

Імуномодулюючий вплив PRP-терапії на рівень оксидативного стресу та фагоцитарну активність нейтрофілів при експериментальному гострому перитоніті

Мета роботи: встановити вплив плазми, збагаченої тромбоцитами (platelet-rich plasma (PRP)), на рівень оксидативного стресу та фагоцитарну активність нейтрофілів при моделюванні експериментального перитоніту в щурів.

Матеріали і методи. Експериментальне дослідження проведено на статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г, відібраних випадковим чином із віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Модель гострого перитоніту відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення 10% калової суспензії. Через 24 год після індукції патологічного процесу тваринам основної групи вводили PRP. Оцінювання біомаркерів проводили на 1, 4, 7 та 10 доби експерименту. Досліджували динаміку змін показників ендотоксикозу, імунної відповіді, оксидативного стресу та фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів. Усі експериментальні процедури виконано згідно з етичними принципами, затвердженими Першим національним конгресом з біоетики та відповідно до вимог Європейської конвенції з питань захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США).

Результати. Застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, при експериментальному перитоніті сприяє зниженню рівня оксидативного стресу та відновленню фагоцитарної активності нейтрофілів. Динаміка CD8⁺ Т-лімфоцитів у процесі розвитку експериментального перитоніту характеризувалася початковим підвищенням їх кількості в гострий період захворювання. Подальше зниження рівня CD8⁺ клітин на пізніших етапах спостереження може свідчити про виснаження функціональних резервів Т-клітерів, пригнічення клітинної ланки імунітету та зниження здатності організму до ефективного контролю за інфекційним процесом. Стабільне збільшення кількості CD22⁺ В-лімфоцитів упродовж експерименту свідчить про тривалу активацію гуморальної ланки імунітету. Застосування PRP справляло виражений регуляторний вплив на перебіг імунної відповіді. Експериментальні результати підтверджують наявність вираженого багатокомпонентного терапевтичного ефекту PRP при моделюванні гострого перитоніту в щурів.

Висновки. Проведений аналіз засвідчив системний вплив PRP на ключові патогенетичні ланки перебігу захворювання – оксидативні, імунні та метаболічні порушення. Гострий перитоніт супроводжується суттєвим підвищенням рівнів активних форм кисню, молекул середньої маси та циркулюючих імунних комплексів, що вказує на надмірне оксидативне й ендотоксичне навантаження. Ці процеси сприяють ушкодженню клітинних структур, посиленню запальної реакції та прогресуванню ендогенної інтоксикації. PRP виявляє комплексну протизапальну, антиоксидантну та імуномодулюючу дію при експериментальному перитоніті. Результати дослідження вказують на доцільність використання PRP як перспективного терапевтичного агента у складі комплексного лікування перитоніту з метою зменшення проявів імунопатологічних реакцій, попередження ускладнень та покращення клінічного прогнозу.

Ключові слова: перитоніт; плазма, збагачена тромбоцитами (PRP); PRP-терапія; імунна відповідь; оксидативний стрес.

Постановка проблеми й аналіз останніх досліджень та публікацій. Одним із перспективних напрямків у сучасній експериментальній та клінічній медицині є використання плазми, збагаченої тромбоцитами (platelet-rich plasma (PRP)), яка характеризується високою концентрацією факторів росту, цитокінів та інших біологічно активних молекул. Згідно з сучасними уявленнями, PRP чинить плейотропний вплив на тканини, забезпечуючи модуляцію запальної відповіді, активацію репаративно-регенеративних процесів і стабілізацію клітинного гомеостазу [1–3].

За даними експериментальних і клінічних досліджень останніх років, PRP-терапія розглядається як потенційний інструмент корекції системного запалення та оксидативного стресу. Біологічно активні компоненти PRP здатні впливати на функціональний стан клітин імунної системи, знижувати інтенсивність вільнорадикальних реакцій, відновлювати баланс між прооксидантними та антиоксидантними механізмами й обмежувати вторинне ушкодження тканин [4, 5]. У цьому контексті особливу наукову й практичну зацікавленість становить дослідження можливостей застосування PRP

при гострому перитоніті – одному з найтяжчих ускладнень абдомінальної хірургії, що супроводжується розвитком системної запальної відповіді, ендогенної інтоксикації та поліорганної дисфункції [6, 7].

Ключову роль у патогенезі гострого перитоніту відіграє фагоцитарна ланка імунної системи, насамперед нейтрофільні гранулоцити, які забезпечують первинну неспецифічну протимікробну відповідь. Функціональний стан нейтрофілів оцінюють за показниками оксидативного метаболізму, зокрема за рівнем продукції активних форм кисню (АФО) та результатами спонтанного (сНСТ) й індукованого (іНСТ) нітросинього тетразолієвого тесту (НСТ-тест) [8, 9]. Зазначені методи дозволяють оцінити інтенсивність респіраторного вибуху та резервні можливості нейтрофілів щодо генерації АФО, які є необхідними для реалізації мікробіцидної функції, проте за умов надмірної активації можуть спричинювати ушкодження власних тканин і посилювати оксидативний стрес [10].

З огляду на необхідність цілеспрямованого впливу на запальні та оксидативні механізми при гострому перитоніті, застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, розглядається як перспективний терапевтичний підхід. Високий вміст у PRR факторів росту, протизапальних цитокінів та молекул з антиоксидантними властивостями створює передумови для її використання з метою корекції дисфункції нейтрофілів, зниження оксидативного навантаження та оптимізації перебігу системної запальної відповіді при перитоніті, що обґрунтовує доцільність подальших експериментальних і клінічних досліджень у цьому напрямку [3, 5, 11].

Мета роботи: встановити вплив плазми, збагаченої тромбоцитами, на рівень оксидативного стресу та фагоцитарну активність нейтрофілів при моделюванні експериментального перитоніту в щурів.

Матеріали і методи. Експериментальне дослідження проведено на статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г, відібраних випадковим чином з віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Модель гострого перитоніту відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення 10 % калової суспензії.

Через 24 год після індукції патологічного процесу тваринам основної групи вводили PRR. Оцінювання біомаркерів проводили на 1, 4, 7 та 10 доби експерименту. Досліджували динаміку

змін показників ендотоксикозу (ендотоксичний індекс інтоксикації (ЕІІ), молекули середньої маси (МСМ), імунної відповіді (циркулюючі імунні комплекси (ЦІК)), оксидативного стресу та фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів.

Усі експериментальні процедури виконано згідно з етичними принципами, затвердженими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та відповідно до вимог Європейської конвенції з питань захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Для визначення достовірності різниць між показниками застосовували t-критерій Стьюдента; вважали статистично значущими відмінності при $p < 0,05$.

Результати. У контрольній групі щурів рівень АФО становив $(0,30 \pm 0,002)$ ум. од., що відповідає фізіологічній нормі, тоді як показники сНСТ та іНСТ склали відповідно $(17,06 \pm 0,04)$ % та $(26,04 \pm 0,03)$ %, які відображають нормальну та резервну фагоцитарну активність (табл. 1). Уже через 24 год після індукції перитоніту спостерігалось різке підвищення усіх досліджуваних показників: АФО – до $(0,82 \pm 0,003)$ ум. од. ($p < 0,001$), сНСТ – до $(26,64 \pm 0,10)$ % ($p < 0,001$) та іНСТ – до $(37,68 \pm 0,08)$ % ($p < 0,001$), що вказує на гостру активацію нейтрофілів та формування вираженого оксидативного стресу.

Надалі (4–7 доби) показники залишалися підвищеними, однак мали тенденцію до поступового зниження, що може відображати виснаження компенсаторних можливостей фагоцитарної ланки та розвиток імунної дисфункції. На 10 добу рівні АФО – $(0,41 \pm 0,002)$ ум. од., сНСТ – $(19,94 \pm 0,07)$ % та іНСТ – $(31,15 \pm 0,12)$ % залишались достовірно вищими за контрольні ($p < 0,001$), але були нижчими порівняно з першим піком запальної відповіді. У тварин, які отримували PRR на тлі перитоніту, спостерігалось достовірне зниження рівня АФО й активності НСТ-тестів порівняно з нелікованими щурами, що може свідчити про зменшення інтенсивності запалення.

Уже через 24 год показники набували характеру менш вираженої активації (АФО – $(0,67 \pm 0,005)$ ум. од.; сНСТ – $(25,29 \pm 0,07)$ %; іНСТ – $(35,84 \pm 0,18)$ %, $p < 0,001$, $p_1 < 0,001$). У подальші терміни дослідження виявлено більш динамічне зниження цих показників порівняно з групою без лікування. На 10 добу рівень АФО – $(0,36 \pm 0,008)$ ум. од., сНСТ – $(18,10 \pm 0,16)$ % та НСТ –

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 1. Вплив плазми, збагаченої тромбоцитами, на оксидативний стрес та фагоцитарну активність нейтрофілів при експериментальному перитоніті у щурів

Група тварин	АФО, ум. од. (M±m)	сНСТ-тест, % (M±m)	іНСТ-тест, % (M±m)
Контрольна, n=10	0,30±0,002	17,06±0,04	26,04±0,03
Перитоніт (24 год), n=10	0,82±0,003	26,64±0,10	37,68±0,08
Перитоніт (4 доба), n=7	0,69±0,008	25,43±0,04	35,45±0,13
Перитоніт (7 доба), n=7	0,58±0,008	23,05±0,09	33,77±0,11
Перитоніт (10 доба), n=7	0,41±0,002	19,94±0,07	31,15±0,12
Перитоніт + PRP (24 год), n=8	0,67±0,005	25,29±0,07	35,84±0,18
Перитоніт + PRP (4 доба), n=6	0,52±0,01	22,60±0,10	33,19±0,07
Перитоніт + PRP (7 доба), n=6	0,47±0,005	20,76±0,06	30,17±0,10
Перитоніт + PRP (10 доба), n=6	0,36±0,008	18,10±0,16	27,96±0,05

Примітки: 1. p – достовірність різниці порівняно з контрольною групою;

2. p₁ – достовірність різниці показників між групами «Перитоніт» та «Перитоніт + PRP» у відповідні терміни спостереження. Представлені дані наведено у вигляді середнього значення ± стандартної похибки (M±m).

(27,96±0,05) % наближався до контрольних значень (усі p<0,001, p₁<0,001), що вказує на коригуючий вплив PRP на оксидативний метаболізм нейтрофілів та зменшення перевантаження фагоцитарної ланки.

Таким чином, застосування PRP при експериментальному перитоніті сприяє зниженню рівня оксидативного стресу та відновленню фагоцитарної активності нейтрофілів. Отримані результати узгоджуються з даними літератури щодо протизапальних, імуномодуючих та репаративних властивостей PRP [12], що визначає перспективність її використання як компонента комплексної терапії запальних уражень очеревини.

Отримані результати свідчать, що перебіг експериментального перитоніту супроводжується глибокими порушеннями з боку системи фагоцитозу та активації процесів оксидативного стресу,

що підтверджує важливу роль цих механізмів у патогенезі захворювання. Уже на 1-шу добу після індукції патології виявлено достовірне підвищення рівнів АФО, що свідчить про розвиток гострої запальної відповіді та метаболічну активацію клітин імунної системи, зокрема нейтрофільних гранулоцитів [13]. Надмірне накопичення АФО є не лише показником запалення, а й чинником ушкодження клітинних структур, порушення міжклітинної взаємодії та активації апоптозу, що суттєво ускладнює перебіг запального процесу.

Паралельно з ростом оксидативного навантаження спостерігалось підвищення активності фагоцитозу, що відображено в динаміці показників спонтанного (сНСТ) та індукованого (іНСТ) НСТ-тестів (рис. 1, 2). Це є свідченням мобілізації фагоцитарної ланки вродженого імунітету в умовах поширеного запалення [14]. Нейтрофіли, як перші

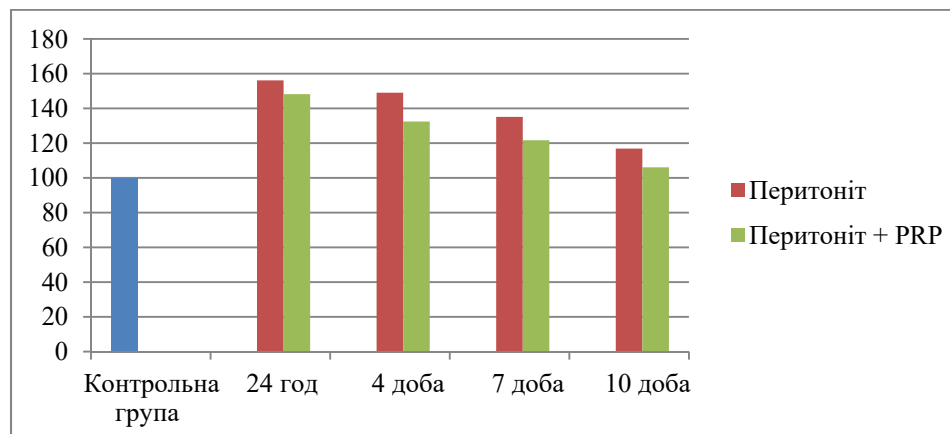


Рис. 1. Динаміка спонтанного НСТ-тесту.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

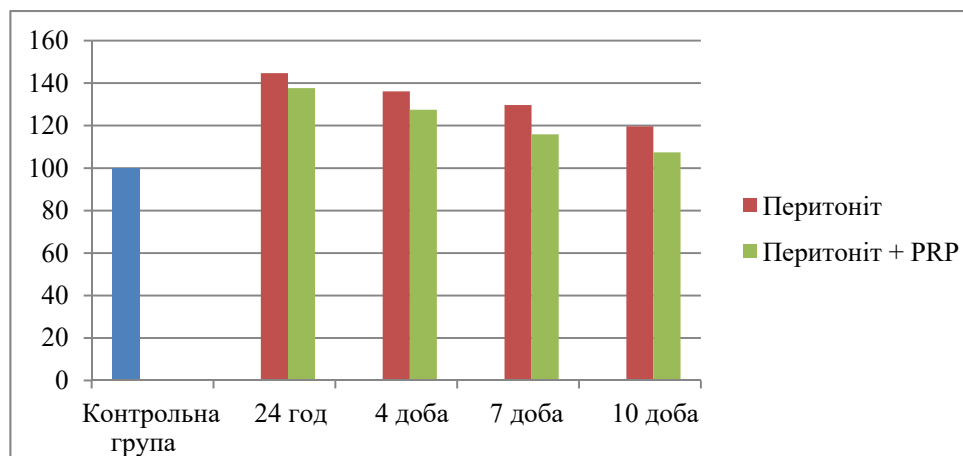


Рис. 2. Динаміка індукованого НСТ-тесту.

клітини, що прибувають у зону ураження, активно захоплюють і знешкоджують патогени, продукуючи при цьому велику кількість вільних радикалів. Однак тривала гіперактивація цих клітин призводить до виснаження їх резервів, порушення функціональної спроможності та запуску механізмів вторинного імунодефіциту.

У подальші терміни експерименту (4, 7 та 10 доби) спостерігалася тенденція до поступового зниження фагоцитарної активності, що, ймовірно, пов'язано з виснаженням енергетичних і метаболічних ресурсів нейтрофілів, апоптотичними змінами та порушенням процесів регенерації в умовах системної інтоксикації. Такий стан може розглядатися як прояв дисрегуляції імунної відповіді, що типово для пізніх фаз перитоніту й асоціюється з високим ризиком розвитку поліорганної недостатності.

На цьому тлі особливу увагу привертають дані, отримані у групі тварин, яким вводили PRP. Застосування PRP уже через 24 год після моделювання патології призвело до достовірного зниження рівнів АФО, а також зменшення показників сНСТ та іНСТ порівняно з контрольною (нелікованою) групою. Такий ефект свідчить про здатність PRP модулювати запальну відповідь, обмежуючи надлишкову продукцію вільних радикалів і запобігаючи оксидативному ушкодженню тканин [15]. Зменшення активації нейтрофілів не супроводжувалося їх функціональним пригніченням, навпаки – підтримувався оптимальний рівень фагоцитарної активності, що, ймовірно, пояснюється балансом між протизапальними та регенераторними властивостями PRP.

Відомо, що PRP містить високу концентрацію біологічно активних молекул – факторів росту (PDGF, TGF- β , VEGF тощо), цитокінів, хемокінів, а також протеїнів, здатних впливати на клітини

імунної системи. Завдяки цьому PRP не лише стимулює репаративні процеси у тканинах, а й чинить імуномодулюючу дію, нормалізуючи взаємодію між лейкоцитами, фагоцитами, ендотеліальними та епітеліальними клітинами, що критично важливо при запальних ураженнях очеревини [15].

Крім того, перебіг перитоніту супроводжується активацією адаптивної імунної відповіді, що проявляється змінами у співвідношенні лімфоцитарних субпопуляцій: CD4⁺ Т-хелперів, CD8⁺ цитотоксичних Т-лімфоцитів і CD22⁺ В-лімфоцитів. Ці клітинні популяції є ключовими регуляторами цитокінового профілю, прозапальної відповіді, активації гуморального імунітету та формування імунологічної пам'яті. Порушення їх балансу може призводити до неефективної або надмірної імунної реакції, хронізації запалення або розвитку вторинних ускладнень [16].

Таким чином, результати дослідження свідчать про важливу роль оксидативного стресу та фагоцитарної активності нейтрофілів у патогенезі перитоніту, а також демонструють потенціал PRP як ефективного імунокоригувального агента, здатного зменшити системне запалення, нормалізувати функціональну активність імунних клітин і підтримати процеси відновлення.

У тварин із контрольної групи показники клітинної ланки імунітету відповідали фізіологічній нормі: вміст CD4⁺ становив (38,41 \pm 0,06) %, CD8⁺ – (25,29 \pm 0,11) %, CD22⁺ – (7,17 \pm 0,04) %, співвідношення CD4⁺/CD8⁺ – 1,31 \pm 0,22 (табл. 2). Отримані значення вказують на збалансовану імунну регуляцію, притаманну організму без проявів гострого запалення.

Індукція перитоніту спричиняла стійке та достовірне підвищення частки CD4⁺ Т-лімфоцитів уже через 24 год (49,31 \pm 0,15) %, $p < 0,001$, яке зберігалася протягом усього періоду спостереження:

Таблиця 2. Вплив плазми, збагаченої тромбоцитами, на клітинні імунні показники при експериментальному перитоніті у щурів

Показник	Кількість, n=10	Перитоніт (24 год), n=10	Перитоніт (4 доба), n=7	Перитоніт (7 доба), n=7	Перитоніт (10 доба), n=7	Перитоніт + PRP (24 год), n=8	Перитоніт + PRP (4 доба), n=6	Перитоніт + PRP (7 доба), n=6	Перитоніт + PRP (10 доба), n=6
CD4 ⁺ , %	38,41±0,06	49,31±0,15***	48,24±0,17***	47,11±0,07***	46,44±0,07***	46,16±0,15***1	43,11±0,17***1	40,66±0,15***1	38,89±0,11***1
CD8 ⁺ , %	25,29±0,11	29,36±0,15***	26,18±0,17***	24,83±0,09*	24,44±0,15***	27,63±0,08***1	27,21±0,07***1	26,60±0,08***1	25,88±0,22*1
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,31±0,22	1,72±0,02***	1,84±0,01***	1,95±0,02***	2,04±0,03***	1,57±0,02***1	1,49±0,01***1	1,48±0,01***1	1,41±0,02***1
CD22 ⁺ , %	7,17±0,04	11,24±0,07***	11,88±0,02***	12,75±0,05***	13,56±0,05***	10,16±0,08***1	9,92±0,06***1	8,64±0,10***1	7,97±0,04***1

Примітки: 1. *** – p<0,001; ** – p<0,01; * – p<0,05 порівняно з контрольною групою;

2. p₁<0,001 порівняно з групою «Перитоніт» у відповідні терміни спостереження. Представлені дані наведено у вигляді середнього значення ± стандартної похибки (M±m).

(48,24±0,17) % – на 4, (47,11±0,07) % – на 7 та (46,44±0,07) % – на 10 доби (усі p<0,001). Така динаміка демонструє тривале збереження Т-хелперної активації, пов'язаної з інтенсивною продукцією прозапальних цитокінів та активацією макрофагів і В-клітин. Зростання CD4⁺ клітин у ранні терміни може розглядатися як первинна спроба компенсації імунної відповіді, однак її тривалість у подальшому створює передумови до імунного перенапруження.

Вміст CD8⁺ лімфоцитів також змінювався: через 24 год після моделювання перитоніту він значно зростав (29,36±0,15) %, p<0,001, але вже на 4 добу почав знижуватися до (26,18±0,17) %, p<0,001 із подальшим зменшенням на 7 – (24,83±0,09) %, p=0,008 та 10 – (24,44±0,15) %, p<0,001. Початкове підвищення відображає активацію цитотоксичної ланки проти інфекційних агентів, тоді як подальше зниження – на виснаження цитотоксичного потенціалу, характерне для системного запального перенавантаження.

Ці зміни відобразилися у прогресуючому збільшенні співвідношення CD4⁺/CD8⁺: 1,72±0,02; 1,84±0,01; 1,95±0,02 та 2,04±0,03 на 24 год, 4, 7 і 10 доби відповідно (усі p<0,001). Зростання цього співвідношення свідчить про порушення рівноваги між Т-хелперними та цитотоксичними клітинами, що може призводити до дискоординації імунної відповіді, ускладнюючи елімінацію патогенів і сприяючи хронізації запалення.

Рівні CD22⁺ В-лімфоцитів також прогресивно збільшувалися: (11,24±0,07) %, (11,88±0,02) %, (12,75±0,05) %, (13,56±0,05) % відповідно на 24

год, 4, 7 та 10 доби (усі p<0,001). Ця динаміка свідчить про стійку активацію гуморальної ланки імунітету, що може бути компенсаторним механізмом у відповідь на зниження ефективності клітинного цитотоксичного захисту. Однак надмірне зростання CD22⁺ клітин є потенційно небезпечним, оскільки сприяє гіперпродукції антитіл і підвищує ризик формування аутоімунних уражень.

Застосування PRP приводило до суттєвої корекції клітинної імунної відповіді. У тварин, які отримували PRP, рівень CD4⁺ лімфоцитів був достовірно нижчим, ніж у групі без корекції, що свідчить про зниження надмірної імунної активації: (46,16±0,15) % (24 год), (43,11±0,17) % (4 доба), (40,66±0,15) % (7 доба) та (38,89±0,11) % (10 доба) (усі p<0,001; p₁<0,001). Паралельно відзначалося збереження активності CD8⁺ на функціонально ефективному рівні: (27,63±0,08) %, (27,21±0,07) %, (26,60±0,08) % та (25,88±0,22) % у ті ж терміни (усі p₁<0,001–0,016), що підтримувало адекватний цитотоксичний потенціал.

Найбільш показовою була нормалізація співвідношення CD4⁺/CD8⁺: 1,57±0,02; 1,49±0,01; 1,48±0,01; 1,41±0,02, p₁<0,001, що свідчить про відновлення регуляторної рівноваги імунної відповіді. Одночасно під дією PRP спостерігалось пригнічення гіперреактивності В-клітинного імунітету: рівень CD22⁺ лімфоцитів знижувався до (10,16±0,08) %, (9,92±0,06) %, (8,64±0,10) % та (7,97±0,04) % у відповідні терміни (усі p₁<0,001). Це може вказувати на зменшення ризику імунопатологічних реакцій, опосередкованих надлишковим гуморальним захистом у фазі системного запалення.

Динаміка CD8⁺ Т-лімфоцитів у процесі розвитку експериментального перитоніту характеризувалася початковим підвищенням їх кількості в гострий період захворювання, що відповідає активації клітинної цитотоксичної імунної відповіді, спрямованої на елімінацію інфекційного агента. Водночас подальше зниження рівня CD8⁺ клітин на пізніших етапах спостереження може свідчити про виснаження функціональних резервів Т-кілерів, пригнічення клітинної ланки імунітету та зниження здатності організму до ефективного контролю за інфекційним процесом [17].

Виявлене при цьому зростання співвідношення CD4⁺/CD8⁺ розцінюється як маркер імунного дисбалансу, що відображає переважання допоміжної імунної відповіді над цитотоксичною. Порушення зазначеного співвідношення асоціюється з ризиком розвитку хронічного запального процесу, формування вторинного імунодефіцитного стану та підвищення ймовірності імунозалежних ускладнень [17].

Стабільне збільшення кількості CD22⁺ В-лімфоцитів упродовж усього періоду експерименту свідчить про тривалу активацію гуморальної ланки імунітету. Такий стан супроводжується підвищеною ймовірністю надмірної продукції антитіл і циркулюючих імунних комплексів, що може сприяти розвитку токсико-алергічних реакцій, імунопатологічного ушкодження тканин та посиленню системної інтоксикації – характерної ознаки прогресуючого перитоніту [18].

Застосування PRP справляло виражений регуляторний вплив на перебіг імунної відповіді. Зниження рівнів CD4⁺ і CD22⁺ клітин вказує на пригнічення надмірної активації як Т-хелперної, так і гуморальної ланок імунітету, що зменшує ризик розвитку імунопатологічних реакцій та ураження органів-мішеней. Одночасне підвищення вмісту CD8⁺ Т-лімфоцитів і нормалізація співвідношення CD4⁺/CD8⁺ свідчать про відновлення цитотоксичної функції імунної системи та підвищення здатності організму до ефективного елімінації патогенів [18].

Таким чином, PRP чинить багатокомпонентний імуномодулюючий ефект, коригуючи як надмірну, так і недостатню імунну активність, підтримуючи фізіологічні межі імунної регуляції. Узагальнення отриманих даних дозволяє стверджувати, що PRP сприяє нормалізації клітинного імунного гомеостазу, зменшенню патологічної активації адаптивної імунної відповіді та попередженню імунного виснаження. Це підтверджує її потенційну терапевтичну цінність у комплексному лікуванні перитоніту, зокрема щодо профілак-

тики ускладнень, пов'язаних з імунною дисфункцією та вторинними імунопатологічними станами.

Обговорення. Результати проведеного дослідження засвідчили, що розвиток експериментального перитоніту супроводжується потужною активацією оксидативного стресу, гіперреактивністю фагоцитарної ланки імунітету та дисбалансом адаптивної імунної відповіді, що відображає складний патофізіологічний ланцюг запальної реакції при гострому ураженні очеревини. Застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, продемонструвало багаторівневу корекцію патологічних зрушень, зокрема виражене зниження рівня АФО, що вказує на зменшення інтенсивності вільнорадикальних процесів і зменшення оксидативного ушкодження клітинних структур.

Стабілізація показників спонтанного та індукованого НСТ-тестів у тварин, які отримували PRP, свідчить про нормалізацію метаболічної активності нейтрофілів. Це може бути інтерпретовано як свідчення збереження їх фагоцитарного потенціалу при обмеженні надмірної активації, що в експериментальних моделях розглядається як механізм профілактики імунного виснаження. З огляду на дані літератури, надмірне вивільнення АФО фагоцитами у фазі генералізованого запалення є фактором ушкодження тканин й індукції вторинного цитокінового шторму [19].

У нелікованих тварин на тлі перитоніту спостерігалось різке зростання фагоцитарної активності та АФО, що є типовим для першої хвили імунної відповіді та вказує на високу активність протимікробної реакції. Однак у пізні терміни відзначено поступове зниження цих показників, що може свідчити про виснаження клітинного резерву, перехід до фази імунної дисфункції та порушення елімінації патогенів. Така динаміка є характерною для ендогенно зумовленої імуносупресії в умовах тривалого перитоніту.

На тлі цього застосування PRP супроводжувалося достовірним зниженням АФО, помірною активацією нейтрофілів та стабілізацією НСТ-показників, що свідчить про антиоксидантний і модуляторний потенціал PRP. Його механізм дії, ймовірно, пов'язаний із вмістом регенераторних факторів росту (PDGF, TGF-β, EGF, VEGF) і цитокінів, що впливають на диференціацію імунних клітин, метаболічну активність та апоптоз. Таким чином, PRP виконує функцію фізіологічного буфера між надмірною і недостатньою імунною відповіддю, підтримуючи активність фагоцитозу в межах ефективного і безпечного рівня.

Особливої уваги заслуговує вплив PRP на адаптивну імунну відповідь. У тварин із перитоні-

том вже через 24 год від моменту індукції патології спостерігалось суттєве зростання частки CD4⁺ Т-лімфоцитів, що свідчить про швидку активацію Т-хелперного пулу та індукцію гуморальної відповіді. Цей показник залишався підвищеним протягом усього періоду спостереження, що вказує на пролонговану стимуляцію адаптивного імунітету на фоні персистуючого запального і токсичного навантаження. Одночасне зниження частки CD8⁺ Т-лімфоцитів у динаміці може свідчити про виснаження цитотоксичного компонента клітинної відповіді, що обмежує ефективність клітинної елімінації збудника і підвищує ризики затяжного перебігу запалення або розвитку вторинної імунної недостатності.

Порушення співвідношення CD4⁺/CD8⁺ є відомим маркером імунного дисбалансу. В контексті перитоніту це може свідчити про переважання допоміжної імунної активації над цитотоксичною, що часто асоціюється з хронічним запаленням та потенційними аутоагресивними реакціями. У свою чергу, стабільне підвищення кількості CD22⁺ В-лімфоцитів, яке спостерігалось у тварин без корекції PRP, вказує на надмірну гуморальну активацію, що потенційно може сприяти утворенню імунних комплексів та індукції токсико-алергічних реакцій.

Під впливом PRP відзначалося зниження рівнів CD4⁺ та CD22⁺ клітин, що вказує на стримування надмірної Т-хелперної та В-клітинної активності. Одночасно зростання частки CD8⁺ клітин та нормалізація співвідношення CD4⁺/CD8⁺ свідчить про відновлення цитотоксичного потенціалу, необхідного для ефективної елімінації патогенних агентів. Таке поєднання ефектів вказує на системну імуномодулюючу дію PRP, що реалізується шляхом пригнічення імунної гіперактивації, збереження функціональної активності ефекторних клітин і попередження розвитку імунопатологічних змін.

Узагальнюючи отримані дані, можна стверджувати, що PRP реалізує свою терапевтичну дію через корекцію оксидативного стресу, зменшення системного запалення, стабілізацію фагоцитарної та адаптивної відповіді. З огляду на її багатофакторний механізм впливу, PRP може бути розцінена як перспективний біологічний регулятор для комплексної

терапії гострого перитоніту, спрямований на відновлення імунного гомеостазу, зниження інтенсивності ушкоджувальних реакцій та покращення загального прогнозу перебігу патології.

Висновки. 1. Отримані експериментальні результати підтверджують наявність вираженого багатокомпонентного терапевтичного ефекту плазми, збагаченої тромбоцитами (PRP), при моделюванні гострого перитоніту в щурів. Результати проведеного аналізу засвідчили системний вплив PRP на ключові патогенетичні ланки перебігу захворювання – оксидативні, імунні та метаболічні порушення. Гострий перитоніт супроводжується суттєвим підвищенням рівнів АФО, МСМ та ЦІК, що свідчить про надмірне оксидативне й ендотоксичне навантаження. Ці процеси сприяють ушкодженню клітинних структур, посиленню запальної реакції та прогресуванню ендогенної інтоксикації.

2. Введення PRP достовірно зменшує рівень токсичних метаболітів та обмежує інтенсивність процесів ліпідної пероксидизації, що вказує на її здатність знижувати рівень оксидативного стресу. Водночас зберігається ефективність нейтрофільної активності без надлишкової продукції вільних радикалів, що запобігає імунному виснаженню. PRP виявляє комплексну протизапальну, антиоксидантну та імуномодулюючу дії при експериментальному перитоніті. Її застосування сприяє відновленню балансу клітинної та гуморальної імунної відповіді, зниженню рівня системної інтоксикації, а також покращенню функціонального стану печінки як органа-мішені.

3. Результати дослідження доцільність використання PRP як перспективного терапевтичного агента у складі комплексного лікування перитоніту з метою зменшення проявів імунопатологічних реакцій, попередження ускладнень та покращення клінічного прогнозу.

Конфлікт інтересів. Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

Джерела фінансування. Власні кошти авторів.

Внесок авторів. Члек Р. М. – концептуалізація, дослідження, аналіз та інтерпретація, візуалізація, написання, редагування. Кліщ І. М. – аналіз та інтерпретація, візуалізація, редагування.

REFERENCES

1. Pavlovic V, Ciric M, Jovanovic V, Stojanovic P. Platelet-rich plasma: a short overview of certain bioactive components. *Open Med (Wars)*. 2016; 11(1):242-47. DOI: 10.1515/med-2016-0048.
2. Chicharro-Alcántara D, Rubio-Zaragoza M, Damiá-Giménez E,

Carrillo-Poveda JM, Cuervo-Serrato B, Peláez-Gorrea P, et al. Platelet-rich plasma: new insights for cutaneous wound healing management. *J Funct Biomater*. 2018; 9(1):10. DOI: 10.3390/jfb9010010.

3. Everts PA, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-rich plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(20):7794. DOI: 10.3390/ijms21207794.
4. Sundman EA, Cole BJ, Fortier LA. Growth factor and catabolic cytokine concentrations are influenced by the cellular composition of platelet-rich plasma. *Am J Sports Med.* 2011; 39(10):2135-140. DOI: 10.1177/0363546511417792.
5. Magalon J, Chateau AL, Bertrand B, Louis ML, Silvestre A, Giraudo L, et al. DEPA classification: a proposal for standardising PRP use. *BMJ Open Sport Exerc Med.* 2016; 2(1):e000060. DOI: 10.1136/bmjsem-2015-000060.
6. Sartelli M, Kluger Y, Ansaloni L, Hardcastle TC, Rasa K, Rello J, et al. 2020 update of the WSES guidelines for the management of intra-abdominal infections. *World J Emerg Surg.* 2020; 15:38. DOI: 10.1186/s13017-020-00316-3.
7. Coccolini F, Catena F, Sartelli M; WSES Expert Panel. Peritonitis: pathophysiology and clinical management. *Int J Surg.* 2015; 13:31-7. DOI: 10.1016/j.ijsu.2014.11.035.
8. Segal AW. How neutrophils kill microbes. *Annu Rev Immunol.* 2016; 34:197-23. DOI: 10.1146/annurev-immunol-041015-055358.
9. Dahlgren C, Karlsson A. Respiratory burst in human neutrophils. *J Immunol Methods.* 2019; 467:24-38. DOI: 10.1016/j.jim.2019.112613.
10. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal.* 2014; 20(7):1126-167. DOI: 10.1089/ars.2012.5149.
11. Boswell SG, Cole BJ, Sundman EA, Karas V, Fortier LA. Platelet-rich plasma: a milieu of bioactive factors. *Arthroscopy.* 2012; 28(3):429-39. DOI: 10.1016/j.arthro.2011.10.018.
12. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001; 10(4):225-28. DOI: 10.1097/00008505-200110000-00002.
13. Chen L, Deng H, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, et al. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget.* 2018; 9(6):7204-18. DOI: 10.18632/oncotarget.23208.
14. Rosales C. Neutrophils at the crossroads of innate and adaptive immunity. *J Leukoc Biol.* 2020; 108(1):377-96. DOI: 10.1002/JLB.4MIR0220-574RR.
15. Andia I, Maffulli N. Platelet-rich plasma: therapeutic biology. *Nat Rev Rheumatol.* 2013; 9(12):721-30. DOI: 10.1038/nrrheum.2013.141.
16. Wu D, Yang X, Han W, Liu Q. The role of adaptive immunity in sepsis: recent advances and future perspectives. *Signal Transduct Target Ther.* 2024; 9(1):25. DOI: 10.1038/s41392-024-01740-1.
17. Delano MJ, Ward PA. Sepsis-induced immune dysfunction: can immune therapies reduce mortality? *J Clin Invest.* 2016; 126(1):23-31. DOI: 10.1172/JCI82221.
18. Cavaillon JM. Sepsis and the "cytokine storm". *Med sci (Paris).* 2018; 34(1):37-44. DOI: 10.1051/medsci/20183401011.
19. Bezzetti V, Cipolli M, Caverzasi E, Vella A, Stigliani A, Sorio C, et al. A focus on inflammatory and bacterial biomarkers in peritonitis: neutrophil recruitment, cytokine gradients, and immune pathogenesis. *Cells.* 2025; 14(21):1653. DOI: 10.3390/cells14211653.

Надійшла до редакції / Received for editorial office on: 05.01.2025
 Прийнята після рецензування / Accepted after review on: 26.01.2026
 Подана до друку / Submitted for printing on: 23.02.2026

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

R. M. CHLEK, I. M. KLISHCH

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine

IMMUNOMODULATING EFFECT OF PRP THERAPY IN EXPERIMENTAL ACUTE PERITONITIS

The aim of the work: to establish the effect of platelet-rich plasma (PRP) on the level of oxidative stress and phagocytic activity of neutrophils in modeling experimental peritonitis in rats.

Material and Methods. The experimental study was conducted on sexually mature white male Wistar rats weighing 200–220 g, randomly selected from the vivarium of the I. Horbachevsky Ternopil National Medical University. The acute peritonitis model was reproduced by intraperitoneal injection of 10 % fecal suspension. 24 hours after the induction of the pathological process, the animals of the main group were injected with PRP. Biomarker evaluation was performed on the 1st, 4th, 7th and 10th days of the experiment. The dynamics of changes in endotoxemia indicators, immune response, oxidative stress and phagocytic activity of neutrophil granulocytes were studied. All experimental procedures were performed in accordance with the ethical principles approved by the First National Congress on Bioethics and in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Statistical processing of the obtained data was carried out using the Statistica 10.0 software (StatSoft Inc., USA).

Results. The use of platelet-rich plasma in experimental peritonitis contributes to a decrease in the level of oxidative stress and the restoration of neutrophil phagocytic activity. The dynamics of CD8⁺ T-lymphocytes in the process of the development of experimental peritonitis was characterized by an initial increase in their number in the acute period of the disease. It was noted that a further decrease in the level of CD8⁺ cells at later stages of observation may indicate the depletion of the functional reserves of T-killers, suppression of the cellular component of immunity and a decrease in the body's ability to effectively control the infectious process. A stable increase in the number of CD22⁺ B-lymphocytes throughout the entire period of the experiment indicates a long-term activation of the humoral component

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

of immunity. The use of platelet-rich plasma (PRP) had a pronounced regulatory effect on the course of the immune response. A decrease in the levels of CD4⁺ and CD22⁺ cells indicates the suppression of excessive activation of both T-helper and humoral components of immunity, which reduces the risk of developing immunopathological reactions and damage to target organs. A simultaneous increase in the content of CD8⁺ T-lymphocytes and normalization of the CD4⁺/CD8⁺ ratio indicate the restoration of the cytotoxic function of the immune system and an increase in the body's ability to effectively eliminate pathogens. The obtained experimental results confirm the presence of a pronounced multicomponent therapeutic effect of platelet-rich plasma (PRP) in the modeling of acute peritonitis in rats.

Conclusions. The analysis demonstrated the systemic effect of PRP on the key pathogenetic links of the disease course – oxidative, immune and metabolic disorders. Acute peritonitis is accompanied by a significant increase in the levels of reactive oxygen species, medium-weight molecules and circulating immune complexes, which indicates excessive oxidative and endotoxigenic load. These processes contribute to damage to cellular structures, increased inflammatory response and progression of endogenous intoxication. PRP exhibits a complex anti-inflammatory, antioxidant and immunomodulatory effect in experimental peritonitis. Its use helps restore the balance of cellular and humoral immune response, reduce the level of systemic intoxication, and improve the functional state of the liver as a target organ. The results of the study indicate the feasibility of using PRP as a promising therapeutic agent as part of the complex treatment of peritonitis in order to reduce the manifestations of immunopathological reactions, prevent complications, and improve clinical prognosis.

Key words: peritonitis; PRP; PRP-therapy.

Відомості про авторів

Члек Р. М. – аспірант кафедри функціональної і лабораторної діагностики закладу вищої освіти, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна, e-mail: volska@tdmu.edu.ua.

Кліщ І. М. – заслужений діяч науки і техніки України, доктор біологічних наук, професор кафедри функціональної та лабораторної діагностики закладу вищої освіти, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна, e-mail: klishch@tdmu.edu.ua.

Information about the authors

Chlek R. M. – postgraduate PhD student of the Department of Functional and Laboratory Diagnostics of the I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine, e-mail: volska@tdmu.edu.ua.

Klishch I. M. – Honored Worker of Science and Technology of Ukraine, Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Functional and Laboratory Diagnostics, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine, e-mail: klishch@tdmu.edu.ua.