

ПРОИЗВОДНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК: СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ (ОБЗОР)

Максимова Мария Андреевна

Корочкина Елена Александровна, д-р. ветеринар. наук, доц., orcid.org/0000-0002-7011-4594

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

РЕФЕРАТ

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК) представляют собой незрелые клетки организма, которые обладают способностью к пролиферации в различные функционально активные клетки. МСК, введенные в организм, обладают иммуномодулирующими, противовоспалительными, стимулирующими, ангиогенетическими и регенераторными свойствами [1, 3, 4]. Кроме стромальных клеток, терапевтическими свойствами обладают их компоненты – кондиционированные среды (КС) и экзосомы [6]. КС представляют собой комбинацию биомолекул и факторов роста в ростовой среде клеточных культур, ее получают путем центрифугирования, фракционирования и/или фильтрации, при этом состав КС зависит от продолжительности культивирования, питательной среды и добавок, используемых при культивировании, а также номера пассажа и условий, при которых выращивались клетки [7-10]. Экзосомы – это внеклеточные везикулы, секретируемые клетками, диаметром от 20 до 1000 нм, способные инкапсулировать белки и РНК, проникать через плазматическую мембрану или связываться с белками на поверхности рецепторов, транспортируя в клетки-мишени различные вещества [12]. Экзосомы получают при помощи методов ультрацентрифугирования, ультрафильтрации и осаждения [13]. Компоненты МСК применяют в различных областях ветеринарной медицины. Например, кондиционированная среда применяется при лечении ран и язв. Исследование авторов Bussche L., Harman R.M. et al. (2015) показывают, что КС, полученная из МСК лошади, стимулирует миграцию фибробластов в условиях *in vitro*, а также повышает уровень экспрессии генов, которые оказывают положительное влияние на заживление ран [18], также бесклеточная терапия способствует уменьшению площади раневой поверхности на 98,47% [19]. Кондиционированные среды используют при лечении переломов и заболеваний опорно-двигательного аппарата. Так, трансплантация экзосом в место перелома стимулирует остеогенез и ангиогенез [22] и способствует более быстрому сращению кости [23]. Также некоторые авторы отмечают благоприятное воздействие при лечении экзосомами остеоартритов [24, 25]. Кроме этого, исследователи отмечают положительный эффект при использовании компонентов МСК при лечении аллергического ринита, мастита и эндометрита, травмах спинного мозга, а также при криоконсервации сперматозоидов.

Ключевые слова: кондиционированная среда, экзосомы мезенхимальных стромальных клеток, ветеринарная медицина.

ВВЕДЕНИЕ

Мезенхимальные стромальные клетки (СК) – это незрелые клетки организма, которые обладают способностью к самообновлению, пролиферации и дифференцировке в различные функционально активные клетки. В зависимости от способности к дифференцировке СК подразделяют на: плюрипотентные, а также мультипотентные, олигопотентные и унипотентные, обладающие ограниченным потенциалом дифференцировки [1]. Так, мезенхимальные стромальные клетки (МСК) – это стромальные клетки, которые обладают способностью к самообновлению и мультилинейной дифференцировке. МСК выделяют из различных тканей организма человека и животных: костный мозг, жировая ткань, пуповина, плацента и других органов и тканей [2]. МСК, введенные в организм для лечения, обладают иммуномодулирующими [3], противовоспалительными, стимулирующими, ангиогенетическими и регенераторными свойствами [4]. Иммуномодулирующий механизм действия осуществляется через прямой контакт и паракринное действие клеток и их компонентов. Так, после трансплантации, МСК влияют на соседние клетки посредством межклеточного взаимодействия, а так-

же продуцируют и секретируют множество молекул, такие как цитокины, хемокины, факторы роста, которые оказывают влияние на воспалительный процесс [5].

Однако терапевтическими свойствами обладают не только сами клетки, но и их компоненты – кондиционированные среды (КС) и экзосомы. Целью данной работы является проведение анализа научно-практических данных о способах получения и применения производных мезенхимальных стромальных клеток в ветеринарной медицине.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалами служили научно-практические исследования учёных из Америки и других стран, методами – структурный и системный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В обзорном исследовании авторов Nguyen-Tuong M., Nemati P. отмечено, что КС и экзосомы способны оказывать ангиогенное, иммуномодулирующее, антиоксидантное и антиапоптолическопаракринное действие, что делает их важной областью дальнейших исследований в качестве бесклеточной терапии [6].

Кондиционированные среды – это компонент стволовых клеток, обладающий свойствами МСК [7]. Технология очистки кондиционированной среды состоит из таких этапов как центрифугирование, фракционирование и/или фильтрация. Центрифугирование проводят для удаления апоптотических и отделившихся клеток, части тканевого материала из супернатанта культуры. Ультрафильтрационные установки используются для концентрирования кондиционированной среды, а фракционирование КС позволяет соотнести фракции КС с конкретным измеряемым эффектом [8]. Составные элементы кондиционированной среды и ее качество могут отличаться не только в зависимости от исходной ткани и технологии очистки, а также от условий культивирования.

Во-первых, питательная среда и добавки, в которых растут МСК оказывают влияние на секрецию клетками различных факторов роста, которые будут получены в кондиционированной среде. Во-вторых, продолжительность культивирования влияет на количество факторов роста в кондиционированной среде. В различных исследованиях диапазон культивирования достигает от 16 часов до 5 суток [9]. В-третьих, номер пассажа культуры клеток также оказывает влияние на количество веществ, секретируемых клетками. Так, стволовые клетки с низким числом пассажей могут секретировать большее количество паракринных факторов [8]. В-четвертых, условия культивирования отражаются на состоянии кондиционированной среды. В обзорном исследовании авторов Yang Y., Lee E.H. et al. (2022) было отмечено, что культивирование МСК при гипоксических условиях стимулирует паракринную активность клеток и увеличивает продукцию секрета, за счет увеличения пролиферации и выживаемости МСК [10]. В качестве примера можно привести исследование авторов Song S.W., Kim K.E. et al. (2016), которое показало, что гипоксические условия культивирования МСК усиливают регуляцию тропомиозина, который принимает участие в антиаритмической функции [11].

Экзосомы – это внеклеточные везикулы, секретируемые клетками, диаметром от 20 до 1000 нм. Экзосомы сливаются с плазматической мембраной, высвобождаются в микроокружение и участвуют в межклеточной коммуникации [12]. В исследовании авторов Klymiuk M.C., Balz N. et al. (2019) проводили выделение экзосом из МСК при помощи методов ультрацентрифугирования, ультрафильтрации и осаждения, при этом выделение с помощью ультрафильтрации способствует увеличению концентрации экзосом в 50 раз по сравнению с ультрацентрифугированием [13]. Экзосомы обладают схожими свойствами, что и МСК, и, кроме этого, они инкапсулируют белки и РНК, могут проникать через плазматическую мембрану и связываться с белками на поверхности рецепторов, тем самым транспортируя в клетки-мишени различные вещества [12]. Экзосомы МСК являются неоднородными, их состав зависит от доноров, тканей поколений клеток, из которых они были получены. Как показывает исследование Qian X., An N. et al.

(2021), экзосомы имеют сигнальные молекулы, регулирующие биологическую активность иммунных клеток и способствующие подавлению иммунитета в отношении макрофагов и Т-клеток [14]. Кроме этого, экзосомы, полученные из МСК, стимулируют поляризацию макрофагов M2, которые благодаря своим противовоспалительным и иммуномодулирующим свойствам потенциально могут быть эффективны, например, при воспалительных заболеваниях центральной нервной системы, кишечника, аутоиммунных заболеваниях и других патологических процессах [15].

Эффективность применения кондиционированных сред и экзосом может быть неодинаковой. Так, в исследовании, проведенном Tokhanbigli S., Baghaei K. et al. (2019), отмечено, что кондиционированные среды оказывают большее иммунорегуляторное действие на моноциты, по сравнению с экзосомами [16].

В настоящее время применение, как и самих стволовых клеток, так и их компонентов в ветеринарной медицине является перспективным направлением при лечении различных заболеваний животных, что подтверждается проведением большого количества научных исследований в данной области. Например, кондиционированная среда мезенхимальных стволовых клеток может использоваться при лечении глубоких ран кожи, при введении которой увеличивается васкуляризация ткани и усиливается эпителизация [17]. Результаты работы авторов Bussche L., Harman R.M. et al. (2015) также подтверждают верность вышеуказанных гипотез. При этом авторы отмечают: КС, полученная из МСК лошади, стимулирует миграцию фибробластов в условиях *in vitro*, а также повышает уровни экспрессии генов, которые оказывают положительное влияние на заживление ран [18]. Результаты исследований, проведенных Humenik F., Maloveská M. et al. (2023) демонстрируют следующее: бесклеточная терапия кондиционированной средой, полученной из МСК, способствует уменьшению площади раневой поверхности на 98,47% у собак, по сравнению со значениями, полученными в контрольной группе -57,13% [19]. На модели искусственной раны в исследовании Freitas N.P.P., Silva B.D.P. et al. (2023) отмечалось ускорение пролиферации при добавлении кондиционированной среды [20]. Кроме этого, не исключается возможность применения КС-МСК при лечении язв, вызванных сахарным диабетом, что было представлено в исследовании Xu Y.F., Wu Y.X. et al. (2023) на моделях крыс [21].

Другой областью применения компонентов МСК в ветеринарной медицине является лечение переломов и заболеваний опорно-двигательного аппарата. В работе авторов Zhang L., Jiao G. et al. (2020) на моделях крыс было продемонстрировано, что трансплантация экзосом МСК в место перелома стимулирует остеогенез и ангиогенез путем активации сигнальных путей, что способствует более быстрому сращению [22]. Похожие результаты были получены в исследовании Zhang D., Xiao W. et al. (2023), в котором экзосомы, введенные в область перелома у крыс с сахарным диабетом, способствовали регенерации

кости [23]. Данные этих исследований могут быть основой для изучения влияния экзосом на восстановление костных структур у других видов животных. Кроме лечения переломов, изучаются лечебные свойства компонентов МСК при остеоартрите, при котором происходит деградация хрящевой ткани и снижение функциональных возможностей суставов. В исследовании Contentin R., Jammes M. et al. (2022) отмечено, что экзосомы МСК влияют на хондроциты, тем самым повышая маркеры функциональности хряща и миграцию клеток [24]. Исследование эффективности лечения остеоартрита локтевого сустава у собак кондиционированной средой мезенхимальных стволовых клеток проводили в работе авторов Nuňáková K., Hluchý M. et al. (2020). В результате проведенных исследований было отмечено, что терапия КС-МСК не вызывает побочных эффектов и способствует улучшению амплитуды движений пораженных суставов [25]. Кроме этого, КС-МСК может применяться для лечения воспаления связок у лошади, что было продемонстрировано в исследовании Leal Reis I., Lopes V. et al. (2024). Так, в результате пройденного курса лечения кондиционированной средой наблюдалось улучшение регенерации структур и отсутствие хромоты [26].

Как было отмечено ранее, компоненты МСК, как и сами клетки, оказывают иммуномодулирующее действие на ткани. В обзорном исследовании авторов Ha D.H., Kim H.K. et al. (2020) описан иммуномодулирующий эффект экзосом МСК на различных моделях воспаления. Также экзосомы обладают противовоспалительными свойствами, снижая повреждения таких структур и органов как печень, кишечник, почки, органы центральной нервной системы, что может иметь значение при лечении аутоиммунных заболеваний и хронических воспалений [27]. В качестве примера можно привести исследование Zou W., Zou P. et al. (2022), в котором проводилась эффективность бесклеточной терапии аллергического ринита у крыс. Был получен положительный эффект: в крови снижались показатели специфического IgE и интерлейкина 4, а уровень гамма-интерферона повышался [28].

Известно также применение МСК в области ветеринарной гинекологии и андрологии. Так, экзосомы и кондиционированные среды используют при криоконсервации спермы. В исследовании Mahiddine F.Y., Kim J.W. et al. (2020) было выяснено, что добавление КС, полученной из МСК амниона собаки, в концентрации 10% оказывает положительный эффект на двигательную активность, жизнеспособность, активность митохондрий и целостность мембран сперматозоидов, что способствует снижению повреждений клеток при замораживании [29]. Похожие результаты были получены в работе Qamar A.Y., Fang X. et al. (2019), в которой авторы определили, что предварительное добавление в сперму экзосомальных белков в концентрации 50 мкг/мл улучшает показатели сперматозоидов после размораживания [30]. Также проведены исследования по влиянию компонентов МСК при лечении маститов. Так, исследователями Cahuascano B., Bahamonde J. et al.

(2019) продемонстрировано, что КС оказывает антибактериальное действие в отношении золотистого стафилококка, наиболее часто выделяемого из клинических образцов при мастите, в условиях *in vitro*, что связывают с присутствием в КС антибактериальных пептидов [31]. В исследовании Lange-Consiglio A., Gusmawa C. et al. (2019) отмечено, что лечение КС, используемого при лечении маститов, снижало количество рецидивов, по сравнению с контрольной группой [32]. В исследовании авторов Ting W., Shaw S.W. et al. (2020) также были получены положительные результаты при лечении маститов кондиционированной средой из МСК амниотической мембраны [33]. Кроме этого, при добавлении КС к разбавленной сперме происходит снижение воспалительных реакций у кобыл после осеменения [34], а также увеличение частоты образования blastocyst и общего количества клеток при оплодотворении в условиях *in vitro* [35].

Еще одной областью применения компонентов МСК является нервная система. Так, МСК и КС в условиях *in vitro* при соответствующей обработке обладают нейротрофическими и ангиогенными свойствами [36, 37, 38]. В исследовании Tsai M.-J., Liou D.-Y. et al. (2019) отмечено, что добавление кондиционированной среды к нейронно-глиальным культурам, выделенным из спинного мозга, увеличивало нейрональные связи и количество олигодендроглии, а также уменьшало повреждения нейронов [39]. Исследование на собаках авторами Vikartovska Z., Kuricova M. et al. (2020) показало улучшение состояния животных с травмами спинного мозга при внутривенной инфузии КС-МСК, а именно движение тазовыми конечностями и контроль мочеиспускания [40]. В настоящее время проводится ряд исследований, направленных на изучение использования компонентов при лечении астмы [41, 42], фиброза печени [43], диабетической ретинопатии [44] и других заболеваний.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение компонентов стволовых клеток в ветеринарной медицине является перспективным направлением благодаря их ангиогенным, иммуномодулирующим, антиоксидантным, антиапоптотическим свойствам. Кондиционированные среды представляют собой комбинацию биомолекул и факторов роста в ростовой среде клеточных культур, состав которых может изменяться в зависимости от условий и длительности культивирования, а также номера пассажа. Экзосомы – это внеклеточные везикулы, секретируемые клетками, способные проникать через плазматическую мембрану или связываться с белками на поверхности рецепторов, транспортируя в клетку различные вещества.

Учитывая особенности производства, сохранения и потенциала использования, компоненты МСК имеют большой потенциал в качестве бесклеточной терапии [7].

В настоящее время применение компонентов МСК может осуществляться в следующих областях ветеринарной медицины: в дерматологии для лечения ран, ускорения васкуляризации и эпителизации, в ортопедии для ускорения заживления

переломов, остеоартритах, тендинитах, а также при аллергических и аутоиммунных заболеваниях. Кроме этого, производные МСК используют в качестве компонента криопротекторных сред, используемых в процессе криоконсервации, для лечения маститов и эндометритов у крупных животных, а также при травмах спинного мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tian Z. Introduction to stem cells / Z. Tian, T. Yu, J. Liu et al. // *Progress in Molecular Biology and Translational Science* – 2023. – Vol. 199. – P. 3-32
2. Ding D.C. Mesenchymal stem cells / D.C. Ding, W.C. Shyu, S.Z. Lin // *Cell Transplantation*. – 2011. – 20(1). – P. 5-14
3. Chaudhary D. In vitro And In vivo Immunomodulating Properties of Mesenchymal Stem Cells / D. Chaudhary, R.N. Trivedi, A. Kathuria et al. // *Recent Patents on Inflammation and Allergy Drug Discovery*. – 2018. – 12(1). – P. 59-68
4. Via A.G. Biological properties of mesenchymal Stem Cells from different sources / A.G. Via, A. Frizziero, F. Oliva // *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*. – 2012. – 2(3). – P. 154-162
5. Alvites R. Mesenchymal Stem/Stromal Cells and Their Paracrine Activity-Immunomodulation Mechanisms and How to Influence the Therapeutic Potential / R. Alvites, M. Branquinho, A.C. Sousa et al. // *Pharmaceutics*. – 2022. – 14(2). – P. 381
6. Nguyen-Truong M. Current status of myocardial restoration via the paracrine function of mesenchymal stromal cells / M. Nguyen-Truong, P. Hematti, Z. Wang // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2021. – 321(1). – P. 112-127
7. Smolinská V. Current status of the applications of conditioned media derived from mesenchymal stem cells for regenerative medicine / V. Smolinská, M. Boháč, E. Danišovič // *Physiological Research*. – 2023. – 72(S3). – P. 233-245
8. Chouaib B. Towards the Standardization of Mesenchymal Stem Cell Secretome-Derived Product Manufacturing for Tissue Regeneration / B. Chouaib, M. Haack-Sørensen, F. Chaubron et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – 24(16): 12594
9. Kusindarta D.L. Conditioned medium derived from bovine umbilical mesenchymal stem cells as an alternative source of cell-free therapy / D.L. Kusindarta, H. Wihadmadyatami // *Veterinary World*. – 2021. – 14(10). – 2588-2595
10. Yang Y. Hypoxia-Conditioned Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration Application / Y. Yang, E.H. Lee, Z. Yang // *Tissue Engineering Part B: Reviews*. – 2022. – 28(5). – P. 966-97
11. Song S.W. Proteomic Analysis and Identification of Paracrine Factors in Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Media under Hypoxia / S.W. Song, K.E. Kim, J.W. Choi et al. // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2016. – 40(1-2). – P. 400-410
12. Yu B. Exosomes derived from mesenchymal stem cells / B. Yu, X. Zhang, X. Li // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2014. – 15(3). – P. 4142-4157
13. Klymiuk M.C. Exosomes isolation and identification from equine mesenchymal stem cells / M.C. Klymiuk, N. Balz, M.I. Elashry et al. // *BMC Veterinary Research*. – 2019. – 15(1). – P. 42
14. Qian X. Immunosuppressive Effects of Mesenchymal Stem Cells-derived Exosomes / X. Qian, N. An, Y. Ren et al. // *Stem Cell Reviews and Reports*. – 2021. – 17(2). – P. 411-427
15. Arabpour M. Anti-inflammatory and M2 macrophage polarization-promoting effect of mesenchymal stem cell-derived exosomes / M. Arabpour, A. Saghazadeh, N. Rezaei // *International Immunopharmacology*. – 2021. – Vol. 97: 107823
16. Tokhanbigli S. Immunoregulatory impact of human mesenchymal-conditioned media and mesenchymal derived exosomes on monocytes / S. Tokhanbigli, K. Baghaei, A. Asadirad et al. // *Molecular Biology Research*

- Communications. – 2019. – 8(2). – P. 79-89
17. Payushina O.V. Effect of Mesenchymal Stromal Cells and Conditioned Media on Healing of Skin Wound / O.V. Payushina, N.N. Butorina, O.N. Sheveleva ON et al. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2018. – 165(4). – P. 572-575
18. Bussche L. Microencapsulated equine mesenchymal stromal cells promote cutaneous wound healing in vitro / L. Bussche, R.M. Harman, B.A. Syracuse et al. // *Stem Cell Research and Therapy*. – 2015. – 6(1). – 66
19. Humenik F. Impact of Canine Amniotic Mesenchymal Stem Cell Conditioned Media on the Wound Healing Process: In Vitro and In Vivo Study / F. Humenik, M. Maloveská, N. Hudáková et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – 24(9). – 8214
20. Freitas N.P.P. Freeze-dried Platelet-rich Plasma and Stem Cell-conditioned Medium for Therapeutic Use in Horses / N.P.P. Freitas, B.D.P. Silva, M.R.L. Bezerra et al. // *Journal of Equine Veterinary Science*. – 2023. – Vol. 121. – 104189
21. Xu Y.F. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium ameliorates diabetic foot ulcers in rats / Y.F. Xu, Y.X. Wu, H.M. Wang et al. // *Clinics*. – 2023. – Vol. 78. – 100181
22. Zhang L. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion / L. Zhang, G. Jiao, S. Ren et al. // *Stem Cell Research and Therapy*. – 2020. – 11(1)–38
23. Zhang D. Exosomes Derived from Adipose Stem Cells Enhance Bone Fracture Healing via the Activation of the Wnt3a/β-Catenin Signaling Pathway in Rats with Type 2 Diabetes Mellitus / D. Zhang, W. Xiao, C. Liu et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – 24(5). – 4852
24. Contentin R. Bone Marrow MSC Secretome Increases Equine Articular Chondrocyte Collagen Accumulation and Their Migratory Capacities / R. Contentin, M. Jammes, B. Bourdon // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – 23(10) – 5795
25. Huňáková K. Study of bilateral elbow joint osteoarthritis treatment using conditioned medium from allogeneic adipose tissue-derived MSCs in Labrador retrievers / K. Huňáková, M. Hluchý, T. Špaková et al. // *Research in Veterinary Science*. – 2020. – Vol. 132. – P. 513-520
26. Leal Reis I. Treatment of Equine Tarsus Long Medial Collateral Ligament Desmitis with Allogenic Synovial Membrane Mesenchymal Stem/Stromal Cells Enhanced by Umbilical Cord Mesenchymal Stem/Stromal Cell-Derived Conditioned Medium: Proof of Concept / I. Leal Reis, B. Lopes, P. Sousa et al. // *Animals (Basel)*. – 2024. – 14(3) – 370
27. Ha D.H. Mesenchymal Stem/Stromal Cell-Derived Exosomes for Immunomodulatory Therapeutics and Skin Regeneration / D.H. Ha, H.K. Kim, J. Lee et al. // *Cells*. – 2020. – 9(5) – 1157
28. Zou W. Conditioned medium from the bone marrow mesenchymal stem cells modulates immune response via signal transduction and activator of transcription 6 signaling pathway in an allergic rhinitis mouse model / W. Zou, P. Zou, J. Zhang et al. // *Allergologia et Immunopathologia*. – 2022. – 50(4). – P. 105-114
29. Mahiddine F.Y. Conditioned Medium from Canine Amniotic Membrane-Derived Mesenchymal Stem Cells Improved Dog Sperm Post-Thaw Quality-Related Parameters / F.Y. Mahiddine, J.W. Kim, A.Y. Qamar et al. // *Animals*. – 2020. – 10(10). – 1899
30. Qamar A.Y. Improved Post-Thaw Quality of Canine Semen after Treatment with Exosomes from Conditioned Medium of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells / A.Y. Qamar, X. Fang, M.J. Kim et al. // *Animals*. – 2019. – 9(11). – 865
31. Cahuascano B. Bovine fetal mesenchymal stem cells exert antiproliferative effect against mastitis causing pathogen *Staphylococcus aureus* / B. Cahuascano, J. Bahamonde, O. Huaman et al. // *Veterinary Research*. – 2019. – 50(25).
32. Lange-Consiglio A. Antimicrobial Effects of Condi-

tioned Medium From Amniotic Progenitor Cells in vitro and in vivo: Toward Tissue Regenerative Therapies for Bovine Mastitis / A. Lange-Consiglio, Gusmara C., Manfredi E. et al. // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2019. – Vol. 6.

33. TingWei-JeTherapeutic effects of conditioned – DPBS from amniotic stem cells on lactating cow mastitis / Wei-Je Ting, Shaw S.W., Hii L.-Y. et al. // *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2020. – 59(4). – P. 520-526

34. TonguE.A.d.O. Allogenic mesenchymal stem cell-conditioned medium does not affect sperm parameters and mitigates early endometrial inflammatory responses in mares / E.A.d.O.Tongu, L.G.T.M. Segabinazzi, M.L. Alvarenga et al. // *Theriogenology*. – 2021. – Vol 169. – P. 1-8

35. Bhardwaj R.Stem Cell Conditioned Media Contains Important Growth Factors and Improves In Vitro Buffalo Embryo Production / R. Bhardwaj, M. M. Ansari, M.S. Parmar et al. // *Animal Biotechnology*. – 2016. – 27(2). – P. 118-125

36. Al Delfi I.R. Canine mesenchymal stem cells are neurotrophic and angiogenic: An in vitro assessment of their paracrine activity / I.R. Al Delfi, J.J. Sheard, C.R. Wood et al. // *The Veterinary Journal*. – 2016. – Vol. 217. – P. 10-17

37. Humenik F. Impact of mesenchymal stem cells derived

conditioned media on neural progenitor cells / F. Humenik, S. Jago, L. Hornakova // *General Physiology and Biophysics*. – 2021. – 40(6). – P. 551-559

38. Wood C. R.An investigation of canine mesenchymal stem cellsand their secretome in the context of spinal cord injury / C.R. Wood // University of Chester. – 2020

39. Tsai M-J. Attenuating Spinal Cord Injury by Conditioned Medium from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells / M-J. Tsai, D-Y.Liou, Y-R. Lin et al. // *Journal of Clinical Medicine*. – 2019. –8(1). – 23.

40. Vikartovska Z. Stem Cell Conditioned Medium Treatment for Canine Spinal Cord Injury: Pilot Feasibility Study / Z. Vikartovska, M.Kuricova, J.Farbakova// *International Journal of Molecular Science*. – 2020. – 21(14). – 5129.

41. Ahmadi M. Bone marrow mesenchymal stem cells and their conditioned media could potentially ameliorate ovalbumin-induced asthmatic changes / M. Ahmadi, R. Rahbarghazi, M.R.Asiani // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. – 2017. – Vol. 85. – P. 28-40

42. Rahbarghazi R. Bone marrow mesenchymal stem cells and condition media diminish inflammatory adhesion molecules of pulmonary endothelial cells in an ovalbumin-

DERIVATIVES OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS: METHODS OF PREPARATION AND SCOPE OF APPLICATION IN VETERINARY MEDICINE (REVIEW)

Maria An. Maksimova

*Elena Al. Korochkina, Dr.Habil. of Veterinary Sciences, Docent
St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia*

Mesenchymal stromal cells (MSCs) are immature cells of the body that have the ability to proliferate into various functionally active cells. MSCs injected into the body have immunomodulatory, anti-inflammatory, stimulating, angiogenic and regenerative properties [1, 3, 4]. In addition to stromal cells, their components, conditioned media (CM) and exosomes, have therapeutic properties [6]. CM are a combination of biomolecules and growth factors in the growth medium of cell cultures, it is obtained by centrifugation, fractionation and/or filtration, while the composition of CM depends on the duration of cultivation, the nutrient medium and additives used in cultivation, as well as the passage number and the conditions under which the cells were grown [7-10]. Exosomes are extracellular vesicles secreted by cells with a diameter of 20 to 1000 nm, capable of encapsulating proteins and RNA, penetrating through the plasma membrane or binding to proteins on the surface of receptors, transporting various substances to target cells [12]. Exosomes are obtained using ultracentrifugation, ultrafiltration and precipitation methods [13]. MSC components are used in various fields of veterinary medicine. For example, an air-conditioned environment is used in the treatment of wounds and ulcers. A study by Bussche L., Harman R.M. et al. (2015) shows that CM obtained from horse MSCs stimulates fibroblast migration in vitro, as well as increases gene expression levels that have a positive effect on wound healing [18], and cell-free therapy helps to reduce the area of the wound surface by 98.47% [19]. Conditioned environments are used in the treatment of fractures and diseases of the musculoskeletal system. Thus, exosome transplantation to the fracture site stimulates osteogenesis and angiogenesis [22] and promotes faster bone fusion [23]. Also, some authors note a beneficial effect in the treatment of osteoarthritis with exosomes [24, 25]. In addition, the researchers note a positive effect when using MSCs components in the treatment of allergic rhinitis, mastitis and endometritis, spinal cord injuries, as well as cryopreservation of spermatozoa.

Key words: conditioned medium, exosomes of mesenchymal stromal cells, veterinary medicine.

REFERENCES

1. Tian Z. Introduction to stem cells / Z. Tian, T. Yu, J. Liu et al. // *Progress in Molecular Biology and Translational Science* – 2023. – Vol. 199. – P. 3-32

2. Ding D.C. Mesenchymal stem cells / D.C. Ding, W.C. Shyu, S.Z. Lin // *Cell Transplantation*. – 2011. – 20(1). – P. 5-14

3. Chaudhary D. In vitro And In vivo Immunomodulating Properties of Mesenchymal Stem Cells / D. Chaudhary, R.N. Trivedi, A. Kathuria et al. // *Recent Patents on Inflammation and Allergy Drug Discovery*. – 2018. – 12(1). – P. 59-68

4. Via A.G. Biological properties of mesenchymal Stem Cells from different sources / A.G. Via, A. Frizziero, F. Oliva // *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*. – 2012. – 2(3). – P. 154-162

5. Alvites R. Mesenchymal Stem/Stromal Cells and Their Paracrine Activity-Immunomodulation Mechanisms and How to Influence the Therapeutic Potential / R. Alvites, M. Branquinho, A.C. Sousa et al. // *Pharmaceutics*. – 2022. – 14(2). – P. 381

6. Nguyen-Truong M. Current status of myocardial restoration via the paracrine function of mesenchymal stromal cells / M. Nguyen-Truong, P. Hematti, Z. Wang // *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. – 2021. – 321(1). – P. 112-127

7. Smolinská V. Current status of the applications of conditioned media derived from mesenchymal stem cells for regenerative medicine / V. Smolinská, M. Boháč, E. Danišovič // *Physiological Research*. – 2023. – 72(S3). – P. 233-245

8. Chouaib B. Towards the Standardization of Mesenchymal Stem Cell Secretome-Derived Product Manufacturing for Tissue Regeneration / B. Chouaib, M. Haack-Sørensen, F. Chaubron et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – 24(16): 12594

9. Kusindarta D.L. Conditioned medium derived from bovine umbilical mesenchymal stem cells as an alternative source of cell-free therapy / D.L. Kusindarta, H. Wihadmadyatami // *Veterinary World*. – 2021. – 14(10). – 2588-2595

10. Yang Y. Hypoxia-Conditioned Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration Application / Y. Yang, E.H. Lee, Z. Yang // *Tissue Engineering Part B: Reviews*. – 2022. – 28(5). – P. 966-97

11. Song S.W. Proteomic Analysis and Identification of Paracrine Factors in Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Media under Hypoxia / S.W. Song, K.E. Kim, J.W. Choi et al. // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2016. – 40(1-2). – P. 400-410

12. Yu B. Exosomes derived from mesenchymal stem cells / B. Yu, X. Zhang, X. Li // *International Journal of*

- Molecular Sciences. – 2014. – 15(3). – P. 4142-4157
13. Klymiuk M.C. Exosomes isolation and identification from equine mesenchymal stem cells / M.C. Klymiuk, N. Balz, M.I. Elashry et al. // *BMC Veterinary Research*. – 2019. – 15(1). – P. 42
 14. Qian X. Immunosuppressive Effects of Mesenchymal Stem Cells-derived Exosomes / X. Qian, N. An, Y. Ren et al. // *Stem Cell Reviews and Reports*. – 2021. – 17(2). – P. 411-427
 15. Arabpour M. Anti-inflammatory and M2 macrophage polarization-promoting effect of mesenchymal stem cell-derived exosomes / M. Arabpour, A. Saghazadeh, N. Rezaei // *International Immunopharmacology*. – 2021. – Vol. 97: 107823
 16. Tokhanbigli S. Immunoregulatory impact of human mesenchymal-conditioned media and mesenchymal derived exosomes on monocytes / S. Tokhanbigli, K. Baghaei, A. Asadirad et al. // *Molecular Biology Research Communications*. – 2019. – 8(2). – P. 79-89
 17. Payushina O.V. Effect of Mesenchymal Stromal Cells and Conditioned Media on Healing of Skin Wound / O.V. Payushina, N.N. Butorina, O.N. Sheveleva ON et al. // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2018. – 165(4). – P. 572-575
 18. Bussche L. Microencapsulated equine mesenchymal stromal cells promote cutaneous wound healing in vitro / L. Bussche, R.M. Harman, B.A. Syracuse et al. // *Stem Cell Research and Therapy*. – 2015. – 6(1). – 66
 19. Humenik F. Impact of Canine Amniotic Mesenchymal Stem Cell Conditioned Media on the Wound Healing Process: In Vitro and In Vivo Study / F. Humenik, M. Maloveská, N. Hudáková et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – 24(9). – 8214
 20. Freitas N.P.P. Freeze-dried Platelet-rich Plasma and Stem Cell-conditioned Medium for Therapeutic Use in Horses / N.P.P. Freitas, B.D.P. Silva, M.R.L. Bezerra et al. // *Journal of Equine Veterinary Science*. – 2023. – Vol. 121. – 104189
 21. Xu Y.F. Bone marrow-derived mesenchymal stem cell-conditioned medium ameliorates diabetic foot ulcers in rats / Y.F. Xu, Y.X. Wu, H.M. Wang et al. // *Clinics*. – 2023. – Vol. 78. – 100181
 22. Zhang L. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion / L. Zhang, G. Jiao, S. Ren et al. // *Stem Cell Research and Therapy*. – 2020. – 11(1)–38
 23. Zhang D. Exosomes Derived from Adipose Stem Cells Enhance Bone Fracture Healing via the Activation of the Wnt3a/β-Catenin Signaling Pathway in Rats with Type 2 Diabetes Mellitus / D. Zhang, W. Xiao, C. Liu et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – 24(5). – 4852
 24. Contentin R. Bone Marrow MSC Secretome Increases Equine Articular Chondrocyte Collagen Accumulation and Their Migratory Capacities / R. Contentin, M. Jammes, B. Bourdon // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – 23(10) – 5795
 25. Huňáková K. Study of bilateral elbow joint osteoarthritis treatment using conditioned medium from allogeneic adipose tissue-derived MSCs in Labrador retrievers / K. Huňáková, M. Hluchý, T. Špaková et al. // *Research in Veterinary Science*. – 2020. – Vol. 132. – P. 513-520
 26. Leal Reis I. Treatment of Equine Tarsus Long Medial Collateral Ligament Desmitis with Allogeneic Synovial Membrane Mesenchymal Stem/Stromal Cells Enhanced by Umbilical Cord Mesenchymal Stem/Stromal Cell-Derived Conditioned Medium: Proof of Concept / I. Leal Reis, B. Lopes, P. Sousa et al. // *Animals (Basel)*. – 2024. – 14(3) – 370
 27. Ha D.H. Mesenchymal Stem/Stromal Cell-Derived Exosomes for Immunomodulatory Therapeutics and Skin Regeneration / D.H. Ha, H.K. Kim, J. Lee et al. // *Cells*. – 2020. – 9(5) – 1157
 28. Zou W. Conditioned medium from the bone marrow mesenchymal stem cells modulates immune response via signal transduction and activator of transcription 6 signaling pathway in an allergic rhinitis mouse model / W. Zou, P. Zou, J. Zhang et al. // *Allergologia et Immunopathologia*. – 2022. – 50(4). – P. 105-114
 29. Mahiddine F.Y. Conditioned Medium from Canine Amniotic Membrane-Derived Mesenchymal Stem Cells Improved Dog Sperm Post-Thaw Quality-Related Parameters / F.Y. Mahiddine, J.W. Kim, A.Y. Qamar et al. // *Animals*. – 2020. – 10(10). – 1899
 30. Qamar A.Y. Improved Post-Thaw Quality of Canine Semen after Treatment with Exosomes from Conditioned Medium of Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells / A.Y. Qamar, X. Fang, M.J. Kim et al. // *Animals*. – 2019. – 9(11). – 865
 31. Cahuascano B. Bovine fetal mesenchymal stem cells exert antiproliferative effect against mastitis causing pathogen *Staphylococcus aureus* / B. Cahuascano, J. Bahamonde, O. Huaman et al. // *Veterinary Research*. – 2019. – 50(25).
 32. Lange-Consiglio A. Antimicrobial Effects of Conditioned Medium From Amniotic Progenitor Cells in vitro and in vivo: Toward Tissue Regenerative Therapies for Bovine Mastitis / A. Lange-Consiglio, Gusmara C., Manfredi E. et al. // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2019. – Vol. 6.
 33. TingWei-Je Therapeutic effects of conditioned – DPBS from amniotic stem cells on lactating cow mastitis / Wei-Je Ting, Shaw S.W., Hii L.-Y. et al. // *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2020. – 59(4). – P. 520-526
 34. Tongu E.A.d.O. Allogenic mesenchymal stem cell-conditioned medium does not affect sperm parameters and mitigates early endometrial inflammatory responses in mares / E.A.d.O. Tongu, L.G.T.M. Segabinazzi, M.L. Alvarenga et al. // *Theriogenology*. – 2021. – Vol. 169. – P. 1-8
 35. Bhardwaj R. Stem Cell Conditioned Media Contains Important Growth Factors and Improves In Vitro Buffalo Embryo Production / R. Bhardwaj, M. M. Ansari, M.S. Parmar et al. // *Animal Biotechnology*. – 2016. – 27(2). – P. 118-125
 36. Al Delfi I.R. Canine mesenchymal stem cells are neurotrophic and angiogenic: An in vitro assessment of their paracrine activity / I.R. Al Delfi, J.J. Sheard, C.R. Wood et al. // *The Veterinary Journal*. – 2016. – Vol. 217. – P. 10-17
 37. Humenik F. Impact of mesenchymal stem cells derived conditioned media on neural progenitor cells / F. Humenik, S. Jago, L. Hornakova // *General Physiology and Biophysics*. – 2021. – 40(6). – P. 551-559
 38. Wood C. R. An investigation of canine mesenchymal stem cells and their secretome in the context of spinal cord injury / C.R. Wood // *University of Chester*. – 2020
 39. Tsai M.-J. Attenuating Spinal Cord Injury by Conditioned Medium from Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells / M.-J. Tsai, D.-Y. Liou, Y.-R. Lin et al. // *Journal of Clinical Medicine*. – 2019. – 8(1). – 23.
 40. Vikartovska Z. Stem Cell Conditioned Medium Treatment for Canine Spinal Cord Injury: Pilot Feasibility Study / Z. Vikartovska, M. Kuricova, J. Farbakova // *International Journal of Molecular Science*. – 2020. – 21(14). – 5129.
 41. Ahmadi M. Bone marrow mesenchymal stem cells and their conditioned media could potentially ameliorate ovalbumin-induced asthmatic changes / M. Ahmadi, R. Rahbarghazi, M.R. Aslani // *Biomedicine and Pharmacotherapy*. – 2017. – Vol. 85. – P. 28-40
 42. Rahbarghazi R. Bone marrow mesenchymal stem cells and condition media diminish inflammatory adhesion molecules of pulmonary endothelial cells in an ovalbumin-induced asthmatic rat model / R. Rahbarghazi, R. Keyhanmanesh, M.R. Aslani et al. // *Microvascular Research*. – 2019. – Vol. 121. – P. 63-70
 43. Pinheiro D. Effects of mesenchymal stem cells conditioned medium treatment in mice with cholestatic liver fibrosis / D. Pinheiro, I. Dias, T. Freire et al. // *Life Sciences*. – 2021. – Vol. 281. – 119768
 44. Kim H. Preventive Effects of Exosome-Rich Conditioned Medium From Amniotic Membrane-Derived Mesenchymal Stem Cells for Diabetic Retinopathy in Rats / H. Kim, Y.S. Goh, S.E. Park et al. // *Translational Vision Science and Technology*. – 2023. – 12(8). – 18.