ООО «АлексАнн», Группа компаний Хелвет

Кафорсен

Сборник

Оглавление

1. Токсикологические исследования *in vivo*……..2

2. Исследование влияния препарата Кафорсен на показатели пролиферативной активности клеток и его цитопротекторного действия……3

3. Доклиническое изучение действия препарата Кафорсен на процессы репаративного остеогенеза у кроликов……..…...4

4. Стимуляция остеорегенерации у собак с применением препарата Кафорсен……11

5. Клинические испытания препарата Кафорсен при лечении собак и кошек с диагнозом артрит и артроз……12

6. Клиническое испытание препарата Кафорсен для лечения заболеваний минерального обмена веществ у собак……...14

7. Использование препарата Кафорсен в комплексной терапии коров во второй половине стельности при нарушении минерального обмена……..16

8. Отзыв о применении препарата Кафорсен для профилактики эклампсии у маленьких собак……17

9. Применение препарата Кафорсен в терапии лошадей…….

1. Токсикологические исследования *in vivo*

(кафедра внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства ФГОУ ВПО Костромская ГСХА, в условиях хозяйств Костромского района и г. Костромы)

На собаках

Острая токсичность препарата была изучена на 40 собаках (вес 7-12 кг) в возрасте до двух лет. При введении Кафорсена внутримышечно, однократно в дозах - 1; 2; 5; 10 мл в течение 7 суток у животных токсического эффекта не наблюдалось.

Субхроническая токсичность препарата была изучена на 30 собаках (вес 7-12 кг) в возрасте до двух лет. При введении Кафорсена внутримышечно в дозах 1; 5 мл ежедневно в течение 30 суток у животных отсутствовали признаки токсического воздействия.

Было установлено, что введение Кафорсена вызывает изменения морфо-биохимических показателей крови в пределах физиологических норм. Ориентировочная терапевтическая доза (1мл) вызывала большие изменения, чем 5-кратная терапевтическая (5мл). Было отмечено:

- увеличение количества лейкоцитов, эритроцитов, содержание гемоглобина, снижение СОЭ;
- увеличение содержания кальция, фосфора, калия, хлоридов;
- уменьшение содержания билирубина.

Содежание АСТ при применении Кафорсена в терапевтической дозе уменьшилось на 7,7 Ед/л, а в 5-кратной терапевтической дозе- увеличилось на 2,23 Ед/л.

При введении 1мл и 5 мл Кафорсена было зарегистрировано увеличение содержания креатинина, мочевины, глюкозы, АЛТ (в этом случае доза 5 мл вызвала больший эффект).

На КРС

Острая токсичность Кафорсена была изучена на 75 клинически здоровых телятах Костромской породы 2-3 месячного возраста. При введении Кафорсена внутримышечно однократно в дозах 1,0; 3,0; 5,0; 10,0; 20 мл в течение 10 суток у животных токсического эффекта не наблюдалось.

Субхроническая токсичность Кафорсена была изучена на 30 клинически здоровых телятах костромской породы 2-3 месячного возраста.

Введение Кафорсена внутримышечно в дозах 3,0; 9,0 мл дважды в сутки в течение 30 дней вызывает:

- увеличение количества лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, глобулинов,
- увеличение содержания калия, кальция, фосфора и уменьшение содержания хлоридов,
- увеличение количества креатинина, глюкозы и уменьшение содержания билирубина, АСТ и АЛТ.

Наибольший эффект отмечен при введении 9мл.

При введении 3 мл содержание мочевины увеличилось, при введении 9 мл – уменьшилось.

Все изменения в пределах физиологической нормы.

Результаты анализа мочи в опытных группах идентичны показателям в контрольной группе телят.

2. Исследование влияния препарата Кафорсен на показатели пролиферативной активности клеток и его цитопротекторного действия

Работа выполнена на базе Института цитологии РАН, г. Санкт-Петербург.

Материалы и методы

Для проведения исследований была получена культура мезенхимных стволовых клеток жировой ткани условно здоровой четырехлетней собаки породы лабрадор (**ASCs-dog1**).

Культуру клеток выделяли в ходе стандартной процедуры, включающей гомогенизацию, ферментативную обработку, центрифугирование, отмывку и высевание на культуральные флаконы. Клетки культивировали в CO_2 инкубаторе при 37° С, в атмосфере 5% CO_2 и повышенной влажности. **ASCs-dog1** была исследована на предмет подтверждения ее стволовой природы. Методом RT-PCR выявлена экспрессия маркеров стволовых клеток *OKT4, NANOG и SOX2*. Исследования влияния Кафорсена на показатели жизнеспособности и пролиферативной активности клеток проводили с использованием МТТ теста. МТТ – это тетразоловый краситель, который под воздействием ферментов митохондрий приобретает синюю окраску. Только клетки с живыми митохондриями могут осуществлять эту реакцию, следовательно, интенсивность окраски прямо связана со степенью неповрежденности митохондрий.

Окислительные повреждения индуцировали с помощью добавления в культуральную среду перекиси водорода в концентрации 100 мМ.

Препарат был добавлен в полную культуральную среду в различных дозировках из расчета на 1 л среды (10, 5, 1, 0,5, 0,1 мл/л).

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента ($p<0,05$).

Результаты

Исследование модулирующего действия препарата Кафорсен на культуру клеток **ASCs-dog1** в условиях in vitro показало, что он оказывает статистически достоверное стимулирующее пролиферацию воздействие (рис.1). Также продемонстрировано отсутствие цитотоксичности в случае использования больших доз препарата Кафорсен.

Рис.1 Влияние препарата Кафорсен на пролиферативную активность мезенхимных стволовых клеток (на графике цифры на оси абсцисс обозначают концентрацию препарата в среде мл/л). *отличия от контроля являются статистически достоверными при использовании дозировки 5 мл/л среды ($p<0,05$).

Поскольку воспалительный процесс, развивающийся сразу после повреждения, является одной из причин изменения морфо-функциональных характеристик мезенхимальных клеток, регулирующих процессы репарации ткани, оценка протекторного действия препарата Кафорсен в условиях окислительного стресса представляла значительный интерес. При индукции окислительных повреждений была продемонстрирована эффективность препарата. В контроле окислительные повреждения вызывают возрастание апоптоза в исследуемых клетках, и соответствующее снижение количества жизнеспособных клеток, связывающих МТТ субстрат. Присутствие в среде

Кафорсена приводило к увеличению доли жизнеспособных мезенхимных стволовых клеток (рис.2).

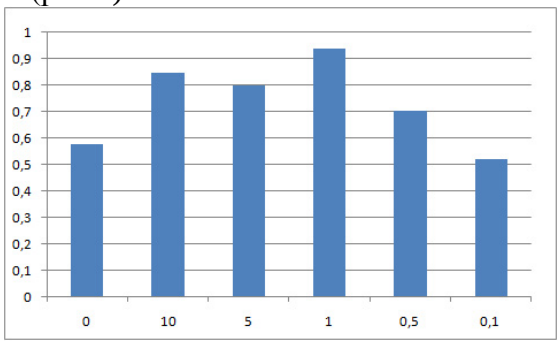


Рис. 2. Протекторное действие препарата Кафорсен в условиях окислительного стресса. (на графике цифры на оси абсцисс обозначают концентрацию препарата в среде мл/л). *отличия от контроля являются статистически достоверными при использовании дозировки 1 мл/л среды (p<0,05).

Заключение.

Общим выводом проведенных исследований является подтвержденная in vitro безопасность препарата Кафорсен, а также достоверное модулирующее воздействие на культуру мезенхимных стволовых клеток жировой ткани собаки. Исходя из данных о роли мезенхимных стволовых клеток в процессах регенерации в организме, можно предположить, что использование препарата Кафорсен в различных терапевтических схемах может стимулировать процессы физиологической и репаративной регенерации.

3. Доклиническое изучение действия препарата Кафорсен на процессы репаративного остеогенеза у кроликов.

Работа выполнена на базе Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова авторским коллективом: д.в.н. Анников В.В.; к.в.н. Фролов В.В.; Карпова А.И.

Материалы и методы.

Объектом исследования являлись кролики. По принципу аналогов были сформированы 2 группы: опытная и контрольная, по 5 голов в каждой. Всем животным был смоделирован флексионный перелом костей голени (под общей анестезией), через двое суток установлены аппараты внешней стержневой фиксации. Кроликам обеих групп проводили превентивную антибиотикотерапию цефазолином в дозе 20 тыс. ед./кг массы тела 2 раза в день в течение 7 дней и санацию остеофиксаторов 3 % раствором перекиси водорода. Кроме того, животным опытной группы вводили Кафорсен по 1 мл внутримышечно 10 дней, начиная с третьих суток после выполнения остеосинтеза.

Оценку эффективности влияния препарата Кафорсен на процессы остеорепарации осуществляли на основании сравнительного анализа следующих данных:

1. Результаты клинико-рентгенологических исследований
2. Результаты оценки качества минерализации костной ткани (степень минерализации костной ткани и коэффициент окостенения).
3. Результаты гистологических исследований костного регенерата

Клиническое наблюдение за животными осуществляли в течение месяца после остеоклазии.

Биохимические исследования крови проводили на 1, 3, 10, 14, и 30 сутки после установки аппарата внешней фиксации (уровень кальция, фосфора, магния, общего белка, АСТ, АЛТ, ГГТ, ЩФ, общего билирубина, холестерола, креатинина). С целью выявления возможности развития холестатического, цитолитического, воспалительного синдромов печени оценивали изменение активности печеночных трансфераз, уровня билирубина и

холестерола. Уровень креатинина рассматривался дополнительно для контроля функционального состояния почек.

Рентгенографию проводили через 1, 14 и 30 суток после остеосинтеза.

Гистологические исследования костного регенерата проводили на 30 сутки после остеосинтеза.

Оценку качества минерализации костной ткани осуществляли путем определения ее оптической плотности на 14 и 30 сутки после остеоклазии (у 4 животных из каждой группы). Для этого был использован программно-цифровой способ оценки качества минерализации костной ткани у животных, разработанный Анниковым В.В. и Хапровой Т.С. (патент № 2376928 от 29 декабря 2009 г.). Оценку оптической плотности каждого участка проводили трижды по каждой рентгенограмме и рассчитывали среднее арифметическое значение. Затем вычисляли средний показатель по группе для 14 и 30 суток.

Для определения степени минерализации формирующейся костной мозоли проводили компьютерную обработку рентгенограмм с помощью программы обработки фотоизображений Adobe Photoshop, функции Histogram. Вычисляли яркость одинаковых участков кортикального слоя и губчатого вещества в области формирования регенерата, а так же мягких тканей в непосредственной близости с ними. Расчет проводили по следующим формулам:

1) вычисление степени минерализации кортикального слоя и губчатого вещества:

$$a = \frac{Ax_1 - Ax_0}{A_1 - A_0},$$

где A_o – яркость участка мягких тканей в непосредственной близости от кортикального слоя на 1 сутки после остеоклазии,

A_1 – яркость участка кортикального слоя либо губчатого вещества места перелома на 1 сутки после остеоклазии,

A_{Xo} – яркость участка мягких тканей в непосредственной близости от кортикального слоя на 14 (30) сутки после остеоклазии,

A_{X1} - яркость участка кортикального слоя либо губчатого вещества места перелома на 14 (30) сутки после остеоклазии.

2) расчет коэффициента окостенения

Для этого берутся одинаковые участки кортикального слоя и губчатого вещества на 2 см выше места перелома, а так же участок зоны роста. После чего рассчитывается степень минерализации данных участков по вышеприведенной формуле.

Коэффициент окостенения рассчитывается по формуле:

$$\lambda = \frac{a + b + c}{3},$$

где a – степень минерализации кортикального слоя,

b – степень минерализации губчатого вещества,

c – степень минерализации зоны роста.

Результаты.

<u>Клиническое обследование</u> животных в первые дни после операции не выявило значимых отличий в состоянии животных обеих групп. При локальном обследовании зоны повреждения через сутки после операции отмечалась ярко выраженная воспалительная реакция в зоне «фиксатор-кость»: отечность и гиперемия мягких тканей, их болезненность при пальпации.

К пятым суткам после операции у животных опытной группы не наблюдалось признаков воспаления мягких тканей, тогда как в контрольной группе сохранялась небольшая отечность, слабая гиперемия и незначительная экссудация из-под

остеофиксаторов. Признаки локальной воспалительной реакции у животных контрольной группы исчезли на 7-10 день после операции.

Дальнейшие клинические наблюдения не выявили видимых значимых отличий между животными обеих групп.

При проведении **биохимического исследования крови** животных были получены следующие результаты (таб. 1).

Из данных таблицы видно, что в первые сутки после перелома отмечалось повышение уровня щелочной фосфатазы, кальция и фосфора у животных обеих групп. Дальнейшие изменения биохимической картины крови животных опытной и контрольной групп имели некоторые различия.

В частности, уровень общего кальция и фосфора в опытной группе быстрее достиг уровня нормальных значений по сравнению с контрольной группой (кальций на 10 сутки в опытной группе 2,4±0,1 ммоль/л против 3,1±0,1 ммоль/л в контрольной; фосфор на 14 сутки 1,8±0,9 ммоль/л против 2,1±1,5 ммоль/л соответственно).

Нормализация уровня щелочной фосфатазы у кроликов опытной групп также шла активнее, что говорит о снижении деструктивных процессов: через 14 суток - 734,6±1,7 U/L против 802,8±20,9 U/L в контроле и на 30 сутки 536,2±20,4 U/L против 718,6±17,5 U/L в контроле.

Согласно полученным данным через сутки после операции (трое суток после экспериментальной остеоклазии) отмечалось повышение лишь уровня АЛТ при нормальном значении АСТ. Повышение уровня АЛТ связано, очевидно, с негативным влиянием продуктов воспаления, образующихся в месте перелома. В ходе дальнейшего лечения уровень печеночных трансфераз в обеих группах изменялся одинаково. Данная динамика позволяет судить об отсутствии гепатотоксичности у препарата Кафорсен. Колебание уровня креатинина в пределах референтных величин у животных опытной группы (50,3±1,4 мкмоль/л в первые сутки и 43,7±0,9 мкмоль/л через месяц) может свидетельствовать об отсутствии нефротоксичности у Кафорсена.

Таблица 1

Динамика биохимических показателей крови кроликов.

Показатели	Норма	Опытная группа (M±m)					Контрольная группа (M±m)				
		1 сутки	3 сутки	10 сутки	14 сутки	30 сутки	1 сутки	3 сутки	10 сутки	14 сутки	30 сутки
Билирубин, мкмоль/л	0,1-8,7	3,0±0,11**	2,95±0,08***	2,4±0,07	2,1±0,11	1,6±0,07	3,5±0,04	3,6±0,11	2,4±0,1	2,1±0,15	1,7±0,13
Щелочная фосфатаза, U/L	100-700	933,3±2,94	857,9±49,3*	790,1±14,3	734,6±11,3*	536,2±20,4***	1071,5±76,4	987,2±13,8	836,4±43,3	802,8±20,9	718,6±17,5
АЛТ, U/L	7,0-48,0	88,1±2,6	82,7±2,52	47,2±0,73***	45,3±0,48***	42,3±0,57***	85,1±1,82	85,1±1,85	60,1±0,78	55,2±0,62	49,6±0,6
АСТ, U/L	6,0-43,5	40,7±12,5	39,9±1,13	31,0±1,01***	30,6±0,91***	30,4±0,72***	45,5±14,42	43,2±1,17	41,4±0,74	41,3±1,18	40,2±0,88
ГГТ, U/L	1,0-10,0	10,7±0,59***	6,65±0,41	4,3±0,27**	4,1±0,19*	3,9±0,25	7,2±0,16	6,8±0,38	3,1±0,27	3,1±0,32	4,1±0,17
Холесте-рол, ммоль/л	1,8-5,3	1,8±0,11	1,8±0,14	1,8±0,1***	1,8±0,13***	1,8±0,1***	2,0±0,1	1,9±0,14	1,9±0,09	1,9±0,13	1,8±0,08
Креатинин,	40,2-	50,3±	52,3±	48,7±	44,1±	43,7±	92,1±	84,3±	75,9±	49,8±	45,3±

мкмоль/л	116,3	1,4***	1,8	0,3*	1,6*	0,9**	0,8	1,6	3,0	0,6	0,4
Общ. белок, U/L	60-82	89,5± 0,59	78,1± 0,24 ***	77,6± 0,36	71,3± 0,39***	70,9± 0,35 ***	90,4± 0,61	86,8± 0,41	77,7± 0,28	76,3± 0,3	74,2± 0,39
Ca, ммоль/л	2,12-2,68	2,95± 0,01 ***	3,1± 0,15*	2,4± 0,07 ***	2,3± 0,07 ***	2,4± 0,06 **	2,3± 0,07	3,6± 0,07	3,1± 0,07	2,8± 0,07	2,7± 0,06
P, ммоль/л	0,81-1,13	2,6± 0,07	2,7± 0,07	2,4± 0,07	1,8± 0,07*	1,2± 0,07 **	2,8± 0,07	2,5± 0,07	2,4± 0,06	2,1± 0,4	1,6± 0,07
Mg, ммоль/л	0,82-1,56	1,1± 0,07	1,6± 0,04	1,6± 0,07	1,6± 0,04	1,6± 0,04	1,2± 0,07	1,7± 0,07	1,8± 0,07	1,7± 0,07	1,7± 0,04

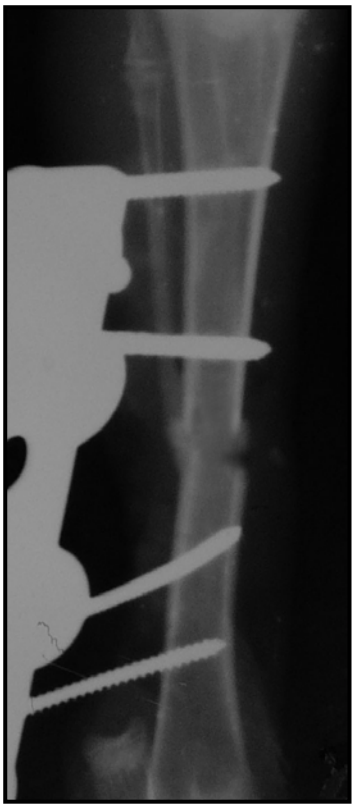
*** - p ≤ 0,05; ** - p ≤ 0,01; *** - p ≤ 0,001**

<u>Данные рентгенологического исследования.</u>

На рентгенограммах, выполненных через 14 суток после установки аппарата внешней фиксации, у животных опытной группы отчетливо просматривалась характерная для данного периода картина формирования костной мозоли: незначительная размытая тень в зоне проксимального и дистального отломков большеберцовой кости с сохранением полосы диастаза в месте перелома, отсутствие периостальной реакции (рис. 3а). На рентгенограммах кроликов контрольной группы к этому сроку обнаруживали размытую тень в зоне нарушения целостности большеберцовой кости, при сохранении полосы диастаза в месте перелома и незначительную периостальную реакцию (рис. 3б).

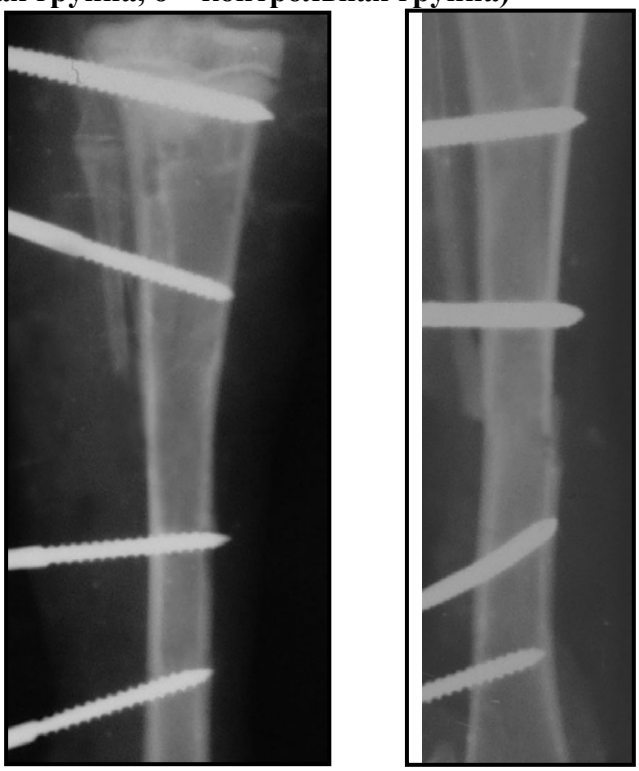
На снимках животных опытной группы через 30 суток после остеосинтеза была отчетливо видна однородно сформированная костная мозоль, место перелома не визуализировалось (рис. 4а). У животных контрольной группы к этому сроку костная мозоль была в завершающей стадии формирования: наблюдалось прерывание кортикальной пластинки, визуализировалась зона нарушения костной ткани (регенерат отличался по плотности от прилежащих отделов кости, рис. 4б).

А)



Б)

Рис. 3. Рентгенограммы кроликов, выполненные через 14 суток после остеосинтеза (а – опытная группа, б – контрольная группа)



А) Б)

Рис. 4. Рентгенограммы кроликов через 30 суток после остеосинтеза (а – опытная группа, б – контрольная группа)

Результаты оценки степени минерализации костного регенерата.

Оценка качества минерализации костной ткани и коэффициента окостенения выявила существенные различия между показателями опытной и контрольной групп. Полученные данные представлены в таблицах 2 и 3.

Данные, представленные в таблицах, демонстрируют, что на 14 и 30 сутки степень минерализации костной ткани в зоне дефекта в опытной группе была выше, чем в контрольной (как в кортикальном слое, так и в губчатом веществе). В контрольной группе наблюдалось снижение степени минерализации в губчатом веществе со временем, что говорит о незавершенности остеорепарации в зоне дефекта.

Таблица 2

Степень минерализации костной ткани в зоне перелома большеберцовой кости кроликов

Сроки исследования	Кортикальный слой		Губчатое вещество	
	опыт	контроль	опыт	контроль
14 суток	0,63	0,56	0,97	0,79
30 суток	1,62	0,72	1,60	0,49

Таблица 3

Коэффициент минерализации и коэффициент окостенения большеберцовой кости кроликов

Сроки исследования	Коэффициент минерализации различных зон выше перелома	Коэффициент окостенения

	Зона роста		Кортикальный слой		Губчатое вещество			
	опыт	контр	опыт	контр	опыт	контр	опыт	контр
14 суток	0,70	0,24	0,58	0,87	1,12	1,02	0,80	0,71
30 суток	0,49	0,11	1,13	0,80	1,67	0,60	1,10	0,50

Коэффициент окостенения большеберцовой кости в опытной группе также был выше, чем в контрольной. Следует отметить, что в опытной группе коэффициент окостенения к 30 суткам был более чем в 2 раза выше, чем в контрольной и превзошел начальный уровень (до операции). В контрольной группе наблюдалось снижение как степени минерализации во всех отделах кости, так и коэффициента окостенения.

Результаты гистологического исследования.

Исследования костного регенерата проводили на 30 сутки. Гистологически костный регенерат у животных опытной группы был представлен молодой компактной и губчатой тканями (рис. 5), местами с сохранившимся желтым костным мозгом, что может свидетельствовать о завершающейся стадии формирования вторичного тканевого регенерата. В ряде гистосрезов под периостом наблюдалось небольшое количество молодой остеогенной ткани (рис. 6).

Костная мозоль у животных контрольной группы представляла собой компактное и губчатое вещество с участками фиброзирования (рис. 7). Наблюдались отдельные очаги разрушения костной ткани с замещением ее фиброзной и грануляционной тканями, иногда с признаками умеренного воспаления (рис. 8). В отдельных гистопрепаратах встречались лакуны, просвет которых либо был свободным (рис. 9), либо заполнен фиброзной тканью. Края лакун были представлены хрящевой и молодой остеогенной тканью. Подобная картина характерна для незавершенного остеогенеза.

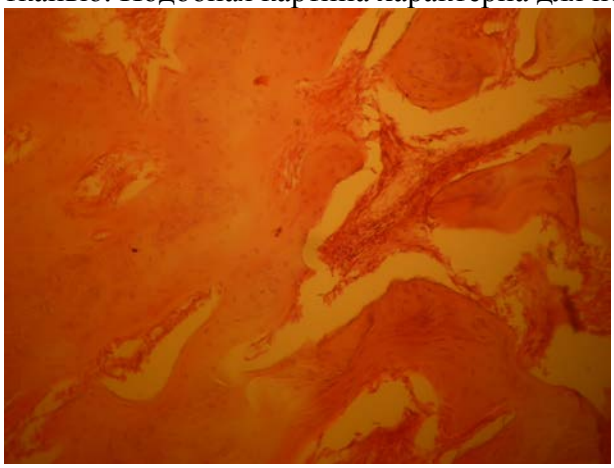


Рис. 5 Гистосрез костного регенерата кролика опытной группы. Компактное и губчатое вещество нормального строения.

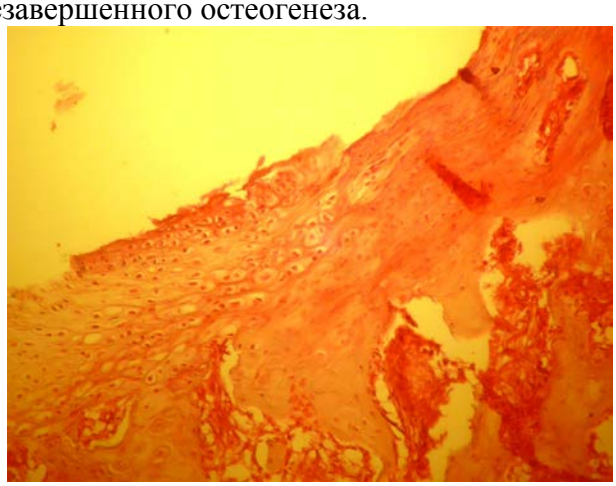


Рис. 6 Гистосрез костного регенерата кролика опытной группы. Участок молодой костной ткани.

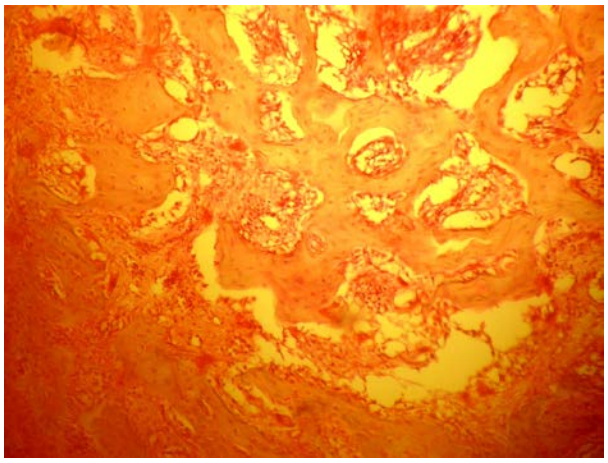


Рис. 7. Гистосрез костного регенерата кролика контрольной группы. Губчатая ткань с участками фиброза. Умеренное воспаление.

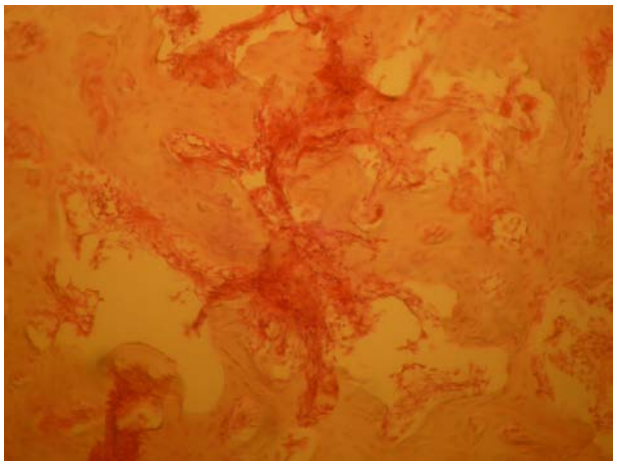


Рис. 8. Гистосрез костного регенерата кролика контрольной группы Участок разрушения.

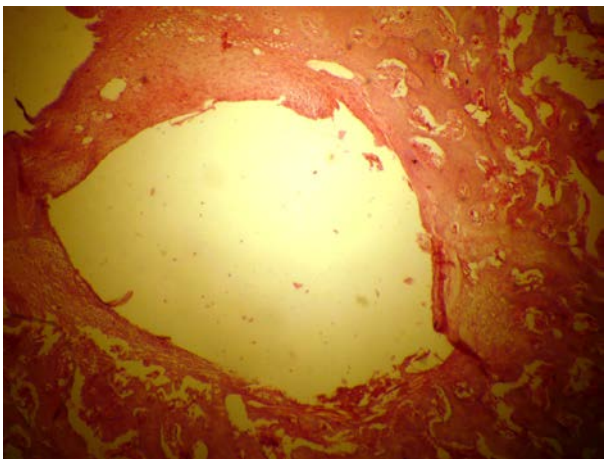


Рис. 9. Гистосрез костного регенерата кролика контрольной группы. Лакуна.

Заключение.

Оценка динамики остеорепарации при переломах трубчатых костей показала, что у животных контрольной группы к 30 суткам костная мозоль еще находилась в стадии формирования, в посттравматический период наблюдалось снижение степени минерализации костной ткани, уменьшение ее плотности. Это является предпосылкой к развитию остеопороза и может привести к повторному перелому кости ниже или выше места перелома.

Процесс формирования костной мозоли под влиянием Кафорсена проходит более интенсивно, о чем свидетельствует повышение степени минерализации различных участков костного регенерата и лучшее формирование костной мозоли. Также применение препарата Кафорсен способствует скорейшей нормализации биохимических показателей крови (общий кальций, фосфор, белок, щелочная фосфатаза, АЛТ).

4. Стимуляция остеорегенерации у собак с применением препарата Кафорсен.

Работа была выполнена на кафедре ветеринарного акушерства и хирургии Кубанского госагроуниверситета и в частной ветеринарной клинике «Доверие» г. Краснодара.

Материалы и методы.

Объектом исследования являлись беспородные собаки в возрасте от 2-х до 5-ти лет обоего пола, отобранные методом случайной выборки. Для проведения исследований по принципу парных аналогов были сформированы 2 группы животных (контрольная и опытная), по 5 особей в каждой группе. В каждой из групп были зарегистрированы травмированные животные с косыми переломами трубчатых костей (по 2 животных с переломом бедренной кости, 2 животных с переломом большеберцовой кости и 1 животному с переломом плечевой кости в каждой группе).

Во время опыта у всех 10 животных остеосинтез выполняли в сочетании с двумя накостными циркулярными проволочными серкляжами, которые имели ограниченный контакт с костной тканью. Операции проводились с соблюдением правил асептики и антисептики.

У всех собак оперативное вмешательство выполняли после внутримышечного введения 2%-ного раствора рометара (в дозе 0,15 – 0,2 мл на 1кг массы тела животного) с 0,25%-ным раствором дроперидола (1 мл в/м). Местно применяли инфильтрационную анестезию в области операции 0,5%-ным раствором новокаина. После операции всем животным вводились внутримышечно следующие препараты: 1%-ный раствор димедрола (3,0 мг/кг массы 1 раз в сутки в течение 4 дней); 50%-ный раствор анальгина (0,03 г/кг массы 1 раз в сутки в течение 4 дней); 30%-ный раствор линкомицина гидрохлорида (10,0 мг/кг массы 1 раз в сутки в течение 7 дней); 5%-ный раствор аскорбиновой кислоты (2,0 мг/кг массы 1 раз в сутки в течение 7 дней); тетравита (0,05 мл/кг массы 1 раз в сутки через 7 дней 5 иньекций); 10%-ный раствор кальция глюконата (2-5 мл/кг массы 1 раз в сутки в течение 10 дней).

Животным опытной группы дополнительно вводили Кафорсен по 0,1 мл/кг внутримышечно один раз в сутки в течение 5 дней, начиная с первых суток после операции.

При проведении эксперимента использовали следующие методы исследования: клинический, рентгенологический, гематологический. Результаты исследований подвергнуты статистическому анализу. Достоверность результатов определялась по параметрическому критерию Стьюдента и непараметрическому критерию Вилкоксона – Манна – Уитни.

Результаты.

Применение в послеоперационный период препарата Кафорсен сокращает срок формирования костной мозоли в среднем на 4 – 5 суток относительно традиционного метода лечения переломов трубчатых костей.

Асептическое воспаление у травмированных животных протекало согласно фазам и стадиям однонаправленно и без каких – либо отклонений. В то же время восстановление нормальных гематологических показателей (количество эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, гемоглобина) происходило на 6 – 7 дней быстрее в опытной группе, чем в контроле.

Показатели минерального обмена (содержание кальция, фосфора, магния, меди, цинка) у животных группы опыта в послеоперационный период колебались в пределах нормы и достигали дооперационных значений в среднем на 28 сутки. В группе контроля содержание микро- и макроэлементов достигало исходных величин только на 45 сутки после операции.

Кроме того, уровень ферментной активности (щелочная фосфатаза, каталаза и супероксиддисмутаза) в периферической крови собак опытной группы восстанавливалась

до исходных значений в среднем на 35 сутки эксперимента. У животных контрольной группы данные показатели достигали уровня исходных данных только к концу наблюдения (180 сутки).

Заключение.

Полученные результаты исследований свидетельствуют о возможности широкого использования Кафорсена при терапии травмированных животных в послеоперационный период, так как ускоряется процесс регенерации костной ткани и реабилитация травмированного животного в целом.

5. Клинические испытания препарата Кафорсен при лечении собак и кошек с диагнозом артрит и артроз.

Работа выполнена на базе Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова авторским коллективом: д.в.н. Анников В.В.; Карпова А.И.; Якимчук Е.А.

Материалы и методы.

Объектом исследования являлись животные: собаки в возрасте от 1 года до 7 лет различных пород, живой массой от 10 до 50 кг, и кошки в возрасте от 2 до 8 лет, живой массой от 2 до 5 кг. Всего было исследовано 25 голов животных с подозрением на артрит и 35 голов - на артроз. Из них у 8 диагноз гонартрит, у 17 – коксартрит, у 9 – гонартроз, 26 – коксартроз.

Для уточнения диагноза проводили аспирацию синовиальной жидкости из пораженного сустава с помощью шприца. Пункцию проводили в боковом положении справа или слева в зависимости от расположения пораженного сустава. Ориентиром служил большой вертел при артропункции тазобедренного сустава, латеральный мыщелок бедренной кости – коленного сустава. Место прокола обрабатывали 96° спиртом. Пункцию проводили в полусогнутом положении сустава. Полученный экссудат стабилизировали добавлением в него нескольких капель гепарина (5000 ЕД/мл).

Биохимическое исследование крови и рентгенографическое исследование пораженных и контралатеральных суставов проводили на момент обращения за ветеринарной помощью, на 12-е и 24-е сутки лечения, а также в отдаленный период наблюдения (60-е и 180-е сутки после окончания курса терапии).

В качестве монотерапии был назначен Кафорсен интраартикулярно один раз в три дня в следующих дозировках: кошки – 0,2-0,3 мл; собаки менее 5 кг – 0,2-0,3 мл; от 5 до 10 кг – 0,3-0,5 мл; от 10 до 25 кг – 0,5-1,0 мл; более 25 кг – 1,0-1,5 мл. Курс терапии зависел от тяжести патологического процесса, составив в среднем от 5 до 8 инъекций. При наличии синовита Кафорсен вводился после предварительной аспирации синовиальной жидкости аналогично методикам, описанным в классических руководствах.

Результаты.

Клинически на момент обращения за ветеринарной помощью у больных животных наблюдали беспокойство при их передвижении, хромоту опирающего типа при активных движениях, беспокойство при пассивных движениях. Кроме того, в подавляющем большинстве случаев – крепитацию, что свидетельствует о болевых ощущениях в области пораженного сустава. При измерении объема движений в суставе отмечали их ограниченность. На рентгенологических снимках, выполненных до проведения курса лечения, были обнаружены неравномерное сужение суставной щели, наличие остеофитов и остеосклероз суставных поверхностей (II рентгенологическая стадия). На 12-е сутки терапии клинически отмечали отсутствие беспокойства и хромоты у животных при передвижении, однако при пассивных движениях еще наблюдалась ограниченность движений. Рентгенологически обнаружили незначительную шероховатость хрящей сустава, уменьшение размеров остеофитов. На рентгенограммах, сделанных на 60-е и 180-е сутки после проведения терапевтических манипуляций, суставной хрящ был ровным, остеосклероз и остеофиты отсутствовали.

Биохимическое исследования крови проводилось на 15 собаках, больных артрозом. Полученные результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4

Динамика некоторых показателей крови собак при артрозе (n=15, p≤0,05).

Показатели	Норма	На момент поступления	На 12 сутки терапии	На 24 сутки терапии	На 60 сутки после терапии	На 180 сутки после терапии
СОЭ, мм/ч	1-5	3±0,03	4±0,17	2±0,25	1±0,23	1± 0,09
Лейкоциты, $x10^3$/мм^3	5,9-11,9	9,4±0,85	13,4±1,87*	9,1±0,76	8,9±0,81	9,2±0,56
Эритроциты, $x10^6$/мм^3	5,6-17,8	6,04±1,13	6,22±1,56	6,88±1,56	6,75±1,32	6,37±0,6
Гематокрит, %	40,4-55,3	39±2,75	38±2,18	40±3,16	43±1,48	40±2,3
С-реактивный белок, мг/л	0,9-1,1	0,9±0,55	1,3±0,32*	0,8±0,49	0,9±0,53	0,9±0,69
Сиаловые кислоты, оптические единицы	0,13-0,14	0,47±0,05	0,51±0,06	0,17±0,04*	0,15±0,04*	0,14±0,07*
Щелочная фосфатаза, U/L	До 75	212,7± 4,26	214,4±5,94	76,8±2,81*	65,3±1,04*	61,6±1,38*
Мочевая кислота, мкмоль/л	9-55	16,9±3,05	21,7±2,54	9,1±0,61*	9,4±0,95*	9,3±1,17*
Глюкоза, ммоль/л	4,3-6,7	5,7±0,68	5,5±0,84	6,2±0,92	5,9±0,81	5,3±0,38

Изменения таких гематологических показателей, как СОЭ, количество эритроцитов и гематокрита не носили ярко выраженной динамики. Количество лейкоцитов и С-реактивного белка повысилось на 14-е сутки, что может свидетельствовать об обострении артроза. Однако эти показатели нормализовались уже на 24-е сутки терапии.

Уровень сиаловых кислот и щелочной фосфатазы на момент обращения и на 14-е сутки лечения был значительно повышен. Увеличение данных показателей наблюдается при дегенеративно-дистрофических процессах в хрящевой ткани сустава. На 24-е сутки терапии их количество достоверно снизилось (0,17 оптических единиц и 76,8 U/L, соответственно), что говорит о восстановлении структуры хряща и нормализации его функций. Это подтверждается и исследованиями крови в отдаленный период (60 и 180 сутки после лечения)

Уровень мочевой кислоты и глюкозы колебался в пределах физиологической нормы, что говорит об отсутствии тенденции к нарушению гомеостаза. Следует отметить, что количество мочевины на 24 сутки лечения достоверно снизилось, что свидетельствует о нормализации обменных процессов в организме.

Также было проведено **исследование синовиальной жидкости** у 15 собак, больных артрозом. Полученные результаты представлены в таблице 5.

Объем синовиальной жидкости изначально составил 0,5 мл. На 12-е сутки терапии объем синовиального выпота увеличился до 0,8 мл, однако затем его количество вновь составило 0,5 мл и значительно не изменялось даже в отдаленный период.

Таблица 5

Динамика показателей синовиальной жидкости собак при артрозе (n=15, p≤0,05).

Показатели	На момент поступления	На 12 сутки терапии	На 24 сутки терапии	На 60 сутки после терапии	На 180 сутки после терапии
Объем, мл	0,5±0,12	0,8±0,12*	0,5±0,06	0,5±0,06	0,4± 0,03
Цвет	Светло-соломенный	Светло-соломенный	Светло-соломенный	Светло-соломенный	Светло-соломенный
Прозрачность	Полупрозрачная	Прозрачная	Прозрачная	Прозрачная	Прозрачная

Вязкость	Высокая	Высокая	Высокая	Высокая	Высокая
Цитоз, $x10^9$/л	0,55±0,22	0,65±0,10	0,57±0,05	0,61±0,15	0,53±0,07
Нейтрофилы, %	0	Менее 20	0	0	0
Уроновые кислоты, ммоль/л	2,84±0,34	1,8±0,29*	1,55±0,16*	1,54±0,13*	1,55±0,21*
Глюкоза, ммоль/л	4,7±0,38	3,1±0,38*	3,6±0,49*	3,9±0,58	4,6±0,79

При первом заборе синовиальной жидкости установили, что она полупрозрачная, светло-соломенного цвета, с высокой вязкостью. Цвет и вязкость на протяжении всего исследования не менялись. На 12-е сутки жидкость стала прозрачной и сохранялась такой и в отдаленный период наблюдений.

Уроновых кислот на момент обращения за ветеринарной помощью содержалось 2,84 ммоль/л, к 12-ти суткам их количество достоверно снизилось до 1,8 ммоль/л, на 24-е сутки – до 1,55 ммоль/л и сохранялось на данном уровне в отдаленный период наблюдения. Количественный показатель глюкозы первоначально составил 4,7 ммоль/л. В период лечения он снизился до 3,1 и 3,6 ммоль/л на 12-е и 24-е сутки соответственно, а в отдаленный период вновь повысился до первоначальных значений. Снижение глюкозы в синовиальной жидкости говорит об активизации воспалительных явлений, а ее положительная динамика – о нормализации обменных процессов.

Терапевтический результат.

Полное восстановление функции пораженных суставов, восстановление амплитуды движений, отсутствие болезненности, хромоты, крепитации при монотерапии Кафорсеном констатировали у 40% из исследованных 25 животных с диагнозом артрит и у 43% из 35 животных с диагнозом артроз при сроке наблюдения 180 суток.

Частичное улучшение морфофункционального состояния суставов диагностировали у 48% животных с диагнозом артрит и у 51,3% с диагнозом артроз.

Полное отсутствие лечебного эффекта от монотерапии Кафорсеном наблюдали при онкологических поражениях костей, формирующих суставы, разрыве передней крестовидной связки, внутрисуставных переломах, остеомиелитах, глубоких стойких поражениях субхондральной кости, значительном количестве суставных мышей, анкилозе суставов. У животных с диагнозом артрит процент таких животных составил 12, с диагнозом артроз – 5,7.

Кроме того, в послеоперационный период Кафорсен в комбинации с антибиотиками включали в схему постоперационной терапии животных по поводу разрыва передней крестовидной связки коленного сустава, перелома вертлужной впадины, внутрисуставных переломов костей коленного сустава. При этом был достигнут хороший терапевтический результат.

6. Клиническое испытание препарата Кафорсен для лечения заболеваний минерального обмена веществ у собак.

Работа проведена под руководством д.б.н. Карпенко Л.Ю. сотрудниками Санкт-Петербургской Ветеринарной Академии на базе благотворительного фонда «Приют для бездомных собак».

Материалы и методы.

Для данного клинического испытания было отобрано 20 беспородных взрослых собак (7-9лет, живой массой от 5 до 40 кг) с признаками метаболических патологий скелета. Животным опытной группы (n=10) препарат Кафорсен вводили подкожно в рекомендованной дозировке 0,1 мл/кг 3 раза в неделю в течение 1 месяца. Собаки, не получавшие в течение эксперимента Кафорсен (n=10) служили контролем.

Для оценки характера костного ремоделирования проводили количественное определение специфических биохимических маркеров. Кровь для исследования брали до начала опыта и через неделю после последней инъекции.

Были исследованы следующие показатели:

Белковые фракции определяли нефелометрическим методом по Оллу и Маккорду. Сиаловые кислоты исследовали по методу Гесса. Гликопротеины исследовали резорциновым методом. Содержание общего белка, неорганического фосфора, калия, общего кальция, общего билирубина, холестерина, мочевины, креатинина в сыворотке крови, активность ферментов амилазы, щелочной фосфатазы, АлТ, АсТ в сыворотке крови при помощи биохимического анализатора Stat Fax по общепринятым методам. Паратгормон определяли радиоиммунным методом. Также был проведен аспириновый тест.

Результаты.

Результаты биохимических исследований отражены в таблице 5.

Достоверных различий в общих биохимических показателях крови между опытной и контрольной группами не наблюдалось, показатели находились в пределах физиологических значений.

Таблица 5

Влияние препарата Кафорсен на минеральный состав и обменные процессы в костной ткани

Показатель	Ед. из.	Контроль (n=10)		Опыт (n=10)		Норма
		До	После	До	После	
Кальций	Ммоль/л	2,02±0,3	2,1±0,35	2,08±0,22	2,71±0,25	2,37-2,99
Фосфор	Ммоль/л	1,6±0,3	1,55±0,25	1,52±0,23	1,96±0,18	1,93-2,26
Щф	МЕ/л	71,3±4,0	69,32±3,52	67,71±5,25	28,48±1,55	8-28
Гликопротеины	Моль/л	9,7±0,9	9,21±1,01	9,5±0,88	7,3±0,65	2,8-3,0
Сиаловые кислоты	Усл.ед	0,16±0,02	0,17±0,02	0,165±0,03	0,152±0,03	0,13-0,14
Аспириновый тест	Ус.ед.	22,51±1,21	21,13±1,05	22,3±0,95	16,25±0,55	14-17,8
Паратгормон	Пмоль/л	16,5±2,1	17,21±3,15	16,66±2,4	11,96±1,62	1-10

Из таблицы 5 видно, что у животных обеих групп на начало опыта был снижен уровень кальция и неорганического фосфора в сыворотке крови, повышена активность щелочной фосфатазы. Увеличение уровня паратгормона, сиаловых кислот, гликопротеинов и аспиринового теста указывали на развитие вторичного гиперпаратиреоза и усиление резорбции костной ткани. После курса препарата Кафорсен у животных опытной группы нормализовался кальций-фосфорный обмен, что проявилось в повышении сывороточного кальция на 23,2%, фосфора – на 22,4%, снижению активности щелочной фосфатазы в 2,3 раза и уровня паратгормона в 1,4 раза. Этому соответствовало и снижение показателей, характеризующих интенсивность резорбтивных процессов в костной ткани: содержание гликопротеинов - в 1,3 раза, сиаловых кислот – на 8,7%, аспиринового теста – в 1,4 раза. Важно отметить, что монотерапия препаратом Кафорсен оказала существенное корректирующее влияние на гормональную регуляцию костного метаболизма: содержание паратгормона приблизилось к уровню физиологической нормы.

Следует отметить, что в ходе проведения эксперимента у ряда животных контрольной группы было зарегистрировано сезонное обострение артрита, что вызвало необходимость применения НПВС. У собак опытной группы при применении препарата Кафорсен подобных обострений зафиксировано не было.

Заключение.

Проведенное исследование свидетельствует о том, что при метаболических заболеваниях скелета на фоне нарушения минерального обмена и развития вторичного гиперпаратиреоза у собак Кафорсен нормализует кальций-фосфорный обмен, снижает уровень паратгормона до нормальных значений, способствует нормализации процессов костного ремоделирования. Препарат Кафорсен может быть рекомендован для

применения в комплексной терапии нарушений минерального обмена, профилактике и лечении метаболических заболеваний костной ткани.

7. Использование препарата Кафорсен в комплексной терапии коров во второй половине стельности при нарушении минерального обмена.

Рязанская обл.

Материалы и методы. Препарат Кафорсен применяли высокопродуктивным коровам голштино-фризской породы 3-4-летнего возраста со среднесуточным удоем 36 л с диагнозом вторичная остеодистрофия (привязное содержание).

Как дополнительное средство в составе комплексной терапии (тетравит 1 раз в месяц по 10 мл и премивит К-3) Кафорсен начинали вводить с 6-го месяца стельности в/м по 5 мл 1 раз в неделю, с 8-го месяца - по 5 мл 2 раза в месяц, за 2 недели до отела прекращали введение.

Результаты. Применение препарата Кафорсен оказывало положительное влияние на течение родового процесса у коров (выраженные схватки и потуги, уменьшение случаев задержания последа (на 25%) и сокращение продолжительности выделения лохий (на 8 дней), способствовало нормализации морфо-биохимических показателей крови (через 3 месяца после отела Ca:P отношение 1,4:1 против 0,8:1 в контроле). Сервис-период коров опытной группы был заметно короче, чем контрольной. (42 дня против 65 дней).

Продемонстрировано положительное влияние применения Кафорсена на физиологическое состояние полученного потомства. В опытной группе телята были более активны, быстрее росли и развивались:

- прирост живой массы за 1-ый месяц жизни составил 0,76 кг против 0,45 кг в контроле,
- большая часть животных (90% против 50% в контроле) к 1-1,5 месячному возрасту не имела признаков нарушения минерального обмена (рахит, утолщение и контрактура суставов),
- содержание эритроцитов, гемоглобина, показатель гематокрита в крови телят опытной группы были выше, чем в контрольной, а количество лейкоцитов меньше; при этом все показатели находились в пределах физиологических норм.
- нормализация минерального обмена (Ca:P отношение у телят опытной группы 1,4:1, у контрольной 1,01:1),
- уменьшение заболеваемости диспепсией.

Заключение. Данный препарат можно рекомендовать для применения в составе комплексной терапии при нарушении минерального обмена.

8. Отзыв о применении препарата Кафорсен для профилактики эклампсии у маленьких собак.

Заводчик русских той-терьеров и йоркширских терьеров Шевченко З.В.

	Зита, 4 г русский той	Сильва, 4 г, русский той	Лиза, 7 лет, русский той	Фея, 1,7 г, русский той	Клеопатра, 4г, йоркширский терьер	Галька, 3г, йоркширский терьер	Ляля, 2г, йоркширский терьер
Беременность	вторая	вторая	четвертая	первая	третья	вторая	первая
Курс применения Кафорсена	Кафорсен по 0,5 мл подкожно 1 раз в день, начиная со второй недели после родов до окончания лактации					Кафорсен по 1 таблетке 1 раз в день, начиная со второй недели после родов до окончания лактации	
Эклампсия в предыдущие беременности	да	да	всегда	-	всегда	да	-
Эклампсия после курса препаратов	да	нет	нет	нет	нет	нет	нет

9. Применение препарата Кафорсен в терапии лошадей

Работа проведена под руководством к.в.н. Пановой Н.Е сотрудниками Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока.

Работа проводилась на 22 лошадях с диагностированными патологиями опорно-двигательного аппарата, включая костные разрастания различных типов и локализаций, патологии сухожилий, суставов и копыт.

В данном эксперименте применение Кафорсена на скаковых лошадях привело к следующим результатам:

1. Нормализуется содержание магния в сыворотке всех лошадей, независимо от нозологии
2 .Повышается содержание фосфора в сыворотке
3. Не влияет на содержание кальция в сыворотке лошадей с физиологической нормальным уровнем Са.
4. Нормализуется соотношение Са/Р.
5.У лошадей с костными разрастаниями приводит к повышению активности щелочной фосфатазы, что может свидетельствовать о связанной с репарационными механизмами в костной ткани активации остеобластов.
6. Не влияет на содержание белка в плазме крови.