

©3. В.СМАГЛІЙ

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

## Роль процесів ліпідної пероксидації у розвитку порушень жовчоутворювальної функції печінки за умов скелетної травми і гострої крововтрати, поєднаної з механічним ушкодженням шкіри, та ефективність PRP-терапії

**Мета роботи:** з'ясувати роль процесів ліпідної пероксидації у розвитку порушень жовчоутворювальної функції печінки за умов скелетної травми і гострої крововтрати, поєднаної з механічним ушкодженням шкіри, та ефективність PRP-терапії.

**Матеріали і методи.** В експериментах використано 186 нелінійних білих щурів-самців масою 180–200 г, яких поділили на п'ять груп: контрольну та чотири дослідні. До контрольної групи увійшли інтактні тварин, яких тільки вводили в наркоз. У дослідній групі 1 тваринам моделювали механічне ушкодження шкіри, у дослідній групі 2 моделювали скелетну травму, ускладнену гострою крововтратою, у дослідній групі 3 ці ушкодження поєднували. У дослідній групі 4 тваринам із поєднаною травмою проводили PRP-терапію із застосуванням збагаченої тромбоцитами аlogenної плазми. Через 3, 7, 14, 21 і 28 днів посттравматичного періоду у контрольній і дослідній групах щурів катетеризували загальну жовчну протоку і збирали жовч, в якій визначали вміст сумарних жовчних кислот. У гомогенаті печінки визначали вміст реагентів до тіобарбітурової кислоти (ТБК-активні продукти ПОЛ).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Внаслідок моделювання механічного ушкодження шкіри, скелетної травми, ускладненої гострою крововтратою, та їх поєднання у печінці піддослідних тварин посилювалися процеси ліпідної пероксидації, що супроводжувалося зростанням вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ, вміст яких не досягав рівня контролю до закінчення експерименту. Динаміка досліджуваного показника була хвилеподібною з першим максимумом через 7 днів посттравматичного періоду і повторним – через 21 добу. Вміст сумарних жовчних кислот у жовчі до 7 доби знижувався, залишався на такому ж рівні до 21 доби, а далі до 28 доби експерименту зростав, не досягаючи рівня контролю. Зі збільшенням тяжкості травми активність процесів ліпідної пероксидації та порушення синтезу жовчних кислот в печінці збільшувалися. Внаслідок застосування PRP-терапії у групі щурів з поєднаною травмою, порівняно з тваринами без корекції, вміст у печінці ТБК-активних продуктів ПОЛ, від початку 21 доби статистично вірогідно знижувався, а вміст у жовчі сумарних жовчних кислот зростав.

Внаслідок механічного ушкодження шкірних покривів у печінці травмованих тварин посилюються процеси ліпідної пероксидації, що сприяє сповільненню синтезу жовчних кислот мембранами ендоплазматичного ретикулу. Застосування внутрішньодермального введення збагаченої тромбоцитами аlogenної плазми знижує системні прояви травматичної хвороби, що проявляється пригніченням процесів ліпідної пероксидації в печінці та зниженням порушень функціонального стану мембран ендоплазматичного ретикулу.

**Ключові слова:** механічне ушкодження шкіри; скелетна травма; крововтрата; печінка; ліпідна пероксидація; жовчні кислоти; PRP-терапія.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій.** Збільшення частки тяжкої поєднаної травми є характерною рисою сучасного травматизму. За цих умов виникає травматична хвороба, в основі патогенезу провідну роль відіграють вторинні порушення, які виникають в органах, віддалених від місця безпосереднього травмування [1]. Їхніми важкими ускладненнями є розвиток поліорганної дисфункції та недостатності, які стають безпосередньою причиною загибелі постраждалих [2].

Пусковим чинником розвитку каскаду патологічних та адаптаційно-компенсаторних реакцій за умов травматичної хвороби є посилення процесів ліпідної пероксидації ліпідів і білків клітинних мембран, що може призвести до втрати мембранозалежних функцій з подальшою загибеллю клітин шляхом некрозу або апоптозу [3].

У структурі сучасної травми недостатньо вивченим є механічне ушкодження шкірних покри-

вів, частка якого значно зросла внаслідок аварій на транспорті та в умовах ведення бойових дій [4, 5].

Немає даних про роль такої травми у посиленні процесів ліпідної пероксидації у внутрішніх органах, зокрема печінці – основному органі детоксикації організму. Нескладно припустити, що створення оптимальних умов для загоєння шкірного дефекту суттєво знизить системний вплив травми на організм. У зв'язку з цим, значний інтерес становить застосування біотрансплантатів на основі тромбоцитів (Platelet Rich Plasma (PRP) терапія), які завдяки стимуляції гістіогенезу та диференціюванню клітин здатні прискорити загоєння шкірних ран та ран м'яких тканин [6, 7].

**Мета роботи:** з'ясувати роль процесів ліпідної пероксидації у розвитку порушень жовчоутворювальної функції печінки за умов скелетної травми і гострої крововтрати, поєднаної з механічним ушкодженням шкіри, та ефективність PRP-терапії.

**Матеріали і методи.** У дослідженні використано 186 нелінійних білих щурів-самців масою 180–200 г. Експерименти з нанесення травм виконували в умовах тіопентал-натрієвого наркозу в дозі 40 мг на кілограм маси тварини. Усіх піддослідних тварин поділили на п'ять груп: контрольну та чотири дослідні. До контрольної групи увійшли інтактні тварин, яких тільки вводили в наркоз. У дослідній групі 1 тваринам наносили механічне ушкодження шкіри: на депільованій поверхні спинки щура вирізали шкірний клапоть разом із підшкірною жировою клітковиною розміром 2×2 см. У дослідній групі 2 моделювали скелетну травму, ускладнену гострою крововтратою. Шляхом однократного дозованого удару по стегну з енергією 0,637 Дж [8] викликали закритий перелом стегнової кістки. Гостру крововтрату моделювали шляхом пересікання стегнової вени суміжного стегна (20 % об'єму циркулюючої крові). У дослідній групі 3 ці ушкодження поєднували. У дослідній групі 4 тваринам з поєднаною травмою проводили PRP-терапію із застосуванням збагаченої тромбоцитами алогенної плазми, яку заготовляли за методом Messora et al. (2011) [9]. Отриману таким чином збагачену тромбоцитами алогенну плазму вводили внутрішньодермально по 0,1 мл на стандартну глибину по кутах рани на відстані не більше 5 мм від краю рани. У групі порівняння (дослідна група 3) аналогічно вводили фізіологічний розчин. Рану покривали асептичною пов'язкою, а через 3 доби вели відкритим способом.

Через 3, 7, 14, 21 і 28 діб посттравматичного періоду у піддослідних тварин визначали жовчоутворювальну функцію печінки. В умовах тіопентал-натрієвого наркозу (60 мг·кг<sup>-1</sup> маси) у контрольній і дослідних групах катетеризували загальну жовчну протоку і збирали жовч впродовж 1 год [10]. В отриманій жовчі визначали вміст сумарних жовчних кислот, які є індикатором функціонального стану ендоплазматичного ретикулу гепатоцитів [11]. Після забору жовчі щурів виводили з експерименту методом тотального кровопускання із серця. У гомогенаті печінки оцінювали активність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) за вмістом реагентів до тіобарбітурової кислоти (ТБК-активних продуктів) [12].

Усі проведені експерименти виконували відповідно до загальних правил і положень Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, які використовують для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001), Закону України “Про захист тварин від жорстокої поведінки” (2006, додаток 4), а також згідно з “Науково-практичними рекомендаціями з утримання лабораторних тварин та роботи з ними”.

Оцінку вірогідності відмінностей між експериментальними групами проводили з використанням непараметричного критерію Манна – Уїтні.

#### **Результати досліджень та їх обговорення.**

Дослідження показали, що моделювання ізольованого ушкодження шкіри порівняно з контролем супроводжувалося посиленням процесів ліпідної пероксидації в печінці (табл. 1, рис. 1), що супроводжувалося статистично вірогідним збільшенням вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ вже через 3 доби експерименту – на 80,3 % (p<0,05). Показник досягав першого максимуму через 7 діб експерименту (у 3 рази, p<0,05), що також виявилось істотно більшим порівняно з попереднім терміном спостереження (на 64,2 %, p<0,05). Через 14 діб показник знижувався, ставав істотно меншим, порівняно з 14 добою експерименту (на 18,8 %, p<0,05), проте був у 2,45 рази більшим від контролю (p<0,05). Через 21 добу вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у печінці повторно зростав (у 2,74 рази порівняно з контролем, p<0,05). В цей термін показник виявився статистично вірогідно більшим, порівняно зі всіма попередніми термінами спостереження (p<0,05). До 28 доби відмічали зниження показника (на 20,1 %, порівняно з попереднім терміном спостереження, p<0,05). Незважаючи на це, величина досліджуваного показника залишалася у 2,99 рази більшою, ніж у контролі (p<0,05).

Аналогічну закономірність відмічали й після моделювання скелетної травми, ускладненої гострою крововтратою. На піку першого зростання показник перевищував рівень контролю у 5 разів (p<0,05) та результат 3 доби експерименту (на 67,4 %, p<0,05). Через 14 діб показник знижувався (на 21,8 % порівняно з попереднім терміном спостереження, p<0,05), проте був у 3,14 рази більшим, ніж у контролі (p<0,05). До 21 доби показник повторно зростав (на 33,0 %, p<0,05) й у 4,14 рази був більшим від контролю (p<0,05). До 28 доби показник знижувався, що виявилось статистично вірогідно більшим, ніж через 3, і 14 діб (p<0,05) та у 2,8 рази перевищували рівень контролю (p<0,05).

За умов поєднаної травми вміст у печінці ТБК-активних продуктів ПОЛ, порівняно з контролем, зростав і теж досягав першого максимуму через 7 діб (у 4,28 рази, p<0,05) й на 73,8 % був більшим порівняно з результатом 3 доби (p<0,05). На такому ж рівні показник залишався до 14 доби (p>0,05) і повторно збільшувався через 21 добу (у 4,98 рази, порівняно з контролем, p<0,05). В цей термін показник статистично вірогідно перевищував рівень усіх попередніх термінів спостереження (p<0,05). У подальшому, через 28 діб, від-

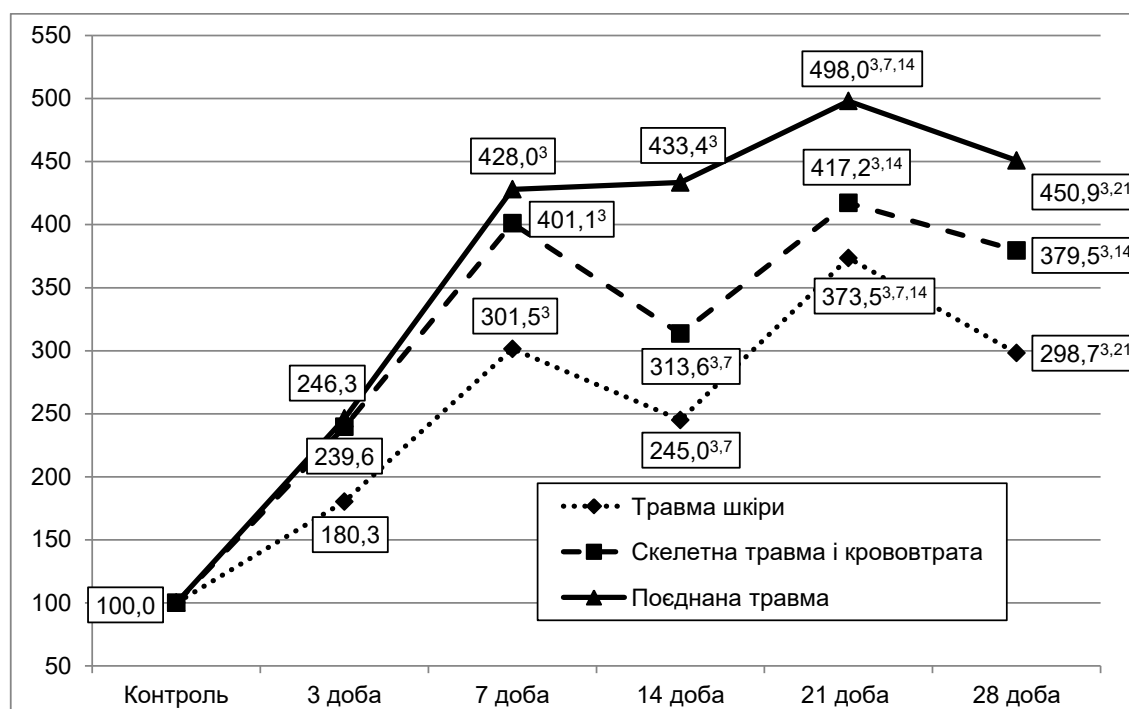
## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Таблиця 1.** Вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у печінці (мкмоль·кг<sup>-1</sup>) після моделювання ушкодження шкіри, скелетної травми з гострою крововтратою та їх поєднання ((Me (LQ;UQ)) – медіана (нижній і верхній квартилі)

Група тварин	Термін обстеження				
	3 доба	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Контрольна група	0,743 (0,721; 0,749)				
Дослідна група 1 Ушкодження шкіри	1,34* (1,21; 1,42) (n=6)	2,24* (2,09; 2,33) (n=6)	1,82* (1,66; 1,93) (n=6)	2,78* (2,57; 2,89) (n=6)	2,22* (1,92; 2,35) (n=6)
Дослідна група 2 Скелетна травма + гостра крововтрата	1,78* (1,60; 1,90) (n=6)	2,98* (2,91; 3,06) (n=6)	2,33* (2,26; 2,43) (n=6)	3,10* (3,07; 3,16) (n=6)	2,82* (2,75; 3,08) (n=6)
Дослідна група 3 Поєднана травма	1,83* (1,66; 1,91) (n=6)	3,18* (3,03; 3,23) (n=6)	3,22* (3,18; 3,47) (n=6)	3,70* (3,56; 3,90) (n=6)	3,35* (3,25; 3,43) (n=6)
P <sub>1-2</sub>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
P <sub>1-3</sub>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
P <sub>2-3</sub>	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Примітки. Тут і в табл. 2:

- 1) \* – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні (p<0,05);
- 2) p<sub>1-2</sub> – вірогідність відмінностей стосовно 1 і 2 дослідних груп;
- 3) p<sub>1-3</sub> – вірогідність відмінностей стосовно 1 і 3 дослідних груп;
- 4) p<sub>2-3</sub> – вірогідність відмінностей стосовно 2 і 3 дослідних груп.



**Рис. 1.** Вплив поєднаної травми на динаміку вмісту в печінці ТБК-активних продуктів ПОЛ.

Примітка. Тут і на рис. 3: \* – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні (p<0,05).

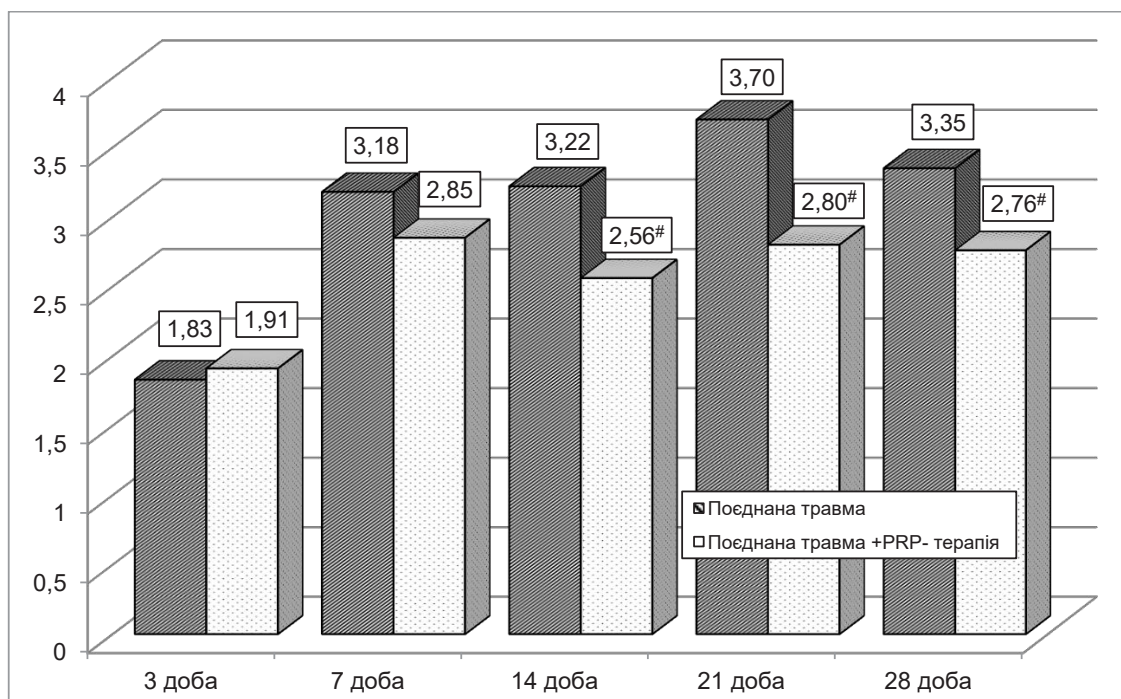
## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

мічали зниження вмісту в печінці ТБК-активних продуктів ПОЛ (на 9,5 %, порівняно з 21 добою,  $p < 0,05$ ), проте залишався у 4,51 раза більшим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ) та на 83,1 % більшим, ніж через 3 доби ( $p < 0,05$ ).

Порівняння дослідних груп між собою показало, що через 3 і 7 діб вміст у печінці ТБК-активних продуктів ПОЛ у дослідних групах 2 і 3 був статистично вірогідно більшим, ніж дослідній групі 1 ( $p_{1-2} < 0,05$ ,  $p_{1-3} < 0,05$ ). Починаючи з 14 доби вміст

у печінці ТБК-активних продуктів ПОЛ суттєво зростав зі збільшенням тяжкості травми ( $p_{1-2} < 0,05$ ,  $p_{1-3} < 0,05$ ,  $p_{2-3} < 0,05$ ).

Внаслідок застосування PRP-терапії у дослідній групі тварин із поєднаною травмою (рис. 2) вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ у печінці порівняно з контролем ставав статистично вірогідно меншим, починаючи з 14 доби – на 20,5 %, через 21 добу – на 24,3 %, через 28 діб – на 17,6 % ( $p < 0,05$  у ці терміни спостереження).



**Рис. 2.** Вплив PRP-терапії на динаміку вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ в печінці за умов поєднаної травми (мкмоль·кг<sup>-1</sup>).

Примітка. Тут і на рис. 2: <sup>#</sup> – відмінності стосовно групи тварин з поєднаною травмою без корекції статистично вірогідні ( $p < 0,05$ ).

У свою чергу, вміст у жовчі сумарних жовчних кислот (табл. 2, рис. 3) у дослідних групах, порівняно з контролем, статистично вірогідно знижувався у всі терміни спостереження. Так, після ізольованого ураження шкіри показник через 3 доби ставав меншим порівняно з контролем на 14,7 % ( $p < 0,05$ ), через 7 діб досягав мінімальної величини й був меншим порівняно з контролем на 23,5 % ( $p < 0,05$ ) та результатом 3 доби спостереження – на 10,6 % ( $p < 0,05$ ). На такому ж рівні показник знаходився до 21 доби ( $p > 0,05$ , порівняно з результатами 7 і 14 діб) й у подальшому – до 28 доби зростав, суттєво перевищуючи результат 7 і 21 діб (відповідно, на 17,4 та 27,2 %,  $p < 0,05$ ). В цей термі

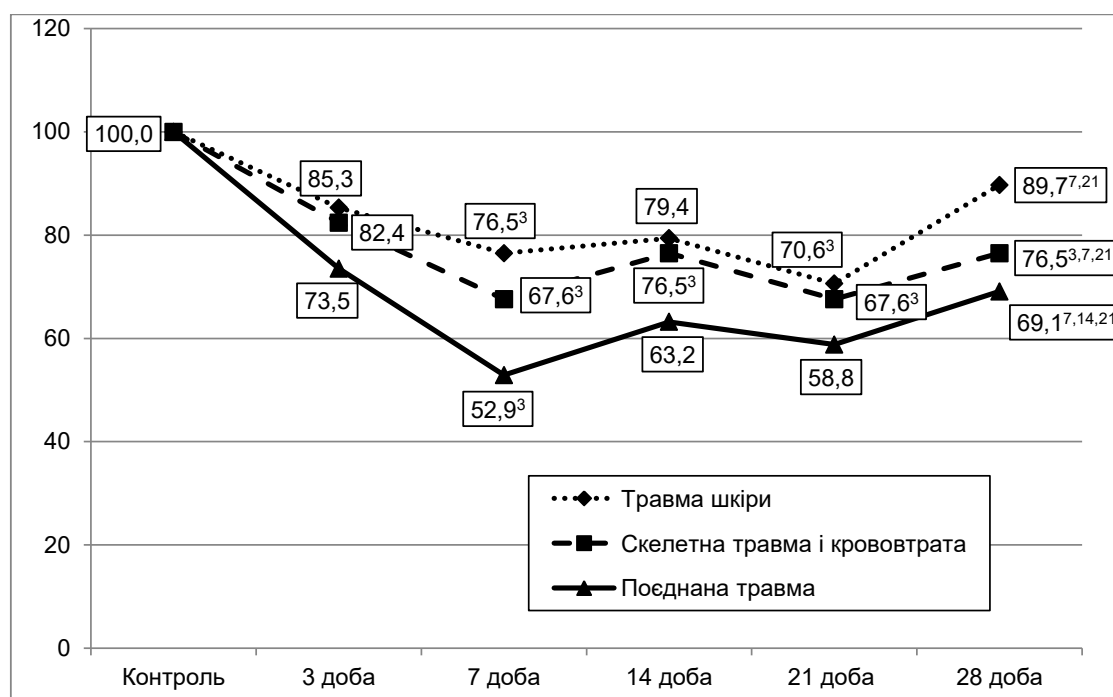
показник продовжував залишатися на 10,3 % меншим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ).

Нанесення скелетної травми, ускладненої гострою крововтратою (дослідна група 2), супроводжувалося аналогічною динамікою вмісту в жовчі сумарних жовчних кислот, що й у дослідній групі 1. Через 7 діб показник досягав мінімального рівня й був на 32,4 % меншим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ) та на 17,6 % меншим, ніж через 3 доби експерименту ( $p < 0,05$ ). На такому ж рівні показник знаходився до 21 доби ( $p > 0,05$  порівняно з результатами 7 та 14 діб). Через 28 діб показник зростав, ставав істотно більшим, ніж через 3, 7 і 21 доби ( $p < 0,05$ ) та на 23,5 % залишався меншим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ).

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Таблиця 2.** Вміст сумарних жовчних кислот у жовчі ( $\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$ ) після моделювання ушкодження шкіри, скелетної травми з гострою крововтратою та їх поєднання ((Me (LQ;UQ)) – медіана (нижній і верхній кuartилі)

Група тварин	Термін обстеження				
	3 доба	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
Контрольна група	2,55 (2,44; 2,66)				
Дослідна група 1 Ушкодження шкіри	2,18* (2,10; 2,36) (n=6)	1,95* (1,84; 2,06) (n=6)	2,03* (1,78; 2,21) (n=6)	1,80* (1,69; 1,86) (n=6)	2,29* (2,14; 2,38) (n=6)
Дослідна група 2 Скелетна травма + гостра крововтрата	2,10* (2,10; 2,40) (n=9)	1,73* (1,67; 1,80) (n=8)	1,88* (1,78; 1,99) (n=8)	1,73* (1,69; 1,80) (n=7)	1,95* (1,88; 2,03) (n=7)
Дослідна група 3 Поєднана травма	1,88* (1,65; 2,10) (n=8)	1,35* (1,28; 1,43) (n=7)	1,61* (1,41; 1,65) (n=6)	1,50* (1,39; 1,67) (n=6)	1,76* (1,73; 1,80) (n=6)
$P_{1-2}$	>0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05
$P_{1-3}$	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
$P_{2-3}$	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05



**Рис. 3.** Вплив поєднаної травми на динаміку вмісту в жовчі сумарних жовчних кислот (у відсотках до рівня контролю).

Моделювання поєднаної травми (дослідна група 3) теж викликало максимальне зниження вмісту сумарних жовчних кислот у жовчі через 7 діб експерименті – на 47,1 % порівняно з контро-

лем ( $p < 0,05$ ) та на 28,2 % порівняно з результатом 3 доби ( $p < 0,05$ ). На такому ж рівні показник знаходився до 21 доби з незначним зростанням через 21 добу ( $p > 0,05$  порівняно з результатами 7 і 14 діб).

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Через 28 днів показник зростав, ставав статистично вірогідно більшим, ніж через 7, 14 і 21 добу експерименту ( $p < 0,05$ ) та не досягав рівня контролю й залишався на 30,9 % меншим ( $p < 0,05$ ).

Порівняння дослідних груп між собою показало (рис. 4), що через 3 доби експерименту вміст у жовчі сумарних жовчних кислот статистично вірогідно не відрізнявся між дослідними групами ( $p_{1-2} > 0,05$ ,  $p_{1-3} > 0,05$ ,  $p_{2-3} > 0,05$ ). Через 7 і 28 днів встановлено, що зі збільшенням тяжкості травми, вміст у жовчі сумарних жовчних кислот істотно зменшувався ( $p_{1-2} < 0,05$ ,  $p_{1-3} < 0,05$ ,  $p_{2-3} < 0,05$ ). Водночас через 14 і 21 доби величина досліджуваного показника у дослідній групі 3 виявилася статистично вірогідно меншою, ніж у дослідних групах 2 і 3 ( $p_{1-3} < 0,05$ ,  $p_{2-3} < 0,05$ ).

Застосування PRP-терапії у дослідній групі 3, в якій моделювали поєднану травму, порівняно з аналогічною групою без корекції, показало, що через 21 і 28 днів посттравматичного періоду вміст у жовчі сумарних жовчних кислот виявився статистично вірогідно більшим – відповідно на 25,3 та 17,0 % ( $p < 0,05$ ).

Отримані результати свідчать про те, що внаслідок моделювання механічного ушкодження шкіри, скелетної травми, ускладненої гострою крововтратою, та їх поєднання у печінці піддослідних тварин посилюються процеси ліпідної пероксидації, що супроводжується зростанням

вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ, вміст яких не досягає рівня контролю до закінчення експерименту. Активація процесів ПОЛ у печінці, як свідчать дані літератури, є характерною ознакою травматичної хвороби, пов'язаною із ураженням кісток скелета, черепа, грудної клітки, гострої крововтрати [13, 14, 15]. Проте ми вперше показали, що ізольована травма шкіри здатна викликати аналогічні порушення, що вказує на вагомую роль ушкодження шкірних покривів у системних проявах травматичної хвороби, зокрема тих, що зумовлюють посилене утворення активних форм кисню, посилення процесів ліпідної пероксидації клітинних мембран, і, як наслідок, порушення їх проникності та функції, посилення ендотоксикозу та зниження функціональної спроможності внутрішніх органів. В їх основі, очевидно, лежить активація нейтрофілів і макрофагів у зоні механічного дефекту шкірних покривів, які є основними генераторами активних форм кисню та медіаторів запалення, зданих викликати вторинні порушення в органах і тканинах, віддалених від місця безпосереднього ушкодження, в тому числі і в печінці. Привертає увагу той факт, що зі збільшенням тяжкості травми, активність процесів ліпідної пероксидації в печінці теж збільшувалася:

травма шкіри ← скелета травма і крововтрата ← поєднана травма

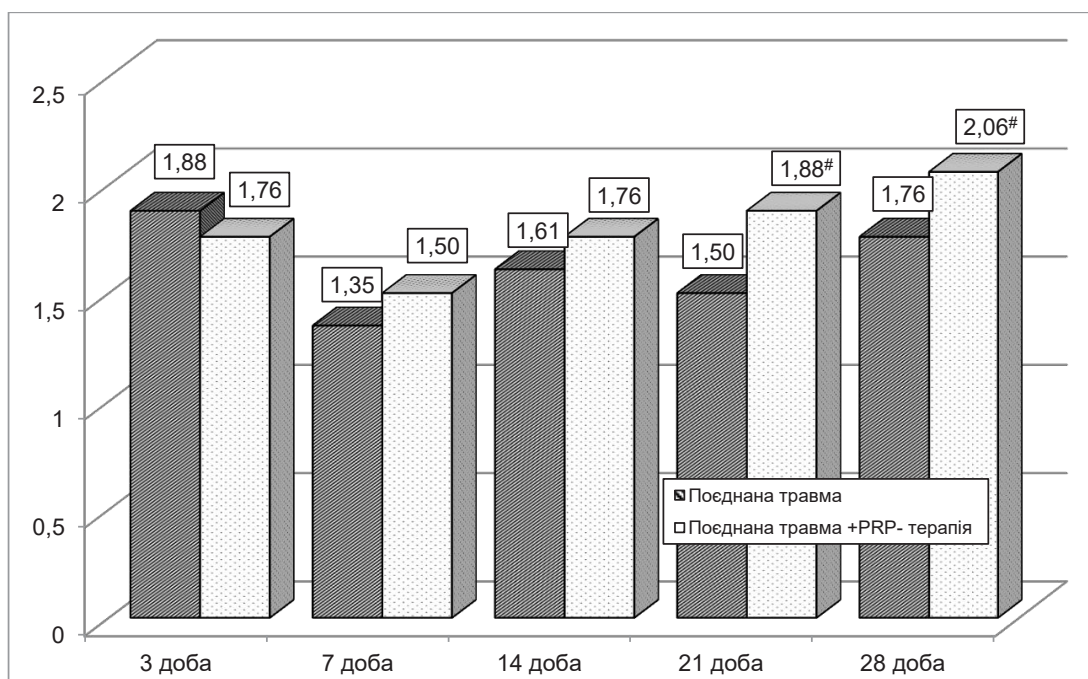


Рис. 4. Вплив PRP-терапії на динаміку вмісту сумарних жовчних кислот у жовчі за умов поєднаної травми (г/л<sup>-1</sup>).

Отриманий результат додатково свідчить про те, що травма шкіри здатна поглиблювати сукупність системних порушень, викликаних скелетною травмою, ускладненою гострою крововтратою.

Варто зазначити, що динаміка досліджуваного показника була хвилеподібною з першим максимумом через 7 діб посттравматичного періоду і повторним – через 21 добу, причому дана закономірність була більше характерна для дослідних груп 1 і 2. У дослідній групі 3 показник поступово зростав до 21 доби з незначним зниженням – через 14 діб. До 28 доби показник у всіх дослідних групах зменшувався, проте не досягав рівня контролю. Даний факт, очевидно, свідчить про домінування через 7 і 21 доби прооксидантних механізмів. Подібна хвилеподібна динаміка з періодами загострення та тимчасового благополуччя зустрічається й у роботах інших авторів [16].

Що стосується вмісту сумарних жовчних кислот у жовчі, то в усіх дослідних групах показник до 7 доби знижувався, залишався на такому ж рівні до 21 доби, а далі до 28 доби експерименту зростав, не досягаючи рівня контролю. Знову ж відмічали закономірність збільшення тяжкості порушень досліджуваного показника зі зростанням тяжкості травми, починаючи з 7 доби експерименту. Як і за вмістом ТБК-активних продуктів ПОЛ, вміст у жовчі сумарних жовчних кислот був найбільшим за умов поєднаної травми, що вказує на поглиблення процесів синтезу жовчних кислот за умов додаткового механічного ушкодження шкіри.

Як свідчать дані літератури, жовчні кислоти у жовчі є результатом метаболічного перетворення холестеролу, першим етапом якого є 7 $\alpha$ -гідроксилювання холестерину, що каталізується ферментом мембран ендоплазматичного ретикулуму 7 $\alpha$ -гідроксилазою [17]. Отже, синтез жовчних кислот є мембранозалежним процесом і досить чутливим до патогенних чинників, здатних активізувати вільнорадикальне окиснення ліпідів і білків клітинних мембран. Це дає підставу припустити, що в основі порушення утворення сумарних жовчних кислот лежить саме активація процесів ліпідної пероксидації в печінці, яка насамперед негативно впливає на структуру ендоплазматичних мембран, викликаючи порушення їх функцій [18]. Підтвердженням цьому припущенню є також і той факт, що максимум порушень процесів утворення сумарних жовчних кислот за амплітудою і часом збігається з активізацією ліпідної пероксидації в печінці. На подібну закономірність за умов тяжкої травми вказували й інші автори [19, 20, 21].

Таким чином, внаслідок механічного ушкодження шкірних покривів у печінці травмованих тварин посилюються процеси ліпідної перокси-

дації, що сприяє сповільненню синтезу жовчних кислот мембранами ендоплазматичного ретикулуму. Внаслідок застосування PRP-терапії у групі щурів із поєднаною травмою, порівняно з тваринами без корекції вміст у печінці ТБК-активних продуктів ПОЛ від початку 21 доби статистично вірогідно знижується, а вміст у жовчі сумарних жовчних кислот зростає. Отже, внутрішньодермальне введення збагаченої тромбоцитами алогенної плазми знижує системні прояви травматичної хвороби, що проявляється пригніченням процесів ліпідної пероксидації в печінці та зниженням порушень функціонального стану мембран ендоплазматичного ретикулуму. Можна припустити, що біологічно-активні речовини трансплантованих тромбоцитів, які включають тромбоцитарний фактор росту (PDGF), фактор росту фібробластів (FGF), трансформуючий фактор росту (TGF- $\beta$ 1), інсуліноподібний фактор росту (IGF-1), фактор росту судин та ендотелію (VEGF, VGF) завдяки локальній стимуляції гістіогенезу, хемотаксису та диференціювання клітин дерми [22] знижує її системний вплив на організм, що проявляється зменшенням інтенсивності ліпідної пероксидації в печінці та меншим ураженням мембран ендоплазматичного ретикулуму гепатоцитів. Останнє має важливе значення для запобігання розвитку печінкової дисфункції за умов травми, компонентом якої є механічне ушкодження шкірних покривів. Це вказує на перспективність PRP-терапії як методу системної корекції, що вимагає подальшого доклінічного вивчення.

**Висновки.** 1. Механічне ушкодження шкіри в організмі піддослідних щурів викликає зниження активності мітосомальної системи гепатоцитів та посилення процесів ліпідної пероксидації в печінці, що проявляється зменшенням вмісту в жовчі сумарних жовчних кислот та підвищенням вмісту ТБК-активних продуктів ПОЛ. Динаміка порушень досліджуваних показників є хвилеподібною з першим періодом загострення через 7 діб і другим – через 21 добу.

2. Додаткове нанесення механічної травми шкіри на тлі скелетної травми та гострої крововтрати поглиблює порушення досліджуваних показників із максимумом порушень через 7 і 21 доби посттравматичного періоду.

3. Застосування PRP-терапії на тлі поєднаної травми, порівняно з травмованими тваринами без корекції, супроводжується зниженням вмісту в печінці ТБК-активних продуктів ПОЛ та збільшенням концентрації сумарних жовчних кислот у жовчі, що стає статистично вірогідним через 21 і 28 діб експерименту.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому необхідно поглибити дослідження механізмів гепатопротекторного впливу PRP-терапії

за умов механічного ушкодження шкіри та його поєднання зі скелетною травмою і гострою кровотравмою.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зяблицев С. В. Синдром травматичної хвороби при черепно-мозковій травмі : монографія / С. В. Зяблицев, В. Єльський. – Краматорськ : Каштан, 2020. – С. 464.
2. Аналіз безпосередніх причин смерті у постраждалих із політравмою та пошкодженням скелета / С. О. Гур'єв, А. Ю. Філь, О. М. Танасієнко // Травма. – 2015. – Т. 16, № 4. – С. 7–10.
3. Антиоксидантно-прооксидантний та цитокиновий баланс у пізній період комбінованої травми в експерименті / А. А. Гудима, Т. В. Кацак, К. В. Шепітько // Світ медицини та біології. – 2019. – № 1 (67). – С. 42–47.
4. Политравма: современное состояние проблемы (обзор литературы) / Г. П. Котельников, И. Г. Труханова, А. Ю. Шабанова // Врач скорой помощи. – 2014. – № 12. – С. 4–10.
5. Pfeifer R. Diagnostics and treatment strategies for multiple trauma patients / R. Pfeifer, H. C. Pape // Chirurg. – 2016. – Vol. 87 (2). – P. 165–173.
6. Alves R. Clinical indications and treatment protocols with platelet-rich plasma in dermatology. Conde Montero E: PRP in wound healing / R. Alves, R. Grimalt // Ediciones Mayo. – Barcelona, 2016. – P. 59–72.
7. Ozdemir B. Treatment of intrabony defects with betatricalciumphosphate alone and in combination with plateletrich plasma / B. Ozdemir, E. J. Okte // Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater. – 2012. – Vol. 100 (4). – P. 976–983.
8. Пат. 81107 Україна, МПК (2006.01) G 09 B 23/28. Спосіб моделювання політравми / Левчук Р. Д., Михайлюк І. А., Мерлев Д. І.; заявник і патентовласник Терноп. держ. мед. ун-т імені І. Я. Горбачевського. – № у 2012 13575 ; заявл. 27.11.12 ; опубл. 25.06.13, Бюл. № 12.
9. A standardized research protocol for platelet-rich plasma (PRP) preparation in rats / M. R. Messora, M. J. H. Nagata, F. A. C. Furlaneto [et al.] // RSBO. – 2011. – Vol. 8 (3). – P. 299–304.
10. Експериментальне вивчення холеспазмолітичної, холелітазної та гепатопротекторної активності нових лікарських засобів. В кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / Дроговоз С. М., Губський Ю. І., Скакун М. П. [та ін.] ; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : Авіценна, 2001. – С. 334–351.
11. Порушення біохімічного складу жовчі за умов поєднаної травми живота і грудної клітки в період ранніх проявів травматичної хвороби та його корекція тіотриазоліном / О. А. Зачепа, А. А. Гудима, Ю. І. Сушко, Т. Я. Ярошенко // Медична та клінічна хімія. – 2019. – Т. 21, № 4 (82). – С. 74–82.
12. Модифікація метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Ко-

- жемякин, А. А. Кишкун // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
13. 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 / О. А. Зачепа, А. А. Гудима, Ю. І. Сушко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2019. – № 4. – С. 132–143.
14. Горбань І. І. Вплив гострої крововтрати, ускладненої ішемією-реперфузією кінцівки, на антиоксидантно-прооксидантний баланс печінки та його корекція карбацетамом / І. І. Горбань // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2020. – № 2. – С. 93–100.
15. Кацак Т. В. Інтенсивність процесів ліпідної пероксидації та рівень маркерів запалення в пізній період комбінованої травми в експерименті / Т. В. Кацак, А. А. Гудима // Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука. – 2018. – № 4 (84). – С. 62–68.
16. Козак Д. В. Антиоксидантно-прооксидантний баланс тканини серця, легень і печінки в динаміці політравми / Д. В. Козак // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2014. – Т. 18, № 1. – С. 17–20.
17. Микросомальная ферментная система организма / И. С. Чекман, Е. А. Посохова, Е. Г. Береговая. – Київ, 1996. – С. 80.
18. Волотовська Н. В. Роль гемічної гіпоксії в патогенезі порушень жовчоутворювальної і жовчовидільної функції печінки на тлі скелетної травми в ранньому посттравматичному періоді / Н. В. Волотовська, А. А. Гудима // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2011. – № 2 (15). – С. 31–33.
19. Influence of two-hour tourniquets ischemia of limb and acute blood loss on systemic disorders of the body in the reperfusion period (experimental study) / I. I. Horban, A. A. Hudyma, R. V. Maksymiv, I. V. Antonyshyn // Wiadomości Lekarskie. – 2020. – Vol. 7. – P. 1330–1333.
20. 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 / О. А. Зачепа, А. А. Гудима, Ю. І. Сушко // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2019. – № 4. – С. 132–143.
21. Zachepa O. A. The influence of combined abdominal and thoracic trauma on the bile excretory function of the liver in the period of early manifestations of traumatic disease and their correction with thiotriazolone / O. A. Zachepa, A. A. Hudyma, Y. I. Sushko // J. of Education, Health and Sport. – 2019. – Vol. 9 (12). – P. 136–147.
22. Lacci K. M. Platelet-rich Plasma: support for its use in wound healing / K. M. Lacci, A. Dardik // Yale. J. Biol. Med. – 2010. – Vol. 83 (1). – P. 1–9.

### REFERENCES

1. Zyablitsev, S.V., & Yelsky, V.M. (2020). *Syndrom travmatychnoi khvoroby pry cherepno-mozkoviі travmi: monohrafiia [Syndrome of traumatic disease in brain injury: monograph]*. Kramatorsk: Kashtan [in Ukrainian].

2. Guryev, S.O., Fil, A.Yu., & Tanasienko, O.M. (2015). Analiz bezposeredikh prychyn smerti u postrazhdalykh iz politravmoiu ta poshkodzhenniam skeleta [Analysis of immediate causes of death in victims with politrauma and skeletal damage]. *Travma – Trauma*, 16 (4), 7-10 [in Ukrainian].



3. Hudyma, A.A., Kashchak, T.V., Shepitko, K.V. (2019). Antyoksydantno-prooksydantnyy ta tsytokinovy balans u piznii period kombinovanoi travmy v eksperymenty [Antioxidant-prooxidant and cytokine balance in the late period of combined trauma in the experiment]. *Svit medytsyny ta biolohii – World of Medicine and Biology*, 1 (67), 42-47 [in Ukrainian].
4. Kotelnikov, G.P., Trukhanova, I.G., & Shabanova, A.Yu. (2014). Politravma: sovremennoye sostoyaniye problemy (obzor literatury) [Polytrauma: the current state of the problem (literature review)]. *Vrach skoroy pomoshchi – Emergency Doctor*, 12, 4-10 [in Russian].
5. Pfeifer, R., & Pape, H.C. (2016). Diagnostics and treatment strategies for multiple trauma patients. *Chirurg.*, 87 (2), 165-173.
6. Alves, R., & Grimalt, R. (2016). Clinical indications and treatment protocols with platelet-rich plasma in dermatology. Conde Montero E: PRP in wound healing. *Barcelona*, 59-72.
7. Ozdemir, B., & Okte, E.J. (2012). Treatment of intrabony defects with betatricalciumphosphate alone and in combination with plateletrich plasma. *Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.*, 100 (4), 976-983.
8. Levchuk, R.D., Mikhailyuk, I.A., & Merlev, D.I. Sposib modeliuvannia politravmy: pat. na korysnu model 81107 Ukraina, MPK (2006.01) G09V 23/28 № u 2012 13575; zaiavnyk i patentovlasnyk DVNZ "Ternopil'skyi derzhavnyi medychnyi universytet imeni I. Ya. Horbachevskoho MOZ Ukrainy"; zayavl. 27.11.12; opubl. 25.06.13, Byul. № 12 [Method of modeling polytrauma: Pat. on utility model 81107 Ukraine, IPC (2006.01) G09B 23/28 № u 2012 13575; applicant and patent owner of I. Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; stated 27.11.12; publ. 25.06.13, Bull. No.12]. [in Ukrainian].
9. Messori, M.R., Nagata, M.J.H., & Furlaneto, F.A.C. (2011). A standardized research protocol for platelet-rich plasma (PRP) preparation in rats *RSBO.*, 8 (3), 299-304.
10. Drogovoz, S.M., Gubsky, Y.I., Skakun, M.P., Kovalenko, V.M., Derimedvid, L.V. (2001). *Eksperimentalne vyvchennia kholespazmolitychnoi, kholelitiaznoi ta hepatoprotekornoj aktivnosti novykh likarskykh zasobiv. V: Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv: metodychni rekomendatsii; za red. chl.-kor. AMN Ukrainy O. V. Stefanova [Experimental study of cholelithiasis, cholelithiasis and hepatoprotective activity of new drugs. In: Preclinical studies of drugs: guidelines; for ed. Corresponding Member Academy of Medical Sciences of Ukraine OV Stefanov]. Kyiv: Avitsenna, 334-351 [in Ukrainian].*
11. Zachepa, O.A., Gudima, A.A., Sushko, Yu.I., & Yaroshenko, T. (2019). Porushennia biokhimichnoho skladu zhovchi za umov poiednanoi travmy zhyvota i hruдноi klitky v period rannikh proiaviv travmatychnoi khvoroby ta yoho korektsiia tiotriazolinom [Violation of the biochemical composition of bile under conditions of combined trauma of the abdomen and chest in the period of early manifestations of traumatic disease and its correction with thiotriazoline]. *Medychna ta klinichna khimiya – Medical and Clinical Chemistry*, 21,4 (82), 74-82 [in Ukrainian].
12. Andreeva, L.I., Kozhemyakin, L.A., & Kishkun, A.A. (1998). Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoy kislotoy [Modification of the method for determining lipid peroxides in the test with thiobarbituric acid]. *Lab. Delo – Lab. Business*, 11, 41-43 [in Russian].
13. Zachepa, O.A., Gudyma, A.A., & Sushko, Y.I. (2019). Vplyv poiednanoi travmy zhyvota i hruдноi klitky na aktyvnist protsesiv lipidnoi peroksydatsii ta antyoksydantnoho zakhystu v period rannikh proiaviv travmatychnoi khvoroby ta yikh korektsiia tiotriazolinom [Influence of combined abdominal and thoracic trauma on the activity of lipid peroxidation and antioxidant protection in the period of early manifestations of traumatic disease and their correction with thiotriazoline]. *Aktualni problemy transportnoi medytsyny – Actual Problems of Transport Medicine*, 4, 132-143 [in Ukrainian].
14. Gorban, I.I. (2020). Vplyv hostroi krovovraty, uskladnenoi ishemiiieu-reperfuziieiu kintsivky, na antyoksydantno-prooksydantnyi balans pechinky ta yoho korektsiia karbatsetamom [Influence of acute blood loss complicated by limb ischemia-reperfusion on antioxidant-prooxidant balance of the liver and its correction by carbacetam]. *Zdobutky klinichnoi i eksperimentalnoi medytsyny – Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, 2, 93-10 [in Ukrainian].
15. Kashchak, T.V., & Gudyma, A.A. (2018). Intensyvni protsesiv lipidnoi peroksydatsii ta riven markeriv zapalennia v piznii period kombinovanoi travmy v eksperymenty [Intensity of lipid peroxidation processes and the level of markers of inflammation in the late period of combined trauma in the experiment]. *Shpytalna khirurgiia. Zhurnal imeni L. Ya. Kovalchuka – Hospital Surgery. Kovalchuk Journal*, 4 (84), 62-68 [in Ukrainian].
16. Kozak, D.V. (2014). Antyoksydantno-prooksydantnyy balans tkany ny sertsya, lehen i pechinky v dynamitsi politravmy [Antioxidant-prooxidant balance of heart, lung and liver tissue in the dynamics of polytrauma]. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu – Visnyk of Vinnytsia National Medical University*, 18 (1), 17-20 [in Ukrainian].
17. Chekman, I.S., Posokhova, E.A., & Beregovaya, E.G. (1996). *Mikrosomal'naya fermentnaya sistema oranizma [Microsomal enzyme system of organisms]. Kyiv [in Russian].*
18. Volotovska, N.V., & Gudyma, A.A. (2011). Rol hemichnoi hipoksii v patogenezi porushen zhovchoutvoriuvanoi i zhovchovydilnoi funktsii pechinky na tli skeletnoi travmy v rannomu posttravmatychnomu periodi [The role of hemic hypoxia in the pathogenesis of disorders of biliary and biliary function of the liver and the background of skeletal trauma in the early post-traumatic period]. *Zdobutky klinichnoi i eksperimentalnoi medytsyny – Achievements of Clinical and Experimental Medicine*, 2 (15), 31-33 [in Ukrainian].
19. Horban, I.I., Hudyma, A. A., Maksymiv, R.V., & Antonyshyn, I.V. (2020). Influence of two-hour tourniquets ischemia of limb and acute blood loss on systemic disorders of the body in the reperfusion period (experimental study). *Wiadomości Lekarskie.*, 7, 1330-1333.
20. Zachepa, O.A., Gudyma, A.A., & Sushko, Y.I. (2019). Vplyv poiednanoi travmy zhyvota i hruдноi klitky na aktyvnist protsesiv lipidnoi peroksydatsii ta antyoksydantnoho zakhystu v period rannikh proiaviv travmatychnoi khvoroby ta yikh korektsiia tiotriazolinom [Influence of combined abdominal and thoracic trauma on the activity of lipid peroxidation and antioxidant protection in the period of early manifestations of traumatic disease and their correction with thiotriazoline]. *Aktualni problemy transportnoi medytsyny – Actual Problems of Transport Medicine*, 4, 132-143 [in Ukrainian].
21. Zachepa, O.A., Gudyma, A.A., & Sushko, Y.I. (2019). The influence of combined abdominal and thoracic trauma on the bile excretory function of the liver in the period of early manifestations of traumatic disease and their correction with thiotriazoline. *J. of Education, Health and Sport.*, 9 (12), 136-147.
22. Lacci, K.M. Dardik, A. (2010). Platelet-rich Plasma: support for its use in wound healing. *Yale. J. Biol. Med.*, 83 (1), 1-9.

Отримано 16.03.2022

Електронна адреса для листування: smaglyizv@tdmu.edu.ua

Z. V. SMAHLII

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

## THE ROLE OF LIPID PEROXIDATION PROCESSES IN THE DEVELOPMENT OF IMPAIRED BILE PRODUCTION UNDER THE INFLUENCE OF SKELETAL TRAUMA COMPLICATED BY ACUTE BLOOD LOSS IN COMBINATION WITH MECHANICAL DAMAGE OF SKIN, AND PRP-THERAPY EFFECTIVENESS

**The aim of the work:** to establish the role of lipid peroxidation processes in the development of impaired bile production under the influence of skeletal trauma complicated by acute blood loss in combination with mechanical damage of skin, and PRP-therapy effectiveness.

**Materials and Methods.** The experimental studies were conducted on 186 nonlinear white male rats weighing 180–200 g, which were divided into five groups: the control and four experimental ones. The control group consisted solely of the intact animals exposed to general anesthesia. In the first experimental group, the animals were simulated a mechanical damage of skin, the rats of the second experimental group were subjected to a skeletal trauma complicated by acute blood loss, the third experimental group had both these lesions combined. In the fourth experimental group, the PRP-therapy was applied using allogeneic platelet-rich plasma injections to the animals with combined trauma. After 3, 7, 14, 21 and 28 days of the posttraumatic period, the common bile duct was catheterized and the bile was collected from the control and experimental groups. The concentration of total bile acids in the bile was subsequently determined in all bile samples. The level of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) was measured in liver homogenate.

**Results and Discussion.** The conducted studies indicated the enhancement of lipid peroxidation processes in the liver of experimental animals as a result of mechanical damage of skin, skeletal trauma complicated by acute blood loss and the combined trauma model. It was evidenced by the concomitant increase in TBARS values, which did not reach the control level down to the end of experiment. The dynamic of studied indicator was undulant, as the first maximum occurred after 7 days of the posttraumatic period and the second one – after 21 days. The concentration of total bile acids in the bile decreased up to the 7<sup>th</sup> day, remained at the same level until the 21<sup>st</sup> day, and, subsequently, increased up to 28<sup>th</sup> day, though not reaching control values. It was found that a more severe trauma severity led to the greater increase in lipid peroxidation activity as well as more impaired hepatic bile acid synthesis. The administration of the PRP-therapy contributed to a statistically significant decreased TBARS levels in the liver starting from the 21<sup>st</sup> day of the experiment as well as the increased total bile acids concentration in the bile of rats subjected to combined trauma model as compared to the animals without corrective medication. The infliction of mechanical damage to skin leads to the enhancement of lipid peroxidation processes in the liver, which results in the obstruction of hepatic bile acid synthesis by endoplasmic reticulum membranes. The intradermal administration of allogeneic platelet-rich plasma injections reduces the systemic manifestations of traumatic disease, which is evidenced by the inhibition of hepatic lipid peroxidation as well as the regression of impaired functionality of endoplasmic reticulum membranes.

**Key words:** mechanical damage of skin; skeletal trauma; blood loss; liver; lipid peroxidation; bile acids; PRP-therapy.