



ХИРУРГИЯ

УДК: 612.[111.7+115.1].014.462.5:615.276

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.547

ДИНАМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОАГУЛЯЦИИ И КОНТРАКЦИИ ТРОМБОЦИТАРНО- ФИБРИНОВЫХ СГУСТКОВ, ПРИГОТОВЛЕННЫХ В ПРИСУТСТВИИ НЕСТЕРОИДНЫХ И СТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

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); **Пилипец Е.Я.** – асп. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0000-0002-0735-523X); **Назаров А.Ю.** – асп. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID 0009-0004-7331-0525).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*Bluzma-nast@yandex.ru

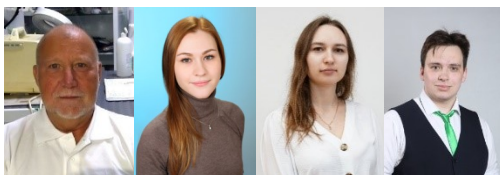
Ключевые слова: PRP-терапия, регенерация, воспаление, простагландины, циклооксигеназа, фосфолипаза-A2, нестероидные противовоспалительные препараты, стероидные противовоспалительные препараты, раневой процесс, тромбосан-A2.

Keywords: PRP therapy, regeneration, inflammation, prostaglandins, cyclooxygenase, phospholipase A2, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, steroid anti-inflammatory drugs, wound treatment, thromboxane A2.

Поступила: 12.11.2024

Принята к публикации: 02.12.2024

Опубликована онлайн: 16.12.2024



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты исследования по влиянию некоторых стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов на скорость образования (коагуляции) и скорость ретракции (контракции) сгустков, приготовленных из безэритроцитарной плазмы, обогащенной тромбоцитами. Выяснено, что высокие концентрации противовоспалительных препаратов данных групп через селективное воздействие на метаболизм тромбоцитов по-разному изменяют скорость и интенсивность коагуляции и контракции сгустка. Нестероидный противовоспалительный препарат мелоксикам не изменяет время образования сгустка (коагуляции), но значительно ускоряет его контракцию. Высказано предположение, что ускорение начала и полного завершения

контракции обусловлено тем, что мелоксикам подавляет тромбоцитарную циклооксигеназу второго типа. Вследствие этого тромбоциты перестают вырабатывать простаглицлин, который является антагонистом активатора тромбоцитов тромбоксана-A2. Другой нестероидный противовоспалительный препарат кеторол, наоборот, значительно удлиняет время наступления коагуляции сгустка и полностью подавляет его контракцию. Что связано с тем, что данный препарат является сильным ингибитором циклооксигеназы первого типа. Соответственно, зависимый от этого фермента активатор тромбоцитов тромбоксан-A2 перестает синтезироваться. Стероидный противовоспалительный препарат дексаметазон, в сравнении с контролем, незначительно ускоряет и время наступления коагуляции, и время наступления контракции сгустка. Однако данный эффект имеет низкую статистическую достоверность. Полученные результаты являются косвенным свидетельством того, что, мелоксикам и дексаметазон не препятствуют активации тромбоцитов. И, следовательно, могут применяться параллельно с лечением плазмой, обогащенной тромбоцитами. Препарат кеторолак, наоборот, подавляет активацию тромбоцитов. И, следовательно, его применение параллельно с лечением тромбоцитарной плазмой может снизить ее терапевтический регенеративный эффект.

Сокращения, используемые в тексте: Ак – арахидоновая кислота, Гк – глюкокортикоиды, Лк – лейкотриены, Лпк – липокартин, НПВС – нестероидные противовоспалительные препараты, Пг – простаглицлины, Пц – простаглицлин, СПВС – стероидные противовоспалительные препараты, Тр – тромбоциты, Тр-A2 – тромбоксан-A2, Флп-A2 – фосфолипаза-A2, Фр – факторы роста, ЦОГ-1 – циклооксигеназа первого типа, ЦОГ-2 – циклооксигеназа второго типа.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Одним из современных методов регенеративной медицины является введение плазмы, обогащенной тромбоцитами – (PRP – терапия). Из самого названия этого вида лечения ясно, что оно должно позитивно действовать на процессы регенерации [1]. Т.е., ускорять количественные и улучшать качественные параметры новообразованной ткани, которая возмещает тканевой дефицит, возникший вследствие травмы или иного заболевания [2]. Терапевтический механизм данного вида лечения заключается в том, что в а-гранулах (альфа гранулах) тромбоцитов (Тр) содержатся так называемые факторы роста (Фр), которые способны стимулировать к делению и дифференцировке те клетки организма, которые сохранили свой пролиферативный потенциал. В том числе фибробласты, эндотелиоциты, мезенхимальные стволовые клетки и др. [1]. Введение концентрата тромбоцитов,

предварительно очищенного от других клеток крови, в зону патологического очага позволяет ускорить процесс регенерации и, более того, направить его в сторону реституции. Однако, следует заметить, что те клинические ситуации, при которых требуется позитивное воздействие на регенеративные механизмы организма, часто являются следствием воспалительной патологии. Либо протекают параллельно с ней. Поэтому такие заболевания лечатся комплексно. Среди лекарственных препаратов, входящих в этот комплекс, априори входят противовоспалительные и обезболивающие средства [3]. Большая часть таких лекарственных средств представлена нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВС), являющиеся прямыми ингибиторами циклооксигеназ (ЦОГ) и стероидными противовоспалительными препаратами (СПВС), которые косвенно через синтез липокортина (Лпк) ингибируют фермент фосфолипазу-A2 (Флп-A2). В конечном итоге обе группы препаратов понижают в клетках мишенях синтез простаглицлинов (Пг) из арахидоновой кислоты (Ак). НПВС путем прямого подавления ферментативного превращения Ак в циклические эндопероксиды, являющиеся предшественниками Пг. А СПВС путем уменьшения в клетке мишени концентрации Ак как субстрата для ЦОГ и предшественника Пг [4, 5].

На сегодняшний день известно, что

многие лекарственные препараты из группы НПВС могут понижать функциональную активность Тр. Клинически это, проявляется в их патологическом эффекте индуцировать склонность к кровотечениям у пациентов с нормальным коагуляционным статусом крови [3, 4, 5]. А терапевтическое применение базируется на способности НПВС понижать склонность к тромбозу у пациентов с гиперкоагуляционным статусом [6]. Данные эффекты НПВС, в основном, обусловлены снижением образования Тр-А2. Т.е., того Пг, который является одним из сильнейших индукторов активации Тр, и действие которого визуально проявляется в их агрегации.

Однако такие фармакодинамические свойства НПВС, предположительно, могут входить в противоречие со свойствами Тр как клеток способных усиливать регенеративный эффект [3, 7, 8]. Проблема состоит в том, что Пг, в частности Тр-А2, как сказано выше, являются важными медиаторами активации Тр после чего те высвобождают а-гранулы с Фр в межклеточное пространство. Где у этих факторов появляется возможность проконтактировать с рецепторами на тех клетках, пролиферация которых обеспечивает процесс регенерации. И соответственно те лекарственные препараты, которые негативно влияют на синтез и высвобождение Пг в целом и Тр-А2 в частности, с высокой степенью достоверности могут оказывать и негативное действие и на способность Тр вызывать стимулирующее действие на процесс регенерации. Но, как уже было отмечено выше, механизмы негативного влияния на синтез Пг у НПВС и СПВС отличаются. Более того, так же имеются отличия и у препаратов, входящих в группу НПВС. Отличия последних заключаются в специфичности по отношению к двум изоформам циклооксигеназ – ЦОГ-1 и ЦОГ-2 [3, 8]. Исходя из выше сказанного, можно предположить, что влияние на регенеративный потенциал плазмы, обогащенной тромбоцитами у СПВС и НПВС разной специфичности по отношению к изоферментам ЦОГ так же будет

отличаться.

Известно, что оба процесса и гемостаз, и способность Тр экскретировать Фр связаны с процессом агрегации Тр [1, 3, 9]. Поэтому можно предположить, что количественные и качественные параметры коагуляции и контракции сгустков, приготовленных из плазмы, обогащенной тромбоцитами в присутствии препаратов, относящихся к СПВС и НПВС будут находиться в корреляции со способностью Тр оказывать регенеративный эффект. И могут служить косвенными маркерами совместимости конкретных противовоспалительных препаратов с PRP терапией.

Цель исследования – сравнить степень влияния стероидных и нестероидных противовоспалительных препаратов на такие параметры цитратной плазмы, обогащенной тромбоцитами как скорость ее коагуляции и контракции сгустка после реактивации системы свертывания внесением раствора кальция.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Объектом исследования была плазма, полученная из крови крыс линии Вистар (n=40). Забор крови (по 1.0-2.0 мл от каждого животного) осуществляли из хвостовой вены. Манипуляции по взятию крови выполняли под севофлурановым наркозом. Взятую кровь помещали в пробирки с цитратом натрия. Подсчет клеточных элементов в крови и в тромбоцитарной плазме проводили на гематологическом анализаторе МЕК-6550. Плазму, обогащенную тромбоцитами, получали методом, адаптированным к малым объемам крови [10]. Во всех опытах использовали концентрацию тромбоцитов в плазме $1.1-1.3 \times 10^6$ клеток/мкл. Далее плазму с тромбоцитами расфасовывали по 0.5 мл в пробирки типа Эппендорф. В опытные пробы добавляли дексаметазон, кеторол или мелоксикам. Использовали аптечные препараты, которые содержали действующего вещества: дексаметазон – 4мг/мл, мелоксикам – 10 мг/мл; кеторол – 30 мг/мл; Каждый препарат вносился в дозе 0.1 мл. Препараты вносили в дозах значи-

тельно выше терапевтических, чтобы полностью подавить соответствующие им метаболические пути активации тромбоцита и избежать явления «доза-эффект». В контрольные пробы вместо указанных препаратов вносили 0.1 мл 0.85% раствор хлорида натрия. Для реактивации процесса коагуляции, в каждую пробирку вносили по 0.025 мл 10% раствора кальция хлорида. После чего пробирки помешали в водяную баню при $t=37.0^{\circ}\text{C}$. В процессе культивирования пробирки извлекали каждые 15 секунд, фотографировали, визуально на глаз определяли разницу в размерах сгустка, а также определяли

степень ретракции сгустка по методу Макферлейна. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью персонального компьютера на программе BioStat Professional 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Согласно полученными результатами исследования все три испытанных препарата: дексаметазон, кеторол и мелоксикам, с большей или меньшей силой, оказывают влияние на коагуляцию и/или контракцию сгустков, образующихся из цитратной тромбоцитарной плазмы после ее реактивации кальцием (Таблица 1, Рисунки 1).

Таблица 1 - Динамика коагуляции и ретракции сгустка приготовленного из тромбоцитарной плазмы реактивированной в присутствии НПВС и СПВС

Вид препарата внесенного в тромбоцитарную плазму	Количество проведенных экспериментов	Время коагуляции (образования сгустка) (Секунд)	Время начала контракции сгустка (секунд)	Время 50% - ой контракции сгустка (секунд)	Время 100%-ой контракции сгустка (секунд)
Контроль (К)	N 10	73.6 $\pm$ 25.03	230.0 $\pm$ 15,28	558.0 $\pm$ 77,29	795.0 $\pm$ 48,07
Дексаметазон (Д)	N 10	44.0 $\pm$ 13.08	207.2 $\pm$ 23,79	502.0 $\pm$ 65.79	781.0 $\pm$ 37,18
Мелоксикам (М)	N 10	78.0 $\pm$ 31.02	182.0 $\pm$ 42,24	396.0 $\pm$ 62,04	668.0 $\pm$ 42,24
Кеторол (Кт)	N 10	758.0 $\pm$ 107.02	-	-	-
Множественные сравнения - критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони					
коагуляция		М и Д: t= 1.46 P>0,05	М и К: t=? P>0,05	К и Д: t=? P>0,05	Кт и Д: t= 30.67 Кт и К: t= 29.40 Кт и М: t=29.21 P<0,05
Контракция (начало)		М и К: t= 3.81 P<0,05	Д и К: t= 1.81 P>0,05		М и Д: t= 2.00 P>0,05
Контракция (50%)		М и Д: t= 2.94 P<0,05	М и К: t= 4.49 P<0,05		К и Д: t= 1.55 P>0,05
Контракция (100%)		М и Д: t= 5.30 P<0,05	М и К: t= 5.96 P<0,05		К и Д: t= 0,66 P>0,05

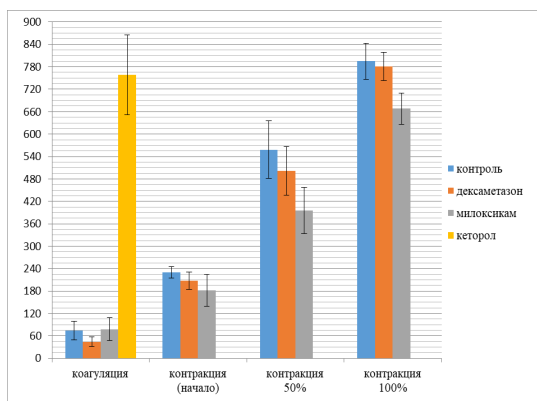


Рисунок 1 – Графическое отображение динамики коагуляции и контракции сгустков, приготовленных из плазмы, обогащенной тромбоцитами в присутствии нестероидных и стероидных противовоспалительных препаратов. По оси ординат время культивирования. Основные деления 60 секунд/1 минута. Промежуточные деления 15 секунд.

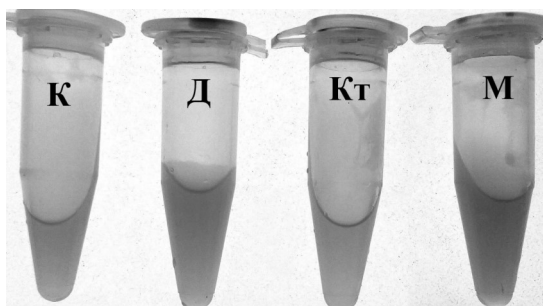


Рисунок 2 – Визуальный признак коагуляции в пробе, реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы, содержащей дексаметазон (Д). 44 ± 13 секунд культивирования. В контрольной пробе (К) и в пробах содержащих кеторол (Кт) и мелоксикам (М) коагуляция отсутствует.

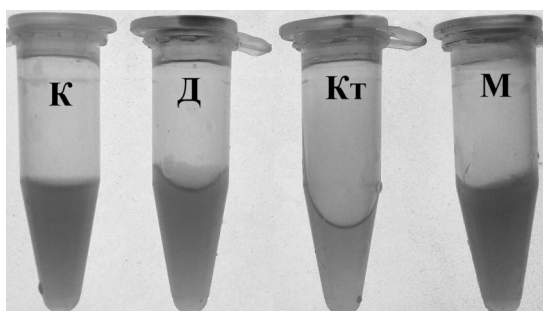


Рисунок 3 – Визуальный признак наступления коагуляции, реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы в контрольной пробе (К) и пробе, содержащей мелоксикам (М). 73 - 78 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) коагуляция отсутствует.

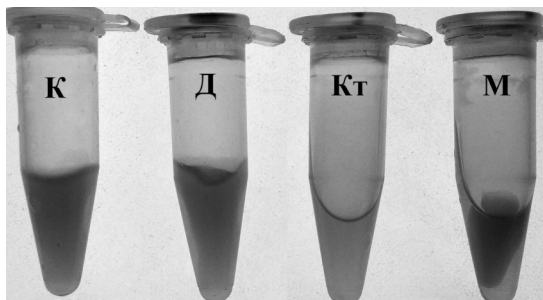


Рисунок 4 – Визуальный признак начала ретракции сгустков в реактивированной цитратной тромбоцитарной плазме в контрольной пробе (К) и пробе, содержащей дексаметазон (Д). В пробе, содержащей мелоксикам (М) ретракция началась раньше и выражена более сильно. 207 - 230 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) коагуляция отсутствует.

Дексаметазон ускоряет наступление коагуляции (44.00 ± 13.08 сек) в сравнении с контролем (73.60 ± 25.03 сек) и мелоксикамом (78.0 ± 31.02 сек) (Рисунок 2, Рисунок 3).

Хотя это ускорение имеет низкую степень достоверности (Таблица 1). Кеторол, наоборот, значительно замедляет наступление коагуляции, которая наступает только через 758.00 ± 107.02 секунд, когда в контрольной пробе и пробах, содержащих дексаметазон и мелоксикам уже завершается процесс контракции сгустков (Рисунок 7, Таблица 1). В пробах, содержащих мелоксикам скорость наступления коагуляции практически не отличаются от контрольных (Таблица 1).

Контракция сгустка быстрее начинается в пробах, содержащих мелоксикам (182.0 ± 42.24 сек), таблица 1. Ко времени, когда в контрольной пробе и пробе, содержащей дексаметазон контракции сгустков, еще только начинаются, 230.0 ± 15.28 секунд и 207.2 ± 23.79 секунд соответственно, в пробе, содержащей мелоксикам сгусток уже хорошо сформирован (Рисунок 4).

В течение последующего времени тенденция более быстрой контракции сгустка, в пробе, содержащей мелоксикам сохраняется. На момент 50% ретракции сгустков в контрольной пробе, в пробе, содержащей дексаметазон, в пробе, содержащей мелоксикам контракция сгустка почти достигает максимума (Рисунок 5).

А к времени 100% контракции сгустка, в пробе, содержащей мелоксикам (668.00 ± 42.24 сек), контракция сгустков в контрольной пробе и в пробе, содержащей дексаметазон еще не завершилась (Рисунок 6). 100% контракция сгустков в контрольной пробе и в пробе, содержащей дексаметазон завершается только к 795.00 ± 48.07 секунде и к 781.00 ± 37.18 секунде соответственно (Рисунок 7). К этому моменту времени наступает коагуляция в пробе, содержащей кеторол. Но контракция сгустка в данной пробе не происходит. Согласно математическому подсчету данных и его графическому

отображению дексаметазон ускоряет контракцию сгустка в сравнении с контролем (Рисунок 1). Однако статистический анализ показывает невысокую степень достоверности этого ускорения (Таблица 1).

Подавление контракции и отсроченное время наступления коагуляции в присутствии кеторола. Клинические противовоспалительный и обезболивающий эффекты кеторола обусловлены, как и всех НПВС, способностью подавлять активность ЦОГ. Однако его ингибирующее действие более, чем в семь раз выше в отношении ЦОГ-1, нежели, чем к ЦОГ-2. Учитывая, что в данном эксперименте были использованы очень высокие дозы кеторола, можно с уверенностью сказать, что на уровне тромбоцитарного метаболизма им был полностью заблокирован синтез Тр-А2. Вследствие чего контракция образовавшегося сгустка не имела место быть. Вопрос отсроченного наступления коагуляции активированной тромбоцитарной плазмы в присутствии кеторола требует дополнительного исследования. Не исключено, что кеторол способен негативно влиять на факторы каскада плазменного гемостаза. Проверка этого предположения в данном исследовании не проводилась.

Ускорение контракции под действием мелоксикама. В условиях *in vivo* тромбический эффект Тр-А2, который синтезируется в Тр при участии фермента ЦОГ-1, нейтрализуется антитромбическим эффектом простаглицина (Пц). Пц так же является простаглицлином (Пг- i_2), который синтезируется клетками эндотелия кровеносных сосудов при участии ЦОГ-2. В здоровом организме баланс влияния Тр-А2 и Пц на тромбоциты регулирует систему гемостаза. Но те НПВС, которые являются селективными ингибиторами ЦОГ-2 (коксибы), в организме животных и человека избирательно подавляют синтез Пц эндотелиоцитами и поэтому могут приводить к тромбозам [4, 11]. Мелоксикам не является селективным ингибитором ЦОГ-2. Но, тем не менее, его специфичность к этому изоферменту в более, чем в 11 раз выше, чем к ЦОГ-1. В кон-

тексте обсуждаемого эксперимента следует отметить, что в условиях *in vitro* эндотелиальные клетки отсутствуют. Но мелоксикам имеющий более выраженную антиЦОГ-2, чем антиЦОГ-1 активность, тем не менее, достоверно ускоряет ретракцию сгустка в сравнении с контро-

лем. Исходя из этого, можно сделать вывод, что способность данного препарата ускорять ретракцию сгустка, приготовленного *in vitro* из тромбоцитарной плазмы, так же обусловлена подавлением ЦОГ-2.

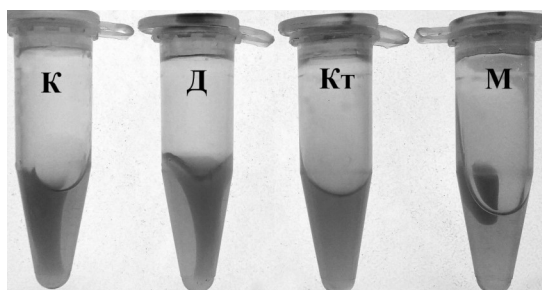


Рисунок 5 – Визуальный признак 50% ретракции сгустков реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы в контрольной пробе (К) и в пробе, содержащей дексаметазон (Д). В пробе, содержавшей мелоксикам (М) ретракция достигла почти 100%. 502 - 558 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) коагуляция отсутствует.

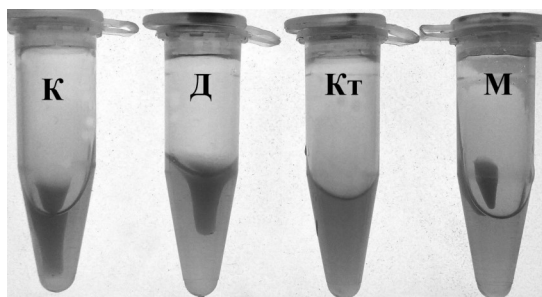


Рисунок 6 – Визуальный признак 100% ретракции сгустка реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы содержавшей мелоксикам (М). В контрольной пробе и пробе, содержащей дексаметазон ретракция сгустка еще не достигла максимума. 668.0 ± 42 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) коагуляция отсутствует.

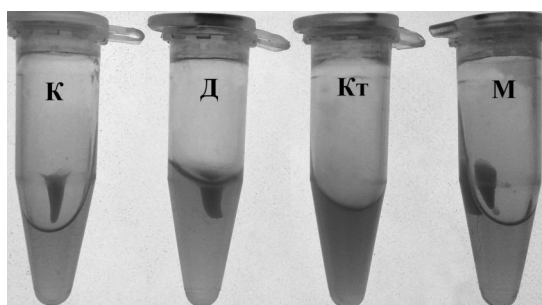


Рисунок 7 – Визуальный признак достижения 100% ретракции сгустка реактивированной цитратной тромбоцитарной плазмы в контрольной пробе (К) и в пробе, содержавшей дексаметазон (Д). 795 ± 48 секунд после начала культивирования. В пробе содержащей кеторол (Кт) к этому времени произошла коагуляция, но признаки ретракции отсутствуют.

Но, как это следует из условий эксперимента, не в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, а в самих Тр. Вследствие чего Тр-А2 синтез, которого мелоксикамом подавляется в значительно в меньшей степени, мог более выраженно проявлять свои контракционный эффект [11]. То, что ускорение процесса ретрак-

ции под действием мелоксикама может быть обусловлено подавлением ЦОГ-2 именно в Тр косвенно подтверждается и другими исследованиями. В экспериментах на Тр человека установлено, что эти клетки, действительно содержат небольшое количество ЦОГ-2 [6, 12]. Более прямое подтверждение нашего вывода о том,

что ускорение контракции тромбоцитарного сгустка под действием мелоксикама может быть связано с подавлением активности ЦОГ-2 в Тр, наглядно демонстрируется на примере ЦОГ-2 дефицитных мышинных Тр, у которых наблюдается повышенная агрегация в ответ на агонисты [13].

Нейтральное или слабо позитивное действие дексаметазона на коагуляцию и контракцию тромбоцитарного сгустка. Известно, что СПВС обладают более сильным противовоспалительным действием, чем НПВС. В ядродержащих клетках их противовоспалительный механизм действия опосредуется не через ингибирование ЦОГ, а через индукцию синтеза Лпк, который, в свою очередь, подавляет активность фермента Флп-А2. Тем самым СПВС препятствуют накоплению в клетке Ак, и, соответственно, снижают синтез не только Пг, но и лейкотриенов (Лк). Однако тромбоциты млекопитающих являются безъядерными «обломками» мегакариоцитов, и, соответственно, СПВС-индуцированный синтез de novo Лпк в них невозможен. В Тр имеется некоторое небольшое количество предсинтезированного Лпк. Но установлено, что на функциональные свойства Тр, в том числе на синтез Тр-А2, он не влияет [14]. Так же установлено, что несмотря на то, что мембранные рецепторы Тр способны связывать разные СПВС, именно дексаметазон (в отличие от преднизолона) не подавлял АДФ-индуцированную агрегацию Тр и не снижал в них количество Тр-А2 [15]. В представленном эксперименте in vitro это подтверждается тем, что дексаметазон практически не понизил ни скорости коагуляции, ни скорости ретракции сгустка, приготовленного из реактивированной цитратной плазмы, обогащенной тромбоцитами. Из всего вышесказанного закономерно сделать вывод, что несмотря на то, что использованный в эксперименте дексаметазон при системном применении и обладает более сильным, чем НПВС, противовоспалительным действием, *воздействуя на тромбоциты, он не подавляет*

их активацию и реализацию регенеративного потенциала. Наблюдаемый хоть и слабовыраженный позитивный эффект дексаметазона на данный момент не имеет объяснения. Однако следует заметить, что влияние СПВС на внутриклеточный метаболизм имеет более сложный механизм, чем НПВС. Так же следует обратить внимание на то, что визуальные эффекты, наблюдаемые in vitro, включающие коагуляцию и контракцию могут варьировать в зависимости как от дозы СПВС и НПВС, так и от концентрации Тр в плазме [8, 9]. Эта сторона вопроса требует дополнительного исследования.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

1. Полученные результаты являются косвенным свидетельством того, что, мелоксикам и дексаметазон не препятствуют активации тромбоцитов. И, следовательно, могут применяться параллельно с лечением плазмой, обогащенной тромбоцитами.

2. Препарат кеторолак, наоборот, подавляет активацию тромбоцитов. И, следовательно, его применение параллельно с лечением тромбоцитарной плазмой может снизить ее терапевтический регенеративный эффект.

Возможные перспективы клинического использования полученных данных. В условиях клинического эксперимента следует проверить: 1 – возможность инъекции тромбоцитарной плазмы с добавлением мелоксикама вокруг раневого дефекта ускорять остановку кровотечения и в последующем снижать признаки воспалительной реакции; 2 – возможность инъекции или аппликаций тромбоцитарной плазмы с добавлением дексаметазона ослаблять признаки воспалительной реакции, не снижая процессов регенерации. Например, при лечении язвы роговицы; 3 – возможность использования сгустков без признаков ретракции сделанных на основе тромбоцитарной плазмы с добавлением кеторола как биоразлагаемых источников противовоспалительного лекарственного препарата пролонгированного действия. И одновременно как источников тромбоцитарных фак-

торов роста.

DYNAMIC CHARACTERISTICS OF COAGULATION AND CONTRACTION OF PLATELET-FIBRIN CLOTS PREPARED IN THE PRESENCE OF NONSTEROIDAL AND STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS

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); **Pilipets E. Ya.** – graduate student of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID 0000-0002-0735-523X); **Nazarov A.Y.** – graduate student of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID 0009-0004-7331-0525).

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 some steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs on the rate of formation (coagulation) and the rate of retraction (contraction) of clots prepared from erythrocyte-free plasma enriched with platelets. It was found that high concentrations of anti-inflammatory drugs of these groups, through selective effects on platelet metabolism, change the rate and intensity of coagulation and clot contraction in different ways. The nonsteroidal anti-inflammatory drug meloxicam does not change the time of clot formation (coagulation), but significantly accelerates its contraction. It is suggested that the acceleration of the onset and complete completion of contraction is due to the fact that meloxicam suppresses platelet cyclooxygenase of the second type. As a result, platelets stop producing prostacyclin, which is an antagonist of the platelet activator thromboxane-A₂. Another nonsteroidal anti-inflammatory drug ketorol, on the contrary,

significantly prolongs the onset of coagulation of the clot and completely suppresses its contraction. This is due to the fact that this drug is a strong inhibitor of cyclooxygenase of the first type. Accordingly, the platelet activator trom-boxan-A₂, which is dependent on this enzyme, ceases to be synthesized. The steroidal anti-inflammatory drug dexamethasone, in comparison with the control, slightly accelerates both the time of onset of coagulation and the time of onset of clot contraction. However, this effect has low statistical validity. The results obtained are indirect evidence that meloxicam and dexamethasone do not prevent platelet activation. And, therefore, they can be used in parallel with the treatment of platelet-rich plasma. Ketorolac, on the contrary, suppresses platelet activation. And, consequently, its use in parallel with platelet plasma treatment can reduce its therapeutic regenerative effect.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Юшков, Б.Г. Тромбоциты и регенерация / Юшков Б.Г. // Бюллетень сибирской медицины. – 2021 – №20 (2). – С. 216–227.
2. Влияние бесклеточной и тромбоцитарной плазмы на заживление ожоговой раны у крыс / Свердлов М.В., Стекольников А.А., Минина А.О., Бокарев А.В. // Международный вестник ветеринарии. – 2022. – № 2. – С. 188-194.
3. Autologous Platelet-Rich Plasma Preparations: Influence of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs on Platelet Function / Schippinger G., Prüller F., Divjak M., et.c. // The Orthopaedic Journal of Sports Medicine. – 2015. – Jun 23;3(6). – 2325967115588896.
4. Cyclooxygenases and platelet functions / Bruno A., Tacconelli S., Contursi A., et.c. // Adv Pharmacol. – 2023. – № 97. – P. 133-165.
5. Inhibition of prostaglandin E₂ synthesis by SC-560 is independent of cyclooxygenase 1 inhibition / Brenneis C., Maier T.J., Schmidt R., et.c. // The FASEB Journal. – 2006. – Jul;20(9). – P. 1352-60.
6. Cyclooxygenase-2 in human platelets as a possible factor in aspirin resistance / Weber

- A.A., Zimmermann K.C., Meyer-Kirchrath J., Schrör K. // *The Lancet. Research Letters*. 1999. - March 13 - V.353. - P. 900-901.
7. Влияние местных антисептиков и противовоспалительных средств на функциональную активность богатой тромбоцитами плазмы при комплексной терапии пародонтита / Орехова Л.Ю., Кудрявцева Т.В., Вавилова Т.В., Тачалов В.В. // *Пародонтология*. - 2008. - № 1 (46). - С. 61-64.
8. Влияние нестероидных и стероидных противовоспалительных препаратов на активацию тромбоцитов IN VITRO / Бокарев А.В., Минина А.О., Горохов В.Е. // *Международный вестник ветеринарии*. - 2023. - № 4. - С. 463-472.
9. Зависимость контракции (ретракции) сгустка от молекулярного и клеточного состава крови / Пешкова А.Д., Ложкин А.П., Фахтулина Л.С., и др. // *Казанский медицинский журнал*. - 2016. - Том 97, №1. - С. 70 - 77.
10. Патент № 2789518 Российская Федерация, МПК А61К 35/19, А61К 35/16, G01N 33/49. Способ получения плазмы, обогащенной тромбоцитами, из малых объемов крови: № 2022113042: заявл. 13.05.2022; опубл. 06.02.2023 / Стекольников А.А., Бокарев А.В., Горохов В.Е., Минина А.О., Сverdlova M.B., Захаров А.Ю. - 5 с.
11. Patrono, C. Cardiovascular effects of cyclooxygenase-2 inhibitors: a mechanistic and clinical perspective / Patrono C. // *Br J Clin Pharmacol*. - 2016. - Oct; 82(4). - P. 957-964.
12. A small amount of cyclooxygenase 2 (COX2) is constitutively expressed in platelets / Hu Q., Cho M.S., Thiagarajan P.T., e.t.c. // *Platelets*. - 2017 - Jan;28(1). P. 99-102.
13. Abnormal megakaryopoiesis and platelet function in cyclooxygenase-2-deficient mice / Barbieri S.S., Petrucci G., Tarantino E., e.t.c. // *Thrombosis and Haemostasis* / - 2015. - Nov 25;114(6). - P. 1218-29.
14. Virtual lack of annexins in human platelets argues against a role in phospholipase A2 regulation and platelet secretion / Ferreres J., Simon M.F., Fauvel J., Chap H // *J Lipid Mediat Cell Signal*. - 1994. - Mar;9(2). P. 155-65.
15. Ligand-specific glucocorticoid receptor activation in human platelets / Moraes L.A., Paul-Clark M.J., Rickman A., e.t.c. // *Blood*. - 2005. - Dec; 106(13). - P. 4167-75.

REFERENCES

1. Yushkov, B.G. Platelets and regeneration / Yushkov B.G. // *Bulletin of Siberian medicine*. - 2021 - №20 (2). - Pp. 216-227.
2. The effect of cell-free and platelet-free plasma on the healing of a burn wound in rats / Sverdlova M.V., Stekolnikov A.A., Minina A.O., Bokarev A.V. // *International Bulletin of Veterinary Medicine*. - 2022. - No. 2. - pp. 188-194.
3. Autologous Platelet-Rich Plasma Preparations: Influence of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs on Platelet Function / Schippinger G., Prüller F., Divjak M., e.t.c. // *The Orthopaedic Journal of Sports Medicine*. - 2015. - Jun 23;3(6). - 2325967115588896.
4. Cyclooxygenases and platelet functions / Bruno A., Tacconelli S., Contursi A., e.t.c. // *Adv Pharmacol*. - 2023. - № 97. - P. 133-165.
5. Inhibition of prostaglandin E2 synthesis by SC-560 is independent of cyclooxygenase 1 inhibition / Brenneis C., Maier T.J., Schmidt R., e.t.c. // *The FASEB Journal*. - 2006. - Jul;20(9). - P. 1352-60.
6. Cyclooxygenase-2 in human platelets as a possible factor in aspirin resistance / Weber A.A., Zimmermann K.C., Meyer-Kirchrath J., Schrör K. // *The Lancet. Research Letters*. 1999. - March 13 - V.353. - P. 900-901.
7. The effect of local antiseptics and anti-inflammatory drugs on the functional activity of platelet-rich plasma in the complex therapy of periodontitis / Orekhova L.Yu., Kudryavtseva T.V., Vavilova T.V., Tachalov V.V. // *Periodontology*. - 2008. - № 1 (46). - Pp. 61-64.
8. The effect of nonsteroidal and steroid anti-inflammatory drugs on platelet activation IN VITRO / Bokarev A.V., Minina A.O., Gorokhov V.E. // *International Bulletin of Veterinary Medicine*. - 2023. - No. 4. - pp. 463-472.
9. Dependence of clot contraction

- (retraction) on the molecular and cellular composition of blood / Peshkova A.D., Lozhkin A.P., Fakhtullina L.S., et al. // *Kazan Medical Journal*. – 2016. – Volume 97, No. 1. – pp. 70-77.
10. Patent No. 2789518 Russian Federation, IPC A61K 35/19, A61K 35/16, G01N 33/49. A method for obtaining platelet-enriched plasma from small volumes of blood: No. 2022113042: application 13.05.2022: publ. 06.02.2023 / Stekolnikov A.A., Bokarev A.V., Gorokhov V.E., Minina A.O., Sverdlova M.V., Zakharov A.Yu. – 5 p.
11. Patrono, C. Cardiovascular effects of cyclooxygenase-2 inhibitors: a mechanistic and clinical perspective / Patrono C. // *Br J Clin Pharmacol*. – 2016. – Oct; 82(4). – P. 957–964.
12. A small amount of cyclooxygenase 2 (COX2) is constitutively expressed in platelets / Hu Q., Cho M.S., Thiagarajan P.T., et.c. // *Platelets*. – 2017 – Jan;28(1). P. 99-102.
13. Abnormal megakaryopoiesis and platelet function in cyclooxygenase-2-deficient mice / Barbieri S.S., Petrucci G., Tarantino E., et.c. // *Thrombosis and Haemostasis* / – 2015. – Nov 25;114(6). – P. 1218-29.
14. Virtual lack of annexins in human platelets argues against a role in phospholipase A2 regulation and platelet secrecy / Ferrieres J., Simon M.F., Fauvel J., Chap H // *J Lipid Mediat Cell Signal*. – 1994. – Mar;9(2). pp. 155-65.
15. Ligand-specific glucocorticoid receptor activation in human platelets / Moraes L.A., Paul-Clark M.J., Rickman A., et.c. // *Blood*. – 2005. – Dec; 106(13). – P. 4167-75.