УДК: 616.248-085:576.362:636.1
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.374

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОНДИЦИОНИРОВАННОЙ СРЕДЫ ИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ СИНДРОМЕ АСТМЫ ЛОШАДЕЙ

Романова О.В. [1*]– канд. ветеринар. наук, доц., интерн (ORCID 0000-0002-0750 -8654); **Крячко О.В**.[2] – д-р ветеринар. наук, проф., зав. каф. патологической физиологии (ORCID 0000-0002-8996-8522); **Довгий А.И.** [3] **–** канд. биол. наук, ген. директор (ORCID 0000-00019510-7078)

[1] ФГБОУ ВО «Донской агротехнологический университет»
[2] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»
[3] ООО «Т-хелпер КТ»

[*]vetsova@mail.ru

***Ключевые слова**: астма, лошади, секретом МСК.*
***Key words**: asthma, horses, secretom MSC.*

Поступила: 01.11.2024 **Принята к публикации: 02.12.2024**
Опубликована онлайн:16.12.2024

РЕФЕРАТ

Современная медицинская и ветеринарная практика всё больше ориентируется на использование органосберегающих и генномолекулярных технологий, способствующих восстановлению утраченных функций. В этом контексте клеточные технологии, включая создание рекомбинантных хемокинов и моноклональных антител, играют важную роль в таргетной терапии серьезных заболеваний. Клеточно-регенеративная медицина находит свое применение в заживлении кожных и мышечных структур, особенно у лошадей. В данной работе рассматривается возможность применения секретома мезенхимальных стромальных клеток (МСК) для лечения воспалительных заболеваний бронхолегочной системы у лошадей, страдающих астмой. Исследование проводилось на основе ретроспективного анализа наблюдений за 91 лошадью, у которых были зафиксированы признаки астмы (EAS). 70 из этих лошадей получали секретом МСК (препарат Репарин-хелпер). В краткосрочных наблюдениях принимали участие как кобылы, так и мерины в возрасте 10-21 года. Секретом вводился внутрибронхиально, ингаляционно и внутривенно. Эффективность лечения оценивалась по изменению клинического состояния и возможным побочным реакциям. Анализ результатов краткосрочных наблюдений показал, что у большинства пациентов, получавших секретом МСК, не наблюдалось негативных реакций. Клиническая эффективность препарата была различной в зависимости от способа введения: интратрахеальный метод не показал улучшений, в то время как ингаляции и внутривенные введения приводили к положительным результатам. У

лошадей с тяжелой астмой наблюдалась высокая степень переносимости физических нагрузок на фоне применения препарата, что подтверждает его эффективность. Лошади, получавшие секретом МСК длительно, демонстрировали устойчивую ремиссию на протяжении 6-12 месяцев. Среди 70 случаев применения секретома МСК, результаты показали наиболее положительные эффекты у лошадей с тяжелой астмой. Более 20% из них успешно получали дополнительную терапию на протяжении двух лет, демонстрируя продолжительные периоды ремиссии. Исследование подтверждает потенциал применения секретома МСК в ветеринарной практике, и полученные данные могут быть полезны и для гуманной медицины.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODDUCTION

В медицинской и ветеринарной практике особого внимания всегда заслуживали препараты и методы, способные качественно влиять на восстановление утраченных функций. И на сегодняшний день предпочтение отдается максимально органосберегающим методикам, воздействиям не столько на макроуровне, сколько на генно-молекулярном. Современные клеточные технологии уже широко внедрены в практику: рекомбинантные хемокины, моноклональные антитела, клеточные и субклеточные энзимы и пр. Всё это позволяет проводить таргетную терапию сложных заболеваний, осуществлять качественную паракринную регуляцию воспалительного процесса (1, 2).

Существует достаточный опыт применения препаратов клеточно-регенеративной медицины в практике деликатного заживления кожных ран, сухожильно-связочных структур, роговицы глаза у лошадей. Это реальная клиническая практика, свидетельствующая об эффективности средств регенеративной медицины (3). В то же время по разным причинам потенциал клеточных технологий в клинической практике используется недостаточно. В частности, в данной работе мы рассмотрим вопрос о возможности применения секретома мезенхимальных стромальных клеток при воспалительных заболеваниях бронхолегочной системы у лошадей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Проведено ретроспективное лонгитюдное – более 15 лет - наблюдение за 91 лошадью, с признаками астмы лошадей (EAS), 70 лошадей в разное время и разными способами получали секретом МСК (на примере препарата Репарин-хелпер).

В краткосрочных наблюдениях (менее одного года) участвовали лошади, мерины и кобылы, в возрасте 10-21 года, прошедшие процедуру бронхоскопии с отбором БАЛЖ. Это случайная выборка пациентов с подтвержденным хроническим воспалительным заболеванием воздухоносных путей стажем не менее 2 лет.

Секретом вводился внутрибронхиально, ингаляционно, подкожно и внутривенно. Внутритрахеальное введение секретома осуществляли в небольшом количестве физиологического раствора по общепринятой методике 3 введения с интервалом 3-5 дней. Ингаляционное введение секретома проводили с помощью компрессорных ингаляторов медицинского назначения, смешивая 5 мл секретома с небольшим количеством физиологического раствора. Ингаляции рекомендовали однократно в сутки не менее 3 дней подряд. Внутривенное введение секретома 5мл с 5 мл физраствора струйно одно- или двукратно, некоторым лошадям повторяли через месяц. В дальнейшем проводили оценку степени эффективности препарата по изменению клинического состояния лошади и аускультативной картины, оценивали возможные побочные реакции. Обработку результатов проводили общепринятыми методами статистического анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В краткосрочных наблюдениях у животных в БАЛЖ цитологическая картина в наибольшей степени соответствовала нейтрофилии (активному воспалению).

В результате коротких наблюдений за пациентами, получавших секретом МСК в течение 2-3 месяцев не выявили ни одного случая негативных реакций на вве-

дение препарата, что коррелирует с литературными данными. Клиническая эффективность показала следующие результаты: при интратрахеальном ведении видимых улучшений - 0 из 6, ингаляционном – 6 из 10, внутривенном - 4 из 4. Здесь сразу отметим, что состояние лошадей, страдающих астмой, может резко изменяться как в сторону улучшения, так и в сторону угрожающего жизни бронхоспазма на фоне средовых факторов в пределах одних суток. Поэтому выводы о влиянии препарата могут быть преждевременными. Продолжительность ремиссии (в том числе, безстероидный период) включили в оценку состояния лошадей. Минимальный срок ремиссии при применении секретома составил 1 месяц (однократное внутривенное введение) и максимальный – 1 год. Когда мы говорим о 12-ти месяцах ремиссии, то подразумеваем незначительные эпизоды ухудшения дыхания и применение негормональной поддерживающей терапии. Острая необходимость применения стероидных гормонов для снятия жизнеугрожающего бронхоспазма каждый раз возвращала нас к началу наблюдений с изменением способа введения препарата. Необходимо отметить, что владельцы тех лошадей, которым вводили секретом МСК в область сухожильно-связочного аппарата конечностей, сообщали о значительном облегчении обструктивного синдрома у своих питомцев. В этих случаях ремиссия часто сохранялась 6-12 месяцев. Это очень интересное независимое наблюдение. Таких лошадей порядка 19-ти голов, но все с солидным стажем астмы – 5-10 лет. На момент написания статьи не все лошади этой группы оставались под наблюдением, но, известно, что сезонные обострения астмы проходили значительно легче.

Анализируя неудачные попытки интратрахеального введения секретома МСК, мы пришли к выводу, что обструкция дыхательных путей вязкой контаминированной слизью является губительным препятствием для кондиционированной среды и самих клеток. Нескольким лошадям после проведения бронхоскопии и получения БАЛ вводили посредством эндоскопа секретом МСК в количестве 5 мл в каждый магистральный бронх. Улучшение клинической картины наблюдали в течение 2- 6 недель. К моменту написания статьи мы можем оценить уже двухлетний опыт клинических наблюдений за применением секретома МСК разными способами у лошадей, страдающих астмой (таблица 1.).

Таблица 1 – Продолжительность ремиссии у лошадей с тяжелой (sEAS) и легкой астмой (mEAS) при разных способах применения секретома МСК (n=70)

Способ введения Секретома МСК	**Продолжительность ремиссии, мес/% случаев***	
	sEAS(n=14)	**mEAS(n=56)**
Подкожно в области сухожильно-связочного аппарата	4-6 (7,14)	1-6(1,7)
Подкожно в области шеи (одно- двукратно)	6(14,3)	0 (100)
Сочетанно: внутривенная инъекция + ингаляционно 2 ингаляции с интервалом 2 недели	6(14,3)	2 (10,7)
Интрабронхиально эндоскопически однократно	12(28,6)	3-6(37,5)
Ингаляционно 1 раз в 2 недели после санации бронхов 4 процедуры	12(85,7)	2 (82,1)

Примечание: Процент эффективности случаев рассчитан от числа животных, которым применяли препарат только указанным способом.

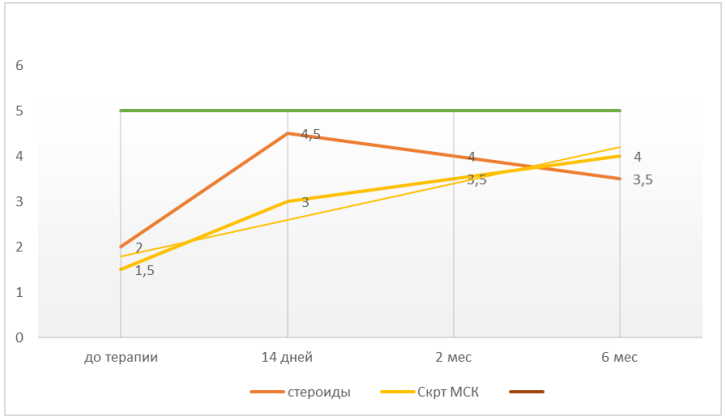

Рисунок 1 – Переносимость физических нагрузок у лошадей-астматиков в динамике симптоматической терапии с применением секретома МСК (скртМСК) и стероидов (n=10) в течение 6 месяцев наблюдений.

Из данных таблицы видно, что наибольшую эффективность секретом МСК продемонстрировал в группе лошадей с тяжелой астмой, и неустойчивый незначительный эффект – при астме легкого течения. Эти результаты не могут быть оценены с высокой степенью достоверности, так как владельцы лошадей зачастую были не готовы проводить дополнительные эндоскопические процедуры и(или) инъекции при отсутствии мгновенного улучшения. Тем не менее полученные данные в ходе дальнейших наблюдений за 14-ю лошадьми с астмой тяжелого течения, показали очень обнадеживающие результаты.

В частности, те лошади, которые получали препарат одно-или двукратно интрабронхиально после качественной санации, демонстрировали легкие приступы астмы в период сезонного обострения по сравнению с подобными пациентами, но, например, с установленной легкой астмой. 8 лошадей из 14 с астмой тяжелого течения не получали препарат интрабронхиально в начале терапии, но ингалировались секретомом МСК (5 мл на введение) в период ремиссии с интервалом 2 недели от 4-х до 8-ми раз. Важно, что многим пациентам мы назначали такие ингаляции на фоне симптоматического лечения нестероидными бронхолитиками и терапевтический эффект, по наблюдениям конвладельцев, оказывался высоким.

Пожалуй, ключевым моментом эффективности секретома МСК можно считать возможность нести физические нагрузки на фоне применения препарата. Напомним, что первым и наиважнейшим клиническим маркером астмы лошадей является именно непереносимость физических нагрузок лошадью. Степень переносимости физических нагрузок в наших наблюдениях оценивали по 5-балльной шкале, где 0 - полная невозможность движения шагом без одышки, 5 – высокая степень физической подготовки с возможностью участия в соревнованиях.

Лошади, которые продолжили получать секретом МСК ингаляционно, находясь на симптоматическом лечении, отличались способностью переносить физические нагрузки практически на уровне клинически здоровых лошадей. При этом наблюдали линейность процесса в случае применения секретома и, наоборот, - некий случайный порядок при стероидной терапии. Пожалуй, это наиболее важный эффект, который нам хотелось бы получить.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

На сегодняшний день мы наблюдаем более 70 случаев применения секретома МСК лошадям с воспалительными заболеваниями воздухоносных путей (астмой легкой, средней и тяжелой степени). Са-

мыми информативными результатами среди этого числа этого мы можем считать улучшение клинического состояния лошадей-астматиков тяжелого течения с сохранением периода ремиссии более 12 месяцев. 20 процентов - 14 голов из 70 - успешно получают дополнительную терапию секретомом МСК уже на протяжении 2-х лет с оценкой клинического состояния, учетом продолжительности периода ремиссии и выраженности признаков астматических проявлений. Напомним, что лошади этой группы – астматики тяжелого течения. Период ремиссии – от 6 до 12 месяцев, в зависимости от способа и кратности применения; проявления сезонных обострений – преимущественно легкая форма; способность переносить физические нагрузки - выше средней. Данные, полученные на лошадях с легкой и средней степенью астмы пока неустойчивы – клинический эффект не удается наблюдать на протяжении длительного периода времени. Возможно, это связано с методом применения и дозой препарата и с субъективными факторами: в большинстве случаев владельцы таких пациентов обращаются к врачу в период обострений, когда даже стероидная терапия оказывается неэффективной. Пациенты с тяжелой степенью ремоделирования дыхательных путей в принципе отличались отсутствием ответа на любую показанную в таких случаях терапию.

Наши предварительные наблюдения в сочетании с данными экспериментальных исследований свидетельствуют в пользу продолжения применения секретома МСК в практике лечения астмы лошадей (3). Результаты таких исследований, несомненно, будут востребованы в медицине человека.

PATHOGENETIC ASPECTS OF THE USE OF CONDITIONED MEDIUM FROM STROMAL STEM CELLS IN EQUINE ASTHMA SYNDROME

Romanova O.V.[1] – Cand. Vet. Sci., Ass. Professor, Intern (ORCID 0000-0002-0750-8654); **Kriyachko O.V.**[2] – Dr. Vet. Sci., Professor, Head of the Department of Pathophysiology (ORCID 0000-0002-8996-8522); **Dovgiy A.I.** [3] – Cand. Biol. Sci., General Director (ORCID 0000-00019510-7078)

[1]Don Agrotechnological University

[2]St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

[3]T-helper KT LLC

[*]vetsova@mail.ru

ABSTRACT

Modern medical and veterinary practice is increasingly focused on the use of organ-sparing and genetically molecular technologies that help restore lost functions. In this context, cellular technologies, including the creation of recombinant chemokines and monoclonal antibodies, play an important role in the targeted therapy of serious diseases. Cellular regenerative medicine finds its application in the healing of skin and muscle structures, especially in horses. In this paper, the possibility of using the secretome of mesenchymal stromal cells (MSCs) for the treatment of inflammatory diseases of the bronchopulmonary system in horses suffering from asthma is considered. The study was conducted on the basis of a retrospective analysis of observations of 91 horses that had signs of asthma (EAS). 70 of these horses were treated with the secret of MSC (the drug Reparin helper). Both mares and geldings aged 10-21 years took part in short-term observations. The secret was administered intrabronchially, inhaled and intravenously. The effectiveness of the treatment was assessed by changes in the clinical condition and possible adverse reactions. Analysis of the results of short-term observations showed that the majority of patients treated with secret MSC had no negative reactions. The clinical efficacy of the drug varied depending on the method of administration: the intratracheal method showed no improvement, while inhalation and intravenous administration led to positive results. Horses with severe asthma had a high degree of exercise tolerance against the background of the drug, which confirms its effectiveness. Horses that received the secret of MSC for a long time showed stable remission for 6-12

months. Among the 70 cases of the use of the MSC secretome, the results showed the most positive effects in horses with severe asthma. More than 20% of them successfully received additional therapy for two years, demonstrating long periods of remission. The study confirms the potential of using the MSC secretome in veterinary practice, and the data obtained may be useful for humane medicine.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Крячко, О. В. Влияние ронколейкина на гематологические показатели у лошадей при дерматите / О. В. Крячко, О. В. Романова // Ветеринария. – 2007. – № 6. – С. 45 -48. – EDN HZYVWF.

2. Романова, О. В. Влияние сухого солевого аэрозоля на функциональную активность нейтрофилов лошадей при хронических обструктивных болезнях легких / О. В. Романова, О. В. Крячко, А. В. Червинская // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 1. – С. 61-64. – EDN TRLMZF.

3.Adamič N, Prpar Mihevc S, Blagus R, Kramarič P, Krapež U, Majdič G, Viel L, Hoffman AM, Bienzle D, Vengust M. Effect of intrabronchial administration of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells on severe equine asthma. Stem Cell Res Ther. 2022 Jan 21; 13(1):23. doi: 10.1186/ s13287-022-02704-7. PMID: 35063028; PMCID: PMC8777441.

4. Robins TJ, Bedenice D, Mazan M. A Longitudinal Analysis of Equine Asthma Presentation and Response to Treatment Using Lung Function Testing and BAL Cytology Analysis in Combination with Owner Perception. Animals (Basel). 2023 Nov 1;13 (21):3387. doi: 10.3390/ani13213387. PMID: 37958142

5. Wang MY, Zhou TY, Zhang ZD, Liu HY, Zheng ZY, Xie HQ. Current therapeutic strategies for respiratory diseases using mesenchymal stem cells. MedComm (2020). 2021 Sep 2;2(3):351-380. doi: 10.1002/ mco2.74. PMID: 34766151; PMCID: PMC8554668.

REFERENCES

Kryachko, O. V. The influence of ronkoleikin on hematological parameters in horses with dermatitis / O. V. Kryachko, O. V. Romanova // Veterinary medicine. - 2007. – No. 6. – pp. 45-48. – EDN HZYVWF.

Romanova, O. V. The effect of dry salt aerosol on the functional activity of equine neutrophils in chronic obstructive pulmonary diseases / O. V. Romanova, O. V. Kryachko, A.V. Chervinskaya // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2015. – No. 1. – pp. 61-64. – EDN TRLMZF.

Adamič N, Prpar Mihevc S, Blagus R, Kramarič P, Krapež U, Majdič G, Viel L, Hoffman AM, Bienzle D, Vengust M. Effect of intrabronchial administration of autologous adipose-derived mesenchymal stem cells on severe equine asthma. Stem Cell Res Ther. 2022 Jan 21;13(1):23. doi: 10.1186/s13287-022-02704-7. PMID: 35063028; PMCID: PMC8777441.

Robins TJ, Bedenice D, Mazan M. A Longitudinal Analysis of Equine Asthma Presentation and Response to Treatment Using Lung Function Testing and BAL Cytology Analysis in Combination with Owner Perception. Animals (Basel). 2023 Nov 1;13(21):3387. doi: 10.3390/ani13213387. PMID: 37958142.

Wang MY, Zhou TY, Zhang ZD, Liu HY, Zheng ZY, Xie HQ. Current therapeutic strategies for respiratory diseases using mesenchymal stem cells. MedComm (2020). 2021 Sep 2;2(3):351-380. doi: 10.1002/ mco2.74. PMID: 34766151; PMCID: PMC8554668.