

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	2
I. Токсикологические исследования Фоспасима	3
II. Доклинические исследования Фоспасима.....	3
1. Исследование влияния препарата «Фоспасим» на активность гиппокампа крыс.....	3
2. Исследование профиля психотропной активности препарата «Фоспасим»	3
3. Исследование антистрессового действия препарата «Фоспасим».....	8
4. Исследование противосудорожного действия препарата «Фоспасим» на модели коразоловых судорог у мышей.....	9
5. Исследование влияния препарата «Фоспасим» на длительность наркотического сна у мышей.....	10
III. Клинические исследования	12
1. Клиническое исследование эффективности применения препарата «Фоспасим» в качестве средства для премедикации у собак.....	12
2. Применение препарата «Фоспасим» с целью совершенствования приемов дрессировки собак	13
3. Применение препарата «Фоспасим» при дрессировке собак-поводырей слепых.....	15
4. Клиническое исследование психотропной активности препарата «Фоспасим».....	16
Заключение.....	20

ВВЕДЕНИЕ

Что такое доказанная клиническая эффективность? Как должен быть исследован препарат, чтобы можно было говорить о его соответствии принципам доказательной медицины?

Одним из основных аспектов доказательной медицины является определение степени достоверности. Основные критерии уровня доказательности – количество и качество проведённых исследований.

Уровни доказательности имеют 4 градации: А, В, С и D. Уровень доказательности А – препарат участвовал в нескольких (более трех) рандомизированных контролируемых исследованиях в соответствии с GCP (Good Clinic Practice). Уровень доказательности В – препарат участвовал в одном или двух рандомизированных контролируемых исследованиях. Уровень доказательности С – результаты нерандомизированных исследований и/или проведенных с малым количеством пациентов. Уровень D означает слабые или систематические эмпирические доказательства.

Перед вами «досье» на Фоспасим. Давайте отвлечёмся от определения «гомеопатический» и посмотрим на него как на препарат с определёнными фармакологическими свойствами.

Состав (на 1000 см³): Phosphorus 2,5x10⁻¹⁰ г, Aconitum 5x10⁻¹² г, Hyosciamus 5x10⁻⁹ г, Passiflora 5x10⁻⁹ г, Moshus 0,005г, Ignatia 5x10⁻⁶ г, Platinum 5x10⁻⁵ г, вспомогательные компоненты до 1000 см³.

Свойства: входящие в состав лекарственного средства активные компоненты нормализуют эмоционально-психологическое состояние, оказывают антипсихотическое, антиневротическое действие (снижение агрессивности, пугливости), повышают адаптационно-приспособительные возможности организма; регулируют и модулируют работу глутаматергической, дофаминергической и серотонинергической систем головного мозга, играющих важную роль в экспрессии эмоционально-поведенческой реакции, сенсомоторной интеграции и процессах обучения.

Так, основным ДВ пассифлоры (Passiflora), является гарман, ингибитор МАО, родоначальник ряда антидепрессантов в гуманной фармакологии. Hyosciamus в качестве основных ДВ содержит вещества, модулирующие работу холинергической нервной системы: атропин, скополамин (центральный М-холинолитик), холин – предшественник ацетилхолина, обладает успокаивающим и ноотропным действием. Ignatia содержит алкалоиды стрихнин и бруцин, которые оказывают стимулирующее действие на сосудодвигательный и дыхательный центры и активизируют работу сенсорных систем. Aconit – алкалоид аконитин, регулирует работу натриевых каналов в нервных клетках, в малых дозах потенцирует действие анестетиков.

До начала массового производства лекарственное средство должно пройти ряд исследований (токсикологические, доклинические, клинические).

Токсикологические исследования проводятся с целью изучения возможного отрицательного воздействия лекарственного препарата на организм.

Доклинические исследования проводятся с целью изучения фармакологических свойств препарата.

Клинические исследования – необходимый этап разработки препаратов, который предшествует его регистрации и широкому внедрению в практику. В ходе клинических исследований препарат изучается для получения уточнённых данных о его эффективности, показаниях, схемах применения. Препарат, не прошедший клинических исследований, не может быть зарегистрирован и выведен на рынок.

I. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Токсикологические исследования Фоспасима проведены в полном объеме (острая токсичность, субхроническая токсичность, раздражающее и аллергенное действие, видоспецифическая токсичность).

II. ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

В доклинических исследованиях были использованы модели, которые обычно используются в фармакологии для оценки психотропной активности препаратов.

1. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА «ФОСПАСИМ» НА АКТИВНОСТЬ ГИППОКАМПА КРЫС

Работа выполнена на базе лаборатории функциональной синаптологии отдела исследований мозга ГУ НЦ неврологии РАМН.

Исследование проводилось на срезах гиппокампа крыс. Гиппокамп – структура лимбической части мозга, принимающая активное участие в формировании эмоций, процессах обучения и консолидации памяти.

Исследовались наличные и следовые изменения реактивности пирамидных нейронов гиппокампа при 20-минутной аппликации препарата «Фоспасим» в разных концентрациях. Контролем служили опыты с «ложной аппликацией» – переключением системы потока на то же время на другой резервуар со стандартным раствором. Анализировали изменения амплитуды суммарного пикового ответа через 10-20 мин после начала (наличные эффекты) и 30-60 мин после окончания (следовые эффекты) аппликации.

Выводы

Показано, что Фоспасим оказывает дозозависимое модулирующее влияние на реактивность нейронов гиппокампа поля CA1 (увеличение амплитуды пикового компонента фокального ответа), что может свидетельствовать о наличии ноотропных свойств у данного препарата.

2. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛЯ ПСИХОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ФОСПАСИМ»

Работа выполнена на базе ГУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова сотрудниками фонда «Развитие фармакологии эмоционального стресса».

Материалы и методы

а) Оценка седативного действия препарата

Исследование проводили на мышах-самцах линии С57Bl/6 массой 22-25 г. Опытным животным препарат «Фоспасим» (раствор для инъекций) вводили в дозе 0,1 мл внутривентально (n=5). Контрольным животным (n=5) вводили тот же объем физиологического раствора внутривентально.

Седативное действие препарата определяли путем наблюдения за поведением мышей с 10 по 30 минуту после помещения в индивидуальные боксы (в боксы животных сажали непосредственно после введения препарата). Состояние животных оценивали в баллах: 0 – отсутствие птоза, двигательная активность присутствует; 1 – отсутствие птоза, отсутствие двигательной активности; 2 – полуптоз, отсутствие двигательной активности; 3 – птоз, отсутствие двигательной активности. За период наблюдения каждое животное получало 10 оценок (10 раз с интервалом в 2 минуты). Полученные баллы суммировались для каждого животного за весь период наблюдения. Результаты исследования приведены в таблице 1.

Таблица 1

Группа	Седативное действие, баллы
Контроль (n=5)	1,0
Фоспасим в/б (n=5)	9,0*

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Показано, что Фоспасим при внутрибрюшинном введении обладает седативным действием.

**в) Изучение действия препарата в тестах скрининга транквилизаторов.
Оценка влияния вещества на поведение крыс в тесте «Экстраполяционное
избавление» (ТЭИ).**

Объектом исследования служили беспородные белые крысы-самцы питомника Андреевка массой 330-380 г. Опытным животным (n=6) вводили Фоспасим подкожно в дозе 0,3 мл/гол, контрольным животным (n=6) аналогичным образом вводили физиологический раствор. Препаратами сравнения служили Феназепам (0,25 мг/кг в/б, n=10) и Буспирон (4,0 мг/кг в/б, n=10). Препараты вводили животным за 30 минут до тестирования в установке «ТЭИ» (фирма Ore Science, Россия). За 2-минутный период тестирования регистрировали число прыжков животного внутри цилиндра и ЛП подныривания. Полученные результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2

Группа	Сумма прыжков	ЛП подныривания, сек
Контроль (n=6)	7,5	14,0
Фоспасим (n=6)	10,0	30,5*
Феназепам (n=10)	1,5*	10,0
Буспирон (n=10)	8,0	25,0*

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Данные демонстрируют сходство эффектов Фоспасима и атипичного анксиолитика Буспирона. Оба вещества увеличивают латентный период подныривания у крыс в ТЭИ. В отличие от них, классический бензодиазепиновый транквилизатор Феназепам не влияет на этот показатель, но достоверно уменьшает количество прыжков.

**с) Изучение действия препарата в тестах скрининга антидепрессантов
Оценка влияния вещества на стереотипию, вызванную апоморфином***

Объектом исследования служили беспородные белые крысы-самцы питомника Андреевка массой 330-380 г. До начала эксперимента животных попарно рассаживали в клетки для наблюдения. Опытным животным (n=6) вводили Фоспасим подкожно в дозе 0,3 мл/гол, контрольным животным (n=6) аналогичным образом вводили физиологический раствор. Препаратом сравнения служил Имипрамин (12,5 мг/кг в/б, n=10). Апоморфин гидрохлорид вводили подкожно в дозе 1 мг/кг. Препараты вводили животным за 20 минут до введения апоморфина.

После введения апоморфина с 13 по 19 минуты в баллах оценивали наличие и степень стереотипного локомоторного поведения (стойки, побежки): 0 – нет стереотипии; 1 – возникает периодически; 2 – возникает часто; 3 – присутствует постоянно, но животное сохраняет ориентировочную реакцию на звук; 4 – присутствует постоянно, ориентировочная реакция отсутствует. Полученные результаты приведены в таблице 3.

Таблица 3

Группа	Интенсивность локомоторной стереотипии, баллы
Контроль (n=6)	1,0
Фоспасим (n=6)	0,0*
Имипрамин (n=10)	2,3*

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Классический антидепрессант Имипрамин усиливает локомоторную стереотипию, вызванную апоморфином. В отличие от него Фоспасим снижает интенсивность данной формы стереотипии.

Оценка влияния вещества на стереотипию, вызванную л-ДОФА.

Объектом исследования служили беспородные белые крысы-самцы питомника Андреевка массой 330-380 г. До начала эксперимента животных попарно рассаживали в клетки для наблюдения. Опытным животным (n=6) вводили Фоспасим подкожно в дозе 0,3 мг/гол, контрольным животным (n=6) аналогичным образом вводили физиологический раствор. Препаратом сравнения служил Имипрамин (12,5 мг/кг в/б, n=10). Препараты вводили животным за 1 минуту до введения л-ДОФА (коммерческий препарат Мадопар-125, Галеника) в дозе 125 мг/кг внутривентриально в дистиллированной воде из расчета 2 мл/кг.

Через 50 мин после введения л-ДОФА в баллах оценивали наличие и интенсивность стереотипного локомоторного поведения (стойки, побежки). Полученные результаты приведены в таблице 4.

Таблица 4

Группа	Интенсивность локомоторной стереотипии, баллы
Контроль (n=6)	0,9
Фоспасим (n=6)	0,7
Имипрамин (n=10)	3,7*

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Классический антидепрессант Имипрамин усиливает локомоторную стереотипию, вызванную л-ДОФА, в то время как Фоспасим не влияет на интенсивность данной формы стереотипии.

Оценка влияния вещества на иммобилизацию в тесте «неизбегаемое плавание».

Объектом исследования служили беспородные белые мыши-самцы питомника Андреевка массой 35-40 г. Опытным животным (n=6) вводили Фоспасим подкожно в дозе 0,1 мг/гол, контрольным животным (n=6) аналогичным образом вводили физиологический раствор. Препаратом сравнения служил Имипрамин (12,5 мг/кг в/б, n=10). Препараты вводили животным за 20 минут до тестирования. На протяжении 4-минутного периода регистрировали длительность сохранения животными специфической позы «отчаяния» (иммобильность). Полученные результаты приведены в таблице 5.

Таблица 5

Группа	Длительность иммобильности, сек
Контроль (n=6)	89
Фоспасим (n=6)	150*
Имипрамин (n=10)	43*

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Классический антидепрессант Имипрамин снижает длительность иммобильности мышей в тесте «неизбегаемое плавание». В отличие от него Фоспасим достоверно увеличивает длительность иммобильности у мышей в данном тесте, то есть снижает степень эмоциональной реакции на действие стресс-факторов (вода, невесомость).

d) Изучение действия препарата в тестах скрининга нейролептиков

Оценка влияния вещества на стереотипию, вызванную апоморфином

Исследование проводилось аналогично пункту 3.1. Препаратами сравнения служили Галоперидол (0,1 мг/кг в/б, n=10) и Буспирон (4,0 мг/кг в/б, n=10). Препарат Галоперидол вводили животным за 60 минут, Буспирон за 5 минут до введения апоморфина. В тесте помимо локомоторной стереотипии также оценивали периоральную стереотипию (принюхивание, лизание, укусы). Полученные результаты приведены в таблице 6.

Таблица 6

Группа	Интенсивность стереотипии, баллы	
	Периоральная	Локомоторная
Контроль (n=6)	4,0	1,0
Фоспасим (n=6)	3,9	0,0*
Галоперидол (n=10)	0,0*	0,0*

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Классический нейролептик Галоперидол ослабляет как периоральную, так и локомоторную стереотипию, вызванную введением апоморфина. Атипичный нейролептик Буспирон эффективен лишь в отношении локомоторной стереотипии. Фоспасим действует аналогично Буспирону, подавляя локомоторную стереотипию и не влияя на периоральную стереотипию.

Оценка каталептогенного действия

Объектом исследования служили беспородные белые крысы-самцы вивария НИИ патофизиологии массой 260-330 г. Опытным животным (n=6) вводили Фоспасим подкожно в дозе 0,3 мг/гол, контрольным животным (n=6) аналогичным образом вводили физиологический раствор. Препаратами сравнения служили Галоперидол (0,1 мг/кг в/б, n=10) и Буспирон (4,0 мг/кг в/б, n=10). Препарат Галоперидол вводили животным за 60 минут, Фоспасим и Буспирон за 30 минут до тестирования. Интенсивность каталепсии оценивали по длительности сохранения животными «позы лектора». Полученные результаты приведены в таблице 7.

Таблица 7

Группа	Длительность сохранения позы, сек
Контроль (n=6)	0
Фоспасим (n=6)	0
Галоперидол (n=10)	34*

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Только классический нейролептик Галоперидол вызывает катаlepsию у крыс. Фоспасим, также как и атипичный нейролептик Буспирон, не способен индуцировать катаlepsию.

Оценка влияния вещества на нарушенное л-ДОФА поведение подныривания в ТЭИ-П

Объектом исследования служили беспородные белые крысы-самцы питомника Андреевка массой 330-380 г. Опытным животным (n=6) вводили Фоспасим подкожно в дозе 0,3 мл/гол, контрольным животным (n=6) аналогичным образом вводили физиологический раствор. Препаратами сравнения служили Галоперидол (0,1 мг/кг в/б, n=10) и Буспирон (4,0 мг/кг в/б, n=10). л-ДОФА применяли в форме коммерческого препарата Мадопар-125, Галеника в дозе 125 мг/кг внутривенно в дистиллированной воде из расчета 2 мл/кг. Препараты Галоперидол и Фоспасим вводили животным за 1 минуту до введения л-ДОФА, Буспирон вводили спустя 30 мин после введения л-ДОФА.

Применяли специально разработанную Н.А. Бондаренко модификацию ТЭИ – ТЭИ с «подсказкой». Непосредственно после помещения животного в ТЭИ, пространство внутри цилиндра над головой животного на расстоянии 3 см выше носа животного закрывали непрозрачной перегородкой (препятствием для выпрыгивания). Через 60 мин после введения л-ДОФА за 2-минутный тестовый период регистрировали наличие или отсутствие поведения подныривания. Полученные результаты приведены в таблице 8.

Таблица 8

Группа	% подныривающих животных
Контроль (n=6)	33
Фоспасим (n=6)	83*
Галоперидол (n=10)	90*
Буспирон (n=10)	80*

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Фоспасим действует аналогично Галоперидолу и Буспиرونу, восстанавливая нарушенную л-ДОФА способность к подныриванию в ТЭИ.

Оценка влияния вещества на нарушенное апоморфином поведение подныривания в ТЭИ-В

Объектом исследования служили беспородные белые крысы-самцы питомника Андреевка массой 330-380 г. Опытным животным (n=6) вводили Фоспасим подкожно в дозе 0,3 мл/гол, контрольным животным (n=6) аналогичным образом вводили физиологический раствор. Препаратами сравнения служили Галоперидол (0,1 мг/кг в/б, n=10) и Буспирон (4,0 мг/кг в/б, n=10). Апоморфин гидрохлорид вводили подкожно в дозе 1 мг/кг, доза растворена в 2 мл дистиллированной воды, содержащей 0,01% аскорбиновой кислоты. Препарат Гало-

период вводили животным за 60 минут, Фоспасим за 20 минут, Буспирон за 5 минут до введения апоморфина.

Применяли специально разработанную Н.А. Бондаренко модификацию ТЭИ – «воронка». Вместо цилиндра животное помещают под перевернутую стеклянную химическую воронку, нижним концом опущенную в воду. Через 20 минут после введения апоморфина за 2-минутный тестовый период оценивали наличие или отсутствие поведения подныривания. Полученные результаты приведены в таблице 9.

Таблица 9

Группа	% подныривающих животных
Контроль (n=6)	16
Фоспасим (n=6)	17
Галоперидол (n=10)	90*
Буспирон (n=10)	15

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Фоспасим и Буспирон не восстанавливают нарушенное апоморфином поведение подныривания, чем они отличаются от классического нейролептика Галоперидола.

Выводы

Показано, что препарат «Фоспасим» обладает седативным, анксиолитическим и антипсихотическим действием (снижает вызванную л-ДОФА и апоморфином локомоторную стереотипию), не влияет на нормальную двигательную активность (не способен индуцировать катаlepsию), восстанавливает нарушенные л-ДОФА когнитивные функции. Психотропная активность Фоспасима наиболее сходна с активностью атипичного анксиолитика Буспирона.

3. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИСТРЕССОВОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «ФОСПАСИМ»

Работа выполнена на базе кафедры внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства ФГОУ ВПО Костромская ГСХА.

Материалы и методы

Объектом исследования служили беспородные взрослые кролики-самцы массой 3,5-4 кг. До начала опыта был проведен клинический осмотр всех животных. Для проведения эксперимента были сформированы 3 группы животных по 5 голов в каждой:

1 группа – контроль: животные, содержащиеся в привычных условиях и не подвергавшиеся действию стресс-фактора;

2 группа – стресс: животные подвергались стрессовому воздействию в течение 48 часов;

3 группа – опыт: животным вводили препарат «Фоспасим» в дозе 1 мл/гол и подвергали стрессовому воздействию в течение 48 часов.

В качестве стресс-фактора использовали содержание кроликов в непосредственной близости к вольерам с собаками.

Оценивали общее состояние животных, данные электрокардиографического исследования. Электрокардиографические исследования проводили до начала опыта и сразу после окончания воздействия стресс-фактора.

Результаты

На протяжении всего опыта общее состояние кроликов первой группы (контроль) было нормальным (сохранен аппетит, адекватная реакция на внешние раздражители, ЧСС, частота мочеиспускания и дефекации в пределах физиологических норм).

Во второй группе кроликов, подвергнутых в течение 48 часов стрессовому воздействию, отмечалось резкое угнетение, потеря аппетита, увеличение ЧСС, поллакиурия.

У кроликов третьей группы (опыт) в течение всего опыта общее состояние было удовлетворительным, аппетит сохранялся, частота сердечных сокращений и мочеиспускания были в пределах физиологической нормы.

Выводы

Предварительное введение препарата «Фоспасим» перед воздействием стресс-фактора способствует сохранению нормального уровня сердечно-сосудистой деятельности и общей активности животных. Фоспасим предотвращает развитие стресс-реакции у животных, оказывает анксиолитическое действие.

4. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОСУДОРОЖНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «ФОСПАСИМ» НА МОДЕЛИ КОРАЗОЛОВЫХ СУДОРОГ У МЫШЕЙ

Работа выполнена на базе ГУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова сотрудниками фонда «Развитие фармакологии эмоционального стресса».

Материалы и методы

Объектом исследования служили мыши-самцы линии С57Bl/6 массой 22-25 г. В эксперименте участвовало 2 группы животных. Животным контрольной группы (n=8) подкожно вводили дистиллированную воду из расчета 0,1 мл/10 г массы тела. Животным опытной группы (n=5) подкожно вводили Фоспасим 0,2 мл. Спустя 30 минут животным обеих групп внутрибрюшинно вводили коразол в дозе 50 мг/кг, после чего начинали регистрацию судорожной активности. Длительность периода регистрации составляла 10 минут. Оценивали латентный период и количество судорожных приступов, а также их интенсивность в баллах: 0 – нет; 1 – клонические судороги без потери позы; 2 – клонические судороги с потерей позы; 3 – тонические судороги, не приводящие к гибели животного; 4 – тонические судороги, вызывающие гибель животного. На основании этих данных для каждого животного подсчитывали общую интенсивность судорожной активности (по величине суммы баллов за период наблюдения) и определяли максимальную интенсивность судорог (по интенсивности самого сильного приступа). Результаты обрабатывали статистически с применением критерия Фишера. Полученные данные приведены в виде медиан выборки в таблице 10.

Таблица 10. Противосудорожный эффект препарата

Группа	ЛП судорог, сек	Общая интенсивность судорожной активности, баллы	Процент мышей с тоническими судорогами	Максимальная интенсивность судорог, баллы
Контроль (n=8)	160	25	50	2
Опыт (n=5)	260*	2*	40	2

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем

Препарат «Фоспасим» достоверно увеличивает латентный период появления судорожной активности и снижает общую интенсивность судорог.

Выводы

Препарат «Фоспасим» показал противосудорожную активность на модели коразоловых судорог. При этом препарат эффективен в отношении только клонических судорог.

5. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА «ФОСПАСИМ» НА ДЛИТЕЛЬНОСТЬ НАРКОТИЧЕСКОГО СНА У МЫШЕЙ

Работа выполнена на базе ГУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова сотрудниками фонда «Развитие фармакологии эмоционального стресса».

Материалы и методы

а) Влияние препарата на хлоралгидратный наркоз

Объектом исследования служили беспородные белые мыши-самцы питомника Андреевка массой 35-40 г. До начала эксперимента животных рассаживали в индивидуальные ячейки для наблюдения. Хлоралгидрат вводили внутривентриально в дозе 350 мг/кг, доза растворена в 5 мл дистиллированной воды. Опытным животным (n=6) за 25 минут до введения хлоралгидрата вводили Фоспасим подкожно в дозе 0,2 мл, контрольным животным (n=6) аналогичным образом вводили дистиллированную воду. Через 15 мин после введения хлоралгидрата ректально измеряли температуру тела, через 20 мин регистрировали сохранение бокового положения.

Результат

Спустя 20 минут после введения хлоралгидрата боковое положение сохраняли 16,7% (1 из 6) животных контрольной группы и 83,3% (5 из 6) животных опытной группы (p=0,04). Различий по показателям ректальной температуры выявлено не было. Таким образом, Фоспасим потенцирует действие хлоралгидрата.

б) Влияние препарата на эффект Золетила

Объектом исследования служили мыши-самцы линии Valb/c массой 22-25 г. Животные были разделены на 4 группы по 6 особей в каждой. Животным первой группы вводили дистиллированную воду. Животным второй группы вводили Золетил и дистиллированную воду вместо Фоспасима. Животным третьей группы вводили Фоспасим и дистиллированную воду вместо Золетила. Животным третьей группы вводили Золетил и Фоспасим. Золетил вводили внутривентриально в дозе 80 мг/кг. Фоспасим вводили подкожно в дозе 0,2 мл, за 15 минут до введения Золетила. Наблюдение за животными начинали непосредственно после последней полученной ими инъекции. Определяли латентный период бокового положения и время гибели животных. Результаты представлены в таблице 11.

Таблица 11

Группа	ЛП бокового положения, медиана, мин	Время полужизни группы, мин
1	Нет	Нет
2	2	20
3	Нет	Нет
4	2	12*

* $p < 0,05$ по сравнению с группой 2

Обнаружено, что Золетил в использованной дозе вызывает гибель 100% мышей линии Balb/c. Гибель первого животного 2 группы произошла через 15 минут после инъекции Золетила, последнего – через 28 минут. Был построен график зависимости «вымирания» группы от времени с целью определения времени полужизни группы (времени гибели 50% животных из группы). Фоспасим не влияет на ЛП бокового положения, но достоверно уменьшает время полужизни группы.

с) Влияние препарата на эффект Рометара

Объектом исследования служили мыши-самцы линии Balb/c массой 22-25 г. Животные были разделены на 4 группы по 6 особей в каждой:

- 1 группа – (контроль) введение физиологического раствора
- 2 группа – Рометар + физиологический раствор вместо Фоспасима
- 3 группа – Фоспасим + физиологический раствор вместо Рометара
- 4 группа – Рометар + Фоспасим.

Рометар вводили внутривенно в дозе 2 мг/кг. Фоспасим вводили подкожно в дозе 0,2 мл, за 15 минут до введения Рометара. Наблюдение за животными начинали непосредственно после последней полученной ими инъекции.

Определяли латентный период бокового положения, а спустя 15 минут – наличие миорелаксации (по показателю ЛП подтягивания на стержень) и седации по показателю птоза в баллах (0 – нет; 1 – половина глаз прикрыта веком; 2 – глаз полностью прикрыт). Непосредственно после этого поведение животных оценивали в тесте «воронка». Для этого животное опускали в емкость с водой и прикрывали голову стеклянной химической воронкой, погружая ее край в воду на 2,5 см. В течение минуты оценивали ЛП подныривания для каждого животного. Полученные данные обрабатывались статистически с применением непараметрического критерия Фишера. Результаты в виде медиан представлены в таблице 12.

Таблица 12

Группа	Птоз, баллы	ЛП подтягивания, сек	ЛП подныривания, сек
1	Нет*	3	5,3*
2	1,5 ^x	4	13,5 ^x
3	Нет*	2	9,0
4	1,8 ^x	4	Нет (более 60)* ^x

* $p < 0,05$ по сравнению с группой 1; * $p < 0,05$ по сравнению с группой 2

Рометар вызывает у мышей седацию, увеличивает ЛП подныривания (время до попытки избавления от аверсивного фактора). Фоспасим не влияет на степень седации при применении Рометара, однако значительно удлиняет ЛП подныривания в тесте «Воронка». Животные 4 группы оказались неспособны реализовать поведение подныривания в этом тесте.

Выводы

Препарат Фоспасим способствует пролонгации наркотического эффекта хлоралгидрата, потенцирует действие Золетила и Рометара. В то же время сам препарат в использованной дозе не оказывает токсического и миорелаксанта действия на животных.

III. КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА «ФОСПАСИМ» В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ДЛЯ ПРЕМЕДИКАЦИИ У СОБАК

Работа выполнена на базе клиники экспериментальной терапии Российского Онкологического Научного Центра им. Н.Н. Блохина РАМН и ветеринарной клиники «Биоконтроль».

Материалы и методы

В исследование были включены 40 собак, проходивших лечение в ветеринарной клинике «Биоконтроль». Возраст животных был от 5 месяцев до 12 лет.

В состав анестезиологического пособия входила подготовка животных к анестезии (премедикация) и проведение анестезии по методике тотальной внутривенной анестезии на основе препарата пропофол. Всем животным в качестве премедикации вводили атропин и тавегил в стандартных дозах за 15 минут до анестезии. В случае проведения оперативного лечения животным (n=20) вводили золетил в качестве компонента общей анестезии (аналгезии). Препарат «Фоспасим» вводился подкожно или внутримышечно в дозе 0,1 мл/кг.

Все животные были разделены на 4 группы:

1 группа (n=10) – животным вводили препарат пропофол;

2 группа (n=10) – животным вводили препарат пропофол, в качестве компонента премедикации использовался препарат «Фоспасим»;

3 группа (n=10) – животным проводилась анестезия с помощью препаратов пропофол и золетил;

4 группа (n=10) – животным проводилась анестезия с помощью препаратов пропофол и золетил, в качестве компонента премедикации использовался препарат «Фоспасим».

Перед проведением вводной индукции оценивали седативный и анксиолитический эффект. Вводную анестезию осуществляли болюсным введением препаратов в стандартных дозах. У оперируемых животных поддерживающую анестезию осуществляли по принципу инфузионного дозирования с помощью шприцевых дозаторов фирмы Dixon.

В качестве контроля состояния гемодинамики у животных, которым не выполнялось хирургического вмешательства, использовали пульсоксиметр Dixon VE-H100B. Пациентам хирургического отделения контроль гемодинамики проводили кардиомонитором Sensitec 1200. В случаях, когда была необходима респираторная поддержка, применяли искусственную вентиляцию легких, используя аппарат Graph.

Критериями оценки были: психоэмоциональное состояние перед операцией, возникновение нежелательных эффектов при вводной анестезии и при пробуждении, состояние гемодинамики.

Результаты

Психоэмоциональное состояние оценивали у 20 животных, которым выполняли премедикацию препаратом «Фоспасим». У 15 (75%) животных (8 животных из группы 2, 7 животных из группы 4) наблюдался анксиолитический эффект (снижение степени беспокойства). У 7 (35%) животных (4 животных из группы 2, 3 животных из группы 4) наблюдался седативный эффект.

Эпизоды опистотонуса и возбуждения при вводной анестезии пропофолом наблюдались у 1 животного группы 1 (лабрадор, 11 лет) и у 1 животного группы 3 (метис, 9 лет). В группах, где применялся Фоспасим, нежелательных эффектов при вводной анестезии не отмечалось.

Эпизоды возбуждения после анестезии клинически проявлялись беспорядочным лаем, галлюцинациями («ловля мух»). Наиболее часто подобная симптоматика наблюдалась в

группах, где не использовали Фоспасим, а именно:

у 2 собак 1 группы (лабрадор 11 лет; пудель, 5 лет);

у 2 собак 2 группы (среднеазиатская овчарка, 7 мес.; боксер, 2 года с идиопатической эпилепсией);

у 6 собак 3 группы (пудель, 6 лет; боксер, 4 года; метис, 14 лет; ретривер, 7 лет; лабрадор, 5 лет; черный терьер, 3 года);

у 1 собаки 4 группы (кане корсо, 4 года).

У пациентов 1 и 2 групп не наблюдалось отклонений от норм по показателям гемодинамики (сатурация, ЧСС). У животных 3 и 4 групп проводился расширенный мониторинг по таким параметрам как: неинвазивное артериальное давление (НАД), ЧСС, сатурация, термометрия, ЭКГ. По результатам мониторинга ни у одного животного не выявлено признаков нарушения сердечного ритма. В 3 группе у одного животного наблюдалось увеличение ЧСС до 198 уд/мин, у одного животного снижение ЧСС до 51 уд/мин. Изменения остальных показателей гемодинамики было ожидаемое и соответствовало нормам ведения анестезии при вышеуказанных схемах. Следует отметить, что общее снижение температуры тела за время операции у животных 4 группы было меньшим ($0,6 \pm 0,1^\circ\text{C}$ против $0,9 \pm 0,4^\circ\text{C}$ у животных 3 группы).

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют об анксиолитическом действии препарата «Фоспасим». У некоторых животных также проявлялся седативный эффект, что может быть востребовано у животных, которые поступают на оперативное лечение.

Применение Фоспасима не оказывает отрицательного влияния на гемодинамику и не изменяет течение анестезии. Кроме того, применение препарата «Фоспасим» в качестве компонента премедикации позволяет существенно уменьшить риск возникновения психомоторного возбуждения, вызванного введением пропофола и золетила.

2. ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ФОСПАСИМ» С ЦЕЛЬЮ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ПРИЕМОМ ДРЕССИРОВКИ СОБАК

Работа выполнена на базе кафедры ветеринарного акушерства и хирургии Кубанского Государственного университета и частного питомника по разведению немецких овчарок г. Краснодара (ИЧП Радина).

Материалы и методы

Для проведения исследования были сформированы 3 группы (контрольная и 2 опытных) животных по принципу парных аналогов, по 5 собак в каждой. В них входили немецкие овчарки обоего пола в возрасте от 0,5 до 1,5 лет.

Животным контрольной группы во время исследования никаких препаратов не вводили. В первой опытной группе за неделю до тренировки начали вводить препарат «Фоспасим» внутримышечно 1 раз в сутки в дозе $0,1 \text{ мл/кг}$, в количестве 7 инъекций. Во второй опытной группе Фоспасим вводили непосредственно в дни тренировок (за $0,5\text{-}1$ час до тренировки) в той же дозе.

У всех животных проводили анализ поведения путем детального изучения движений подопытного животного в ходе решения ряда задач. Каждое животное подвергали испытанию по каждой методике не менее двух раз, чтобы исключить артефакты.

а) Исследования с помощью метода «лабиринта». Животным ставили задачу нахождения пути к определенной, непосредственно не воспринимаемой ими цели, которой являлась пищевая приманка. Метод «лабиринта» позволяет изучить как вопросы, связанные непосредственно со способностью животных к научению, так и вопросы пространственной ориентации, чувствительности, памяти.

б) Исследования с помощью метода «обходного пути». Животному приходилось обойти несколько преград для достижения цели. В данном случае животное с самого начала непосредственно воспринимает приманку.

с) Исследования с помощью метода «дифференциальной дрессировки». Метод направлен на выявление способности подопытного животного к различению одновременно или последовательно предъявляемых объектов или признаков. В варианте дрессировки по методу «выбора на образец» животному предлагали произвести выбор среди ряда объектов, руководствуясь образцом, который показывался ему экспериментатором. Правильный выбор вознаграждается. Метод позволяет охарактеризовать особенности зрения животного, процессы формирования навыков, памяти, способность к общению.

д) Исследования с помощью «проблемной клетки/ящика». Перед животным ставили задачу открыть для себя выход из клетки, приведя в действие различные приспособления (рычаги, педали, затворы и т.д.) либо проникнуть в клетку, где находится подкорм, отмыкая запирающие устройства. Этим методом исследовали сложные формы научения и моторные элементы интеллектуального поведения животных.

Результаты

а) Исследования с помощью метода «лабиринта»

Животные контрольной группы проходили лабиринт в среднем за $24 \pm 1,3$ сек, животные первой опытной группы за $21 \pm 0,8$ сек, а животные второй опытной группы – за $23 \pm 2,2$ сек.

б) Исследования с помощью метода «обходного пути»

Собаки контрольной группы достигали цели в среднем за $17 \pm 0,9$ сек, животные первой опытной группы с той же задачей справлялись за $15 \pm 1,6$ сек, а животные второй опытной группы – за $17 \pm 1,3$ сек.

с) Исследования с помощью метода «дифференциальной дрессировки»

В общей сложности животные контрольной группы потратили на правильное различение и выбор среди ряда объектов 1 мин 39 сек. У животных первой опытной группы на выполнение этих заданий было потрачено 1 мин 24 сек, а животные второй опытной группы справились с заданием за 1 мин 35 сек.

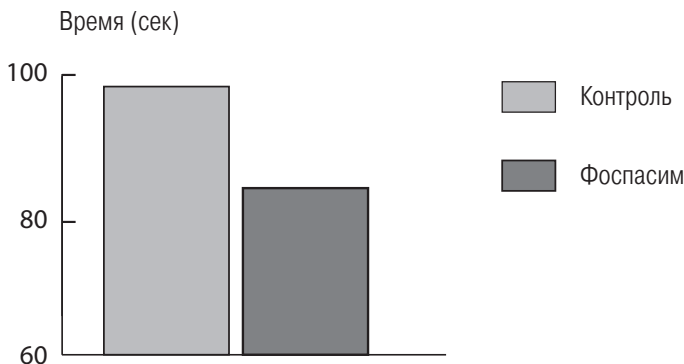


Диаграмма 1. Правильное различение и выбор среди ряда объектов

д) Исследования с помощью «проблемной клетки/ящика»

Лучше всех с задачей открывания или проникновения в клетку справились животные первой опытной группы. На данные манипуляции они потратили в среднем 45 сек. У животных контрольной и второй опытной группы показатели были хуже и составили 54 и 52 сек, соответственно.

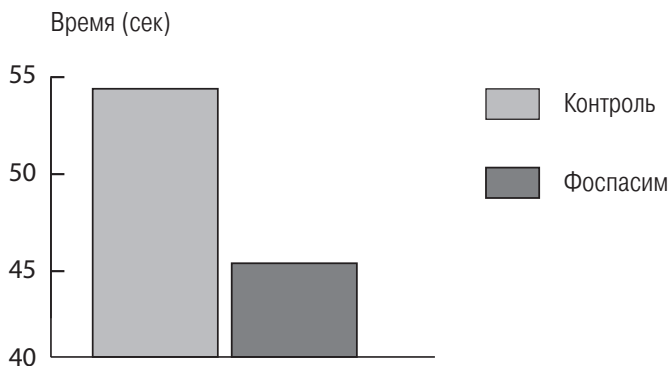


Диаграмма 2. Время на открытие «проблемного ящика»

У животных опытных групп вне зависимости от схемы введения Фоспасима наблюдали снижение агрессивности, гипервозбудимости и пугливости.

Лучше всего при выполнении вышеуказанных заданий себя показали животные, которым вводили препарат «Фоспасим» в течение 7 дней, начиная за неделю до тренировки.

3. ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «ФОСПАСИМ» ПРИ ДРЕССИРОВКЕ СОБАК-ПОВОДЫРЕЙ СЛЕПЫХ

Работа выполнена на базе Республиканской школы восстановления трудоспособности слепых и подготовки собак-проводников общероссийской общественной организации инвалидов «Всероссийское Ордена Красного Знамени общество слепых» (РШВСиПСП).

Оценка способностей животных к дрессировке и образования навыков для работы проводником слепого, как правило, определяется до 9-месячного возраста во время занятий с инструктором. После определения «профпригодности» собака передается в работу.

Препарат «Фоспасим» был использован в качестве стресс-корректора у щенков пород лабрадор-ретривер и восточно-европейская овчарка в возрасте от 3 месяцев.

Для проведения опыта каждый помёт был разделен на 2 группы: опытную и контрольную. Щенкам опытной группы, начиная с 3-х месячного возраста, вводили Фоспасим подкожно в дозе 0,1 мл/кг 1 раз в неделю без учета графика тренировок.

Оценивали время, затраченное на формирование полезных навыков, т.е. возраст перехода собак в старшую группу («в работу»).

Результаты представлены на диаграмме 3.

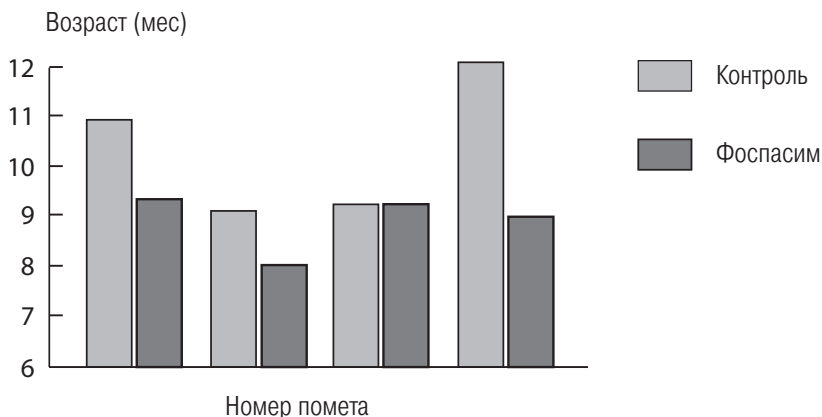


Диаграмма 3. Возраст передачи собак в работу

Исследование показало, что применение препарата «Фоспасим» уменьшает возраст передачи собак в работу, то есть ускоряет процесс дрессировки (формирования необходимых навыков) у собак.

4. КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПСИХОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ФОСПАСИМ»

С целью изучения анксиолитических свойств препарата «Фоспасим» у животных с неадекватным поведением было проведено двойное слепое плацебо-контролируемое рандомизированное проспективное исследование на базе ветеринарной клиники «Белый Клык» (Строгино), г. Москва.

Задачи исследования

Оценка характера психотропного действия препарата «Фоспасим».
Выявление породной чувствительности к препарату «Фоспасим».

Материалы и методы

Объектом исследования служили собаки разных пород и возраста.

Критерии включения

В исследование включали собак с признаками стресса, находившихся в стационаре (пациенты, пришедшие на МРТ, до премедикации).

Критерии исключения

- животные с тяжелой патологией ЦНС и выраженной депрессией сознания;
- животные 4-5 CAP с нарушением жизненно-важных функций, возникших до или во время анестезии;
- животные, получающие терапию препаратами, обладающими седативными свойствами (соли брома, фенobarбитал и т.д.);
- животные после введения психотропных препаратов и препаратов, используемых для общей анестезии и седации.

Препараты

Флаконы, содержащие препарат «Фоспасим» или 0,9% раствор натрия хлорида

(плацебо), были обезличены и пронумерованы случайным образом, после чего было создано два списка с номерами флаконов.

Пациенты случайным образом разделялись на две группы. Животным одной группы вводился препарат из первого списка, животным другой группы – из второго списка. Дозировка раствора составляла 0,1 мл на 1 кг массы животного (не более 4 мл). При проведении исследования и при статистической обработке результатов ни одна из сторон не была информирована, какие флаконы содержали плацебо, а какие – «Фоспасим». Дешифровка флаконов проводилась после статистической обработки результатов.

Критерии оценки

Оценку состояния животных проводили до введения препаратов, через 20 минут и через 40 минут после введения препаратов.

Оценивали следующие признаки:

1. Эмоциональный статус животного по балльной системе RASS (см. табл. 13)
2. Признаки гиперактивности (локомоторная стереотипия)
3. Вокализация
4. Деструктивное поведение

Таблица 13. Шкала RASS (Richmond Agitation Sedation Scale)

+4	Агрессия: явная агрессия, непосредственная угроза для персонала (попытки укусить)
+3	Сильное возбуждение: тянет или снимает катетеры, или проявляет агрессивное поведение по отношению к сотрудникам
+2	Возбуждение: частые бесцельные движения (локомоторная стереотипия) и/или дыхание учащенное, аритмичное
+1	Беспокойство, тревожность: признаки тревоги, настороженность, страх, но нет проявлений агрессии, двигательная активность умеренная
0	Животное активно, спокойно, адекватно реагирует на внешние стимулы

Статистическая обработка

Статистическая обработка данных проводилась с использованием t-критерия Стьюдента и точного критерия Фишера (программа для статистической обработки данных Prism 3.0.). После окончания статистического анализа проводили дешифровку (какие флаконы содержали препарат «Фоспасим», а какие – 0,9% раствор натрия хлорида (плацебо)).

Результаты

Всего для исследования было отобрано 50 собак в возрасте 8 месяцев - 12 лет следующих пород: пудель, йоркширский терьер (13), немецкая овчарка (3), той-терьер (5), мопс (2), стафордширский терьер, чихуахуа (5), такса, болонка, ши-тцу, французский бульдог (2), цвергшнауцер (2), английский бульдог, шпиц, сеттер, джек-рассел-терьер, лабрадор, кокер-спаниель, метис (7).

В опытной группе (препарат «Фоспасим») оказалось 23 животных, в контрольной группе (плацебо) – 27 животных.

1. Эмоциональный статус

В результате проведенного исследования был выявлен достоверный анксиолитический эффект препарата Фоспасим (см. табл. 2). До введения препаратов у всех собак отмечали признаки возбуждения и беспокойства. К концу периода наблюдений данные признаки были менее выражены у животных обеих групп. Однако интенсивность эмоциональной реакции собак опытной группы была достоверно ниже по сравнению с контролем: 0,3 балла (n=23, группа Фоспасим) против 1,04 балла (n=27, группа Плацебо) ($p < 0,05$ t-критерий Стьюдента).

Таблица 14. Влияние препарата «Фоспасим» на эмоциональный статус животных

Группы животных	Кол-во животных в группе	Эмоциональный статус (в баллах)		
		до	Через 15-20 мин	Через 30-40 мин
Контроль	23	1,82 ± 0,16	1,37 ± 0,17°	1,04 ± 0,22 ⁺⁺
Фоспасим	27	1,65 ± 0,16	0,96 ± 0,17 ^{*,**}	0,30 ± 0,13 ^{***,+++}

*Достоверность различий определялась с помощью t-критерия Стьюдента: по сравнению с контролем - # $p < 0,1$; ** $p < 0,01$ по сравнению с началом опыта - o $p < 0,1$; ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$*

Изменения в эмоциональном состоянии отмечали у животных обеих групп, но степень его снижения по шкале RASS была различной. Снижение от 2 баллов и выше прослеживались у 26% собак в группе Фоспасим и у 11% в группе Плацебо.

Состояние не изменилось у 10 животных в контрольной группе (37%) и у одного в опытной (4,3%, метис) (таблица 15).

Таблица 15. Степень снижения возбуждения (в баллах) за время наблюдения

Группы животных	Степень снижения возбуждения			
	0 баллов	На 1 балл	На 2 балла	На 3 балла
Контроль	37%	52%	11%	0%

К концу наблюдения признаки беспокойства отсутствовали у 65,2% животных (15 собак) в опытной группе и только у 29,6% (8 собак) в контрольной группе. Поведение этих животных было адекватным и оценивалось как 0 баллов по шкале RASS.

2. Локомоторная стереотипия

Локомоторная стереотипия характеризуется устойчивым бесцельным повторением движений (ходьба по клетке, переминание с лапы на лапу, кручение на месте и др.) и особенно ярко проявляется в стрессовой ситуации.

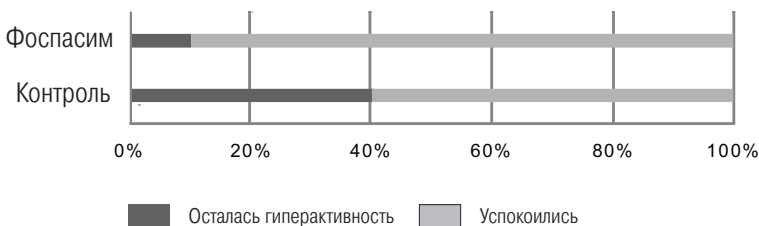
На начало наблюдений (до применения препаратов) признак присутствовал у 20 собак (по 10 в опытной и контрольной группах).

Через 40 мин после введения препаратов признак сохранялся в опытной группе у 1 собаки (той-терьер), в контрольной группе - у 6 собак (йоркширский терьер (4), молпс, англ. бульдог).

Различие между группами составило 50% и было статистически достоверным ($p < 0,05$, точный критерий Фишера, график 1).

График 1.

Влияние препарата «Фоспасим» на гиперактивность собак



3. Вокализация

До применения препаратов признак присутствовал у 27 собак (14 в опытной группе, 13 в контрольной группе).

Через 40 мин после введения препаратов признак сохранялся в опытной группе у 3 собак (метис, йоркширский терьер, той-терьер), в контрольной группе - у 5 собак (молпс (2), метис, такса, йоркширский терьер).

Различие между группами составило 17,1% и было статистически недостоверным ($p > 0,05$, точный критерий Фишера).

4. Деструктивное поведение

До применения препаратов признак присутствовал у 9 собак (3 в опытной группе, 6 в контрольной группе).

Через 40 мин после введения препаратов признак сохраняется в опытной группе у 1 собаки (чихуахуа), в контрольной группе - у 2 собак (йоркширский терьер, цвергшнауцер).

В связи с малым числом животных провести статистический анализ не представляется возможным.

Выводы

Проведенное двойное слепое плацебо-контролируемое рандомизированное исследование показало, что препарат «Фоспасим» обладает выраженными анксиолитическими свойствами.

Показано, что препарат «Фоспасим» достоверно по сравнению с плацебо препятствует развитию гиперкинезов, стереотипных движений, повышенной эмоциональной реактивности. На такие признаки тревоги как вокализация и деструктивное поведение препарат не оказал достоверного влияния.

Породной чувствительности к препарату в ходе исследования выявлено не было.

Таким образом, препарат «Фоспасим» можно рекомендовать для применения с целью коррекции эмоционально-психологического состояния животных в стрессовой ситуации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные исследования в области фармакологии показывают, что биологически активные вещества в маленьких концентрациях могут вызывать значимый физиологический ответ организма (наиболее изученные концентрации – от 1×10^{-4} г/л до 1×10^{-20} г/л). В этом же диапазоне содержатся и компоненты в Фоспасиме. Такие количества принято называть сверхмалыми дозами.

Наши собственные исследования, включающие арбитражные методы скринингового исследования биологически активных субстанций в системах *in vitro* и *in vivo* (изолированные клетки, культуры клеток, лабораторные животные и др.), подтверждают активность препаратов, содержащих сверхмалые дозы БАВ.

- Поэтому у нас есть основания утверждать:
- мы знаем, что и в каком количестве содержится в наших препаратах
- мы знаем, ЧТО именно работает в наших препаратах
- мы знаем, КАК именно работают наши препараты

И мы готовы делиться с вами всем, что знаем.

Мы также понимаем, что организация качественного клинического исследования – это колоссальная работа, в которой участвуют как минимум две стороны. И, если вы хотите работать с качественными препаратами, имеющими высокий уровень доказательности, давайте вместе идти к этому. Пользуясь случаем, мы хотим призвать вас, уважаемые коллеги, к сотрудничеству. Во всём мире участие ветеринарных врачей и клиник в клинических исследованиях считается престижным и является необходимой составляющей современной ветеринарной медицины.

Пора переходить от слов к действию. Вместе, объединяя наши возможности, мы сможем проводить даже мультицентровые исследования по протоколу и в соответствии с современными требованиями доказательной медицины, повышая уровень российской ветеринарии.