

## ORIGINALNI RAD / ORIGINAL PAPER

DOI: 10.2298/VETGL1506357C

UDC: 615.276.076

**UTICAJ ACETILSALICILNE KISELINE I MELOKSİKAMA NA  
HEMATOLOŠKE PARAMETRE KOD PACOVA\***  
*THE EFFECT OF ACETYLSALICYLIC ACID AND MELOXICAM ON  
HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN RATS*

Vitomir Čupić, Predrag Pejčić, Dragiša Trailović, Branislav Prokić, Ivanović Saša,  
Dejana Čupić-Miladinović\*\*

*U ovom radu je ispitivan uticaj dva nesteroidna antiinflamatorna leka (NSAIL), acetilsalicilne kiseline ili aspirina (neselektivni inhibitor ciklooksigenaze - COX<sub>1</sub> i COX<sub>2</sub>) i meloksikama (selektivnog inhibitora ciklooksigenaze – COX<sub>2</sub>) na određene hematološke parametre kod pacova. Cilj rada je bio da se utvrdi da li (i u kom stepenu) navedeni lekovi posle višekratne peroralne aplikacije, imaju uticaja na broj eritrocita, koncentraciju hemoglobina, hematološke indekse (prosečnu zapreminu eritrocita – MCV; prosečnu količinu hemoglobina u eritrocitima - MCH; prosečnu koncentraciju hemoglobina u eritrocitima – MCHC), hematokrit, broj trombocita, broj leukocita, neutrofilnih leukocita, limfocita i monocita.*

*Ogled je izveden u in vivo uslovima na 70 kliničkih zdravih pacova, soja Wistar, muškog pola, starosti od 10 do 12 nedelja i telesne mase od 250 do 300 g. Pacovi su podeljeni u sedam grupa i njima je svakodnevno peroralno (uz pomoć sonde), u toku 7 dana primenjivan aspirin (ASCOPIR) u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m./dnevno (I, II i III grupa), odnosno meloksikam (METACAM) u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg t.m. (IV, V i VI grupa). Sedma grupa je služila kao kontrola i njoj je aplikovan samo fiziološki rastvor.*

*Dobijeni rezultati pokazali su da je: acetilsalicilna kiselina u najvećoj testiranoj dozi (80 mg/kg t.m.), statistički značajno smanjila broj trombocita ( $p < 0,05$ ), broj leukocita ( $p < 0,05$ ), broj limfocita ( $p < 0,05$ ) i broj monocita ( $p < 0,05$ ), dok je meloksikam u najvećoj testiranoj dozi*

\* Rad primljen za štampu 17.11.2015.

\*\* Dr Vitomir Čupić, profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija; Predrag Pejčić, dr. vet. med., "Marlo Farma", Beograd; dr Dragiša Trailović, profesor; dr Branislav Prokić, van. profesor; dr Saša Ivanović, docent; Dejana Čupić-Miladinović, dr vet. med., doktorant, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

*(250 µg/kg), statistički značajno smanjio zapreminu eritrocita (MCV), a povećao broj trombocita ( $p < 0,05$ ) u odnosu na kontrolnu vrednost.*

*Ključne reči: nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NAIL), acetilsalicilna kiselina, meloksikam, biohemijski i hematološki parametri, pacovi*

## Uvod / Introduction

Danas se u lečenju inflamatornih oboljenja, praćenih bolovima, a ponekad i povišenom telesnom temperaturom, najčešće koriste nesteroidni antiinflamatorni lekovi (NSAIL) (Adams, 2001; Merchant and Modi, 2004; Al-Rekabi i sar., 2009; Swetman-Martindale, 2009; Katzung i sar., 2012; Ćupić i sar., 2014). Oni slabo deluju na jake bolove, a dobro deluju protiv bolova u mišićima i zglobovima, glavobolje i zubobolje. Istovremeno, snižavaju povišenu telesnu temperaturu, imaju antiinflamatorni i antiagregacijski efekat, a neki od njih povećavaju izlučivanje mokraćne kiseline i deluju spazmolitički na glatku muskulaturu digestivnog trakta (Roelvink i sar., 1991; Saper i Breder, 1994; Patrono, 1994; Rainsford i sar., 1997; Ogino i sar., 1997; Santos i sar., 1998; Adams, 2001; Goodman and Gilman's, 2006; Jezdimirović, 2010; Katzung i sar., 2012; Varagić i Milošević, 2012; Ćupić i sar., 2014).

U veterinarskoj kliničkoj praksi, njihov povoljan terapijski efekat je naročito zapažen u lečenju akutnih i hroničnih upala lokomotornog sistema (posebno kod konja i pasa), kao i u terapiji pneumonija kod prasadi i teladi, te sprečavanju i lečenju endotoksemija kod životinja (Jezdimirović i sar., 1996; Lees, 2000; Hsu, 2008).

Osnovni mehanizam delovanja NSAIL se sastoji u inhibiciji sinteze prostaglandina, snažnih medijatora tkivnog zapaljenja i bola (Flower, 1974; Vane, 1971; Vane and Botting, 1997; Vane and Botting, 1998; Vane and Botting, 2003; Botting, 2006; Ugrešić i Savić, 2006). Ovaj efekat oni ostvaruju inhibicijom aktivnosti enzima ciklooksigenaze (COX) koja katalizuje konverziju arahidonske kiseline u prostaglandine (Brander, 1991; Vane and Botting, 1998a; Vane and Botting, 1998b; Vane and Botting, 1998c; Vane i sar., 1998d; Adams, 2001; Ćupić i sar., 2014). Prema novijim saznanjima, postoji tri izoforme enzima ciklooksigenaze: a) *konstitutivna ili COX-1*, koja je prisutna u većini tkiva (a pre svega u mukozi želuca, u krvi i bubrezima), i odgovorna je za biosintezu citoprotektivnih prostaglandina, koji učestvuju u regulaciji mnogobrojnih fizioloških procesa u organizmu (Simons, 2003), zatim b) *inducibilna ili COX-2* koja se aktivira pri zapaljenskim procesima, a takođe učestvuje i u sintezi proinflamatornih citokina (IL-1 $\beta$ , IL-2 TNF $\alpha$ ); njenu ekspresiju sprečavaju IL-4, IL-10 IL-13 i glukokortikosteroidi (Hawkey, 2001), te c) COX-3, koja se sintetiše u ćelijama CNS-a i veoma je slična COX-1 (Chandrasekharan i sar., 2002; Simons, 2003; Ugrešić i Savić, 2006, Botting, 2006).

Otkriće druge izoforme dovelo je do hipoteze po kojoj je antiinflamatorno delovanje NSAIL povezano sa inhibicijom COX-2 (Kurumball i sar., 1996), dok su neželjeni sporedni efekti, prevashodno u gastrointestinalnom traktu, u vezi sa inhibicijom COX-1 (Langman i sar., 1994; Frönlich, 1995). Mnogobrojnim *in vitro* i *in vivo* testovima za merenje afiniteta pojedinih NSAIL prema određenim izoformama COX, objašnjeni su i sporedni efekti ovih lekova u njihovim antiinflamatornim dozama (Mitchell i sar., 1993; Warner i sar., 1999; Botting, 2006).

Kao posledica blokade sinteze prostaglandina, NSAIL u organizmu mogu izazvati ne samo željene, već i neželjene efekte. Od neželjenih efekata su najčešća ona u gastrointestinalnom traktu (Cuthbert, 1974; Trailović i sar., 1989; Johansson i sar., 1991; Garcia Rodriguez i Jick, 1994; Langman i sar., 1994; Somasundaram, 1995; Lichtenberger, 1995; Papich, 1995; Davis, 1995; Bowersox i sar., 1996; Trailović, 1997. Ovi efekti mogu nastati bez obzira, da li se NSAIL primenjuju peroralno ili parenteralno (Wallace i McKnight, 1993).

Pored svega rečenog, poznato je da ovi lekovi mogu delovati i na krvnu sliku, biohemijske parametre, jetru, bubrege, kardiovaskularni sistem, respiratorni sistem, reprodukciju, i izazvati reakcije preosetljivosti (Arnold i sar., 1973; Walker i sar., 1977; Wills i Savory, 1981; Akyol i sar., 1982; Rainsford, 1984; Lewis, 1984; Meischer, 1986; Freeland i sar., 1988; Brander, 1991; Magee i Beeley, 1991; Raybak, 1992; Navratil i sar., 1992; Perneger i sar., 1994; Garcia Rodriguez i Jick, 1994; Langman i sar., 1994; Tomoda i sar., 1994; Jezdimirović i sar., 1996; Matzke, 1996; Adams, 2001; Modi i Merchant, 2003; Merchant i Modi, 2004; Vasilev i sar., 2006; Al-Rekabi i sar., 2009; Čupić i sar., 2014).

Cilj ovog rada je bio da se ispita da li (i u kom stepenu) navedeni lekovi posle sedmodnevne peroralne aplikacije, imaju uticaja na broj eritrocita, koncentraciju hemoglobina, hematološke indekse (prosečna zapremina eritrocita – MCV; prosečna količina hemoglobina u eritrocitima - MCH; prosečna koncentracija hemoglobina u eritrocitima – MCHC), hematokrit, broj trombocita, broj leukocita, neutrofilnih leukocita, limfocita i monocita.

## **Materijal i metode rada / *Material and methods***

### **Ogledne životinje / *Animals***

Ispitivanja su izvedena u *in vivo* uslovima na 70 kliničkih zdravih, intaktnih pacova, soja Wistar, muškog pola, starosti od 10 do 12 nedelja i telesne mase od 250 do 300 g. Pacovi su odgajeni na Farmi za uzgoj laboratorijskih životinja „Galenika” ad. Beograd. Za sve vreme oglada pacovi su držani u prethodno opranim i dezinfikovanim kavezima, (po 5 u jednom kavezu), hranjeni briketiranom hranom za pacove (Veterinarski zavod „Subotica“, Subotica) i pojeni po volji (*ad libitum*). U prostoriji u kojoj su držani temperatura se kretala od 15 do 18°C.

### **Lekovi / Medicines**

– Acetilsalicilna kiselina ili aspirin (ASCOPIR, oralni prašak, 400 mg/g, „Vaas - Industria Chimica Farmaceutica”, Italija),

– Meloksikam (METACAM, oralna suspenzija, 1,5 mg/ml, „Boehringer Ingelheim Vetmedica” GmbH, Nemačka)

Radi lakše primene (doziranja) oba leka su neposredno pred primenu razblažena u 10 ml fiziološkog rastvora.

### **Dizajn ogleđa / Design of experiment**

Pacovi su podeljeni u sedam grupa od po 10 životinja. Jedinkama I, II i III grupe, aplikovan je peroralno aspirin (ASCOPIR) u dozama od 30 (I - grupa), 40 (II-grupa) i 80 mg/kg t.m. (III-grupa), što (posle razblaživanja u 10 ml fiziološkog rastvora) odgovara dozama preparata od 0,75, 1 i 2 ml/kg t.m., dok je pacovima IV, V i VI grupe aplikovan meloksikam (METACAM), takođe peroralno u dozama od 100 (IV - grupa), 125 (V-grupa) i 250 µg/kg t.m. (VI-grupa), što odgovara dozama preparata od 0,66, 0,83 i 1,66 ml/kg t.m.. Oba leka su u navedenim dozama aplikovani životinjama tokom 7 dana. Pacovi VII grupe su služili kao kontrola i njima je aplikovan fiziološki rastvor u dozi od 1 ml/kg t.m.

Nakon završenog tretmana (8. dan), životinjama (prethodno anestetiziranim etrom) vađena je krv iz srca, radi analize napred navedenih hematoloških parametara. Za ovu svrhu je korišćen automatski analizator Diatron Arcus (Austrija).

Svi rezultati u tekstu i tabelama, prikazani su kao srednja vrednost ( $X$ ) ± standardna devijacija (SD). Statistička značajnost unutar grupa (efekat-doza) kao i razlike između kontrolne grupe i primenjenih doza acetilsalicilne kiseline i meloksikama (oglednih grupa) utvrđena je primenom analize varijanse (ANOVA) u jednom pravcu i naknadnom analizom putem Turkey-ovog testa. Statistički značajnim su se smatrale razlike na nivou  $p < 0,05$ .

### **Rezultati / Results**

#### **a) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene, na broj eritrocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on erythrocyte count in rats**

Ispitivanjem mogućeg uticaja acetilsalicilne kiseline, primenjivane u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. i meloksikama u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg, t.m., na broj eritrocita u krvi pacova, posle njihove 7-dnevne p.o. aplikacije ustanovljeno je da oba leka u primenjenim dozama ne utiču na broj eritrocita, te nije utvrđena statistički značajna razlika kako između oglednih, tako i između oglednih i kontrolne grupe životinja (tabela 1).

**Tabela 1.** Broj eritrocita, koncentracija hemoglobina, prosečna zapremina eritrocita (MCV), prosečna količina hemoglobina (MCH), prosečna koncentracija hemoglobina (MCHC) i vrednost hematokrita u krvi pacova, posle 7-dnevne p.o. aplikacije acetilsalicilne kiseline (30, 40 i 80 mg/kg t.m.) i meloksikama (100, 125 i 250 µg/kg, t.m.)

**Table 1.** Number of erythrocytes, hemoglobin concentration, Mean Corpuscular Value (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH), Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) and hematocrit value in the blood of rats after a seven-day p.o. applications of acetylsalicylic acid (30, 40 and 80 mg/kg b.m.) and meloxicam (100, 125 and 250 µg/kg, b.m.)

Lek / Medication	Grupe / Groups	n	Doza / Dose* (mg ili µg/kg, t.m.)	Broj eritrocita / Number of erythrocytes (x 10 <sup>12</sup> /l) (x ± SD)	Koncentracija hemoglobina / Hemoglobin concentration (g/l)	MCV (fl) (x ± SD)	MCH (pg) (x ± SD)	MCHC (g/l) (x ± SD)	Hematokrit (ml %) (x ± SD)
Acetilsalicilna kiselina / Acetylsalicylic acid	I	10	30	6,17 ± 0,92	107,00 ± 18,07	54,29 ± 1,38	17,31 ± 0,49	318,14 ± 6,20	33,56 ± 5,27
	II	10	40	7,27 ± 0,65	120,38 ± 10,25	54,63 ± 1,41	16,56 ± 0,43	308,63 ± 4,14	38,96 ± 3,35
	III	10	80	6,55 ± 1,21	109,63 ± 20,23	55,00 ± 0,93	17,00 ± 0,86	303,63 ± 4,41	36,01 ± 6,48
Meloksikam / Meloxicam	IV	10	100	6,50 ± 0,99	108,30 ± 24,40	54,43 ± 2,44	16,61 ± 2,42	305,29 ± 43,85	36,23 ± 6,53
	V	10	125	5,76 ± 0,94	80,00 ± 33,46	54,71 ± 0,76	16,44 ± 0,50	301,00 ± 10,46	31,63 ± 5,31
	VI	10	250	7,03 ± 1,54	115,50 ± 26,53	53,75 ± 1,39	16,38 ± 0,42	304,50 ± 9,15	37,65 ± 7,97
Kontrola / Control	VII	10	1 ml/kg	6,58 ± 1,37	112,20 ± 25,09	56,00 ± 0,26	17,00 ± 0,43	304,33 ± 13,78	36,73 ± 7,42

Značajnost (ANOVA) / Relevance (ANOVA)  
 Prosečna vrednost zapremine eritrocita (MCV): III:VI = p<0,05; VI:VII = 0,05;  
 Mean Corpuscular Value (MCV): III:VI = p<0,05; VI:VII = 0,05;  
 Prosečna koncentracija hemoglobina (MCHC): I:II = p<0,05; I:III p<0,05; I:VI p<0,05  
 Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) I:II = p<0,05; I:III p<0,05; I:VI p<0,05  
 \*mg/kg za acetilsalicilnu kiselinu; µg/kg za meloksikam /  
 \*mg/kg for acetylsalicylic acid; µg/kg for meloxicam

**b) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene, na koncentraciju hemoglobina kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on hemoglobin concentration in rats**

Ispitivanjem uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama na koncentraciju hemoglobina u krvi pacova, posle 7-dnevne p.o. aplikacije acetilsalicilne kiseline u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. i p.o. primene meloksikama u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg, t.m., ustanovljeno je da oba leka u primenjenim dozama ne utiču na koncentraciju hemoglobina, pa samim tim nije ni utvrđena statistički značajna razlika kako između oglednih, tako i između oglednih i kontrolne grupe životinja (tabela 1).

**c) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na prosečnu zapreminu eritrocita (MCV) kod pacova/ Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on mean corpuscular value (MCV) in rats**

Posle 7-dnevne p.o. aplikacije acetilsalicilne kiseline u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. i p.o. primene meloksikama u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg, t.m., u krvi tretiranih životinja zabeležene su statistički značajne razlike u prosečnim vrednostima zapremine eritrocita (MCV), kako između samih oglednih grupa životinja, tako i između oglednih i kontrolne grupe životinja (tabela 1). Tako je prosečna MCV dobijena kod pacova tretiranih meloksikamom u najvećoj testiranoj dozi (250 µg/kg, t.m.) bila statistički značajno manja ( $p < 0,05$ ) u odnosu na prosečnu MCV dobijenu kod kontrolnih životinja. Isto tako, prosečna MCV dobijena kod pacova tretiranih acetilsalicilnom kiselinom u najvećoj dozi (80 mg/kg, t.m.) bila je statistički značajno veća ( $p < 0,05$ ) od prosečne vrednosti dobijene kod jedinki tretiranih meloksikamom u najvećoj testiranoj dozi (250 µg/kg, t.m.).

**d) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na prosečnu količinu hemoglobina u eritrocitima (MCH) kod pacova/ Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on mean corpuscular hemoglobin (MCH) in rats**

Nakon 7-dnevne p.o. primene acetilsalicilne kiseline u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. i p.o. primene meloksikama u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg, t.m., u krvi tretiranih pacova nisu zabeležene statistički značajne razlike u prosečnim vrednostima količine hemoglobina u eritrocitima (MCH), kako između samih oglednih grupa životinja, tako i između oglednih i kontrolne grupe životinja (tabela 1).

**e) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na prosečnu koncentraciju hemoglobina (MCHC) kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) in rats**

Posle 7-dnevne p.o. aplikacije acetilsalicilne kiseline u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. i p.o. primene meloksikama u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg, t.m., u krvi tretiranih životinja zabeležene su statistički značajne razlike u prosečnim vrednostima koncentracije hemoglobina (MCHC) između oglednih grupa životinja, dok nije bilo razlika u ovim vrednostima između oglednih i kontrolne grupe životinja (tabela 1). Pokazalo se da je vrednost za MCHC dobijena kod životinja prve grupe, kojima je davana p.o. acetilsalicilna kiselina u dozi od 30 mg/kg t.m. bila značajno veća ( $p < 0,05$ ) od vrednosti za MCHC dobijene kod životinja II i III grupe, tj. jedinki koje su p.o. dobijale acetilsalicilnu kiselinu u dozama od 40 (II-grupa) i 80 mg/kg t.m. (III-grupa).

**f) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na hematokrit kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on hematocrit in rats**

Acetilsalicilna kiselina (30, 40 i 80 mg/kg t.m.) i meloksikam (100, 125 i 250 µg/kg) primenjivani tokom 7 dana, nisu uticali na vrednosti hematokrita kod tretiranih životinja u poređenju sa kontrolom (tabela 1).

**g) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj trombocita / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the platelet count in rats**

Posle 7-dnevne p.o. primene acetilsalicilne kiseline u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. i meloksikama u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg, utvrđeno je da su navedeni lekovi uticali na prosečan broj trombocita kod tretiranih životinja. Tako, ustanovljena prosečna vrednost broja trombocita kod jedinki tretiranih acetilsalicilnom kiselinom u dozi od 80 mg/kg t.m., bila je statistički značajno manja ( $p < 0,05$ ) od prosečne vrednosti dobijene kod kontrolnih jedinki. Isto tako, prosečna vrednost broja trombocita dobijena kod jedinki tretiranih najvećom testiranom dozom meloksikama (250 µg/kg) bila je statistički značajno veća od vrednosti dobijene kod kontrolnih životinja ( $p < 0,05$ ) (tabela 2).

**Tabela 2.** Broj trombocita, leukocita, neutrofilnih leukocita, limfocita i monocita u krvi pacova, posle 7-dnevne p.o. aplikacije acetilsalicilne kiseline (30, 40 i 80 mg/kg t.m.) i meloksikama (100, 125 i 250 µg/kg, t.m.)

**Table 2.** Number of platelets, leukocytes, neutrophilic leukocytes, lymphocytes i monocytes in the blood of rats, after a seven-day p.o. applications of acetylsalicylic acid (30, 40 and 80 mg/kg b.m.) and meloxicam (100, 125 and 250 µg/kg, .m.)

Lek / Medication	Grupe / Groups	n	Doza / Dose* (mg ili µg/kg, t.m.)	Broj trombocita / Number of platelets (x 10 <sup>9</sup> /l) (x ± SD)	Broj leukocita / Number of leukocytes (x 10 <sup>9</sup> /l) (x ± SD)	Broj neutrofila / Number of neutrophils (x 10 <sup>9</sup> /l) (x ± SD)	Broj limfocita / Number of lymphocytes (x 10 <sup>9</sup> /l) (x ± SD)	Broj monocita / Number of monocytes (x 10 <sup>9</sup> /l) (x ± SD)
Acetilsalicilna kiselina / Acetylsalicylic acid	I	10	30	478,29 ± 221,75	10,48 ± 3,07	2,27 ± 1,69	7,99 ± 1,91	0,25 ± 0,16
	II	10	40	576,25 ± 97,89	8,75 ± 6,71	1,47 ± 1,07	6,89 ± 5,40	0,40 ± 0,38
	III	10	80	452,75 ± 151,42	6,64 ± 2,89	1,25 ± 1,00	5,17 ± 2,24	0,22 ± 0,17
Meloksikam / Meloxicam	IV	10	100	530,86 ± 195,70	10,40 ± 2,32	2,29 ± 1,16	8,00 ± 1,80	0,13 ± 0,09
	V	10	125	467,14 ± 118,32	10,45 ± 1,35	2,82 ± 1,58	7,20 ± 1,82	0,32 ± 0,23
	VI	10	250	851,25 ± 182,00	10,33 ± 3,79	3,26 ± 3,40	6,50 ± 1,99	0,69 ± 0,54
Kontrola / Control	VII	10	1 ml/kg	606,33 ± 205,24	10,73 ± 1,78	3,42 ± 1,97	8,03 ± 1,71	0,40 ± 0,37

Značajnost (ANOVA) / Relevance (ANOVA)  
 Broj trombocita: III:VII = p<0,05; VI:VII = p<0,05 / Number of platelets: III:VII = p<0,05; VI:VII = p<0,05  
 Broj leukocita: III:VII = p<0,05 / Number of leukocytes: III:VII = p<0,05  
 Broj limfocita: III:VII = p<0,05 / Number of lymphocytes: III:VII = p<0,05  
 Broj monocita: III:VII = p<0,05; IV:VII = p<0,05 / Number of monocytes: III:VII = p<0,05; IV:VII = p<0,05  
 \*mg/kg za acetilsalicilnu kiselinu; µg/kg za meloksikam / mg/kg for acetylsalicylic acid; µg/kg for meloxicam



**h) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj leukocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the white blood cell count in rats**

Ispitivanjem potencijalnog neželjenog uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle p.o. primene ovih lekova u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. (acetilsalicilna kiselina) i 100, 125 i 250 µg/kg (meloksikam) na broj leukocita, utvrđeno je da je prosečan broj leukocita ( $6,64 \times 10^9 \pm 2,89$ ) u krvi životinja tretiranih acetilsalicilnom kiselinom u dozi od 80 mg/kg t.m., bio statistički značajno manji ( $p < 0,05$ ) od prosečnog broja leukocita dobijenog kod kontrolnih jedinki ( $10,73 \times 10^9 \pm 1,78$ ) (tabela 2).

**i) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj neutrofilnih leukocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the number of neutrophils in rats**

Ispitivanjem uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama u testiranim dozama na broj neutrofilnih leukocita, utvrđeno je da navedeni lekovi nisu značajnije uticali na prosečan broj neutrofilnih leukocita. Naime, iako su dobijene prosečne vrednosti broja neutrofila bile manje u odnosu na prosečan broj neutrofila kod netretiranih životinja, ove razlike nisu dostigle i stepen statističke značajnosti (tabela 2).

**j) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj limfocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the number of lymphocytes in rats**

Posle 7-dnevne p.o. aplikacije acetilsalicilne kiseline u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m i meloksikama u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg, t.m., utvrđeno je da se prosečna vrednost broja limfocita statistički razlikovala jedino između jedinki tretiranih acetilsalicilnom kiselinom u dozi od 80 mg/kg t.m. ( $5,17 \times 10^9 \pm 2,24$ ) i kontrolnih jedinki, gde je ova vrednost iznosila  $8,03 \times 10^9 \pm 1,71$ . Ova razlika je dostigla minimalan stepen statističke značajnosti ( $p < 0,05$ ) (tabela 2).

**k) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj monocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the number of monocytes in rats**

Nakon 7-dnevne p.o. primene acetilsalicilne kiseline u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. i meloksikama u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg, t.m. utvrđeno je da su oba leka uticala na prosečan broj monocita u krvi tretiranih pacova. Pri tome,

prosečne vrednosti broja monocita dobijene kod životinja tretiranih najvećom testiranom dozom acetilsalicilne kiseline (80 mg/kg t.m.) i najmanjom testiranom dozom meloksikama (100 µg/kg) bile su statistički značajno manje od prosečne vrednosti broja monocita dobijene kod kontrolnih životinja (tabela 2).

#### **Diskusija / Discussion**

##### **a) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj eritrocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on erythrocyte count in rats**

Dobijeni rezultati su pokazali da sedmodnevna peroralna primena acetilsalicilne kiseline u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. i meloksikama u dozama od 100, 125 i 250 µg/kg, t.m., nema značajnog uticaja na broj eritrocita u odnosu na netretirane životinje (v. *tabela 1*). Detaljnijom analizom rezultata, može se videti da su pojedine prosečne vrednosti broja eritrocita dobijene kod tretiranih životinja, bile čak za malo veće u odnosu na kontrolnu prosečnu vrednost. Iako, na prvi pogled ove vrednosti nisu u skladu sa literaturnim podacima, prema kojima pre svega acetilsalicilna kiselina i (ređe) meloksikam, mogu izazvati mikrocitnu hipohromnu anemiju i hipoproteinemiju, odnosno smanjenje broja eritrocita (Notarianni, 1992; EMEA, 1999, 2003; Merchant i Modi, 2004; Swetman, 2009), smatramo da su navedene razlike u dobijenim rezultatima uglavnom posledica primenjenih doza, ali i dužine tretmana. Doze testiranih lekova u našem ogledu, ipak su bile manje od onih koje izazivaju napred spomenute promene, kako kod ljudi, tako i životinja (Notarianni, 1992; EMEA, 1997, 1999, 2003, 2006; Merchant i Modi, 2004; Swetman, 2009). Međutim, postoje i takvi podaci da meloksikam, čak i kada se primeni u većim dozama (od onih koje su korišćene u ovom ogledu) i u toku dužeg vremenskog perioda, ne smanjuje značajno broj eritrocita kod pacova (Al-Rekabi i sar., 2009).

##### **b) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene, na koncentraciju hemoglobina kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on hemoglobin concentration in rats**

Peroralna primena acetilsalicilne kiseline i meloksikama u gore navedenim dozama nije značajno uticala na koncentraciju hemoglobina u krvi pacova tretiranih navedenim lekovima. Pojedine vrednosti su i ovde kod ogleđnih životinja bile veće od vrednosti koja je dobijena kod netretiranih životinja (v. *tabela 1*). Razlog za ovakvu pojavu (kao i kod broja eritrocita) treba tražiti pre svega u primenjenim dozama, koje su očigledno bile nedovoljno velike da izazovu promene, koje se navode u literaturi (mikrocitna hipohromna anemija, hemolitička anemija, aplastična anemija i hipoproteinemija). Inače, poznato je da gore navedene promene najčešće nastaju usled gastrointestinalnih krvarenja koje ovi lekovi (a pre svega neselektivni inhibitori cikloksigenaze) mogu izazvati, znači u prvom

redu acetilsalicilna kiselina, ukoliko se primenjuju u dovoljno velikim dozama u toku dužeg vremenskog perioda (Notarianni, 1992; EMEA, 1999, 2003; Merchant i Modi, 2004; Swetman, 2009; Al-Rekabi i sar., 2009).

**c) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na prosečnu zapreminu eritrocita (MCV) kod pacova/ Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on mean corpuscular value (MCV) in rats**

Analizirajući prosečne vrednosti zapremine eritrocita (MCV) u krvi tretiranih životinja, može se videti da su kod oglednih grupa životinja dobijene vrednosti bile manje u odnosu na kontrolnu vrednost (v. *tabela 1*). Najniža prosečna vrednost zapremine eritrocita (MCV) dobijena je kod jedinki tretiranih meloksikamom u najvećoj testiranoj dozi od 250 µg/kg, t.m. i ista je u odnosu na kontrolnu vrednost bila statistički značajno manja ( $p < 0,05$ ). Ovde je negativni efekat na prosečne vrednosti zapremine eritrocita (MCV) bio više izražen od strane meloksikama, nego acetilsalicilne kiseline. Međutim, u literaturi (Merchant i Modi, 2004) postoje podaci da aspirin, kako posle akutne (600 mg/kg t.m., tri puta u toku dana), tako i hronične primene (150 mg/kg t.m./dan, 6 dana u nedelji u toku 25 nedelja), dovodi do statistički značajnog povećanja prosečne vrednosti zapremine eritrocita.

**d) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na prosečnu količinu hemoglobina u eritrocitima (MCH) kod pacova/ Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on mean corpuscular hemoglobin (MCH) in rats**

Pokazalo se da acetilsalicilna kiselina i meloksikam ne utiču značajnije na prosečnu vrednost koncentracije hemoglobina u eritrocitima (MCH) (v. *tabela 1*). Iako je i ovde najniža prosečna vrednost koncentracije hemoglobina u eritrocitima (MCH) izmerena kod jedinki tretiranih najvećom ispitivanom dozom meloksikama, ova vrednost ipak nije bila i statistički značajno manja u odnosu na kontrolnu vrednost. Podaci iz literature (Merchant i Modi, 2004) i ovde govore da je aspirin primenjen u gore navedenim dozama delovao stimulatивно, tj. da je uzrokovao statistički značajno povećanje srednje vrednosti koncentracije hemoglobina.

**e) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na prosečnu koncentraciju hemoglobina (MCHC) kod pacova/ Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) in rats**

Analizirajući prosečne vrednosti procenta hemoglobina (MCHC) u krvi pacova, može se videti da su dobijene vrednosti bile prilično neujednačene, tj. neke od vrednosti dobijene kod oglednih životinja su bile veće, a neke opet manje od kontrolne vrednosti. Ako izuzmemo vrednost dobijenu kod jedinki tretiranih meloksikamom u dozi od 125 µg/kg, t.m., moglo bi se reći da su dobijene vrednosti bile dozno zavisne u negativnom smislu, tj. najveće vrednosti procenta

hemoglobina izmerene su kod jedinki koje su tretirane najnižim dozama, a onda su sa povećanjem doza ove vrednosti opadale i približavale se dobijenoj vrednosti kod kontrolnih životinja (v. *tabela 1*). Slične rezultate u ispitivanju delovanja aspirina na prosečnu vrednost procenta hemoglobina, dobili su i Merchant i Modi (2004). Naime, dobijene vrednosti su bile (iako manje) približno iste onim koje su dobijene kod kontrolnih životinja.

**f) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na hematokrit kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on hematocrit in rats**

Nije bilo statistički značajne razlike u vrednostima hematokrita, kako između oglednih životinja, tako i između oglednih i kontrolne grupe životinja. Najveći procenat hematokrita je dobijen kod jedinki tretiranih acetilsalicilnom kiselinom u dozi od 40 mg/kg t.m., a najmanji kod jedinki tretiranih meloksikakom u dozi od 125 µg/kg, t.m.. Nijedna od ovih vrednosti nije dostigla i stepen statističke značajnosti, tj. nije bila statistički značajno manja ili veća u odnosu na vrednost (procenat) dobijen kod kontrolnih životinja. Dakle, ni ovde, kao ni u broju eritrocita nije bilo značajne razlike između vrednosti dobijenih kod oglednih i kontrolne grupe životinja (v. *tabela 1*).

**g) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj trombocita / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the platelet count in rats**

Analizom srednjih vrednosti broja trombocita, može se videti da su navedeni lekovi uglavnom delovali supresivno, tj. izazvali manje vrednosti broja trombocita u odnosu na prosečnu vrednost kod kontrolnih životinja. Najmanja vrednost broja trombocita je izmerena kod jedinki tretiranih acetilsalicilnom kiselinom u najvećoj testiranoj dozi od 80 mg/kg t.m., i ova vrednost je bila i statistički značajno niža od kontrolne vrednosti ( $p < 0,05$ ) (v. *tabela 2*). Dobijene vrednosti su u skladu sa literaturnim podacima (Jezdimirović i sar., 1996; Gassner i sar., 1998; EMEA, 1999, 2003; Martindale, 2009; Al-Rekabi, 2009).

**h) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj leukocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the white blood cell count in rats**

Dobijeni rezultati su pokazali da acetilsalicilna kiselina i meloksikam utiču na broj leukocita u krvi pacova. U svim oglednim grupama životinja dobijene prosečne vrednosti su bile niže od kontrolne vrednosti. Najniža vrednost je izmerena kod jedinki tretiranih acetilsalicilnom kiselinom u dozi od 80 mg/kg t.m., i ista je bila i

statistički značajno niža od prosečne vrednosti dobijene kod kontrolnih životinja ( $p < 0,05$ ), (v. *tabela 2*). Može se reći da su dobijene vrednosti uglavnom u skladu sa podacima iz literature (EMEA, 1999, 2003; Swetman, 2009; Al-Rekabi, 2009). Međutim, u literaturi se mogu naći i podaci iz kojih se vidi da ovi lekovi (aspirin) deluju sasvim suprotno, tj. da povećavaju, (i to statistički značajno) broj leukocita (Merchant i Modi, 2004).

**i) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj neutrofilnih leukocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the number of neutrophils in rats**

Pokazalo se da acetilsalicilna kiselina i meloksikam deluju supresivno, odnosno da su izazvali niže vrednosti broja neutrofilnih leukocita u odnosu na vrednost dobijenu kod kontrolnih životinja. Međutim, nijedna od navedenih vrednosti, uključujući i najnižu, koja je dobijena kod jedinki tretiranih acetilsalicilnom kiselinom u najvećoj testiranoj dozi ( $1,25 \times 10^9 \pm 1,00$ ), nije bila statistički značajno niža u odnosu na kontrolnu vrednost ( $3,42 \times 10^9 \pm 1,97$ ) (v. *tabela 2*). I ovde su (kao i u prethodnom slučaju) dobijene vrednosti uglavnom u skladu sa podacima iz literature (EMEA, 1999, 2003; Swetman, 2009; Al-Rekabi, 2009). Ipak, ima i onih koji se razlikuju. Tako, je u ogledu izvedenom na pacovima, kojima je aplikovan aspirin u dozama znatno većim (600 mg/kg t.m., tri puta u toku dana - akutna doza; 150 mg/kg t.m./dan, 6 dana u nedelji u toku 25 nedelja-hronična doza), od onih koje su korišćene u našem ogledu, zabeležen značajno veći broj neutrofilnih leukocita, u odnosu na kontrolne životinje.

**j) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj limfocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the number of lymphocytes in rats**

Slični rezultati su dobijeni i ispitivanjem uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama na broj limfocita u krvi pacova. Kod tretiranih životinja su prosečne vrednosti broja limfocita bile manje od kontrolne vrednosti. I ovde je srednja vrednost broja limfocita bila najniža kod životinja, koje su tretirane najvećom testiranom dozom acetilsalicilne kiseline, ali za razliku od neutrofila, ova vrednost ( $5,17 \times 10^9 \pm 2,24$ ) je bila dovoljno niža od kontrolne vrednosti ( $8,03 \times 10^9 \pm 1,71$ ), tako da je dostigla i stepen minimalne statističke značajnosti ( $p < 0,05$ ) (v. *tabela 2*). I ovi rezultati su uglavnom u saglasnosti sa literaturnim podacima (EMEA, 1999, 2003; Martindale, 2009; Al-Rekabi, 2009). Međutim, u ogledu izvedenom na pacovima (Merchant i Modi, 2004), kojima je aspirin aplikovan u znatno većim dozama od onih koje su korišćene u našem ogledu, zabeležene su značajno veće vrednosti limfocita u odnosu na kontrolu.

**k) Ispitivanje uticaja acetilsalicilne kiseline i meloksikama, posle 7-dnevne primene na broj monocita kod pacova / Investigation of the effect of acetylsalicylic acid and meloxicam after seven-day application on the number of monocytes in rats**

Pokazalo se da acetilsalicilna kiselina i meloksikam utiču i na broj monocita u krvi pacova. Dobijene prosečne vrednosti broja monocita bile su niže kod svih tretiranih životinja u odnosu na kontrolnu vrednost. Pri tome, najniže vrednosti su dobijene kod jedinki tretiranih najvećom testiranom dozom acetilsalicilne kiseline ( $0,22 \times 10^9 \pm 0,17$ ) i najmanjom testiranom dozom meloksikama ( $0,13 \times 10^9 \pm 0,09$ ) i razlike između navedenih vrednosti i kontrolne vrednosti su dostigle čak i stepen statističke značajnosti tj. iste su bile statistički značajno niže od kontrolne vrednosti ( $p < 0,05$ ) (v. *tabela 2*). Ovi rezultati se ne slažu sa rezultatima Merchant-a i Modi-ja (2004), koji su u ogledu izvedenom na pacovima, dobili sasvim suprotne efekte, tj. povećanje broja monocita.

**Zaključak / Conclusion**

Nakon 7-dnevne peroralne primene acetilsalicilne kiseline u dozama od 30, 40 i 80 mg/kg t.m. i meloksikama u dozama od 100, 125 i 250  $\mu$ g/kg, t.m., u krvi pacova:

– nisu utvrđene statistički značajne razlike u broju eritrocita, količini hemoglobina, prosečnoj količini i prosečnoj koncentraciji hemoglobina u eritrocitima (MCH, MCHC), kao i vrednosti hematokrita i broja neutrofilnih leukocita, između oglednih grupa životinja i kontrolne grupe životinja.

– utvrđena je statistički značajno manja prosečna zapremina eritrocita (MCV) ( $p < 0,05$ ), a povećan broj trombocita ( $p < 0,05$ ) u odnosu na kontrolne vrednosti (meloksikam u najvećoj testiranoj dozi).

– utvrđena je statistički značajno manja vrednost broja trombocita, broja leukocita i broja limfocita ( $p < 0,05$ ) u odnosu na kontrolne vrednosti (acetilsalicilna kiselina u najvećoj testiranoj dozi).

– utvrđena je statistički značajno manja vrednost ( $p < 0,05$ ) broja monocita (acetilsalicilna kiselina u najvećoj testiranoj dozi; meloksikam u najmanjoj testiranoj dozi).

**Literatura / References**

1. Adams RH. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 8<sup>th</sup> edition, Iowa State University Press/ Ames, Iowa, Eight Edition, 2001.
2. Akyol SM, Thompson M and Kerr DNS. Renal function after prolonged consumption of aspirin. British Medical Journal. 1982; 284: 631–2.
3. Al-Rekabi FMK, Abbas DA and Hadi RN. Effects of subchronic exposure to meloxicam on some hematological, biochemical and liver histopathological parameters in rats. Iraqi Journal of Veterinary Sciences. 2009; 23 (Supplement II):249-254.
4. Anonymous: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), Veterinary Medicines Evaluation Unit. Committee for veterinary medicinal products, acetylsalicylic

- acid, sodium acetylsalicylate, acetylsalicylic acid dl-lysine and carbasalate calcium. emeamrl/695/99-final, November, 1999. Summary report (1).
5. Anonymous: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines Evaluation Unit. Committee for veterinary medicinal products, acetylsalicylic acid, sodium acetylsalicylate, acetylsalicylic acid dl-lysine and carbasalate calcium. emeamrl/860/03-final, January, 2003. Summary report (2).
  6. Anonymous: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines Evaluation Unit. Committee for veterinary medicinal products, meloxicam, emeamrl/236/97-final, June, 1997. Summary report (1).
  7. Anonymous: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines Evaluation Unit. Committee for veterinary medicinal products, meloxicam, emeamrl/635/99-final, July, 1999. Summary report (4).
  8. Anonymous: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, Veterinary Medicines Evaluation Unit. Committee for veterinary medicinal products, meloxicam, emeam/cvmp/152255/2006-final, May, 2006. Summary report (7).
  9. Arnold L, Collins C, Starmer GA: The short-term effects of aspirin on the rat kidney-further observations. *Med J Aust* 1973; 1:678-82.
  10. Botting RM. Inhibitors of cyclooxygenases: mechanisms, selectivity and uses. *Journal of Physiology*. 2006; Supp 5, 113-124.
  11. Bowersox TS, Lipowitz AJ, Hardy RM, Johnston GR, Hayden DW. The use of sintetis prostaglandin E1 analog as a gastric protectant against aspirin-induced hemorrhage in the dog. 1996, September 12 Nurnberg, Germany.
  12. Brander GC, Pugh DM, Bywater RJ, Jenkins WL. *Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics*. 5<sup>th</sup> Edition. Bailliere Tindall. London, 1991.
  13. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002; 99:13926-13931.
  14. Cuthbert MF. Adverse reactions to non-steroidal antirheumatic drugs. *Curr Med Res Opin* 1974; 2: 600-9.
  15. Čupić V, Muminović M, Kobal S, Velez R. *Farmakologija za studente veterinarske medicine*. Beograd, Sarajevo, Ljubljana, Skoplje. KMD Naučna, Beograd, 2014.
  16. Davis LE. Adverse drug reactions. In Ettinger S.J. and Feldman E.C.: *text book of veterinary internal medicine. Diseases of the dog and cat*. 1995, W.B. Saunders, Philadelphia.
  17. Flower RJ. Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis. *Pharmacol Rev* 1974; 26:33-67.
  18. Freeland GR, Northington RS, Hedrich DA. Hepatic safety of two analgesics used over the counter: ibuprofen and aspirin. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 43: 473-9.
  19. Frönlich JC. Prostaglandin endoperoxide synthase isoenzymes, the clinical relevance of selective inhibition. *Ann Rheum Dis* 1995; 54: 942-3.
  20. Garcia Rodriguez LA, Jick H. Risk of upper gastrointestinal bleeding and perforation associated with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet* 1994; 343:769-72.
  21. Gassner G, Stephan I, and Schutt-Mast I. Observations on the side effects after applications of non-steroidal antiinflammatory agents in dogs. *Tierarztl. Prax. K.*, 1998; 26: 119-123.
  22. Goodman and Gilman's. *The Pharmacological Basis Therapeutics*. 11<sup>th</sup> Edition, 2006.
  23. Hawkey C, Kahan A, Steinbrück K, Alegre C, Baumelou E, Begaud B, Dequeker J, Isomaki H, Littlejohn G, Mau J, Papazoglou S. Gastrointestinal tolerability of meloxicam compared to diclofenac in osteoarthritis patients. International MELISSA STUDY GROUP. Meloxicam Large-scale International Study Safety Assessment. *Br. J. Rheumatol* 1998; 37: 937-45.
  24. Hsu WH. *Handbook of Veterinary Pharmacology*. Wiley-Blackwell, 2008.

25. Jezdimirović M, Varagić VM, Ćupić V, Jeftić Z. Nesteroidni antiinflamatorni lekovi u veterinarskoj medicini. Veterinarski glasnik 1996; 50: 653-62.
26. Jezdimirović M. Veterinarska farmakologija. IV dopunjeno izdanje. Kultura, 2010.
27. Johansson IM, Kallings P, Hamarlund-Udeanes M. Studies of alfofenamic acid and two metabolites in horses-pharmacokinetics and effects on exercise tolerance. J Vet Pharmacol Ther 1991; 14: 235-42.
28. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Basic and Clinical Pharmacology. Twelfth edition. McGraw-Hill. New York, 2012.
29. Kurumball RG, Stevens AM, Gierse JK, McDonald JJ, Stegman RA, Pak JY, et al. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by antiinflammatory agents. Nature. 1996; 384:644-8.
30. Langman JS, Weil J, Wainright P, Lawson DH, Rawlings MD, Logan RFA, et al. Risks of bleeding peptic ulcer associated with individual nonsteroidal antiinflammatory drugs. Lancet 1994; 343: 1075-78.
31. Lees P. Short history of NSAID's with comments on current uses and future prospects in veterinary medicine; The EAVPT Newsletter; Winter 2000/2001; 3-4.
32. Lewis JH. Hepatic toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Clin Pharm 1984; 3: 128-38.
33. Lichtenberger LM, Wang Zm, Romero JJ, Ulloa C. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) associate with zwitterionic phospholipids: insight into the mechanism and reversal of NSAID-induced gastrointestinal injury. Nat Med 1995; 1: 154-8.
34. Magee P, Beeley L. Drug-induced blood dyscrasias. Pharm J 1991; 246: 396-7.
35. Matzke GR. Nonrenal toxicities of acetaminophen, aspirin and nonsteroidal antiinflammatory agents. Am J Kidney Dis. 1996; 28:63-70.
36. Meischer PA. Blood dyscrasias secondary to nonsteroidal antiinflammatory drugs. Med Toxicol 1986; 1:57-70.
37. Merchant MA, Modi DN. Acute and chronic effects of aspirin on hematological parameters and hepatic ferritin expression in mice. Indian J Pharmacol. 2004; 36 (4):226-30.
38. Mitchell JA, Akarasereenont P, Thierermann C, Flower RJ, Vane JR. Selectivity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. Proc Natl Acad Sci USA. 1993; 90: 11693-697.
39. Modi DN, Merchant MA. In vitro effects of aspirin and salicylate on erythrocytes: size and Na/KAT-Pase activity. Indian J Pharmacol 2003; 35:27-31
40. Navratil L, Blehovaz A, Brbonlavova H. Effect of long, term administration of acetylsalicylic acid on haematological and haemocoagulation changes in the rat. Boll. Chim. Farmaceutico. 1992; 131:363-8.
41. Notarianni LA. Reassessment of the treatment of salicylate poisoning. Drug Safety 1992; 7: 292-303.
42. Papich MG. Recognition and management of adverse drug reactions. Proceedings of World Veterinary Congress, Yokohama 1995.
43. Patrono C. Aspirin as an antiplatelet drug. N Engl J Med 1994; 330: 1287-94.
44. Perneger TV, Whelton PK, Klag MJ. Risk of kidney failure associated with the use of acetaminophen, aspirin, and nonsteroidal antiinflammatory drugs. N Engl J Med (NEJM). 1994; 331: 1675-9.
45. Rainsford KD. Aspirin and salicylates. London:Butterworth publication. 1984.
46. Rainsford KD, Ying C, Smith FC. Effects of meloxicam, compared with other NSAID's on cartilago proteoglycan metabolism, synovial prostaglandin E<sub>2</sub> and production of interleukins 1, 6 and 8 in human and porcine explants in organ culture. J. Pharm. Pharmacol 1997; 49: 991-8.
47. Raybak MEM. Hematologic effects of Nonsteroidal antiinflammatory drugs. In NSAIDs a profile of adverse effects. Borda IT, Kofi RS, eds. Philadelphia: Hanley & Belfus Inc. 1992:113-32.



48. Roelvink ME, Goossens L, Kalsbeek HC and Wansing T. Analgesic and spasmolytic effects of dipyron, hyoscine-N-butylbromide and a combination of the two in ponies. *The Veterinary Record* 1991; 129: 378-80.
49. Santos AR, Vedana EM, Freitas GA. Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. *Inflamm. Res* 1998; 47: 302-307.
50. Saper CB, Breder CD. The neurologic basis of fever. *New Engl. J. Med.* 1994; 330: 1880-6.
51. Somasundaram S, Hayllar H., Rafi S, Biarnason I. The biochemical basis of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced damage to the gastrointestinal tract: a review and a hypothesis. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30: 289-99.
52. Sweetman S. Aspirin. Martindale, *The Complete Drug Reference*, Thirty sixth edition. Pharmaceutical Press, London, 2009.
53. Sweetman S. Meloxicam. Martindale, *The Complete Drug Reference*, Thirty sixth edition. Pharmaceutical Press, London, 2009.
54. Simons DL. Variants of cyclooxygenase-1 and their roles in medicine. *Thromb Res.* 2003; 110: 265-8.
55. Tomoda T, Takeda K, Kurashige T, Enzan H, Miyahara M. Acetylsalicylic acid (ASA)- induced mitochondrial dysfunction and its potentiation by Ca<sup>2+</sup>. *Liver.* 1994; 14:103-8.
56. Trailović D, Litričin V, Petrujković T. Osvrt na neke štetne efekte fenilbutazona u sportskih
57. konja. *Vet glasnik* 1989; 43: 635-9.
58. Trailović D. Neželjena dejstva lekova u veterinarskoj praksi. Radovi III savetovanja o lekovima za upotrebu u veterini Igalo, 14-18 April 1997; 39-49.
59. Ugrešić N, Savić M. Mehanizam delovanja nesteroidnih antiinflamatornih lekova. *Arhiv za farmaciju.* 2006; 56: 350-1.
60. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature.* 1971; 231:232-5.
61. Vane JR, Botting RM. Mechanism of action of Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Medicine* 1998a; 104: 2S-8S.
62. Vane JR, Botting RM. Mechanism of action of aspirin-like drugs. *Arthritis Rheum* 1997; 26: 2-10.
63. Vane JR, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. *Thromb. Res.*, 2003; 110, 255-8.
64. Vane JR, Botting RM. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflamm Res.*, 1998b; 47: 78-87.
65. Vane JR, Botting RM. Mechanism of action of antiinflammatory drugs. *Int. J. Tissue React.* 1998c; 20: 3-15.
66. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenase 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1998d; 38:97-120.
67. Varagić VM, Milošević M. *Farmakologija*. Dvadeset-treće izdanje, Elit Medica, Beograd, 2012.
68. Vasilev S, Majstorović I, Gašić S, Vučević D, Vasiljević S, Čupić V, Čolić M. The effects of aspirin on apoptosis of neutrophil granulocytes". *Acta veterinaria*, 2006; 56 (5-6): 413-422.
69. Wallace JL, McKnight GW. Characterization of a simple animal model for non-steroidal anti-inflammatory drug induced antral ulcer. *Can J Physiol Pharmacol* 1993; 71: 447-52.
70. Walker BR, Ballard IM, Gold JA. Aspirin and renal function. *N Engl J Med (NEJM).* 1977; 297: 1405.
71. Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA, Vane JR. Nonsteroid drug selectivities for cyclooxygenase -1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full in vitro analysis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96: 7563-68.
72. Wills MR, Savory J. Biochemistry of renal failure. *Am Clin Lab Sci.* 1981; 11:292-9.

ENGLISH

**THE EFFECT OF ACETYLSALICYLIC ACID AND MELOXICAM ON HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN RATS**

**Vitomir Ćupić, Predrag Pejčić, Dragiša Trailović, Branislav Prokić, Saša Ivanović, Dejana Ćupić-Miladinović**

In this work there was investigated the effect of two nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs), acetylsalicylic acid or aspirin (nonselective cyclooxygenase inhibitor - COX<sub>1</sub> i COX<sub>2</sub>) and meloxicam (selective cyclooxygenase inhibitor – COX<sub>2</sub>) on certain hematological parameters in rats. The objective of the work was to determine whether (and to which extent), these drugs, after multiple peroral application, influence erythrocyte number, concentration of hemoglobin, hematological indices (mean corpuscular value – MCV; mean concentration of hemoglobin in erythrocytes – MCH; mean corpuscular hemoglobin concentration – MCHC), hematocrit, number of platelets, leukocytes, neutrophilic leukocytes, lymphocytes and monocytes.

The experiment was conducted in *in vivo* conditions on 70 clinically healthy Wistar strain male rats, 10 to 12 weeks of age and body weight 250 to 300 g. The rats were divided into seven groups and they were daily perorally (by probe) given aspirin (ASCOPIR) at doses of 30, 40 and 80 mg/kg b.m. (I, II and III groups), or meloxicam (METACAM) at doses of 100, 125 and 250 µg/kg b.m. (IV, V and VI groups), for seven days. The seventh group was a control one and they were given only saline.

The obtained results showed that: acetylsalicylic acid in maximum dose tested (80 mg/kg b.m.) statistically significantly reduced the number of platelets ( $p < 0,05$ ), the number of leukocytes ( $p < 0,05$ ), the number of lymphocytes ( $p < 0,05$ ) and the number of monocytes ( $p < 0,05$ ), while on the other side, meloxicam in maximum dose tested (250 µg/kg), statistically significantly reduced the mean corpuscular value (MCV), and increased the number of platelets ( $p < 0,05$ ), relative to the control value.

Key words: nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), acetylsalicylic acid, meloxicam, biochemical and hematological parameters, rats

РУССКИЙ

**ВЛИЯНИЕ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И МЕЛОКСИКАМА НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС**

**Витомир Чупич, Предраг Пейчич, Драгиша Траилович, Бранислав Прокич, Саша Иванович, Деяна Чупич-Миладинович**

Вданнойработеисследуетсявлияниедвухнестероидныхпротивовоспалительных препаратов: (NSAIL) – ацетилсалициловой кислоты или аспирина (неселективного ингибитора циклооксигеназы - COX<sub>1</sub> и COX<sub>2</sub>) и мелоксикама (селективного ингибитора циклооксигеназы – COX<sub>2</sub>) – на определенные гематологические показатели крыс. Цель работы состояла в том, чтобы утвердить имеют ли (и в какой степени) указанные лекарственные препараты после многократного перорального введения влияние на количество эритроцитов, концентрацию гемоглобина, гематологические индексы (средний объем эритроцитов – MCV; среднее содержание гемоглобина в эритроците - MCH; средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах – MCHC), гематокрит,

количество тромбоцитов, лейкоцитов, нейтрофильных лейкоцитов, лимфоцитов и моноцитов.

Опыт проведен в условиях *in vivo* на 70 клинически здоровых крысах soja Wistar: самцах возрастом от 10 до 12 недель с массой тела от 250 до 300 г. Крысы были разделены на семь групп. Крысам ежедневно перорально (при помощи зонда) в течение 7 дней вводился аспирин (ASCOPIR) в дозах 30, 40 и 80 мг/кг м.т./ежедневно (I, II и III группа); и мелоксикам (METACAM) в дозах 100, 125 и 250 µg/кг м.т. (IV, V и VI группах). Седьмая группа была контрольной, и ей вводился только физиологический раствор.

Полученные результаты показали, что ацетилсалициловая кислота в самой сильной тестируемой дозе (80 мг/кг м.т.) статистически значительно уменьшила количество тромбоцитов ( $p < 0,05$ ), лейкоцитов ( $p < 0,05$ ), лимфоцитов ( $p < 0,05$ ) и моноцитов ( $p < 0,05$ ); в то время как мелоксикам в самой сильной тестируемой дозе (250 µg/кг), статистически значительно уменьшил объем эритроцитов (MCV), и увеличил количество тромбоцитов ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольным значением.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные препараты (NAIL), ацетилсалициловая кислота, мелоксикам, биохимические и гематологические показатели, крысы

