

ЭКВИТОКСИЧНОСТЬ ЦИСПЛАТИНА-РОНЦ® И ЦИСПЛАТИНА-ТЕВА ПРИ ОДНОКРАТНОМ ВВЕДЕНИИ МЫШАМ И КРЫСАМ

В.М. Бухман, Н.П. Ермакова, О.И. Коняева, Н.Ю. Кульбачевская, А.А. Сергеев, В.А. Чалей
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24

Контакты: Владимир Михайлович Бухман bukhman@mail.ru

Введение. Разработка качественной отечественной воспроизведенной лекарственной формы цисплатина необходима для улучшения условий терапии онкологических пациентов.

Цель исследования — проведение сравнительного доклинического исследования острой токсичности недавно разработанной в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России воспроизведенной лекарственной формы Цисплатин-РОНЦ® с коммерческим препаратом Цисплатин-Тева.

Материалы и методы. Использованы стандартные методы оценки острой токсичности препаратов на мелких лабораторных грызунах.

Результаты. Острая токсичность сравниваемых форм цисплатина существенно не различается по влиянию на выживаемость и изменение массы тела подопытных животных.

Вывод. Сравнимые воспроизведенный и коммерческий препараты цисплатина практически эквитоксичны при однократном внутривенном введении мышам и крысам.

Ключевые слова: цисплатин воспроизведенный, цисплатин коммерческий, доклиническая токсичность, мелкие лабораторные грызуны

DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-3-65-69

EQUITOXICITY CISPLATIN-RONC® AND CISPLATIN-TEVA AT A SINGLE INJECTION TO MICE AND RATS

V.M. Bukhman, N.P. Ermakova, O.I. Konyaeva, N.Yu. Kulbachevskaya, A.A. Sergeev, V.A. Chaley
N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse,
Moscow 115478, Russia

Introduction. The development of high-quality domestic reproduced dosage form of cisplatin is necessary to improve the treatment conditions of cancer patients.

Purpose of research. Comparative preclinical study of acute toxicity of newly developed in SIC Oncology reproduced dosage form Cisplatin-RONC® with commercial preparation Cisplatin-Teva.

Materials and methods. The standard methods of estimation of acute toxicity of preparations on small laboratory rodents are used.

Results. Acute toxicity of the compared forms of cisplatin is not significantly different from the effect on the survival and body weight of experimental animals.

Summary. Compared generic and commercial formulations cisplatin almost equitoxic after a single intravenous administration to mice and rats.

Key words: generic cisplatin, cisplatin commercial, preclinical toxicity, small laboratory rodents

Введение

В 2015 г. исполнилось 50 лет с того времени, когда была продемонстрирована высокая противоопухолевая эффективность цисплатина (ЦП) [1]. Цисплатин — алкилирующий агент, нарушающий синтез и транскрипцию дезоксирибонуклеиновой кислоты, продолжает оставаться одним из основных противоопухолевых препаратов, широко применяемых для лечения онкологических пациентов с солидными

опухолями. С помощью химиотерапевтических комбинаций, основным препаратом которых является ЦП, удается излечивать пациентов с раком яичек. Такие комбинации активны в отношении гинекологического рака, рака желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, головы и шеи, легких, а также других злокачественных заболеваний [2, 3]. При применении ЦП возникают многочисленные токсические и побочные эффекты [1, 2].

Привлекательным представляется применение дженериков. Их производство постоянно растет во всем мире, прежде всего из-за экономической эффективности. Однако необходимо проведение исследований с целью обеспечения биоэквивалентности с исходным лекарством [4]. Вместе с тем дженериковые лекарственные формы могут не полностью соответствовать брендовым формам, несколько отличаясь по проявлениям биологической активности [5, 6].

Разработка качественной отечественной воспроизведенной лекарственной формы ЦП необходима для улучшения условий терапии онкологических пациентов [7]. Одним из условий регистрации воспроизведенных лекарств является демонстрация на лабораторных животных их эквитоксичности с разрешенным для применения на территории Российской Федерации коммерческим препаратом.

Далее приведены основные данные по эквитоксичности недавно разработанной в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (ранее – РОНЦ им. Н.Н. Блохина) воспроизведенной лекарственной формы ЦП Цисплатин-РОНЦ® (ЦП-РОНЦ) и коммерческого препарата Цисплатин-Тева (ЦП-Тева).

Материалы и методы

Животные

Мыши-самцы гибриды (C57Bl6/J × DBA2) F1 (B6D2F1). В начале опытов средняя масса тела ± стандартное отклонение составляла $23,0 \pm 1,2$ г (20,2–25,6 г). Неинбредные крысы-самцы, средняя масса тела ± стандартное отклонение составляла 124 ± 15 г в 2 опытах (96–170 г). Все животные получены из питомника ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (НМИЦ онкологии). Животные содержались и использовались в соответствии с этическими нормами, принятыми в НМИЦ онкологии. Для кормления животных использовали стандартный промышленный сертифицированный брикетированный корм для грызунов с установленным сроком годности. Животные имели свободный доступ к корму и воде.

Препараты

Воспроизведенный ЦП-РОНЦ произведен в научно-производственном филиале «Научпрофи» НМИЦ онкологии. Препарат представляет собой раствор для инъекций с концентрацией 1 мг ЦП в 1 мл, во флаконах по 10 мл (серия 010212). Коммерческий ЦП-Тева производства фармацевтической компании Teva (Израиль) – раствор для инъекций с концентрацией 0,5 мг ЦП в 1 мл, во флаконах по 20 мл (серия 11B17RE). Для идентичности концентраций ЦП-РОНЦ разводили физиологическим раствором натрия хлорида до концентрации 0,5 мг ЦП в 1 мл.

Сравнительные эксперименты

Оба препарата параллельно вводили внутривенно однократно в следующих диапазонах доз: мышам от 10 до 20 мг/кг, крысам от 4 до 13 мг/кг. День введения препаратов принимали за 0. Проявления токсичности оценивали по общепринятым критериям. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью компьютерных программ Microsoft Office Excel 2003 и BioStat 2008 Professional. Рассчитывали параметры, обычно используемые в токсикологии. За достоверные принимали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Сравнительное изучение

«острой» токсичности на мышах

Как видно из данных, представленных в табл. 1, выживаемость мышей практически одинакова в случае однократного введения сравниваемых препаратов как в зависимости от дозы, так и по срокам гибели. Расчетные летальные дозы достоверно не различались (табл. 2). Изменения массы тела в сравниваемых

Таблица 1. Сравнительная токсичность Цисплатина-РОНЦ® и Цисплатина-Тева при однократном внутривенном введении мышам

Препарат	Доза, мг/кг	Эффект (пало/всего)	День гибели
Контроль	0	0/10	—
Цисплатин-РОНЦ®	10	0/6	—
	14	1/6	8-й
	15	3/6	8, 11, 13-й
	18	3/6	7, 7, 8-й
	20	6/6	6, 6, 6, 6, 8, 8-й
Цисплатин-Тева	10	0/6	—
	14	0/6	—
	15	2/6	9, 11-й
	18	4/6	7, 7, 8, 8-й
	20	6/6	6, 6, 6, 6, 6, 8-й

Таблица 2. Расчетные летальные дозы Цисплатина-РОНЦ® и Цисплатина-Тева на мышах

Препарат	ЛД10, мг/кг	ЛД16, мг/кг	ЛД50 (95 % ДИ), мг/кг	ЛД84, мг/кг
Цисплатин-РОНЦ®	11,79	12,81	16,44 (13,89–18,99)	20,06
Цисплатин-Тева	12,73	13,55	16,45 (13,84–19,05)	19,34

Примечание. ДИ – доверительный интервал; ЛД – летальная доза.

Таблица 3. Изменение массы тела мышей в граммах после однократного внутривенного введения Цисплатина-РОНЦ® и Цисплатина-Тева

Доза, мг/кг	Средняя масса тела, г (\pm стандартная ошибка), на сутки опыта						
	0-е	3-и	7-е	10-е	14-е	21-е	30-е
0	22,2 \pm 0,5	24,1 \pm 0,3	24,7 \pm 0,2	25,7 \pm 0,3	26,2 \pm 0,4	27,6 \pm 0,4	30,7 \pm 0,5
Цисплатин-РОНЦ®							
10	23,6 \pm 0,4	21,3 \pm 0,4*	22,1 \pm 0,5*	24,2 \pm 0,3*	24,4 \pm 0,4*	26,2 \pm 0,3*	30,6 \pm 0,4
14	23,9 \pm 0,3*	20,5 \pm 0,3* ^s	19,3 \pm 0,6*	22,1 \pm 0,2*	22,8 \pm 0,2*	24,2 \pm 0,5*	29,1 \pm 0,3*
15 ^{&}	22,9 \pm 0,4	22,3 \pm 0,4*	17,5 \pm 0,3*	17,5 \pm 1,2*	18,7 \pm 2,0*	21,0 \pm 2,6	22,9 \pm 2,3
16 ^{&}	22,1 \pm 0,3	21,4 \pm 0,5*	15,4 \pm 0,4*	15,4 \pm 0,8*	—	—	—
18 ^{&}	23,5 \pm 0,4	20,6 \pm 0,4*	17,1 \pm 1,0*	19,4 \pm 1,0*	20,9 \pm 0,7*	23,5 \pm 0,9*	27,8 \pm 0,7*
20 ^{&}	22,3 \pm 0,4	20,6 \pm 0,5*	16,2	—	—	—	—
Цисплатин-Тева							
10	23,7 \pm 0,5	21,9 \pm 0,4*	24,1 \pm 1,2	24,2 \pm 0,4*	24,9 \pm 0,4*	26,4 \pm 0,4	30,4 \pm 0,4
14	23,9 \pm 0,4*	21,8 \pm 0,3*	20,4 \pm 1,2*	22,0 \pm 1,4*	22,9 \pm 1,3	24,9 \pm 1,3	29,1 \pm 1,5
15 ^{&}	22,3 \pm 0,7	21,7 \pm 0,6*	17,5 \pm 0,3*	18,4 \pm 0,5*	21,3 \pm 0,3*	24,2 \pm 0,5*	26,5 \pm 0,3*
16 ^{&}	22,3 \pm 0,3	21,7 \pm 0,5*	16,8 \pm 0,4*	15,4 \pm 0,4*	16,3 \pm 0,2*	17,8 \pm 0,4*	20,6 \pm 0,4*
18 ^{&}	23,6 \pm 0,5	20,9 \pm 0,5*	17,7 \pm 0,9*	22,7	23,5	25,2	30,0
20 ^{&}	22,5 \pm 0,5	20,9 \pm 0,3*	—	—	—	—	—

Примечание. В каждой группе по 6 мышей. [&] В группах отмечалась гибель животных. «—» — гибель всех животных в группе (см. табл. 1). * Достоверное отличие по сравнению с контрольной группой мышей, не получавших препараты. ^s Достоверное отличие по сравнению с группой мышей, получавших Цисплатин-Тева.

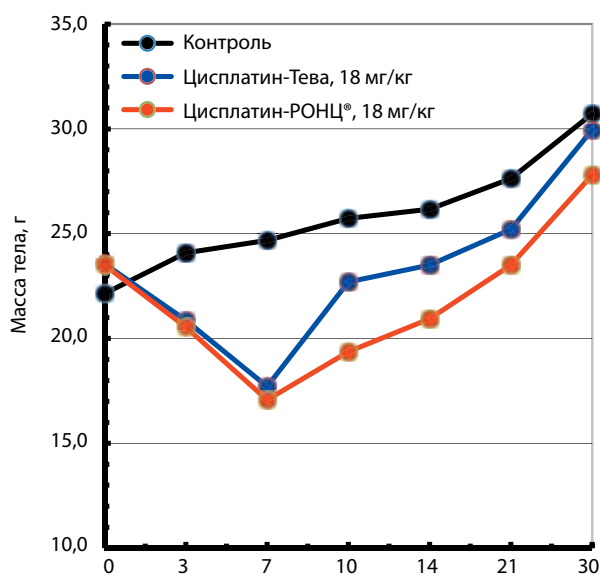


Рис. 1. Изменение массы тела мышей после однократного внутривенного введения Цисплатина-РОНЦ® и Цисплатина-Тева

группах также оказались практически одинаковыми как по динамике, так и по наибольшей потере массы тела (табл. 3, рис. 1).

Сравнительное изучение «острой» токсичности на крысах

В результате проведенных исследований установлено, что ЦП-РОНЦ® и ЦП-Тева показывают практически одинаковую количественную токсичность на крысах по срокам гибели и по числу павших животных (табл. 4). Расчетные летальные дозы также достоверно не различались (табл. 5).

Динамика массы тела сравниваемых групп крыс также оказалась сходной (табл. 6, рис. 2).

Вывод

Сравниваемые воспроизведенный и коммерческий препараты цисплатина практически эквитоксичны при однократном внутривенном введении мышам и крысам.

Таблица 4. Сравнительная токсичность Цисплатина-РОНЦ® и Цисплатина-Тева при однократном внутривенном введении крысам

Препарат	Доза, мг/кг	Эффект (пало/всего)	День гибели
Цисплатин-РОНЦ®	4	0/6	—
	5	0/6	—
	6	0/6	—
	7	0/6	—
	7,5	1/6	6
	8	1/12	7
	8,5	0/6	—
	9	6/12	2, 5, 7, 10, 10, 20-й
	11	6/6	5, 5, 6, 6, 6, 6-й
	13	6/6	5, 5, 5, 5, 5, 5-й
Цисплатин-Тева	4	0/6	—
	5	0/6	—
	6	1/6	6-й
	7	2/6	15, 22-й
	7,5	0/6	—
	8	2/12	6, 15-й
	8,5	4/6	6, 6, 10, 10-й
	9	7/12	5, 5, 5, 5, 5, 5, 6-й
	11	6/6	4, 4, 4, 5, 5, 5-й
	13	6/6	4, 4, 4, 5, 5, 5-й

Таблица 5. Расчетные токсические дозы Цисплатина-РОНЦ® и Цисплатина-Тева на крысах

Препарат	ЛД10, мг/кг	ЛД16, мг/кг	ЛД50 (95 % ДИ), мг/кг	ЛД84, мг/кг
Цисплатин-РОНЦ®	7,11	7,60	9,34 (8,42–10,26)	11,09
Цисплатин-Тева	5,93	6,48	8,44 (7,58–9,31)	10,40

Примечание. ДИ – доверительный интервал; ЛД – летальная доза.

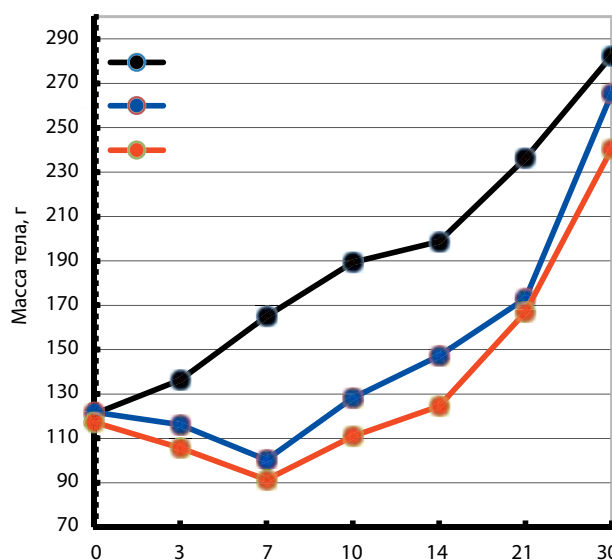


Рис. 2. Изменение массы тела крыс после однократного внутривенного введения Цисплатина-РОНЦ® и Цисплатина-Тева

Таблица 6. Изменение массы тела крыс после однократного внутривенного введения Цисплатина-РОНЦ® и Цисплатина-Тева

Доза, мг/кг	Масса тела, г, на сутки опыта						
	0-е	3-и	7-е	10-е	14-е	21-е	30-е
0	121 ± 2	136 ± 3	165 ± 6	189 ± 8	199 ± 10	236 ± 8	282 ± 13
Цисплатин-РОНЦ®							
4	119 ± 5	120 ± 6*	138 ± 8*	162 ± 9	176 ± 8	186 ± 10* [§]	247 ± 13 [§]
5	112 ± 4	120 ± 9	129 ± 4*	155 ± 6* [§]	172 ± 3* [§]	197 ± 3* [§]	267 ± 10
6	123 ± 5	123 ± 6	122 ± 10*	141 ± 8*	157 ± 9*	175 ± 9*	247 ± 10
8	117 ± 5	106 ± 4*	91 ± 6*	111 ± 12*	125 ± 15*	167 ± 18*	241 ± 26
Цисплатин-Тева							
4	119 ± 4	120 ± 4*	146 ± 6*	171 ± 4	187 ± 4	217 ± 5	288 ± 6
5	119 ± 6	116 ± 7*	122 ± 9*	129 ± 9*	144 ± 11*	170 ± 10*	266 ± 22
6*	113 ± 1*	109 ± 3*	124 ± 4*	148 ± 4*	165 ± 4*	192 ± 5*	277 ± 10
8	122 ± 5	116 ± 4*	100 ± 5*	128 ± 7*	147 ± 7*	173 ± 7*	265 ± 15

Примечание. В каждой группе по 6 крыс. Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка. [§] В группе отмечалась гибель животных. * Достоверное отличие по сравнению с контрольной группой крыс, не получавших препараты. [§] Достоверное отличие по сравнению с соответствующей группой крыс, получавших препарат сравнения Цисплатин-Тева в той же дозе.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Apps M.G., Choi E.H., Wheate N.J. The state-of-play and future of platinum drugs. *Endocr Relat Cancer* 2015;22(4):219–33. DOI: 10.1530/ERC-15-0237. PMID: 26113607.
2. Гарин А.М., Базин И.С. Справочник по лекарственной терапии солидных опухолей. М.: ИНФОТЕХ: ЛЕКРУС, 2015. 529 с. [Garin A.M., Bazin I.S. Guide to drug therapy solid tumors. Moscow: INFOTECH: LEKRUS, 2015. 529 p. (In Russ.)].
3. Ревтович М.Ю., Бычковский П.М., Юркштович Т.Л. и др. Сравнительная оценка противоопухолевой активности водного раствора цисплатина и его гидрогелевой формы в эксперименте *in vivo*. Российский биотерапевтический журнал 2016;15(1):95–6. [Reutovich M.Yu., Bychkovsky P.M., Yurkshovich T.L. et al. Comparative evaluation of the antitumor activity of an aqueous solution of cisplatin and its hydrogel form in an *in vivo* experiment. *Rossiysky Bioterapevtichesky Zhurnal* = *Russian Journal of Biotherapy* 2016;15(1):95–6 (In Russ.)].
4. Adler-Moore J.P., Gangneux J.P., Pappas P.G. Comparison between liposomal formulations of amphotericin B *Med Mycol* 2016;54(3):223–31. DOI: 10.1093/mmy/myv111. PMID: 26768369.
5. Niho S., Yamanaka T., Umemura S. et al. Renal toxicity caused by brand-name versus generic cisplatin: a comparative analysis. *Jpn J Clin Oncol.* 2013;43(4):390–5. DOI: 10.1093/jjco/hyt020. PMID: 23444114.
6. Sekine I., Kubota K., Tamura Y. et al. Innovator and generic cisplatin formulations: comparison of renal toxicity. *Cancer Sci* 2011;102(1):162–5. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01764.x. PMID: 21054679.
7. Давыдов М.И. Обращение главного редактора. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина 2015–2016;26–27(4–1):3–4. [Davydov M.I. The appeal of the editor-in-chief. *Vestnik RONC im. N.N. Blohina* = *Journal of N.N. Blokhin Russian cancer research center* 2015–2016;26–27(4–1): 3–4 (In Russ.)].

ORCID авторов / ORCID of authors

В.М. Бухман / V.M. Bukhman: <https://orcid.org/0000-0002-7062-798X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.