Сучасна парадигма реконструктивно-відновної хірургії, комбустіології та регенеративної медицини базується на фундаментальному переході від концепції пасивного топічного захисту ранового ложа до методів спрямованої високоспецифічної біостимуляції та клітинно-опосередкованої регенерації тканин із глибокими структурно-функціональними порушеннями архітектоніки. Серед різноманітності сучасних біотехнологічних підходів особливе науково-практичне значення має дослідження регенераторного потенціалу автологічної плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), ефективність якої щодо стимуляції приживлення та відновлення дефектів м'яких тканин було переконливо доведено в експериментах з використанням вільного клаптя [131].

Мультивекторний терапевтичний потенціал цього біопродукту зумовлює постійне розширення сфер його клінічного впровадження, про що свідчать сучасні критичні огляди щодо успішного застосування PRP-терапії навіть у таких складних та делікатних галузях, як репродуктивна медицина, зокрема для патогенетичної корекції станів при зниженому овaріальному резерві та передчасній недостатності яєчників [132].

Додатковим підтвердженням високої клінічної ефективності та безпеки даної технології в суміжних медичних напрямках є науково обґрунтовані дані щодо доцільності виконання внутрішньокісткових ін'єкцій збагаченої тромбоцитами плазми в комплексному лікуванні та дегенеративно-дистрофічних уражень опорно-рухового апарату, зокрема остеоартриту [133].

На молекулярно-генетичному рівні ці ендогенні медіатори вступають у високоспецифічну комплементарну взаємодію з відповідними трансмембранними тирозинкіназними рецепторами клітин-мішеней ранового мікрооточення, рекрутуючи та ініціюючи ключові внутрішньоклітинні сигнальні каскади, зокрема мітогенактивований протеїнкіназний шлях (MAPK/ERK), фосфоінозитид-3-кіназний шлях (PI3K/Akt) та сигнальний трек Smad2/3. Це призводить до транскрипційної активації генів, що відповідають за мітогенез фібробластів, спрямовану хемотаксичну міграцію кератиноцитів, неоангіогенез та інтенсифікацію біосинтезу макромолекул позаклітинного матриксу, насамперед колагену I та III типів, а також глікозаміногліканів [134].

Критичний порівняльний аналіз результатів сучасних експериментальних та фундаментальних клінічних досліджень виявляє значну гетерогенність терапевтичної ефективності PRP, яка жорстко детермінована етіологічними та патоморфологічними чинниками формування хронічного ранового дефекту [135].

Найвищий рівень клінічної доказовості, підтверджений численними міжнародними рандомізованими клінічними дослідженнями (РКД) та метааналізами, продемонстровано при лікуванні діабетичних вирасок стопи (ДВС) [136]. Локальне введення тромбоцитарних концентратів за цієї патології дозволяє розірвати порочне коло хронізації ранового процесу, долаючи специфічний для цукрового діабету фенотип регенераторного «старіння» (cellular senescence) фібробластів, а також інвертуючи локальний цитокіновий профіль у бік супресії прозапальних інтерлейкінів (IL-1beta, IL-6, TNF-alpha) та відновлення клітинної відповіді на мітогенні стимули [137].

У терапевтичній стратегії лікування венозних трофічних виразок PRP-технології забезпечують чітку інтенсифікацію крайової та острівцевої епітелізації, що корелює зі стійким затиханням ноцицептивного синдрому внаслідок елімінації локального тканинного окиснювального стресу та активації ангіоархітектоніки дерми [138].

Разом з тим, стабільність досягнутого регенераторного ефекту жорстко лімітована макрогемодинамічним тлом: за відсутності попередньої або симультанної хірургічної, ендоваскулярної чи декомпресійної корекції хронічної венозної гіпертензії частота рецидивування залишається критично високою [139]. Найменшу терапевтичну чутливість до ізольованої PRP-терапії виявляють ранові дефекти артеріального та ішемічного генезу. Незважаючи на те, що паракринна дія тромбоцитарних концентратів потужно стимулює локальний капілярогенез у перивиразковій зоні, за умов оклюзійного ураження магістрального судинного русла та вираженого дефіциту макроциркуляторного припливу крові клінічний ефект виявляється транзиторним і вимагає обов'язкової попередньої ендоваскулярної або відкритої реваскуляризації кінцівки [140].

Глибокий аналіз порівняльних характеристик PRP-терапії та традиційних консервативних схем (екзогенного хірургічного дебридменту, застосування інтерактивних гідрогелевих, альгінатних чи гідроколоїдних пов’язок та системної вазоактивної фармакотерапії) дозволяє констатувати фундаментальну зміну клінічної доктрини: перехід від пасивного менеджменту ранового середовища до активного патогенетичного керування процесами гістогенезу [141]. Стандартні терапевтичні підходи часто стикаються з феноменом «регенераторного плато», при якому рана персистує у фазі хронічного запалення через критичний дисбаланс між протеолізом та синтезом матриксу, зумовлений гіперпродукцією матриксних металопротеїназ (зокрема ММР-1, ММР-2, ММР-9), що підтверджується експериментальними дослідженнями, в яких за допомогою точних планіметричних методів було проведено порівняльну оцінку динаміки площі ранового дефекту за умов використання різних варіантів локального впливу [142].

Важливим патогенетичним аспектором цього процесу є особливості перебудови судинної системи, на що вказує кількісний морфологічний аналіз закономірностей ремоделювання венозного русла в зоні ушкодження [143].

Наступні гістологічні дослідження дозволили деталізувати морфологічну структуру хронічних ран, верифікувавши специфічні клітинні та тканинні зміни, які відбуваються в раневому ложі залежно від обраної лікувальної тактики [144].

Поряд із цим, сучасна регенеративна медицина стикається з серйозними викликами, пов'язаними зі складністю мікрооточення хронічних ран, що спонукає до пошуку та систематизації нових терапевтичних стратегій, включаючи методи комплементарної та альтернативної терапії [145]. Серед таких підходів високу ефективність демонструє плазма, збагачена тромбоцитами, здатність якої суттєво прискорювати загоєння шкірних покривів шляхом безпосередньої активації процесів реепітелізації чітко доведена в експериментальних моделях [146]. Перспективним технологічним розвитком цього методу є створення та інтеграція комплексних біофункціоналізованих скаффолдів (матриць) на основі гіалуронової кислоти та PRP, які забезпечують оптимальні умови для регенерації у клінічній та лабораторній практиці [147]. Додатковим підтвердженням високого регенеративного потенціалу даної біотехнології є дані метааналізів, які свідчать про доцільність клінічного застосування PRP для збагачення та суттєвого покращення приживлення шкірних трансплантатів [148].

Предметом гострої наукової полеміки в авторитетних колах залишається питання доцільності збереження та верифікації лейкоцитарної фракції у складі плазми.

Прихильники застосування чистої збагаченої тромбоцитами плазми (Pure PRP, P-PRP) стверджують, що прозапальні цитокіни, кислі гідролази та матриксні протеїнази лейкоцитів здатні пролонгувати альтерацію, посилювати пошкодження делікатних клітинних структур та руйнувати новоутворений колагеновий матрикс у зоні рани [149].

Навпаки, концепція використання збагаченої лейкоцитами плазми (Leukocyte-Rich PRP, L-PRP) спирається на дані про їхній потужний

протимікробний потенціал, здатність посилювати фагоцитоз, регулювати дебридмент рани та ефективно руйнувати бактеріальні біоплівки [150]. Крім того, дискусійним є вибір оптимального хімічного індуктора дегрануляції тромбоцитів (екзогенна активація розчинами $CaCl_2$ або тромбіну проти автологічної активації при безпосередньому контакті з фібрилярним колагеном рани) [151].

Зазначені патогенетичні суперечності та необхідність чіткого з'ясування дозозалежних ефектів клітинних компонентів обґрунтовують напрямок нашого власного експериментального дослідження, спрямованого на встановлення фундаментальних закономірностей регенераторного процесу залежно від архітектоніки, клітинного профілю та кінетики вивільнення факторів росту застосовуваних фракцій PRP.

Особливого науково-практичного значення та високої медико-соціальної актуальності набуває вивчення біологічних ефектів клітинної терапії, зокрема систематизація даних щодо ефективності та безпеки застосування малих позаклітинних везикул (екзосом) для цілеспрямованої стимуляції регенерації шкіри та прискорення процесів загоєння ушкоджених тканин [152].

При цьому в контексті розробки інноваційних регенеративних технологій значна увага дослідників фокусується на терапевтичному потенціалі плазми, збагаченої тромбоцитами, де сучасні перспективи та виклики пов'язані з обґрунтуванням клінічного використання саме алогенного клітинного продукту в комплексному лікуванні пацієнтів із хронічними діабетичними виразками стопи [153]. Необхідність пошуку таких підходів зумовлена тривалою історією вивчення даної патології, аналіз якої чітко вказує на наявність серйозних патогенетичних прогалин у сучасних стандартах терапії та недостатню ефективність традиційних схем лікування важких форм виразкових дефектів [154].

У цьому контексті локальна клітинна стимуляція за допомогою PRP дозволяє інтенсифікувати процеси некролітичного очищення ранового ложа, форсувати розвиток грануляційної тканини з багатим новоутвореним судинним малюнком, підготувати рану до раннього закриття шляхом відстроченого первинного/вторинного шва чи автодермопластики, а також мобілізувати локальні ендогенні імунні механізми захисту рани.

Водночас інтеграція клітинних технологій у практику військово-польової хірургії висуває низку специфічних, досі невирішених завдань, які окреслюють перспективні напрями подальших наукових пошуків:

1. Розробка та впровадження експрес-технологій «біля ліжка хворого» (Point-of-Care): патогенетичне обґрунтування використання повністю закритих, автоматизованих та стерильних систем центрифугування, які дозволяють отримати верифікований та безпечний клітинний концентрат безпосередньо в умовах операційної військового госпіталю другого-третього рівнів надання медичної допомоги протягом мінімального часу (до 30 хв) без залучення спеціалізованих лабораторних чистих зон.

2. Обґрунтування застосування алогенних біопродуктів: у поранених із синдромом взаємного обтяження, тривалим шоком, масивною крововтратою, травматичним виснаженням або системною запальною відповіддю якісний склад, життєздатність та функціональна активність аутологічних тромбоцитів суттєво пригнічені. Це зумовлює перспективність вивчення регенераторного ефекту ліофілізованих або кріоконсервованих алогенних тромбоцитарних факторів росту та мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих від здорових донорів-добровольців.

3. Створення тривимірних біодеградабельних скаффолдів (матриць-носіїв): комбінування оптимізованих фракцій PRP або пулів клітин із біополімерними каркасами (колагеновими, хітозановими або гідрогелевими матрицями), які здатні пролонговано утримувати клітинні медіатори в зоні глибоких деструктивних бойових дефектів м'яких тканин, виконуючи

одночасно роль часової опорної структури (каркаса) для правильної просторової архітектоніки новоутвореного регенерату.

Проте, незважаючи на суттєві паракринні можливості тромбоцитарних концентратів, у найбільш торпідних клінічних випадках ізольована PRP-терапія демонструє обмежену регенераторну тривалість, оскільки в ложі хронічної рани клітинні популяції перебувають у стані незворотного реплікативного старіння і швидко втрачають рецепторну чутливість до факторів росту. Новим етапом розвитку біотехнологій, що дозволяє подолати це обмеження, стало залучення в рановий каскад мезенхімальних стромальних клітин (МСК), виділених з аспірату кісткового мозку (КМ-МСК), жирової тканини (ЖТ-МСК) чи пуповини (ПП-МСК) [111]. МСК володіють унікальним імунопривілейованим фенотипом (\CD73+, CD90+, CD105+ за відсутності маркерів CD34, CD45-, що виключає ризик імунного відторгнення при алогенному застосуванні [112]. На відміну від фіксованого пулу молекул PRP, живі МСК діють як динамічна інтелектуальна система: вони адаптивно реагують на сигнальний профіль рани, секретують протизапальні медіатори, репрограмують макрофаги з деструктивного фенотипу М1 у репаративний М2, а також виділяють паракринні екзосоми, що транспортують регуляторні мікроРНК безпосередньо в цитоплазму місцевих клітин, відновлюючи їх реплікативний та секреторний потенціал [152].

Перспективне порівняння та концептуальна інтеграція цих двох біотехнологічних підходів дозволили виявити глибоку молекулярно-біологічну синергію між PRP та МСК, що лягло в основу формування робочої гіпотези нашого дисертаційного дослідження. У той час як PRP забезпечує миттєве формування біоактивного фібринового скаффолду та первинний масивний пусковий реліз факторів росту, МСК виступають як пролонгований біорегулятор ранового мікрооточення, підтримуючи процеси клітинного оновлення. Комплексна синергічна дія обох компонентів дозволяє одночасно оптимізувати гемостатичний каркас, купірувати персистуюче хронічне

запалення, епігенетично реактивувати місцеві фібробласти та кератиноцити, а також форсувати повноцінний неоангіогенез з оптимальною архітектонікою мікросудинного русла.

Таким чином, вирішення дискусійних питань стандартизації, з'ясування точних клітинно-молекулярних механізмів дії різних фракцій тромбоцитарних концентратів, їхній системний порівняльний аналіз із передовими клітинними технологіями, а також адаптація розроблених автологічних протоколів до специфіки воєнно-польової хірургії є пріоритетним науковим вектором сучасної регенеративної медицини.

Вивчення системних патофізіологічних наслідків ушкоджень покривних тканин свідчить, що масштабне пошкодження шкіри в умовах поєднаної травми виступає потужним тригером розвитку оксидаційного стресу у внутрішніх органах, зокрема в нирках, що обґрунтовує доцільність застосування патогенетично спрямованої PRP-терапії для нівелювання цих деструктивних процесів [155].

Хронізація трофічних виразок нижніх кінцівок, незалежно від їхньої етіології (венозної, артеріальної чи діабетичної), зумовлена тривалою персистенцією тканин у фазі запалення, протеолітичним дисбалансом, мікроциркуляторними розладами та локальною гіпоксією ложа рани.

Застосування автологічної плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), є патогенетично обґрунтованим методом стимуляції репарації завдяки здатності факторів росту запускати ангіогенез та проліфікацію фібробластів. Проте клінічна ефективність ізольованої PRP-терапії є гетерогенною та суттєво лімітованою за умов критичної ішемії та коморбідного тла пацієнтів.

Широке впровадження PRP у клінічну практику стримується відсутністю стандартизації протоколів її отримання та дискусійністю питань щодо ролі лейкоцитарної фракції, яка здатна як виконувати протимікробну функцію, так і посилювати деструктивний протеоліз рани.

Згідно з даними світової літератури, альтернативним високотехнологічним вектором регенеративної медицини є застосування мезенхімальних стромальних клітин (МСК), які мають виражений імуномодулюючий та ангіогенний паракринний ефекти, проте їх використання обмежене складністю технологій *in vitro* та високою вартістю.

Аналіз світового досвіду застосування тромбоцитарних концентратів і клітинних технологій заклав науково-методологічний фундамент нашого дослідження. Робоча гіпотеза роботи ґрунтується на припущенні, що керування клітинним профілем (зокрема лейкоцитарною ланкою) та кінетикою вивільнення факторів росту різних фракцій стандартизованої PRP дозволить оптимізувати локальне мікрооточення рани та забезпечити повноцінну регенерацію тканин, що і визначає мету та завдання цієї дисертації.

Матеріали розділу опубліковано у науковій праці автора [161].

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт дослідження та дизайн експерименту

Експериментальну частину роботи здійснено на 90 статевозрілих білих щурах-самцях нелінійної популяції Wistar з вихідною масою тіла (230 ± 20) г, отриманих із віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Утримання тварин відповідало усталеним зоогігієнічним вимогам: температуру в приміщенні підтримували на рівні 20-22 °С, вологість повітря — у межах 55-60 %, освітлення забезпечували за фіксованим циклом «12 годин світло / 12 годин темрява». Раціон складався зі стандартизованого збалансованого корму при вільному доступі до води. До початку експериментальних маніпуляцій усіх тварин витримували протягом семиденного адаптаційного періоду з метою стабілізації фізіологічного стану та зменшення впливу стресогенних чинників.

Евтаназію тварин проводили шляхом інтраперитонеального введення надлишкової дози тіопенталу натрію, що забезпечувало глибокий наркоз і швидке безболісне припинення життєдіяльності. Усі етапи дослідження узгоджувалися з біоетичними стандартами – Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних цілей (Страсбург, 1986), Директивою 2010/63/ЄС, наказом МОЗ України №690 від 23.09.2009 (з подальшими змінами) та Законом України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Комісія з біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України підтвердила відсутність порушень етичних норм (протокол № 85 від 01 квітня 2026 року).

2.2 Методика створення моделі трофічної виразки

Модель хронічної трофічної виразки відтворювали за методом В. Г. Дживака, який поєднує механічний і хімічний способи ушкодження тканини. Усі процедури виконувались під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг, внутрішньочеревно) [154]. Після депіляції міжлопаткової ділянки висікали повношаровий шкірний клапоть округлої форми діаметром 20 мм. Перетворення гострої рани на хронічну виразку досягали шляхом аплікації 0,1 мл 10 % розчину хлориду кальцію, що спричиняло коагуляційний некроз, імітуючи глибокі трофічні порушення. Розроблена модель за етіологією, симптоматикою та стадійністю максимально наближена до клінічного перебігу аналогічної патології в людини.

2.3 Структура експерименту

Тварин розподілили на три групи із розрахунку по 6 особин на кожен із п'яти запланованих термінів спостереження. Перша група – інтактний контроль (здорові тварини на стандартному раціоні). Друга – контрольна патологія (моделювання виразки без лікування). Третя – дослідна група, якій після моделювання виразки вводили аутологічну плазму, збагачену тромбоцитами (PRP), за розробленим протоколом [140].

Щоденний моніторинг включав оцінку поведінки, реакцій на подразники, зміни маси тіла, споживання води й корму. Окремо фіксували ознаки системної інтоксикації: стан шерсті (пілоерекція), частоту дихання, прояви апатії чи збудливості, ознаки зневоднення. Реєстрували випадки загибелі тварин у кожній групі для подальшого аналізу виживаності. Оцінку ранового процесу та планіметричних показників площі виразки проводили за верифікованими критеріями [141], а морфологічні особливості деструкції й ремоделювання тканин у динаміці досліджували з урахуванням

закономірностей структурних змін хронічних ран [142, 143]. Забір біоматеріалу здійснювали на 3-й, 7-й, 14-й, 21-й та 28-й дні від моменту моделювання виразки. Тварин виводили з експерименту декапітацією під глибоким наркозом, що дозволяло одночасно отримати необхідний об'єм крові й зберегти цілісність внутрішніх органів. Дослідженню підлягали цільна кров, плазма, сироватка, а також гомогенати печінки, нирок, підшлункової залози та шкіри з ділянки ураження.

2.4 Отримання PRP та протокол її застосування

Для терапевтичної корекції використовували аутологічну збагачену тромбоцитами плазму (PRP), що виключає імунні реакції та забезпечує сумісність факторів росту [112, 113]. Кров відбирали з хвостової вени в стерильних умовах у пробірки з 3,8 % цитратом натрію у співвідношенні 9 : 1 (кров : антикоагулянт), об'ємом 1,2-1,5 мл на тварину.

Концентрацію тромбоцитів досягали методом подвійного центрифугування [115, 116]: спочатку м'яке центрифугування (1500 об/хв, 10 хв) для відокремлення плазми від еритроцитарної маси, при цьому лейкоцитарний шар (buffy coat) залишали недоторканим для запобігання зайвій прозапальній активності. Далі проводили жорстке центрифугування (3000 об/хв, 10 хв) для осадження тромбоцитів, після чого верхню, бідну на тромбоцити фракцію видаляли, залишаючи 0,3-0,5 мл концентрату. Отриману PRP гомогенізували обережним інвертуванням пробірки без надмірної агрегації тромбоцитів.

Введення PRP виконували під наркозом (тіопентал натрію, 40 мг/кг) за дворазовою схемою: перше введення — одразу після моделювання патології (1-ша доба), друге – на 3-тю добу. Такий режим підтримує стабільну концентрацію факторів росту – PDGF, TGF-β та VEGF – у зоні ушкодження протягом критичного періоду загоєння [145]. Препарат вводили місцево

(підшкірне обколювання країв рани та аплікація на поверхню виразки) у загальній дозі 0,5 мл на 100 г маси тіла, з дотриманням правил асептики.

2.5 Оцінка запального процесу, ендогенної інтоксикації та окисно-антиоксидантного балансу

Рівень ендогенної інтоксикації визначали за концентрацією молекул середньої маси (МСМ) методом преципітації білків трихлороцтовою кислотою (10 %) з подальшою спектрофотометрією супернатанту при 254 та 280 нм, результати виражали в умовних одиницях екстинкції .

Сорбційну здатність еритроцитарних мембран оцінювали за еритроцитарним індексом інтоксикації (ЕІІ) через адсорбцію метиленового синього, вимірюючи оптичну густину при 670 нм у відсотках відносно вихідної концентрації барвника .

Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) – продукту реакції з тіобарбітуровою кислотою за нагрівання в кислому середовищі, спектрофотометрія при 535 нм [106]; МДА є маркером пізньої стадії ліпопероксидації та деструкції мембран.

Первинні продукти ПОЛ – гідропероксиди ліпідів (ГПЛ) – визначали спектрофотометрично в гептановому екстракті при 232 нм [104]; вони слугують раннім індикатором активації вільнорадикальних процесів.

Активність супероксиддисмутази (СОД) вимірювали за здатністю інгібувати автоокиснення пірогалолу в лужному середовищі [105]; фермент каталізує перетворення супероксид-аніону на пероксид водню й кисень, а зниження його активності свідчить про виснаження антиоксидантного резерву.

Активність каталази визначали за швидкістю розкладу пероксиду водню, реєструючи зниження оптичної густини при 240 нм [107]; фермент запобігає утворенню гідроксильного радикала.

Церулоплазмін оцінювали за оксидазною активністю щодо пара-фенілендіаміну, спектрофотометрія при 530 нм, результати – в одиницях густини або мг/л [108].

Відновлений глутатіон (GSH) визначали реакцією Елмана (5,5'-дитіо-біс-2-нітробензойна кислота) з реєстрацією при 412 нм, розрахунок за калібрувальною кривою в мкмоль/г тканини або мкмоль/л крові [109].

Активність АсАТ та АлАТ вимірювали методом Рейтмана-Френкеля через оптичну густину гідразонів кетокислот при 540 нм, вираженою в мкмоль/год·мл або МО/л [110].

2.6 Гістологічні методи

Фрагменти шкіри з зони виразкового дефекту та прилеглих тканин фіксували у 10 % нейтральному формаліні, дегідратували в етанолі зростаючої концентрації. Ущільнення й парафінову інфільтрацію проводили на автоматичному вакуумному гістопроцесорі Logos ONE (Milestone, Італія), заливку в парафінові блоки – на станції TEC 2800 (Hestion, Австралія). Зрізи товщиною 4-5 мкм готували на роторному мікротомі AMR-400 (Amos Scientific Pty, Австралія), забарвлювали гематоксиліном та еозином для загальної морфологічної оцінки. Мікроскопію здійснювали на світловому мікроскопі MICROmed SEO SCAN із фотофіксацією цифровою камерою Vision CCD Camera.

2.7 Статистичне опрацювання результатів

Статистичний аналіз проводили в Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) та Microsoft Excel 2019, дані подавали у форматі M ± m. Нормальність розподілу перевіряли критерієм Шапіро-Уїлка: за нормального розподілу застосовували параметричний t-критерій Стьюдента, за відхилення від нормальності —

непараметричний U-критерій Манна-Уїтні. Показник p відображав вірогідність відмінностей порівняно з інтактним контролем, p1 – між групами контрольної патології та PRP-терапії на відповідних термінах (3, 7, 14, 21, 28 доба). Статистично значущим вважали результат при $p < 0,05$.

Для оцінки взаємозв'язків між показниками застосовували кореляційно-регресійний аналіз: силу й напрямок лінійних зв'язків визначали коефіцієнтом кореляції Пірсона (r) зі статистичною значущістю ($p < 0,05$), інтерпретуючи за шкалою Чеддока (0,1-0,3 – слабкий; 0,3-0,5 – помірний; 0,5-0,7 – помітний; 0,7-0,9 – високий; 0,9-0,99 – дуже високий зв'язок).

Множинний лінійний регресійний аналіз (метод найменших квадратів) використовували для оцінки сукупного впливу предикторів, з розрахунком коефіцієнта детермінації R^2, скоригованого R^2, F-критерію Фішера та довірчих інтервалів. Мультиколінеарність контролювали за фактором інфляції дисперсії (VIF < 5 вважали прийнятним). Розрахунки виконано мовою Python (бібліотеки SciPy, statsmodels, pandas).

РОЗДІЛ 3
ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА РЕАКЦІЙ АНТИОКСИДАНТНОЇ ТА ІМУННОЇ СИСТЕМ ПРИ МОДЕЛЬОВАНИХ ТРОФІЧНИХ ВИРАЗКАХ

3.1 Динаміка показників ендогенної інтоксикації при модельованій трофічній виразці

Ендогенна інтоксикація (ЕІ) належить до провідних патогенетичних механізмів, які зумовлюють тривалу персистенцію та хронізацію виразково-деструктивного процесу в шкірі та м'яких тканинах. Розвиток трофічних виразок супроводжується безперервним перебігом місцевої запальної реакції, вираженою регіонарною ішемією, гіпоксією та прогресуючим некрозом клітинних елементів [46]. Ці локальні порушення неминуче призводять до системного накопичення проміжних і кінцевих продуктів деградації білків, нуклеїнових кислот та ліпідів. Постійне надходження патологічних метаболітів у судинне русло зумовлює розвиток синдрому ендогенного токсикозу, який за принципом зворотного зв'язку пригнічує місцеві регенераторні процеси та порушує загальний метаболічний гомеостаз. Комплексне дослідження кінетики показників ЕІ дозволяє об'єктивно оцінити ступінь тяжкості ендотоксикозу, а також глибину і тривалість розладів метаболізму на різних етапах ранового процесу [92].

Під час проведення експерименту встановлено, що у контрольній групі клінічно здорових тварин базовий рівень ендогенної інтоксикації (ЕІІ) становив (47,46 ± 1,08) %. У щурів із модельованою трофічною виразкою без застосування лікувальних заходів спостерігалося стрімке та статистично достовірне підвищення цього показника вже на 3-тю добу – на 41,6 % ($p < 0,001$) порівняно з референтними значеннями контролю. Така динаміка чітко відображає гостру фазу запальної реакції, що супроводжується

інтенсивною деструкцією клітинних елементів у вогнищі ушкодження, масивним цитолізом та первинним надходженням альтераційних метаболітів у кров'яне русло [115]. На 7-му добу спостереження ознаки системного ендотоксикозу продовжували прогресувати, досягаючи (93,00 ± 1,05) %, що відповідало вираженому приросту на 96,0 % відносно показників здорових тварин ($p < 0,001$) (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Динаміка показника ендогенної інтоксикації (ЕІІ) у сироватці крові щурів із модельованими трофічними виразками, % (M ± m)

Група тварин	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба	28-ма доба
Контрольна група (здорові), n = 6	47,46 ± 1,08	47,46 ± 1,08	47,46 ± 1,08	47,46 ± 1,08	47,46 ± 1,08
Модель виразки (без лікування), n = 6	67,21 ± 0,48*	93,00 ± 1,05*	95,96 ± 0,88*	85,38 ± 0,89*	75,58 ± 1,08*
Примітка. * – $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи.					

Найвищі значення ЕІІ у групі тварин без лікування фіксувалися на 14-ту добу. У цей термін рівень інтоксикації перевищував контрольні значення на 102,2 % ($p < 0,001$). Отримані дані свідчать про максимальну хронізацію деструктивного процесу, неспроможність локальних бар'єрних механізмів рани утримувати токсичні продукти у вогнищі запалення та масивний вихід ендотоксинів у системне русло, що призводить до значного перевантаження детоксикаційних систем організму [150].

Надалі, починаючи з 21-ї доби, на тлі часткового включення компенсаторних систем елімінації, відмічалося повільне і плавне зниження досліджуваного показника: його приріст відносно контрольної групи становив 79,9 % ($p < 0,001$), а на 28-му добу – 59,3 % ($p < 0,001$) (див. табл. 3.1). Проте слід акцентувати увагу на тому, що навіть наприкінці терміну спостереження

рівень ЕІІ залишався суттєво вищим за фізіологічну норму, вказуючи на незавершеність регенераторно-ранових процесів, персистенцію хронічного запалення та тривале збереження явищ метаболічного ендотоксикозу.

Таким чином, формування та тривалий перебіг модельованих трофічних виразок супроводжується розвитком вираженого системного ендотоксикозу з піком на 14-ту добу. Поступова спадна тенденція показника ЕІІ до 28-ї доби свідчить про повільну та недостатню активацію ендогенних детоксикаційних механізмів організму, проте повного самоочищення рани та відновлення метаболічного гомеостазу за умов природного перебігу патології без застосування лікувальних чинників не відбувається.

3.2 Динаміка вмісту церулоплазміну в сироватці крові при модельованій трофічній виразці

Церулоплазмін (ЦП) є основним мідьвмісним глікопротеїном плазми крові, який належить до альфа-2-глобулінової фракції та виконує роль ключового компонента гуморальної ланки антиоксидантного захисту [108]. Завдяки вираженій ферментній (фероксидазній) активності, ЦП здійснює одноелектронне окиснення високотоксичних іонів двовалентного заліза (Fe 2+) до менш реакційноздатних іонів тривалентного заліза (Fe3+). Це блокує утворення вільних гідроксильних радикалів у реакціях Фентона та Габера-Вайсса, перешкоджаючи генералізації вільнорадикальних процесів, захищаючи мембрани клітин від пероксидної деструкції та запобігаючи розвитку системного оксидативного стресу [105].

Тривалий перебіг деструктивних процесів у м'яких тканинах супроводжується стійкою інтенсифікацією процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) безпосередньо у вогнищі ушкодження. Надлишок молекулярних продуктів ліпопероксидації виступає потужним прозапальним стимулом, що індукує посилення печінкового біосинтезу церулоплазміну як позитивного

реактанту гострої фази запалення. Відтак, моніторинг його концентрації в сироватці крові дозволяє комплексно оцінити рівень напруження антиоксидантного потенціалу організму та характер реактивності системної відповіді на тривалу альтерацію тканин [105, 108].

У піддослідних тварин контрольної групи фізіологічний рівень церулоплазміну в сироватці крові становив (1,38 ± 0,09) г/л. У групі з модельованою трофічною виразкою за умов її природного перебігу виявлено стрімке зростання концентрації цього глікопротеїну вже на 3-тю добу – на 101,4 % ($p < 0,001$) відносно контролю. На 7-му добу вміст ЦП збільшився в 3,5 раза порівняно з початковими нормативними значеннями, досягаючи (4,87 ± 0,12) г/л ($p < 0,001$), що вказує на розгортання потужної системної відповіді на локальну тканинну деструкцію та масивну потребу в антиоксидантному захисті (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Динаміка вмісту церулоплазміну в сироватці крові щурів при модельованій трофічній виразці, г/л (M ± m)

Група тварин	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	21-ша доба	28-ма доба
Контрольна група (здорові) n = 6	1,38 ± 0,09	1,38 ± 0,09	1,38 ± 0,09	1,38 ± 0,09	1,38 ± 0,09
Модель виразки (без лікування) n = 6	2,78 ± 0,05*	4,87 ± 0,12*	5,02 ± 0,06*	4,76 ± 0,07*	4,18 ± 0,09*
Примітка: * – $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи.					

Максимум акумуляції церулоплазміну в сироватці крові спостерігався на 14-ту добу, складаючи (5,02 ± 0,06) г/л (що на 263,8 % вище за показники здорових тварин; $p < 0,001$). Цей пік хронологічно та патогенетично збігався з періодом найбільш виражених деструктивно-некротичних змін у зоні трофічної виразки та максимальним рівнем ендогенної інтоксикації.

У пізніші терміни відмічалося лише помірне та недостатнє зниження досліджуваного гострофазового показника: на 21-шу добу його рівень усе ще перевищував норму на 244,9 % ($p < 0,001$), а на 28-му добу залишався підвищеним на 202,9 % ($p < 0,001$) (див. табл. 3.2). Тривале утримання високої концентрації ЦП у кровотоку свідчить про персистенцію хронічного запального процесу, незавершеність очищення рани від некротичного детриту та стійке оксидативне напруження, яке виснажує адаптаційно-компенсаторні резерви організму за відсутності лікування.

Отже, формування експериментальної трофічної виразки супроводжується потужною системною гострофазовою відповіддю організму та вираженою мобілізацією ланок антиоксидантного захисту. Проте тривале напруження цієї системи аж до 28-ї доби свідчить про глибокі розлади метаболічного гомеостазу та виснаження адаптаційно-компенсаторних резервів за відсутності адекватного лікувального впливу.

3.3 Динаміка вмісту молекул середньої маси в сироватці крові при модельованій трофічній виразці у щурів

Молекули середньої маси (МСМ) є високочутливими та об'єктивними ендогенними маркерами метаболічного дистресу. Вони являють собою гетерогенну суміш низько- та середньомолекулярних пептидів, олігосахаридів, глікопротеїнів, жирних кислот та продуктів нуклеїнового обміну, які утворюються внаслідок неповного протеолізу та деградації макромолекул. Підвищення їхньої концентрації в системному кровотоку безпосередньо відображає ступінь деструкції клітинних мембран, інтенсивність автолітичних процесів, а також функціональну спроможність або перевантаження систем природної детоксикації [102].

При хронічних трофічних виразках тривала локальна ішемія, гіпоксія, персистуюче запалення та масивний некроз м'яких тканин виступають

постійним джерелом утворення таких проміжних метаболітів [102, 103]. Надходячи у судинне русло, МСМ здатні проявляти капіляротоксичні властивості, блокувати рецепторні системи клітин, пригнічувати мікроциркуляцію та поглиблювати явища системного оксидативного стресу. Дослідження пулу МСМ при поглинанні світла у спектральних діапазонах 254 нм (переважно відображає рівень речовин низько- та середньомолекулярного походження, нуклеотидів) та 280 нм (характеризує вміст пептидів із високим вмістом ароматичних амінокислот) дозволяє детально оцінити кінетику та фракційний склад ендотоксикозу в динаміці патологічного процесу.

У тварин контрольної групи базовий рівень МСМ із поглинанням при довжині хвилі 254 нм ($МСМ_{254}$) становив (0,06 ± 0,001) ум. од., а при 280 нм ($МСМ_{280}$) – (0,05 ± 0,002) ум. од. (табл. 3.3). У щурів із модельованою трофічною виразкою без застосування лікувальних чинників уже на 3-тю добу було зафіксовано виражену активацію процесів ендогенного білкового розпаду, що проявилося достовірним зростанням обох показників: рівень $МСМ_{254}$ підвищився на 33,3 % ($p < 0,001$), а $МСМ_{280}$ на 80,0 % ($p < 0,001$) відносно референтних значень клінічно здорових тварин.

Прогресування деструктивно-альтераційних змін у рані призвело до подальшого накопичення токсичних лігандів у крові. Максимальні значення обох фракцій МСМ реєструвалися в інтервалі між 7-ю та 14-ю добами. Так, на 7-му добу концентрація $МСМ_{254}$ досягла (0,09 ± 0,001) ум. од., а $МСМ_{280}$ – (0,09 ± 0,001) ум. од. ($p < 0,001$ порівняно з контролем). На 14–ту добу рівень фракції $МСМ_{254}$ становив (0,08 ± 0,001) ум. од., тоді як фракція $МСМ_{280}$ стабільно утримувалася на своєму піковому значенні – (0,09 ± 0,001) ум. од. ($p < 0,001$) (табл. 3.3). Така тривала гіперконцентрація молекул середньої маси свідчить про глибокий рівень системного ендотоксикозу, зумовлений масивним надходженням продуктів тканинного розпаду та вираженою неспроможністю бар'єрної функції локального вогнища хронічного ушкодження.

Таблиця 3.3 – Динаміка вмісту молекул середньої маси (МСМ) в сироватці крові щурів при модельованій трофічній виразці, ум. од. (M ± m)

Показник	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група (здорові), n = 6					
$МСМ_{254}$	0,06 ± 0,001	0,06 ± 0,001	0,06 ± 0,001	0,06 ± 0,001	0,06 ± 0,001
$МСМ_{280}$	0,05 ± 0,002	0,05 ± 0,002	0,05 ± 0,002	0,05 ± 0,002	0,05 ± 0,002
Модель виразки (без лікування), n = 6					
$МСМ_{254}$	0,08 ± 0,003*	0,09 ± 0,001*	0,08 ± 0,001*	0,07 ± 0,002*	0,05 ± 0,002
$МСМ_{280}$	0,09 ± 0,003*	0,09 ± 0,001*	0,09 ± 0,001*	0,08 ± 0,002*	0,06 ± 0,002**
Примітка. * – $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи; ** – $p < 0,05$ ($p = 0,012$) порівняно з показниками контрольної групи.					

Починаючи з 21–ї доби спостереження, на тлі включення системних адаптаційних реакцій та фізіологічних механізмів елімінації метаболітів нирками та печінкою, відзначалася тенденція до поступового зниження рівнів обох маркерів. Концентрація $МСМ_{254}$ зменшилася до (0,07 ± 0,002) ум. од. ($p < 0,001$ відносно контролю), а $МСМ_{280}$ – до (0,08 ± 0,002) ум. од. ($p < 0,001$).

Наприкінці спостереження (28–ма доба) рівень фракції $МСМ_{254}$ знизився до (0,05 ± 0,002) ум. од. і статистично не відрізнявся від показників тварин контрольної групи ($p = 0,438$), що вказує на ефективну елімінацію та виведення низькомутагенних нуклеотидних токсинів. Водночас рівень фракції $МСМ_{280}$ на 28–му добу хоча й знизився порівняно з піковими термінами до (0,06 ± 0,002) ум. од., проте все ще залишався вірогідно підвищеним на 20,0 % відносно фізіологічної норми ($p = 0,012$) (див. табл. 3.3). Даний факт свідчить про персистенцію пептидного ендотоксикозу та наявність залишкових явищ системної інтоксикації, пов'язаних із незавершеністю регенераторних

процесів у зоні трофічної виразки за умов відсутності патогенетичного лікування.

Таким чином, розвиток модельованої трофічної виразки у піддослідних тварин циклічно корелює з наростанням системного ендотоксикозу, критерієм якого є достовірна гіперконцентрація обох досліджуваних фракцій молекул середньої маси. Хронологічний збіг максимальних рівнів $МСМ_{254}$ та $МСМ_{280}$ на 7–14 добу з фазою активної альтерації підтверджує пряму залежність метаболічної інтоксикації від масштабів некробіотичних процесів у м'яких тканинах. Неповне відновлення пулу пептидних токсинів ($МСМ_{280}$) на 28–му добу вказує на виснаження адаптаційно–компенсаторних детоксикаційних систем організму та патогенетично обґрунтовує необхідність застосування зовнішньої регенераторно–стимулювальної терапії.

3.4 Динаміка змін рівнів імуноглобулінів класів А, М та G у сироватці крові при модельованій трофічній виразці у щурів

Імуноглобуліни є ключовими компонентами гуморальної ланки імунної системи, які забезпечують специфічний захист організму від антигенів різної природи. При розвитку трофічних виразок шкіри та м'яких тканин імунна система реагує на хронічне ушкодження покривних тканин шляхом активації В–лімфоцитів і посилення продукції антитіл різних класів. Коливання рівнів IgA, IgM та IgG відображають інтенсивність імунозапального процесу, а також інтегральний стан системного та місцевого імунітету в зоні альтерації. Вивчення кінетики цих макромолекул дозволяє об'єктивно оцінити імунологічну реактивність організму в динаміці деструктивного процесу та на етапах його подальшої репарації [113, 114].

Під час проведення експериментальних досліджень встановлено, що у контрольній групі здорових тварин базовий вміст IgA становив (0,39 ± 0,009) г/л, IgM – (0,58 ± 0,013) г/л, а IgG – (0,88 ± 0,007) г/л. У щурів із

модельованим виразково–деструктивним дефектом шкіри вже на 3–тю добу спостереження реєструвалося виражене та статистично достовірне підвищення концентрації всіх трьох класів антитіл: рівень IgA зріс на 82,0 % ($p < 0,001$), IgM – на 53,4 % ($p<0,001$), а IgG – на 28,4 % ($p < 0,001$) порівняно з референтними значеннями контролю (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Динаміка вмісту імуноглобулінів класів A, M та G у сироватці крові щурів при модельованій трофічній виразці, г/л (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Імуноглобулін A (IgA)					
Контрольна група, n = 6	0,39 ± 0,009	0,39 ± 0,009	0,39 ± 0,009	0,39 ± 0,009	0,39 ± 0,009
Модель виразки, n = 6	0,71 ± 0,013*	0,81 ± 0,020*	0,90 ± 0,012*	0,77 ± 0,007*	0,52 ± 0,012*
Імуноглобулін M (IgM)					
Контрольна група, n = 6	0,58 ± 0,013	0,58 ± 0,013	0,58 ± 0,013	0,58 ± 0,013	0,58 ± 0,013
Модель виразки, n = 6	0,89 ± 0,005*	0,97 ± 0,010*	0,90 ± 0,007*	0,83 ± 0,011*	0,78 ± 0,010*
Імуноглобулін G (IgG)					
Контрольна група, n = 6	0,88 ± 0,007	0,88 ± 0,007	0,88 ± 0,007	0,88 ± 0,007	0,88 ± 0,007
Модель виразки, n = 6	1,13 ± 0,007*	1,11 ± 0,004*	1,07 ± 0,008*	1,07 ± 0,007*	0,95 ± 0,015**
Примітка. * – $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи; ** – $p < 0,01$ ($p = 0,002$) порівняно з показниками контрольної групи.					

В інтервалі між 7–ю та 14–ю добами відзначалося подальше прогресуюче накопичення імуноглобулінів у системному кровотоку. Максимальні значення досліджуваних гуморальних факторів зафіксовано на 14–ту добу експерименту. У цей термін концентрація IgA перевищувала контроль на 130,8 % ($p < 0,001$), сягаючи 0,90±0,012 г/л. Вміст IgM на 14–ту

добу становив (0,90 ± 0,007) г/л, що відповідало приросту на 55,2 % ($p < 0,001$) відносно здорових тварин. На противагу цьому, рівень IgG у зазначений період продемонстрував помірне зниження порівняно з 3–ю та 7–ю добами (до (1,07 ± 0,008) г/л), проте все одно залишався вірогідно вищим за показники контрольної групи на 21,6 % ($p < 0,001$).

Починаючи з 21–ї доби спостереження, на тлі розгортання локальних регенераторних процесів у рані, концентрація антитіл почала поступово знижуватися. Наприкінці експерименту (28–ма доба) вміст IgA зменшився до (0,52 ± 0,012) г/л, але перевищував рівень контрольної групи на 33,3 % ($p < 0,001$). Кількість IgM знизилася до (0,78 ± 0,010) г/л, залишаючись вищою за норму на 34,5 % ($p<0,001$). Рівень IgG на 28–му добу становив (0,95 ± 0,015) г/л, що на 8,0 % перевищувало значення здорових щурів, зберігаючи статистичну значущість відмінностей ($p = 0,002$) (див. табл. 3.4).

Гіперпродукція імуноглобулінів класів A, M та G у щурів із модельованою трофічною виразкою є чітким маркером системної активації гуморальної ланки імунітету у відповідь на резорбцію продуктів тканинного розпаду та вивільнення ендогенних антигенів із вогнища некрозу. IgA відіграє важливу роль у системі місцевого захисту бар'єрних тканин, тому його виражена кумуляція в перші два тижні відображає потужну компенсаторну реакцію, спрямовану на блокування токсичних субстратів і локалізацію бактеріальних агентів у зоні відкритого ранового дефекту.

IgM як ранній високомолекулярний компонент первинної імунної відповіді закономірно зростає у перші дні альтерації шкіри, підтверджуючи експрес–індукцію В–клітинного пулу у відповідь на руйнування гістогематичних бар'єрів [113]. Натомість IgG, що забезпечує формування пролонгованого специфічного імунітету, стабільно утримується на високому рівні протягом усього експерименту, свідчачи про тривале імунологічне напруження організму. Поступова спадна тенденція рівнів усіх антитіл після 14–ї доби збігається з розгортанням репаративної фази, очищенням виразки та

зниженням антигенного пресингу, проте збереження підвищеного вмісту IgG до 28–ї доби констатує незавершеність повного відновлення імунного гомеостазу.

3.5 Динаміка показників перекисного окиснення ліпідів при модельованій трофічній виразці у щурів

Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) виступає одним із фундаментальних патогенетичних механізмів деструкції клітинних мембран при розвитку запально–некротичних процесів у шкірі та підшкірних структурах [105]. Інтенсивність ліпопероксидації оцінювали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) – первинних інтермедіатів вільнорадикального каскаду, та малонового діальдегіду (МДА) – кінцевого цитотоксичного метаболіту, накопичення якого безпосередньо відбиває глибину і незворотність ушкодження фосфоліпідного бішару мембранних структур клітин дерми та епідермісу. Дослідження кінетики цих продуктів у плазмі крові дає змогу верифікувати вираженість системного оксидативного стресу та проаналізувати стан компенсаторно–відновних систем організму за умов хронічного перебігу рани [106, 107].

Аналіз експериментальних даних засвідчив стрімку інтенсифікацію процесів вільнорадикального окиснення у тварин із модельованою патологією (табл. 3.5, 3.6). Вже на 3–тю добу після формування трофічної виразки рівень ДК у плазмі крові зріс на 205,1 % ($p < 0,001$) порівняно з базовим значенням контрольної групи ((1,17 ± 0,02) ум. од./г). Максимальний прояв вільнорадикальної атаки зафіксовано на 7–му та 14–ту добу, коли приріст вмісту ДК становив 282,9 % ($p<0,001$) та 277,8 % ($p < 0,001$) відповідно відносно здорових щурів. Надалі, на 21–шу та 28–му добу, спостерігалося плавне зниження концентрації первинних продуктів ПОЛ, проте їхній рівень усе ще вірогідно перевищував норму на 211,1 % та 180,3 % ($p < 0,001$).

Таблиця 3.5 – Динаміка вмісту дієнових кон'югатів у сироватці крові щурів при модельованій трофічній виразці, ум. од./г (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група (здорові), n = 6	1,17 ± 0,02	1,17 ± 0,02	1,17 ± 0,02	1,17 ± 0,02	1,17 ± 0,02
Модель виразки, n = 6	3,57 ± 0,05*	4,48 ± 0,11*	4,42 ± 0,16*	3,64 ± 0,10*	3,28 ± 0,02*
Примітка. * – p < 0,001 порівняно з показниками контрольної групи.					

Синхронна патогенетична спрямованість була характерною і для вторинного метаболіту ліпопероксидації – малонового діальдегіду. На 3–тю добу його плазмова концентрація підвищилася на 97,4 % (p<0,001) порівняно з контролем ((2,67 ± 0,11) мкмоль/кг), досягши (5,27 ± 0,03) мкмоль/кг. Пік акумуляції МДА припав на 7–му добу, коли його вміст збільшився на 154,3 % (p < 0,001), складаючи (6,79 ± 0,04) мкмоль/кг (табл. 3.6).

На 14–ту та 21–шу добу активність ліпопероксидації за цим критерієм помірно згасала, проте перевищення референтних значень залишалося суттєвим – на 109,0 % та 70,0 % відповідно (p < 0,001). Важливо відзначити, що на 28–му добу експерименту концентрація МДА практично повернулася до фізіологічного рівня ((2,96 ± 0,08) мкмоль/кг), а статистичний аналіз не виявив вірогідної різниці з контрольною групою (p = 0,066). Це є прямою ознакою значного зниження напруження оксидативного стресу наприкінці терміну спостереження, що збігається з візуальними ознаками епітелізації дефекту.

Отримані результати переконливо доводять, що формування експериментальної трофічної виразки шкіри супроводжується потужним пуском пероксидних каскадів. Стрімкий підйом дієнових кон’югатів у першу добу вказує на ініціацію початкових етапів ПОЛ безпосередньо в зоні

альтерації покривних тканин, тоді як накопичення малонового діальдегіду свідчит про токсичну експресію кінцевих продуктів деградації ліпідів.

Таблиця 3.6 – Динаміка вмісту малонового діальдегіду у сироватці крові щурів при модельованій трофічній виразці, мкмоль/кг (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група (здорові), n = 6	2,67 ± 0,11	2,67 ± 0,11	2,67 ± 0,11	2,67 ± 0,11	2,67 ± 0,11
Модель виразки, n = 6	5,27 ± 0,03*	6,79 ± 0,04*	5,58 ± 0,07*	4,54 ± 0,07*	2,96 ± 0,08
Примітка. * – p < 0,001 порівняно з показниками контрольної групи (p = 0,066 на 28–му добу).					

Екстремальні концентрації обох маркерів у період з 7–ї по 14–ту добу хронологічно збігаються з фазою розгорнутої деструкції та гострого запалення у вогнищі ушкодження шкіри. Подальша спадна траєкторія показників після 14–ї доби свідчить про поступове залучення ендогенного антиоксидантного потенціалу, орієнтованого на відновлення клітинного гомеостазу. Протім збереження високого пулу ДК навіть на 28–му добу констатує тривале мембранодеструктивне відлуння в ушкодженій дермі. Водночас нормалізація рівня МДА в цей же термін демонструє позитивний вектор репаративної фази та стабілізацію клітинних структур, що підтверджує важливу роль про- та антиоксидантного балансу у патогенезі хронічного ранового процесу.

3.6 Активність антиоксидантних ферментів при модельованій трофічній виразці шкіри та м'яких тканин у щурів

Розвиток і хронізація виразково–деструктивного процесу у шкірних покривах та підшкірних структурах неминуче супроводжуються різкою

інтенсифікацією вільнорадикального окиснення. Масивна альтерація клітин дерми та епідермісу, викликана локальною ішемією та гіпоксією, запускає каскад гіперпродукції реактивних форм кисню (РФК). Надлишкова генерація індукторів ліпопероксидації призводить до пероксидній деструкції структурних ліпідів клітинних мембран, пошкодження фібрилярних білків міжклітинного матриксу та глибокого порушення мікроциркуляторного русла в периферійній зоні ранового дефекту [20, 105, 106].

Для підтримання редокс–гомеостазу, обмеження зони некрозу та нівелювання цитотоксичного пресингу оксидантів організм мобілізує ендогенну систему антиоксидантного захисту (АОЗ), яка включає взаємопов'язані ферментні та неферментні ланки. Ключовими металоферментами першої лінії захисту виступають супероксиддисмутаза (СОД), що здійснює дисмутацію супероксидного аніон–радикала до пероксиду водню, та каталаза (КТ), яка забезпечує швидку деградацію пероксиду водню до нетоксичних молекул води та кисню [107, 108]. Провідну роль у неферментному барьері та підтриманні тіол–дисульфідного статусу відіграє відновлений глутатіон (ВГ), який безпосередньо взаємодіє з радикалами та є косубстратом для глутатіонзалежних пероксидаз. Вивчення флуктуацій і взаємозв'язку цих показників у динаміці ранового процесу дозволяє об'єктивно оцінити спроможність системи АОЗ та компенсаторно–відновні резерви організму за умов тривалого дермато–деструктивного процесу.

Для комплексної біохімічної оцінки антиоксидантного потенціалу експериментальних тварин було детально досліджено кінетику активності ензимів СОД і КТ у сироватці крові, а також динаміку плазмового вмісту відновленого глутатіону [107, 108].

Як свідчать результати, у щурів із модельованою трофічною виразкою шкіри з перших діб спостереження розгортається виражена, патогенетично зумовлена реакція індукції ферментної ланки АОЗ, що носить чіткий

адаптаційно–компенсаторний характер. Так, питома активність СОД вже на 3–тю добу після відтворення виразкового дефекту шкіри перевищувала референтні значення контрольної групи здорових тварин ((0,29 ± 0,02) пит. од./мг) на 110,3 %, досягаючи відмітки (0,61 ± 0,006) пит. од./мг ($p < 0,001$). В інтервалі між 7–ю та 14–ю добами реєструвалося плавне прогресуюче зростання цього показника. Свого максимуму активність СОД досягала на 14–ту добу експерименту, складаючи (0,68 ± 0,003) пит. од./мг, що вище за контроль на 134,5 % ($p < 0,001$) (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Динаміка активності супероксиддисмутази у сироватці крові тварин з модельованою трофічною виразкою шкіри, пит. од./мг (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	0,29 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,29 ± 0,02
Модель виразки, шкіри n = 6	0,61 ± 0,006*	0,65 ± 0,007*	0,68 ± 0,003*	0,66 ± 0,007*	0,62 ± 0,010*
Примітка. * – $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи.					

Описаний підйом ензиматичної активності свідчить про інтенсивний de novo біосинтез ферменту у відповідь на масивний «респіраторний вибух» активованих фагоцитів та надлишкове утворення супероксид–аніонів у вогнищі хронічного запалення шкіри [105, 107]. Починаючи з 21–ї доби експерименту, на тлі візуального очищення поверхні виразки та появи грануляційної тканини, активність СОД продемонструвала помірну спадну тенденцію, знижуючись на 28–му добу до (0,62 ± 0,010) пит. од./мг. Проте навіть наприкінці терміну спостереження показник стабільно залишався вірогідно вищим за норму ($p < 0,001$), вказуючи на збереження інтенсивного метаболічного напруження та незавершеність редокс–балансу в ушкодженій дермі.

Синхронна спрямованість біохімічних змін була зафіксована і при моніторингу активності каталази, яка метаболізує токсичний пероксид водню, що утворюється в результаті супероксиддисмутазної реакції. На 3–тю добу після моделювання деструкції покривних тканин активність каталази зросла майже втричі, досягаючи (0,35 ± 0,004) мккат/кг проти (0,13 ± 0,003) мккат/кг у здорових тварин ($p < 0,001$) (табл. 3.8).

Таблиця 3.8 – Динаміка активності каталази у сироватці крові тварин з модельованою трофічною виразкою шкіри, мккат/кг (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	0,13 ± 0,003	0,13 ± 0,003	0,13 ± 0,003	0,13 ± 0,003	0,13 ± 0,003
Модель виразки, шкіри n = 6	0,35 ± 0,004*	0,45 ± 0,011*	0,58 ± 0,007*	0,55 ± 0,003*	0,43 ± 0,002*
Примітка. * – $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи.					

Максимальне напруження каталазної активності хронологічно збіглося з піком активності СОД і було зареєстроване на 14–ту добу спостереження – (0,58 ± 0,007) мккат/кг, що перевищувало норму на 346,2 % ($p < 0,001$). Починаючи з 21–ї доби, відзначалося планомірне згасання ензиматичної активності з її зниженням до (0,43 ± 0,002) мккат/кг на 28–му добу (див. табл. 3.8). Така динаміка відображає закономірне виснаження або функціональну адаптацію ензимної системи на пізніх термінах хронічного ранового процесу, коли рівень генерації пероксидних радикалів починає поступово знижуватися.

На відміну від ферментної ланки, динаміка концентрації відновленого глутатіону характеризувалася діаметрально протилежним вектором змін, що свідчить про глибоку декомпенсацію неферментного захисту. Вже на 3–тю добу після відтворення виразки вміст ВГ різко знизився до

(0,45 ± 0,007) мкмоль/г ($p < 0,001$) відносно контролю ((0,68 ± 0,004) мкмоль/г) (табл. 3.9).

Таблиця 3.9 – Динаміка вмісту відновленого глутатіону у сироватці крові тварин з модельованою трофічною виразкою шкіри, мкмоль/г (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	0,68 ± 0,004	0,68 ± 0,004	0,68 ± 0,004	0,68 ± 0,004	0,68 ± 0,004
Модель виразки, шкіри n = 6	0,45 ± 0,007*	0,30 ± 0,008*	0,43 ± 0,003*	0,53 ± 0,003*	0,56 ± 0,007*
Примітка: * – $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи.					

Мінімальні значення досліджуваного показника були зафіксовані на 7–му добу експерименту, коли рівень ВГ впав до (0,30 ± 0,008) мкмоль/г, що відповідає зниженню на 55,9 % порівняно з групою здорових тварин ($p < 0,001$). Така стрімка деплеція тіолового пулу вказує на тотальне витрачання глутатіону на пряму хімічну нейтралізацію гідропероксидів ліпідів, а також на його активне залучення як косубстрату у глутатіонпероксидазній та глутатіонтрансферазній реакціях з метою елімінації цитотоксичних продуктів розпаду тканин.

Починаючи з 14–ї доби, на тлі стабілізації ранового процесу та обмеження альтерації, рівень ВГ почав регенераторно відновлюватися, досягаючи (0,53 ± 0,003) мкмоль/г на 21–шу добу та (0,56 ± 0,007) мкмоль/г на 28–му добу. Попри позитивний вектор відновлення, вміст ВГ наприкінці експерименту залишався вірогідно нижчим за показники здорових тварин на 17,6 % ($p < 0,001$), що свідчить про незавершеність регенерації та збереження дефіциту неферментних метаболічних резервів щурів (див. табл. 3.9).

Таким чином, формування та перебіг експериментальної трофічної виразки шкіри та м'яких тканин у щурів супроводжуються вираженим

оксидативним стресом, який виступає тригером для потужної компенсаторної індукції ключових антиоксидантних ферментів – СОД та каталази. Проте паралельне різке зниження рівня відновленого глутатіону констатує значне виснаження неферментних метаболічних резервів щурів. Фіксація антиоксидантних показників у плато на пізніх термінах (21–28 доба) віддзеркалює поступове стихання вільнорадикального пресингу та перехід деструктивного процесу у фазу активної грануляції та регенерації пошкоджених шарів дерми, хоча повної нормалізації системи АОЗ на 28–му добу не відбувається.

3.7 Активність печінкових трансаміназ при модельованій трофічній виразці шкіри та м'яких тканин у щурів

Внутрішньоклітинні інтермедіарні ензими – аспартатамінотрансфераза (АсАТ) та аланінамінотрансфераза (АлАТ) – традиційно класифікуються як високочутливі маркери структурно–функционального стану клітин печінки та інтегрального метаболічного навантаження на організм. Інтенсифікація відтоку цих трансаміназ у системний кровотік є прямим наслідком розвитку цитолітичного синдрому або екстреного залучення гепатобіліарної системи у процеси детоксикації [105, 106]. За умов тривалого перебігу хронічного виразково–некротичного ураження шкірних покривів організм піддається масивному впливу ендогенних токсичних субстратів та медіаторів запалення. Реєстрація активності даних ензимів у динаміці дослідження дозволяє об'єктивно оцінити глибину соматичних порушень і характер гепатоцелюлярної відповіді на тривалий імунозапальний та оксидативний стрес.

У тварин із модельованим деструктивним процесом шкірних покривів виявлено стійке, статистично достовірне зростання каталітичної активності

обох амінотрансфераз у сироватці крові порівняно з контрольною групою протягом усього періоду експерименту (табл. 3.10).

Таблиця 3.10 – Динаміка активності печінкових трансаміназ у сироватці крові щурів при модельованій трофічній виразці шкіри, Од/л (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
АсАТ					
Контрольна група, n = 6	170,43 ± 4,20	170,43 ± 4,20	170,43 ± 4,20	170,43 ± 4,20	170,43 ± 4,20
Модель виразки, шкіри n = 6	212,98 ± 2,34*	241,68 ± 2,54*	268,43 ± 4,39*	249,00 ± 3,12*	231,23 ± 2,93*
АлАТ					
Контрольна група, n = 6	99,00 ± 1,09	99,00 ± 1,09	99,00 ± 1,09	99,00 ± 1,09	99,00 ± 1,09
Модель виразки, шкіри n = 6	137,75 ± 3,44*	172,73 ± 3,03*	193,12 ± 1,83*	185,00 ± 3,61*	161,53 ± 2,40*
Примітка: * – $p < 0,001$ порівняно з показниками контрольної групи.					

За даними, представленими в таблиці 3.10, вже на 3–тю добу після відтворення трофічного дефекту шкіри активність АсАТ підвищилася до (212,98 ± 2,34) Од/л ($p < 0,001$) відносно контрольних цифр здорових тварин ((170,43 ± 4,20) Од/л). Прогресуюче зростання ензимемії фіксувалося аж до 14–ї доби експерименту, досягаючи свого пікового значення – (268,43 ± 4,39) Од/л, що відповідає перевищенню норми на 57,5 % ($p < 0,001$).

На подальших етапах спостереження (21–ша та 28–ма доби) реєструвалося поступове спадання активності АсАТ до (249,00 ± 3,12) Од/л та (231,23 ± 2,93) Од/л відповідно. Проте навіть наприкінці експерименту рівень трансамінази залишався виражено і вірогідно вищим за показники здорових

тварин на 35,7 % ($p < 0,001$), підтверджуючи збереження системного метаболічного навантаження.

Аналогічний тренд кінетичних змін продемонструвала й аланінамінотрансфераза. На 3–тю добу спостереження реєструвалося вірогідне збільшення активності АлАТ до (137,75 ± 3,44) Од/л проти (99,00 ± 1,09) Од/л у контролі ($p < 0,001$). Максимальне зміщення показника в бік гіперензимемії зафіксовано на 14–ту добу експерименту – (193,12 ± 1,83) Од/л, що на 95,1 % перевищувало фізіологічний рівень здорових щурів. У терміни з 21–ї по 28–му добу активність АлАТ планомірно знижувалася, досягаючи наприкінці дослідження відмітки (161,53 ± 2,40) Од/л. Проте, як і у випадку з АсАТ, показник статистично значуще відрізнявся від референтних значень контрольної групи ($p < 0,001$).

Гіперферментемія АсАТ та АлАТ у щурів із модельованою трофічною виразкою шкіри є прямим проявом системної метаболічної транслокації та реактивного гепатиту у відповідь на масивну резорбцію продуктів розпаду тканин дерми й екзотоксинів з відкритого ранового дефекту. Зростання активності АсАТ, відображає генералізоване метаболічне напруження периферичних тканин та їх участь у компенсаторному детоксикаційному процесі під впливом хронічної ранової хвороби.

Натомість підвищення активності АлАТ, яка є специфічним внутрішньоклітинним маркером печінки, чітко свідчить про дестабілізацію та підвищення проникності плазматичних мембран безпосередньо гепатоцитів. Основним тригером пошкодження мембранних структур печінки виступає атака вільних радикалів і циркулюючих продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що надходять із зони шкірної деструкції.

Хронологічний збіг максимальних значень обох ферментів на 14–ту добу з піком системної ендогенної інтоксикації та ліпопероксидації підтверджує взаємозв’язку між деструкцією шкіри та вторинним ураженням печінкового бар’єру. Подальший регрес показників на 21–28 добу вказує на

часткове відновлення бар'єрних властивостей гепатоцитів, проте збереження стійкої гіперферментемії констатує пролонговане метаболічне навантаження на детоксикаційні органи тварин.

Підсумовуючи результати комплексних лабораторних досліджень, проведених на тваринах із модельованою трофічною виразкою шкіри та м'яких тканин, можна констатувати розгортання взаємопов'язаного каскаду імуно–метаболічних та патобіохімічних зрушень як на місцевому, так і на системному рівнях.

Встановлено, що формування глибокого дермато–деструктивного дефекту супроводжується стрімким пуском прооксидантних систем організму, що підтверджується накопиченням у плазмі крові первинних та кінцевих продуктів пероксидації – дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду. Цей процес супроводжується напруженням ензиматичної ланки антиоксидантного захисту (компенсаторний підйом активності супероксиддисмутази та каталази) на тлі пригнічення неферментного тіолового пулу (відновленого глутатіону).

Патогенетичним відлунням локального некрозу тканин шкіри та оксидативного стресу у щурів є розвиток синдрому вираженої ендогенної інтоксикації, верифікованого за ростом концентрації молекул середньої маси ($МСМ_{254}$, $МСМ_{280}$) та церулоплазміну, а також індукція гуморального імунітету, що виражається у гіперпродукції імуноглобулінів класів IgA, IgM та IgG. Окрім того, резорбція токсичних субстратів призводить до вторинного залучення печінки, що виявляється стійким цитолітичним синдромом із достовірним виходом у кров трансаміназ АсАТ та АлАТ.

Хронологічний аналіз свідчить, що екстремальні значення більшості досліджених маркерів припадають на 7–14–ту добу експерименту. Цей період патогенетично відповідає фазі розгорнутого гострого запалення, масивного альтераційного розпаду клітинних структур у ділянці виразки шкіри та максимального антигенного й оксидативного пресингу.

Поступовий регрес рівнів ендогенних токсинів, антитіл та печінкових ензимів після 14–21–ї доби чітко маркує перехід патологічного процесу в репаративно–грануляційну фазу. Водночас той факт, що до 28–ї доби більшість показників (окрім МДА) не досягають фізіологічної норми контрольної групи, переконливо доводить незавершеність процесів регенерації та тривале напруження детоксикаційної, антиоксидантної та імунної систем організму тварин.

Отриманий біохімічний профіль динаміки ранового процесу має фундаментальне значення для розуміння системних механізмів патогенезу трофічних виразок шкіри та слугує об’єктивним еталоном (критеріальною матрицею) для подальшої порівняльної оцінки ефективності розроблюваних методів патогенетичної фармакотерапії.

Результати досліджень, що висвітлені у розділі, опубліковано у наукових працях автора [159, 162].

РОЗДІЛ 4
ВПЛИВ ПЛАЗМИ, ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ, НА ПРОЦЕСИ ЛІПОПЕРОКИСИДАЦІЇ, АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ, ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ, СТАН ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН ТА ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ТВАРИН З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ТРОФІЧНОЮ ВИРАЗКОЮ ШКІРИ

4.1 Вплив PRP-терапії на показники ендогенної інтоксикації при модельованому трофічному виразковому ураженні шкіри у щурів

Одним із ключових біохімічних маркерів, що комплексно характеризують інтенсивність деструктивних процесів, вираженість альтерації та перебіг репаративної регенерації у тканинах, є рівень ензимної інтенсивності (ЕІІ) плазми крові [23, 28, 105]. Динамічні зміни цього показника відіграють важливу роль у моніторингу системної відповіді організму на локальне деструктивне ушкодження, дозволяючи об’єктивно оцінити стан про– та протизапального балансу, метаболічний статус, а також терапевтичну ефективність застосованого біотехнологічного методу лікування. Метою даного етапу дослідження було вивчення патогенетичних особливостей змін ЕІІ (%) у щурів із модельованим трофічним виразковим ураженням шкіри та встановлення корегувального впливу введення плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP).

У тварин контрольної групи індекс ЕІІ відзначався високою стабільністю протягом усього періоду спостереження і становив (47,46 ± 1,08) %. Натомість у групі з модельованою деструкцією шкірних покривів без медикаментозної корекції (група «Трофічна виразка шкіри») було зафіксовано стрімке та статистично значуще зростання ензимної активності. Уже на 3–тю добу після індукції патології рівень ЕІІ підвищився на 41,6 % порівняно з контролем, що вказує на гостру фазу запалення, масивний лізис

клітинних структур у зоні патологичного вогнища та вихід внутрішньоклітинних ферментів у судинне русло.

Максимальна інтенсифікація ензимологічних процесів у нелікованій групі спостерігалася на 14–ту добу експерименту, коли показник сягнув (95,96 ± 0,88) %, що у 2,02 раза (або на 102,2 %) перевищувало базові контрольні значення (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Динаміка вмісту ЕІІ (%) в сироватці крові щурів з модельованою трофічною виразкою шкіри за умов застосування PRP–терапії (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	47,46 ± 1,08	47,46 ± 1,08	47,46 ± 1,08	47,46 ± 1,08	47,46 ± 1,08
Трофічна виразка, шкіри n = 6	67,21 ± 0,48	93,00 ± 1,05	95,96 ± 0,88	85,38 ± 0,89	75,58 ± 1,08
Трофічна виразка + PRP, n = 6	62,88 ± 0,24	86,17 ± 1,18	78,13 ± 1,21	73,22 ± 0,25	66,42 ± 1,50
$p_{1–2}$	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p_{1–3}$	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p_{2–3}$	0,009	0,002	<0,001	<0,001	0,001

Примітка. $p_{1–2}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка шкіри»; $p_{1–3}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка + PRP»; $p_{2–3}$ – вірогідність розбіжностей між групами «Трофічна виразка шкіри» та «Трофічна виразка + PRP».

Патофізіологічною основою такої динаміки є глибока альтерація тканинних структур та формування хибного кола ендогенної інтоксикації. Тривала ішемія та некробіоз у рановій зоні ініціюють масивну хемотаксичну активацію і дегрануляцію клітин запального інфільтрату – переважно поліморфноядерних нейтрофілів та активованих макрофагів. У вогнищі

ураження відбувається гіперпродукція та екзоцитоз лізосомальних гідролаз (еластази, колагенази), мієлопероксидази, а також цинк–залежних матриксних металопротеїназ. Цей ферментний вибух призводить до неконтрольованого протеолізу та деградації колагенового й еластинового каркаса дерми, а також руйнування глікозаміногліканів міжклітинного матриксу [105, 106].

Паралельно внаслідок інтенсивного перекисного окиснення ліпідів відбувається деструкція фосфоліпідного бішару плазматичних мембран життєздатних клітин перивиразкової зони. Як наслідок, внутрішньоклітинні цитозольні та мітохондріальні ферменти (лактатдегідрогеназа, амінотрансферази, лізосомальні кислі гідролази) втрачають свій природний компартмент і дифундують у локальне капілярне та лімфатичне русло. Потрапляючи у системний кровотік, ці молекули, разом із олігопептидами та продуктами некротичного розпаду тканин, формують стійкий пул ендогенних токсинів [102, 105]. Саме ця генералізована токсемія обумовлює різкий стрибок ЕІІ плазми крові, віддзеркалюючи виражений синдром ендогенної інтоксикації та системну дезорганізацію метаболізму.

На пізніх термінах (21–28 доби) у групі «Трофічна виразка шкіри» відзначалося поступове спадання показника, проте навіть наприкінці експерименту (28–ма доба) рівень ЕІІ залишався вірогідно вищим за контроль на 59,2 %, свідчачи про незавершеність запального процесу, персистенцію некротичного вогнища та хронізацію пошкодження дерми з формуванням торпідної виразки, нездатної до самостійного фізіологічного закриття.

Застосування розробленої біотехнологічної методики (група «Трофічна виразка + PRP») продемонструвало потужний протективний і модулюючий ефект, спрямований на локалізацію вогнища альтерації, пригнічення цитолітичних процесів та стимуляцію репаративної регенерації. Під впливом PRP–терапії спостерігалося суттєве та прогресуюче зниження ензимної інтенсивності на всіх етапах спостереження. Так, на 3–тю добу рівень ЕІІ у лікованій групі був на 6,4 % нижчим порівняно з групою без лікування, а на

7–му та 14–ту добу різниця стала статистично значущою ($p_{2–3}$ = 0,002 та $p_{–2–3}$ < 0,001 відповідно).

Найбільш виражена позитивна кінетика регресії ендогенної інтоксикації фіксувалася наприкінці дослідження: на 28–му добу рівень ЕІІ знизився до 66,42, що було на 12,1 % менше, ніж у тварин групи «Трофічна виразка шкіри» (75,58) (рис. 4.1).

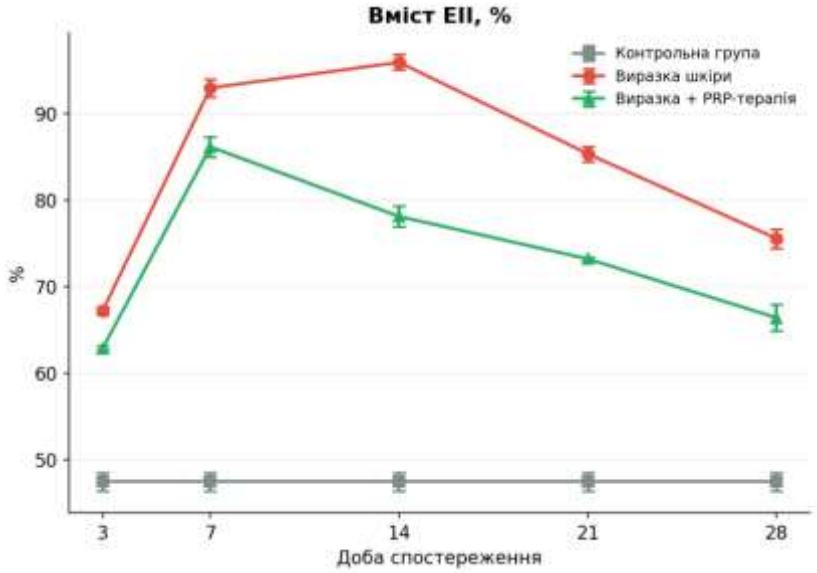


Рисунок 4.1 – Динаміка ЕІІ (%) в сироватці крові щурів з модельованою трофічною виразкою шкіри за умов застосування PRP–терапії

Молекулярно–патогенетичний механізм такої високої терапевтичної ефективності PRP–терапії базується на феномені дегрануляції активованих тромбоцитів. Ці поліпептидні медіатори за принципом паракринної регуляції високоспецифічно зв'язуються з трансмембранними тирозинкіназними рецепторами клітин–мішеней (фібробластів, ендотеліоцитів, моноцитів та кератиноцитів), розташованих у перивиразковій зоні.

Активація цих рецепторів запускає внутрішньоклітинні сигнальні каскади, які індукують транскрипцію генів, відповідальних за проліферацію та міграцію клітин. Внаслідок цього відбувається вибуховий неоангіогенез та

формування щільної, повноцінно васкуляризованої грануляційної тканини. Швидке відновлення мікроциркуляторного русла ліквідує тканинну гіпоксію, яка є головним драйвером некробіозу. Водночас фактори росту PRP активують місцеві макрофаги до фагоцитозу тканинного детриту, забезпечуючи швидкий кліренс рани.

Стабілізація цитомембран фібробластами та епітеліоцитами, відновлення цілісності гістогематичного бар'єра та купування процесів цитолізу призводять до практичного припинення виходу лізосомальних ферментів та продуктів деградації матриксу в загальний кровотік. Як результат, спостерігається стрімке падіння ЕІІ плазми крові, що доводить здатність PRP трансформувати хронічний деструктивний процес у фазу ефективного репаративного морфогенезу.

4.2 Динаміка рівня церулоплазміну при модельованій трофічній виразці шкіри у щурів під впливом PRP-терапії

У патогенезі трофічних виразкових уражень шкіри критичне значення має стан прооксидантно–антиоксидантної рівноваги, оскільки неконтрольований спалах вільнорадикальних процесів виступає провідним фактором хронізації раневого дефекту. Одним із найважливіших гуморальних компонентів системи антиоксидантного захисту (АОЗ) організму на системному рівні є церулоплазмін (ЦП) – мультимідний глікопротеїн плазми крові, який поєднує властивості білка гострої фази запалення та високоактивного позаклітинного антиоксиданту [105, 108].

ЦП має виражену фероксидазну активність, завдяки якій він здійснює каталітичне окиснення високотоксичних іонів двовалентного заліза (Fe^{2+}) до безпечного тривалентного стану (Fe^{3+}). Блокуючи утворення реакційноздатних форм кисню (РФК) через механізми вільнорадикального каталізу, церулоплазмін перешкоджає ініціації ліпопероксидації у

біомембранах клітин дерми та судинного ендотелію [105, 107]. Крім того, динаміка системного рівня ЦП є чутливим індикатором інтенсивності метаболічної відповіді печінки на гуморальні сигнали (цитокіни альтерації), що надходять безпосередньо з вогнища локального пошкодження шкіри.

У межах даного експерименту аналізували вміст ЦП (г/л) у дослідних групах тварин. Встановлено, що у щурів з модельованою трофічною виразкою шкіри без лікування концентрація церулоплазміну стрімко зростала з перших діб спостереження. На 3–тю добу рівень ЦП у 2,01 раза перевищувало показники інтактного контролю. Свого апогею гострофазова відповідь печінки досягла на 14–ту добу ураження, коли концентрація білка становила зростання на 263,7 % порівняно з нормою) (рис. 4.2).

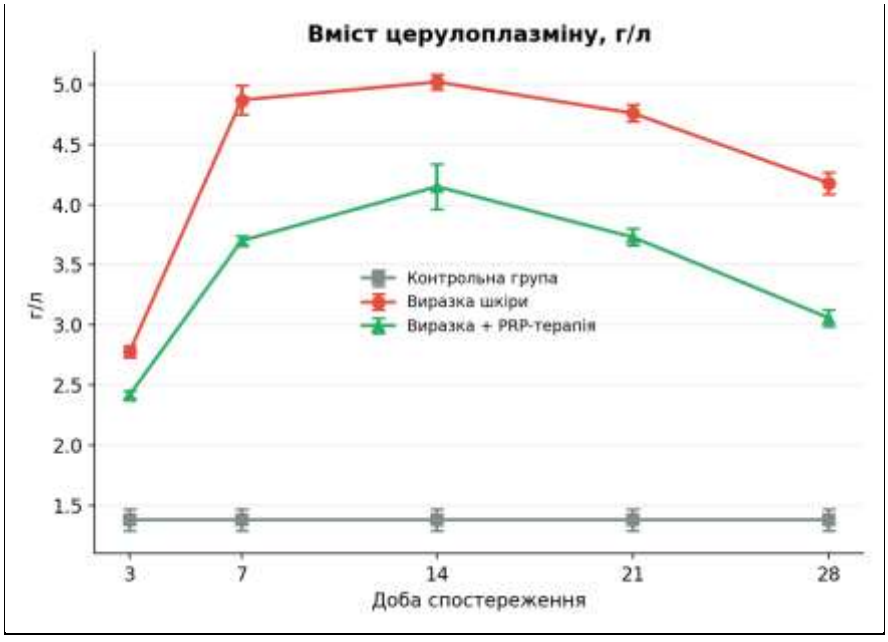


Рисунок 4.2 – Вміст церулоплазміну (г/л) в сироватці крові щурів з модельованою трофічною виразкою шкіри за умов застосування PRP–терапії

Цей біохімічний феномен має чітке системне та молекулярне підґрунтя, відображаючи функціонування патофізіологічної осі «рана – печінка». Персистуюче гнійно–некротичне запалення в ділянці трофічної виразки шкіри підтримує постійну активацію резидентних макрофагів і лейкоцитів. Вони

здійснюють безперервний синтез та екскрецію в лімфатичне і гемациркуляторне русло прозапальних цитокінів та фактора некрозу пухлин [113].

Досягаючи через кровотік синусоїдальних капілярів печінки та інші цитокіни взаємодіють із відповідними рецепторами на мембранах гепатоцитів. Це ініціює внутрішньоклітинний сигнальний шлях, внаслідок чого активовані фосфорильовані димери транскрипційного фактора транслюються в ядро клітини, де зв'язуються з промоторними ділянками генів гострофазових білків, запускаючи гіперпродукцію церулоплазміну [108].

Різке збільшення вмісту ЦП у крові (пік на 14–ту добу) є фундаментальним пристосувально–компенсаторним механізмом організму у відповідь на генералізований окиснювальний стрес. Під час масивного лізису клітин та руйнування мікросудин у виразці вивільняється велика кількість вільного гемоглобіну, міоглобіну та іонів Fe2+, які є потужними прооксидантами. Церулоплазмін, зв'язуючи та окиснюючи Fe2+ Fe3+, блокує реакцію Фентона. Тим самим він нівелює утворення надзвичайно агресивного гідроксильного радикала, який здатний викликати фрагментацію ДНК та тотальну деструкцію ліпідного матриксу клітин.

Навіть на 21–шу та 28–му добу у групі «Трофічна виразка шкіри» вміст ЦП залишався критично високим, що свідчить про незавершеність фази запалення, виснаження ендогенного пулу інших антиоксидантів (зокрема глутатіонової ланки) та тривале цитокінове перевантаження гепатоцитів.

Введення плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), суттєво оптимізувало профіль антиоксидантного реагування та гострофазової відповіді. У групі «Трофічна виразка + PRP» було відзначено вірогідну та планомірну супресію гіперпродукції церулоплазміну порівняно з групою без лікування на всіх термінах експерименту ($p_{2–3}<0,001$).

Вже на ранніх етапах спостереження (3–7 доба) у тварин, які отримували PRP–терапію, фіксувалося плавне зниження концентрації ЦП відносно нелікованої групи. На 3–тю добу рівень ЦП у групі PRP становив (2,42 ± 0,03) г/л, а на 7–му добу досяг значення (3,70 ± 0,04) г/л (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 – Вміст церулоплазміну (г/л) у сироватці крові щурів з модельованою трофічною виразкою шкіри після застосування PRP–терапії (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	1,38 ± 0,09	1,38 ± 0,09	1,38 ± 0,09	1,38 ± 0,09	1,38 ± 0,09
Трофічна виразка, шкіри n = 6	2,78 ± 0,05	4,87 ± 0,12	5,02 ± 0,06	4,76 ± 0,07	4,18 ± 0,09
Трофічна виразка + PRP, n = 6	2,42 ± 0,03	3,70 ± 0,04	4,15 ± 0,19	3,73 ± 0,07	3,06 ± 0,07
$p_{1–2}$	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p_{1–3}$	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p_{2–3}$	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001

Примітка. $p_{1–2}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка шкіри»; $p_{1–3}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка + PRP»; $p_{2–3}$ – вірогідність розбіжностей між групами «Трофічна виразка шкіри» та «Трофічна виразка + PRP».

На етапі 14–ї доби застосування PRP дозволило утримати рівень ЦП на позначці (4,15 ± 0,19) г/л, не допускаючи його критичного зльоту. На пізніх термінах (21–28 доба) тенденція до біохімічної нормалізації метаболічного статусу стала максимально вираженою: на 28–му добу експерименту в групі «Трофічна виразка + PRP» рівень церулоплазміну знизився до

(3,06 ± 0,07) г/л, що було на 26,8 % менше за показники нелікованої групи (4,18 ± 0,09 г/л).

Науковим і молекулярним поясненням такої нормалізації є здатність факторів росту та протизапальних цитокінів плазми, збагаченої тромбоцитами, модулювати місцевий імунозапальний мікроокруж рани. Компоненти PRP (інтерлейкіни плазми) діють на резидентні клітини раневого ложа, пригнічуючи активацію нуклеарного транскрипційного фактора каппа Бі в макрофагах. Це призводить до різкого гальмування транскрипції генів прозапальних цитокінів і стимулює фенотипічне перемикання макрофагів із класичного прозапального типу М1 у альтернативний, репаративно–регенераторний тип М2 [28, 113].

Зменшення пулу прозапальних цитокінів у рані різко знижує їхню еферентну концентрацію в системному кровотоці. Як наслідок, послаблюється стимулюючий цитокіновий імпульс на рецептори гепатоцитів печінки, що фізіологічно пригнічує гіперактивацію шляху. Печінка знижує темпи екскреції церулоплазміну через відсутність патологічної потреби в надмірному системному антиоксидантному захисті, оскільки локальний вільнорадикальний стрес у виразці ефективно купується за рахунок регенераторних ефектів PRP [28, 108]. Це свідчить про системну гармонізацію гомеостазу та швидке згасання запального синдрому під впливом біотехнологічного лікування.

Отже, експериментально доведено, що розвиток трофічного виразкового ураження шкіри у щурів супроводжується глибокою декомпенсацією системи прооксидантно-антиоксидантного балансу та потужною активацією гостро-фазової відповіді на системному рівні. Застосування PRP–терапії чинить виражену цитопротекторну, протизапальну та опосередковану антиоксидантну дію. Воно достовірно знижує інтенсивність системного запального відгуку, забезпечуючи високу кінетичну швидкість нормалізації біохімічного статусу тварин на всіх етапах репараційного генезу шкірних покривів.

4.3 Динаміка вмісту молекул середньої маси в сироватці крові щурів за умов моделювання трофічної виразки шкіри під впливом PRP-терапії

Молекули середньої маси (МСМ) є класичними маркерами ендогенної інтоксикації, які інтегрально відображають ступінь метаболічних порушень і деструктивних процесів у тканинах. Підвищення їхньої концентрації у системному кровотоці свідчить про активацію катаболічних реакцій, інтенсифікацію процесів протеолізу та накопичення токсичних метаболітів різного походження [102, 103]. Дослідження хронологічної динаміки вмісту МСМ при виразкових ураженнях шкіри дозволяє об'єктивно оцінити тяжкість перебігу ендотоксикозу, глибину тканинної деструкції, а також загальний патогенетичний стан організму на різних етапах формування патологічного процесу.

У ході проведеного дослідження встановлено, що у тварин контрольної групи рівень МСМ у сироватці крові залишався стабільним протягом усього періоду спостереження. Зокрема, показник пул-фракції $МСМ_{254}$ становив (0,06 ± 0,001) ум. од., а фракції $МСМ_{280}$ – (0,05 ± 0,002) ум. од., що відповідає межам фізіологічної норми та свідчить про метаболічну рівновагу в організмі здорових щурів.

Розвиток деструктивно-запального процесу при формуванні модельованої трофічної виразки призводив до виражених зрушень ендогенного балансу. Так, у групі тварин із виразковим ураженням без лікування спостерігалося стрімке зростання концентрації обох досліджуваних фракцій МСМ, починаючи вже з ранніх етапів експерименту. Рівень $МСМ_{254}$ достовірно збільшувався до (0,08 ± 0,003) ум. од. на 3-тю добу та досягав свого максимуму на 7-му добу спостереження, складаючи (0,09 ± 0,001) ум. од. На 14-ту добу цей показник утримувався на високому рівні ((0,08 ± 0,001) ум. од.), що достовірно перевищувало значення контрольної групи ($p < 0,05$). Лише на пізніх етапах (21–28-ма доба) відзначалося поступове зниження концентрації

цієї фракції пептидів до (0,05 ± 0,002) ум. од. наприкінці терміну спостереження, що вказувало на регрес гострої фази запалення (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 – Вміст молекул середньої маси (ум. од.) у сироватці крові щурів з модельованою трофічною виразкою шкіри після застосування PRP–терапії (M ± m)

Показник	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група (здорові), n = 6					
$МСМ_{254}$	0,06 ± 0,001	0,06 ± 0,001	0,06 ± 0,001	0,06 ± 0,001	0,06 ± 0,001
$МСМ_{280}$	0,05 ± 0,002	0,05 ± 0,002	0,05 ± 0,002	0,05 ± 0,002	0,05 ± 0,002
Модель виразки (без лікування), n = 6					
$МСМ_{254}$	0,08 ± 0,003*	0,09 ± 0,001*	0,08 ± 0,001*	0,07 ± 0,002*	0,05 ± 0,002
$МСМ_{280}$	0,09 ± 0,003*	0,09 ± 0,001*	0,09 ± 0,001*	0,08 ± 0,002*	0,06 ± 0,002**
Примітка. * – p < 0,001 порівняно з показниками контрольної групи; * * – p < 0,05 (p = 0,012) порівняно з показниками контрольної групи.					

Подібна, але більш виражена хронологічна динаміка була зафіксована при аналізі нуклеотидно-пептидної фракції $МСМ_{280}$. У тварин із нелікованою трофічною виразкою спостерігалося суттєве й високодостовірне підвищення цього показника до (0,09 ± 0,003) ум. од. на 3-тю добу та до (0,09 ± 0,001) ум. од. на 7-му і 14-ту добу експерименту (p < 0,001 порівняно з контролем). Отримані дані свідчать про тривале та масивне надходження продуктів клітинного розпаду й порушеного анаболізму в русло крові. Надалі відзначалося повільне зниження показника, проте навіть на 28-му добу рівень $МСМ_{280}$ залишався вищим за контроль і становив (0,06 ± 0,002) ум. од., що підтверджувало

незавершеність процесів системної детоксикації на тлі хронізації виразкового процесу.

Таким чином, розвиток модельованої трофічної виразки у піддослідних тварин циклічно корелює з наростанням системного ендотоксикозу, критерієм якого є достовірна гіперконцентрація обох досліджуваних фракцій молекул середньої маси. Хронологічний збіг максимальних рівнів $МСМ_{254}$ та $МСМ_{280}$ на 7–14 добу з фазом активної альтерації підтверджує пряму залежність метаболічної інтоксикації від масштабів некробіотичних процесів у м'яких тканинах. Неповне відновлення пулу пептидних токсинів ($МСМ_{280}$) на 28–му добу вказує на виснаження адаптаційно–компенсаторних детоксикаційних систем організму та патогенетично обґрунтовує необхідність застосування зовнішньої регенераторно–стимулювальної терапії.

4.4 Вплив PRP-терапії на зміни рівнів імуноглобулінів класів A, M та G у сироватці крові при модельованій трофічній виразці шкіри у щурів

Імуноглобуліни (IgA, IgM, IgG) є ключовими компонентами гуморальної ланки імунної системи, що забезпечують захист організму від інфекційних агентів та регулюють перебіг запальних і регенераторних процесів. Зміни їхньої концентрації у сироватці крові відображають ступінь активації системної імунної відповіді при патологічних станах, зокрема при хронічних ранах та деструктивних ураженнях м'яких тканин [113, 114]. Вивчення динаміки рівнів імуноглобулінів дозволяє оцінити стан системного імунітету експериментальних тварин, інтенсивність перебігу хронічного запалення, а також патогенетичну ефективність новітніх лікувальних втручань, зокрема локального застосування плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP).

Результати проведених досліджень систематизовано та представлено в таблиці 4.4.

Таблиця 4.4 – Динаміка вмісту імуноглобулінів класів А, М та G у сироватці крові щурів при модельованій трофічній виразці шкіри під впливом PRP–терапії, г/л (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Імуноглобулін А (IgA)					
Контрольна група, n = 6	0,390 ± 0,009	0,390 ± 0,009	0,390 ± 0,009	0,390 ± 0,009	0,390 ± 0,009
Модель виразки, n = 6	0,710 ± 0,013*	0,810 ± 0,020*	0,900 ± 0,012*	0,770 ± 0,007*	0,520 ± 0,012*
Модель + PRP, n = 6	0,650 ± 0,008*, #	0,690 ± 0,015*	0,650 ± 0,006*, #	0,570 ± 0,007*, #	0,470 ± 0,008**, #
Імуноглобулін М (IgM)					
Контрольна група, n = 6	0,580 ± 0,013	0,580 ± 0,013	0,580 ± 0,013	0,580 ± 0,013	0,580 ± 0,013
Модель виразки, n = 6	0,890 ± 0,005*	0,970 ± 0,010*	0,900 ± 0,007*	0,830 ± 0,011*	0,780 ± 0,010*
Модель + PRP, n = 6	0,780 ± 0,004*	0,770 ± 0,004*	0,670 ± 0,005*, #	0,640 ± 0,003*, #	0,570 ± 0,006, #
Імуноглобулін G (IgG)					
Контрольна група, n = 6	0,880 ± 0,007	0,880 ± 0,007	0,880 ± 0,007	0,880 ± 0,007	0,880 ± 0,007
Модель виразки, n = 6	1,130 ± 0,007*	1,110 ± 0,004*	1,070 ± 0,008*	1,070 ± 0,007*	0,950 ± 0,015**
Модель + PRP, n = 6	1,120 ± 0,002*	1,090 ± 0,002*, &	0,990 ± 0,002*	0,980 ± 0,004*, &	0,920 ± 0,009, &
Примітка. * – $p<0,001$ порівняно з показниками контрольної групи;** – $p<0,01$ порівняно з показниками контрольної групи;# – $p<0,001$ порівняно з показниками групи «Модель виразки»;& – $p<0,05$ порівняно з показниками групи «Модель виразки».					

При аналізі динаміки вмісту імуноглобуліну А (IgA) встановлено, що у тварин контрольної групи його рівень залишався стабільним протягом усього терміну спостереження і становив (0,390 ± 0,009) г/л. У щурів із модельованою трофічною виразкою шкіри без лікування (група «Модель виразки») відзначалося істотне підвищення цього показника на всіх етапах експерименту з досягненням максимуму на 14–ту добу – до (0,900 ± 0,012) г/л ($p < 0,001$ відносно контролю). Надалі рівень IgA поступово знижувався, сягаючи (0,520 ± 0,012) г/л на 28–му добу, проте стабільно залишався вищим за значення здорових тварин.

У групі щурів, яким застосовували PRP–терапію, інтенсивність патологічного підйому концентрації IgA була менш вираженою на ранніх етапах ((0,650 ± 0,008) г/л на 3–тю добу та (0,690 ± 0,015) г/л на 7–му добу), а динаміка регресії запального процесу на пізніх термінах виявилася значно вираженішою. Так, на 28–му добу спостереження рівень IgA в групі «Модель + PRP» знизився до (0,470 ± 0,008) г/л, що було статистично достовірно нижче порівняно з групою нелікованої виразки ($p<0,001$).

У здорових тварин контрольної групи рівень IgM становив (0,580 ± 0,013) г/л. Розвиток деструктивного процесу в шкірі супроводжувався стрімким зростанням концентрації IgM, яка на 7–му добу досягала свого піку – (0,970 ± 0,010) г/л ($p<0,001$ відносно контролю), що вказує на гостру фазу імунної відповіді на деструкцію тканин та мікробну контамінацію рани. До кінця експерименту (28–ма доба) рівень IgM у групі моделі знижувався лише до (0,780 ± 0,010) г/л. Локальне введення PRP призводило до вірогідного обмеження гіперпродукції IgM: починаючи з 14–ї доби ((0,670 ± 0,005) г/л проти (0,900 ± 0,007) г/л у моделі; $p < 0,001$) спостерігалася стрімка нормалізація показника, який на 28–му добу практично наблизився до контрольних значень і становив (0,570 ± 0,006) г/л.

Показник системного IgG у контрольних щурів складав (0,880 ± 0,007) г/л. У групі із нелікованою трофічною виразкою відзначено

пролонговане підвищення рівня даного імуноглобуліну до (1,130 ± 0,007) г/л на 3–тю добу з утриманням високих значень аж до 21–ї доби експерименту, що відображає хронізацію імунопатологічного процесу в рані. Лише на 28–му добу концентрація IgG у тварин без лікування знизилася до (0,950 ± 0,015) г/л. Застосування PRP–терапії забезпечувало плавне і послідовне зниження концентрації IgG протягом усього періоду спостереження (до (0,990 ± 0,002) г/л на 14–ту добу та (0,920 ± 0,009) г/л на 28–му добу; $p<0,05$ порівняно з групою моделі), що свідчить про ефективне купірування системної імунної гіперреактивності (див. табл. 4.4).

Гіперпродукція імуноглобулінів класів A, M та G у щурів із модельованою трофічною виразкою шкіри є чітким маркером системної активації гуморальної ланки імунітету у відповідь на резорбцію продуктів тканинного розпаду та вивільнення ендогенних антигенів із вогнища хронічного некрозу м'яких тканин. IgA відіграє важливу роль у системі місцевого захисту бар'єрних тканин, тому його виражена кумуляція в перші два тижні відображає потужну компенсаторну реакцію, спрямовану на блокування токсичних субстратів і локалізацію бактеріальних агентів у зоні відкритого ранового дефекту шкіри [114, 115].

Аналіз отриманих результатів свідчить, що деструктивно–виразкові ураження шкіри супроводжуються тривалою активацією гуморального імунітету. Найбільш суттєві зрушення концентрацій імуноглобулінів фіксувалися на 7–14–ту добу експерименту, що хронологічно збігається з піком ексудативно–запальної реакції та розпаду тканин у ділянці дефекту.

Місцева терапія плазмою, збагаченою тромбоцитами (PRP), продемонструвала виражений імуномодулювальний ефект. Застосування цього методу лікування сприяло вірогідному зниженню концентрації всіх досліджуваних класів імуноглобулінів (IgA, IgM, IgG) у сироватці крові щурів, починаючи вже з ранніх етапів спостереження. Особливо чітко вплив PRP–терапії виявився у прискоренні кінетики зниження рівнів IgM та IgA, що

вказує на швидке згасання гострофазового процесу, зменшення антигенного навантаження на організм за рахунок очищення рани та стимуляцію переходу патологічного процесу з фази запалення у фазу активної проліферації та епітелізації. Поступове зниження рівнів IgG до значень, близьких до норми, підтверджує купірування хронічної імунної гіперреактивності та відновлення системного імунного балансу організму експериментальних тварин під впливом автологічних факторів росту PRP.

4.5 Вплив PRP-терапії на динаміку показників перекисного окиснення ліпідів при модельованій виразці шкіри у щурів

Інтенсифікація процесів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) виступає одним із фундаментальних молекулярно–генетичних механізмів ушкодження дерми та епідермісу при формуванні виразкових дефектів шкіри [105]. За умов локальної ішемії, тканинної гіпоксії та тривалої персистенції запального процесу у вогнищі шкірного раневого дефекту відбувається гіперпродукція реакційноздатних форм кисню (РФК) клітинами запального інфільтрату (нейтрофільними гранулоцитами та макрофагами) і пошкодженими елементами мікросудинного русла.

Розвиток оксидативного стресу супроводжується неконтрольованою атакою РФК на поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) фосфоліпідного бішару плазматичних мембран кератиноцитів та фібробластів. Первинними молекулярними продуктами цієї деструкції є дієнові кон’югати (ДК), які відображають початковий етап перегрупування подвійних зв’язків у молекулах ліпідів [105, 106]. Подальша деградація пероксидів призводить до накопичення вторинних, більш стабільних і токсичних інтермедіатів, ключовим серед яких є малоновий діальдегід (МДА). МДА здатний утворювати міжмолекулярні зшивки з білками та нуклеїновими кислотами, викликаючи інактивацію мембранозв’язаних ферментів, порушення

трансмембранного транспорту і, як наслідок, індукцію некробіозу чи апоптозу клітин шкіри, а також деструкцію колагенового матриксу дерми. Вивчення зміни цих показників при виразкових ураженнях шкіри і після лікування плазмою, збагаченою тромбоцитами (PRP), дозволяє оцінити антиоксидантну й мембраностабілізуючу ефективність розробленого терапевтичного підходу.

У тварин контрольної групи рівень ДК відзначався стабільністю протягом усього експерименту і становив (1,17 ± 0,02) ум. од./г, що відображає фізіологічну норму редокс–статусу тканин шкіри. Проте у групі з модельованим виразковим ураженням без лікування було зафіксовано різку активацію початкових етапів ліпопероксидації (рис. 4.3).

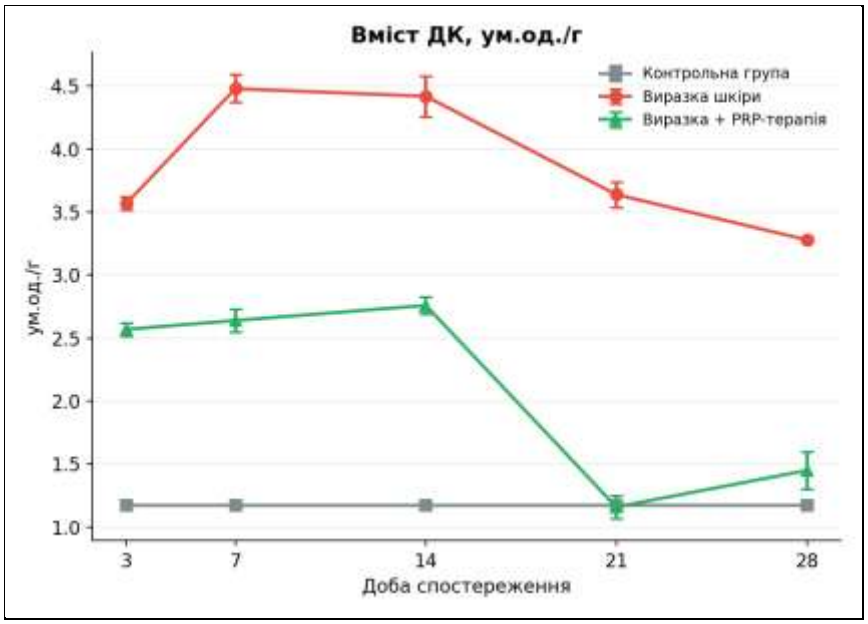


Рисунок 4.3 – Вміст дієнових кон'югатів (ум. од./г) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою за умов застосування PRP–терапії

Вже на 3–тю добу рівень ДК зріс до (3,57 ± 0,05 ум. од./г, а свого максимуму сягнув на 7–му добу, становлячи (4,48 ± 0,11) ум. од./г ($p < 0,001$). На пізніх термінах (14–28-ма доби) спостерігалося повільне зниження показника, але навіть

на 28–му добу рівень ДК ((3,28 ± 0,02) ум. од./г) майже втричі перевищував контрольні значення.

Патофізіологічною основою такої тривалої прооксидантної активації є формування зони локального некрозу шкіри та підшкірної клітковини, яка підтримується ішемічно–реперфузійними явищами в мікроциркуляторному руслі перивиразкової зони. Масивний приплив нейтрофілів у вогнище альтерації супроводжується «респіраторним вибухом» та гіперпродукцією супероксидного аніон–радикала і пероксиду водню, які виступають прямими тригерами пероксидації ПНЖК. Тривале утримання високих концентрацій ДК свідчить про хронізацію раневого процесу, персистенцію запальної фази та неспроможність ендогенних механізмів саморегуляції пригнітити вільнорадикальний каскад.

Застосування PRP–терапії продемонструвало потужний протективний ефект, спрямований на швидке купування ліпопероксидації в тканинах ураженої шкіри. У групі «Виразка шкіри + PRP» відзначалося виражене зниження показників на всіх етапах спостереження. На 3–тю добу вміст ДК становив (2,57 ± 0,05) ум. од./г, а на 21–шу та 28–му добу показники опустилися до (1,16 ± 0,09) та (1,45 ± 0,15) ум. од./г відповідно, фактично досягаючи меж фізіологічної норми та демонструючи статистично значущу різницю порівняно з нелікованою групою виразки ($p < 0,001$) (табл. 4.5).

Динаміка накопичення вторинного продукту ПОЛ – малонового діальдегіду – корелювала зі змінами первинних інтермедіатів. У групі контролю вміст МДА становив (2,67 ± 0,11) мкмоль/кг. У нелікованій виразковій групі концентрація МДА в біоптатах шкіри стрімко зростала, досягаючи піку на 7–му добу експерименту ((6,79 ± 0,04) мкмоль/кг, $p < 0,001$), після чого фіксувалося її поступове зниження, проте на 28–му добу показник все ще залишався на високому рівні – (2,96 ± 0,08) мкмоль/кг (табл. 4.6).

Таблиця 4.5 – Вміст дієнових кон'югатів (ум. од./г) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою за умов застосування PRP–терапії (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	1,17 ± 0,02	1,17 ± 0,02	1,17 ± 0,02	1,17 ± 0,02	1,17 ± 0,02
Виразка шкіри, n = 6	3,57 ± 0,05	4,48 ± 0,11	4,42 ± 0,16	3,64 ± 0,10	3,28 ± 0,02
Виразка шкіри + PRP, n = 6	2,57 ± 0,05	2,64 ± 0,09	2,76 ± 0,07	1,16 ± 0,09	1,45 ± 0,15
$p_{1–2}$	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p_{1–3}$	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p_{2–3}$	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001

Примітка. $p_{1–2}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка шкіри»; $p_{1–3}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка + PRP»; $p_{2–3}$ – вірогідність розбіжностей між групами «Трофічна виразка шкіри» та «Трофічна виразка + PRP».

Таблиця 4.6 – Вміст малонового діальдегіду (мкмоль/кг) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою за умов застосування PRP–терапії (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	2,67 ± 0,11	2,67 ± 0,11	2,67 ± 0,11	2,67 ± 0,11	2,67 ± 0,11
Виразка шкіри, n = 6	5,27 ± 0,03	6,79 ± 0,04	5,58 ± 0,07	4,54 ± 0,07	2,96 ± 0,08
Виразка шкіри + PRP, n = 6	4,27 ± 0,03	5,79 ± 0,04	4,58 ± 0,07	3,54 ± 0,07	2,27 ± 0,06
$p_{1–2}$	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{1–3}$	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{2–3}$	<0,067	< 0,001	< 0,001	0,009	0,023

Примітка. $p_{1–2}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка шкіри»; $p_{1–3}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка + PRP»; $p_{2–3}$ – вірогідність розбіжностей між групами «Трофічна виразка шкіри» та «Трофічна виразка + PRP».

Під впливом PRP–терапії відзначалася виражена позитивна кінетика регресії оксидативного стресу: рівень МДА в шкірі планомірно знижувався з (4,27 ± 0,03) мкмоль/кг на 3–тю добу до 2,27 ±0,06 мкмоль/кг наприкінці спостереження (28–ма доба), що свідчить про глибоку нормалізацію метаболічних процесів у дермальному шарі та ліквідацію явищ цитолізу (рис. 4.4).

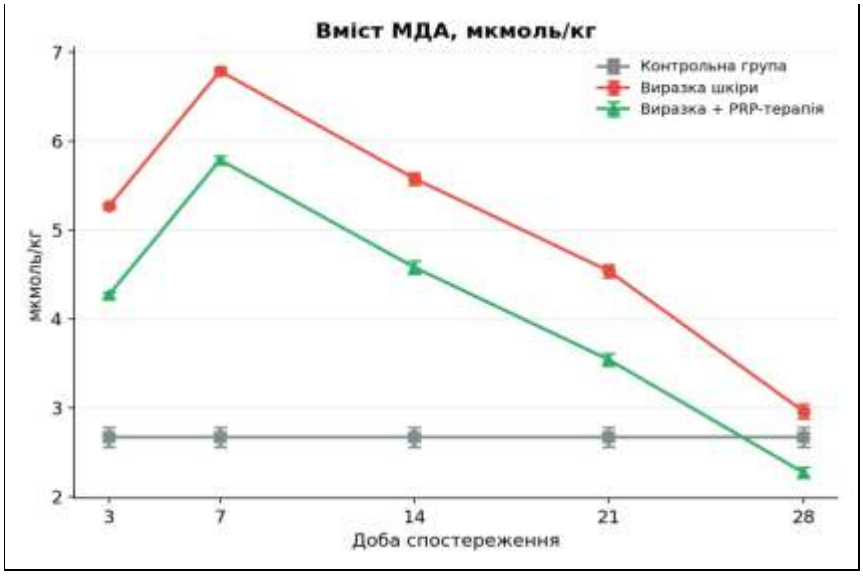


Рисунок 4.4 – Вміст малонового діальдегіду (мкмоль/кг) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою за умов застосування PRP–терапії

Ефективна ліквідація тканинної гіпоксії шкіри блокує перетворення цитозольного ферменту ксантиндегідрогенази на ксантиноксидазу в ендотеліоцитах, що різко перериває генерацію супероксидних радикалів кисню. Водночас компоненти PRP активують процеси ресинтезу фосфоліпідів мембран клітин дерми, стабілізуючи їх та перешкоджаючи утворенню нових ДК та МДА [28, 106]. Це дозволяє трансформувати деструктивний процес у фазу ефективної грануляції, епітелізації та фізіологічного ремоделювання виразкового дефекту шкіри.

Отримані результати комплексного дослідження свідчать про виражену активацію процесів перекисного окиснення ліпідів при розвитку

модельованого виразкового ураження шкіри. Стрімке зростання вмісту ДК та МДА в тканинах перивиразкової зони підтверджує формування глибокого оксидативного стресу, який виступає однією з провідних деструктивних ланок патогенезу ушкодження клітинних елементів дерми.

Місцеве застосування плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), сприяло значному пригніченню інтенсивності вільнорадикальних процесів, що верифікувалося вірогідним зниженням рівнів обох маркерів ліпопероксидації на всіх етапах експерименту. Виражена регресія концентрації ДК та МДА у групі «Виразка шкіри + PRP» свідчить про швидку стабілізацію фосфоліпідного матриксу клітинних мембран фібробластів і кератиноцитів та блокування цитолітичного синдрому.

Таким чином, використання PRP–терапії забезпечує потужний локальний антиоксидантний ефект, нівелює прооксидантний пресинг запального інфільтрату та створює оптимальні метаболічні передумови для скорочення фаз раневого процесу й прискорення повноцінної епітелізації та регенерації пошкоджених структур шкіри.

4.6 Вплив PRP-терапії на активність антиоксидантних ферментів при модельованій виразці шкіри у щурів

Ендогенна антиоксидантна система (АОС) виступає головним інтегральним механізмом захисту клітинних елементів дерми від руйнівної дії вільнорадикальних сполук та токсичних інтермедіатів перекисного окиснення ліпідів. Першу лінію ферментного захисту формує металофермент супероксиддисмутаза (СОД), яка здійснює каталітичну дисмутацію високотоксичного супероксидного аніон–радикала (O_2^-) до менш реакційноздатного пероксиду водню (H_2O_2). Наступний етап детоксикації забезпечує гемопротеїд каталаза (КТ), яка розщеплює пероксид водню до молекулярного кисню та води, перешкоджаючи утворенню

ультрадеструктивного гідроксильного радикала у реакціях Фентона та Хабера–Вайсса [105, 107].

Важливим неферментним компонентом цієї системи є відновлений глутатіон (ВГ) – трипептид, який безпосередньо взаємодіє з РФК, виступає косубстратом у глутатіонпероксидазній реакції та підтримує сульфгідрильні групи мембранних білків у відновленому стані, запобігаючи їхній окисній модифікації. При розвитку хронічних виразкових уражень шкіри тривала ішемія та лейкоцитарна інфільтрація призводять до виснаження антиоксидантного потенціалу тканин. Вивчення локальної активності СОД, КТ та рівня ВГ дозволяє об’єктивно оцінити стан системи антиоксидантного захисту у вогнищі альтерації та встановити патогенетичну ефективність локальної PRP–терапії [28, 107].

У тварин контрольної групи локальна активність СОД у тканинах шкіри характеризувалася стабільністю та становила (0,29 ± 0,02) пит. од./мг. У групі з модельованою виразкою шкіри без лікування спостерігалося стрімке й прогресуюче підвищення активності даного ферменту. Вже на 3–тю добу показник досяг (0,61 ± 0,006) пит. од./мг, а свого максимуму сягнув на 14–ту добу експерименту – (0,68 ± 0,003) пит. од./мг ($p < 0,001$). На пізніх термінах спостереження (21–28-ма доби) активність СОД демонструвала лише незначну тенденцію до зниження, залишаючись на рівні (0,62 ± 0,010) пит. од./мг на 28–му добу, що було значно вище за контрольні значення (табл. 4.7).

Така тривала гіперактивація СОД у нелікованій виразковій рані шкіри має чітке патогенетичне обґрунтування. Вона відображає стійку компенсаторну відповідь клітин перивиразкової зони на масивний та пролонгований «кисневий вибух», зумовлений персистенцією активованих нейтрофілів та макрофагів. За умов хронічного запалення клітини змушені експресувати додаткові молекули ферменту для переробки надлишкового об'єму супероксидних аніон-радикалів. Проте така гіперпродукція H_2O_2 за

браком адекватної активності наступних ланок АОС перетворюється на самостійний чинник цитотоксичності, замикаючи хибне коло оксидативної деструкції дерми.

Таблиця 4.7 – Активність супероксиддисмутази (пит. од./мг) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою за умов застосування PRP–терапії (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	0,29 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,29 ± 0,02
Виразка шкіри, n = 6	0,61 ± 0,006	0,65 ± 0,007	0,68 ± 0,003	0,66 ± 0,007	0,62 ± 0,010
Виразка шкіри + PRP, n = 6	0,51 ± 0,006	0,55 ± 0,007	0,48 ± 0,003	0,46 ± 0,007	0,36 ± 0,010
$p_{1–2}$	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{1–3}$	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{2–3}$	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,384

Примітка. $p_{1–2}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка шкіри»; $p_{1–3}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка + PRP»; $p_{2–3}$ – вірогідність розбіжностей між групами «Трофічна виразка шкіри» та «Трофічна виразка + PRP».

Локальне застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, суттєво модифікувало кінетику ферментної ланки АОС. У групі «Виразка шкіри + PRP» рівень напруження антиоксидантних механізмів осередку ушкодження планомірно знижувався. Активність СОД на 3–тю добу становила (0,51 ± 0,006) пит. од./мг, після чого плавно регресувала, сягаючи на 28–му добу значення (0,36 ± 0,01) пит. од./мг (рис. 4.5). Це свідчить про ефективне зняття прооксидантного навантаження з тканин шкіри, хоча повного повернення до ізольованого контролю на цьому терміні зафіксовано не було.

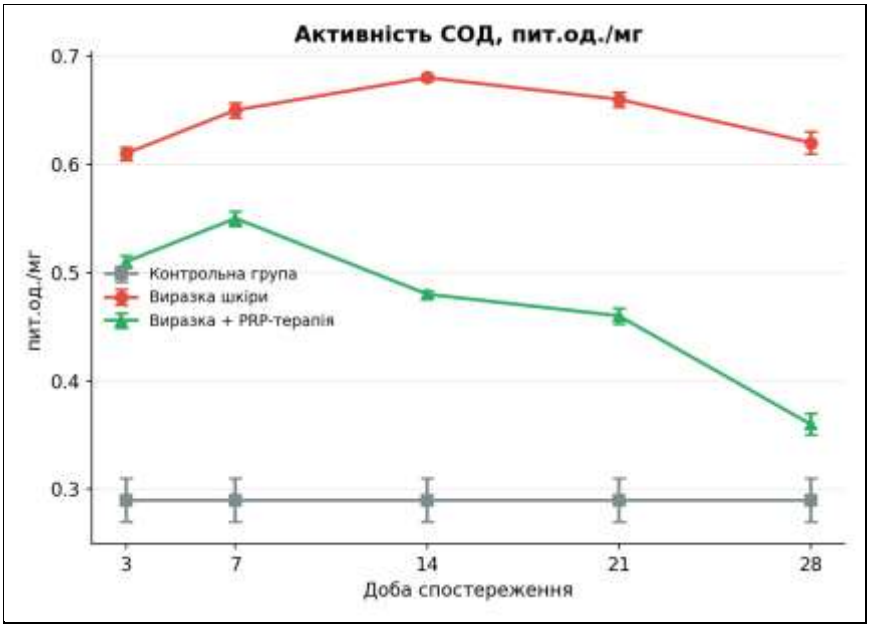


Рисунок 4.6 – Активність супероксиддисмутази (пит. од./мг) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою за умов застосування PRP–терапії

Динаміка активності каталази в біоптатах шкіри щурів корелювала зі змінами супероксиддисмутази. У контролі її активність становила (0,13 ± 0,003) мккат/кг. У тварин із виразкою шкіри без лікування активність КТ стрімко зростала, відображаючи необхідність утилізації надлишку пероксиду водню, і досягала пікових значень на 14–ту добу ((0,58 ± 0,007) мккат/кг, $p < 0,001$). До 28–ї доби показник знижувався лише до (0,43 ± 0,002) мккат/кг, що вказувало на незавершеність запальних процесів у дермі (табл. 4.8).

Під впливом PRP–терапії нормалізація активності каталази відбувалася значно динамічніше. Починаючи з 3–ї доби ((0,26 ± 0,005) мккат/кг), відзначалося прогресуюче зниження активності ферменту, яка на 21–шу добу опустилася до (0,16 ± 0,009) мккат/кг, а на 28–му добу становила (0,14 ± 0,015) мккат/кг, фактично досягаючи рівня здорового контролю та демонструючи високу статистичну значущість порівняно з групою без лікування ($p < 0,001$).

Таблиця 4.8 – Активність каталази (мккат/кг) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою за умов застосування PRP–терапії (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	0,13 ± 0,003	0,13 ± 0,003	0,13 ± 0,003	0,13 ± 0,003	0,13 ± 0,003
Виразка шкіри, n = 6	0,35 ± 0,004	0,45 ± 0,011	0,58 ± 0,007	0,55 ± 0,003	0,43 ± 0,002
Виразка шкіри + PRP, n = 6	0,26 ± 0,005	0,26 ± 0,009	0,28 ± 0,007	0,16 ± 0,009	0,14 ± 0,015
$p_{1–2}$	< 0,001	<0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{1–3}$	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{2–3}$	0,019	0,001	0,001	< 0,001	0,001

Примітка. $p_{1–2}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка шкіри»; $p_{1–3}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка + PRP»; $p_{2–3}$ – вірогідність розбіжностей між групами «Трофічна виразка шкіри» та «Трофічна виразка + PRP».

Паралельно з ферментними зрушеннями глибоких змін зазнавав рівень відновленого глутатіону. У шкірі щурів контрольної групи його концентрація дорівнювала (0,68 ± 0,004) мкмоль/г. Розвиток виразкового дефекту супроводжувався стрімким падінням пулу ВГ: на 3–тю добу – 0,45±0,007 мкмоль/г, із досягненням мінімуму на 7–му добу експерименту – 0,30±0,008 мкмоль/г ($p < 0,001$). Надалі фіксувалося лише часткове самовідновлення показника (до 0,56±0,007 мкмоль/г на 28–му добу), що вказувало на тривале виснаження неферментного антиоксидантного резерву рани (табл. 4.9; рис. 4.7).

Таке критичне падіння концентрації ВГ зумовлене його активним і некомпенсованим витрачанням на пряму неферментну нейтралізацію гідроксильних радикалів та пероксидів ліпідів, а також його прискореним

споживанням у реакціях глутатіонзалежних пероксидаз. Брак ВГ робить мембранні структури клітин шкіри абсолютно беззахисними перед атакою вторинних ліпопероксидів, що гальмує проліферативну активність фібробластів та міграцію кератиноцитів, блокуючи перехід рани до фази регенерації [105, 107].

Таблиця 4.9 – Вміст відновленого глутатіону (мкмоль/г) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою за умов застосування PRP–терапії (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	0,68 ± 0,004	0,68 ± 0,004	0,68 ± 0,004	0,68 ± 0,004	0,68 ± 0,004
Виразка шкіри, n = 6	0,45 ± 0,007	0,30 ± 0,008	0,43 ± 0,003	0,53 ± 0,003	0,56 ± 0,007
Виразка шкіри + PRP, n = 6	0,49 ± 0,005	0,43 ± 0,006	0,54 ± 0,005	0,57 ± 0,006	0,60 ± 0,003
$p_{1–2}$	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{1–3}$	0,003	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{2–3}$	< 0,001	< 0,001	0,070	0,153	0,072

Примітка. $p_{1–2}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка шкіри»; $p_{1–3}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка + PRP»; $p_{2–3}$ – вірогідність розбіжностей між групами «Трофічна виразка шкіри» та «Трофічна виразка + PRP».

Введення PRP сприяло ефективному та швидкому відновленню глутатіонового статусу в ушкодженій шкірі. Вже на 3–тю добу рівень ВГ у групі «Виразка шкіри + PRP» становив (0,49 ± 0,005) мкмоль/г, планомірно зростаючи на наступних етапах і досягаючи на 28–му добу значення

(0,60 ± 0,003) мкмоль/г, що вірогідно відрізнялося від показників тварин без лікування.

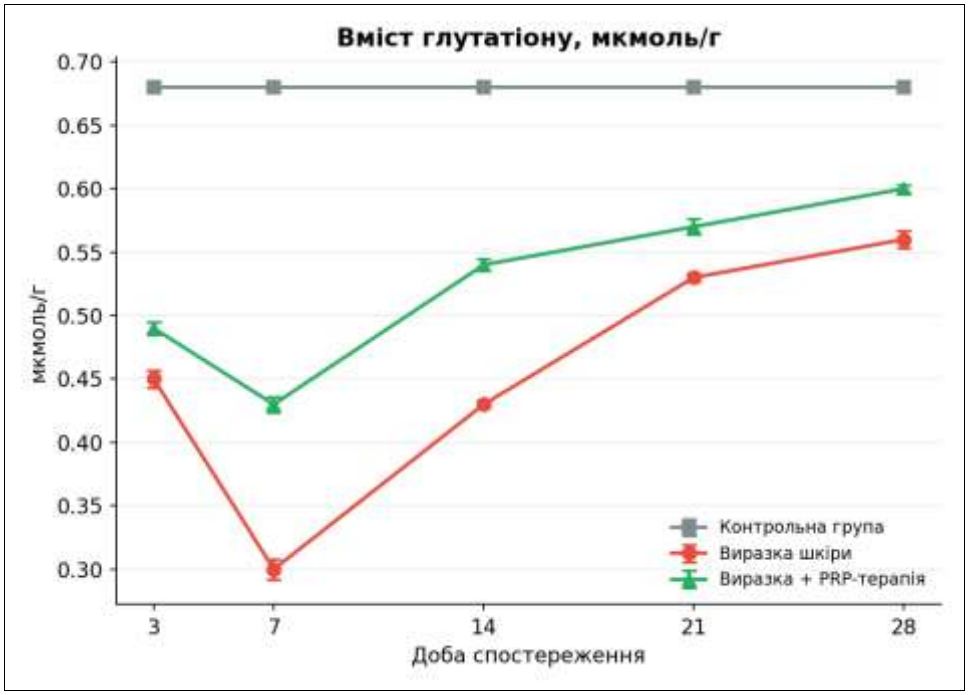


Рисунок 4.7 – Вміст відновленого глутатіону (мкмоль/кг) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою за умов застосування PRP–терапії

Молекулярно–патогенетичний ефект PRP–терапії щодо редокс–гомеостазу шкіри реалізується через оптимізацію мікрооточення рани. Фактори росту тромбоцитів, що містяться в PRP, ініціюють реваскуляризацію зони виразки, усуваючи тканинну гіпоксію. Ліквідація гіпоксії блокує ксантиноксидазний шлях генерації супероксид–радикалів, що призводить до природного падіння потреби у надвисоких концентраціях СОД та КТ. Водночас PRP активує внутрішньоклітинний сигнальний шлях в уцілілих клітинах дерми, що стимулює експресію генів gamma – глутамілцистеїнсинтетази, індукуючи повноцінний de novo біосинтез відновленого глутатіону [28, 107]. Це відновлює баланс між прооксидантами й антиоксидантами, зупиняє цитоліз та перенаправляє клітинний ресурс на синтез колагену й відновлення епідермального пласта.

Розвиток експериментального виразкового ураження шкіри супроводжується стійкою компенсаторною активацією ферментної ланки антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази та каталази, що виникає у відповідь на виражену локальну вільнорадикальну експресію. Водночас фіксується глибоке виснаження неферментного резерву редокс–системи, зумовлене критичним зниженням концентрації відновленого глутатіону, який інтенсивно витрачається на детоксикацію ліпопероксидів [106, 107].

Місцеве застосування плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), чинить виражений регуляторний та антиоксидантний ефект, оптимізуючи функціональний стан АОС у зоні альтерації. Під впливом терапії відбувається планомірне зниження надлишкової активності СОД та каталази, що свідчить про купування прооксидантного пресингу з боку клітин запального інфільтрату. Паралельно відзначається ефективне відновлення пулу відновленого глутатіону, що відновлює здатність тканин до самостійного знешкодження РФК та захисту сульфгідрильних груп білків від окисної деградації.

Таким чином, використання PRP–терапії забезпечує швидке відновлення фізіологічного редокс–гомеостазу в ушкоджених тканинах шкіри, стабілізує клітинні мембрани перивиразкової зони і створює сприятливий метаболічний фон для переходу раневого процесу у фазу активної проліферації та фізіологічної епітелізації.

4.7 Вплив PRP-терапії на активність трансаміназ у плазмі крові при модельованій виразці шкіри у щурів

Ферменти аспартатамінотрансфераза (АсАТ) та аланінамінотрансфераза (АлАТ) є ключовими ензимами азотистого обміну, що каталізують зворотне перенесення аміногруп між амінокислотами та alpha–кетокислотами. Будучи

внутрішньоклітинними компонентами, у фізіологічних умовах вони мають низьку активність у циркулюючому руслі. Рівень їхньої активності в плазмі крові слугує класичним і високочутливим індикатором проникності клітинних мембран та інтегральної цілісності гістогематичних бар'єрів [105, 106].

При розвитку масштабних або тривало незагойних виразкових уражень шкіри спостерігається суттєве зростання активності трансаміназ у системному кровотоці. Цей феномен не є виключно наслідком локального руйнування клітин у вогнищі деструкції дерми. Він відображає формування генералізованого синдрому взаємного обтяження: резорбція продуктів тканинного розпаду та мікробних токсинів з поверхні виразки шкіри індукує ендогенну інтоксикацію, яка на тлі персистуючого больового стресу та системної гіпоксії викликає вторинні метаболічні порушення у внутрішніх органах–мішенях, насамперед у печінці [102, 103]. Оцінка змін активності цих ферментів у динаміці дозволяє визначити глибину системних проявів локальної шкірної патології та оцінити органопротекторну й мембраностабілізуючу ефективність місцевого застосування плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP).

У тварин контрольної групи активність АсАТ у плазмі крові залишалася стабільною протягом усього періоду спостереження і становила (170,43 ± 4,20) Од/л. У щурів із модельованою виразкою шкіри без лікування вже на 3–тю добу було зафіксовано вірогідне підвищення активності ензиму до (212,98 ± 2,34) Од/л ($p < 0,01$). Свого піку цитолітичні прояви сягали на 14–ту добу експерименту, коли рівень АсАТ досяг максимуму – (268,43 ± 4,39) Од/л ($p < 0,001$). На пізніх термінах (21–28-ма доби) відзначалася тенденція до повільного зниження активності трансамінази, проте навіть наприкінці дослідження (28-ма доба) показник нелікованої групи ((231,23 ± 2,93) Од/л) суттєво перевищував фізіологічну норму (табл. 4.10; рис. 4.8).

Таблиця 4.10 – Активність АсАТ (Од/л) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою шкіри за умов застосування PRP–терапії (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	170,43 ± 4,20	170,43 ± 4,20	170,43 ± 4,20	170,43 ± 4,20	170,43 ± 4,20
Виразка шкіри, n = 6	212,98 ± 2,34	241,68 ± 2,54	268,43 ± 4,39	249,00 ± 3,12	231,23 ± 2,93
Виразка шкіри + PRP, n = 6	204,88 ± 2,34	219,02 ±2 ,35	216,33 ± 2,28	216,00 ± 1,31	197,42 ± 1,27
$p_{1–2}$	0,007	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{1–3}$	0,034	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{2–3}$	0,367	0,309	0,245	< 0,001	0,124

Примітка. $p_{1–2}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка шкіри»; $p_{1–3}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка + PRP»; $p_{2–3}$ – вірогідність розбіжностей між групами «Трофічна виразка шкіри» та «Трофічна виразка + PRP».

Патогенетичною основою такої динаміки системної ферментемії при локальній виразці шкіри є розвиток вираженого ендотоксикозу. Хронічна ішемія перивиразкової зони шкіри та масивний некроз клітинних елементів призводять до безперервного надходження в кров середньомолекулярних пептидів, деструктивно модифікованих білків та ліпопероксидів. Печінка як головний орган детоксикації зазнає значного функціонального перевантаження [102, 105]. Активація купферівських клітин та ініціація локального оксидативного стресу в паренхімі печінки під дією циркулюючих токсинів викликають альтерацію мембран гепатоцитів, що призводить до «вимивання» АсАТ у судинне русло. Максимум активності ферменту на 14–ту добу чітко збігається з періодом найбільшої вираженості некротичних та запальних процесів у ділянці шкірного дефекту.

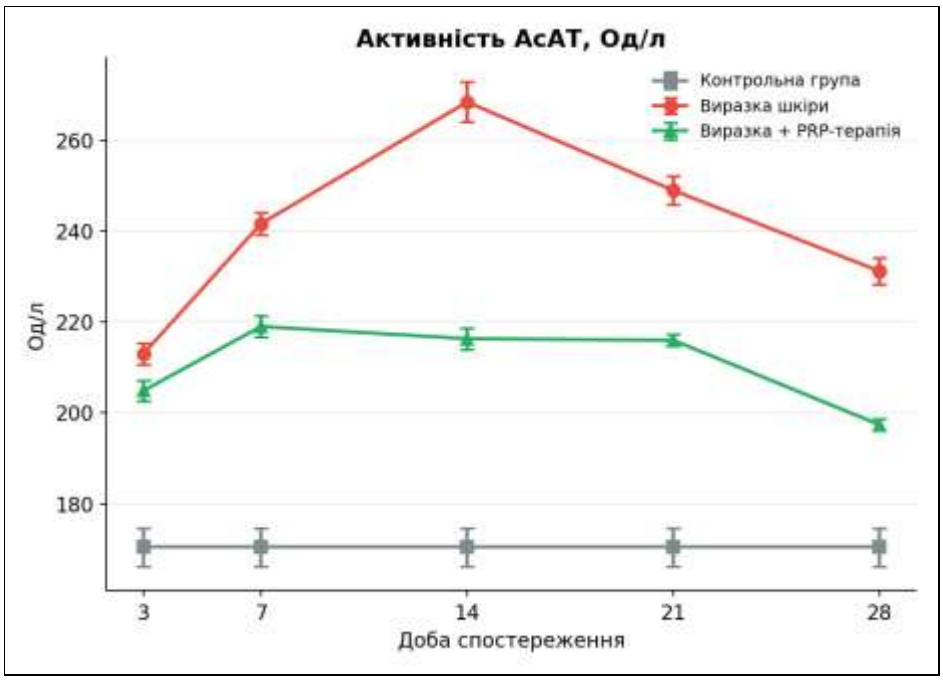


Рисунок 4.8 – Активність АсАТ (Од/л) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою шкіри за умов застосування PRP-терапії

Місцеве застосування PRP–терапії зумовило чітко виражену системну мембраностабілізуючу дію. У групі «Виразка шкіри + PRP» рівень АсАТ на 3–тю добу становив (204,88 ± 2,34) Од/л. Надалі, під впливом лікування, активність ферменту планомірно знижувалася, досягаючи на 28–му добу значення (197,42 ± 1,27) Од/л, що було статистично значуще нижче порівняно з групою тварин, які не отримували терапевтичної підтримки ($p < 0,001$).

Зміни активності аланінамінотрансферази (АлАТ) у сироватці крові мали аналогічну спрямованість. У тварин контрольної групи вміст АлАТ дорівнював (99,00 ± 1,09) Од/л. У групі з нелікованою виразкою шкіри активність ензиму стрімко зростала: на 3–тю добу – до (137,75 ± 3,44) Од/л, з досягненням екстремуму на 14–ту добу ((193,12 ± 1,83) Од/л, $p < 0,001$). У пізній період спостереження (28–ма доба) рівень АлАТ хоч і знижувався до (161,53 ± 2,40) Од/л, проте залишався майже в 1,6 раза вищим за показники здорових тварин, що свідчило про персистенцію системного цитолізу (табл. 4.11; рис. 4.9).

Таблиця 4.11 – Активність АлАТ (Од/л) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою шкіри за умов застосування PRP–терапії (M ± m)

Група тварин	3–тя доба	7–ма доба	14–та доба	21–ша доба	28–ма доба
Контрольна група, n = 6	99,00 ± 1,09	99,00 ± 1,09	99,00 ± 1,09	99,00 ± 1,09	99,00 ± 1,09
Виразка шкіри, n = 6	137,75 ± 3,44	172,73 ± 3,03	193,12 ± 1,83	185,00 ± 3,61	161,53 ± 2,40
Виразка шкіри + PRP, n = 6	113,32 ± 1,33	141,85 ± 1,52	167,93 ± 3,03	117,90 ± 1,21	102,18 ± 1,05
$p_{1–2}$	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{1–3}$	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
$p_{2–3}$	0,904	0,956	0,927	0,084	0,430

Примітка. $p_{1–2}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка шкіри»; $p_{1–3}$ – вірогідність розбіжностей між контрольною групою та групою «Трофічна виразка + PRP»; $p_{2–3}$ – вірогідність розбіжностей між групами «Трофічна виразка шкіри» та «Трофічна виразка + PRP».

Локальне лікування виразки шкіри за допомогою плазми, збагаченої тромбоцитами, забезпечило високоефективне зниження активності АлАТ у плазмі крові. Протягом усього експерименту значення у групі «Виразка шкіри + PRP» утримувалися на значно нижчих рівнях порівняно з нелікованою патологією. На 21–шу добу активність ферменту різко знизилася до (117,90 ± 1,21) Од/л, а на 28–му добу становила (102,18 ± 1,05) Од/л, що практично відповідало нормальним інтервалам контрольної групи.

Молекулярно–патогенетичний механізм дистантного протективного ефекту місцевої PRP–терапії реалізується через розрив ключових ланок ендогенної інтоксикації. Аутологічна плазма, збагачена тромбоцитами, завдяки високій концентрації факторів росту, ініціює прискорене очищення виразкової рани шкіри від детриту, стимулює ранній ангіогенез та формування

повноцінної грануляційної тканини, яка виконує роль ефективного біологічного бар'єра. Швидке закриття шкірного дефекту й ліквідація локальної гіпоксії різко обмежують надходження продуктів протеолізу та маркерів оксидативного стресу в системний кровотік [28, 102, 105].

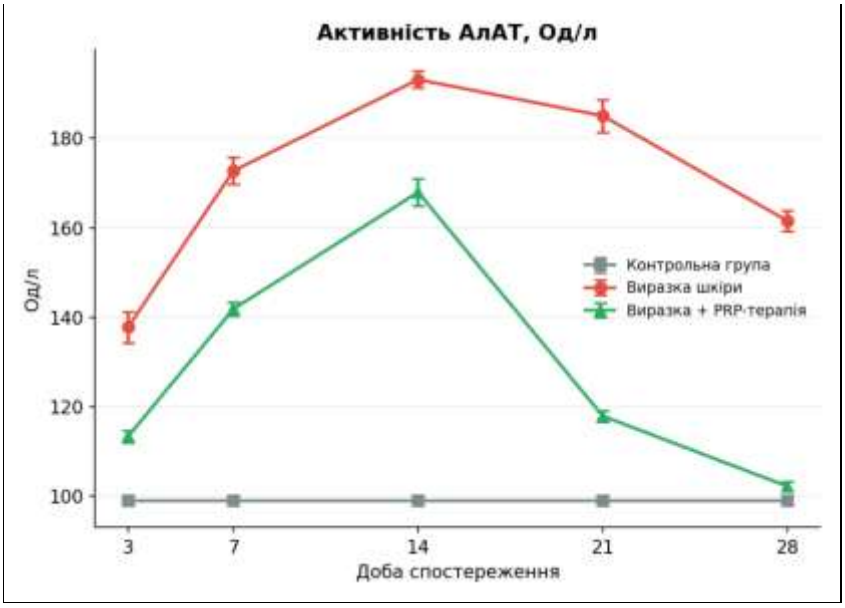


Рисунок 4.9 – Активність АлАТ (Од/л) у сироватці крові щурів з модельованою виразкою шкіри за умов застосування PRP–терапії

Як наслідок, нівелюється токсичний пресинг на гепатоцити, стабілізується архітектоніка фосфоліпідного бішару їхніх плазматичних мембран та припиняється надлишковий вихід трансаміназ із цитозолю клітин у кров. Це підтверджує, що локальне використання біотехнологічних продуктів тромбоцитарного походження при виразках шкіри чинить виражений системний опосередкований метаболічний та соматопротективний ефект, оптимізуючи загальний редокс–статус та гомеостаз організму [28, 102, 105, 107]. Модельоване виразкове ураження шкіри у щурів характеризується вираженим локальним та системним патометаболічним дисбалансом, в основі якого лежить взаємозв'язок процесів хронічного запалення, деструкції тканинних елементів, ендогенної інтоксикації та глибокого оксидативного стресу.

У тварин із нелікованим перебігом виразкового процесу верифіковано стрімке накопичення продуктів ендогенної інтоксикації, підвищення рівня гострофазового білка церулоплазміну, а також системну гіперферментемію за рахунок виходу печінкових трансаміназ (АсАТ, АлАТ) у кров, що вказує на розвиток вторинного вираженого цитолітичного синдрому. На локальному рівні у тканинах шкіри зафіксовано різку інтенсифікацію процесів ліпопероксидації (накопичення дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду) на тлі виснаження неферментного антиоксидантного резерву (падіння концентрації відновленого глутатіону) та вимушеної тривалої гіперактивації захисних ферментів (СОД, каталаза).

Локальна терапія із застосуванням плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), чинить потужний комплексний патогенетичний ефект, спрямований на відновлення редокс–гомеостазу та стабілізацію клітинних мембран. Використання PRP забезпечує швидку та виражену антиоксидантну дію, що виражається в ефективному пригніченні вільнорадикальних процесів, зниженні рівнів ДК та МДА, планомірній нормалізації активності СОД та каталази й успішному ресинтезі відновленого глутатіону в ушкодженій шкірі. Суттєве зниження маркерів ендогенної інтоксикації та системного прозапального напруження завдяки прискоренню очищення рани від некротичного субстрату. Виражений опосередкований соматопротективний та мембраностабілізуючий ефект підтверджується зниженням активності трансаміназ (АсАТ та АлАТ) у загальному кровотоці до меж фізіологічної норми.

4.8 Кореляційний аналіз взаємозв'язків досліджуваних показників

Для встановлення взаємозв'язків між показниками оксидативного стресу (вміст МДА, ДК), антиоксидантного захисту (активність СОД, каталази, вміст церулоплазміну та відновленого глутатіону), функціонального стану печінки

(активність АсАТ та АлАТ), а також інтегрального показника ексудативно–інфільтративних змін (ЕІІ) було проведено кореляційно–регресійний аналіз результатів експериментального дослідження.

Вихідними даними слугували середні значення (M ± m) досліджуваних показників, отримані у двох експериментальних групах тварин («Виразка шкіри» та «Виразка шкіри + PRP–терапія») на 3–тю, 7–му, 14–ту, 21–шу та 28–му доби спостереження, що сформувало вибірку з n = 10 групо–часових спостережень для кожного показника. Групу інтактного контролю до кореляційного аналізу не включали у зв'язку з відсутністю динамічної варіації показників у часі (константні значення), що унеможливлює коректну оцінку кореляційних зв'язків.

Силу та напрямок лінійних зв'язків між парами показників оцінювали за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона (r) з розрахунком рівня статистичної значущості (p). Зв'язок вважали статистично значущим при $p < 0,05$. Для інтерпретації сили зв'язку використовували загальноприйняту шкалу Чеддока: $|r| = 0,1–0,3$ – слабкий; 0,3–0,5 – помірний; 0,5–0,7 – помітний; 0,7–0,9 – високий; 0,9–0,99 – дуже високий зв'язок.

Для кількісної оцінки сумісного впливу кількох предикторів на залежну змінну застосовано множинний лінійний регресійний аналіз (метод найменших квадратів, МНК) з розрахунком коефіцієнта детермінації R^2, скоригованого R^2, F–критерію Фішера та довірчих інтервалів коефіцієнтів регресії. Мультиколінеарність предикторів контролювали за допомогою фактора інфляції дисперсії (VIF); значення $VIF < 5$ вважали прийнятним.

Результати розрахунку матриці коефіцієнтів кореляції Пірсона між усіма дев'ятьма досліджуваними показниками наведено у таблиці 4.12 та графічно представлено у вигляді кореляційної теплокарти на рисунку 4.10.

Найсильніші та статистично значущі кореляційні зв'язки ($p < 0,05$), відсортовані за спаданням абсолютного значення коефіцієнта кореляції, наведено у таблиці 4.13.

Таблиця 4.12 – Матриця коефіцієнтів кореляції Пірсона (r) між досліджуваними показниками (n=10)

Показник	ЕІІ	СОД	МДА	КТ	ЦП	ДК	ГТ	АсАТ	АлАТ
ЕІІ	1.00	0.66	0.66	0.69	0.91	0.66	–0.60	0.86	0.83
СОД	0.66	1.00	0.64	0.93	0.60	0.91	–0.61	0.84	0.81
МДА	0.66	0.64	1.00	0.48	0.39	0.71	–0.93	0.49	0.54
Каталаза	0.69	0.93	0.48	1.00	0.72	0.91	–0.45	0.92	0.90
Церулоплазмін	0.91	0.60	0.39	0.72	1.00	0.58	–0.32	0.88	0.88
ДК	0.66	0.91	0.71	0.91	0.58	1.00	–0.72	0.77	0.83
Глутатіон	–0.60	–0.61	–0.93	–0.45	–0.32	–0.72	1.00	–0.44	–0.42
АсАТ	0.86	0.84	0.49	0.92	0.88	0.77	–0.44	1.00	0.90
АлАТ	0.83	0.81	0.54	0.90	0.88	0.83	–0.42	0.90	1.00

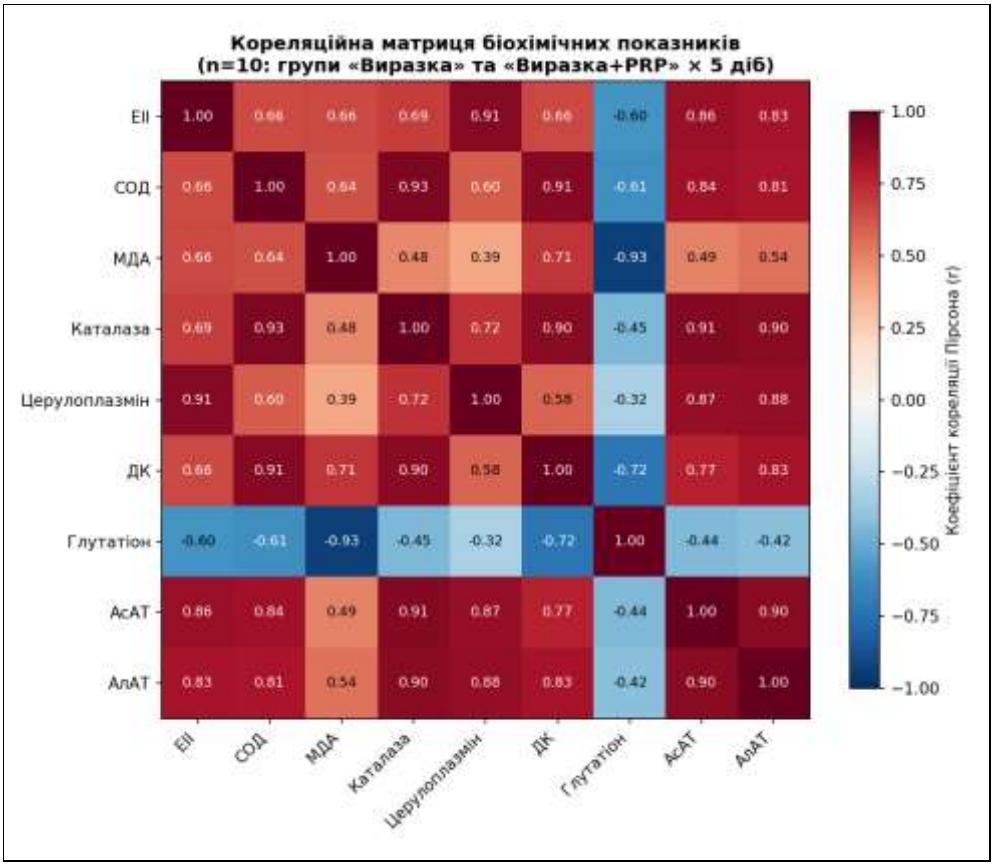


Рисунок 4.10 – Кореляційна матриця досліджуваних біохімічних показників (кольорова теплокарта)

Таблиця 4.13 – Статистично значущі кореляційні зв'язки між досліджуваними показниками ($p<0,05$)

Показник 1	Показник 2	r	p	Сила зв'язку
МДА	Глутатіон	–0.932	<0,001	дуже високий
СОД	Каталаза	+0.930	<0,001	дуже високий
Каталаза	АсАТ	+0.915	<0,001	дуже високий
СОД	ДК	+0.911	<0,001	дуже високий
ЕІІ	Церулоплазмін	+0.906	<0,001	дуже високий
Каталаза	ДК	+0.905	<0,001	дуже високий
Каталаза	АлАТ	+0.900	<0,001	дуже високий
АсАТ	АлАТ	+0.899	<0,001	високий
Церулоплазмін	АлАТ	+0.875	<0,001	високий
Церулоплазмін	АсАТ	+0.875	<0,001	високий
ЕІІ	АсАТ	+0.864	0,0013	високий
СОД	АсАТ	+0.836	0,0026	високий
ЕІІ	АлАТ	+0.827	0,0032	високий
ДК	АлАТ	+0.826	0,0032	високий
СОД	АлАТ	+0.815	0,0041	високий
ДК	АсАТ	+0.772	0,0089	високий
ДК	Глутатіон	–0.725	0,0177	високий
Каталаза	Церулоплазмін	+0.719	0,0191	високий
МДА	ДК	+0.711	0,0210	високий
ЕІІ	Каталаза	+0.692	0,0265	помітний
ЕІІ	МДА	+0.664	0,0365	помітний
ЕІІ	ДК	+0.662	0,0370	помітний
ЕІІ	СОД	+0.656	0,0394	помітний
СОД	МДА	+0.638	0,0470	помітний

Аналіз кореляційної матриці виявив кілька біологічно закономірних груп взаємопов'язаних показників (див. рис. 4.10):

1) дуже сильний обернений зв'язок між вмістом МДА та відновленого глутатіону (r = −0,932; p = 0,0001), що відображає виснаження пулу відновленого глутатіону пропорційно інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів;

2) тісний прямий зв'язок між активністю СОД і каталази (r = 0,930; p = 0,0001) та між обома цими ферментами й вмістом ДК (r = 0,911 та 0,905 відповідно), що свідчить про узгоджену компенсаторну активацію ферментної ланки антиоксидантного захисту у відповідь на накопичення продуктів пероксидації;

3) високий прямий зв'язок активності каталази, церулоплазміну та ЕП з активністю трансаміназ печінки (АсАТ, АлАТ) (r = 0,86–0,92), що вказує на системний, а не локальний характер відповіді організму на трофічну виразку шкіри з залученням печінки як органа детоксикації та гострофазового білкового синтезу;

4) дуже сильний прямий зв'язок ЕП з вмістом церулоплазміну (r = 0,906; p = 0,0003), що підтверджує роль церулоплазміну як гострофазового білка, рівень якого відображає ступінь ексудативно–інфільтративних змін у рані.

4.9 Множинний регресійний аналіз

На основі виявлених кореляційних зв'язків побудовано регресійні моделі, що описують кількісний внесок окремих предикторів у варіабельність залежних показників. Результати трьох найбільш інформативних моделей наведено у табл. 4.14.

Модель В (проста лінійна регресія вмісту відновленого глутатіону від вмісту МДА) виявилася найякіснішою та статистично найбільш коректною моделлю: коефіцієнт детермінації $R^2 = 0,868$ свідчить про те, що 86,8 % варіабельності вмісту глутатіону пояснюється лінійною залежністю від рівня МДА ($F = 52,62$; $p < 0,001$). Кожне підвищення вмісту МДА на 1 мкмоль/кг

асоціювалося зі зниженням вмісту відновленого глутатіону в середньому на 0,061 мкмоль/г.

Таблиця 4.14 – Результати множинного регресійного аналізу

Модель / рівняння регресії	R^2	Скориг. R^2	F	p (моделі)
Модель А: ЕІІ = 11,22 + 8,17·ЦП + 0,158·АсАТ	0,843	0,798	18,78	0,0015
Модель Б: АсАТ = 184,87 + 169,94·КАТ − 6,00·ДК	0,854	0,812	20,44	0,0012
Модель В: ВГ = 0,768 − 0,0609·МДА	0,868	0,852	52,62	<0,001

Модель Б (залежність активності АсАТ від активності каталази та вмісту ДК) також є статистично значущою (R^2 = 0,854; p = 0,0012), при цьому незалежним значущим предиктором виступила активність каталази (p = 0,0098), тоді як внесок ДК окремо не досяг статистичної значущості (p = 0,396) – ймовірно, унаслідок колінеарності з каталазою (VIF = 5,52).

Модель А (залежність ЕІІ від вмісту церулоплазміну та активності АсАТ) пояснює 84,3 % варіабельності ЕІІ, проте окремі коефіцієнти предикторів не досягли статистичної значущості (p = 0,076 та p = 0,363 відповідно) через помірну мультиколінеарність (VIF = 4,26) та обмежений обсяг вибірки (n=10), що потребує підтвердження на більшій кількості спостережень.

Графічну ілюстрацію найбільш значущих регресійних залежностей із лінією апроксимації методом найменших квадратів наведено на рис. 4.11–4.14.

Отримані результати переконливо доводять, що PRP–терапія є високоефективною патогенетично обґрунтованою стратегією лікування виразкових уражень шкіри, яка оперативно ліквідує прооксидантний пресинг, захищає структурні елементи дерми від цитолізу та створює оптимальний

метаболічний фон для активації неоангіогенезу, проліферації клітин і повноцінної епітелізації раневого дефекту.

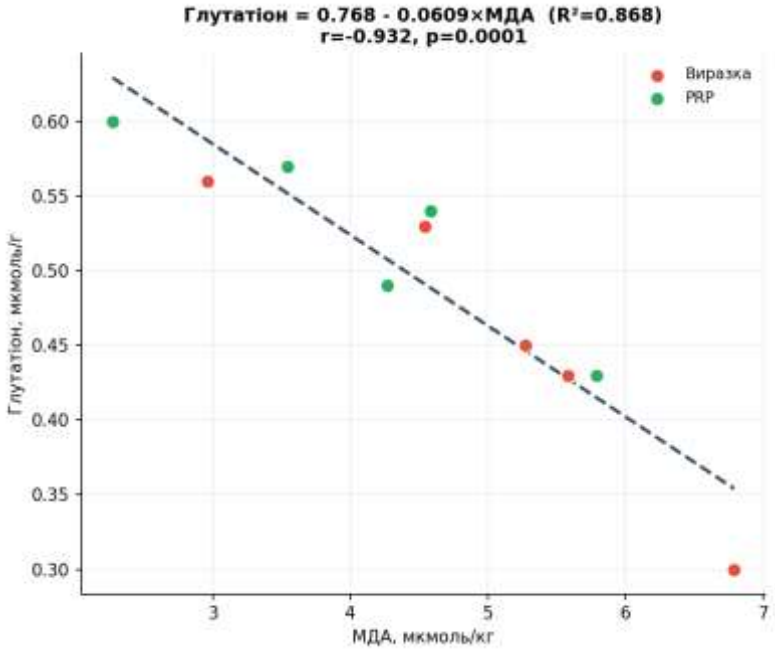


Рисунок 4.11 – Регресійна залежність вмісту відновленого глутатіону від вмісту МДА (R^2=0,868)

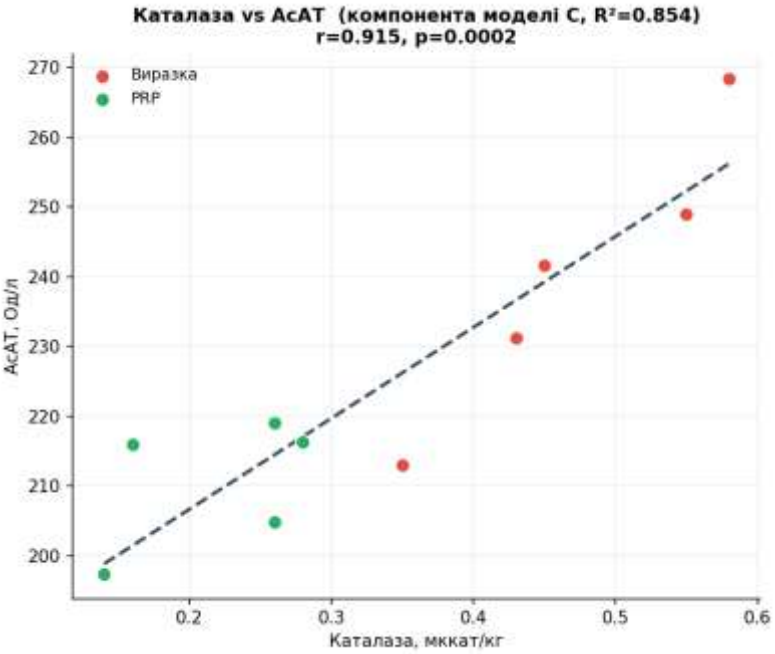


Рисунок 4.12 – Регресійна залежність активності АсАТ від активності каталази (компонента моделі Б, R^2=0,854)

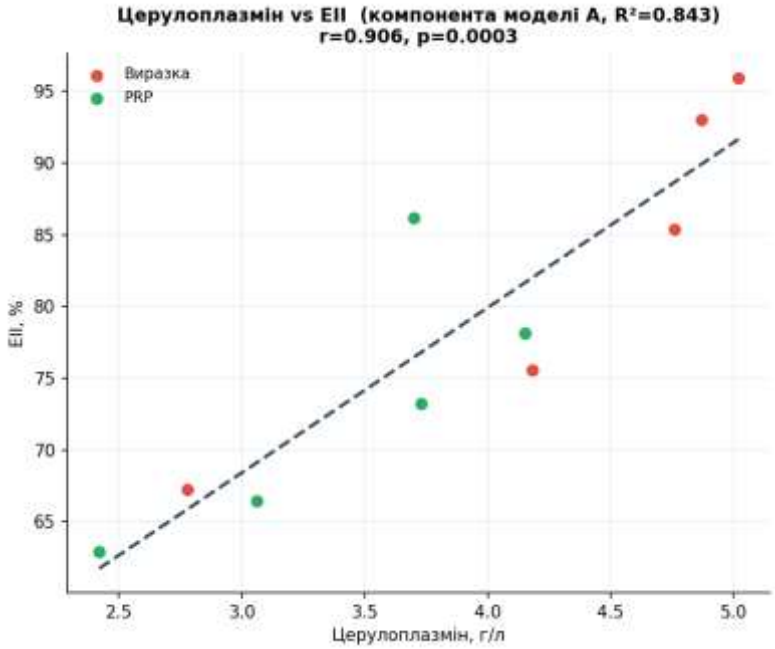


Рисунок 4.13 – Регресійна залежність EII від вмісту церулоплазміну (компонента моделі A, R^2=0,843)

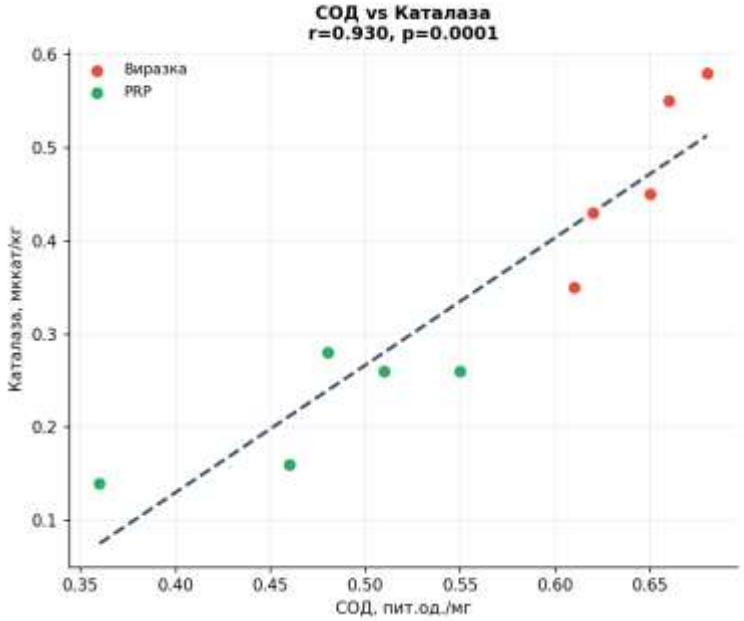


Рисунок 4.14 – Кореляційно–регресійна залежність активності каталази від активності СОД

Висновки до розділу 4

1. Проведений кореляційно–регресійний аналіз підтвердив наявність тісних патогенетично обумовлених взаємозв'язків між показниками

оксидативного стресу, антиоксидантного захисту та функціонального стану печінки у щурів з модельованою трофічною виразкою шкіри.

2. Встановлено дуже сильний обернений зв'язок між вмістом МДА і відновленого глутатіону ($r = -0{,}932$; $p < 0{,}001$), що відображає виснаження неферментної ланки антиоксидантного захисту пропорційно інтенсивності перекисного окиснення ліпідів.

3. Виявлено тісну узгодженість активності ферментів антиоксидантного захисту (СОД, каталаза) з вмістом продуктів пероксидації (ДК) ($r = 0{,}90–0{,}93$; $p < 0{,}001$), що свідчить про компенсаторний характер їх активації.

4. Показано системний зв'язок місцевих (ЕІІ) та біохімічних показників рани з функціональним станом печінки: активність АсАТ і АлАТ достовірно корелює з ЕІІ, каталазою, СОД та церулоплазміном ($r = 0{,}77–0{,}92$; $p < 0{,}01$).

5. Побудована регресійна модель дозволяє з високою точністю ($R^2 = 0{,}868$) прогнозувати ступінь виснаження відновленого глутатіону за рівнем МДА, що може бути використано для оцінки тяжкості оксидативного стресу за одним доступним показником.

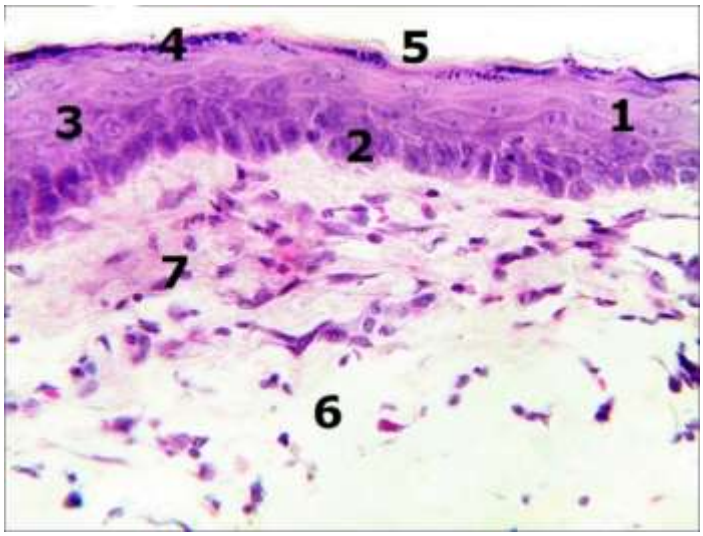
6. Отримані результати обґрунтовують доцільність застосування PRP–терапії як фактора, що знижує вираженість системної оксидативно–запальної відповіді при трофічній виразці шкіри, та підтверджують патогенетичну єдність місцевих і системних змін у досліджуваній моделі.

Результати досліджень, що висвітлені у розділі, опубліковано у науковій праці автора [158].

РОЗДІЛ 5
МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА ДЕЗІНТЕГРАЦІЇ ГІСТОАРХІТЕКТОНІКИ ШКІРИ ПРИ ТРОФІЧНИХ ВИРАЗКАХ ТА ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ PRP-ТЕРАПІЇ

5.1 Морфологічна оцінка дезінтеграції гістоархітектоніки шкіри при трофічних виразках

При гістологічному дослідженні структурних компонентів шкіри інтактної групи не виявлено видових відмінностей. Досліджувана ділянка представлена тонкою шкірою, що характеризується відносно тонким епідермісом, відсутністю блискучого шару і наявністю волосяних фолікулів і сальних залоз (рис. 5.1).



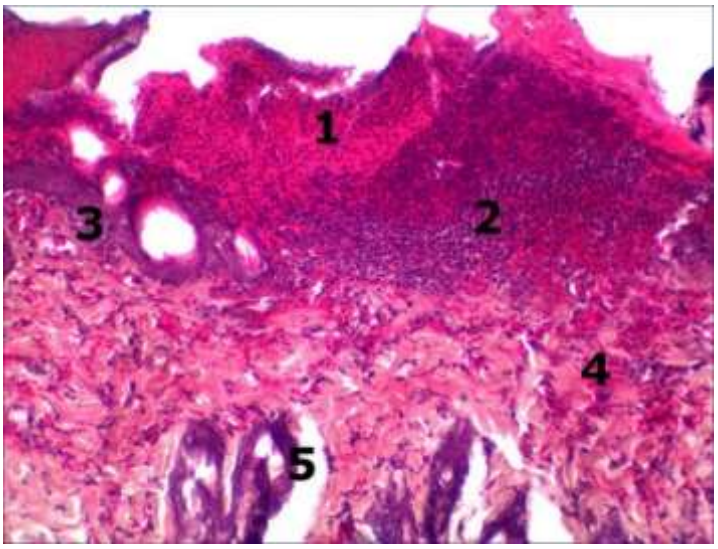
Умовні познаки: 1 – епідерміс, 2 – базальний шар, 3 – остистий шар, 4 – блискучий шар, 5 – роговий шар, 6 – дерма, 7 – колагенові волокна і фібробласти.

Рисунок. 5.1 – Гістологічний стан шкіри інтактної групи тварин. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Епідерміс сформований базальним шаром клітин із кубічною або призматичною формою та базофільними ядрами. В остистому шарі кератиноцити неправильної форми із нормохромними ядрами та добре вираженими ядрцями. Зернистий шар характеризується клітинами сплощеної форми, у цитоплазмі яких розташовані інтенстивно базофільні гранули кератогіаліну. Роговий шар типовий, утворений неклітинними без'ядерними структурами – роговими лусочками. Дерма складається із сосочкового шару, який сформований пухкою сполучною тканиною із переважанням клітин фібробластичного ряду та дрібних судин. Сітчастий шар більш щільний, утворений щільною неоформленою сполучною тканиною. У дермі виявляються похідні шкіри у вигляді волосяних фолікулів, сальних і потових залоз.

Через 3 доби після змодельованої трофічної виразки мікроскопічні дослідження показали, що у центральній ділянці формується виразковий дефект, що характеризується відсутністю багатошарового плоского зроговілого епітелію. Деепітелізована ділянка представлена масивними інтенсивно еозинофільними нашаруваннями некротично зміненої тканини і клітинного детриту, а також більш прилеглим до дерми базофільним гістолейкоцитарним інфільтратом (рис. 5.2). Дані утворення прилягаючи до периферійної ділянки утворюють суцільний коагуляційний вал, який відмежовує некротичний осередок від прилеглих тканин. Така інтенсивно забарвлена смуга з різко ацидофільно–базофільною, слабкобезструктурною масою є типовим утворенням на ранніх етапах формування трофічних виразок. По периферії дефекту виявляються локуси епідермісу із альтерацією його стратифікації. У сітчастому шарі дерми спостерігається запальний інфільтрат, який локалізований безпосередньо під зоною дефекту і представлений переважно лімфоцитами, макрофагами і гранулоцитами, що свідчить про активну фазу запальної реакції. Колагенові волокна сосочкового і сітчастого шарів дерми деструктуризовані, розпушені, місцями фрагментовані. Відзначається вражений набряк міжклітинного матриксу. У глибоких шарах

дерми зміни менш інтенсивні, проте зберігається пошкодження волокнистого каркасу. Спостерігається значне порушення гемодинаміки і структурних компонентів мікроциркуляторного русла. Гемокапіляри повнокровні з явищами стазу, частими крововиливами. Придатки шкіри у зоні ураження різко деструктуризовані. У ділянці дефекту відзначається дегенерація пілосебацеозних одиниць, виражений набряк та відшарування зовнішньої кореневої епітеліальної піхви кореня волосся від прилеглої сполучної тканини.

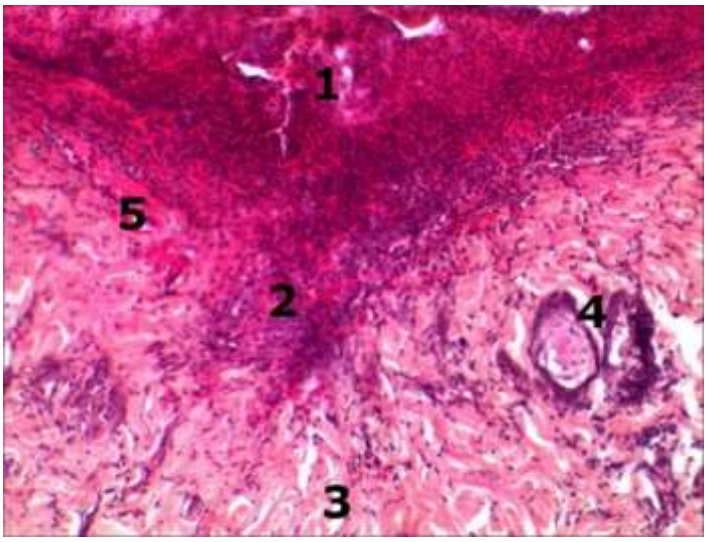


Умовні познаки: 1 – фібринозно-некротична маса, 2 – лейкоцитарний інфільтрат, 3 – крайовий фрагмент епілермісу, 4 – крововиливи у дермі, 5 – дегенерація кореня волосини.

Рисунок 5.2 – Гістологічні зміни шкіри через 3 доби після моделювання трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічно через 7 діб досліду встановлено збереження дефекту епідермісу, однак структура ранової поверхні змінюється порівняно з попереднім терміном експерименту. Фібринозно–некротична структура стає більш ущільнена, частково підсихає на що вказують оптичні щілини. У даній масі виявляються еозинофільні конгломерати, інтенсивний лейкоцитарний детрит і значна кількість агранулоцитів, що вказує на перехідний процес до

фази очищення і ранній проліферації. На межі з дермою помітні ділянки ангіогенезу та формування ранньої грануляції. По периферії у вигляді епітеліальної губи відзначається крайова епітелізація, проте епідерміс не сформований. У поверхневому шарі дерми відзначається активація фібробластів із початковим етапом формування утворення незрілої грануляційної тканини. У дермі виявляються осередки гістолейкоцитарної інфільтрації. Відзначається набряк міжклітинної речовини, локальна фрагментація волокнистих структур. На даному етапі спостереження виявляється збереження деструктивних змін похідних шкіри з порушенням їхньої гістоархітектоніки (рис. 5. 3).

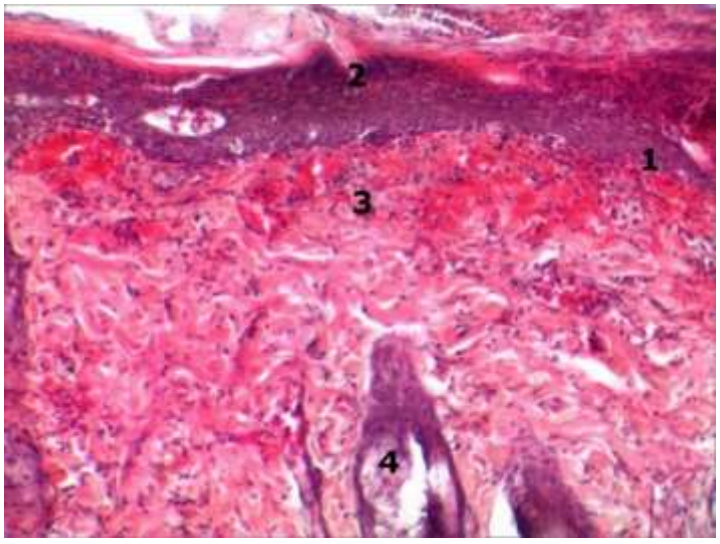


Умовні познаки: 1 – поверхневі некротичні нашарування, 2 – поліморноядерний інфільтрат, 3 – набряк міжклітинної речовини, 4 – альтерація пілосебацеозних одиниць, 5 – крововиливи у дермі.

Рисунок 5.3 – Гістологічні зміни центральної ділянки дефекту шкіри через 7 діб після моделювання трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічні дослідження гістологічних препаратів шкіри білих щурів через 14 діб після експерименту показали тривалий перебіг репаративних процесів у поєднанні із незавершеною епітелізацією, фіброплазією і

збереженням хронічного запалення. Епідерміс у центральній ділянці виразкового дефекту починає формуватися за рахунок проліферації клітин крайової ділянки. Проте новоутворений епітеліальний шар є тонким, морфологічно незрілим і часто зазнає альтеративних змін, особливо у місяцях розростання прилеглої грануляційної тканини. Відзначається збереження фібринозного ексудату і некротичних мас у ділянці пошкодження. У дермі виявляється помірна лімфо–макрофагальна інфільтрація, нечасті діапедези. Поміж оксифільних потовщених колагенових волокон віздзначається багато клітин фібробластичного ряду, що активно синтезують міжклітинну речовину. Фолікули і корені волосся виявляються поодиноко, часто деформовані із ознаками дистрофічних змін (рис. 5. 4).

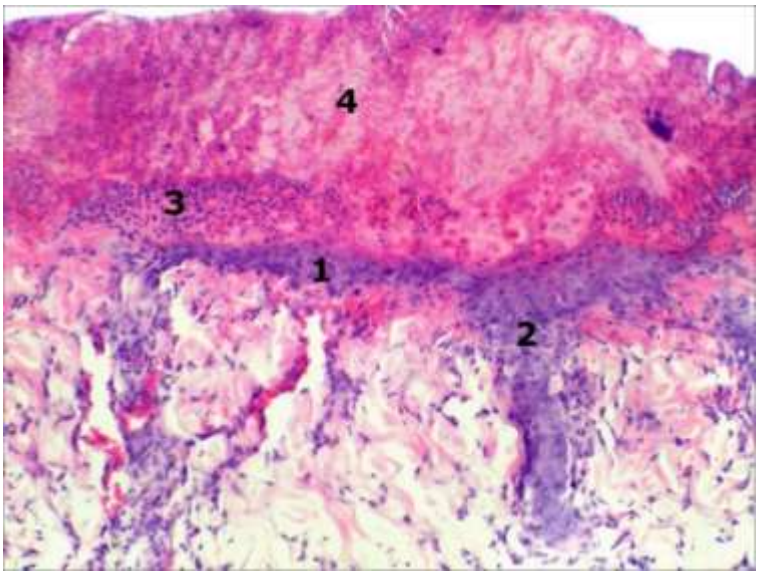


Умовні познаки: 1 – ознаки епітелізації, 2 – фібринозно–некротична маса, 3 – інфільтрація дерми, 4 – пошкодження кореня волосини.

Рисунок 5.4 – Мікроскопічні зміни центральної ділянки дефекту шкіри через 14 діб після моделювання трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічно через 21 добу досліду встановлено, що некротичні маси лізуються та спостерігається часткова резорбція, тому на гістологічних препаратах мають вигляд блідо еозинофільної субстанції із оптично світлими

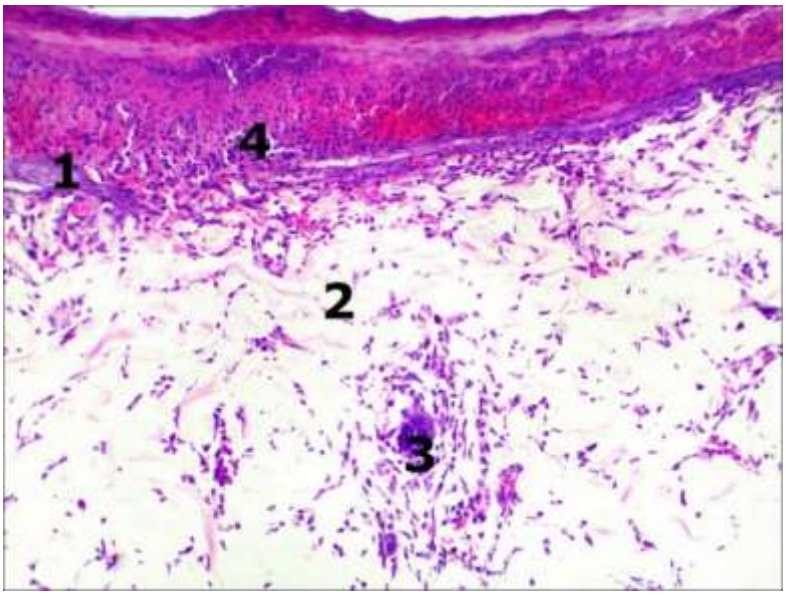
ділянками з відсутністю чітких клітинних структур. У центральній ділянці відзначається епітелізація ранового дефекту із ознаками акантозу, а також спостерігається утворення епітеліальних тяжів у дерму, що відображає активні репаративні процеси. У сосочковому шарі дерми в зоні виразкового дефекту спостерігається зріла сполучна тканина із оксифільним колагеновими волокнами, які утворюють пучки. Виявляються клітини фібробластичного ряду із зниженою синтетичною активністю. У дермі на певних ділянках виявляється інетрстиційний набряк, що характеризується просвітленням міжклітинної речовини сполучної тканини. У порівнянні з попереднім терміном гострого запалення не спостерігається, проте все ще наявні локальні дрібні інфільтрати. Також виявляються дилатовані гемокапіляри і без ознак кровонаповнення (рис. 5. 5).



Умовні познаки: 1 – морфологічно незрілий епідерміс, 2 – епітеліальні тяжі, 3 – інфільтрація дерми, 4 – аморфні некротичні маси.

Рисунок 5.5 – Фрагмент центральної ділянки дефекту шкіри через 21 добу після моделювання трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

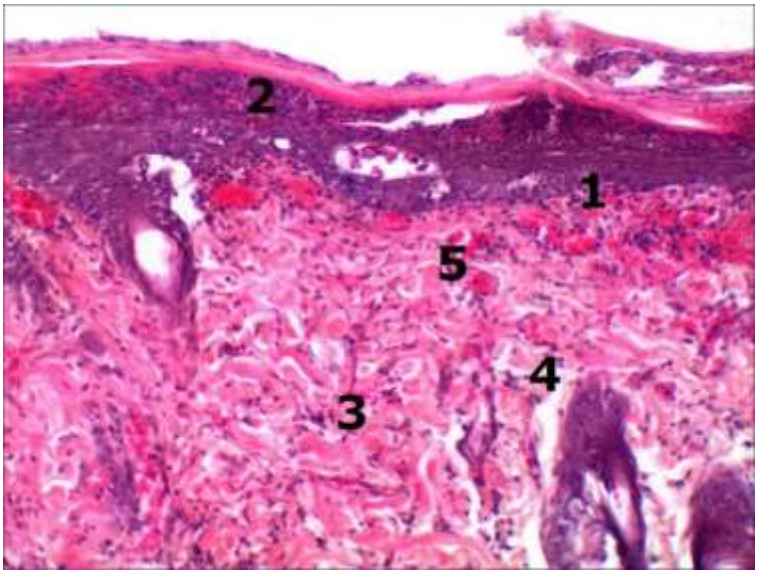
Мікроскопічні дослідження шкіри білих щурів через 28 діб після змодельованої трофічної виразки показали, що епітелізація відбувається за повзучим типом, тобто епітелій поширюється у напрямку дефекту у вигляді тонких шарів клітин, однак повноцінне закриття рани не відбувається, що пов’язане з відсутністю стабілізованої дерми. У дермі відзначається розташування колагенових волокон оксифільними пучками, інтерстиційний набряк не спостерігається. Серед клітин у сполучній тканині відзначаються зрілі форми фібробластів – фіброцити із веретеноподібною формою з інтенсивно базофільними ядрами. Також дрібними осередками виявляється лейкоцитарна інфільтрація. У зоні виразки відзначається повна втрата пілосебацеозних одиниць, а також спостерігається атрофія потових залоз (рис. 5.6).



Умовні познаки: 1 – незрілий епітелій, 2 – дерма, 3 – атрофована потова залоза, 4 – гістолейкоцитарна інфільтрація.

Рисунок 5.6 – Фрагмент центральної ділянки дефекту шкіри через 28 діб після моделювання трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

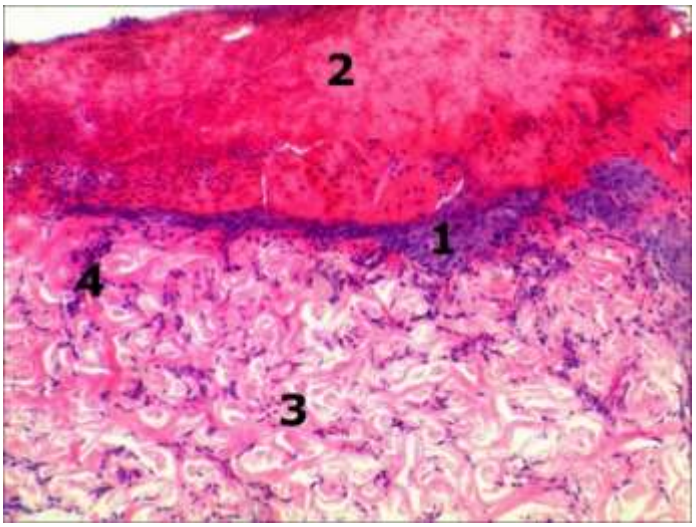
Через 3 доби з моменту введення тромбоцитарно збагаченої плазми гістологічні дослідження показали, що у зоні трофічної виразки відзначається збереження ознак виразкового дефекту з ділянками стійкої деепітелізації (рис. 5.7). Поряд з тим у крайових ділянках виявляються ознаки проліферації клітин епідермісу, що не було характерним для аналогічного терміну без корекції. Некротичний субстрат відокремлюється від прилеглих шарів шкіри формуючи демаркаційну зону. У дермі помірно виражений інтерстиціний набряк із частковою дезінтеграцією колагенових волокон. Запальний інфільтрат, який локалізований у сосочковому шарі дерми переважно мононуклеарного характеру за рахунок ранньої активації макрофагів. Судини мікроциркуляторного русла залишаються повнокровні, проте без ознак стазу та без обширних геморагій.



Умовні познаки: 1 – ознаки проліферації епітеліоцитів, 2 – некротичний субстрат, 3 – дерма з ознаками альтерації, 4 – набряк міжклітинної речовини дерми, 5 – кровонаповнені судини дерми.

Рисунок 5.7 – Центральна ділянка дефекту шкіри через 3 доби після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

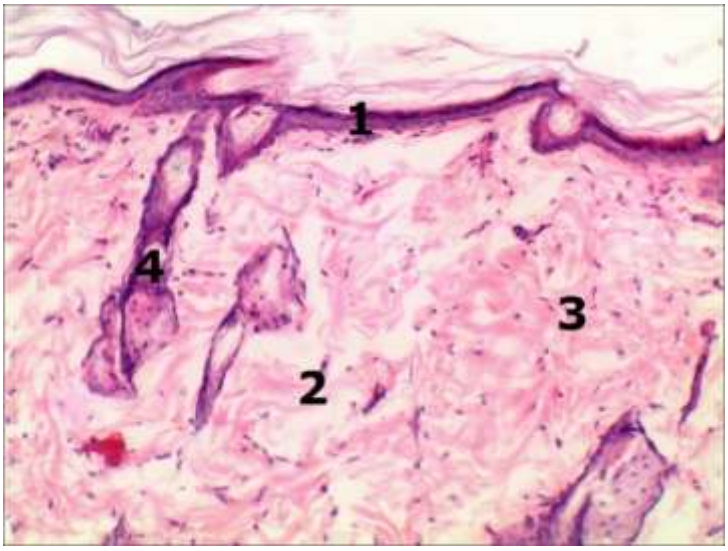
Мікроскопічні дослідження дефекту шкіри через 7 діб з моменту введення тромбоцитарно збагаченої плазми показали ознаки трансформації структурних компонентів шкіри до проліферативної фази загоєння. У крайовій зоні виразкового дефекту спостерігається активація і проліферація епітеліоцитів базального шару епідермісу. Видовжені клітини епітелію мають базофільні ядра та інтенсивно оксифільну цитоплазму. Некротичний субстрат на переважній більшості характеризується ущільненою еозинофільною структурою, часто відлущується, наявна чітка зона відмежування від сформованого епітелію. У дермі виявляється багато клітин фібробластичного ряду, колагенові волокна розташовані хаотично, проте мають збережену структуру у порівнянні з аналогічним терміном без застосування коригуючого чинника. Активовані фібробласти забезпечують синтез міжклітинного матриксу. Кровоносні судини без ознак застійних явищ, що вказує на функціональну повноцінність мікроциркуляторного русла (рис. 5.8).



Умовні познаки: 1 – первинний епітеліальний тяж, 2 – фіброзно–некротична маса, 3 – колагенові волокна, 4 – незначний інтерстиціний набряк.

Рисунок 5.8 – Фрагмент центральної ділянки дефекту шкіри через 7 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

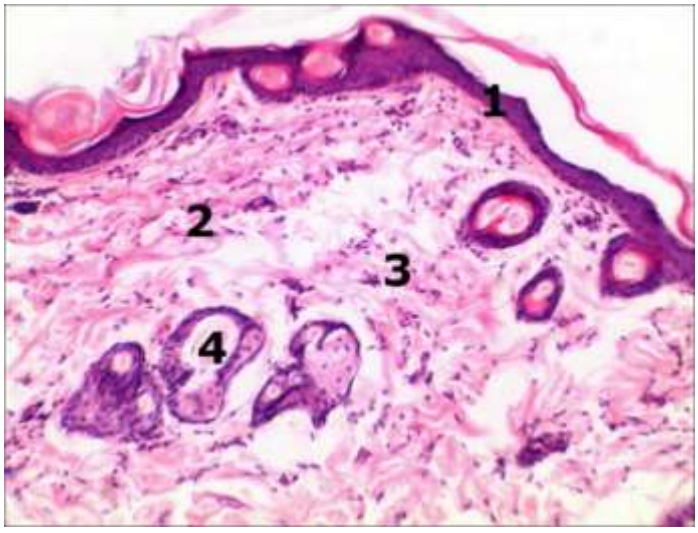
Через 14 діб з моменту введення тромбоцитарно збагаченої плазми мікроскопічні дослідження показали, суттєве зменшення площі виразкового дефекту і повну епітелізацію ділянки дефекту. Сформований епідерміс тонкий, його товщина неоднакова на різних ділянках, часто має порушену стратифікацію. Порівняно з аналогічним терміном без корекції у дермі відзначається відсутність геморагій, дилатацій судин і стазів. Колагенові волокна формуючи волокнистий каркас, залишаються дещо фрагментовані, проте без ознак набряку. Фібробласти розсіяні у міжклітинній речовині, мають типову витягнуту форму із базофільним ядром та оксифільною цитоплазмою. Виявляються фолікули волосин із активною проліферацію епітеліоцитів зовнішньої епітеліальної піхви (рис. 5.9).



Умовні познаки: 1 – епідерміс без ознак стратифікації, 2 – дерма, 3 – колагенові волокна, 4 – волосяні фолікули із фрагментом секреторного відділу сальної залози.

Рисунок 5.9 – Фрагмент центральної ділянки дефекту шкіри через 14 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічні дослідження дефекту шкіри через 21 добу з моменту введення тромбоцитарно збагаченої плазми показали, що морфологічні зміни у структурних компонентах органу відповідають фазі активного ремоделювання. Багатошаровий плоский зроговілий епітелій на більшості ділянках нерівний, часто хвилепобідний із ознаками гіперкератинізації у вигляді кулястих утворень. Проте у порівнянні з попереднім терміном у епідермісі спостерігається чітка диференціація між шарами епітелію. У дермі на деяких ділянках колагенові волокна збережені, проте наявний набряк основної речовини сполучної тканини. У порівнянні з аналогічним терміном без корекції спостерігається активна проліферація і розвиток волосяних фолікулів (рис. 5.10).



Умовні познаки: 1 – епідерміс без ознак стратифікації, 2 – дерма, 3 – колагенові волокна, 4 – волосяні фолікули.

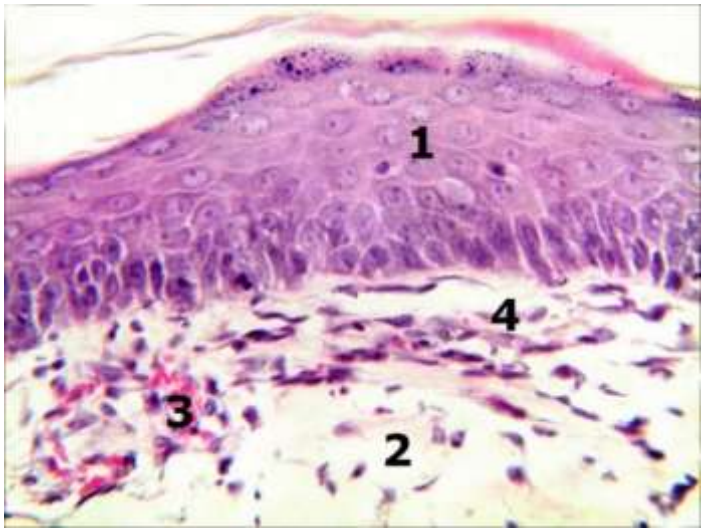
Рисунок 5.10 – Фрагмент центральної ділянки дефекту шкіри через 14 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Через 28 діб з моменту введення тромбоцитарно збагаченої плазми мікроскопічні дослідження показали, що у шкірі відзначається морфологічно зрілий ренегерат. Багатошаровий плоский зроговілий епітелій характеризується повним відновленням, з чіткою стратифікацією та помірним гіперкаратозом, без ознак проліферації патологічного ґенезу. У базальному шарі виявляються епітеліоцити із ознаками мітотичних фігур. Остистий шар сформований декількома рядами полігональних кератиноцитів. У дермі сполучна тканина без ознак альтерацій, колагенові та еластичні волокна утворюють типову сітчасту структуру. Фібробласти видовженої форми із оксифільною цитоплазмою, забезпечують активний синтез компонентів міжклітинної речовини, що не було характерним у аналогічний термін досліду без застосування коригуючого чинника. Загальні особливості архітектоніки шарів шкіри вказують на наближення до інтактної групи тварин, що засвідчує репаративно–модулюючу дію тромбоцитарно збагаченої плазми, яка спрямована на відновлення тканинної організації (рис. 5.11).

Експериментальне відтворення трофічної виразки супроводжується послідовним формуванням стійкого морфофункціонального дефекту шкіри, для якого характерне тривале збереження альтеративно–запальних змін, порушення мікроциркуляторного забезпечення та дезорганізація дермального матриксу. У динаміці процесу відзначається затримка переходу ранового процесу до репаративної фази, неповноцінність епітелізації та формування морфологічно незрілої дерми з втратою шкірних придатків, що зумовлює хронічний перебіг ураження і відсутність повноцінного відновлення тканинної архітектоніки.

Використання тромбоцитарно збагаченої плазми істотно модифікує перебіг ранового процесу, забезпечуючи ранню активацію репаративних механізмів, прискорене формування проліферативної фази та ефективне ремоделювання тканин. Морфологічно це проявляється відновленням цілісності епідермального покриву, нормалізацією просторової організації

волокнистих структур дерми, відновленням мікроциркуляції та регенерацією шкірних придатків, що в сукупності свідчить про досягнення морфологічно повноцінного регенерату, наближеного за будовою до інтактної шкіри.



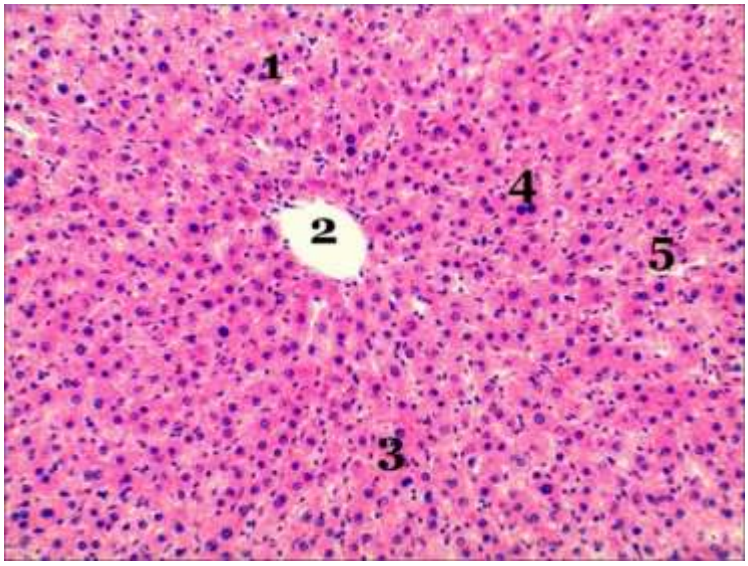
Умовні познаки: 1 – багатошаровий плоский зроговілий епітелій, 2 – дерма, 3 – кровоносні судини, 4 – фібробласти

Рисунок 5.11 – Фрагмент центральної ділянки дефекту шкіри через 28 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×25

5.2 Мікроскопічні зміни структурних компонентів печінки при хронічних трофічних виразках та за умов застосування PRP-терапії

Мікроскопічні дослідження печінки інтактної групи тварин показали чітку структуризацію органу на класичні печінкові часточки, які мають вигляд шестикутника у кутах якого локалізовані тріади до складу яких входять міжчасточкова артерія, міжчасточкова вена і міжчасточкова жовчна протока. У центрі печінкової часточки розташована центральна вена безм’язового типу. У радіальному напрямку від судини розходяться печінкові балки, які

складаються із гепатоцитів. Головні клітини печінки характеризуються рівномірно оксифільним забарвленням цитоплазми із округлої форми базофільним ядром, виявляються поодиноко двоядерні форми. Між сусідніми печінковими пластинками локалізовані синусоїди вистелені ендотелієм, помірно кровонаповнені, без ознак застійних явищ. У просвітах синусоїдних гемокапілярів виявляються поодинокі клітини макрофагічної системи – клітини Купфера (рис. 5.12).

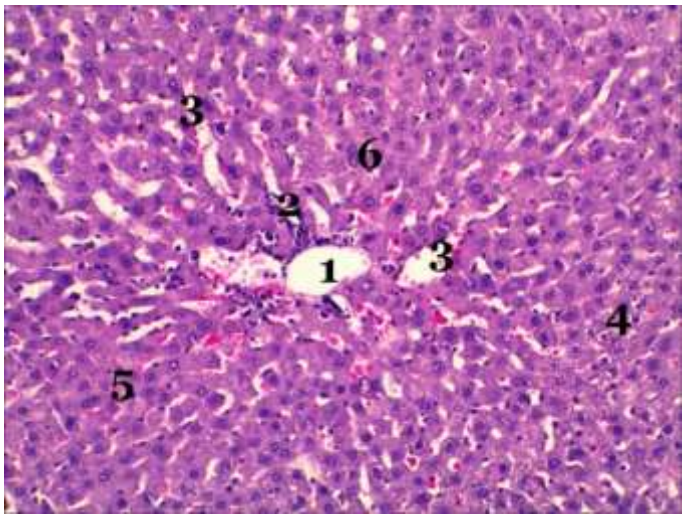


Умовні познаки: 1 – класична печінкова часточка, 2 – центральна вена, 3 – гепатоцити, 4 – двоядерні гепатоцити, 5 – синусоїди.

Рисунок 5.12 – Гістологічний стан печінки інтактної групи тварин. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічні дослідження гістологічних препаратів печінки через 3 доби після моделювання хронічних трофічних виразок показали альтеративні зміни паренхіми органу (рис. 5.13). Відзначається значна дилатація синусоїдів із локальним повнокров’ям. У їх просвітах виявляються великі, активовані клітини Купфера, що є ознакою посилення фагоцитозу і детоксикаційної функції печінки у відповідь на хронічний гнійно–некротичний процес. Спостерігається фокальна гістолейкоцитарна інфільтрація. Центральна вена

має збережену стінку та без ознак кровонаповнення. Печінкові пластинки дещо дезорганізовані, гепатоцити поодиноко у центральній і у більшій мірі в проміжній зоні печінкової часточки характеризуються дистрофічними змінами, їх цитоплазма стає сітчастоподібною, а ядра часто інтенстивно базофільні. У центролобулярній зоні відзначаються нормохроні двоядерні гепатоцити із однорідною оксифільною цитоплазмою.

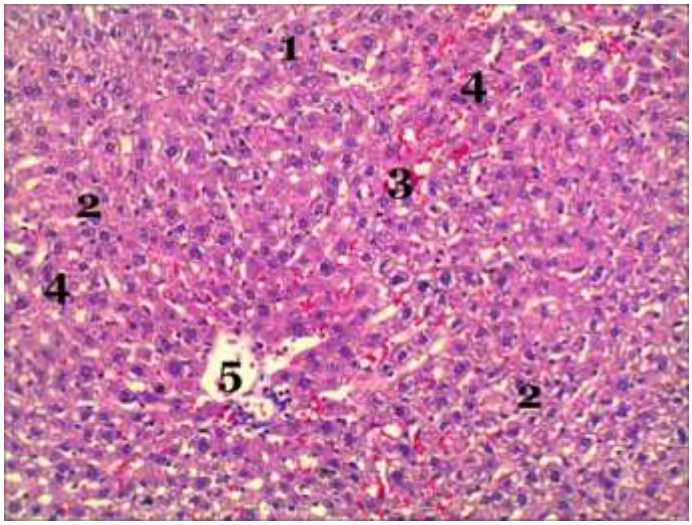


Умовні познаки: 1 – центральна вена, 2 – фокальна інфільтрація, 3 – дилатація синусоїдів, 4 – дистрофічно змінені і 5 – типові гепатоцити, 6 – двоядерні гепатоцити.

Рисунок 5.13 – Мікроскопічні зміни печінки через 3 доби після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Через 7 діб після змодельованих хронічних трофічних виразок у печінці деструктивно–дегенеративні зміни поширюються по всіх зонах печінкової часточки. Відзначаються застійні явища у судинах мікроциркуляторного русла, проте ознак діапедезу не спостерігається. Аналогічно з попереднім терміном досліду зберігається дилатація синусоїдів. Стінка ценральної вени стоншена, гомогенна, а просвіт деформований (рис. 5.14). Виявляється локальна дискомплексація печінкових балок. Головні клітини

характеризуються явищем помірного клітинного поліморфізму, що проявляється різними популяціями гепатоцитів серед яких відзначаються збережені клітини, дистрофічно змінені гепатоцити і поодинокі клітини із мікровезикулярною жировою дистрофією. Останні у своїй цитоплазмі накопичують безбарвні тригліцериди у вигляді везикул. У перипортальній і інтермедіарній зонах класичної печінкової часточки відзначаються двоядерні форми гепатоцитів, що вказує на активацію регенераторних механізмів.

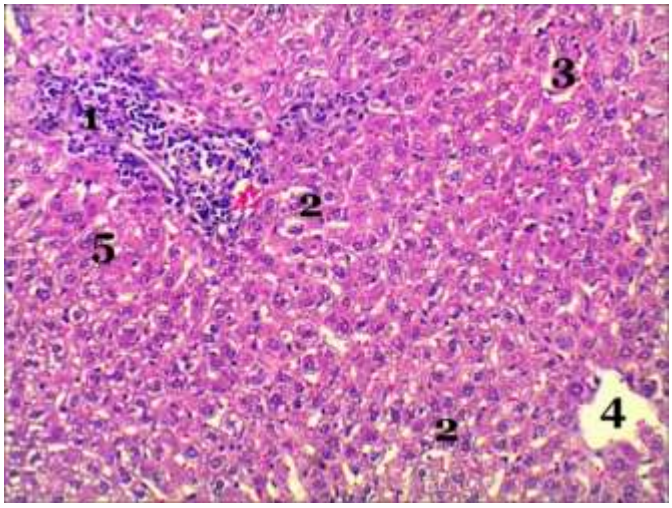


Умовні познаки: 1 – гепатоцити з мікровезикулярною жировою дистрофією, 2 – гетерогенна альтерація гепатоцитів, 3 – розширені синусоїди, 4 – двоядерні гепатоцити, 5 – ремоделювання центральної вени.

Рисунок 5.14 – Гістологічні зміни фрагменту печінки через 7 діб після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Гістологічні дослідження печінки через 14 діб після змодельованих хронічних трофічних виразок вказують на розвиток токсико–дистрофічних уражень структурних компонентів органу. У ділянках портальних трактів відзначаються значні поліморфнонуклеарні інфільтрації із частою інвазією у перипортальну зону класичної печінкової часточки (рис. 5.15). Також фокально активуються клітини Купфера, що вказує на активацію

мононуклеарно–фагоцитарної системи органу. Відзначається структурна дезорганізація стінки центральної вени із пошкодженням ендотелію. У межах класичної печінкової часточки втрачається радіальне розташування печінкових балок. У порівнянні із попереднім терміном експерименту відзначається наростання ступеня гетерогенної альтерації гепатоцитів, що характеризується наявністю головних клітин з різним ступенем дистрофічних змін у межах часточки. У периферійній зоні виявляються популяція двоядерних гепатоцитів.

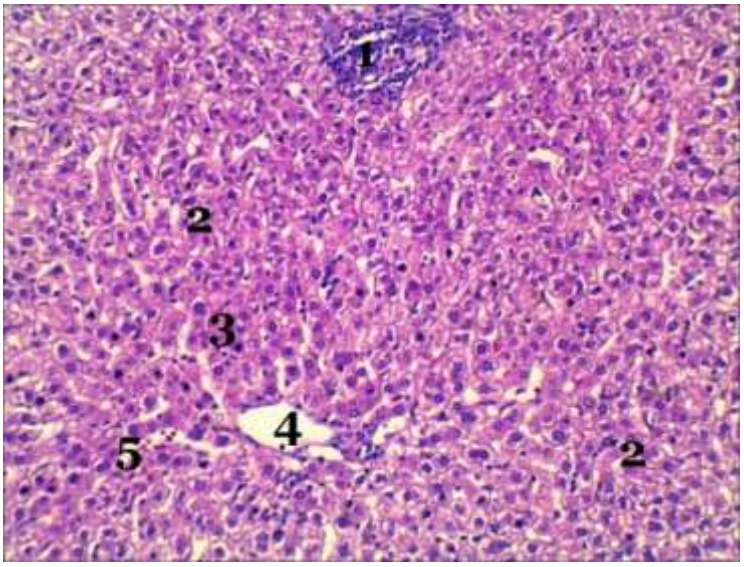


Умовні познаки: 1 – портальна інфільтрація, 2 – альтерація гепатоцитів, 3 – синусоїди, 4 – пошкоджена центральна вена, 5 – двоядерні гепатоцити.

Рисунок 5.15 – Мікроскопічні зміни фрагменту печінки через 14 діб після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Через 21 добу після моделювання хронічних трофічних виразок у печінці на фоні значного запалення, ендотоксикозу і порушення мікроциркуляції мікроскопічно, відзначаються значні деструктивно-дегенеративні зміни структурних компонентів паренхіми органу (рис. 5.16). У периферійній зоні класичної печінкової часточки виявляються осередки інфільтрацій із переважанням нейтрофілів, лімфоцитів і гістіоцитів. У ділянці

навколо центральної вени спостерігається скупчення активованих клітин Купфера. У цетролобулярній і частково проміжній зонах спостерігається популяція темних гепатоцитів із інтенсивно оксифільною цитоплазмою та гіперхромними ядрами, їх поява вказує на адаптивні механізми у органі. Переважна більшість гепатоцитів зазнають значних дистрофічних змін, їх цитоплазма просвітлена, часто вакуолізована або сітчастої структури, ядра базофільні, поодиноко піддаються пікнозу. Спостерігається тотальна дискомплексація печінкових пластинок поряд.

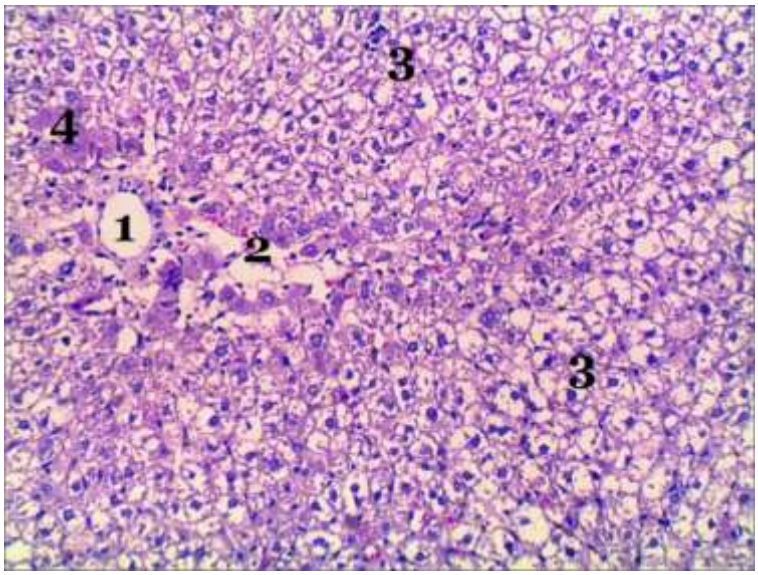


Умовні познаки: 1 – поліморфонуклеарна інфільтрація, 2 – дистрофія гепатоцитів, 3 – темні гепатоцити, 4 – центральна вена, 5 – синусоїди.

Рисунок 5.16 – Фрагмент печінки через 21 добу після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічні дослідження печінки через 28 діб після моделювання хронічних трофічних виразок показали глибоку дистрофію паренхіми органу (рис. 5.17). Відзначається явище некробіозу гепатоцитів у центролобулярній зоні, що обумовлено поєднанням гіпоксичних та токсико–метаболічних порушень. Головні клітини печінки у стані глибоких дистрофічних змін,

цитоплазма клітин набрякла, просвітлена, а ядра ущільнені, інтенстивно базофільні. Локально відзначаються осередки темних гепатоцитів, які мають порівняно збережену будову. Виявляється перисинусоїдальний набряк із дилатацією просвіту Діссе. У межаж класичної печінкової часточки спостерігається звуження просвіту синусоїдів аж до їх спадання.

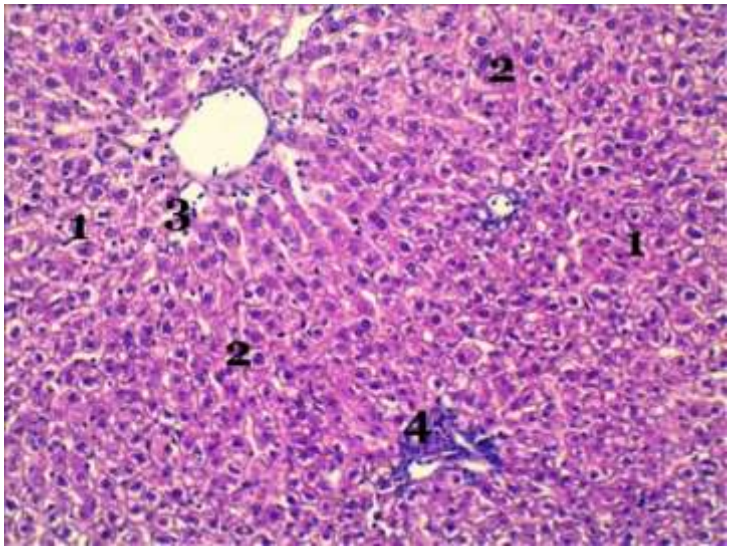


Умовні познаки: 1 – центральна вена, 2 – перисинусоїдальний набряк, 3 – дистрофічно змінені та 4 – темні гепатоцити.

Рисунок 5.17 – Фрагмент печінки через 28 діб після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Гістологічні дослідження печінки через 3 доби після моделювання хронічних трофічних виразок за умов застосування PRP терапії показали початкове відновлення гістоархітектоніки структурних компонентів органу. Відзначається регрес патологічних змін печінкових балок, часто спостерігається їх променеподібне розходження від центральної вени. Гепатоцити проміжної і периферійної зони класичної печінкової часточки характеризуються ознаками дистрофічних змін, мають дещо сітчастоподібну еозинофільну цитоплазму і базофільне ядро. У центролобулярній зоні головні

клітини печінки мають відновлену структуру, чітко однорідно забарвлену оксифільну цитоплазму і нормохромне ядро. Відзначаються дисоційовано розташовані двоядерні гепатоцити, що вказує на посилення регенераторної реакції в печінці. Стінка центральної вени збережена, ознак геморагій, стазів не спостерігається. У синусоїдах виявляється багато активованих клітин Купфера. У сполучній тканині портальних трактів спостерігається слабко виражена гістолейкоцитарна інфільтрація (рис. 5.18).

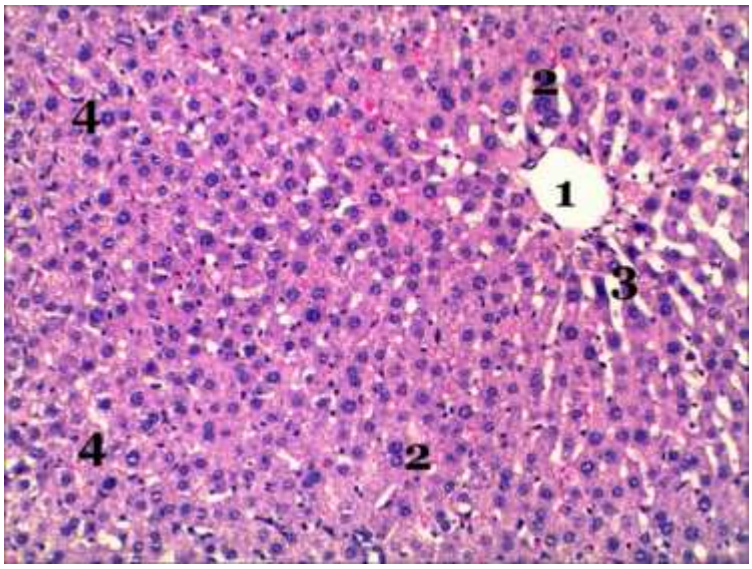


Умовні познаки: 1 – дистрофічно змінені гепатоцити, 2 – двоядерні гепатоцити, 3 – синусоїди із клітинами Купфера, 4 – фокальна гістолейкоцитарна інфільтрація.

Рисунок 5.18 – Гістологічні зміни печінки через 3 доби після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10.

Через 7 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми у печінці відзначається позитивна динаміка мікроциркуляторних процесів, що проявляється у відсутності сладжування еритроцитів у просвітах мікросудин і стазу, проте все ще зберігається незначна дилатація синусоїдів у центролобуряній зоні (рис. 5.19). Деструктуризації

ендотелію центральної вени не спостерігається у порівнянні з терміном без корекції. Відзначається чітко розмежовані печінкові пластинки із гепатоцитами із незначним ступенем дистрофічних змін та двоядерними формами. Клітини містили переважно нормохромні ядра без ознак піктозу. Фокальні поліморфнонуклеарні інфільтрації дрібні і з мінімальним скупченням лімфоцитів, макрофагів.

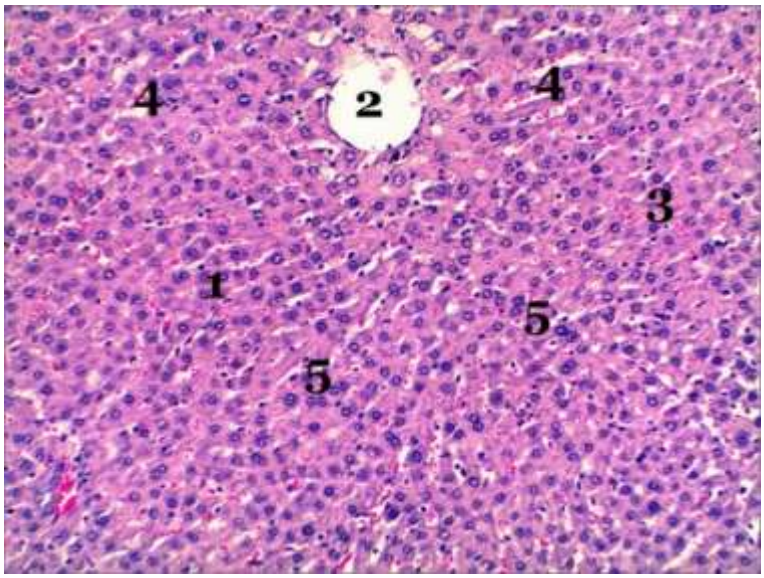


Умовні познаки: 1 – центральна вена, 2 – двоядерні гепатоцити, 3 – розширені синусоїди, 4 – осередки альтерації гепатоцитів.

Рисунок 5.19 – Мікроскопічні зміни печінки через 7 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічні дослідження гістологічних препаратів печінки через 14 діб після моделювання хронічних трофічних виразок за умов застосування PRP терапії відзначається активна стимуляція внутрішньоклітинної і клітинної регенерації. Спостерігається відновлення балкової організації гепатоцитів у межах класичної печінкової часточки (рис. 5.20). Аналогічно із попереднім терміном виявляється багато двоядерних гепатоцитів, що є прямим маркером активації регенераторного потенціалу органу. Гепатоцити центролобулярної,

проміжної і периферійної зон печінкової часточки мали однорідну цитоплазму, проте спостерігався поліморфізм ядер, виявлялися як гіперхромні так і нормохромні. У синусоїдах значно менше клітин Купфера порівняно з терміном без корекції. Спостерігається помірне повнокров'я органу, без ознак застійних явищ.

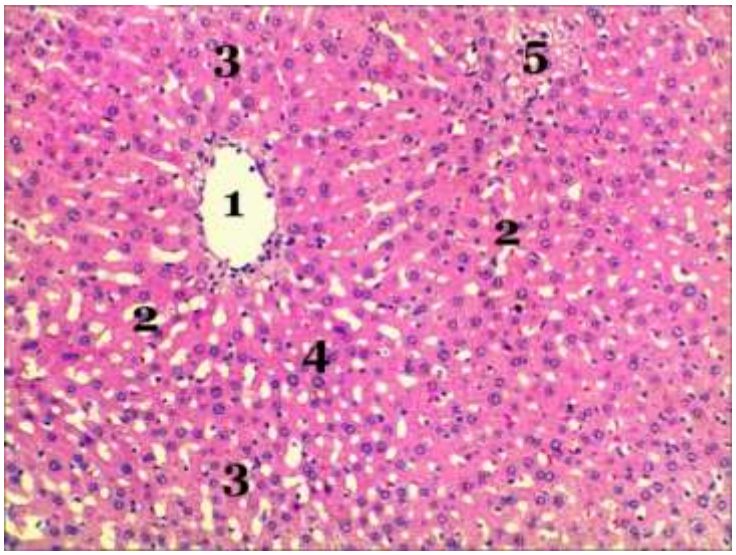


Умовні познаки: 1 – печінкові балки, 2 – центральна вена, 3 – гепатоцити, 4 – синусоїди, 5 – двоядерні гепатоцити.

Рисунок 5.20 – Мікроскопічні зміни печінки через 14 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Гістологічні дослідження печінки через 21 добу після моделювання хронічних трофічних виразок за умов корекції тромбоцитарно збагаченої плазми показали практично повне відновлення гемомікроциркуляції органу (рис. 5.21). Синусоїди частково дилатовані, проте явищ стазу і діапедезних крововиливів повністю нівельовано. Гепатоцити із нормохромними ядрами утворюють типові печінкові балки. У межах класичної печінкової часточки дистрофічні зміни поодинокі, головні клітини органу мають повністю відновлену структуру порівняно з аналогічним терміном без корекції.

Гістолейкоцитарна інфільтрація у межах паренхіми органу та портальних трактах не відзначається. Центральна вена без ознак деформації, її стінка чітко структурована.

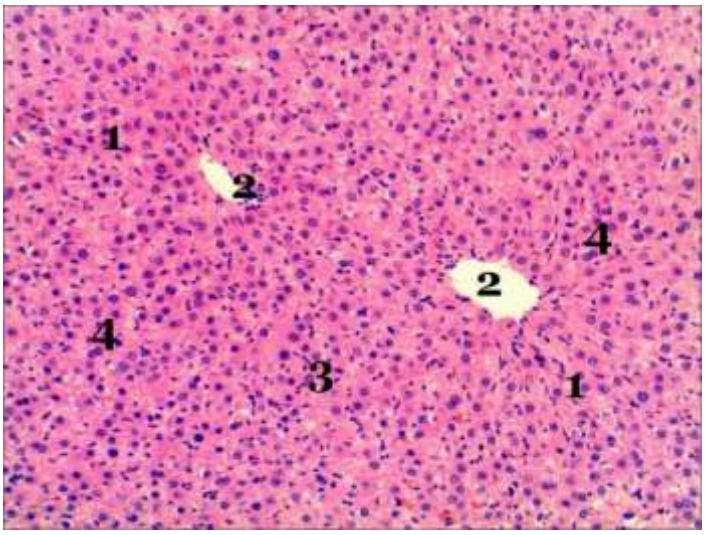


Умовні познаки: 1 – ценральна вена, 2 – синусоїди, 3 – печінкові пластинки, 4 – гепатоцити, 5 – фокальна дистрофія гепатоцитів.

Рисунок 5.21 – Мікроскопічні зміни печінки через 21 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Через 28 діб після моделювання хронічних трофічних виразок за умов застосування PRP терапії у печінці відзначається відновлення морфології органу із наближенням до інтактної групи тварин. Мікроциркуляторні порушення практично відсутні. Синусоїди не розширені, без ознак кровонаповнення. У просвіті синусоїдних гемокапілярів спостерігаються помірно активовані клітини Купфера. Центральна вена безм’язого типу має добре контуровану стінку. Гістоархітектоніка балок типова, вони розходяться радіально від центральної вени. Серед гепатоцитів у межах печінкової часточки не відзначається дистрофія. Репаративна регенерація завершується

відновленням типової популяції гепатоцитів, які харакетризуються оксифільною цитоплазмою і базофільними округлими ядрами (рис. 5.22).



Умовні познаки: 1 – печінкові балки, 2 – центральна вена, 3 – гепатоцити і 4 – двоядерні гепатоцитів.

Рисунок 5.22 – Мікроскопічні зміни печінки через 28 діб після моделювання хронічних трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×25

Моделювання хронічних трофічних виразок супроводжується розвитком прогресуючих деструктивно–дистрофічних змін печінки, що проявляються порушенням гемомікроциркуляції, дилатацією синусоїдів, дискомплексацією печінкових балок, активацією клітин Купфера, розвитком гетерогенної альтерації гепатоцитів та формуванням осередків некробіозу переважно у центролобулярній зоні.

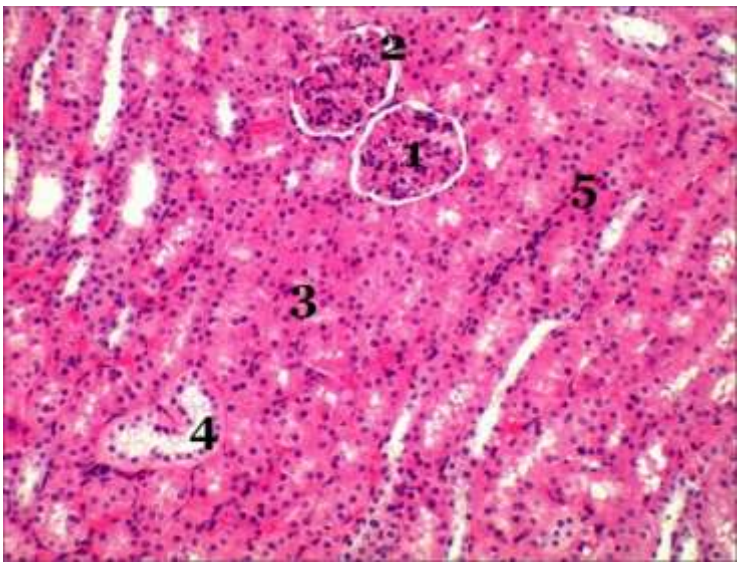
Застосування тромбоцитарно–збагаченої плазми при хронічних трофічних виразках сприяє зменшенню вираженості дистрофічних і мікроциркуляторних порушень у печінці, послабленню запальної реакції та активації репаративної регенерації. Морфологічно це проявляється

відновленням гістоархітектоніки печінкових часточок, нормалізацією стану синусоїдів і центральних вен, зменшенням кількості дистрофічно змінених гепатоцитів та збільшенням популяції двоядерних клітин, що свідчить про стимуляцію регенераторного потенціалу органу.

5.3 Ремоделювання структурних компонентів нирки при хронічних трофічних виразках та за умов корекції

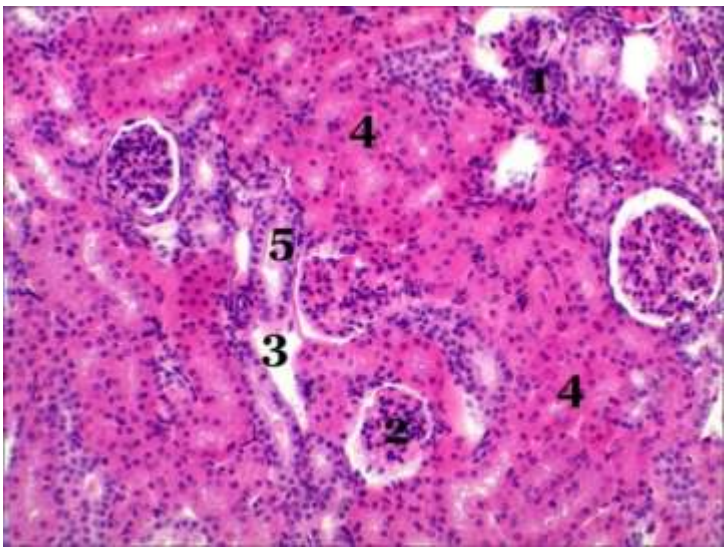
Морфологічне вивчення нирок контрольної групи лабораторних тварин показали, що орган має чітку організацію на кіркову і мозкову речовини. Ниркові тільця у кірковій речовині складаються із петель гемокапілярів, які формують судинний клубочок (рис. 5.23). Добре контуровані внутрішній і зовнішній листок капсули Шумлянського–Боумена між якими розташований рівномірний сечовий простір. Проксимальні канальця характеризуються щілиноподібним просвітом за рахунок щіточкової облямівки на апікальному полюсі клітин, нормохромні ядра мають базальну локалізацію. У дистальних канальцях спостерігається чіткий простір у зв’язку з відсутністю мікроворсинок, епітеліоцити щільно прилягають один до одного, формуючи пласт. У інтерстиції наявні судини із помірним кровонаповненням.

Гістологічні дослідження нирки через 3 доби після моделювання хронічних трофічних виразок показали запально–реактивні процеси у паренхімі та стромі органу (рис. 5.24). У ниркових клубочках спостерігається підвищена щільність клітин за рахунок проліферації мезангіоцитів і скупченням клітинних елементів у петлях гемокапілярів. Сечові простори переважно щілиноподібні. У інтерстиції відзначається набряк і значна інфільтрація із переважанням у клітинному складі лімфоцитів, нейрофільних гранулоцитів та макрофагів. Канальцевий апарат структуризований, проте фокально спостерігається незначна дистрофія проксимальних канальців.



Умовні познаки: 1 – ниркове тільце, 2 – сечовий простір, 3 – проксимальні і 4 – дистальні канальця, 5 – інтерстицій із судинами.

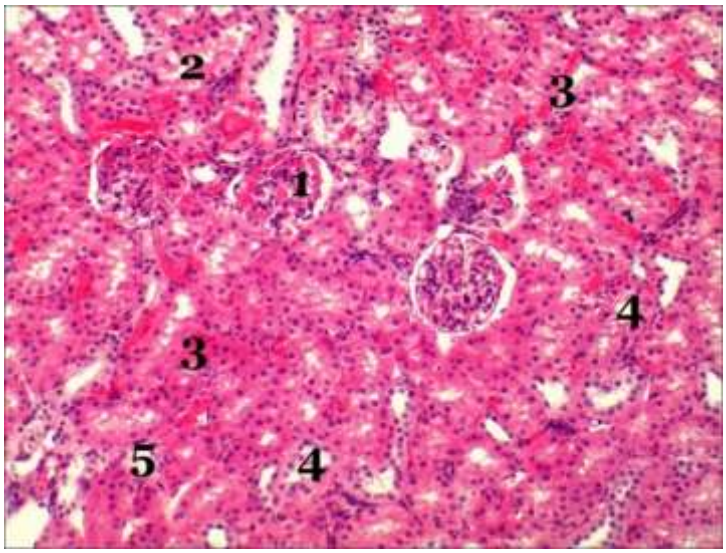
Рисунок 5.23 – Гістологічний стан нирки інтактної групи тварин. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10.



Умовні познаки: 1 – поліморфонуклеарна інфільтрація, 2 – ниркові тільця, 3 – набряк інтерстицію, 4 – проксимальні канальця, 5 – сечовий простір.

Рисунок 5.24 – Гістологічні зміни нирки через 3 доби після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

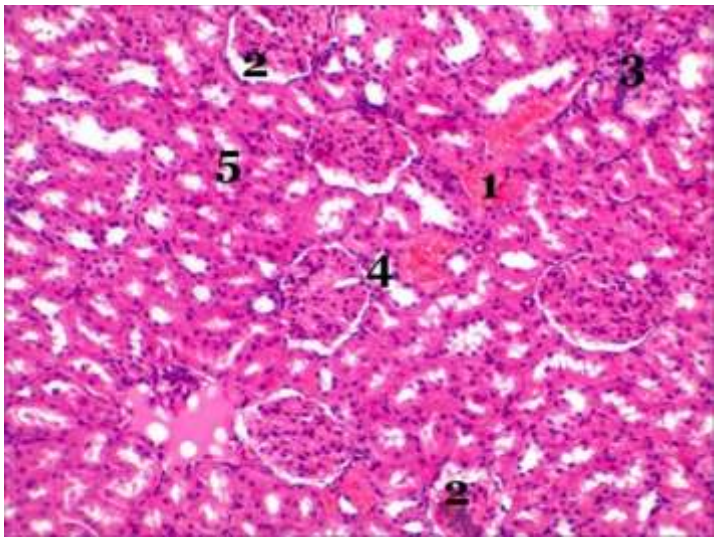
Через 7 діб експерименту мікроскопічні дослідження гістологічних препаратів нирки показали прогресування дистрофічно–деструктивних змін, що проявляються значними застійними явищами у судинах ниркових тілець та тубулоінтерстиційного апарату (рис. 5.25). Ниркові тільця деформовані, локально відзначається гомогенність зовнішнього листка капсули Шумлянського –Боумена, сечовий просвіт вузький. У проксимальних канальцях відзначається дистрофія епітелію, клітини мають неоднорідно забарвлену цитоплазму, ядра втрачають базальну приналежність, у просвітах часто виявляється еозинофільні маси. У дистальному відділі нефрона спостерігається втрата цілісності епітеліального покриву канальців, клітини дезорганізовані, часто їх ядра десвамовані. Дані зміни вказують, що при хронічних виразкових процесів на фоні системної інтоксикації зумовлюють дистрофічні та дескваматівні процеси канальців нирки.



Умовні познаки: 1 – повнокров'я судинного клубочка, 2 – гіалінові циліндри у просвіті канальців, 3 – застійні явища у судинах інтерстицію, 4 – дистрофія проксимальних і 5 – дистальних канальців.

Рисунок 5.25 – Мікроскопічні зміни нирки через 7 діб після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічно, через 14 діб досліду у нирці визначається виражене ремоделювання канальцевого апрату і застійно–повнокровні зміни судин. Епітеліоцити проксимальних канальців нефрона втрачають облямівку, порушується полярність гіперхромних ядер, вони хаотично розташовуються у неоднорідно оксифільній цитоплазмі. У просвіті часто виявляється клітинний детрит і білкові маси. Альтерації зазнає також дистальний відділ нефрона, епітелій дезорганізований, часто десквамований. Ниркові тільця ущільнені, мають деформований вигляд. Відзначається пошкодження, гомогенізація структурних компонентів внутрішнього і зовнішнього листка капсули Шумлянського–Боумена. У інтерстиції спостерігається виражене повнокров'я судин та осередками запальної інфільтрації (рис. 5.26).

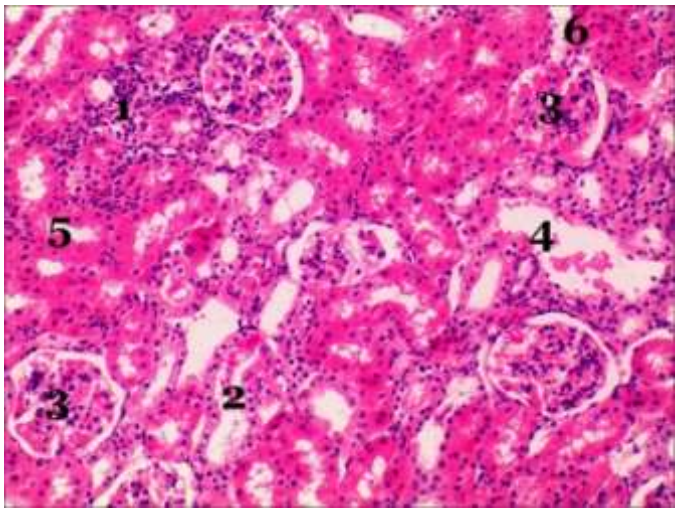


Умовні познаки: 1 – кровонаповнені судини, 2 – альтерація ниркових тілець, 3 – фокальна інфільтрація, 4 – десквамований дистальний канальць, 5 – дистрофія

Рисунок 5.26 – Мікроскопічні зміни нирки через 14 діб після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Гістологічні дослідження нирки через 21 добу моделювання хронічних трофічних виразок супроводжуються вираженими дистрофічними, судинними

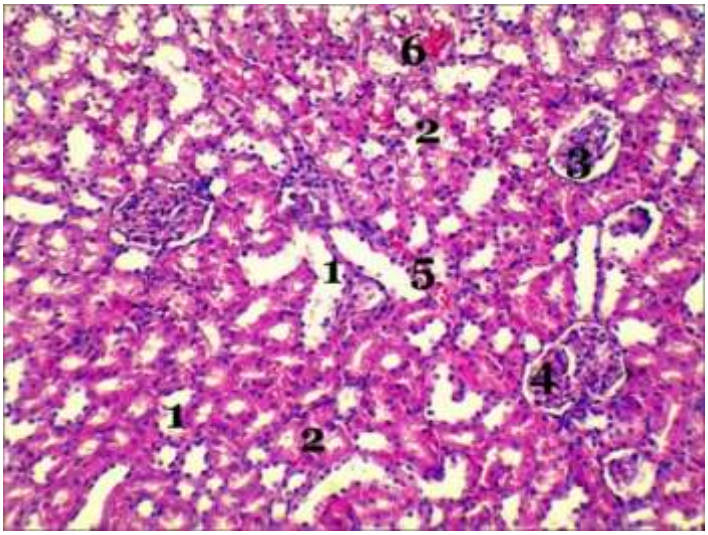
і запальними змінами паренхіми та інтерстицію. Відзначаються гетерогенні зміни капілярних петель судинного клубочка, які проявляються значною дилатацією і переповненням форменими елементами крові, особливо еритроцитами або спостерігаються гемокапіляри де простіти спадаються. Зовнішній листок капсули Шумлянського–Боумена із ознаками ремоделювання, проте характеризується збереженістю структури, внутрішній листок зазнає значного пошкодження, часто не чіткий. У сечовому просторі виявляються еритроцити, а саме його просвіт нерівномірно розширений або звужений, у зв'язку із альтеративними змінами судинного клубочка. Тубулярний апарат також зазнає значного пошкодження і характеризується дистрофічними змінами епітелію проксимальних і дистальних канальців. У їх просвітах виявляються гіалінові еозинофільні циліндри. Спостергіається набряк компонентів інтерстицію та обширні ділянки гістолейкоцитраної інфільтрації (рис. 5.27).



Умовні познаки: 1 – поліморнонуклеарна інфільтрація, 2 – гіалінові циліндри, 3 – повнокров'я судинного клубочка, 4 – дилатація судин інтерстицію, 5 – дистрофія проксимальних канальців, 6 – витончення стінки дистальних канальців.

Рисунок 5.27 – Гістологічні зміни нирки через 21 добу після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічні дослідження гістологічних препаратів нирки через 28 діб після моделювання хронічних трофічних виразок показали виражені ознаки некрозу і дистрофії проксимальних, дистальних канальців нефрона. Епітеліоцити канальців набряклі або значно стоншені, їх цитоплазма неоднорідно забарвлена, часто виявляється її просвітлення через набряк. У багатьох ділянках відзначається каріопікноз ядред та інтенсивна десквамація клітин у просвіт. Спостерігаються фокальні застійні явища у судинах. Ниркові тільця деструктивно змінені, атрофовані, поряд відзначається поодинокі збережені форми (рис. 5.28).

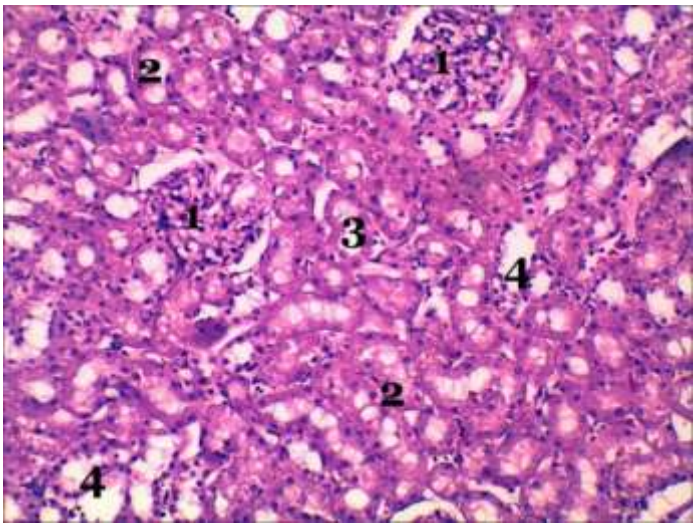


Умовні познаки: 1 – десквамація епітелію дистальних канальців, 2 – дистрофічно змінені проксимальні канальця, 3 – атрофоване тільце, 4 – збережене ниркове тільце, 5 – кровонаповнені судини, 6 – детритно–білкові маси.

Рисунок 5.28 – Гістологічні зміни нирки через 28 діб після моделювання хронічних трофічних виразок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічні дослідження структурних компонентів нирки через 3 доби після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми показали, що у результаті надмірної

інтоксикації через виразкове ураження все ще помітні дистрофічні і альтеративні зміни канальцевого апарату органа, проте їх вираженість помірна (рис. 5.29).



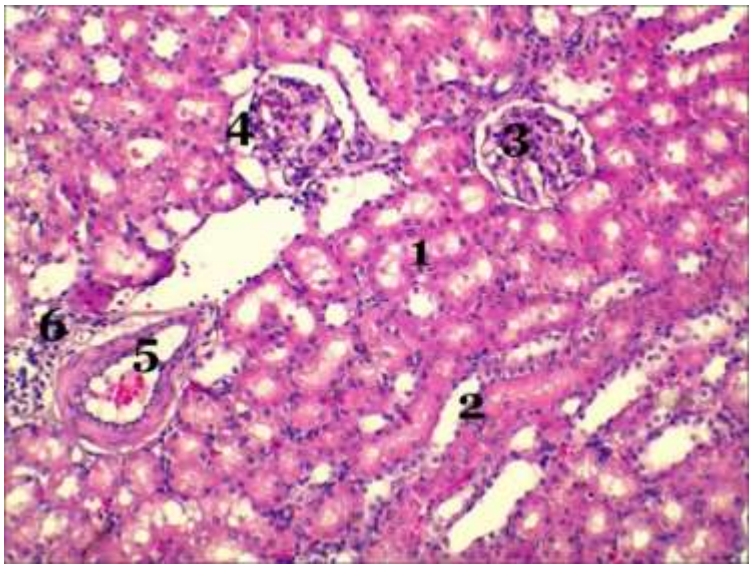
Умовні познаки: 1 – набряк судинного клубочка ниркового тільця, 2 – дистрофія проксимальних канальців, 3 – гіалінові циліндри, 4 – альтерація дистальних канальців.

Рисунок 5.29 – Мікроскопічні зміни нирки через 3 доби після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

За рахунок набряку петель судинного клубочка відзначається деформація ниркового тільця, сечовий простір часто нерівномірно розширений. У просвіті проксимальних канальців виявляються білкові маси, а їх стінка порівняно з терміном без корекції стає більш структурованою. Епітеліоцити дистального відділу нефрона характеризуються ознаками десквамації та хаотичним розташуванням базофільних ядер. У інтерстиції фокально відзначається запальні процеси та ознаки дилатацій.

Через 7 діб після застосування PRP терапії у нирці відзначається покращення гістроструктури компонентів нефрона і ниркових тілець через системний вплив факторів росту, які наявні у плазмі. Ниркові тільця

характеризуються зменшенням набряку судинних клубочків. Відзначається відновлення рівномірності сечового простору, чітко контуровані парієтальний і вісцеральний листок капсули Шумлянського–Боумена. У канальцевому апараті відзначається поступове відновлення епітіоцитів, проте їх дистрофія все ще збережена. У інтерстиції спостерігаються набряк та дрібні гістолейкоцитарні інфільтрації (рис. 5.30).

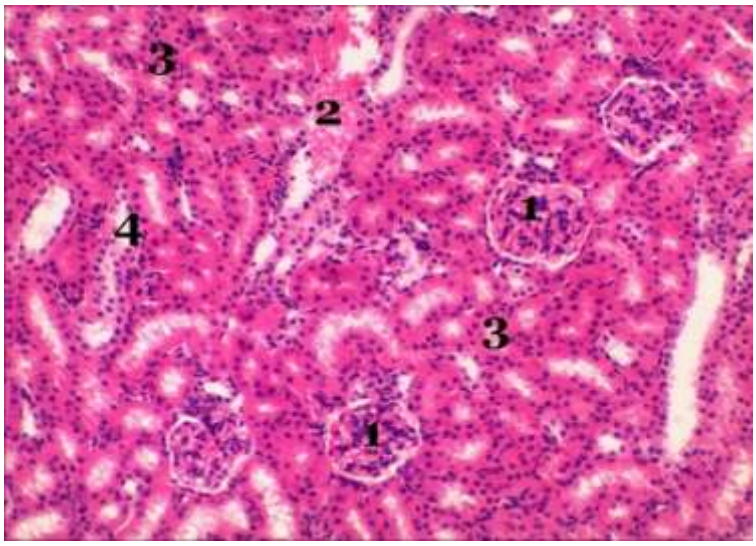


Умовні познаки: 1 – проксимальні і 2 – дистальні канальця нефрона, 3 – ниркове тільце, 4 – сечовий простір, 5 – артерія, 6 – локальна гістолейкоцитарна інфільтрація.

Рисунок 5.30 – Гістологічні зміни нирки через 7 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Через 14 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми відзначається регенерація структурних компонентів нирки (рис. 5.31). Епітеліоцити проксимальних канальців мають відновлену щіточкову облямівку, їх цитоплазма однорідна, еозинофільна. У їх просвітах поодиноко виявляються залишкові білкові маси. Дистальний відділ нефрона характеризується відновленням епітелію, клітини мають чітку

плазмолему, щільно прилягають один до одного, їх ядра нормохромні. У ниркових тільцях відзначається проліферація мезанзіоцитів, що є проявом адаптивно–компенсаторної реакції. Петлі гемокапілярів помірно кровонаповнені, сечовий простір вузький. У інтерстиції виявляються судини із збереженою стінкою, локально повнокровні, проте без ознак стазів, сладж–ефекту еритроцитів.

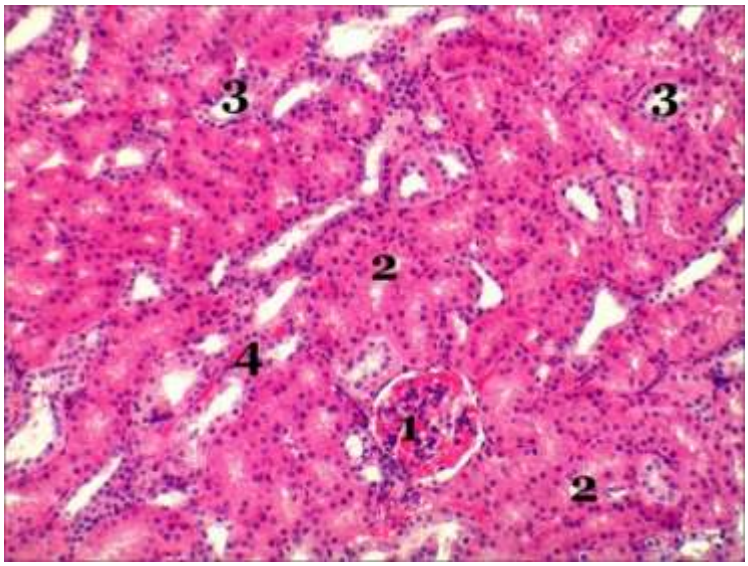


Умовні познаки: 1 – ниркові тільця із проліферованими мезангіоцитами, 2 – судина інтерстицію, 3 – проксимальні і 4 – дистальні канальця.

Рисунок 5.31 – Мікроскопічні зміни нирки через 14 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Мікроскопічно, через 21 добу після моделювання трофічних виразок за умов застосування PRP терапії відзначається переважання процесів відновлення над ушкодженням, відбувається значне покращення структури строми і паренхіми органу. Ниркові тільця округлої форми, сечові простори типові. Чітко контуровані внутрішній і зовнішній листки капсули Шумлянського–Боумена. За рахунок поступового відновлення

мікроциркуляторного русла деякі гемокапіляри петель характеризуються повнокров'ям. Канальці проксимального і дистального відділу нефрона характеризуються практично повною репарацією тупулярного епітелію. Епітеліоцити чітко контуровані, мають еозинофільну однорідну цитоплазму і базофільні ядра (рис. 5.32).

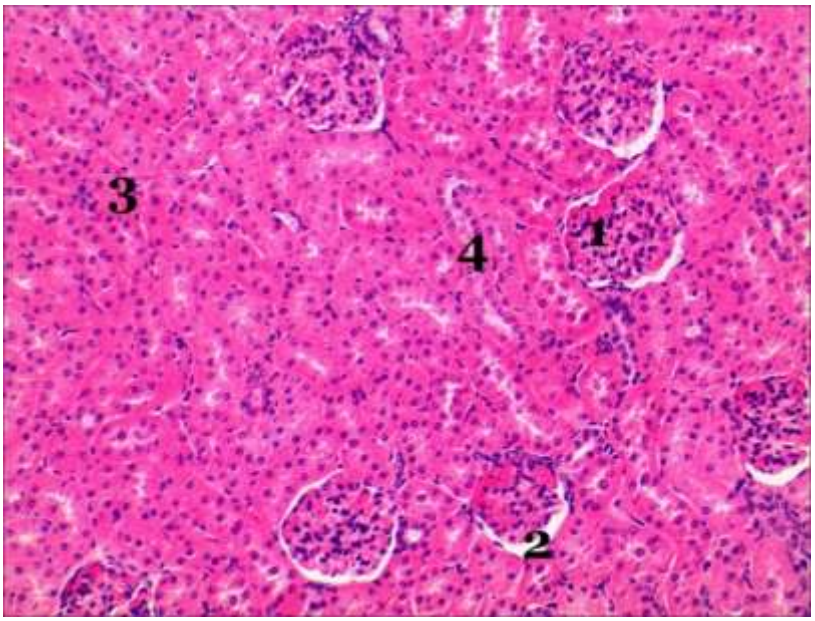


Умовні познаки: 1 – повнокров'я ниркового тільця, 2 – проксимальні і 3 – дистальні канальця, 4 – судини інтерстицію.

Рисунок 5.32 – Мікроскопічні зміни нирки через 21 добу після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Гістологічні дослідження нирки через 21 добу після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми показали практично повне морфологічне відновлення структурних компонентів органу (рис. 5.33). У кірковій речовині більшість канальців і ниркових тілець мали збережену гістоструктуру без ознак деструкції у порівнянні із терміном без корекції. Епітелій канальців повністю диференційований. Епітеліоцити проксимальних канальців мають відновлену

щіточкову облямівку, а ядра розташовані чітко у базальному полюсі клітин. Ниркові тільця характеризуються наближенням до норми, сечовий простір переважно щілиноподібний, місцями незначно контурований, що свідчить про завершальний етап ремоделювання клубочкового фільтраційного бар'єру і стабілізацію мікроструктурих складових. Інтерстицій без ознак запальних інфільтрацій, набряки аморфоного компоненту відсутні.



Умовні познаки: 1 – ниркові тільця, 2 – сечовий прості, 3 – проксимальні і 4 – дистальні канальця.

Рисунок 5.33 – Фрагмент центральної ділянки дефекту шкіри через 28 діб після моделювання трофічних виразок за умов застосування тромбоцитарно збагаченої плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Окуляр ×10, об'єктив ×10

Висновки до розділу 5.

1. Хронічні трофічні виразки викликають сильну внутрішню інтоксикацію, яка серйозно пошкоджує гістоструктуру нирок, особливо їхній канальцевий апарат. В епітелії канальців розвивається важка дистрофія та

некроз, а в клубочках і стромі виникають набряк та порушення кровообігу, що порушує фільтраційну функцію нирок.

2. Використання тромбоцитарно збагаченої плазми ефективно зупиняє деструктивно–дегенеративні зміни структурних компонентів нирки завдяки дії факторів росту. Протягом 28 діб PRP повністю знімає запалення, стимулює поділ нових клітин і відновлює судини, повертаючи структуру нирки до норми.

Результати досліджень, що висвітлені у розділі, опубліковано у науковій праці автора [160].

РОЗДІЛ 6
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Трофічні виразки нижніх кінцівок (ТВНК) на сучасному етапі розвитку медичної науки залишаються однією з найбільш складних та міждисциплінарних проблем судинної хірургії, дерматології, ендокринології та регенеративної медицини. Епідеміологічні дані засвідчують, що поширеність хронічних ранових дефектів серед дорослого населення становить 1,5–2,2 %, а у віковій групі понад 65 років сягає 4–5 %. У структурі патології домінують захворювання венозної системи (70–80 %), ішемічні ураження на тлі облітеруючого атеросклерозу (10–20 %) та синдром діабетичної стопи (СДС) [1, 2]. Особливу медико–соціальну гостроту даній проблемі надають високі показники рецидивування (до 60–70 % протягом 5 років), тривала втрата працездатності, суттєве зниження якості життя хворих та виражений економічний тягар для системи охорони здоров'я [1, 3].

Фундаментальний аналіз патофізіологічних механізмів хронізації ранових дефектів свідчить, що в основі зупинки регенераторного каскаду у фазі хронічного запалення лежить формування патологічного локального мікрооточення. Внаслідок вираженої тканинної гіпоксії, ендотеліальної дисфункції, мікроциркуляторних розладів та персистувального запального інфільтрату виникає критичний протеолітичний дисбаланс, обумовлений гіперпродукцією матриксних металопротеїназ (ММР–1, ММР–8, ММР–9) та еластази на тлі дефіциту їхніх тканинних інгібіторів (TIMPs) [101, 102, 105]. Це призводить до передчасної деградації новоутвореного позаклітинного матриксу (колагену, фібронектину) та руйнування ендогенних факторів росту та їхніх рецепторів.

Паралельно спостерігається депресія процесів локального ангіогенезу, коли навіть за умов тканинної гіпоксії сигнальні шляхи індукції судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) та фактора росту фібробластів (bFGF)

виявляються блокованими внаслідок розвитку фенотипу реплікативного старіння (cellular senescence) резидентних фібробластів та кератиноцитів під дією тривалого оксидативного стресу. Додатковим патогенетичним чинником, що замикає хибне коло хронізації, є формування бактеріальних біоплівок, які захищають мікроорганізми від факторів імунітету та антибіотикотерапії, стимулюючи явище «фрустрованого фагоцитозу» з масивним вивільненням активних форм кисню (АФК) та лізосомальних ферментів.

Аналіз традиційних консервативних та хірургічних підходів (застосування інтерактивних пов'язок, системної вазоактивної терапії, компресійного лікування, а також хірургічної реваскуляризації) засвідчує, що їх терапевтична ефективність практично досягла свого плато. Більшість традиційних методів чинить лише пасивний або симптоматичний вплив, нездатний кардинально змінити патологічний цитокіновий та оксидативний профіль локального мікрооточення.

Це обґрунтувало необхідність переходу до активних біотехнологічних методів стимуляції репаративного гістогенезу, серед яких особливе місце посідає застосування плазми, збагаченої тромбоцитами (Platelet–Rich Plasma, PRP). Біологічна дія PRP базується на дегрануляції alpha–гранул тромбоцитів з вивільненням надфізіологічних концентрацій поліпептидних факторів росту (PDGF, TGF–β, VEGF, EGF, bFGF), які відновлюють рецепторний сигнал, стимулюють хемотаксис та мітогенез фібробластів, неоангіогенез та синтез макромолекул позаклітинного матриксу [28, 101, 105].

Проте аналіз літературних даних та практичного досвіду виявив низку суттєвих суперечностей та невирішених питань щодо застосування PRP–терапії, а саме:

— Відсутність єдиної міжнародної стандартизації протоколів сепарування крові, що призводить до значної варіабельності вмісту тромбоцитів у кінцевому продукті.

— Триваюча наукова дискусія щодо доцільності збереження лейкоцитарної фракції (L–PRP проти P–PRP): з одного боку, лейкоцити забезпечують антимікробний захист, з іншого – можуть виступати джерелом додаткових прозапальних цитокінів та протеаз.

— Залежність якості автологічної PRP від соматичного стану, віку та супутньої патології пацієнта (цукровий діабет, атеросклероз).

— Обмежена тривалість дії PRP за умов вираженого оксидативного та ендотоксичного стресу.

Виходячи з цього, метою нашого дисертаційного дослідження стало експериментальне обґрунтування та патогенетична оцінка ефективності застосування PRP–терапії при виразково–деструктивних ураженнях, зокрема шляхом вивчення її впливу на стан прооксидантно–антиоксидантної системи, рівень ендогенної інтоксикації, цитокіновий статус та синдром системної запальної відповіді.

У патогенезі тканинної альтерації та хронізації виразкових дефектів наріжну роль відіграє інтенсифікація процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) на тлі неспроможності антиоксидантного захисту (АОЗ). Утворені в результаті вільнорадикальних реакцій активні форми кисню (АФК) індукують оксидативну модифікацію білків та ліпідів плазматичних мембран, збільшуючи їх проникність, руйнуючи структурну цілісність клітин та викликаючи їх загибель шляхом некрозу або апоптозу [105, 106].

Результати наших експериментальних досліджень засвідчили, що розвиток патологічного процесу супроводжувався вираженою активацією ліпопероксидації, про що свідчило вірогідне накопичення первинних та вторинних продуктів ПОЛ – кон'югованих дієнів (КД) та речовин, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК–активних продуктів).

Застосування PRP–терапії спричинилося до суттєвого гальмування вільнорадикального окиснення. Отримані дані демонструють вірогідне зниження вмісту КД та ТБК–активних продуктів у сироватці крові

експериментальних тварин порівняно з групою без корекції. Молекулярний механізм даного явища пов'язаний зі здатністю тромбоцитарних факторів росту пригнічувати надмірну генерацію АФК нейтрофілами та моноцитами, а також зі стимуляцією ферментної ланки антиоксидантного захисту.

Паралельно з цим нами досліджено стан ферментних та неферментних ланок антиоксидантного захисту, зокрема активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ), ВГ. СОД є першим рубежем захисту, який каталізує дисмутацію супероксидного аніон–радикала до пероксиду водню, який надалі знешкоджується каталазою.

У групі тварин із патологією без лікування спостерігалося виснаження ферментного резерву АОЗ, що проявлялося вірогідним падінням активності СОД та КТ, а також зменшенням титру ВГ, що свідчить про глибокий оксидативний стрес та споживання антиоксидантів. Введення PRP сприяло відновленню активності СОД та каталази.

Дискутуючи отримані дані з результатами інших дослідників, слід зазначити, що здатність PRP модифікувати прооксидантно–антиоксидантну рівновагу підтверджується працями багатьох вітчизняних та зарубіжних науковців [28, 105]. Зниження рівня ТБК–активних продуктів та підвищення активності антиоксидантних ферментів під впливом тромбоцитарних концентратів пояснюються не лише пасивним зв'язуванням радикалів, а й транскрипційною активацією сигнального шляху Nrf2/ARE у кератиноцитах та фібробластах, що стимулює експресію ендогенних антиоксидантних протеїнів [28, 106, 107].

Отримані нами результати переконливо доводять, що PRP–терапія ефективно перериває вільнорадикальний каскад, знижує рівень первинних та вторинних продуктів ПОЛ та відновлює потенціал антиоксидантних ферментів (СОД, КТ) та SH–груп, створюючи сприятливий метаболічний фон для репаративної регенерації [57].

Ендогенна інтоксикація (ендотоксикоз) є обов'язковим синдромом, що супроводжує гострі та хронічні деструктивно–запальні процеси в організмі. Накопичення продуктів патологічного метаболізму, деградації тканин та життєдіяльності мікроорганізмів призводить до пошкодження клітинних мембран органів–мішеней, насамперед печінки та нирок, формуючи поліорганну недостатність [28].

Для оцінки ступеня вираженості синдрому ендогенної інтоксикації у нашій роботі було використано визначення вмісту молекул середньої маси (МСМ) та еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ). МСМ є універсальним біохімічним маркером ендотоксикозу, який включає пептиди серединної молекулярної маси (300–5000 Д), що володіють високою біологічною та токсичною активністю [102, 103].

Аналіз отриманих результатів показав, що при моделюванні патологічного стану спостерігалося накопичення МСМ у сироватці крові досліджуваних тварин, що свідчило про масивну аутолітичну деструкцію тканин та зниження видільної функції нирок. Застосування PRP–терапії приводило до вірогідного зниження концентрації МСМ на всіх етапах спостереження. Одночасно відзначалася нормалізація еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ), що вказує на відновлення сорбційної здатності та мембранної резистентності еритроцитів під впливом корекції.

Для оцінки цитолітичного синдрому та органопротекторної ефективності PRP нами вивчалася активність амінотрансфераз – аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартамінотрансферази (АсАТ) у сироватці крові. Підвищення активності цих ферментів є класичним маркером пошкодження гепатоцитів та інших паренхіматозних клітин [102].

У групі тварин без корекції фіксувалося виражене зростання активності АлАТ та АсАТ, що свідчило про розвиток токсичного ураження печінки на тлі системної запальної відповіді та ендотоксикозу. Застосування PRP–терапії сприяло вірогідному зменшенню ферментемії (зниженню АлАТ та АсАТ), що

вказує на наявність мембраностабілізувальної та гепатопротекторної дії даного біопродукту.

Залучення літературних джерел дозволяє обґрунтувати органопротекторний ефект PRP. Ряд науковців підкреслює, що цитокіни та фактори росту, присутні у PRP (зокрема HGF – фактор росту гепатоцитів, TGF–beta), здатні пригнічувати системну запальну відповідь, зменшувати апоптоз паренхіматозних клітин печінки та нирок та покращувати органну мікроциркуляцію, що сприяє швидшому детоксикаційному очищенню організму від продуктів катаболізму та зниженню рівня МСМ [28, 102, 105].

Імунологічна реактивність та локальний цитокіновий баланс визначають вектор перебігу ранового процесу: перехід від альтерації до проліферації або застрягання у фазі хронічного запалення [101, 105]. У нормі прозапальні цитокіни (IL–1β, IL–6, TNF–α) необхідні для первинної мобілізації імунних клітин та санації рани, проте їх тривала персистенція у високих концентраціях спричиняє хронічне деструктивне запалення [102, 105.

Отже, формування глибокого дермато–деструктивного дефекту супроводжується розгортанням взаємопов'язаного каскаду імуно–метаболічних і патобіохімічних зрушень із максимальною вираженістю більшості досліджених маркерів на 7–14–ту добу експерименту (фаза розгорнутого гострого запалення) та поступовим, проте неповним їх регресом після 14–21–ї доби, що патогенетично обґрунтовує необхідність застосування зовнішньої регенераторно–стимулювальної терапії для попередження хронізації ранового процесу.

Узагальнюючи власні експериментальні дані, можна сформулювати цілісну концепцію патогенетичної ефективності PRP–терапії при лікуванні трофічних та деструктивно–запальних уражень тканин. PRP діяла не як ізольований стимулятор окремого біохімічного процесу, а як системний та локальний біологічний регулятор, що комплексно впливає на основні ланки патогенезу захворювання.

Ключові патогенетичні ефекти PRP–терапії, встановлені у нашому дослідженні, охоплюють антиоксидантний та мембранопротекторний ефекти**:** пригнічення процесів ПОЛ (зниження КД, ТБК–активних продуктів) та відновлення ферментних й неферментних ланок АОЗ (СОД, КТ, SH–групи); детоксикаційний та органопротекторний ефекти: зменшення рівня системного ендотоксикозу (зниження МСМ, ЕІІ) та захист паренхіматозних органів (зниження ферментемії АлАТ, АсАТ); імуномодулювальний та протизапальний ефекти; стимуляція репаративного гістогенезу: відновлення мікроциркуляторного русла, стимуляція проліферації фібробластів та синтезу колагенового матриксу під дією депонованих факторів росту (PDGF, TGF–β, VEGF, bFGF).

У порівняльному аспекті з даними світової літератури наші результати узгоджуються з висновками багатьох провідних дослідників [28, 102, 105, 106, 107], які вивчали біологічні властивості тромбоцитарних концентратів. Водночас наша праця розширює уявлення про системні патофізіологічні ефекти PRP, доводячи, що її застосування забезпечує не лише локальне закриття дефекту, а й виразну системну мобілізацію компенсаторних механізмів організму, знижуючи рівень ендотоксикозу та оксидативного навантаження.

Дискусійним питанням у літературі залишається оптимізація складових компонентів PRP, зокрема роль лейкоцитарного профілю. Отримані нами результати свідчать, що використання стандартизованої PRP з контрольованим вмістом клітин дозволяє уникнути негативного протеолітичного впливу лейкоцитів та максимально реалізувати регенераторний імуномодулювальний потенціал тромбоцитарних факторів росту.

Наукова новизна отриманих нами результатів полягає у фундаментальному експериментальному обґрунтуванні комплексного патогенетичного впливу PRP–терапії на оксидативний, ендотоксичний та імунозапальний гомеостаз. Практична цінність роботи обумовлена

можливістю стандартизації та впровадження високоефективних біотехнологічних протоколів лікування трофічних та деструктивних уражень м'яких тканин у клінічну практику.

Отже, патогенетичний аналіз довів, що хронізація деструктивних процесів та трофічних виразок зумовлена формуванням несприятливого мікрооточення, оксидативним стресом, ендогенною інтоксикацією та порушенням імунозапальної реактивності.

Застосування PRP–терапії забезпечує вірогідне пригнічення процесів пероксидного окиснення ліпідів (ТБК–активних продуктів) та нормалізацію ферментних і неферментних ланок антиоксидантного захисту (активності СОД, каталази та ВГ).

Встановлено виразний детоксикаційний та органопротекторний ефект PRP–терапії, що проявляється у вірогідному зниженні еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ) та активності цитолітичних ферментів (АлАТ, АсАТ) у сироватці крові.

Доведено імуномодулювальну дію PRP–терапії, яка проявляється чітко вираженою корекцією показників гуморальної ланки системного імунітету протягом усього періоду регенерації дефекту шкіри. На початкових етапах спостереження (3–7–ма доба) ефект плазми, збагаченої тромбоцитами, реалізується через супресію надмірної гострофазової імунної відповіді на резорбцію продуктів тканинного детриту. Це підтверджується обмеженням патологічного росту концентрації IgM (вже на 3–тю добу показник був на 12,4 % нижчим за рівень нелікованої моделі, а на 7–му добу – на 20,6 % нижчим, досягаючи (0,770 ± 0,004) г/л проти (0,970 ± 0,010) г/л у тварин без лікування; $p < 0,001$).

Паралельно фіксується гальмування гіперпродукції секреторно–системного IgA, рівень якого під впливом PRP на 7–му добу стабілізувався на позначці (0,690 ± 0,015) г/л порівняно з (0,810 ± 0,020) г/л у групі контрольної

патології ($p < 0,001$), що свідчить про своєчасну локалізацію інфекційних агентів та оптимізацію бар'єрної функції дерми.

У фазу проліферації та ремоделювання рани (14–28-ма доба) імуномодулювальний потенціал PRP–терапії проявився значним прискоренням кінетики елімінації циркулюючих імуноглобулінів із судинного русла. Зокрема, на 14–ту добу рівень IgM знизився на 25,6 % ($p < 0,001$), а на 28–му добу цей гострофазовий маркер практично повністю повернувся до значень фізіологічного контролю ((0,570 ± 0,006) г/л проти (0,580 ± 0,013) г/л у здорових щурів; $p > 0,05$), тоді як у групі «Модель виразки» він залишався критично високим ((0,780 ± 0,010) г/л; $p < 0,001$). Динаміка IgA наприкінці експерименту продемонструвала зниження концентрації на 9,6 % нижче навіть від показників нелікованої виразки ($p < 0,001$), фіксуючи завершення активного ексудативного процесу.

Особливе патогенетичне значення має вплив PRP на довготривалу імунну пам'ять та хронічне запалення, які оцінювали за рівнем IgG. Локальне введення факторів росту тромбоцитів дозволило уникнути тривалого «плато» гіперпродукції цього імуноглобуліну, характерного для млявого перебігу трофічних виразок. На 28–му добу концентрація IgG у тварин, які отримували PRP, послідовно знизилася до (0,920 ± 0,009) г/л, що виявилося вірогідно нижчим за показник групи порівняння ((0,950 ± 0,015) г/л; $p<0,05$) та свідчить про деактивацію системної імунної гіперреактивності.

Узагальнюючи наведені інтервенційні зрушення, можна стверджувати, що імунотропний ефект плазми, збагаченої тромбоцитами, має фазоспецифічний характер. PRP діє як біогенний регулятор: на етапі альтерації вона запобігає розвитку автоімунного тканинного шоку та гіперергічного запалення, а на етапі проліферації – стимулює фізіологічний кліренс сироватки крові від імунних макромолекул, що є обов'язковою патогенетичною передумовою для повноцінної епітелізації та формування функціонально зрілого рубця.

При проведенні морфологічних досліджень встановлено, що в інтактних тварин шкіра мала типову структуру з чітко сформованими епідермісом, дермою та придатками (волосяними фолікулами, сальними залозами). На 3–тю добу після моделювання виразки в центральній ділянці дефекту виявлялася повна відсутність епітеліального покриву з масивними фібринозно–некротичними нашаруваннями, лейкоцитарною інфільтрацією та формуванням коагуляційного валу по периферії, деструкцією колагенових волокон дерми, повнокров'ям і стазами в гемокапілярах. На 7–му добу фібринозно–некротична маса частково ущільнювалася й підсихала, з'являлися початкові ознаки ангіогенезу та ранньої грануляції, крайова епітелізація, проте зі збереженням деструктивних змін придатків шкіри. На 14–ту добу спостерігалося формування тонкого, морфологічно незрілого епітелію по краях дефекту на тлі збереження хронічного запалення та активної фіброплазії. На 21–шу добу відзначалися лізис і резорбція некротичних мас, епітелізація з ознаками акантозу, дозрівання сполучної тканини сосочкового шару, проте без повного відновлення. На 28–му добу епітелізація відбувалася лише за «повзучим» типом без повноцінного закриття рани, у зоні виразки констатовано повну втрату пілосебацейних одиниць та атрофію потових залоз, що засвідчує неповноцінну, структурно незрілу регенерацію дерми за умов природного перебігу патології без лікування.

За умов застосування PRP–терапії морфологічна картина шкіри демонструвала принципово іншу, прискорену динаміку: вже на 3–тю добу, на відміну від нелікованої групи, у крайових ділянках виявлялися ознаки проліферації епітеліоцитів та чітка демаркаційна зона навколо некротичного субстрату; на 7–му добу спостерігалася активна проліферація епітеліоцитів базального шару з формуванням первинних епітеліальних тяжів, активація фібробластів і синтез міжклітинного матриксу без ознак застійних мікроциркуляторних явищ; на 14–ту добу зафіксовано суттєве зменшення площі виразкового дефекту з практично повною епітелізацією ураженої

ділянки; на 21–шу добу морфологічна картина відповідала фазі активного ремоделювання з чіткою диференціацією шарів епідермісу та активним розвитком волосяних фолікулів; на 28–му добу констатовано морфологічно зрілий регенерат шкіри з повністю відновленим багатошаровим плоским зроговілим епітелієм, чіткою стратифікацією, типовою сітчастою структурою колагенових та еластичних волокон дерми та активним фібробластичним синтезом, що за своєю архітектонікою наближалося до інтактної тканини та підтверджувало виражену репаративно–модулювальну дію тромбоцитарно збагаченої плазми.

Аналізуючи динаміку мікроскопічних змін печінки можна констатувати, що у тварин інтактної групи орган мав типову часточкову структуру з чіткими тріадами, центральними венами та однорідними оксифільними гепатоцитами. При модельованій трофічній виразці без лікування вже на 3–тю добу виявлялися дилатація синусоїдів, повнокров'я, активація клітин Купфера та фокальна гістолейкоцитарна інфільтрація на тлі початкових дистрофічних змін гепатоцитів; на 7–му добу деструктивно–дегенеративні зміни поширювалися по всіх зонах часточки з дискомплексацією печінкових балок і появою мікровезикулярної жирової дистрофії окремих гепатоцитів; на 14–ту добу відзначалися токсико–дистрофічні ураження з масивною портальною інфільтрацією, структурною дезорганізацією стінки центральної вени та наростанням гетерогенної альтерації головних клітин печінки; на 21–шу добу зберігалися значні деструктивно–дегенеративні зміни з тотальною дискомплексацією печінкових пластинок і вираженою вакуолізацією цитоплазми гепатоцитів; на 28–му добу констатовано глибоку дистрофію паренхіми з явищами некробіозу гепатоцитів у центролобулярній зоні та перисинусоїдальним набряком, що свідчить про незавершеність репаративних процесів у печінці навіть наприкінці спостереження за умов відсутності лікування.

Застосування PRP–терапії суттєво модифікувало перебіг морфологічних змін печінки: уже на 3–тю добу відзначено початкове відновлення

гістоархітектоніки з променеподібним розходженням печінкових балок від центральної вени та появою дисоційовано розташованих двоядерних гепатоцитів як маркера активації регенераторного потенціалу; на 7–му добу зафіксовано позитивну динаміку мікроциркуляції без ознак сладжування еритроцитів і стазу; на 14–ту добу спостерігалася активна внутрішньоклітинна і клітинна регенерація з відновленням балкової організації гепатоцитів; на 21–шу добу констатовано практично повне відновлення гемомікроциркуляції органа з поодинокими дистрофічними змінами; на 28–му добу морфологічна картина печінки максимально наближалася до інтактної групи тварин з типовою радіальною гістоархітектонікою балок, відсутністю дистрофії гепатоцитів та завершеною репаративною регенерацією.

Важливі результати отримано при дослідженні структурних змін нирок. У контрольній групі орган мав чітку кірково–мозкову диференціацію з типовою будовою ниркових тілець, проксимальних і дистальних канальців. При модельованій трофічній виразці без лікування на 3–тю добу відзначалися запально–реактивні процеси з проліферацією мезангіоцитів, набряком та поліморфноклітинною інфільтрацією інтерстицію; на 7–му добу прогресували дистрофічно–деструктивні зміни з застійними явищами в судинах, дистрофією епітелію проксимальних канальців та десквамацією дистального відділу нефрона; на 14–ту добу виявлялося виражене ремоделювання канальцевого апарату з втратою щіточкової облямівки епітеліоцитів, деформацією ниркових тілець та осередковою запальною інфільтрацією інтерстицію; на 21–шу добу констатовано гетерогенні судинні зміни клубочків, появу гіалінових еозинофільних циліндрів у просвітах канальців та обширну гістолейкоцитарну інфільтрацію; на 28–му добу морфологічно верифіковано виражені ознаки некрозу й дистрофії канальцевого апарату з каріопікнозом ядер, десквамацією епітелію та атрофією значної частини ниркових тілець, що свідчить про глибоке й прогресуюче ураження ниркової паренхіми внаслідок хронічної системної ендогенної інтоксикації за відсутності патогенетичного лікування.

Застосування PRP–терапії забезпечувало прогресивне морфологічне відновлення структурних компонентів нирки: на 3–тю добу дистрофічні й альтеративні зміни канальцевого апарату мали помірну вираженість порівняно з нелікованою групою; на 7–му добу відзначалося зменшення набряку судинних клубочків, відновлення рівномірності сечового простору та поступова регенерація епітеліоцитів канальців; на 14–ту добу констатовано відновлення щіточкової облямівки епітеліоцитів проксимальних канальців, відновлення епітелію дистального відділу нефрона та компенсаторну проліферацію мезангіоцитів; на 21–шу та 28–му добу морфологічна картина нирки практично повністю нормалізувалася з відновленням типової гістоархітектоніки кіркової та мозкової речовини, що засвідчує виражений нефропротекторний ефект тромбоцитарно збагаченої плазми, реалізований завдяки її факторам росту через стимуляцію проліферативних і протизапальних механізмів.

Отже, експериментальне відтворення трофічної виразки супроводжується послідовним формуванням стійкого морфофункціонального дефекту не лише шкіри, а й печінки та нирок, для якого характерне тривале збереження альтеративно–запальних змін і затримка переходу до повноцінної репаративної фази, тоді як застосування тромбоцитарно збагаченої плазми істотно модифікує перебіг патологічного процесу в усіх трьох досліджених органах, забезпечуючи ранню активацію репаративних механізмів та морфологічно повноцінне ремоделювання тканин, наближене до структури інтактних органів.

Систематизація та узагальнення експериментальних даних обґрунтовують високу патогенетичну ефективність та перспективність широкого клінічного впровадження стандартизованої PRP–терапії в регенеративну медицину та хірургічну практику.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на основі комплексних експериментальних, біохімічних, імунологічних та статистичних досліджень наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання сучасної медицини – експериментального обґрунтування та патогенетичної оцінки ефективності застосування PRP-терапії (плазми, збагаченої тромбоцитами) для корекції метаболічних, оксидативних, детоксикаційних та імуно запальних порушень при виразково-деструктивних ураженнях.

1. Розвиток експериментальної трофічної виразки шкіри у щурів супроводжується стрімким і статистично достовірним зростанням показника ендогенної інтоксикації (еритроцитарного індексу інтоксикації) з максимумом на 14-ту добу (приріст 102,2 % відносно контролю; $p<0,001$), синхронізованим із гіперпродукцією церулоплазміну (приріст 263,7 %) та обох фракцій молекул середньої маси, і неповним відновленням показників до фізіологічної норми навіть на 28-му добу спостереження.

2. Формування трофічної виразки шкіри супроводжується компенсаторною активацією гуморальної ланки імунітету з максимальним зростанням рівнів IgA (на 130,8 %) та IgM (на 55,2 %) на 14-ту добу і більш раннім піком IgG (на 3–тю добу), що відображає різну тривалість імунологічної відповіді окремих класів антитіл на персистуючу антигенну стимуляцію.

3. Встановлено закономірний дисбаланс у системі «перекисне окиснення ліпідів – антиоксидантний захист»: стрімке накопичення дієнових кон'югатів (максимальний приріст 282,9 %) та малонового діальдегіду (максимальний приріст 154,3 %) супроводжується компенсаторною гіперактивацією супероксиддисмутази (до 134,5 %) і каталази (до 346,2 %) на тлі критичного виснаження неферментативного пулу відновленого глутатіону (зниження на 55,9 % на 7-му добу).

4. Доведено системний характер трофічної виразки шкіри з вторинним залученням печінки, що проявляється достовірним зростанням активності АсАТ (на 57,5 %) та АлАТ (на 95,1 %) з максимумом на 14-ту добу, хронологічно збіжним із піком ендогенної інтоксикації та ліпопероксидації.

5. Місцеве застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, чинить виражений патогенетично спрямований коригувальний ефект на всі досліджені ланки патологічного процесу: достовірно знижує показник ендогенної інтоксикації (на 18,6–12,1 % порівняно з нелікованою патологією), рівень церулоплазміну (на 26,8 %), інтенсивність ліпопероксидації, забезпечує швидшу нормалізацію активності антиоксидантних ферментів і прискорене відновлення пулу відновленого глутатіону, а також практично повну нормалізацію активності печінкових трансаміназ до 28-ї доби спостереження.

6. Морфологічними дослідженнями встановлено, що трофічна виразка шкіри без лікування супроводжується тривалим збереженням альтеративно–запальних змін, неповноцінною епітелізацією та формуванням морфологічно незрілої дерми з втратою шкірних придатків, а також розвитком прогресуючих дистрофічно–деструктивних змін у печінці та нирках, що не зазнають повного морфологічного відновлення навіть на 28-му добу спостереження.

7. Застосування PRP-терапії забезпечує морфологічно верифіковане прискорене й структурно повноцінне відновлення тканинної архітектоніки шкіри (з відновленою стратифікацією епідермісу, впорядкованим колагеновим каркасом дерми та регенерацією волосяних фолікулів), а також практично повну нормалізацію гістоструктури печінки й нирок, наближену до інтактної тканини вже на 28-му добу спостереження.

8. Кореляційно–регресійний аналіз статистично підтвердив патогенетичну єдність досліджуваних систем, встановивши дуже сильні достовірні зв'язки між маркерами ліпопероксидації й антиоксидантного захисту ($r = 0,90–0,93$) та між показником ендогенної інтоксикації й активністю печінкових трансаміназ ($r = 0,86–0,90$; $p < 0,05$); розроблена

регресійна модель дозволяє прогнозувати ступінь виснаження глутатіонового резерву за рівнем малонового діальдегіду з високою точністю ($R^2 = 0,868$).

9. Отримані результати обґрунтовують доцільність застосування PRP-терапії як патогенетично спрямованого, багатоцільового методу корекції хронічного ранового процесу трофічних виразок шкіри та створюють наукове підґрунтя для подальшої клінічної апробації цього методу лікування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Alves R., Grimalt R. A Review of Platelet–Rich Plasma: History, Biology, Mechanism of Action, and Classification. *Skin Appendage Disord*. 2018. Vol. 4, No. 1. P. 18–24. DOI: https://doi.org/10.1159/000477353

2. Platelet Rich Plasma: a short overview of certain bioactive components / V. Pavlovic, M. Ciric, V. Jovanovic, P. Stojanovic. *Open Med (Wars)*. 2016. Vol. 11, no. 1. P. 242–247. DOI: https://doi.org/10.1515/med-2016-0048

3. Etulain J. Platelets in wound healing and regenerative medicine. *Platelets*. 2018. Vol. 29, No. 6. P. 556–568. DOI: https://doi.org/10.1080/09537104.2018.1430357

4. Wu W.–S., Chen L.–R., Chen K.–H. Platelet–Rich Plasma (PRP): Molecular Mechanisms, Actions and Clinical Applications in Human Body. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 26, No. 21. Art. 10804. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms262110804

5. A randomized controlled trial of effectiveness of platelet–rich plasma gel and regular dressing on wound healing time in pilonidal sinus surgery: Role of different affecting factors / S. Mohamadi, A. H. Norooznezhad, S. Mostafaei et al. *Biomed. J.* 2019. Vol. 42, No. 6. P. 403–410. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bj.2019.05.002

6. Platelet rich plasma, adipose tissue micrografts, and regenerative mimetic factors for abdominal wall defect reconstruction: Experimental study protocol / K. Zapsalis, O. Ioannidis, C. Xylas et al. *World J. Exp. Med*. 2025. Vol. 15, No. 2. Art. 99065. DOI: https://doi.org/10.5493/wjem.v15.i2.99065

7. Platelet–rich fibrin (PRF): a second–generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing / J. Choukroun, A. Diss, A. Simonpieri et al. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006. Vol. 101, No. 3. P. e56–60. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.011

8. Platelet–Rich Plasma: New Performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020 / P. Everts, K. Onishi, P. Jayaram et al. *Int. J. Mol. Sci*. 2020. Vol. 21, No. 20. Art. 7794. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms21207794

9. Golebiewska E. M., Poole A. W. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev*. 2015. Vol. 29, no. 3. P. 153–162. DOI: https://doi.org/10.1016/j.blre.2014.10.003

10. Pais N., Genrinho I., Andrade R., Espregueira–Mendes J. Platelet–Rich Plasma: From Laboratory to the Clinic. *Orthopaedic Sports Medicine* / eds: J. Espregueira–Mendes, J. Karlsson, V. Musahl, O. R. Ayeni. Cham : Springer, 2026. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-65430-6_163-1

11. Mościcka P., Przylipiak A. History of autologous platelet–rich plasma: A short review. *J Cosmet Dermatol*. 2021. Vol. 20, No. 9. P. 2712–2714. DOI: https://doi.org/10.1111/jocd.14326

12. Evaluating The Therapeutic Potential of Platelet–Rich Plasma in Enhancing Bowel Anastomotic Healing: An Experimental and Clinical Investigation in Humans / M. Dholaria, M. Kuswaha, K. Borkhataria et al. *J. Neonatal. Surg*. 2025. Vol. 14, No. 23S. P. 225–230. URL: https://www.jneonatalsurg.com/index.php/jns/article/view/5726 (дата звернення: 07.05.2026).

13. Leukocyte–and Platelet–Rich Fibrin for enhanced tissue repair: an in vitro study characterizing cellular composition, growth factor kinetics and transcriptomic insights / B. Coucke, E. Dilissen, J. Cremer et al. *Mol. Biol. Rep*. 2024. Vol. 51, No. 1. Art. 954. DOI: https://doi.org/10.1007/s11033-024-09890-y

14. Gentile P., Garcovich S. Systematic Review–The Potential Implications of Different Platelet–Rich Plasma (PRP) Concentrations in Regenerative Medicine for Tissue Repair. *Int. J. Mol. Sci*. 2020. Vol. 21, No. 16. Art. 5702. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms21165702

15. Contributions for classification of platelet rich plasma – Proposal of a new classification: MARSPILL / J. F. Lana, J. Purita, C. Paulus et al. *Regenerative Medicine*. 2017. Vol. 12, No. 5. P. 565–574. DOI: https://doi.org/10.2217/rme-2017-0042

16. Use of autologous platelet-rich plasma for a delayed consolidation of a tibial fracture in a young donkey / V. Faillace, A. M. Tambella, M. Fratini et al. *J. Vet. Med. Sci*. 2017. Vol. 79, No. 3. P. 618–622. DOI: https://doi.org/10.1292/jvms.16-0400

17. A call for a standard classification system for future biologic research: the rationale for new PRP nomenclature / K. Mautner, G. Malanga, J. Smith et al. *Am. J. Phys. Med. Rehabil*. 2015. Vol. 7, No. 4 (Suppl.). P. S53–S59. DOI: https://doi.org/10.1097/PHM.0000000000000381

18. DEPA classification: a proposal for standardizing PRP use and retrospective application of available devices / J. Magalon, A. L. Chateau, B. Bertrand et al. *BMJ Open Sport Exerc. Med*. 2016. Vol. 2, No. 1. P. 1–5. DOI: https://doi.org/10.1136/bmjsem-2015-000060

19. Crosstalk between platelets and PBMC: new evidence in wound healing / N. Nami, L. Feci, L. Napoliello et al. *Platelets*. 2016. Vol. 27, No. 2. P. 143–148. DOI: https://doi.org/10.3109/09537104.2015.1048216

20. Terlecky S. R. Peroxisomes, oxidative stress, and inflammation. *World Journal of Biological Chemistry.* 2012. No. 3. P. 93. DOI: https://doi.org/10.4331/wjbc.v3.i5.93

21. Luca L., Rogobete A. F., Bedreag O. H. Oxidative stress and antioxidant therapy in critically ill polytrauma patients with severe head injury. *Journal of Critical Care Medicine.* 2015. No. 1. P. 83–91. DOI: https://doi.org/10.1515/jccm-2015-0014

22. Roberts C. K., Sindhu K. K. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences.* 2009. Vol. 84. P. 705–712. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.02.026

23. Miller A.–F. Superoxide dismutases: ancient enzymes and new insights. *FEBS Letters.* 2012. Vol. 586. P. 585–595. DOI: https://doi.org/10.1016/j.febslet.2011.10.048

24. Papurica M., Rogobete A. F., Sandesc D. et al. Redox changes induced by general anesthesia in critically ill patients with multiple traumas. *Molecular Biology International.* 2015. Vol. 2015. P. 238586. DOI: https://doi.org/10.1155/2015/238586

25. Зачепа О. А., Гудима А. А., Сушко Ю. І. Вплив поєднаної травми живота і грудної клітки на активність процесів ліпідної пероксидації та антиоксидантного захисту в період ранніх проявів травматичної хвороби та їх корекція тіотриазоліном. *Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія*. 2019. № 4. С. 132 143. DOI: http://dx.doi.org/10.5281//zenodo.3594893.

26. Кащак Т. В., Гудима А. А. Інтенсивність процесів ліпідної пероксидації та рівень маркерів запалення в пізній період комбінованої травми в експерименті. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2018. № 4 (84). С. 62-68. DOI: https://doi.org/10.11603/24144533.2018.4.9715

27. Клінічно-епідеміологічний аналіз структури бойової хірургічної травми при проведенні антитерористичної операції/операції об'єднаних сил на Сході України / І. П. Хоменко, С. О. Король, С. В. Халік та ін. *Український журнал військової медицини*. 2021. Т. 2, № 2. С. 513. DOI: https://doi.org/10.46847/ujmm.2021.2(2)-005

28. Ковальов В. В. Динаміка активності супероксиддисмутази кіркового і мозкового шару нирок та рівень низькомолекулярних пептидів за умов скелетної травми різної тяжкості, ускладненої крововтратою. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2018. № 4. С. 56–61. DOI: https://doi.org/10.11603/2414-4533.2018.4.9714

29. Ковальов В. В. Масометрична характеристика та антиоксидантнопрооксидантний баланс тканини нирок в умовах механічної травми різного ступеня тяжкості. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2012. № 2. С. 182. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zkem_2012_2_74 (дата звернення: 13.08.2026).

30. Advances in Rodent Experimental Models of Sepsis / L. Cai, E. Rodgers, N. Schoenmann, R. P. Raju. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, No. 11. Art. 9578. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms24119578

31. Experimental Abdominal Sepsis: Sticking to an Awkward but Still Useful Translational Model / F. Murando, A. Peloso, L. Cobianchi et al. *Mediators of Inflammation*. 2019. Vol. 2019. Art. 8971036. DOI: https://doi.org/10.1155/2019/8971036

32. Platelet-rich plasma improves impaired glucose hemostasis, disrupted insulin secretion, and pancreatic oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat / M. Zarin, N. Karbalaei, S. Keshtgar, M. Nemati. *Growth Factors*. 2019. Vol. 37, No. 5–6. P. 226-237. DOI: https://doi.org/10.1080/08977194.2020.1735382

33. Rat Model of Cecal Ligation and Puncture versus Colon Ascendens Stent Peritonitis: Comparative Study for Oxidative Stress / L. Chen, D. Cao, E. Liu et al. *Advances in Infectious Diseases*. 2017. Vol. 7. P. 80-92. DOI: https://doi.org/10.4236/aid.2017.73009

34. Platelet–rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors / P. R. Amable, R. B. Carias, M. V. Teixeira et al. *Stem Cell Research & Therapy*. 2013. Vol. 4, No. 3. Art. 67. DOI: https://doi.org/10.1186/scrt218

35. Dickson K., Lehmann C. Inflammatory Response to Different Toxins in Experimental Sepsis Models. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20, No. 18. Art. 4341. DOI: https://doi.org/10.3390/ijms20184341

36. Galley H. F. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *British Journal of Anaesthesia*. 2011. Vol. 107, No. 1. P. 57–64. DOI: https://doi.org/10.1093/bja/aer093

37. Optimizing Platelet–Rich Plasma: Spin Time and Sample Source / T. E. Harrison, J. Bowler, C. I. Cheng, K. D. Reeves. *Bioengineering*. 2023. Vol. 10, No. 11. Art. 1270. DOI: https://doi.org/10.3390/bioengineering10111270

38. Максименко О. С., Гринь В. Г. Великий чепець білих щурів: структурно-функціональна характеристика та його роль при перитоніті. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2023. Т. 8, № 1. С. 22–29. DOI: https://doi.org/10.26693/jmbs08.01.022

39. Дзюбановський І. Я., Ковальчук А. О., Дзюбановський О. І. Етапність морфологічних змін органів-мішеней при експериментально-змодельованому гострому перитоніті. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2023. Т. 22, № 3. С. 64–70. DOI: https://doi.org/10.24061/1727-0847.22.3.2023.31

40. Degloving injuries with versus without underlying fracture in a sub-Saharan African tertiary hospital: a prospective observational study / H. M. Lekuya, R. Alenyo, I. Kajja et al. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2018. Vol. 13, No. 1. Art. 2. DOI: https://doi.org/10.1186/s13018-017-0706-9

41. Patterns and management of degloving injuries: a single national level 1 trauma center experience / S. Hakim, K. Ahmed, A. El–Menyar et al. *World Journal of Emergency Surgery*. 2016. Vol. 11. P. 35. DOI: https://doi.org/10.1186/s13017-016-0093-2

42. Wójcicki P., Wojtkiewicz W., Drozdowski P. Severe lower extremities degloving injuries-medical problems and treatment results. *Polski Przeglad Chirurgiczny*. 2011. Vol. 83, no. 5. P. 276–282. DOI: https://doi.org/10.2478/v10035-011-0043-3

43. The management of degloving injury of lower extremities: technical refinement and classification / H. Yan, W. Gao, Z. Li et al. *Journal of Trauma and*

Acute Care Surgery. 2013. Vol. 74, No. 2. P. 604–610. DOI: https://doi.org/10.1097/TA.0b013e31827d5e13

44. The therapeutic challenges of degloving soft–tissue injuries / R. Latifi, H. El–Hennawy, A. El–Menyar et al. *Journal of Emergencies, Trauma, and Shock*. 2014. Vol. 7, No. 3. P. 228–232. DOI: https://doi.org/10.4103/0974-2700.136870

45. Effects and mechanism of allogeneic platelet rich plasma on collagen synthesis in wound healing] / F. C. Chen, M. C. Chen, T. T. Yan et al. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2017. Vol. 55, No. 4. P. 303–307. DOI: https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2017.04.013

46. Vladulescu D, Scurtu LG, Simionescu AA, Scurtu F, Popescu MI, Simionescu O. Platelet-Rich Plasma (PRP) in Dermatology: Cellular and Molecular Mechanisms of Action. *Biomedicines*. 2023. Vol. 12, No. 1. Art. 7. DOI: https://doi.org/10.3390/biomedicines12010007

47. Platelet secretory behaviour: As diverse as the granules… or not? / H. Heijnen, P. van der Sluijs. *J. Thromb. Haemost*. 2015. Vol. 13, No. 12. P. 2141–2151. DOI: https://doi.org/10.1111/jth.13147

48. STEM tomography reveals that the canalicular system and α-granules remain separate compartments during early secretion stages in blood platelets / I. D. Pokrovskaya, M. A. Aronova, J. A. Kamykowski et al. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2016. Vol. 14, No. 3. P. 572–584. DOI: https://doi.org/10.1111/jth.13225

49. Quantitative super–resolution imaging of platelet degranulation reveals differential release of von Willebrand factor and von Willebrand factor propeptide from alpha–granules / M. Swinkels, S. Hordijk, P. E. Bürgisser et al. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2023. Vol. 21, No. 7. P. 1967–1980. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jtha.2023.03.041

50. Kinesin–1 Is a New Actor Involved in Platelet Secretion and Thrombus Stability / F. Adam, A. Kauskot, M. Kurowska et al. *Arteriosclerosis, Thrombosis,*

and Vascular Biology. 2018. Vol. 38, No. 5. P. 1037–1051. DOI: https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.310373

51. Munc13-4 is a limiting factor in the pathway required for platelet granule release and hemostasis / Q. Ren, C. Wimmer, M. C. Chicka et al. *Blood*. 2010. Vol. 116, No. 6. P. 869–877. DOI: https://doi.org/10.1182/blood-2010-02-270934

52. Impact of the serum- and glucocorticoid-inducible kinase 1 on platelet dense granule biogenesis and secretion / B. Walker, E. Schmid, A. Russo et al. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2015. Vol. 13, No. 7. P. 1325–1334. DOI: https://doi.org/10.1111/jth.12998

53. Quantal regulation and exocytosis of platelet dense–body granules / S. Ge, E. Woo, C. L. Haynes. *Biophysical Journal*. 2011. Vol. 101, No. 10. P. 2351–2359. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.10.001

54. Relationship between calcium mobilization and platelet α- and δ-granule secretion. A role for TRPC6 in thrombin-evoked δ-granule exocytosis / E. Lopez, N. Bermejo, A. Berna-Erro et al. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2015. Vol. 585. P. 75–81. DOI: https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.09.012

55. Respective contributions of single and compound granule fusion to secretion by activated platelets / A. Eckly, J. Y. Rinckel, F. Proamer et al. *Blood*. 2016. Vol. 128, No. 21. P. 2538–2549. DOI: https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-705681

56. Smith C. Release of α-granule contents during platelet activation. *Platelets*. 2022. Vol. 33, No. 4. P. 491–502. DOI: https://doi.org/10.1080/09537104.2021.1913576

57. Використання плазми, збагаченої тромбоцитами, в хірургічній практиці / Г. Іванова, М. Кравців, М. Дудченко та ін. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2025. Т. 25, Вип. 2. С. 238–243. DOI: https://doi.org/10.31718/2077-1096.25.2.238

58. Systematic reviews of wound care management: (5) beds; (6) compression; (7) laser therapy, therapeutic ultrasound, electrotherapy and electromagnetic therapy / N. Cullum, E. A. Nelson, K. Flemming, T. Sheldon. *Health Technology Assessment*. 2001. Vol. 5, No. 9. P. 1–221. DOI: https://doi.org/10.3310/hta5090

59. Смаглій З. В., Галникіна С. О. Динаміка показників цитолітичного синдрому під впливом скелетної травми в поєднанні з гострою крововтратою, ушкодженням шкіри та ефективність PRP-терапії. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Т. 23, № 4. С. 75–81. DOI: https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2021.i4.12741

60. Тарабрін О. О., Іванова В. О. Сучасні аспекти патофізіології та гемостатичних порушень у хворих на політравму / *Медицина невідкладних станів*. 2018. Т. 91, № 4. С. 32–35. DOI: https://doi.org/10.22141/2224-0586.4.91.2018.137853

61. Prévalence et prise en charge des plaies chroniques dans 14 établissements gériatriques du Haut-Rhin [Prevalence and management of chronic wounds in 14 geriatric institutions of the Haut-Rhin] / J. Caron-Mazet, B. Roth, J. C. Guillaume. *Annales de Dermatologie et de Vénéréologie*. 2007. Vol. 134, No. 8–9. P. 645–651. DOI: https://doi.org/10.1016/s0151-9638(07)91825-6

62. Support surfaces for pressure ulcer prevention / E. McInnes, A. Jammali-Blasi, S. E. Bell-Syer et al. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2011. No. 4. Art. CD001735. DOI: https://doi.org/10.1002/14651858.CD001735.pub4

63. Mosti G. Wound care in venous ulcers. *Phlebology*. 2013. Vol. 28, No. Suppl 1. P. 79–85. DOI: https://doi.org/10.1177/0268355513477015

64. The application of platelet–rich plasma for skin graft enrichment: A meta-analysis / J. Chen, Y. Wan, Y. Lin, H. Jiang. *International Wound Journal*. 2020. Vol. 17, No. 6. P. 1650–1658. DOI: https://doi.org/10.1111/iwj.13445

65. Pushkar O. S., Myroshnychenko M. S., Koliada O. M. Features of apoptotic and proliferative processes in experimental infected radiation-induced skin ulcer under conditions of photodynamic therapy and the use of platelet-rich plasma. *Pol. Merkur. Lekarski*. 2024. Vol. 52, No. 1. P. 54–59. DOI: https://doi.org/10.36740/Merkur202401109

66. The effect of photodynamic therapy and platelet-enriched plasma on the healing of skin radiation ulcers infected by Staphylococcus aureus / M. V. Krasnoselsky, O. S. Pushkar, L. I. Simonova, M. S. Myroshnychenko. *Problemy Radiatsionnoi Meditsiny i Radiobiologii*. 2020. Vol. 25. P. 338–352. DOI: https://doi.org/10.33145/2304-8336-2020-25-338-352

67. Tissue immune cells and their role in the healing process of infected radiation ulcers under the impact of photodynamic therapy (experimental study) / M. V. Krasnoselsky, L. I. Simonova, V. Z. Gertman et al. *Problemy Radiatsionnoi Meditsiny i Radiobiologii*. 2019. Vol. 24. P. 250–260. DOI: https://doi.org/10.33145/2304-8336-2019-24-250-260

68. Nitric oxide metabolism features under conditions of experimental infected radiation-induced skin injuries development and their treatment with photodynamic therapy / M. V. Krasnoselskyi, E. S. Pushkar, L. I. Simonova-Pushkar, M. S. Myroshnychenko. *Wiadomości Lekarskie*. 2020. Vol. 73, No. 8. P. 1655–1658.

69. Photodynamic therapy effect on healing of radiation skin ulcer infected with pseudomonas aeruginosa / N. V. Krasnoselskiy, L. I. Simonova, V. Z. Gertman, E. S. Pushkar. *Problemy Radiatsionnoi Meditsiny i Radiobiologii*. 2017. Vol. 22. P. 202–207.

70. Morphological features of a cold skin wound under the influence of an extract of cryopreserved skin fragments of piglets (experimental study) / O. O. Vlasov, G. O. Kovalov, M. S. Myroshnychenko. *Wiadomości Lekarskie*. 2020. Vol. 73, No. 2. P. 306–311.

71. Morphological efficacy evaluation of gel with carbon dioxide extract of hops in case of complicated wound infection acne vulgaris / T. M. Moiseienko, I. I. Torianyk, G. Y. Khrystian et al. *Wiadomości Lekarskie*. 2021. Vol. 74, No. 1. P. 112–117.

72. Antiseptic effect of compound lysostaphin disinfectant and its preventive effect on infection of artificial dermis after graft on full-thickness skin defect wound in rats / J. Jin, H. Zhou, Z. C. Cui et al. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2018. Vol. 34, No. 4. P. 225–232. DOI: https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2018.04.007

73. Vlasov O. O., Kovalov G. O., Myroshnychenko M. S. Morphological assessment of wound healing after cryodestruction of skin using an aqueous colloidal solution of C60 fullerenes. *Wiadomości Lekarskie*. 2020. Vol. 73, No. 4. P. 642–647.

74. Properties of gelatin-polyethylene glycol hydrogel loaded with silver nanoparticle Chlorella and its effects on healing of infected full-thickness skin defect wounds in mice / Z. Z. Yan, Y. X. Wang, T. L. Zhang et al. *Zhonghua Shao Shang Yu Chuang Mian Xiu Fu Za Zhi*. 2024. Vol. 40, No. 1. P. 33–42. DOI: https://doi.org/10.3760/cma.j.cn501225-20231020-00126

75. Adipose-derived Stem Cells Added to Platelet-rich Plasma for Chronic Skin Ulcer Therapy / E. Raposio, N. Bertozzi, S. Bonomini et al. *Wounds*. 2016. Vol. 28, No. 4. P. 126–131.

76. Role of adipose-derived stem cells in chronic cutaneous wound healing / G. Caruana, N. Bertozzi, E. Boschi et al. *Annali Italiani di Chirurgia*. 2015. Vol. 86, No. 1. P. 1–4.

77. Platelet-rich plasma combined with skin substitute for chronic wound healing: a case report / R. L. Knox, A. R. Hunt, J. C. Collins et al. *The Journal of Extra-Corporeal Technology*. 2006. Vol. 38, No. 3. P. 260–264.

78. Application of platelet-rich plasma accelerates the wound healing process in acute and chronic ulcers through rapid migration and upregulation of

cyclin A and CDK4 in HaCaT cells / S. A. Kim, H. W. Ryu, K. S. Lee, J. W. Cho. *Molecular Medicine Reports*. 2013. Vol. 7, No. 2. P. 476–480. DOI: https://doi.org/10.3892/mmr.2012.1230

79. Allogeneic Platelet–Rich Plasma Therapy as an Effective and Safe Adjuvant Method for Chronic Wounds / X. Liao, J. X. Liang, S. H. Li et al. *Journal of Surgical Research*. 2020. Vol. 246. P. 284–291. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jss.2019.09.019

80. Platelet rich plasma hydrogels promote in vitro and in vivo angiogenic potential of adipose0-derived stem cells / M. Samberg, R. Stone 2nd, S. Natesan et al. *Acta Biomaterialia*. 2019. Vol. 87. P. 76–87. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.01.039

81. Development of a porcine delayed wound-healing model and its use in testing a novel cell-based therapy / I. Hadad, B. H. Johnstone, J. G. Brabham et al. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 2010. Vol. 78, No. 3. P. 888–896. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.05.002

82. Platelet-rich plasma stimulates dermal microvascular endothelial cells and adipose derived stem cells after external radiation / F. Haubner, D. Muschter, N. Schuster et al. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2015. Vol. 61, No. 2. P. 279–290. DOI: https://doi.org/10.3233/CH-151982

83. Exploratory clinical trial of combination wound therapy with a gelatin sheet and platelet-rich plasma in patients with chronic skin ulcers: study protocol / N. Morimoto, N. Kakudo, M. Matsui et al. *BMJ Open*. 2015. Vol. 5, No. 5. art. e007733. DOI: https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-007733

84. Al-Kun O., Boudina S. Cardiac dysfunction and oxidative stress in the metabolic syndrome: An update on antioxidant therapies. *Current Pharmaceutical Design.* 2013. Vol. 19, No. 27. P. 4806–4817. https://doi.org/10.2174/1381612811319270003

85. Ellagic acid affects metabolic and transcriptomic profiles and attenuates features of metabolic syndrome in adult male rats / A. Kábelová, H. Malínská,

I. Marková et al. *Nutrients*. 2021. Vol. 13, No.3. P. 804. https://doi.org/10.3390/nu13030804

86. Exploring molecular insights of cereal peptidic antioxidants in metabolic syndrome prevention / F. K. Ofosu, D. F. Mensah, E. B. M. Daliri, D. H. Oh. *Antioxidants*. 2021. Vol. 10, No. 4. P. 518. https://doi.org/10.3390/antiox10040518

87. Changes of pro- and antioxidant indicators in experimental animals under acute small bowel obstruction / S. R. Pidruchna, V. V. Benedyk, V. I. Piatnochka et al. *Journal of Medicine and Life*. 2021. Vol. 14, No. 1. P. 32–36. https://doi.org/10.25122/jml-2020-0066

88. Influence of PRP on morphological changes in muscle in the early period after traumatic muscle injury in the experiment / V. Dzhyvak, I. Klishch, T. Datsko, O. Khlibovska. *Journal of Education, Health and Sport.* 2020. Vol. 10, No. 6. P. 171–178. http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2020.10.06.019

89. Effect of a resveratrol/quercetin mixture on the reversion of hypertension induced by a short-term exposure to high sucrose levels near weaning and a long-term exposure that leads to metabolic syndrome in rats / V. Castrejón-Téllez, M. Villegas-Romero, M. E. Rubio-Ruiz et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, No. 6. P. 2231. https://doi.org/10.3390/ijms21062231

90. Dynamics of indicators of cellular immunity in conditions of acute generalized peritonitis in rats / S. R. Pidruchna, N. A. Melnyk, O. Mochulska et al. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2019. Vol. 9, No. 6. P. 4663–4666. https://doi.org/10.33263/BRIAC96.663666

91. Farhangi M. A. Dietary total antioxidant capacity significantly interacts with VEGF +405 G/C (rs2010963) gene polymorphisms in terms of cardio-metabolic risk factors in patients with metabolic syndrome. *BMC Research Notes*. 2020. Vol. 13. P. 145. https://doi.org/10.1186/s13104-020-04993-8

92. Applications and efficacy of platelet-rich plasma in dermatology: A clinical review / M. Zhang, G. Park, B. Zhou et al. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2018. Vol. 17, No. 5. P. 660–665. DOI: https://doi.org/10.1111/jocd.12673

93. Faezeh N., Seyedeh Missagh J., Javad J., Anahita R. Comparative Effects of Platelet-Rich Plasma and Erythropoietin on Oxidant/Antioxidant Balance in Diabetic Rats. *Arch Razi Inst.* 2025. Vol. 80, No. 2. P. 503–508. DOI: https://doi.org/10.32592/ARI.2025.80.2.503

94. New Approach to Monitoring and Evaluation of Cecal Ligation and Puncture Sepsis Model / A. Khosrojerdi, S. Soudi, A. Zavaran Hosseini, S. M. A. Hashemi. *Immunoregulation*. 2020. Vol. 3, No. 2. P. 97–106. DOI: https://doi.org/10.32598/Immunoregulation.3.2.1

95. Drug-induced skin ulcer: real-world pharmacovigilance analysis based on the FDA adverse event reporting system / Q. Jin, J. Fang, F. Ren et al. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2026. Vol. 25, No. 5. P. 863–872. DOI: https://doi.org/10.1080/14740338.2025.2468854

96. The role of platelet-rich plasma in biomedicine: A comprehensive overview / Z. Zhang, P. Liu, X. Xue et al. *iScience*. 2025. Vol. 28, No. 2. Art. 111705. DOI: https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.111705

97. Optimized centrifugation preparation of the platelet rich plasma: Literature review / B. Croisé, A. Paré, A. Joly et al. *Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery*. 2020. Vol. 121, No. 2. P. 150–154. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jormas.2019.07.001

98. PRP and its benefit as an adjunctive therapy with subcision and microneedling in atrophic scars: a comparative study / A. Vashisht, A. Krishna, R. Chugh et al. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*. 2024. Vol. 17, No. 2. P. 137–145. DOI: https://doi.org/10.4103/JCAS.JCAS_64_23

99. Which is more effective in atrophic acne scars treatment microneedling alone or platelet rich plasma alone or combined both therapeutic modalities? /

S. A. Ismail, N. A. H. Khella, D. A. E. Abou-Taleb. *Dermatologic Therapy*. 2022. Vol. 35, No. 12. Art. e15925. DOI: https://doi.org/10.1111/dth.15925

100. Potential impact of cerium dioxide nanoparticles (nanoceria) on the concentration of C-reactive protein and middle-mass molecules after wound treatment in rats / A. Amiri, N. Nikitina, L. Stepanova, T. Beregova. *ScienceRise: Biological Science*. 2019. No. 1 (16). P. 14–19. DOI: https://doi.org/10.15587/2519-8025.2019.159010

101. Hotchkiss R. S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 2013. Vol. 13, No. 12. P. 862–874. DOI: https://doi.org/10.1038/nri3552

102. Venet F., Monneret G. Advances in the understanding and treatment of sepsis-induced immunosuppression. *Nature Reviews Nephrology*. 2018. Vol. 14, No. 1. P. 121–137. DOI: https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.165

103. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2018. Vol. 18, No. 2. P. 134–147. DOI: https://doi.org/10.1038/nri.2017.105

104. From imbalance to impairment: the central role of reactive oxygen species in oxidative stress-induced disorders and therapeutic exploration / S. Afzal, A. S. Abdul Manap, A. Attiq et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2023. Vol. 14. Art. 1269581. DOI: https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1269581

105. Ighodaro O. M., Akinloye O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 2018. Vol. 54, No. 4. P. 287–293. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001

106. The Impact of Oxidative Stress in Human Pathology: Focus on Gastrointestinal Disorders / R. Vona, L. Pallotta, M. Cappelletti et al. *Antioxidants*. 2021. Vol. 10, No. 2. Art. 201. DOI: https://doi.org/10.3390/antiox10020201

107. Hadwan M. H. Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues. *BMC Biochemistry*. 2018. Vol. 19. Art. 7. DOI: https://doi.org/10.1186/s12858-018-0097-5

108. Sunderman F. W., Nomoto S. Measurement of human serum ceruloplasmin by its p-phenylenediamine oxidase activity. *Clinical Chemistry*. 1970. Vol. 16, No. 11. P. 903–910. DOI: https://doi.org/10.1093/clinchem/16.11.903

109. Rahman I., Kode A., Biswas S. C. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. *Nature Protocols*. 2006. Vol. 1. P. 3159–3165. DOI: https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378

110. Reitman S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*. 1957. Vol. 28, No. 1. P. 56–63. DOI: https://doi.org/10.1093/ajcp/28.1.56

111. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies / A. Cossarizza, H. D. Chang, A. Radbruch et al. *European Journal of Immunology*. 2019. Vol. 49. P. 1457–1973. DOI: https://doi.org/10.1002/eji.201970107

112. The effectiveness of intralesional injection of platelet-rich plasma in accelerating the healing of chronic ulcers: an experimental and clinical study / D. Dionyssiou, E. Demiri, P. Foroglou et al. *International Wound Journal*. 2013. Vol. 10, No. 4. P. 397–406. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2012.00996.x

113. Effectiveness of autologous platelet-rich plasma gel in the treatment of hard-to-heal leg ulcers: a randomised control trial / D. Rainys, A. Cepas, K. Dambrauskaite et al. *Journal of Wound Care*. 2019. Vol. 28, No. 10. P. 658–667. DOI: https://doi.org/10.12968/jowc.2019.28.10.658

114. Autologous platelet rich plasma in the management of non-healing vasculitic ulcers / S. Sriram, R. Sankaralingam, M. Mani, T. N. Tamilselvam.

International Journal of Rheumatic Diseases. 2016. Vol. 19, No. 12. P. 1331–1336. DOI: https://doi.org/10.1111/1756-185X.12914

115. Effect of autologous platelet-rich plasma application on cutaneous wound healing in dogs / C. H. Jee, N. Y. Eom, H. M. Jang et al. *Journal of Veterinary Science*. 2016. Vol. 17, No. 1. P. 79–87. DOI: https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.1.79

116. Autologous Platelet-Rich Plasma Reduces Healing Time of Chronic Venous Leg Ulcers: A Prospective Observational Study / T. Miłek, Ł. Nagraba, T. Mitek et al. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2019. Vol. 1176. P. 109–117. DOI: https://doi.org/10.1007/5584_2019_388

117. Successful Treatment of Chronic Lower Extremity Ulcers with Allogeneic Platelet-Rich Plasma and Artificial Dermis: A Case Report / Q. Zhao, Y. Ma, Y. Lu et al. *Advances in Skin & Wound Care*. 2019. Vol. 32, No. 12. P. 550–552. DOI: https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000604176.47082.60

118. The Use of Platelet-Rich Plasma and Rosuvastatin in Wound Healing in Rabbits: A Longitudinal Study / A. F. Tetila, M. R. S. Breda, R. M. B. Nogueira et al. *Advances in Skin & Wound Care*. 2019. Vol. 32, No. 9. P. 1–5. DOI: https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000577136.88748.68

119. Autologous platelet-rich plasma for treatment of venous leg ulcers: a prospective controlled study / D. Etugov, V. Mateeva, G. Mateev. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. 2018. Vol. 32, No. 3. P. 593–597.

120. Neuropathic ulcers in leprosy treated with intralesional platelet-rich plasma / E. Conde-Montero, C. Horcajada-Reales, P. Clavo et al. *International Wound Journal*. 2016. Vol. 13, No. 5. P. 726–728. DOI: https://doi.org/10.1111/iwj.12359

121. The "biological chamber" method – use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in the treatment of poorly healing lower-leg ulcers of venous origin / D. Waniczek, W. Mikusek, T. Kamiński et al. *Polski Przegląd Chirurgiczny*. 2015. Vol. 87, No. 6. P. 283–289. DOI: https://doi.org/10.1515/pjs-2015-0055

122. Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds / M. J. Martinez-Zapata, A. J. Martí-Carvajal, I. Solà et al. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2012. Vol. 10. art. CD006899. DOI: https://doi.org/10.1002/14651858.CD006899.pub2

123. Effect of topical application of platelet-rich plasma on chronic venous leg ulcerations / S. Bossart, S. M. Seyed Jafari, M. Lehmann et al. *Dermatologic Therapy*. 2022. Vol. 35, No. 2. art. e15236. DOI: https://doi.org/10.1111/dth.15236

124. Role of platelet-rich plasma in healing diabetic foot ulcers: a prospective study / S. Sp. Singh, V. Kumar, A. Pandey et al. *Journal of Wound Care*. 2018. Vol. 27, No. 9. P. 550–556. DOI: https://doi.org/10.12968/jowc.2018.27.9.550

125. Application of platelet-rich plasma in the treatment of chronic skin ulcer – case report / J. M. Pinto, N. S. Pizani, H. C. Kang, L. A. Silva. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2014. Vol. 89, No. 4. P. 638–640. DOI: https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20143004

126. Autologous platelet-rich plasma versus conventional therapy for the treatment of chronic venous leg ulcers: A comparative study / H. A. Moneib, S. S. Youssef, D. G. Aly et al. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2018. Vol. 17, No. 3. P. 495–501. DOI: https://doi.org/10.1111/jocd.12401

127. Hoffmann G. Improvement of wound healing in chronic ulcers by hyperbaric oxygenation and by waterfiltered ultrared A induced localized hyperthermia. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1994. Vol. 345. P. 181–188. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2468-7_24

128. Effect of a single versus serial platelet-rich plasma injection on the healing of acute patellar tendon defect: an experimental study / M. T. Ghaderi, O. R. Momenzadeh, F. M. Jaberi et al. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2024. Vol. 25, No. 1. art. 684. DOI: https://doi.org/10.1186/s12891-024-07804-4

129. Objective assessment of Platelet-Rich Plasma (PRP) potentiality in the treatment of Chronic leg Ulcer: RCT on 80 patients with Venous ulcer / Y. Helmy,

N. Farouk, A. Ali Dahy et al. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2021. Vol. 20, No. 10. P. 3257–3263. DOI: https://doi.org/10.1111/jocd.14138

130. Effects of autologous platelet-rich plasma in the repair of soft tissue defects of rabbits with free flap / Y. Li, J. S. Zheng, B. Wang, W. J. Xue. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2019. Vol. 35, No. 9. P. 683–689. DOI: https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2019.09.007

131. Platelet-Rich Plasma (PRP) in Reproductive Medicine: A Critical Review of PRP Therapy in Low-Reserve and Premature Ovarian Insufficiency / E. Moustakli, A. Potiris, A. Zikopoulos et al. *Biomedicines*. 2025. Vol. 13, No. 5. art. 1257. DOI: https://doi.org/10.3390/biomedicines13051257

132. Intraosseous platelet-rich plasma for osteoarthritis: a comprehensive review / L. García Bordes, R. Seijas Vázquez, P. Álvarez Díaz et al. *EFORT Open Reviews*. 2026. Vol. 11, No. 6. P. 512–523. DOI: https://doi.org/10.1530/EOR-2025-0137

133. Stem Cells and Platelet-Rich Plasma Enhance the Healing Process of Tendinitis in Mice / R. A. Fedato, J. C. Francisco, G. Sliva et al. *Stem Cells International*. 2019. Vol. 2019. art. 1497898. DOI: https://doi.org/10.1155/2019/1497898

134. Rationale, secondary outcome scores and 1-year follow-up of a randomised trial of platelet-rich plasma injections in acute hamstring muscle injury: the Dutch Hamstring Injection Therapy study / G. Reurink, G. J. Goudswaard, M. H. Moen et al. *British Journal of Sports Medicine*. 2015. Vol. 49, No. 18. P. 1206–1212. DOI: https://doi.org/10.1136/bjsports-2014-094250

135. Autologous Immune Cell-Based Regenerative Therapies to Treat Vasculogenic Erectile Dysfunction: Is the Immuno-Centric Revolution Ready for the Prime Time? / M. Bonanni, L. Rehak, G. Massaro et al. *Biomedicines*. 2022. Vol. 10, No. 5. art. 1091. DOI: https://doi.org/10.3390/biomedicines10051091

136. New fat-derived products for treating skin-induced lesions of scleroderma in nude mice / N. Serratrice, L. Bruzzese, J. Magalon et al. *Stem Cell*

Research & Therapy. 2014. Vol. 5, No. 6. Art. 138. DOI: https://doi.org/10.1186/scrt528

137. Rationale and pre-clinical evidences for the use of autologous cartilage micrografts in cartilage repair / M. Viganò, I. Tessaro, L. Trovato et al. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2018. Vol. 13, No. 1. art. 279. DOI: https://doi.org/10.1186/s13018-018-0983-y

138. Відкрита "офісна флебологія" первинного хронічного захворювання вен нижніх кінцівок / В. М. Антонюк-Кисіль, І. Я. Дзюбановський, Є. Ф. Кучерук та ін. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2021. № 3. С. 90–94. DOI: https://doi.org/10.11603/2414-4533.2021.3.12545

139. Порівняльна оцінка ендовенозних та гемодинамічних методів корекції хронічної венозної недостатності / І. Я. Дзюбановський, В. М. Антонюк-Кисіль, Є. Ф. Кучерук та ін. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2021. № 4. С. 10–15. DOI: https://doi.org/10.11603/2414-4533.2021.4.12710

140. Вплив ультразвукового дебрідменту в поєднанні з ін'єкціями плазми, збагаченої тромбоцитами, на рановий процес в експерименті / М. Ю. Кріцак, Ю. М. Футуйма, Н. А. Аль Джехані, М. О. Ониськів. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2023. № 1. С. 38–44. DOI: https://doi.org/10.11603/2414-4533.2023.1.13810

141. Аналіз показників планіметрії рани при використанні різних методів впливу на рановий процес в експерименті / М. Ю. Кріцак, Н. А. Аль Джехані, І. Я. Дзюбановський, Ю. М. Футуйма. *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2023. № 2. С. 43–48. DOI: https://doi.org/10.11603/2414-4533.2023.2.13992

142. Кількісний морфологічний аналіз особливостей ремоделювання венозного русла нижньої кінцівки при експериментальних ранах / М. С. Гнатюк, М. Ю. Кріцак, Н. А. Аль Джехані. *Здобутки клінічної і*

експериментальної медицини. 2023. № 1. С. 78–82. DOI: https://doi.org/10.11603/1811-2471.2023.v.i1.13722

143. Наіф Абдулела М. Аль Джехані. Особливості морфології хронічних ран за умови використання різних методик впливу на рановий процес. *Перспективи та інновації науки*. 2024. № 2 (36). С. 953–963. DOI: https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-2(36)-953-962

144. Challenges in Healing Wound: Role of Complementary and Alternative Medicine / P. Monika, M. N. Chandraprabha, A. Rangarajan et al. *Frontiers in Nutrition*. 2022. Vol. 8. Art. 791899. DOI: https://doi.org/10.3389/fnut.2021.791899

145. Platelet-rich plasma accelerates skin wound healing by promoting re-epithelialization / P. Xu, Y. Wu, L. Zhou et al. *Burns & Trauma*. 2020. Vol. 8. Art. tkaa028. DOI: https://doi.org/10.1093/burnst/tkaa028

146. Wound Healing: In Vitro and In Vivo Evaluation of a Bio-Functionalized Scaffold Based on Hyaluronic Acid and Platelet-Rich Plasma in Chronic Ulcers / B. De Angelis, M. F. L. M. D'Autilio, F. Orlandi et al. *Journal of Clinical Medicine*. 2019. Vol. 8, No. 9. Art. 1486. DOI: https://doi.org/10.3390/jcm8091486

147. The application of platelet-rich plasma for skin graft enrichment: A meta-analysis / J. Chen, Y. Wan, Y. Lin, H. Jiang. *International Wound Journal*. 2020. Vol. 17, No. 6. P. 1650–1658. DOI: https://doi.org/10.1111/iwj.13445

148. Chronic venous ulcers: a review on treatment with fibrin sealant and prognostic advances using proteomic strategies / L. P. F. Abbade, R. S. Ferreira Jr, L. D. Dos Santos, B. Barraviera. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*. 2020. Vol. 26. art. e20190101. DOI: https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2019-0101

149. Effectiveness of negative pressure wound therapy on chronic wound healing: A systematic review and meta-analysis / A. Burhan, N. B. A. Khusein,

S. M. Sebayang. *Belitung Nursing Journal*. 2022. Vol. 8, No. 6. P. 470–480. DOI: https://doi.org/10.33546/bnj.2220

150. Negative pressure wound therapy for burn patients: A meta-analysis and systematic review / D. Z. Lin, Y. C. Kao, C. Chen et al. *International Wound Journal*. 2021. Vol. 18, No. 1. P. 112–123. DOI: https://doi.org/10.1111/iwj.13500

151. Efficacy and safety of small extracellular vesicle interventions in wound healing and skin regeneration: A systematic review and meta-analysis of animal studies / M. E. Al-Masawa, M. A. Alshawsh, C. Y. Ng et al. *Theranostics*. 2022. Vol. 12, No. 15. P. 6455–6508. DOI: https://doi.org/10.7150/thno.73436

152. The role of allogeneic platelet-rich plasma in patients with diabetic foot ulcer: Current perspectives and future challenges / M. He, T. Chen, Y. Lv et al. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. Art. 993436. DOI: https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.993436

153. Naves C. C. The Diabetic Foot: A Historical Overview and Gaps in Current Treatment. *Advances in Wound Care*. 2016. Vol. 5, No. 5. P. 191–197. DOI: https://doi.org/10.1089/wound.2013.0518

154. Дживак В. Г., Кліщ І. М. Вплив збагаченої тромбоцитами плазми крові на стан системи протеїнази/інгібітори протеїназ при травматичному ураженні м'язів. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини.* 2020. № 3. С. 72–79. DOI: https://doi.org/10.11603/1811-2471.2020.v.i3.11585

155. Примаченко Т. В., Гудима А. А. Роль пошкодження шкіри у розвитку оксидаційного стресу в нирках за умов поєднаної травми та ефективність застосування PRP-терапії. *Медична та клінічна хімія*. 2024. Т. 26, № 2. С. 47– 55. DOI: 10.11603/mcch.2410681X.2024.i2.14767 2.

156. Примаченко Т. В., Гудима А. А. Вплив пошкодження шкіри на діурез та фільтраційну функцію нирок за умов поєднаної травми та ефективність PRP-терапії. *Шпитальна Хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. 2024. № 2. С. 80–87. DOI: 10.11603/24144533.2024.2.14850.

157. Примаченко Т. В., Гудима А. А. Вплив механічного пошкодження шкірних покривів на порушення канальцевої реабсорбції за умов скелетної травми та ефективність корекції збагаченою тромбоцитами аллогенною плазмою. *Перспективи та інновації науки*. 2024. № 7 (41). С. 1143–1156. DOI: https://doi.org/10.52058/2786495220247(41)11431156.

158. Райкевич В. В., Кліщ І. М. Імуноморфологічні особливості перебігу експериментальної трофічної виразки при застосуванні плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP). *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2026. Т. 25, № 2. С. 81–86. DOI: https://doi.org/10.24061/1727-0847.25.2.2026.22

159. Райкевич В. В., Кліщ І. М. Динаміка показників ендогенної інтоксикації, антиоксидантної та імунної системи при модельованій трофічній виразці у щурів. *Медична та клінічна хімія*. 2026. № 1. С. 106–114. DOI: https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2026.i1.16021

160. Райкевич В. В., Кліщ І. М. Морфологічна оцінка дезінтеграції гістоархітектоніки шкіри при трофічних виразках. *Перспективи та інновації науки*. 2026. № 3 (61). С. 2626–2641. DOI: https://doi.org/10.52058/2786-4952-2026-3(61)-2626-2641

161. Смірнов С. М., Янчевський О. В, Райкевич В. В. Обгрунтування використання стовбурових клітин та prp при лікуванні трофічних виразок (Огляд літератури). *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXVII наук.-практ. конф., присвяченої 170-літньому ювілею Івана Горбачевського (м. Тернопіль, 13–14 червня 2024 р.). Тернопіль : Укрмедкнига, 2024. С. 96–98.

162. Райкевич В. Патогенетичні аспекти розвитку ендотоксикозу та активації вільнорадикальних процесів при атрофічних виразках. *Майбутнє за наукою* матеріали *30-го Ювілейного конгресу студентів та молодих учених* (м. Тернопіль, 31 березня – 3 квітня 2026 р.). Тернопіль : Укрмедкнига, 2026. С. 116.

ДОДАТОК А

Список наукових праць, опублікованих за темою дисертації:

1. Райкевич В. В., Кліщ І. М. Динаміка показників ендогенної інтоксикації, антиоксидантної та імунної системи при модельованій трофічній виразці у щурів. *Медична та клінічна хімія*. 2026. № 1. С. 106–114. DOI: https://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/MCC/uk/article/view/16021

2. Райкевич В. В., Кліщ І. М. Морфологічна оцінка дезінтеграції гістоархітектоніки шкіри при трофічних виразках. *Перспективи та інновації науки*. 2026. № 3 (61). С. 2626–2641. DOI: https://doi.org/10.52058/2786-4952-2026-3(61)-2626-2641

3. Райкевич В. В., Кліщ І. М. Імуноморфологічні особливості перебігу експериментальної трофічної виразки при застосуванні плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP). *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. 2026. Т. 25, № 2. С. 81–86. DOI: https://doi.org/10.24061/1727-0847.25.2.2026.22

4. Смірнов С. М., Янчевський О. В, Райкевич В. В. Обгрунтування використання стовбурових клітин та prp при лікуванні трофічних виразок (Огляд літератури). *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXVII наук.-практ. конф., присвяченої 170-літньому ювілею Івана Горбачевського (м. Тернопіль, 13–14 червня 2024 р.). Тернопіль : Укрмедкнига, 2024. С. 96–98.

5. Райкевич В. Патогенетичні аспекти розвитку ендотоксикозу та активації вільнорадикальних процесів при атрофічних виразках. *Майбутнє за наукою :* матеріали 30-го Ювілейного конгресу студентів та молодих учених (м. Тернопіль, 31 березня – 3 квітня 2026 р.). Тернопіль : Укрмедкнига, 2026. С. 116.

ДОДАТОК Б

Відомості про апробацію результатів дисертації:

- підсумкова LXVII науково-практична конференція «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», присвячена 170-літньому ювілею Івана Горбачевського (м. Тернопіль, 13–14 червня 2024 року) – *публікація*;

- XXX конгрес студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою» (м. Тернопіль, 31 березня – 03 квітня 2026 року) – *публікація*.

ДОДАТОК В.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор
закладу вищої освіти з
науково-педагогічної роботи
д.мед. наук, професор
Аркадій ШУЛЬГАЙ
«24» 12 2026 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Динаміка показників ендогенної інтоксикації, антиоксидантної та імунної системи при модельованій трофічній виразці у щурів.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики, Райкевич Володимир Володимирович.
3. **Джерело інформації:** Райкевич В. В., Кліщ І. М. Динаміка показників ендогенної інтоксикації, антиоксидантної та імунної системи при модельованій трофічній виразці у щурів. Медична та клінічна хімія. 2026. № 1. С. 106–114. DOI: https://doi.org/10.11603/mcch.2410–681X.2026.i1.16021.
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра функціональної і лабораторної діагностики.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес – у матеріали лекцій і практичні заняття навчальних дисципліни «Клінічна біохімія».
6. **Результати впровадження**: Використання результатів роботи Райкевич В. В. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо лабораторних критеріїв, інструментальної діагностики та впливу методу лікування на динаміку показників ендогенної інтоксикації, антиоксидантної та імунної системи при модельованій трофічній виразці у щурів.
7. **Терміни впровадження**: осередень 2026 р. – червень 2026 р.
8. **Зауваження і пропозиції**: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувачка
кафедри функціональної і лабораторної
діагностики, д.мед.наук, професор І. Я. Криницька

ДОДАТОК В.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор
закладу вищої освіти з
науково-педагогічної роботи
д.мед. наук, професор
Аркадій ШУЛЬГАЙ
«14» червня 2026 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Морфологічна оцінка дезінтеграції гістоархітектоніки шкіри при трофічних виразках.
2. **Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІП авторів:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра функціональної і лабораторної діагностики, Райкевич Володимир Володимирович.
3. **Джерело інформації:** Райкевич В. В., Кліщ І. М. Морфологічна оцінка дезінтеграції гістоархітектоніки шкіри при трофічних виразках. Перспективи та інновації науки. 2026. № 3 (61). С. 2626–2641. DOI: https://doi.org/10.52058/2786–4952–2026–3(61)–2626–2641
4. **Базова установа, де впроваджено:** кафедра патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною.
5. **Форма впровадження:** у навчальний процес – у матеріали лекцій і практичні заняття навчальних дисципліни «Патологічна анатомія».
6. **Результати впровадження**: Використання результатів роботи Райкевич В. В. у навчальному процесі дозволяє поглибити знання студентів щодо особливостей перебігу експериментальної трофічної виразки при застосуванні плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), морфологічної оцінки дезінтеграції гістоархітектоніки шкіри при трофічних виразках.
7. **Термін впровадження**: березень 2026 р. – червень 2026 р.
8. **Зауваження і пропозиції**: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач
кафедри патологічної анатомії з
секційним курсом та судовою
медициною, д.мед.наук, професор П. Р. Сельський