УДК 616.36-002-036.12:616-091.8:577.21
https://doi.org/10.31612/2616-4868.6.2026.11

МОРФОЛОГІЧНІ ТА КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕПАРАЦІЇ ХРОНІЧНИХ РАН ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ КОМБІНОВАНИМИ МІСЦЕВИМИ ПРЕПАРАТАМИ ТА PRP ЗА ЕКСПРЕСІЄЮ CD34, CD68 І CD163

Дмитрій С. Гомола, Георгій П. Козинець, Олена О. Дядик

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна

Резюме

Актуальність. Хронічні рани супроводжуються тривалим запаленням, порушенням ангіогенезу та ремоделюванням тканинного мікрооточення, що ускладнює репарацію і знижує ефективність лікування. Імуногістохімічна оцінка маркерів CD34, CD68 та CD163 на тлі комплексного лікування комбінованими місцевими препаратами та ад'ювантним PRP, доповнена аналізом PRP-асоційованих клітинних і гуморальних показників, дозволяє деталізувати співвідношення між неоваскуляризацією, макрофагальною інфільтрацією та лабораторними ознаками репарації тканин.
Мета. Провести порівняльний аналіз експресії імуногістохімічних маркерів CD34, CD68 та CD163 у тканинах пацієнтів із хронічними ранами до та після комплексного лікування із застосуванням комбінованих місцевих препаратів та ад'ювантного PRP, а також оцінити додаткові клітинні та гуморальні показники репаративної динаміки.
Матеріали та методи. Проведено порівняльне морфологічне, імуногістохімічне та клініко-лабораторне дослідження біопсійного матеріалу і локальних показників ранового мікрооточення у 40 пацієнтів із хронічними ранами. Контрольну групу становили 20 пацієнтів, які отримували стандартне лікування; в основній групі оцінювали матеріал до початку лікування та після комплексного лікування, основу місцевої складової якого становили комбіновані препарати, а PRP застосовували як ад'ювантний компонент. Експресію CD34, CD68 та CD163 визначали у репрезентативних полях зору при збільшенні ×400. Додатково аналізували клітинний склад ранових відбитків, НСТ-тест нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів, а також TGF-фактор, активні форми кисню, фібронектин, кальпаїн та прозапальні цитокіни у 1, 7 та 14 добу.
Результати. Після лікування частка CD34-позитивних клітин зростала з 6,92% до 26,77%, що свідчило про активацію ангіогенезу. Одночасно спостерігалося зниження кількості CD68-позитивних клітин з 67,83% до 27,05% та CD163-позитивних клітин з 73% до 40,9%, що відображало зменшення макрофагальної інфільтрації та перебудову тканинного мікрооточення. В основній групі, що отримувала комбіновані місцеві препарати з ад'ювантним PRP, додатково встановлено зниження вмісту нейтрофільних гранулоцитів у ранових відбитках з 73,3±6,0% до 55,9±6,2%, підвищення вмісту моноцитів з 3,9±1,7% до 10,2±1,2%, зростання TGF-фактору з 100,8±6,3 до 131,4±5,9 пг/мл та фібронектину з 146,6±3,9 до 182,0±2,5 пг/мл, а також зниження активних форм кисню, кальпаїну та прозапальних цитокінів.
Висновок. На тлі комплексного лікування комбінованими місцевими препаратами та ад'ювантним PRP комплексна оцінка експресії CD34, CD68 та CD163 у поєднанні з PRP-асоційованими клітинними й гуморальними показниками дозволяє охарактеризувати морфологічні та лабораторні ознаки репарації хронічних ран. Отримані дані свідчать про активацію ангіогенезу, зменшення запального макрофагального компонента та формування більш сприятливого ранового мікрооточення.

Ключові слова: **ангіогенез, імуногістохімія, PRP, комбіновані місцеві препарати, комплексне лікування, регенерація тканин, макрофаги, запалення, ендотеліальні клітини, мікросудинна щільність.**

ВСТУП

Порушення процесів регенерації тканин, зокрема при хронічних ранах і післяопераційних ранових дефектах, залишаються актуальною проблемою сучасної хірургії, патологічної морфології та клінічної медицини. Хронічні рани формуються в умовах тривалої запальної відповіді, порушення мікроциркуляції, дисбалансу клітинних популяцій і недостатньої координації між фазами запалення, проліферації та ремоделювання. У сучасних публікаціях підкреслюється, що ефективність загоєння залежить не лише від локального контролю інфекції та стану ранової поверхні, а й від здатності тканин переходити від персистувального запалення до ангіогенезу, формування грануляційної тканини та ремоделювання позаклітинного матриксу [1, 2, 4].

Ангіогенез є одним із ключових морфологічних механізмів репарації, оскільки новоутворені судини забезпечують доставку кисню, поживних речовин і медіаторів, необхідних для проліферації клітин та формування грануляційної тканини. Для морфологічної оцінки цього процесу широко використовують CD34 як маркер ендотеліальних клітин і показник мікросудинної щільності. Підвищення експресії CD34 у тканинах рани може свідчити про активацію неоваскуляризації, проте інтерпретація цього показника потребує зіставлення з вираженістю запалення та станом клітинного мікрооточення [4, 14, 22].

Макрофаги є центральними регуляторами запальної та репаративної відповіді. CD68 доцільно розглядати як загальний макрофагальний маркер, що характеризує вираженість макрофагальної інфільтрації, але не є специфічним маркером M1-фенотипу. CD163, навпаки, асоціюється з M2-подібною поляризацією макрофагів, процесами протизапальної регуляції, ремоделювання тканин і репарації. Саме тому одночасний аналіз CD68 і CD163 дозволяє не лише оцінити загальну кількість макрофагів, а й обережно охарактеризувати зміну їх функціональної спрямованості у тканинному мікрооточенні [8, 9, 11, 12].

У сучасних роботах наголошується на взаємозалежності ангіогенезу, макрофагальної відповіді та ремоделювання тканин. Надмірна або тривала макрофагальна інфільтрація підтримує хронічне запалення, тоді як контроль запального компонента створює умови для проліферації ендотеліоцитів і формування судинних структур. Водночас зниження CD163 після лікування не може автоматично трактуватися як несприятлива ознака, оскільки цей показник залежить від фази загоєння, щільності клітинної інфільтрації та співвідношення між резолюцією запалення і ремоделюванням тканини [9, 12, 17, 19].

Імуногістохімічні методи залишаються важливим інструментом об'єктивізації морфологічних змін у тканинах хронічних ран. Вони дозволяють поєднати якісну оцінку гістоархітектоніки з кількісним або напівкількісним аналізом клітинних популяцій. Водночас для коректної інтерпретації результатів необхідно чітко визначати критерії позитивності маркерів, стандартизувати вибір полів зору, враховувати межі застосування агрегованих клітинних підрахунків і уникати прямого ототожнення окремих маркерів із функціонально однорідними клітинними субпопуляціями [15, 16].

Останніми роками дедалі активніше застосовуються цифрові методи аналізу гістологічних зображень, які підвищують точність морфометрії та зменшують суб'єктивність оцінки. Використання цифрових інструментів дає змогу стандартизувати підрахунок позитивно забарвлених клітин, зіставляти результати між групами та формувати кількісні критерії оцінки тканинної відповіді. У цьому контексті комплексне вивчення CD34, CD68 та CD163 є перспективним підходом для характеристики репаративних процесів у хронічних ранах [21].

У комплексному лікуванні хронічних ран важливе місце посідають комбіновані місцеві препарати, що поєднують антимікробні та репаративно спрямовані компоненти й забезпечують послідовний вплив на очищення рани, формування грануляційної тканини та епітелізацію [2-4]. У досліджуваній схемі саме такі препарати становили основу місцевого лікування, тоді як PRP використовували як ад'ювантний компонент. У контексті ад'ювантного лікування хронічних ран особливе значення має platelet-rich plasma (PRP), або плазма, збагачена тромбоцитами. PRP є джерелом факторів росту, цитокінів і адгезивних білків, здатних впливати на запалення, ангіогенез, активність фібробластів, синтез позаклітинного матриксу та епітелізацію. Сучасні систематичні огляди свідчать, що PRP може покращувати показники загоєння хронічних ран, однак ефективність залежить від етіології рани, способу приготування та застосування PRP, а також від наявності супутньої інфекції, порушень мікроциркуляції та метаболічних чинників [25-29]. З огляду на це оцінка морфологічних змін тканин у поєднанні з аналізом клітинних і гуморальних показників у PRP-групі дозволяє більш комплексно охарактеризувати перебіг репаративних процесів при хронічних ранах.

Незважаючи на наявність досліджень, присвячених окремим аспектам загоєння ран, комплексна кількісна оцінка CD34, CD68 та CD163 у динаміці лікування залишається недостатньо висвітленою. Особливої уваги потребує поєднана інтерпретація ангіогенезу, загальної макрофагальної інфільтрації та CD163-позитивного

компонента, оскільки ці показники відображають різні, але взаємопов'язані ланки репарації. Саме тому дослідження імуногістохімічних змін у тканинах хронічних ран може доповнити морфологічні критерії оцінки перебігу регенерації та ефективності лікувальної тактики.

МЕТА

Провести порівняльний аналіз експресії імуногістохімічних маркерів CD34, CD68 та CD163 у тканинах пацієнтів із хронічними ранами у динаміці комплексного лікування комбінованими місцевими препаратами та ад'ювантним PRP, а також оцінити додаткові клітинні й гуморальні показники репаративної динаміки.

Завдання дослідження полягало у: 1) визначенні рівня експресії CD34, CD68 та CD163 у досліджуваних групах; 2) порівнянні морфологічних показників до та після лікування; 3) оцінці протилежної динаміки ангіогенезу та макрофагальної інфільтрації без формулювання кореляційних висновків за відсутності спеціального кореляційного аналізу.

Наукова новизна полягає у комплексній кількісній оцінці експресії CD34, CD68 та CD163 із використанням морфометричного та статистичного аналізу для визначення їх ролі у процесах регенерації тканин у динаміці лікування.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження виконано як порівняльне морфологічне та імуногістохімічне дослідження з елементами кількісного морфометричного аналізу. Об'єктом дослідження були біопсійні зразки тканин хронічних ран, отримані у пацієнтів у динаміці лікування. Морфологічну оцінку тканин проводили з урахуванням загальноприйнятих принципів патологічної морфології та інтерпретації запально-регенераторних змін [15], а імуногістохімічну оцінку експресії CD34, CD68 та CD163 – відповідно до сучасних підходів до використання діагностичних імуногістохімічних маркерів [16].

Дослідження проведено відповідно до принципів Гельсінської декларації. Усі пацієнти надали інформовану добровільну згоду на участь у дослідженні. Робота схвалена комісією з питань біомедичної етики Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (протокол № 8 від 07.11.2022).

У дослідження було включено 40 пацієнтів із хронічними ранами м'яких тканин, яких розподілили на дві клінічні групи по 20 осіб. Групу контролю (група 0) становили пацієнти з хронічними ранами, які отримували стандартне лікування відповідно до загальноприйнятих клінічних підходів: хірургічну обробку рани за показаннями, місцеву антисептичну обробку, перев'язки, контроль ексудації та корекцію супутніх чинників, що впливають на загоєння. Основну групу становили пацієнти, які отримували комплексне лікування: основу місцевої складової становила двокомпонентна схема комбінованих препаратів з антимікробною та репаративно спрямованою дією, а PRP застосовували як ад'ювантний компонент. Після санації рани послідовно застосовували спрей із декаметоксином, гідролізованим колагеном, гліцином, аргініном та аспарагіновою кислотою, а після 5-хвилинної експозиції — гель із гідролізованим колагеном, гіалуронатом натрію, сульфадіазином срібла, декаметоксином і діоксидом кремнію з подальшим накладанням асептичної пов'язки; курс становив 10-20 процедур залежно від клінічного стану. У цій групі морфологічну оцінку проводили до початку лікування (група I) та після проведеного лікування (група II). Таким чином, групи I та II відображали динаміку морфологічних змін у межах основної групи, тоді як група 0 використовувалася як клінічне порівняння стандартного лікування і не розглядалася як група здорових осіб.

До дослідження включали зразки тканин із достатнім обсягом матеріалу та збереженою гістоархітектонікою, придатні для гістологічного й імуногістохімічного аналізу. *Критеріями включення* були наявність хронічного ранового процесу м'яких тканин, потреба у морфологічній оцінці ранової тканини та можливість отримання якісного біопсійного матеріалу. *Критеріями виключення* вважали недостатню якість гістологічного матеріалу, виражені артефакти фіксації або деструктивні зміни тканин, що унеможливлювали коректну оцінку експресії маркерів.

Патоморфологічне дослідження фрагментів шкіри проводили на кафедрі клінічної патології та судової медицини НУОЗ України імені П. Л. Шупика (завідувачка кафедри – професор Дядик О. О.). Отриманий матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального забуференого формаліну (pH 7,4) протягом 24-48 годин. Після цього матеріал проводили за стандартною методикою в апараті Tissue-Tek VIP 6A1 (Sakura, Японія) та заливали у парафінові блоки з використанням системи Tissue-Tek (Sakura, Японія). З парафінових блоків на ротаційному мікротомі HM 325 (Thermo Scientific Microm, Велика Британія) виготовляли серійні гістологічні зрізи товщиною 3-4 мкм. Для загальної морфологічної оцінки проводили забарвлення гематоксиліном та еозином, а також за ван Гізоном.

Мікроскопічне дослідження та фотоархівування препаратів проводили з використанням мікроскопів фірми ZEISS (Німеччина) із застосуванням системи «Axio Imager A2» зі збільшенням об'єктивів 5×, 10×, 20× та 40×, бінокулярною насадкою 1,5× та

окуляром 10×, оснащених цифровою камерою ERc 5s, а також мікроскопу «Carl Zeiss PrimoStar» з камерою Axiocam 105 color.

Для оцінки ангіогенезу та макрофагальної інфільтрації застосовували імуногістохімічні маркери CD34, CD68 та CD163. Маркер CD34 використовували для оцінки ендотеліального компонента та мікросудинної щільності. CD68 розглядали як загальний макрофагальний маркер, що характеризує вираженість макрофагальної інфільтрації, але не є специфічним маркером M1-фенотипу. CD163 інтерпретували як M2-асоційований макрофагальний маркер, пов'язаний із процесами протизапальної регуляції, тканинного ремоделювання та репарації [15, 16]. Таким чином, CD34 використовували для морфологічної оцінки ангіогенезу, а CD68 і CD163 – для характеристики різних аспектів макрофагального компонента тканинного мікрооточення.

Імуногістохімічне дослідження проводили із використанням мишачого моноклонального антитіла CD34 (клон QBEnd/10, Master Diagnostica, Іспанія) для ідентифікації антигена CD34 людини та мишачих моноклональних антитіл проти CD68 (Clone KP-1, Master Diagnostica, Іспанія) та CD163 (Clone EP324, Master Diagnostica, Іспанія). Зрізи наносили на адгезивні скельця Super Frost Plus (Menzel, Німеччина). Для високотемпературної демаскувальної обробки антигенів використовували цитратний буфер pH6 (TBS Tween 20) та EDTA-фосфатний буфер pH8. Візуалізацію реакції здійснювали із застосуванням системи детекції Master Polymer Plus Detection (Peroxidase, хромоген DAB) (Master Diagnostica, Іспанія). Оцінку експресії досліджуваних маркерів проводили відповідно до наявності та/або відсутності коричневого забарвлення клітин різного ступеня інтенсивності згідно з візуально-аналоговою шкалою. Інтенсивність експресії оцінювали від 0 («відсутня») до +++ («виражена»). Отримані результати інтерпретували відповідно до сучасних рекомендацій напівкількісної оцінки імуногістохімічної експресії [15, 16].

Оцінку експресії маркерів проводили при збільшенні ×400 у трьох репрезентативних полях зору для кожного досліджуваного маркера. Поля зору обирали у ділянках зі збереженою гістоархітектонікою, без виражених некротичних змін, артефактів фіксації або механічного ушкодження зрізу. Для CD68 та CD163 позитивними вважали клітини з вираженою експресією (++–+++); клітини з негативною або слабкою експресією відносили до негативних. Для CD34 позитивними вважали клітини з інтенсивною експресією, які морфологічно відповідали ендотеліоцитам; клітини з негативною, слабкою або помірною експресією не включали до групи позитивних. Кількість CD34-позитивних клітин розглядали як морфометричний показник ендотеліального компонента та мікросудинної щільності [15, 16].

Оцінку наявності та ступеня експресії маркерів при імуногістохімічному дослідженні проводили з використанням сканера 3DHISTECH Pannoramic DESK DW II та програмного забезпечення SlideViewer із застосуванням плагіна QuantCenter. Отримані результати подавали у вигляді абсолютних значень та відсоткового співвідношення позитивно забарвлених клітин, що дозволяло провести коректний порівняльний аналіз між досліджуваними групами [18].

Додатково в основній групі, де PRP застосовували як ад'ювантний компонент, оцінювали клітинний склад ранових відбитків і функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів та моноцитів за НСТ-тестом у 1, 7 та 14 добу спостереження. Для характеристики гуморальних і метаболічних змін ранового мікрооточення визначали вміст TGF-фактору, активних форм кисню (ROS), фібронектину, кальпаїну та прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, ФНП) у капілярній крові зони ранового дефекту. Ці показники використовували як додаткові лабораторні критерії локальної запальної та репаративної динаміки.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням бібліотеки SciPy (версія 1.16.3) мови програмування Python. Результати морфометричного підрахунку подавали як абсолютну кількість позитивних клітин, загальну кількість підрахованих клітин та відсоток позитивних клітин у відповідній групі. Для порівняння часток позитивних клітин використовували критерій χ^2 або критерій χ^2 з поправкою Єйтса у випадках малих вибірок [23, 24]. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Водночас агреговані клітинні підрахунки інтерпретували як морфометричні показники групового рівня, а не як повністю незалежні клінічні спостереження; тому статистичні результати розглядали з урахуванням можливого ризику псевдореплікації.

РЕЗУЛЬТАТИ

Отримані результати імуногістохімічного дослідження відображають зміни експресії маркерів CD34, CD68 та CD163 у пацієнтів із хронічними ранами на тлі проведеного лікування. Групу контролю (група 0) становили пацієнти із хронічними ранами, які отримували стандартне лікування, тоді як групи I та II відображали стан тканин основної групи до та після проведеного лікування. У результаті проведеного імуногістохімічного дослідження встановлено відмінності експресії маркерів CD34, CD68 та CD163 між досліджуваними групами, що відображають

динаміку змін процесів ангіогенезу та макрофагальної інфільтрації у тканинах. Оскільки основна група отримувала багатокомпонентне лікування, виявлені морфологічні зміни характеризують ефект усієї схеми і не можуть бути приписані лише PRP або окремому місцевому препарату.

Аналіз експресії CD34 показав, що у групі до початку лікування спостерігається зниження кількості клітин з вираженою позитивною експресією маркера порівняно з групою контролю (група 0), що свідчило про пригнічення процесів неоваскуляризації. Після проведеного лікування встановлено суттєве підвищення кількості CD34-позитивних клітин, що відображає активацію ангіогенезу. Виявлені відмінності між групами є статистично достовірними ($p < 0,001$) (табл. 1).

Таблиця 1

Порівняльна характеристика експресії CD34, CD68 та CD163 у досліджуваних групах

Маркер/Група	Група контролю (група 0), позитивні/усього (%)	Група I (до лікування), позитивні/усього (%)	Група II (після лікування), позитивні/усього (%)	p
CD34	366/4009 (9,13%)	292/4220 (6,92%)	872/3257 (26,77%)	p<0,001
CD68	2843/3960 (71,79%)	2376/3503 (67,83%)	764/2824 (27,05%)	p<0,001
CD163	2939/3330 (88,26%)	2396/3282 (73,00%)	1640/4010 (40,90%)	p<0,001

Примітка: збільшення ×400, підрахунок у 3 репрезентативних полях зору. У клітинках наведено кількість позитивних клітин / загальну кількість підрахованих клітин та відсоток позитивних клітин. Для CD68 та CD163 позитивними вважали клітини з експресією ++–+++, клітини з негативною або слабкопозитивною експресією відносили до негативних. Для CD34 позитивними вважали лише клітини з вираженою експресією, які морфологічно відповідали ендотеліоцитам. Кількість CD34-позитивних клітин розглядали як показник ендотеліального компонента та мікросудинної щільності.

Проведений аналіз також показав, що рівень експресії CD68 у групі до лікування залишається високим, що свідчить про збереження вираженої запальної інфільтрації. Після лікування спостерігається достовірне зниження кількості CD68-позитивних клітин ($p < 0,001$), що вказує на зменшення активності запального процесу.

Аналіз експресії CD34, наведений у таблиці 1, продемонстрував, що у групі I (до лікування) частка клітин із вираженою позитивною експресією була нижчою, ніж у групі контролю (група 0), і становила 6,92% проти 9,13%. Після лікування цей показник зростав до 26,77% ($p < 0,001$), що свідчило про активацію ангіогенезу та збільшення кількості ендотеліоцитів у досліджуваних полях зору. Морфологічно зазначені зміни підтверджувалися імуногістохімічною картиною: до лікування візуалізувалися поодинокі CD34-позитивні елементи та менш виражена судинна мережа, тоді як після лікування відзначалося збільшення кількості чітко окреслених CD34-позитивних судинних структур (рис. 1а, 1г). Зменшення макрофагальної інфільтрації підтверджувалося динамікою CD68 та CD163 (рис. 1б, 1в, 1д, 1е).

Визначалася помірна та місцями знижена експресія CD34 у клітинах, що морфологічно відповідали ендотеліоцитам. CD34-позитивне забарвлення візуалізувалося переважно по контуру окремих судинних структур, при цьому щільність позитивних ендотеліальних елементів була невисокою. Судинна мережа виглядала менш розвиненою, у частині полів зору спостерігалися поодинокі або тонкостінні судини з обмеженою кількістю чітко позитивних клітин. Така морфологічна картина відповідала зниженій інтенсивності ангіогенезу до початку лікування та узгоджувалася з низькою часткою CD34-позитивних клітин у групі I (див. рис. 1а).

Після лікування відзначалася більш виражена експресія CD34 у клітинах ендотеліального ряду порівняно з препаратом до лікування. Візуалізувалася більша кількість CD34-позитивних судинних структур, чіткіше окреслені контури ендотеліоцитів та вища щільність позитивно забарвлених елементів у полі зору. Судини були представлені частіше та мали більш виразну ендотеліальну вистилку, що свідчило про посилення процесів неоваскуляризації. Отримана морфологічна картина відповідала статистично значущому збільшенню частки CD34-позитивних клітин після лікування (див. рис. 1г).

Аналіз експресії CD68 показав, що у групі до лікування зберігався високий рівень загальної макрофагальної інфільтрації: частка CD68-позитивних клітин становила 67,83%, тоді як після лікування знижувалася до 27,05% ($p < 0,001$). Мікроскопічно до лікування визначалася значна кількість клітин із вираженим цитоплазматичним забарвленням, розташованих дифузно у стромі та периваскулярно, що відповідало активній запальній інфільтрації (рис. 1б). Після лікування інтенсивність і поширеність CD68-позитивної реакції зменшувалися; позитивні клітини розташовувалися переважно вогнищево і не формували масивного дифузного інфільтрату (рис. 1д). Отримані зміни свідчили про зниження вираженості макрофагального компонента запалення, однак CD68 інтерпретували саме як загальний макрофагальний маркер, а не як специфічну ознаку M1-поляризації.

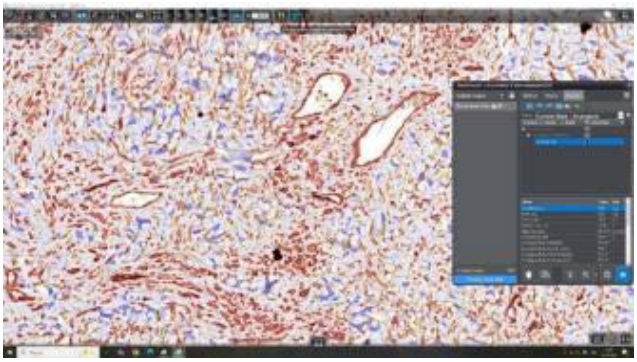

Рисунок 1а. CD34 до лікування.

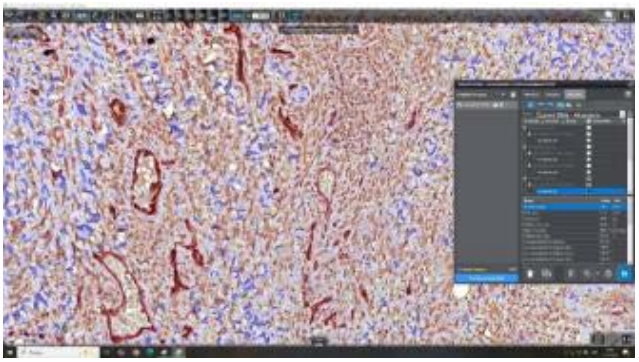

Рисунок 1б. CD68 до лікування.

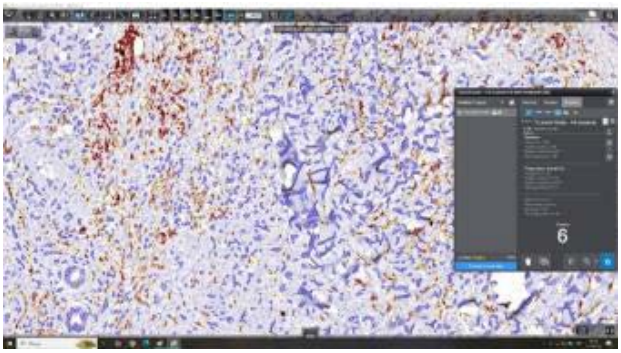

Рисунок 1в. CD163 до лікування.

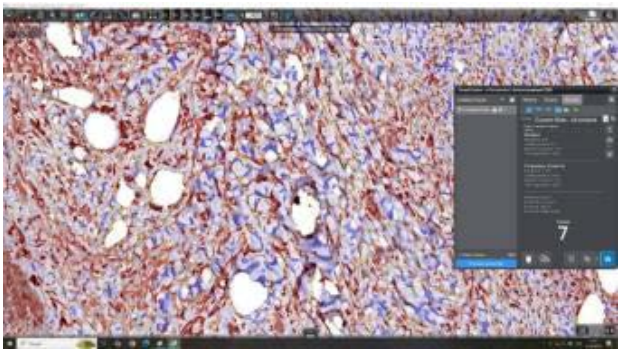

Рисунок 1 г. CD34 після лікування.

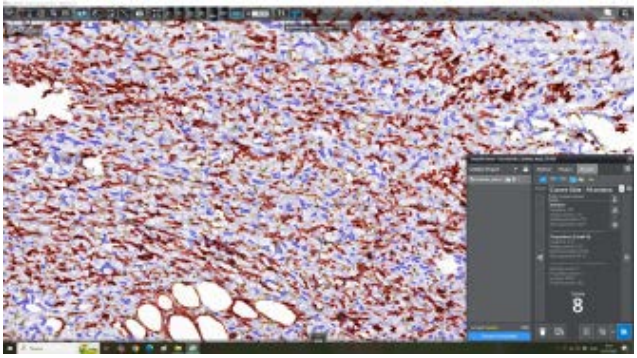

Рисунок 1д. CD68 після лікування.

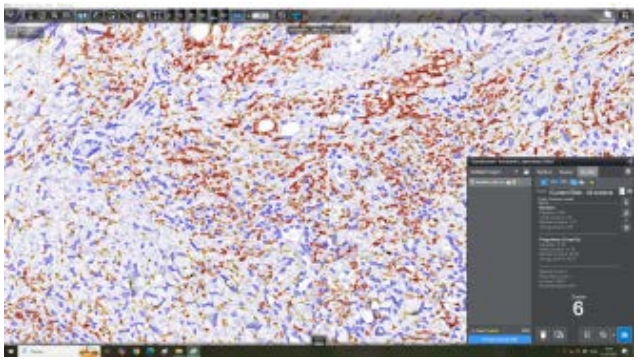

Рисунок 1е. CD163 після лікування.

Рисунок 1. Імуногістохімічна експресія маркерів CD34, CD68 та CD163 у тканинах хронічних ран до та після лікування.

* – а – експресія CD34 до лікування: помірна кількість CD34-позитивних ендотеліоцитів та поодинокі судинні структури; б – експресія CD68 до лікування: виражена макрофагальна інфільтрація та значна кількість CD68-позитивних клітин; в – експресія CD163 до лікування: виражена експресія CD163-позитивних макрофагів у стромі тканини; г – експресія CD34 після лікування: збільшення кількості CD34-позитивних ендотеліальних клітин і мікросудин; д – експресія CD68 після лікування: зменшення кількості CD68-позитивних макрофагів та вираженості запальної інфільтрації; е – експресія CD163 після лікування: зниження кількості CD163-позитивних клітин після лікування. Імуногістохімічне дослідження, ×400. Джерело: авторська розробка.

Зниження CD68-позитивної клітинної популяції після лікування поєднувалося зі збільшенням CD34-позитивного ендотеліального компонента. Така протилежна динаміка показників відповідала переходу тканинного мікрооточення від переважання запальної інфільтрації до активізації процесів неоваскуляризації. При цьому отримані дані розглядали як морфологічну характеристику змін у тканинах, а не як доказ прямого причинно-наслідкового або кореляційного зв'язку між маркерами.

Аналіз експресії CD163 продемонстрував наявність значної кількості позитивно забарвлених клітин у тканинах хронічних ран до лікування. CD163-позитивні клітини локалізувалися переважно у стромі та навколо судинних структур, формуючи M2-асоційований макрофагальний компонент тканинного мікрооточення (рис. 1в). У групі контролю частка CD163-позитивних клітин становила 88,26%, у групі I – 73%, тоді як після лікування показник знижувався до 40,9% ($p < 0,001$). Морфологічно це супроводжувалося зменшенням щільності позитивно забарвлених клітин та менш вираженою цитоплазматичною реакцією (рис. 1е). Зниження CD163 після лікування інтерпретували обережно:

воно може відображати не пригнічення репарації, а зменшення загальної щільності макрофагальної інфільтрації на тлі переходу тканини до менш запальної фази та ремоделювання клітинного складу ранового мікрооточення.

Узагальнений аналіз результатів показав, що після лікування відбувалася перебудова тканинного мікрооточення: частка CD34-позитивних клітин зростала з 6,92% до 26,77%, кількість CD68-позитивних клітин зменшувалася з 67,83% до 27,05%, а CD163-позитивних – з 73% до 40,9%. Така динаміка свідчить про посилення ендотеліального компонента та зменшення макрофагальної інфільтрації, що може відповідати переходу тканин від тривалого запалення до репаративного ремоделювання.

Отримані результати демонструють статистично значущу різницю у частках позитивно забарвлених клітин між досліджуваними групами ($p < 0,001$). Однак з огляду на використання агрегованих клітинних підрахунків ці результати слід трактувати як морфометричну характеристику досліджуваного матеріалу, що потребує подальшого підтвердження на рівні індивідуальних пацієнтських показників.

Порівняння з групою контролю показало, що рівень CD34 у групі 0 становив 9,13%, тобто перевищував показник до лікування, але залишався нижчим порівняно з групою після лікування. Це може свідчити про більш виражену активацію ендотеліального компонента у тканинах після проведеного лікування. Водночас група контролю не була групою здорових осіб, тому отримані відмінності відображають порівняння різних клінічних варіантів перебігу хронічного ранового процесу.

Додатковий аналіз PRP-асоційованих клітинних і гуморальних показників в основній групі продемонстрував позитивну динаміку ранового процесу протягом 14 діб спостереження. Для компактного представлення в таблиці 2 узагальнено ключові результати оцінки клітинного складу ранових відбитків, НСТ-тесту нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів, гуморальних показників капілярної крові та прозапальних цитокінів.

Таблиця 2

Узагальнена динаміка окремих клітинних і гуморальних показників в основній групі (PRP-асоційований лабораторний блок)

Показник	1 доба	7 доба	14 доба
Нейтрофільні гранулоцити, %	73,3±6,0	63,5±2,7	55,9±6,2*
Функціональна активність нейтрофілів (НСТ), %	24,9±3,3	23,2±2,7	18,2±2,1*
Моноцити, %	3,9±1,7	8,4±1,3*	10,2±1,2*
Функціональна активність моноцитів (НСТ), %	2,3±1,1	5,3±1,2*	7,3±1,3**
TGF-фактор, пг/мл	100,8±6,3	120,6±3,3**	131,4±5,9**
ROS, мкмоль/мл	1,6±0,1	1,3±0,12**	1,2±0,10**
Фібронектин, пг/мл	146,6±3,9	164,1±3,0**	182,0±2,5**
Кальпаїн, Мк Екв/хв	57,3±1,6	51,2±2,1**	46,0±1,5**
ІЛ-1 / ІЛ-6 / ФНП, пг/мл	65,6 / 63,3 / 65,9	54,9 / 54,9 / 63,9	33,4 / 46,8 / 49,3

Примітка: таблицю складено на основі результатів аналізу клітинного складу ранових відбитків, функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів, гуморальних показників капілярної крові зони ранового дефекту та прозапальних цитокінів в основній групі в межах PRP-асоційованого лабораторного блоку. Наведено ключові показники на 1-шу, 7-му та 14-ту добу спостереження. * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$ відповідно до вихідних даних. ROS – активні форми кисню; НСТ – тест відновлення нітросинього тетразолію; ФНП – фактор некрозу пухлин.

У межах додаткового PRP-асоційованого аналізу основної групи встановлено зменшення частки нейтрофільних гранулоцитів у ранових відбитках з 73,3±6,0% до 55,9±6,2% та зниження функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів за даними НСТ-тесту з 24,9±3,3% до 18,2±2,1%. Одночасно відзначалося збільшення вмісту моноцитів з 3,9±1,7% до 10,2±1,2% та підвищення їх функціональної активності з 2,3±1,1% до 7,3±1,3%. Така динаміка свідчила про поступове зменшення нейтрофільного компонента запалення та посилення моноцитарно-макрофагальної ланки, пов'язаної з очищенням рани і переходом до репаративної фази. Паралельно спостерігалося підвищення концентрації TGF-фактору з 100,8±6,3 до 131,4±5,9 пг/мл та фібронектину з 146,6±3,9 до 182,0±2,5 пг/мл, що може відображати активацію процесів тканинної репарації, формування позаклітинного матриксу та грануляційної тканини. Одночасне зниження рівня активних форм кисню з 1,6±0,1 до 1,2±0,10 мкмоль/мл, кальпаїну з 57,3±1,6 до 46,0±1,5, а також прозапальних цитокінів ІЛ-1, ІЛ-6 та ФНП підтверджувало зменшення оксидативно-запального та протеолітичного компонентів ранового процесу.

ДИСКУСІЯ

Отримані дані узгоджуються з сучасними уявленнями про те, що контроль запальної відповіді є необхідною умовою переходу ранової тканини

до проліферації та ремоделювання. Макрофаги беруть участь у фагоцитозі, регуляції цитокінового профілю, стимуляції ангіогенезу та ремоделюванні позаклітинного матриксу, однак тривале збереження інтенсивної макрофагальної інфільтрації підтримує хронічне запалення і може затримувати репарацію [8, 10, 11]. У нашому дослідженні зниження CD68-позитивних клітин після лікування свідчило про зменшення загального макрофагального компонента, тоді як одночасне підвищення CD34 відображало активацію ендотеліальної відповіді. Додаткові PRP-асоційовані показники основної групи узгоджуються з цією інтерпретацією: зменшення ROS, кальпаїну, ІЛ-1, ІЛ-6 та ФНП відповідало ослабленню запально-деструктивного компонента, тоді як підвищення TGF-фактору і фібронектину свідчило про активацію матриксних і ростових механізмів репарації.

Порівняння з даними літератури свідчить, що підвищення CD34-позитивного ендотеліального компонента відповідає сучасним уявленням про роль неоангіогенезу у формуванні грануляційної тканини та забезпеченні метаболічних потреб регенеруючих тканин [4, 14, 22]. Подібні закономірності описані у дослідженнях, де відновлення мікросудинної мережі розглядається як один із ключових морфологічних критеріїв ефективного загоєння. У цьому контексті отримане підвищення CD34 до 26,77% після лікування може бути інтерпретоване як ознака активації судинного компонента репарації.

Особливої уваги потребує інтерпретація CD163. У літературі CD163 розглядають як M2-асоційований маркер, пов’язаний із протизапальною регуляцією, ефероцитозом, ремоделюванням тканин та підтримкою репаративних процесів [8, 11]. Тому зниження CD163 після лікування не слід трактувати спрощено як зменшення репаративного потенціалу. Ймовірніше, воно відображає загальне зменшення щільності макрофагальної інфільтрації та перехід тканинного мікрооточення до іншої фази загоєння, коли потреба у значній кількості CD163-позитивних клітин зменшується.

У роботах Krzyszczyk P. et al. [10] та інших авторів підкреслюється, що функціональна пластичність макрофагів є одним із механізмів, який визначає успішність переходу від запалення до репарації. Дані Woo K. et al. [19] також демонструють значення контролю запальної відповіді для перебігу ранового процесу. Наші результати доповнюють ці спостереження морфологічними даними: зменшення CD68- і CD163-позитивних клітин відбувалося одночасно зі зростанням CD34-позитивного ендотеліального компонента.

Разом з тим, підвищення CD34 не є самостійним доказом повноцінного функціонального відновлення судинної мережі. У літературі зазначено, що надмірний або дискоординований ангіогенез може супроводжуватися формуванням функціонально незрілих судин [18]. Тому отримані дані доцільно розглядати як морфологічну ознаку активації ангіогенезу, яка потребує подальшого зіставлення з клінічними показниками загоєння, зокрема площею рани, швидкістю епітелізації, якістю грануляційної тканини та частотою ускладнень.

Отримані результати також узгоджуються з даними сучасних систематичних оглядів і метааналізів щодо PRP при хронічних ранах. Водночас у нашому дослідженні PRP застосовували в межах комплексної схеми разом із комбінованими місцевими препаратами, тому таке зіставлення не є оцінкою ізольованої ефективності PRP. За даними Qu et al. [25], автологічна PRP може підвищувати частоту повного закриття хронічних ран нижніх кінцівок, скорочувати час загоєння та зменшувати площу дефекту. Метааналіз Meznerics et al. [26] підтверджує потенційну ефективність PRP у менеджменті хронічних ран, водночас наголошуючи на гетерогенності протоколів. Salgado-Pacheco et al. [27] підкреслюють, що результати PRP-терапії залежать від етіології хронічної рани, тому морфологічні та лабораторні критерії, подібні до використаних у нашому дослідженні, можуть бути корисними для уточнення механізмів відповіді на лікування. У систематичному огляді OuYang et al. [28] та метааналізі Dai et al. [29] також показано потенційний позитивний вплив PRP на перебіг діабетичних виразок стопи, що додатково обґрунтовує доцільність вивчення PRP-асоційованих клітинних і гуморальних показників у зіставленні з морфологічними маркерами репарації.

Слід підкреслити, що група контролю не включала здорових осіб, а складалася з пацієнтів із хронічними ранами, які отримували стандартне лікування. Такий підхід дозволяє порівнювати досліджувані морфологічні показники з традиційною клінічною практикою, але не дає підстав трактувати контрольні значення як фізіологічну норму. Крім того, у роботі не аналізувалися прямі клінічні кінцеві точки загоєння, тому висновки стосуються насамперед імуногістохімічної характеристики тканин.

Таким чином, отримані результати демонструють узгоджену динаміку імуногістохімічних змін, що характеризується підвищенням експресії CD34, зниженням CD68-позитивної макрофагальної інфільтрації та зменшенням CD163-позитивного компонента на тлі перебудови тканинного мікрооточення. Ці зміни спостерігали на тлі комплексної схеми, основу місцевого лікування в якій становили комбіновані препарати, а PRP використовували як ад’ювантний компонент. Комплексна оцінка CD34, CD68 та CD163 може

розглядатися як потенційний морфологічний критерій перебігу репаративних процесів, однак її прогностична цінність потребує подальшого підтвердження у дослідженнях із пацієнт-рівневим статистичним аналізом та клінічними показниками загоєння.

ВИСНОВКИ

1. У результаті проведеного імуногістохімічного дослідження встановлено статистично значущі зміни експресії маркерів CD34, CD68 та CD163 у динаміці комплексного лікування комбінованими місцевими препаратами та ад'ювантним PRP. Підвищення частки CD34-позитивних клітин після лікування (з 6,92% до 26,77%) супроводжувалося одночасним зниженням кількості CD68-позитивних клітин (з 67,83% до 27,05%) та CD163-позитивних клітин (з 73% до 40,9%) ($p<0,001$).

2. Відносна кількість CD34-позитивних клітин із вираженою експресією маркера була вищою у групі II після лікування порівняно з групою I до лікування. Водночас відносна кількість CD68-позитивних клітин як показника загальної макрофагальної інфільтрації та CD163-позитивних клітин як M2-асоційованого макрофагального компонента була нижчою після лікування порівняно з показниками до лікування ($p < 0,001$).

3. Встановлено, що лікування супроводжується активацією ангіогенезу, що проявляється збільшенням кількості CD34-позитивних ендотеліоцитів у 3,8 раза порівняно з вихідним рівнем, а також зменшенням кількості CD68-позитивних клітин більш ніж у 2 рази та зниженням частки CD163-позитивних клітин з 73% до 40,9%.

4. Виявлено протилежну динаміку досліджуваних показників: підвищення CD34-позитивного ендотеліального компонента супроводжувалося зменшенням CD68- та CD163-позитивної макрофагальної інфільтрації. За відсутності спеціального кореляційного аналізу ці зміни слід трактувати як морфологічно узгоджену, але не доведену кореляційну залежність.

5. Отримані результати свідчать, що зменшення макрофагальної інфільтрації поєднується з активацією неоваскуляризації та може відображати перехід тканинного мікрооточення від переважання запальної реакції до проліферації та ремоделювання. Додаткові PRP-асоційовані лабораторні показники узгоджуються з цією динамікою через зниження нейтрофільного компонента, ROS, кальпаїну та прозапальних цитокінів на тлі підвищення TGF-фактору, фібронектину і моноцитарної активності. Водночас багатокомпонентний дизайн не дозволяє окремо визначити внесок комбінованих місцевих препаратів, PRP або іншої складової лікування.

6. Отримані дані дозволяють розглядати комплексну оцінку експресії CD34, CD68 та CD163 як потенційний морфологічний критерій перебігу репаративних процесів у тканинах хронічних ран.

Перспективи подальших досліджень полягають у проведенні проспективного клініко-морфологічного дослідження з більшим обсягом вибірки та стандартизованим протоколом оцінки хронічних ран у динаміці лікування. Доцільним є поєднання імуногістохімічного аналізу експресії CD34, CD68 та CD163 із прямими клінічними показниками загоєння, зокрема зміною площі ранового дефекту, швидкістю формування грануляційної тканини, термінами епітелізації, частотою ускладнень та потребою у повторних хірургічних втручаннях.

Окремого вивчення потребує взаємозв'язок між підвищенням експресії CD34 та клінічними ознаками посилення ангіогенезу, а також між динамікою CD68/CD163-позитивних клітин і зміною активності запальної та репаративної фаз ранового процесу. З огляду на отримане зниження CD163-позитивних клітин після лікування, перспективним є розширене дослідження макрофагальних субпопуляцій із використанням додаткових маркерів поляризації, що дозволить точніше оцінити функціональний стан макрофагів у різні фази репарації.

Також доцільним є окреме порівняльне вивчення ефекту комбінованих місцевих препаратів і додаткового внеску PRP зі зіставленням клітинних, гуморальних та морфологічних показників. Зокрема, перспективним є аналіз динаміки нейтрофільної та моноцитарної відповіді, рівнів TGF-β, фібронектину, активних форм кисню, кальпаїну та прозапальних цитокінів у зв'язку з показниками імуногістохімічної експресії CD34, CD68 і CD163. Такий підхід дозволить не лише описати морфологічні зміни тканин, а й встановити їх зв'язок із клінічною ефективністю лікування хронічних ран.

ДОТРИМАННЯ ЕТИЧНИХ НОРМ

Дослідження проведено відповідно до принципів Гельсінської декларації. Усі пацієнти надали інформовану добровільну згоду на участь у дослідженні. Робота схвалена комісією з питань біомедичної етики Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (протокол № 8 від 07.11.2022). Дані пацієнтів аналізували у знеособленому вигляді з дотриманням вимог конфіденційності та захисту персональної медичної інформації.

Обмеження дослідження. Основними обмеженнями дослідження є відносно невеликий обсяг вибірки, відсутність окремого повторного дослідження контрольної групи після лікування, а також відсутність аналізу прямих клінічних кінцевих точок загоєння, таких як площа рани, швидкість

епітелізації, терміни закриття дефекту та частота ускладнень. Додані PRP-асоційовані показники характеризують локальну клітинну, гуморальну та метаболічну динаміку, але не замінюють повноцінної клінічної оцінки ефективності лікування. Багатокомпонентний характер втручання також не дозволяє розмежувати внесок комбінованих місцевих препаратів і PRP у виявлені зміни. Додатковим обмеженням є використання агрегованих клітинних підрахунків, що потребує обережної статистичної інтерпретації через можливий ризик псевдореплікації. Крім того, у роботі не проводили міжспостерігачеву валідацію морфометричної оцінки та окремий аналіз індивідуальних пацієнтських значень. Подальші дослідження доцільно виконувати з розрахунком показників на рівні кожного пацієнта, застосуванням парних або непараметричних критеріїв для індивідуальних даних та зіставленням імуногістохімічних і PRP-асоційованих лабораторних змін із клінічними показниками загоєння.

Первинні дані та матеріали. Первинні дані дослідження сформовані на основі результатів морфологічного, імуногістохімічного та клініко-лабораторного аналізу тканин і локальних показників ранового мікрооточення пацієнтів із хронічними ранами. Дані, що містять персональну медичну інформацію, не можуть бути розміщені у відкритому доступі у зв'язку з необхідністю дотримання конфіденційності та законодавства щодо захисту персональних даних. Узагальнені та знеособлені дані можуть бути надані відповідальним автором на обґрунтований запит.

Заява про використання штучного інтелекту. Автори рукопису засвідчують, що інструменти генеративного штучного інтелекту не використовувалися для виконання дослідницьких процедур, отримання первинних даних, статистичного аналізу або формування наукових висновків.

ФІНАНСУВАННЯ ТА КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Стаття є фрагментом планової прикладної науково-дослідної роботи кафедри хірургії, комбустіології та пластичної хірургії Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика «Оптимізація хірургічного лікування ускладнених ран з використанням клітинних технологій та модифікованих клаптів шкіри» (номер державної реєстрації 0122U201583, термін виконання: 2022-2026 рр., науковий керівник – професор, доктор медичних наук, Козинець Г. П.).

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів, пов'язаного з підготовкою, проведенням, аналізом результатів та публікацією цієї статті.

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

ВНЕСОК АВТОРІВ

Гомола Д. С.[A, B, C, D]

Козинець Г. П.[A, E, F]

Дядик О. О.[B, C, D, E]

REFERENCES

1. Nussbaum, S. R., Carter, M. J., Fife, C. E., DaVanzo, J., Haught, R., Nusgart, M., et al. (2018). An economic evaluation of the impact, cost, and Medicare policy implications of chronic nonhealing wounds. Value Health, 21(1), 27–32. https://doi.org/10.1016/j.jval.2017.07.007
2. Arif, M., Khan, S. M., Gull, N., Tabish, T. A., Zia, S., Khan, R. U., et al. (2021). Polymer-based biomaterials for chronic wound management: promises and challenges. International Journal of Pharmaceutics, 598, 120270. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120270
3. Eming, S. A., Martin, P., & Tomic-Canic, M. (2014). Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. Science Translational Medicine, 6(265), 265sr6. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009337
4. Peña, O. A., & Martin, P. (2024). Cellular and molecular mechanisms of skin wound healing. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 25(8), 599–616. https://doi.org/10.1038/s41580-024-00715-1
5. De Palma, M., Biziato, D., & Petrova, T. V. (2017). Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. Nature Reviews Cancer, 17(8), 457–474. https://doi.org/10.1038/nrc.2017.51
6. Annese, T., Tamma, R., De Giorgis, M., & Ribatti, D. (2020). microRNAs biogenesis, functions and role in tumor angiogenesis. Frontiers in Oncology, 10, 581007. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.581007
7. Siemerink, M. J., Klaassen, I., Vogels, I. M. C., Griffioen, A. W., Van Noorden, C. J. F., & Schlingemann, R. O. (2012). CD34 marks angiogenic tip cells in human vascular endothelial cell cultures.

Angiogenesis, 15(1), 151–163. https://doi.org/10.1007/s10456-011-9251-z
8. Wynn, T. A., & Vannella, K. M. (2016). Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. Immunity, 44(3), 450–462. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.02.015
9. Willenborg, S., Sanin, D. E., Jais, A., Ding, X., Ulas, T., Nüchel, J., et al. (2021). Mitochondrial metabolism coordinates stage-specific repair processes in macrophages during wound healing. Cell Metabolism, 33(12), 2398–2414.e9. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.10.004
10. Krzyszczyk, P., Schloss, R., Palmer, A., & Berthiaume, F. (2018). The role of macrophages in acute and chronic wound healing and interventions to promote pro-wound healing phenotypes. Frontiers in Physiology, 9, 419. https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00419
11. Hesketh, M., Sahin, K. B., West, Z. E., & Murray, R. Z. (2017). Macrophage phenotypes regulate scar formation and chronic wound healing. International Journal of Molecular Sciences, 18(7), 1545. https://doi.org/10.3390/ijms18071545
12. Kong, Q., Gao, S., Li, P., Sun, H., Zhang, Z., Yu, X., et al. (2024). Calcitonin gene-related peptide-modulated macrophage phenotypic alteration regulates angiogenesis in early bone healing. International Immunopharmacology, 130, 111766. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.111766
13. Okonkwo, U. A., & DiPietro, L. A. (2017). Diabetes and wound angiogenesis. International Journal of Molecular Sciences, 18(7), 1419. https://doi.org/10.3390/ijms18071419
14. Radu, P., Zurzu, M., Paic, V., Bratucu, M., Garofil, D., Tigora, A., et al. (2023). CD34: structure, functions and relationship with cancer stem cells. Medicina (Kaunas), 59(5), 938. https://doi.org/10.3390/medicina59050938
15. Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (Eds.). (2018). Robbins Basic Pathology (10th ed.). Elsevier. https://shop.elsevier.com/books/robbins-basic-pathology/kumar/978-0-323-35317-5
16. Dabbs, D. J. (Ed.). (2021). Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications (6th ed.). Elsevier. https://shop.elsevier.com/books/diagnostic-immunohistochemistry/dabbs/978-0-323-72172-1
17. Swain, S. S., Karri, V. V. S. R., Uddin, M. E., Gowthamarajan, K., Bhaskaran, M., & Subramaniyan, V. (2025). Advances in diabetic wound healing: from pathophysiology to emerging therapies. Acta Diabetologica. https://doi.org/10.1007/s00592-025-02629-6
18. Griffioen, A. W., & Dudley, A. C. (2022). The rising impact of angiogenesis research. Angiogenesis, 25(4), 435–437. https://doi.org/10.1007/s10456-022-09849-2
19. Woo, K., González, C. V. S., Amdie, F. Z., & de Gouveia Santos, V. L. C. (2024). Exploring the effect of wound-related pain on psychological stress, inflammatory response, and wound healing. International Wound Journal, 21(7), e14942. https://doi.org/10.1111/iwj.14942
20. Gruber, E., Heyward, C., Cameron, J., & Leifer, C. (2018). Toll-like receptor signaling in macrophages is regulated by extracellular substrate stiffness and Rho-associated coiled-coil kinase (ROCK1/2). International Immunology, 30(6), 267–278. https://doi.org/10.1093/intimm/dxy027
21. Bankhead, P., Loughrey, M. B., Fernández, J. A., Dombrowski, Y., McArt, D. G., Dunne, P. D., et al. (2017). QuPath: open source software for digital pathology image analysis. Scientific Reports, 7, 16878. https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5
22. Rodrigues, M., Kosaric, N., Bonham, C. A., & Gurtner, G. C. (2019). Wound healing: a cellular perspective. Physiological Reviews, 99(1), 665–706. https://doi.org/10.1152/physrev.00067.2017
23. Altman, D. G., & Bland, J. M. (1999). Statistics notes: variables and parameters. BMJ, 318, 1667. https://doi.org/10.1136/bmj.318.7199.1667
24. McHugh, M. L. (2013). The chi-square test of independence. Biochemia Medica (Zagreb), 23(2), 143–149. https://doi.org/10.11613/bm.2013.018
25. Qu, W., Wang, Z., Hunt, C., Morrow, A. S., Urtecho, M., Amin, M., et al. (2021). The effectiveness and safety of platelet-rich plasma for chronic wounds: a systematic review and meta-analysis. Mayo Clinic Proceedings, 96(9), 2407–2417. https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2021.01.030
26. Meznerics, F. A., Fehérvári, P., Dembrovszky, F., Kovács, K. D., Kemény, L. V., Csupor, D., et al. (2022). Platelet-rich plasma in chronic wound management: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. Journal of Clinical Medicine, 11(24), 7532. https://doi.org/10.3390/jcm11247532
27. Salgado-Pacheco, V., Serra-Mas, M., & Otero-Viñas, M. (2024). Platelet-rich plasma therapy for chronic cutaneous wounds stratified by etiology: a systematic review of randomized clinical trials. Drugs & Therapy Perspectives, 40, 31–42. https://doi.org/10.1007/s40267-023-01044-7
28. OuYang, H., Tang, Y., Yang, F., et al. (2023). Platelet-rich plasma for the treatment of diabetic foot ulcer: A systematic review. Frontiers in Endocrinology, 14, 1256081. https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1256081
29. Dai, J., Jiang, C., Sun, Y., et al. (2020). Autologous platelet-rich plasma treatment for patients with diabetic foot ulcers: A meta-analysis of randomized studies. Journal of Diabetes and Its Complications, 34(8), 107611. https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2020.107611

Abstract

MORPHOLOGICAL AND CLINICAL-LABORATORY FEATURES OF CHRONIC WOUND REPAIR DURING COMPLEX TREATMENT WITH COMBINED TOPICAL PREPARATIONS AND PRP BASED ON CD34, CD68 AND CD163 EXPRESSION

Dmytro S. Homola, Georgiy P. Kozynets, Olena O. Dyadyk

Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Aim. To conduct a comparative analysis of CD34, CD68, and CD163 expression in tissues of patients with chronic wounds before and after complex treatment with combined topical preparations and adjunctive PRP and to assess additional cellular and humoral indicators of reparative dynamics.

Materials and methods. A comparative morphological, immunohistochemical, and clinical-laboratory study of biopsy material and local wound microenvironment indicators was performed in 40 patients with chronic wounds. The control group included 20 patients who received standard treatment; in the main group, tissue samples were evaluated before and after complex treatment in which combined topical preparations formed the basis of local therapy and PRP was used as an adjunct. CD34, CD68, and CD163 expression was assessed in representative high-power fields at ×400 magnification. In addition, wound imprint cytology, nitroblue tetrazolium test results for neutrophils and monocytes, TGF factor, reactive oxygen species, fibronectin, calpain, and pro-inflammatory cytokines were evaluated on days 1, 7, and 14.

Results. After treatment, the proportion of CD34-positive cells increased from 6.92% to 26.77%, indicating activation of angiogenesis. At the same time, CD68-positive cells decreased from 67.83% to 27.05%, and CD163-positive cells decreased from 73% to 40.9%, reflecting reduced macrophage infiltration and remodeling of the tissue microenvironment. In the main group treated with combined topical preparations and adjunctive PRP, the neutrophil content in wound imprints decreased from 73.3±6.0% to 55.9±6.2%, monocyte content increased from 3.9±1.7% to 10.2±1.2%, TGF factor increased from 100.8±6.3 to 131.4±5.9 pg/ml, and fibronectin increased from 146.6±3.9 to 182.0±2.5 pg/ml, while reactive oxygen species, calpain, and pro-inflammatory cytokines decreased.

Conclusions. During complex treatment with combined topical preparations and adjunctive PRP, comprehensive assessment of CD34, CD68, and CD163 expression combined with PRP-associated cellular and humoral indicators characterizes morphological and laboratory signs of chronic wound repair. The obtained data indicate activation of angiogenesis, reduction of the inflammatory macrophage component, and formation of a more favorable wound microenvironment. Because the intervention was multicomponent, the findings characterize the treatment regimen as a whole and do not establish the isolated effect of PRP or either topical preparation.

Keywords: **angiogenesis, immunohistochemistry, PRP, combined topical preparations, complex treatment, tissue regeneration, macrophages, inflammation, endothelial cells, microvessel density.**

Received: 30.04.2026
Accepted: 18.06.2026
Published: 11.09.2026