

УДК: 615.276:611.018.52:619

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.463

ВЛИЯНИЕ НЕСТЕРОИДНЫХ И СТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ IN VITRO

Бокарев А.В. – д-р ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-4623-5388); **Минина А.О.*** – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-4176-4053); **Горохов В.Е.** – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-3463-4808).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*Bluzma-nast@yandex.ru

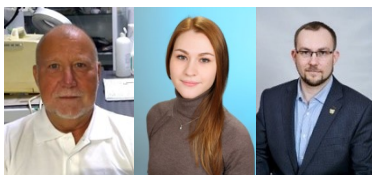
Ключевые слова: Кровь, крысы, тромбоциты, фибрин, гемостаз, циклооксигеназа, фосфолипаза-A2, нестероидные противовоспалительные препараты, стероидные противовоспалительные препараты, раневой процесс, регенерация, тромбосан-A2.

Keywords: Blood, rats, platelets, fibrin, hemostasis, cyclooxygenase, phospholipase-A2, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, steroid anti-inflammatory drugs, wound process, regeneration, thromboxane-A2.

Поступила: 19.10.2023

Принята к публикации: 17.11.2023

Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследования по влиянию стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов на тромбоциты. Объектом исследования была плазма, полученная из крови крыс (n=10). Забор крови (по 2,0 мл от каждого животного) осуществляли из хвостовой вены в пробирки с цитратом натрия. Подсчет клеточных элементов непосредственно в крови и в тромбоцитарной плазме проводили на гематологическом анализаторе МЕК-6550. Способность оказывать влияние на активацию тромбоцитов определялась у таких препаратов как дексаметазон, кетарол и мелоксикам, которые вносили в пробирки перед реактивацией плазмы. Выяснено, что препараты данных групп воздействуют на метаболизм этих клеток и подавляют их способность вызывать контракцию сгустков. Выяснено, что сила негативного влияния на контракцию сгустка у стероидного препарата дексаметазон, который через посредников подавляет активность фосфолипазы-A2 и нестероидного препарата кетарол, который является преимущественным ингибитором циклооксигеназы первого типа, сходны. Так же выяснено, что препарат мелоксикам, который является преимущественным ингибитором циклооксигеназы второго типа, вызывает лишь незначительное уменьшение контракции тромбоцитарного сгустка. Результаты, полученные в эксперименте, указывают на прямую положительную связь между степенью контракции сгустков и количеством тромбосана-A2 который синтезируется и выделяется именно активированными тромбоцитами. Известно, что способность тромбоцитов ускорять и усиливать регенеративные

процессы, так же напрямую связаны с их активацией. Исходя из этого, высказаны соображения, что, пациентам которым назначена терапия плазмой обогащенной тромбоцитами, в качестве противовоспалительных препаратов не следует использовать глюкокортикоиды и препараты с высокой степенью селективности к циклооксигеназе первого типа.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Тромбоциты (Тр) млекопитающих это небольшие (2—9 мкм) безъядерные плоские бесцветные форменные элементы крови, образующиеся из мегакариоцитов. Тромбоциты отвечают за гемостаз и, как показали исследования последних лет, за процессы регенерации [1, 2, 3]. А учитывая то, что любые механические повреждения тканей животных начинаются с внешнего или внутреннего кровотечения, и в норме заканчиваются заживлением, следует заключить, что обе эти функции тромбоцитов имеет очень большое значение в патогенезе раневой патологии и должна учитываться при ее лечении. В том числе при лечении раневой и других видов патологий, при которых показано использование плазмы или сгустков обогащенных тромбоцитами (методы PRP или PRF-терапии) [4, 1, 5, 6, 7]. Вышеуказанные гемостатические и регенеративные функции тромбоциты осуществляют посредством выделяемых ими биологически активных веществ, которые, в свою очередь, секретируются только после их (тромбоцитов) активации [8, 9]. Т.е., активация тромбоцитов является одним из ключевых событий, как при инициации процесса гемостаза, так и в процессе регенерации [10, 11, 12].

Механизм активации тромбоцитов и развитие последующих эффектов, на сегодняшний день до конца не изучены. И в этом вопросе существует множество, как не до конца выявленных, так и спорных моментов. Однако точно установлено, что влияние тромбоцитов на гемостаз осуществляется через, так называемые тромбоцитарные факторы свертывания [9]. А позитивное влияние на процесс регенерации осуществляется через белковые молекулы называемые факторами роста (Фр), которые обладают свойствами митогенов по отношению к клеткам различного гистогенетического происхождения [2].

Выделению указанных факторов тром-

боцитами, как уже сказано выше, должна предшествовать их активация. В кровотоке неповрежденной ткани тромбоциты находятся в неактивном состоянии. Триггером активации тромбоцита является взаимодействие молекулы лиганда-активатора с соответствующим рецептором на его мембране. Такие лиганды появляются в тромбоцитарном окружении при нарушении целостности ткани и сосудистой стенки и/или при активации плазменного гемостаза *in vitro*. Молекул, которые обладают способностью активировать тромбоциты достаточно много. Равно как и на мембране тромбоцитов существует большое разнообразие рецепторов к высокомолекулярным и низкомолекулярным лигандам-активаторам [9, 11, 12]. Но в контексте нашего исследования можно выделить два основных триггера стимуляции. В том случае, когда происходит повреждение целостности тканей (закрытая или открытая травма) триггером активации тромбоцитов является связывание их мембранных рецепторов с коллагеном (при опосредовании фактора Виллибранта) поврежденной стенки кровеносного сосуда. В том же случае, когда цельная кровь или специально полученная тромбоцитарная плазма находится в пробирке, то триггером активации тромбоцитов является связывание специфических мембранных рецепторов тромбоцитов с тромбином [8, 9, 12]. Тромбин образуется в плазме крови из своего предшественника протромбина как продукт плазменного каскада свертывания. Если кровь или тромбоцитарная плазма стабилизирована цитратом натрия, то, из-за отсутствия четвертого фактора, которым является кальций, каскад свертывания не происходит. Тромбин из своего предшественника протромбина не образуется. И тромбоциты не активируются. В том же случае если соответствующие лиганды-активаторы типа коллагена, тромбина и некоторые другие появляются в среде, с

которой контактируют тромбоциты, то процесс активации запускается и продолжается в виде сложных внутриклеточных реакций, результатом которых является высвобождение во внешнюю среду большого количества белковых и небелковых биологически активных веществ. Цитратная плазма крови полностью лишенная клеток, в том числе и тромбоцитов, после реактивации *in vitro* ионами кальция, способна к коагуляции и образованию сгустка. Но такой сгусток практически не способен к контракции [13]. Однако присутствие в такой плазме тромбоцитов позволяет запустить процесс контракции и сформировать более компактный сгусток, морфология которого обусловлена возникновением очень плотной мелкоячеистой фибриновой сетки в узловых элементах которой содержатся тромбоцитарные агрегаты [11, 13].

Обнаружение того, что такой ингибитор циклооксигеназ как аспирин профилактирует образование тромбов *in vivo* показало, что биомеханика контракции фибриново-тромбоцитарного сгустка зависит от тромбоксана-A2 [14]. Выяснено, что тромбоциты, первично активированные коллагеном и/или тромбином, синтезируют и выделяют тромбоксан-A2, который, по механизму аутокринной и паракринной секреции, активирует другие тромбоциты. В том числе, усиливая экспрессию на их мембране рецепторов к фибрину. Благодаря которым тромбоциты обретают способность формировать тромбоцитарно-фибриновую сеть и осуществлять контракцию сгустка.

Таким образом получается, что если контракция сгустка зависит от тромбоксана-A2, а тромбоксан -A2 выделяется одними активированными тромбоцитами и является мощным активатором других тромбоцитов, то степень контракции отдельно взятого тромбоцитарно-фибринового сгустка может служить визуальным маркером активации общего тромбоцитарного пула, вовлеченного в гемостаз. Возвращаясь к вопросу раневой патологии, следует обратить внимание на то, что ни одна раневая патология не за-

живает без участия воспалительного процесса. Который, в некоторых случаях, протекает в гиперэргической форме и/или с сильной болевой реакцией. Для предотвращения подобных осложнений и для контроля над воспалительной реакцией, в клинической практике используются различные нестероидные (НПВС) и стероидные (СПВС) противовоспалительные препараты [8, 10]. Механизм действия НПВС обусловлен тем, что данная группа препаратов является ингибитором ферментов циклооксигеназ (ЦИК), которые катализируют реакцию превращения арахидоновой кислоты в простагландин H2 (PGH₂). Который, в свою очередь, является предшественником остальных простагландинов, простациклина и тромбоксана-A2 [14]. А механизм действия СПВС связан с тем, что они через ряд промежуточных биохимических реакций (ингибирование фермента фосфолипаза-A2) подавляют высвобождение арахидоновой кислоты из фосфолипидов клеточной мембраны, тем самым понижая ее концентрацию в цитоплазме клеток и лишая тромбоцит субстрата для синтеза простагландинов. Одновременно с подавлением высвобождения арахидоновой кислоты происходит и подавление образования лизофосфатидилхолина, который, является предшественником биологически активного соединения являющегося одновременно и медиатором воспаления и фактором активации тромбоцитов (ФАТ) [10]. Подытожив вышесказанное, можно сказать, что НПВС и СПВС, исходя из их фармакологических свойств, априори должны влиять не только на интенсивность воспалительной реакции, но и на активацию тромбоцитов.

С другой стороны, известно, что механизм фармакодинамического действия СПВС отличается от НПВС. А различные препараты, относящиеся к группе НПВС, отличаются друг от друга по специфичности ингибирования ЦОГ-1 или ЦОГ-2. Исходя из этого, можно так же предположить, что степень влияния этих препаратов на активацию тромбоцитов выраженную в степени контракции сгустков так

же будет отличаться. Цель исследования – сравнить степень влияния стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов на активацию тромбоцитов.

Для достижения поставленной цели, кровь, полученную от лабораторных животных, стабилизировали цитратом натрия. Затем из цельной крови получали плазму обогащенную тромбоцитами. Реактивацию гемостатических реакций плазмы и тромбоцитов проводили путем добавления раствора хлорида кальция. В опытных образцах реактивацию проводили в присутствии противовоспалительных препаратов. В контрольных образцах препараты не добавлялись. Результат оценивали по абсолютному и относительному объёму образовавшихся сгустков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования была плазма, полученная из крови крыс ($n=10$). Забор крови (по 2,0 мл от каждого животного) осуществляли из хвостовой вены в пробирки с цитратом натрия. Подсчет клеточных элементов непосредственно в крови и в тромбоцитарной плазме проводили на гематологическом анализаторе MEK-6550. Для получения бесклеточной и тромбоцитарной плазмы кровь помещали в центрифугу ОПН-3. Для получения бесклеточной плазмы, кровь центрифугировали в течении 15 минут при 3000 оборотах в минуту. Для получения плазмы обогащенной тромбоцитами и лишенную эритроцитов и лейкоцитов, кровь центрифугировали в два этапа. Первое центрифугирование 1 минута при 3000 оборотов в минуту. И следующее центрифугирование 10 минут при 1000 оборотов в минуту [15]. Полученные образцы плазмы отделяли от эритроцитарно-лейкоцитарного осадка и разливали по 1 мл. в пробирки эппендорф. Для получения сгустков путем реактивации процесса коагуляции, в каждую пробирку вносили по 0,025 мл 10 % раствора кальция хлорида. После чего пробирки помещали на 90 минут в водяную баню при $t=37,0^{\circ}\text{C}$. Способность оказывать влияние на активацию тромбоцитов определялась у таких препаратов

как дексаметазон, кетарол и милоксикам, которые вносили в пробирки перед реактивацией плазмы. Выбор препаратов основывался на их селективности по отношению к ЦОГ-1 и ЦОГ-2 и фосфолипазы-A2. Каждый препарат в дозе 0,025 мл вносился в отдельную пробирку. В контрольные пробирки вместо указанных препаратов вносили эквивалентный объём 0,85% раствор хлорида натрия. Соотношение объёма плазмы к объёму препарата составляло 40:1. Препараты вносили в гипертерапевтических дозах, чтобы полностью ингибировать соответствующие им метаболические пути активации тромбоцита и избежать явления «доза-эффект». Коммерческие ампулированные препараты содержали действующего вещества: милоксикам – 10мг/мл; кетарол – 30мг/мл; дексаметазон – 4мг/мл. В пересчете на 1,0 мл плазмы доза препаратов составила: милоксикам – 0,25 мг; кетарол – 0,75 мг; дексаметазон – 0,1 мг. После окончания культивирования все пробирки извлекали, фотографировали, визуально на глаз определяли разницу в размерах сгустка, а также определяли степень ректракции сгустка по методу Макферлейна. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью персонального компьютера на программе Bio-Stat Professional 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

На подготовительном этапе были получены бесклеточные образцы плазмы, а также образцы плазмы, содержащие тромбоцитов в количестве от 950×10^3 до 600×10^3 клеток в микролитре (Рисунок 1). В опыте использовали концентрацию тромбоцитов $700 \times 10^3 \pm 50 \times 10^3$ клеток в микролитре, доводя исходную концентрацию до нужной, путем либо разбавления бесклеточной плазмой, либо используя дополнительное концентрирующее центрифугирование.

Исследования бесклеточной плазмы подтвердили то, что в отличие от тромбоцитарного сгустка, бесклеточный фибриновый сгусток не подвергается контракции ни через 1 час, ни через 90 минут, ни в более поздние сроки (Рисунок 2).

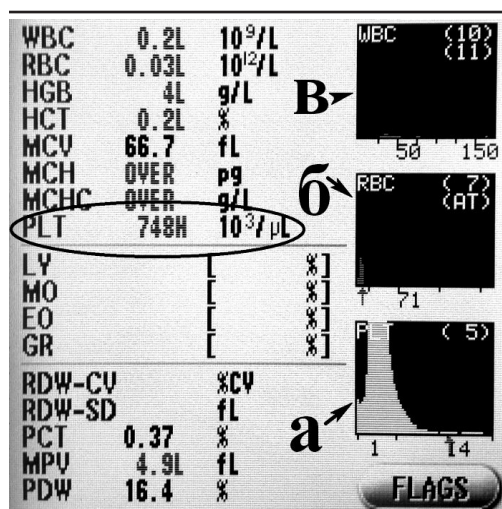


Рисунок 1 – Гистограмма тромбоцитарной плазмы полученной после двухступенчатого центрифугирования. а – окно тромбоцитов, б – окно эритроцитов, в – окно лейкоцитов. Обведено содержание тромбоцитов в одном мкл плазмы.

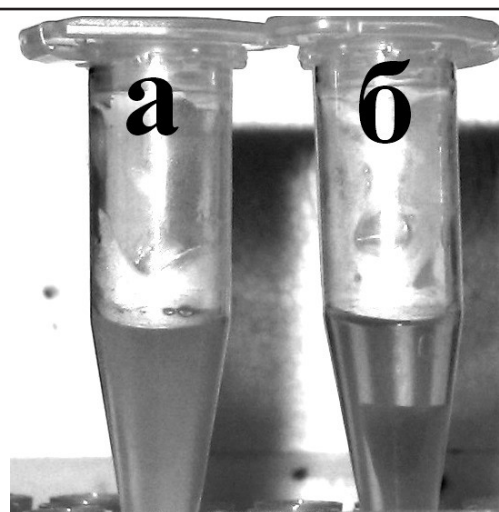


Рисунок 2 – Сравнительная контракция сгустков через 90 минут после инкубирования при 37⁰С реактивированных образцов плазмы. а – бесклеточная плазма, б – тромбоцитарная плазма.

Таблица 1 – Степень влияния СПВС и НПВС на контракцию тромбоцитарного сгустка выявленная по методу Макферлейна

	Группа против- овоспалитель- ного препарата	Вид против- овоспалитель- ного препа- рата	Объём сгустка полученного из 1,0 мл. плазмы (мл)	Объём сгуст- ка относи- тельно объё- ма исходной плазмы (%)	Изменение объёма сгустка (V) относитель- но контроля ($V_{\text{опыт}}/$ $V_{\text{контроль}}$)
1	контроль	-----	13,20± 2,40	13,20± 2,40	1,0
2	СПВС	дексаметазон	55,30±5,64	55,30±5,64	>4,20
3	НПВС	кетарол	46,60±3,75	46,60±3,75	>3,53
4		мелоксикам	17,00±3,10	17,00±3,10	>1,30
Множественные сравнения – Критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони				Критерий Стьюдента – между 1 и 4 группами t = -3,004; число степеней свободы = 18; P = 0,008	
Сравнение t P<0,05					
2 и 1: 24,11 Да					
2 и 4: 22,00 Да					
2 и 3: 5,00 Да					
3 и 1: 19,13 Да					
3 и 4: 17,01 Да					
4 и 1: 2,12 Нет					

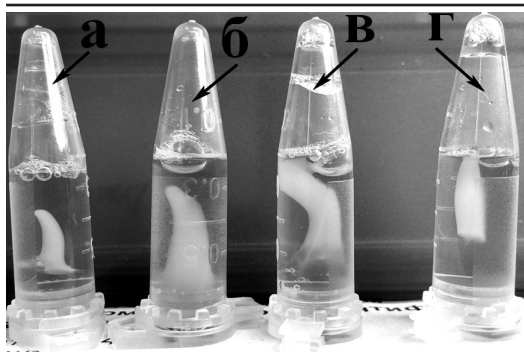


Рисунок 3 – Сравнительная контракция сгустков в реактивированных образцов тромбоцитарной плазмы. а – контрольная плазма; б – реактивация в присутствии дексаметазона; в – реактивация в присутствии кетарола; г – реактивация в присутствии мелоксикама. Реактивированные образцы плазмы инкубировали 90 минут при 37⁰С.

В то же время данное исследование показало, что ни НПВС, ни СПВС не оказывают, ни какого, ни позитивного, ни негативного влияния на формирование и размеры бесклеточного фибринового сгустка.

Исследование контракции тромбоцитарного сгустка показало, что имеют место четкие визуально наблюдаемые отличия в размерах сгустков формирующихся в контрольной плазме и в тех образцах плазмы, в которые перед реактивацией гемостаза были внесены СПВС и НПВС (Рисунок 3). Сгусток, который образовался в контрольной плазме, имел минимальные размеры (Рисунок 3а). Т.е., имел самую высокую степень контракции. Максимальный размер наблюдался у сгустка, сформировавшегося в присутствии дексаметазона (Рисунок 3б). Сгусток, сформировавшийся в плазме содержащую мелоксикам минимально отличался в сторону увеличения от контрольного (Рисунок 3г). Сгусток, сформировавшийся в присутствии кетарола имел несколько меньшие размеры, чем сгусток, образовавшийся в присутствии дексаметазона (Рисунок 3в), но был значительно больше, чем сгусток, сформировавшийся в присутствии мелоксикама.

Точные количественные показатели размеров сгустков, подсчитанные методом Макферлейна, подтвердили закономерность выявленную визуально (Таблица 1). Минимальное влияние на изменение размера сгустка в сравнении с контролем показал препарат мелоксикам. Размеры данных сгустков были только в

1,3 раза больше, чем размеры контрольных.

Максимальное негативное влияние на контракцию тромбоцитарных сгустков, объем которых более чем в четыре раза превысил размер контрольных, оказал препарат дексаметазон. Объем сгустка, сформировавшегося в присутствии кетарола занимал среднюю позицию между сгустком, сформировавшимся в присутствии дексаметазона и сгустком, сформировавшимся в присутствии мелоксикама и был более чем в 3,5 раза больше, чем объем контрольного.

Таким образом, если оценивать способность испытанных препаратов препятствовать активации тромбоцитов по их негативному влиянию на контракцию сгустков, то наиболее сильным в этом отношении препаратом является преднизолон. Следующим по силе негативного влияния на активацию тромбоцитов является кетарол. И наиболее слабо подавляет активацию тромбоцитов мелоксикам. Причем негативное действие мелоксикама, количественно рассчитанное методом Макферлейна имеет низкую статистическую достоверность (Таблица 1).

Обращают на себя внимание два момента. Первый что несмотря на то, что оба препарата и кетарол и мелоксикам относятся к противовоспалительным препаратам одной группы, их степень инактивирующего влияния на тромбоциты значительно отличается. Второй, кетарол и дексаметазон отличаются по механизму противовоспалительного действия, но их негативное влияние на активацию тромбоцитов, проявляющееся в ослаблении

контракции тромбоцитарных сгустков, сходно по силе. Данный артефакт может быть объяснён тем, что в представленном эксперименте первичная активация тромбоцитов индуцировалась только тромбином, но в дальнейшем зависела от тромбоксана-A₂, который синтезируется из арахидоновой кислоты при участии ЦОГ1 [14]. Мелоксикам является слабым ингибитором ЦОГ1. Его ингибирующие свойства направлены в основном на ЦОГ2. Коэффициент селективности ЦОГ1/ЦОГ2 мелоксикама находится в пределах 0,33 – 0,80. Поэтому он очень слабо подавляет синтез тромбоксана-A₂. Кетарол, наоборот, имеет выраженную селективность в отношении ЦОГ1 и поэтому сильно подавляет синтез тромбоксана-A₂. Его коэффициент селективности ЦОГ1/ЦОГ2 больше 2,50. Именно сила подавления синтеза тромбоксана-A₂ делает кетарол столь же эффективным ингибитором активации тромбоцитов. Дексаметазон хоть и не ингибирует на прямую ЦОГ1, но (через подавление активности фосфолипазы-A₂) препятствует увеличению концентрации арахидоновой кислоты в цитоплазме тромбоцитов и лишает ЦОГ1 субстрата для синтеза тромбоксана-A₂. Параллельно происходит и блокирование высвобождения и лизофосфатидилхолина – предшественника фактора активации тромбоцитов. Более выраженный противовоспалительный эффект дексаметазона и, возможно, более выраженную его способность подавлять активацию тромбоцитов можно объяснить тем, что, понижая в клетке концентрацию арахидоновой кислоты он, тем самым уменьшает синтез всех эйкозаноидов. И тех, которые зависят от ЦОГ1, и тех, которые зависят от ЦОГ2, и тех, которые зависят от липоксигеназы.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Таким образом, проанализировав материал собственных исследований и данные изложенные в научной периодике можно сделать предварительный вывод, что использование СПВС, которые понижают в клетке концентрацию арахидоновой кислоты, и тех НПВС, которые обла-

дают высокой селективностью к ЦОГ1, одновременно с применением PRP или PRF терапии может понизить их ранозаживляющую эффективность последней. Однако, выше сказанное следует проверить путем постановки более масштабного эксперимента *in vitro*, в котором следует использовать сразу несколько НПВС со сходной селективной ингибирующей активностью к ЦОГ-1 и ЦОГ-2. А также подтверждением данного вывода эксперимента *in vivo* на модельной ране.

EFFECT OF NONSTEROIDAL AND STEROID ANTI-INFLAMMATORY DRUGS ON PLATELET ACTIVATION IN VITRO

Bokarev A.V. – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-4623-5388); **Minina A.O.*** – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-4176-4053); **Gorokhov V.E.** – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-3463-4808).

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine".

*Bluzma-nast@yandex.ru

ABSTRACT

The article presents the results of a study on the effect of steroid and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on platelets.

The object of the study was plasma obtained from rat blood (n=10). Blood sampling (2.0 ml from each animal) was carried out from the tail vein into test tubes with sodium citrate. Cell elements were counted directly in blood and in platelet plasma using a MEK-6550 hematological analyzer.

The ability to influence platelet activation was determined in drugs such as dexamethasone, ketarol and meloxicam, which were injected into test tubes before plasma reactivation.

It was found that the drugs of these

groups affect the metabolism of these cells and inhibit their ability to cause clot contraction. It was found that the strength of the negative effect on clot contraction in the steroid drug dexamethasone, which through intermediaries suppresses the activity of phospholipase-A2 and the nonsteroidal drug ketarol, which is the predominant inhibitor of cyclooxygenase of the first type, are similar. It was also found out that the drug meloxicam, which is a predominant inhibitor of cyclooxygenase of the second type, causes only a slight decrease in platelet clot contraction. The results obtained in the experiment indicate a direct positive relationship between the degree of clot contraction and the amount of thromboxane-A2, which is synthesized and released by activated platelets. It is known that the ability of platelets to accelerate and enhance regenerative processes is also directly related to their activation. Based on this, it is suggested that patients who have been prescribed platelet-enriched plasma therapy should not use glucocorticoids and preparations with a high degree of selectivity to cyclooxygenase of the first type as anti-inflammatory drugs.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ.

1. Влияние лейкоцитарной примеси на ранозаживляющий эффект тромбоцитарного сгустка / А.В. Бокарев, М.В. Свердлова, А.О. Минина, Р.Д. Холодный // *Международный вестник ветеринарии*. – 2022. – № 4. – С. 427 - 433.
2. Влияние факторов роста тромбоцитарного происхождения на пролиферацию клеток / А.Н. Свешникова, Е.В. Шамова, И.С. Колесникова [и др.] // В книге: Сборник тезисов XXIV съезда физиологического общества им. И. П. Павлова. Сборник тезисов съезда. Санкт-Петербург, 2023. – С. 223.
3. Реакция кожного покрова крыс на введение аутологичной бесклеточной плазмы крови или плазмы содержащей тромбоциты и другие лейкоциты / М.В. Свердлова, А.В. Бокарев, А.А. Стекольников, А.О. Минина // *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. – 2021. – № 3. – С. 92-93.
4. Базилян, Э.А. сравнительный анализ применения в клинической практике обогащенного лейкоцитами и тромбоцитами фибринового сгустка при заполнении лунок удаленных зубов / Э.А. Базилян, И.И. Тарба, Г.А. Воложин // *Российская стоматология*. – 2020. – Т. 13. – № 1. – С. 16-17.
5. К вопросу о применении обогащенных тромбоцитами фибриновых сгустков / С.Г. Пахлеваян, Л.В. Шевченко, А.Ю. Шевченко [и др.] // *Актуальные проблемы медицины*. – 2022. – Т. 45. – № 4. – С. 388-399.
6. Опыт применения плазмы обогащенной тромбоцитами при лечении пациентов с обширными раневыми дефектами / Д.С. Третьяк, А.П. Трухан, Д.В. Васильев [и др.] // *Медицинский журнал*. – 2023. – № 2 (84). – С. 108-112.
7. Стимуляция остеорегенерации с помощью PRP-терапии / И.А. Родин, И.Г. Киселёв, Л.П. Вишневская [и др.] // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. – 2018. – № 3 (71). – С. 186-190.
8. Влияние 3'-О-ацетилэμβинина на активацию тромбоцитов, индуцированную тромбином / Пронин Н.А. // В сборнике: Молодая фармация - потенциал будущего. Сборник материалов XII всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием. Санкт-Петербург, 2022. – С. 397-401.
9. Динамика функциональных ответов тромбоцитов в процессе генерации тромбина во время свертывания крови: отчет о НИР (заключ.) : 05-104 [Электронный ресурс] / ФГБОУН ЦТПФХФ РНФ ; рук. Е.М. Кольцова. – Москва, 2020. – № ГР 20-75-00057. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_39266958_81005685.pdf (дата обращения 13.10.2023).
10. Влияние местных антисептиков и противовоспалительных средств на функциональную активность богатой тромбоцитами плазмы при комплексной терапии пародонтита / Л.Ю. Орехова, Т.В. Кудрявцева, Т.В. Вавилова, В.В. Тачалов // *Пародонтология*. – 2008. – № 1 (46). – С. 61-64.
11. Кузник, Б.И. К объективной оценке

истинной ретракции кровяного сгустка / Б.И. Кузник, М.А. Котовщикова // Лабораторное дело. – 1964. – № 9. – С. 524.

12. Процессы метаболизма и механизмы регуляции активности тромбоцитов (обзор литературы) / А.В. Халиулин, О.А. Гусякова, А.В. Козлов, А.И. Габрильчак // Клиническая лабораторная диагностика. – 2019. – № 3. – С. 164-169.

13. Morphology of fibrin and fibrin-platelet & fibrin-platelet-leukocyte clots / M. Sverdlova, A. Bokarev, A. Stekolnikov [et al.] // International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies. – 2021. – Т. 12. – № 7. – P. 12A7N.

14. Шпакова, В.С. Влияние арахидоновой кислоты на функции тромбоцитов / В.С. Шпакова, С.П. Гамбарян, Н.И. Рукояткина // В сборнике: рецепторы и внутриклеточная сигнализация / [Под редакцией В.П. Зинченко, А.В. Бережнова] - Рецепторы и внутриклеточная сигнализация. – 2019. – С. 123-127.

15. Способ получения плазмы, обогащенной тромбоцитами, из малых объемов крови [Текст]: пат. 2789518 Рос. Федерация: МПК А 61 К 35/19, А 61 К 35/16, G 01 N 33/49 / А.А. Стекольников, А.В. Бокарев, В.Е. Горохов [и др.] ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПбГУВМ. - № 2022113042; заявл. 13.05.2022; опубл. 06.02.2023, Бюл. № 4. – 5 стр: ил.

REFERENCES

1. The influence of leukocyte admixture on the wound-healing effect of a platelet clot / A.V. Bokarev, M.V. Sverdlova, A.O. Minina, R.D. Kholodny // International Bulletin of Veterinary Medicine. – 2022. – No. 4. – pp. 427-433.
2. The influence of platelet-derived growth factors on cell proliferation / A.N. Sveshnikova, E.V. Shamova, I.S. Kolesnikova [et al.] // In the book: Collection of theses of the XXIV Congress of the I. P. Pavlov Physiological Society. Collection of theses of the Congress. St. Petersburg, 2023. – p. 223.
3. The reaction of the skin of rats to the introduction of autologous cell-free blood

plasma or plasma containing platelets and other leukocytes / M.V. Sverdlova, A.V. Bokarev, A.A. Stekolnikov, A.O. Minina // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2021. – No. 3. – pp. 92-93.

4. Bazikyan, E.A. comparative analysis of the use in clinical practice of a fibrin clot enriched with leukocytes and platelets when filling holes of extracted teeth / E.A. Bazikyan, I.I. Tarba, G.A. Volozhin // Russian dentistry. – 2020. – Vol. 13. – No. 1. – pp. 16-17.

5. On the issue of the use of platelet-enriched fibrin clots / S.G. Pakhlevanyan, L.V. Shevchenko, A.Yu. Shevchenko [et al.] // Actual problems of medicine. – 2022. – Vol. 45. – No. 4. – pp. 388-399.

6. Experience of using platelet-enriched plasma in the treatment of patients with extensive wound defects / D.S. Tretyak, A.P. Trukhan, D.V. Vasiliev [et al.] // Medical Journal. – 2023. – № 2 (84). – Pp. 108-112.

7. Stimulation of osteoregeneration with PRP therapy / I.A. Rodin, I.G. Kiselev, L.P. Vishnivetskaya [et al.] // Izvestiya Orenburg State Agrarian University. – 2018. – № 3 (71). – Pp. 186-190.

8. The effect of 3"-O-acetylmibinin on platelet activation induced by thrombin / Pronin N.A. // In the collection: Young pharmacy - the potential of the future. Collection of materials of the XII All-Russian scientific conference of students and postgraduates with international participation. St. Petersburg, 2022. – pp. 397-401.

9. Dynamics of platelet functional responses in the process of thrombin generation during blood clotting: research report (conclusion) : 05-104 [Electronic resource] / FGBONE CTPFHF RNF ; hand. E.M. Koltsova. – Moscow, 2020. -No. GR 20-75-00057. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_39266958_81005685.pdf (accessed 13.10.2023).

10. The influence of local antiseptics and anti-inflammatory agents on the functional activity of platelet-rich plasma in the complex therapy of periodontitis / L.Yu. Orekhova, T.V. Kudryavtseva, T.V. Vavilova, V.V. Tachalov // Periodontology. – 2008. – № 1 (46). – Pp. 61-64.

11. Kuznik, B.I. To an objective assessment of the true retraction of a blood clot / B.I. Kuznik, M.A. Kotovshchikova // *Laboratory business*. – 1964. – No. 9. – p. 524.
12. Metabolic processes and mechanisms of regulation of platelet activity (literature review) / A.V. Khaliulin, O.A. Gussyakova, A.V. Kozlov, A.I. Gabrilchak // *Clinical laboratory diagnostics*. – 2019. – No. 3. – pp. 164-169.
13. Morphology of fibrin and fibrin-platelet & fibrin-platelet-leukocyte clots / M. Sverdlova, A. Bokarev, A. Stekolnikov [et al.] // *International Transaction Journal of Engineering, Management and Applied Sciences and Technologies*. - 2021. – Vol. 12. – No. 7. – P. 12A7N.
14. Shpakova, V.S. The effect of arachidonic acid on platelet functions / V.S. Shpakova, S.P. Gambaryan, N.I. Hiltkina // In the collection: receptors and intracellular signaling / [Edited by V.P. Zinchenko, A.V. Berezhnov] - Receptors and intracellular signaling. – 2019. – pp. 123-127.
15. A method for obtaining platelet-enriched plasma from small volumes of blood [Text]: pat. 2789518 Grew. Federation: IPC A 61 K 35/19, A 61 K 35/16, G 01 N 33/49 / A.A. Stekolnikov, A.V. Bokarev, V.E. Gorokhov [et al.]; applicant and patent holder of the SPbGUVU. - No. 2022113042; application 13.05.2022; publ. 06.02.2023, Bul. No. 4. – 5 pages: ill.