

**Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Московская государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина»
Издательский дом «Научная библиотека»**

ВЕТЕРИНАРИЯ, ЗООТЕХНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

Научно-практический журнал

№ 8, 2021 г.

Москва

Регенеративный препарат Репарин-Хелпер® как эффективное и безопасное средство для лечения постоперационных ран

А. И. Довгий

кандидат биологических наук, генеральный директор
ООО «Т-Хелпер Клеточные Технологии»,
Москва, Российская Федерация

Д. С. Воеводин

ветеринарный врач клиники «Велес»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

В настоящей статье описан клинический опыт лечения постоперационных ран у собак после проведения овариогистерэктомии. Проведено сравнение результатов с использованием стандартной схемы лечения и с применением регенеративного препарата на основе секретомы мезенхимальных стволовых клеток (цитокины / факторы роста). Приведены результаты лечения 41 собаки. По итогам исследования установлено, что регенеративный препарат благоприятно влияет на скорость заживления швов и эффективно снижает воспаление, что способствует быстрому и качественному постоперационному восстановлению.

Ключевые слова: регенеративная медицина, цитокины, стволовые клетки, регенерация, овариогистерэктомия, Репарин-Хелпер.

Safety and efficacy study of the regenerative drug Reparin-Helper® for the treatment of postoperative wounds

A. I. Dovgiy

Candidate of Biological Sciences, General Director
of T-Helper Cell Technologies LLC,
Moscow, Russian Federation

D. S. Voevodin

Veterinarian of the Veles Clinic,
Moscow, Russian Federation

Abstract

This article describes clinical results from postoperative wound treatment in 41 dogs that have undergone an ovariohysterectomy procedure. The standard treatment regimen is compared with the use of a regenerative drug based on secretome (cytokines / growth factors) produced by mesenchymal stem cells. The results show that the regenerative drug positively impacted the wound healing speed, decreased the suture removal time, and effectively reduced inflammation during the post-operative period, resulting in a rapid and high-quality postoperative recovery.

Keywords: regenerative medicine, cytokines, stem cells, regeneration, ovariohysterectomy.

Введение. Поиск эффективных средств, которые стимулируют регенерацию поврежденных тканей, остается актуальным вопросом в ветеринарии. В данной работе авторы исследовали процесс заживления ран в послеоперационном периоде.

Стандартные схемы лечения ран, в том числе послеоперационных, основываются на применении антисептических и противовоспалительных препаратов в сочетании с антибиотиками [3]. Такой подход минимизирует инфекционные осложнения, но не влияет на регенерацию поврежденных тканей и не ускоряет их заживление [5].

В последние годы активно развиваются новые методы лечения ран и воспалений различной этиологии [7]. Одним из эффективных подходов является регенеративная медицина, которая призвана расширить возможности ветеринарных врачей для более эффективной борьбы с воспалительными поражениями, в том числе при лечении ран [2].

В основе регенеративной медицины лежат клеточные технологии, с помощью которых создаются принципиально новые лекарственные средства. Такие препараты работают путем стимулирования собственных механизмов организма для восстановления функций поврежденных тканей или органов.

В 2020 г. академик РАН и РАМН В. А. Ткачук писал, что «продуцируемый МСК секретом оказался очень удачным объектом для создания «регенеративного лекарства», которое отвечает ключевым требованиям с точки зрения регуляции регенерации» [1]. В настоящее время есть много данных об эффективности секрета МСК для стимулирования регенеративных процессов *in vivo*, препараты такого класса разрабатываются для различных направлений терапии. Как показано в исследовании Ching-Hsuan Hu и соавт., среда, кондиционированная мезенхимальными стволовыми клетками (МСК), эффективна для ускорения заживления ран и препятствует фиброзу рубцовой ткани [4]. В последнее время появляется все больше экспериментальных данных, подтверждаемых клиническими испытаниями, что клетки-предшественники мезенхимального происхождения обладают выраженными иммуносупрессивными свойствами, значительным дифференцировочным потенциалом, способ-

ностью к направленной миграции в очаг повреждения и множественными паракринными эффектами. Использование этих клеток в регенеративной медицине представляется крайне выгодным и перспективным, особенно для заболеваний, для лечения которых не подходят стандартные методы [9].

Репарин-Хелпер® – первый зарегистрированный в России регенеративный препарат на основе кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток (номер регистрационного удостоверения 77-3-16.16.3544NoПВР-3-16.16/03315). Действующее вещество препарата – стандартизированный комплекс цитокинов (секретом). Секретом продуцируется запатентованной линией МСК [8], при этом наличие в препарате самих клеток исключается.

Цитокины в составе препарата Репарин-Хелпер® можно разделить на следующие группы: цитокины с эффектом хемотаксиса (TGF- β , IP-10, IL-6, IFN- γ , MCP-1 и GRO/KC), медиаторы воспаления (IL-6, IP-10, IL-10, GRO/KC и TGF- β), регуляторы ангиогенеза/васкулогенеза (VEGF, GRO/KC и TGF- β) и стимуляторы регенерации (IL-6, VEGF и TGF- β). Его применение позволяет дополнить терапию ран регенеративным компонентом, не снижая эффективности стандартного лечения. Совместимость комбинированного применения регенеративного препарата и антибиотиков обусловлена различием механизмов их действия и влияния на патогенез в процессе лечения ран. В отличие от антибиотика, препарат Репарин-Хелпер® ускоряет миграцию клеток в очаг поражения, регулирует все фазы воспалительного процесса, индуцирует рост капиллярной сети, стимулирует регенерацию.

В качестве демонстрационной модели определения эффективности ветеринарного лекарственного препарата Репарин-Хелпер® было выбрано лечение послеоперационной хирургической раны у собаки после проведения одной из самой распространенной абдоминальной хирургической операции – овариогистерэктомии.

Овариогистерэктомия – метод кастрации самок, полостная операция по удалению яичников и матки [6]. Для оценки эффективности препарата при лечении таких послеоперационных ран сравнивали динамику

морфологических показателей и показателей воспалительного процесса в контрольной и опытных группах собак.

Цель исследования. Оценить эффективность регенеративного препарата Репарин-Хелпер® для лечения постоперационных хирургических ран и провести сравнительный анализ результатов со стандартными методами лечения.

Материалы и методы исследования. Для исследования была отобрана 41 собака, которым в период с октября 2017 г. по март 2018 г. в ветеринарной клинике «Велес» (Московская область) были проведены хирургические операции по удалению матки и яичников (овариогистерэктомия). Исследуемых собак разделили на три группы (табл. 1):

1) контрольная (10 случаев). В данной группе была использована стандартная схема лечения постоперационных ран – сочетание антисептика (Диоксидин®) и антибиотика (Синулокс®);

2) опытная группа (20 случаев), для лечения которой препарат Репарин-Хелпер® сочетали с антибиотиком (Синулокс®).

3) опытная группа (11 случаев), для лечения которой препарат Репарин-Хелпер® использовали в монотерапии.

Все хирургические операции были выполнены одним и тем же хирургом в одной ветеринарной клинике. Перед проведением овариогистерэктомии проводили первичный клинический осмотр животного с измерением веса и температуры тела (ректально), проводили аускультацию сердца и легких, пальпацию брюшной стенки, оценивали состояние лимфатических узлов. Операции проводили только на клинически здоровых животных. Перед оперативным вмешательством животным в состоянии наркоза удаляли волосяной покров и мыльным раствором обрабатывали области оперативного вмешательства.

Таблица 1

План лечения постоперационных хирургических ран после проведения овариогистерэктомии

Описание	Количество собак	Протокол лечения
Группа 1 (стандартное лечение)	10	<ul style="list-style-type: none"> • Диоксидин® на непрерывный шов мышечного слоя брюшной стенки; • Террамицин® на прерывистый шов кожи и подкожной жировой клетчатки; • Курс а/б Синулокс®
Группа 2 (РХ + антибиотик)	20	<ul style="list-style-type: none"> • 1 мл РХ – обработка брюшной полости; • 3–6 спрей-доз РХ распыляли на непрерывный шов мышечного слоя брюшной стенки; • 2–3 спрей-дозы РХ распыляли на прерывистый шов кожи и подкожной жировой клетчатки; • Курс а/б Синулокс®
Группа 3 (РХ без антибиотика)	11	<ul style="list-style-type: none"> • 1 мл РХ – обработка брюшной полости; • 3–6 спрей-доз РХ распыляли на непрерывный шов мышечного слоя брюшной стенки; • 2–3 спрей-дозы РХ распыляли на прерывистый шов кожи и подкожной жировой клетчатки

Примечание: РХ – ветеринарный лекарственный препарат Репарин-Хелпер®.

После операции животные находились под динамическим наблюдением врачей. На каждое животное был составлен акт ветеринарного осмотра и лечения с данными о первоначальном состоянии здоровья и описанием состояния раны и швов. Также в таблицу включали информацию о возникающих осложнениях, нежелательных реакциях и противопоказаниях. Состояние

швов было зафиксировано на фотографиях животных. Были определены морфологические показатели и показатели воспалительного процесса, по которым производилась оценка проведенного лечения (табл. 2–5):

- общая оценка состояния швов на второй день после операции;
- количество дней, которое прошло для полного закрытия шва;

- количество дней, через которое швы были сняты;
- наличие осложнений (нежелательных реакций).

Таблица 2

Оценка состояния швов

Оценка состояния швов	Система баллов
Гиперемия (покраснение)	0–4
Гипертермия	0–2
Отечность	0–4
Сухость шва	Да / Нет

Таблица 3

Критерии оценки степени гиперемии (покраснения) области шва

Значение	Описание
0	Белый
1	Светло-розовый
2	Розовый
3	Красный
4	Насыщенно-красный

Таблица 4

Критерии оценки гипертермии области шва

Значение	Описание
0	Холодный
1	Теплый
2	Горячий

Таблица 5

Критерии оценки степени отека области шва

Значение	Описание
0	Нет отека
1	Слабый отек
2	Средний отек
3	Сильный отек
4	Очень сильный отек

Результаты исследований. Описание хода постоперационного лечения в трех разных группах собак. **Случай 1** – пример лечения постоперационной хирургической раны после проведения овариогистерэктомии у собаки из группы 1.

Короткошерстная рыжая собака среднего размера, примерно 11-месячного возраста, чип № 643090000229505, пол – сука, порода – метис, уши висячие, хвост прямой. При первичном осмотре: вес 14,3 кг, температура 38,7 °С, видимые слизистые оболочки розового цвета, поверхностные лимфатические узлы в пределах физиологической нормы, брюшная стенка слегка напряжена, безболезненна, при аускультации дыхание жесткое везикулярное. 21 ноября 2017 г. животному произведена операция по стерилизации. Во время операции брюшная полость обработана 1% раствором стерильного диоксидина на 0,5% растворе новокаина (1:1). После наложения непрерывного шва (шовный материал – капроновая нить) на мышечный слой брюшной стенки проведена обработка 1% раствором стерильного диоксидина на 0,5% растворе новокаина (1:1). После наложения прерывистого шва (шовный материал капроновая нить) на кожу и подкожную жировую клетчатку проведена обработка тетрарамицином. После операции швы обрабатывались 1 раз в два дня тетрарамицином в течение 10 дней. Также был прописан курс Синулукса по весу – 1 раз в день курсом 5 дней. На второй день после операции швы были теплыми, светло-розового цвета, со слабым отеком. Швы полностью закрылись на четвертый день. На 10-й день швы были сняты. Неблагоприятных эффектов замечено не было (рис. 1).

Случай 2 – пример лечения постоперационной хирургической раны после проведения овариогистерэктомии у собаки из группы 2 (Репарин-Хелпер® + антибиотик). Короткошерстная, светло-рыжая собака среднего размера, возраст примерно один год, чип № 643090000229534, пол – сука, порода – метис, уши висячие, хвост прямой. При первичном осмотре вес 18,9 кг, температура 38,8 °С, видимые слизистые оболочки розового цвета, поверхностные лимфатические узлы в пределах физиологической нормы, брюшная стенка слегка напряжена, безболезненна, при аускультации дыхание жесткое везикулярное. 8 декабря 2017 г. животному произведена операция по стерилизации.

Во время операции брюшная полость обработана 1 мл Репарин-Хелпер® и также 1% раствором стерильного диоксидина на 0,5%



Рис. 1. Прогресс в состоянии постоперационной хирургической раны после проведения овариогистерэктомии у собаки, чип № 643090000229505, группа 1 (группа стандартного лечения)

растворе Новокаина (1:1), после всасывания Репарин-Хелпер® (примерно 5 мин.). После наложения непрерывного шва (шовный материал – капроновая нить) на мышечный слой брюшной стенки рана обработана 3–6 спрей-дозами Репарин-Хелпер®, затем после всасывания Репарин-Хелпер® (примерно 5 мин.) 1% раствором стерильного диоксида на 0,5% растворе новокаина (1:1). После наложения прерывистого шва (шовный материал капроновая нить) на кожу и подкожную жировую клетчатку рана обработана 2–3 дополнительными спрей-дозами Репарин-Хелпер®. После операции швы обрабатывали 2 раза в день 2–3 спрей-дозами Репарин-Хелпер® ежедневно, до снятия швов. Также был прописан курс антибиотика Синулокс® по весу, 1 раз в день курсом 5 дней. На второй день после операции швы были холодными, белого цвета и без отека. Швы полностью закрылись на третий день. На восьмой день швы были сняты. Неблагоприятных эффектов замечено не было (рис. 2). Использование препарата Репарин-Хелпер® продемонстрировало эффективность и безопасность.

Случай 3 – пример лечения постоперационной хирургической раны после проведения овариогистерэктомии у собаки из группы 3 (Репарин-Хелпер® без антибиотиков).

Среднешерстная, черно-палевая собака среднего размера, возраст около года, чип № 643090000229502, пол – сука, порода –

метис, уши стоячие, хвост прямой. При первичном осмотре вес 15,6 кг, температура 38,6 °С, видимые слизистые оболочки розового цвета, поверхностные лимфатические узлы в пределах физиологической нормы, брюшная стенка слегка напряжена, безболезненна, при аускультации дыхание жесткое везикулярное. 8 декабря 2017 г. животному произведена операция по стерилизации. Во время операции брюшная полость обработана 1 мл Репарин-Хелпер®, затем после всасывания препарата Репарин-Хелпер® (примерно 5 мин.), 1% раствором стерильного диоксида на 0,5% растворе новокаина (1:1). После наложения непрерывного шва (шовный материал – капроновая нить) на мышечный слой брюшной стенки рана обработана 3–6 спрей-дозами Репарин-Хелпер® (примерно 5 мин.), потом после всасывания Репарин-Хелпер® 1% раствором стерильного диоксида на 0,5% растворе новокаина (1:1). После наложения прерывистого шва (шовный материал капроновая нить) на кожу и подкожную жировую клетчатку рана обработана 2–3 дополнительными спрей-дозами Репарин-Хелпер®. После операции швы обрабатывали 2 раза в день 2–3 спрей-дозами Репарин-Хелпер® до снятия швов. Антибиотики не были прописаны. На второй день после операции швы были холодными, белого/белорозового цвета с очень слабым отеком. Швы

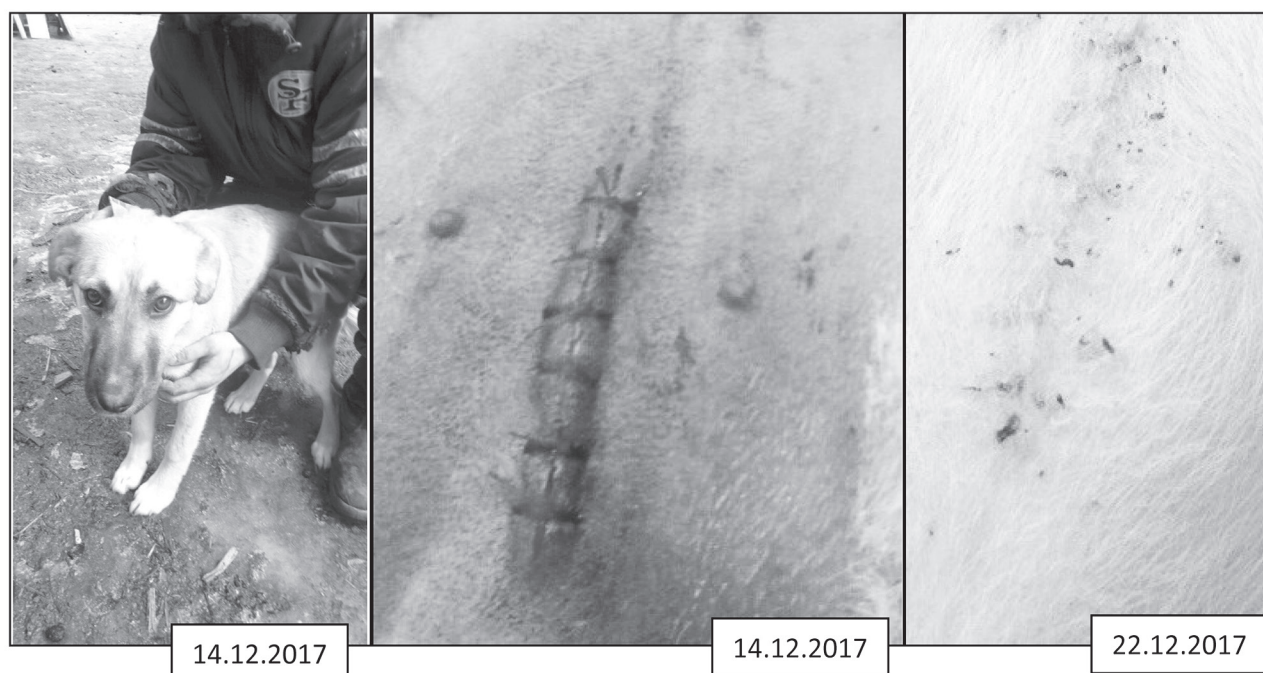


Рис. 2. Прогресс в состоянии постоперационной хирургической раны после проведения овариогистерэктомии у собаки, чип № 643090000229534, группа 2 (Репарин-Хелпер® с антибиотиками)

полностью закрылись на третий день. На седьмой день швы были сняты (рис. 3). Неблагоприятных эффектов замечено не было. Применение ветеринарного лекарственного препарата Репарин-Хелпер® продемонстрировало эффективность и безопасность.

По каждому животному ветеринарные врачи клиники заполняли таблицу, высказывая свое мнение об эффективности и

безопасности применения лекарственного препарата Репарин-Хелпер®. Во всех случаях, где использовался Репарин-Хелпер® (31/31), ветеринарные специалисты были удовлетворены клиническим результатом.

При применении препарата Репарин-Хелпер® не наблюдалось воспаления кожи, раздражений места шва или аллергических реакций. Также на протяжении экспери-

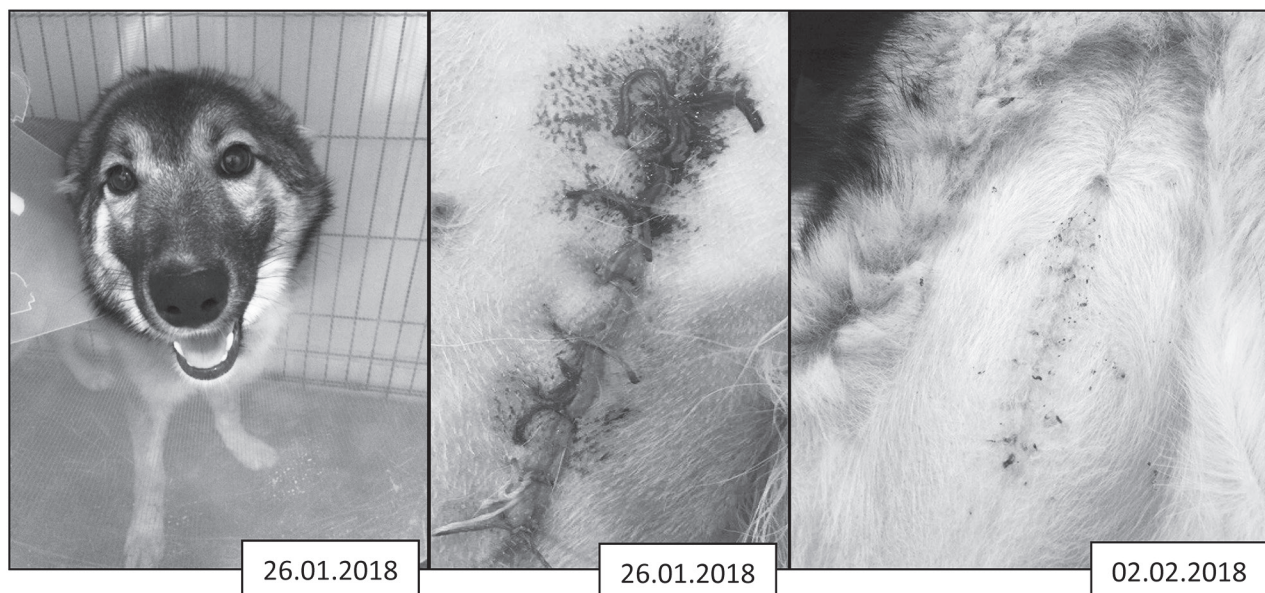


Рис. 3. Прогресс в состоянии постоперационной хирургической раны после проведения овариогистерэктомии у собаки, чип № 643090000229502, группа 3 (Репарин-Хелпер® без антибиотиков)

мента не было выявлено побочных реакций или осложнений, что подтверждает безопасность препарата при местном применении

для лечения постоперационных хирургических ран. Результаты лечения в трех группах отражены в таблице 6.

Таблица 6

Сравнение показателей, характеризующих процесс регенерации постоперационной хирургической раны, после проведения овариогистерэктомии у собак в трех исследованных группах

Оценка качества швов	Группа 1 (контроль)	Группа 2 (РХ + а/б)	Группа 3 (РХ моно)
Средний срок закрытия шва	4,4 дней	3,1 дней	3,0 дней
Средний срок снятия швов	10,0 дней	8,9 дней	7,3 дней
Средняя оценка покраснения (из максимальных 4 баллов)	1,7	0,7	0,2
Средняя оценка гипертермии (из максимальных 2 баллов)	0,7	0,2	0,0
Средняя оценка отеков (из максимальных 4 баллов)	1,5	0,7	0,2
Сухой шов на второй день	9/10	18/20	11/11

После проведения овариогистерэктомии хирургические швы успешно зажили во всех трех группах (41 собака).

В группах 2 и 3, в которых применяли лекарственный препарат Репарин-Хелпер[®], швы закрылись в среднем на 1,5 дня быстрее, чем в контрольной группе (1), где Репарин-Хелпер[®] не применяли. Более того, в группе, где применяли Репарин-Хелпер[®], но не применяли антибиотики, швы были сняты на три дня раньше, чем в контрольной группе, где лечение проводили по стандартной схеме. Это показывает, что применение регенеративного препарата Репарин-Хелпер[®] эффективно ускоряет процесс заживления постоперационных хирургических ран.

Сравнительная оценка выбранных показателей выраженности воспаления швов на второй день после операции демонстрирует, что ветеринарный лекарственный препарат Репарин-Хелпер[®] эффективно регулирует процесс воспаления. В среднем после применения препарата Репарин-Хелпер[®] оценки покраснения области швов были на 1–1,5 балла (из максимальных 4 баллов) ниже, чем в контрольной группе. Оценки гипертермии области швов после применения препарата Репарин-Хелпер[®] были на 0,5–0,7 балла (из максимальных 2 баллов) ниже, оценки отечности области швов также были на 0,8–1,3 бала (из максимальных 4 баллов) ниже. Почти во всех случаях применения

препарата Репарин-Хелпер[®] не было отмечено выделения экссудата из ран, раны были сухими уже на второй день. Можно сделать вывод, что применение ветеринарного лекарственного препарата Репарин-Хелпер[®] приводит к ускорению регенерации и сокращению сроков заживления ран.

Из полученных данных видно, что стандартная терапия (включающая назначение антибиотиков) постоперационной хирургической раны после проведения овариогистерэктомии у собак полностью совместима с применением ветеринарного лекарственного препарата Репарин-Хелпер[®]. В целом в группах 2 и 3 клинические показатели воспалительного процесса были лучше при применении Репарин-Хелпер[®], чем без него (группа 1). Раны закрывались быстрее, швы снимались раньше, состояние швов было менее воспаленным. Гипертермия, отечность и гиперемия области вокруг швов также были существенно меньше. Таким образом, применение препарата Репарин-Хелпер[®] не мешает проведению стандартной терапии раны, а дополняет ее.

Заключение. Проведенное исследование выявило, что применение препарата Репарин-Хелпер[®] показало высокую эффективность при лечении постоперационных хирургических ран после проведения овариогистерэктомии как без применения антибиотика, так и в сочетании со стандартной терапией.

Репарин-Хелпер® сокращает сроки заживления швов, снижает риск появления осложнений и образования рубцов, повышает вероятность получения благоприятного итога лечения. Проведенная работа показала, что использование регенеративного препарата может быть эффективным дополнительным инструментом в арсенале врача, а также снижает потребность в применении антибиотиков при стандартном лечении.

Список литературы

1. Макаревич П. И., Ефименко, А. Ю., Ткачук В. А. Биохимическая регуляция регенеративных процессов факторами роста и цитокинами: основные механизмы и значимость для регенеративной медицины // Биохимия. 2020. № 85 (1). С. 15–33.
2. Симбирцев А. С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека М.: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2018.
3. Хирургические болезни: учебник: в 2 т. Т. 1 / под ред. В. С. Савельева, А. И. Кириенко. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014.
4. Ching-Hsuan Hu et al. Bone marrow concentrate-induced mesenchymal stem cell conditioned medium facilitates wound healing and prevents hypertrophic scar formation in a rabbit ear model // *Stem Cell Research & Therapy*. 2019. No. 10 (1). P. 275.
5. Källa: Schultz G., Mast B. A. Molecular analysis of the environment of healing and chronic wounds // *Cytokines, proteases and growth factors*. Wound. 1998. Vol. 10 (suppl. F). Pp. 1–9.
6. Pearson H. Genital surgery in the bitch and cat // *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 7th ed. G. H. Arthur et al., 1996. Pp. 332–341.
7. Prockop D. J., Oh J. Y. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation // *Mol. Ther.* 2012. Vol. 20 (1). Pp. 14–20.
8. Sokolov A., Dvoggii A. I., Kolesnikova A. I. Stem Cell Material and Method of Manufacturing // US Patent 10,744,160.
9. Vizoso F. J., Eiro N., Cid S., et al. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine // *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. Vol. 18 (9). P. 1852.

References

1. Makarevich P. I., Efimenko A. Yu., Tkachuk V. A. (2020) Biochemical regulation of regenerative processes by growth factors and cytokines: basic mechanisms and significance for regenerative medicine. *Biochemistry*, no. 85 (1), pp. 15–33.
2. Simbirtsev A. S. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases Moscow. ООО «Publisher-tion FOLIO», 2018.
3. (2014) Surgical diseases: textbook: in 2 t. T. 1. Ed. by V. S. Savelyev, A. I. Kiriyenko. 2nd ed., reprint. and additional Moscow. GEOTAR-Media.
4. Ching-Hsuan Hu et al. (2019) Bone marrow concentrate-induced mesenchymal stem cell conditioned medium facilitates wound healing and prevents hypertrophic scar formation in a rabbit ear model. *Stem Cell Research & Therapy*, no. 10 (1), p. 275.
5. Källa: Schultz G., Mast B. A. Molecular analysis of the environment of healing and chronic wounds. *Cytokines, proteases and growth factors*. Wound. 1998. Vol. 10 (suppl. F). Pp. 1–9.
6. Pearson H. (1996) Genital surgery in the bitch and cat. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 7th ed. G. H. Arthur et al. Pp. 332–341.
7. Prockop D. J., Oh J. Y. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol. Ther.* 2012. Vol. 20 (1). Pp. 14–20.
8. Sokolov A., Dvoggii A. I., Kolesnikova A. I. Stem Cell Material and Method of Manufacturing. *US Patent* 10, 744, 160.
9. Vizoso F. J., Eiro N., Cid S., et al. (2017) Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18 (9), p. 1852.