

ЭКВИТОКСИЧНОСТЬ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ГИДРОКСИКАРБАМИДА И ПРЕПАРАТА СРАВНЕНИЯ ГИДРЕА НА КРЫСАХ

О.И. Коняева¹, Н.Ю. Кульбачевская¹, В.А. Чалей¹, Н.П. Ермакова¹,
И.Б. Меркулова¹, Т.В. Абрамова¹, И.С. Касаткина²

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24;

²ООО «Экспертно-юридический центр»; Россия, 109052 Москва, ул. Нижегородская, 29–33, стр. 27, офис 316

Контакты: Ольга Ивановна Коняева natkulba@mail.ru

Введение. Появление качественных и эффективных дженериков позволяет существенно снизить расходы на лекарственное обеспечение населения России. По экспертным оценкам, стоимость курса лечения онкологических больных дженериками отечественного производства может быть на 30–40 % ниже по сравнению с оригинальными препаратами. В России на производстве ООО «Озон» создан отечественный аналог оригинального противоопухолевого препарата гидреа — гидроксикарбамид.

Цель исследования — сравнительное изучение хронической токсичности препарата гидроксикарбамид (ООО «Озон», Россия) и зарегистрированного препарата сравнения гидреа (Corden Pharma Latina S. p. A., Италия) на крысах.

Материалы и методы. Сравнительное исследование токсичности препаратов проводили на 70 неинбредных белых крысах-самцах массой 220–250 г, полученных из аккредитованного питомника лабораторных животных ООО «Кролинфо». Оба препарата параллельно вводили ежедневно перорально 5-кратно в 3 дозы. В качестве растворителя использовали 1 % крахмальный клейстер. Дозы рассчитывали по данным литературы исходя из максимально переносимой дозы. Использовали стандартные методы оценки хронической токсичности препаратов на крысах.

Результаты. Полученные данные по хронической токсичности сравниваемых форм отечественного препарата гидроксикарбамид и зарегистрированного препарата сравнения гидреа существенно не отличаются по показателям количественной и качественной токсичности (летальность, биомаркеры токсичности, морфометрия органов).

Выводы. Сравниваемые воспроизведенный и коммерческий препараты практически эквитоксичны при 5-кратном пероральном введении крысам.

Ключевые слова: гидроксикарбамид, гидреа, эквитоксичность, крысы

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-1-80-86

EQUITOXICITY OF DOMESTIC HYDROXYCARBAMIDE AND REFERENCE DRUG HYDREA IN RATS

O.I. Konyaeva¹, N.Yu. Kulbachevskaya¹, V.A. Chaley¹, N.P. Ermakova¹, I.B. Merkulova¹, T.V. Abramova¹, I.S. Kasatkina²

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;

24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²Expert-Law Center; Office 316, Build. 27, 29–33 Nizhegorodskaya St., Moscow 109052, Russia

Introduction. The appearance of high-quality and effective generics can significantly reduce the cost of health care for the drug supply of the population of Russia. According to expert estimates, the cost of treatment of cancer patients with generics of domestic can be 30–40 % cheaper as compared to the original drugs. In Russia the pharmaceutical production company “Ozon” created by the domestic analogue of the original anticancer drug hydrea — hydroxycarbamide.

Objective: comparative study of chronic toxicity of the drug hydroxycarbamide (“Ozon”, Russia) and registered reference drug hydrea (Corden Pharma Latina S. p. A., Italy) on rats.

Materials and methods. A comparative study of the toxicity of drugs was carried out on 70 non-inbred white male rats weighing 220–250 g obtained from the accredited laboratory animal nursery of LLC “Krolinfo”. Both drugs were administered in parallel daily orally 5-fold in 3 doses. As a solvent, 1 % starch paste was used. Doses were calculated according to the literature data on the basis of maximum tolerated dose. Standard methods of evaluation of chronic toxicity of drugs in rats were used.

Results. The obtained data on chronic toxicity of the compared forms of the domestic drug hydroxycarbamide and the reference drug hydrea do not differ significantly in terms of quantitative and qualitative toxicity (lethality, biomarkers of toxicity, morphometry of organs).

Conclusion. The compared generic and commercial preparations are practically equitoxic by 5 times oral administration to rats.

Key words: hydroxycarbamide, hydrea, equitoxicity, rats

Введение

Появление качественных и эффективных дженериков позволяет существенно снизить расходы органов здравоохранения и повысить доступность лекарственного обеспечения населения России. В России на производстве ООО «Озон» создан отечественный аналог оригинального противоопухолевого препарата гидреа (ГД) — гидроксикарбамид (ГК). ГК имеет такие же показания к применению и суточную дозировку, как и оригинальный лекарственный препарат.

В экспериментах на мышах и крысах при разных путях введения (внутрижелудочный и внутрибрюшинный) изучены параметры острой токсичности субстанции ГК. Клиническая картина острого отравления ГК у крыс и у мышей проявлялась в общей заторможенности и гиподинамии. Высокие токсические (летальные) дозы вызывали у животных атаксию, адинамию, в отдельных случаях клонико-тонические судороги, паралич. При воздействии доз 2250–5760 мг/кг у крыс и 6350–7330 мг/кг у мышей наблюдались заторможенность, адинамия, паралич. Мыши погибали на 4–5-е сутки, большинство крыс — на 3–4-е сутки после введения фармацевтической субстанции. Печень и селезенка у погибших животных были темные, полнокровные. Внешние признаки интоксикации у большинства животных исчезали на 11–12-е сутки после введения препарата. Макроскопический патологоанатомический осмотр животных, умерщвленных по окончании 14 сут наблюдения, не выявил каких-либо существенных различий в сравнении с контрольными животными [1, 2].

При установлении LD_{50} при внутрибрюшинном введении насыщенный раствор ГК вводили белым крысам и мышам в максимально возможном объеме (дозы составили: для крыс — от 4700 до 5700 мг/кг, для мышей — от 5800 до 6800 мг/кг) [2]. LD_{50} при внутрижелудочном введении для белых крыс и мышей составили соответственно $2719,36 \pm 300,34$ и $6506,9 \pm 569,7$ мг/кг; при внутрибрюшинном — более 5700 и более 6800 мг/кг [3].

Цель исследования — сравнительное изучение хронической токсичности препарата ГК (ООО «Озон», Россия) и зарегистрированного препарата сравнения ГД (Corden Pharma Latina S. p. A., Италия) на крысах.

Материалы и методы

Сравнительное исследование токсичности ГК и ГД проводили на 70 неинбредных белых крысах-самцах массой 220–250 г, полученных из аккредитованного питомника лабораторных животных ООО «Кролинфо». Все животные были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья. Эксперимент проводился в период с октября по декабрь 2017 г. Исследование выполне-

но в соответствии с национальными требованиями с учетом методических рекомендаций [4–9].

Исследуемые препараты:

- 1) ГК — отечественный препарат, производитель ООО «Озон» (Россия), капсулы по 500 мг, серии 010317;
- 2) ГД — препарат сравнения, производитель Corden Pharma Latina S. p. A. (Италия), капсулы по 500 мг, серии 6G03510.

В опытах по изучению хронической токсичности оба препарата (содержимое капсул) параллельно вводили ежедневно перорально 5-кратно в 3 дозах. В качестве растворителя использовали 1 % крахмальный клейстер. Дозы рассчитаны по данным литературы исходя из максимально переносимой дозы (МПД):

- суммарная доза 3000 мг/кг (≈ 2 МПД), разовая доза 600 мг/кг;
- суммарная доза 1500 мг/кг (≈ 1 МПД), разовая доза 300 мг/кг;
- суммарная доза 750 мг/кг ($\approx 1/2$ МПД), разовая доза 150 мг/кг.

Контрольным животным вводили ежедневно перорально 5-кратно 1 % крахмальный клейстер в объеме, соответствующем объему максимальной дозы.

В каждой группе животных использовали по 10 крыс, включая контроль, 5 крыс из каждой группы выводили из эксперимента на 3-и сутки, остальные 5 — на 30-е сутки после окончания курса введения препаратов.

Критериями оценки хронической токсичности являлись: число павших животных и сроки их гибели, динамика массы тела (исследования проводили на 3, 7, 14, 21 и 30-е сутки), клиническая картина интоксикации, данные клинико-лабораторных исследований, поведенческие реакции и патологические изменения в тканях и внутренних органах, выявляемые при аутопсии павших и выживших животных, выведенных из эксперимента в конце опыта (макроскопическая оценка). Продолжительность наблюдения за животными составляла 30 сут. Сравнивали действие препаратов на уровне клеток, циркулирующих в периферической крови, функциональное состояние печени, почек, желудочно-кишечного тракта.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерной программы Microsoft Excel. Рассчитывали параметры, обычно используемые в токсикологии. За достоверные принимали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты

Сравнительная токсичность ГК и ГД при ежедневном 5-кратном пероральном введении крысам-самцам

представлена в табл. 1. Установлено, что препараты имеют практически одинаковые внешние проявления токсичности при введении в максимальной суммарной дозе 3000 мг/кг — вялость и пилоэрекция. ГК и ГД независимо от дозы не вызывали гибели животных, не изменяли их поведенческие реакции. Анализ изменения массы тела крыс после 5-кратного перорального введения ГК и ГД свидетельствует о практически одинаковом влиянии препаратов на динамику этого показателя. Масса тела крыс, получавших ГК и ГД, по сравнению с контрольными животными дозозависимо уменьшалась на 3–7-е сутки после окончания введения препаратов с последующим восстановлением к 21–30-м суткам наблюдения (рис. 1).

Динамика изменений уровней циркулирующих в периферической крови клеток в группах крыс, получавших ГК и ГД, была практически одинакова: дозозависимое уменьшение количества эритроцитов (с соответствующим снижением уровня гемоглобина и гематокрита) и дозозависимое уменьшение количества тромбоцитов. Изменение показателей периферической крови крыс отмечалось на 3–7-е сутки после ежедневного 5-кратного перорального введения ГК и ГД с последующим восстановлением к 21–30-м суткам наблюдения по сравнению с данными контрольных животных, получавших 1 % крахмальный клейстер (рис. 2, 3).

ГК и ГД после 5-кратного перорального ежедневного введения либо не изменяли уровни биомаркеров в сыворотке крови крыс по сравнению с данными

Таблица 1. Сравнительная токсичность ГК и ГД при ежедневном 5-кратном пероральном введении крысам-самцам

Препарат	Разовая доза, мг/кг	Суммарная доза, мг/кг	Гибель от токсичности, пало/всего
Контроль	0	0	0/10
ГК	600	3000	0/10
	300	1500	0/10
	150	750	0/10
ГД	600	3000	0/10
	300	1500	0/10
	150	750	0/10

контрольных животных, либо вызывали однотипные изменения. Учитывая видовые особенности животных, можно сделать вывод о практически идентичном проявлении токсического действия исследуемых препаратов (рис. 4).

Установлено, что ГК и препарат сравнения ГД не отличаются по влиянию на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы крыс (табл. 2).

При морфометрическом анализе относительной массы печени, селезенки, почек, сердца и тимуса крыс было установлено, что ГК и ГД во всех исследованных дозах практически не оказывали влияния на изменения массы данных органов либо вызывали однотипные изменения как на 3-и, так и на 30-е сутки наблюдения по сравнению с изменениями

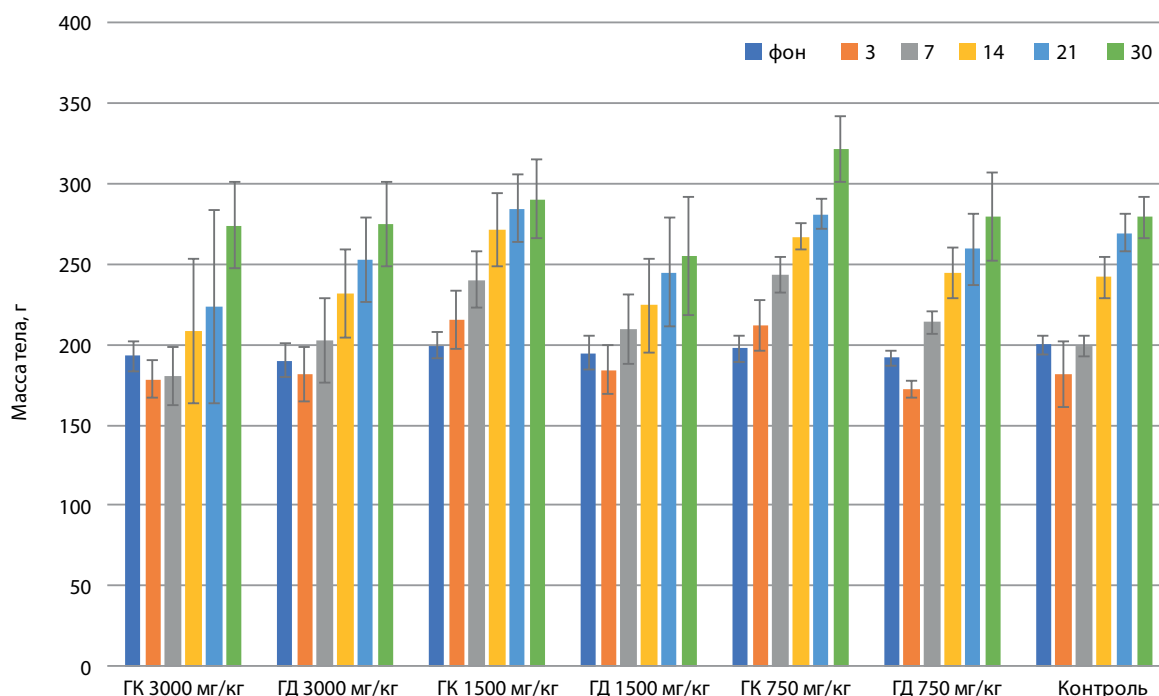


Рис. 1. Динамика массы тела неинбредных крыс-самцов после 5-кратного перорального ежедневного введения ГК и ГД в равных дозах

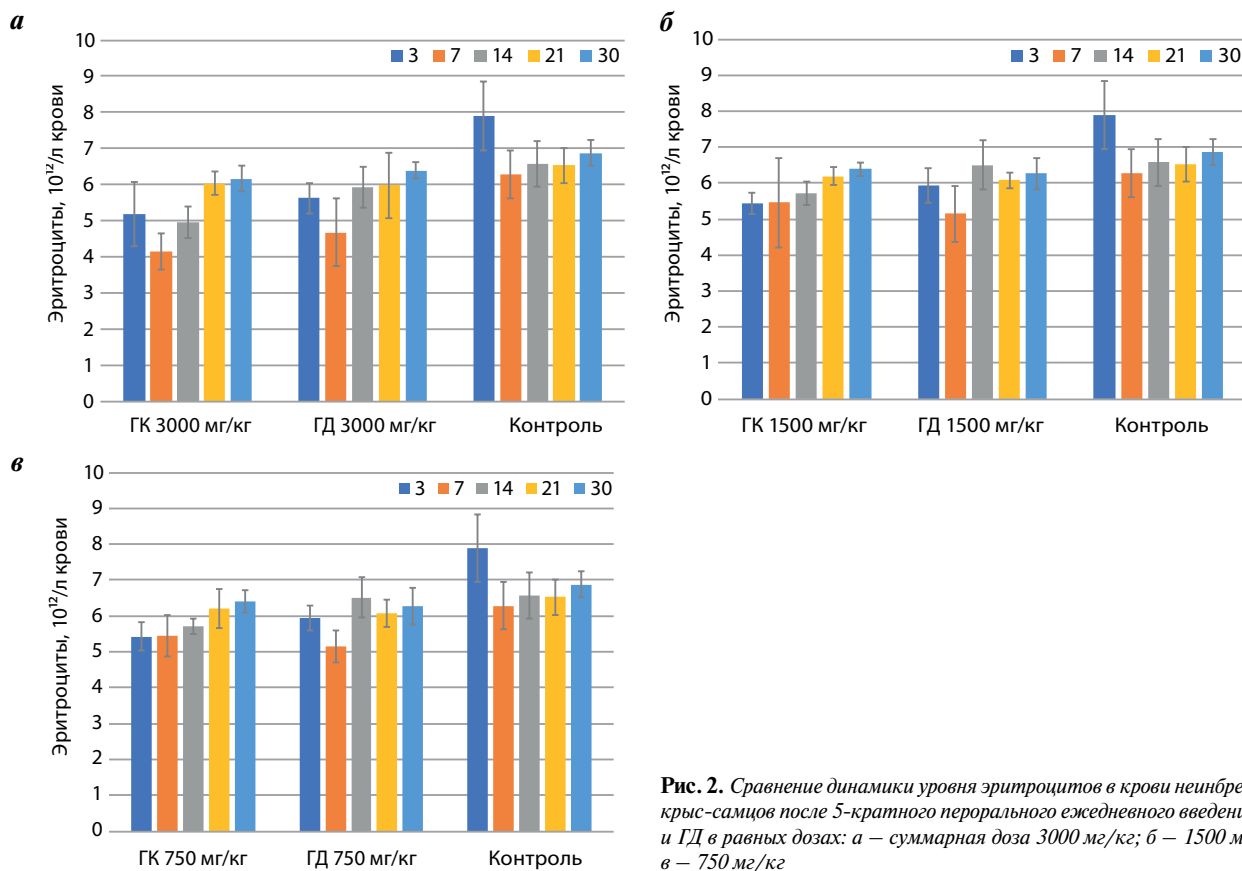


Рис. 2. Сравнение динамики уровня эритроцитов в крови неинбредных крыс-самцов после 5-кратного перорального ежедневного введения ГК и ГД в равных дозах: а — суммарная доза 3000 мг/кг; б — 1500 мг/кг; в — 750 мг/кг

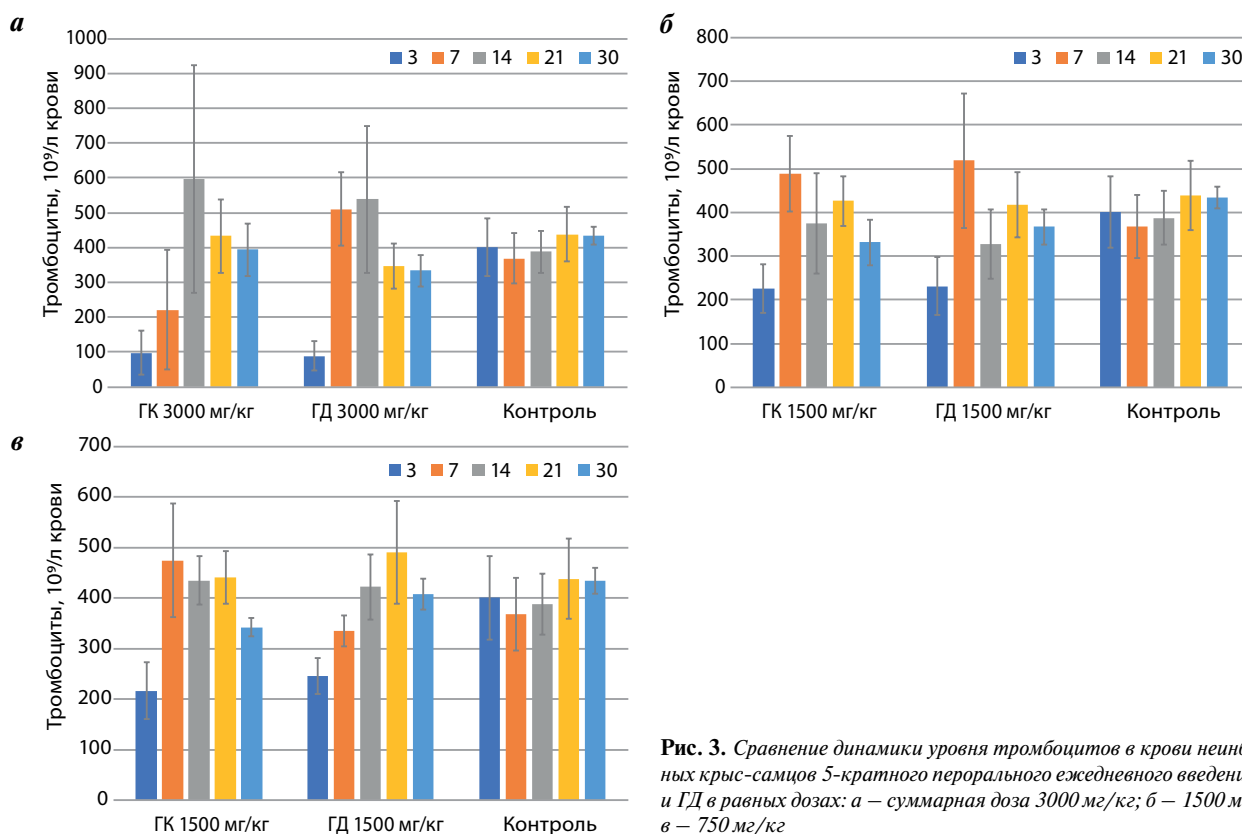


Рис. 3. Сравнение динамики уровня тромбоцитов в крови неинбредных крыс-самцов 5-кратного перорального ежедневного введения ГК и ГД в равных дозах: а — суммарная доза 3000 мг/кг; б — 1500 мг/кг; в — 750 мг/кг

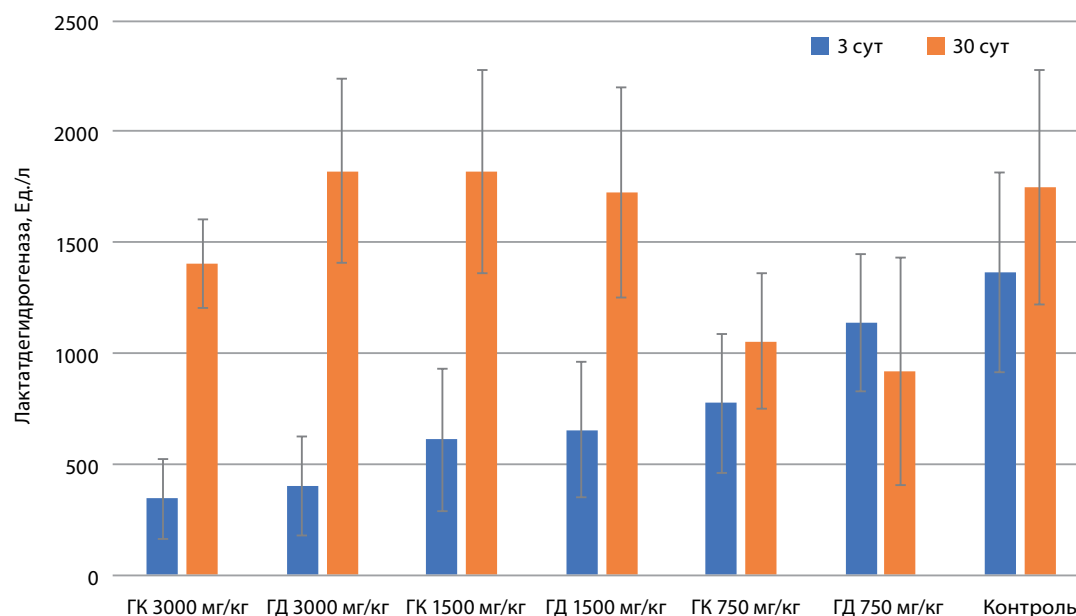


Рис. 4. Уровень лактатдегидрогеназы в сыворотке крови крыс после 5-кратного перорального ежедневного введения ГК и ГД

Таблица 2. Показатели электрокардиограммы неинбредных крыс-самцов после ежедневного (в течение 5 дней) перорального введения ГК и ГД в суммарной дозе 3000 мг/кг

Группа	Сутки опыта		
	3-и	15-е	30-е
Частота сердечных сокращений (уд/мин)			
ГК	428,2 ± 21,5	424,6 ± 8,8	398,5 ± 20,7
ГД	364,2 ± 21,4	414,4 ± 19,1	354,8 ± 16,6
Контроль	445,0 ± 32,2	396,8 ± 11,0	338,2 ± 22,4
RR (с)			
ГК	0,142 ± 0,007	0,142 ± 0,003	0,152 ± 0,009
ГД	0,167 ± 0,011	0,146 ± 0,007	0,170 ± 0,007
Контроль	0,138 ± 0,011	0,152 ± 0,004	0,181 ± 0,012
PQ (с)			
ГК	0,060 ± 0,000	0,056 ± 0,002	0,063 ± 0,006
ГД	0,066 ± 0,019	0,064 ± 0,004	0,064 ± 0,004
Контроль	0,052 ± 0,004	0,058 ± 0,002	0,062 ± 0,005
QT (с)			
ГК	0,048 ± 0,002	0,050 ± 0,000	0,040 ± 0,000
ГД	0,048 ± 0,002	0,048 ± 0,004	0,038 ± 0,004
Контроль	0,050 ± 0,000	0,046 ± 0,002	0,044 ± 0,002
QRS (с)			
ГК	0,020 ± 0,000	0,020 ± 0,000	0,020 ± 0,000
ГД	0,020 ± 0,000	0,018 ± 0,002	0,012 ± 0,002
Контроль	0,018 ± 0,002	0,018 ± 0,000	0,020 ± 0,000

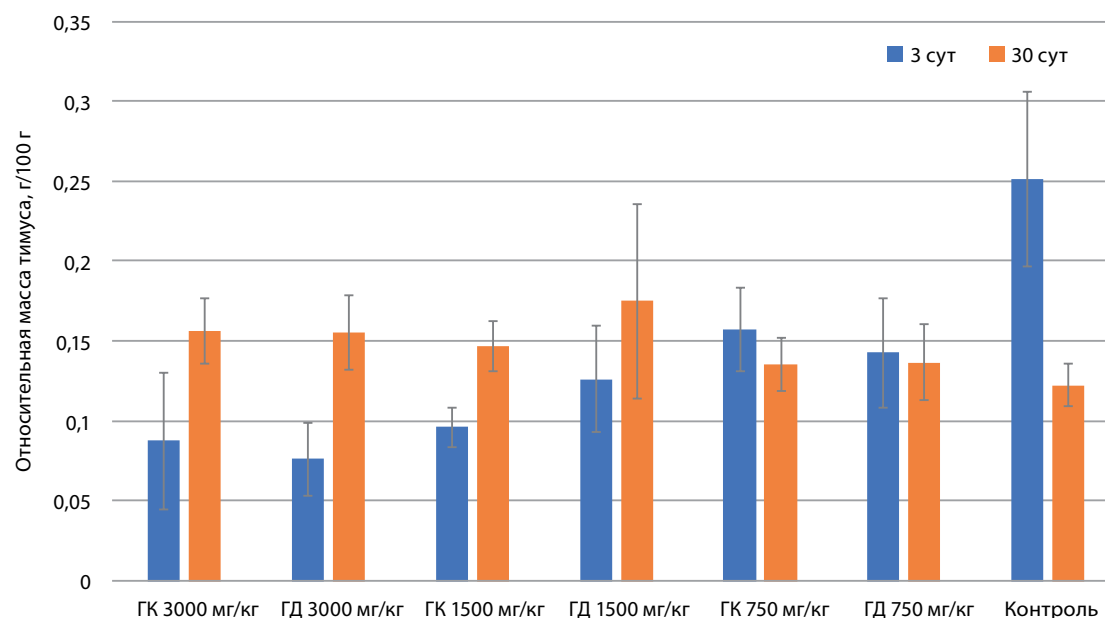


Рис. 5. Относительная масса тимуса

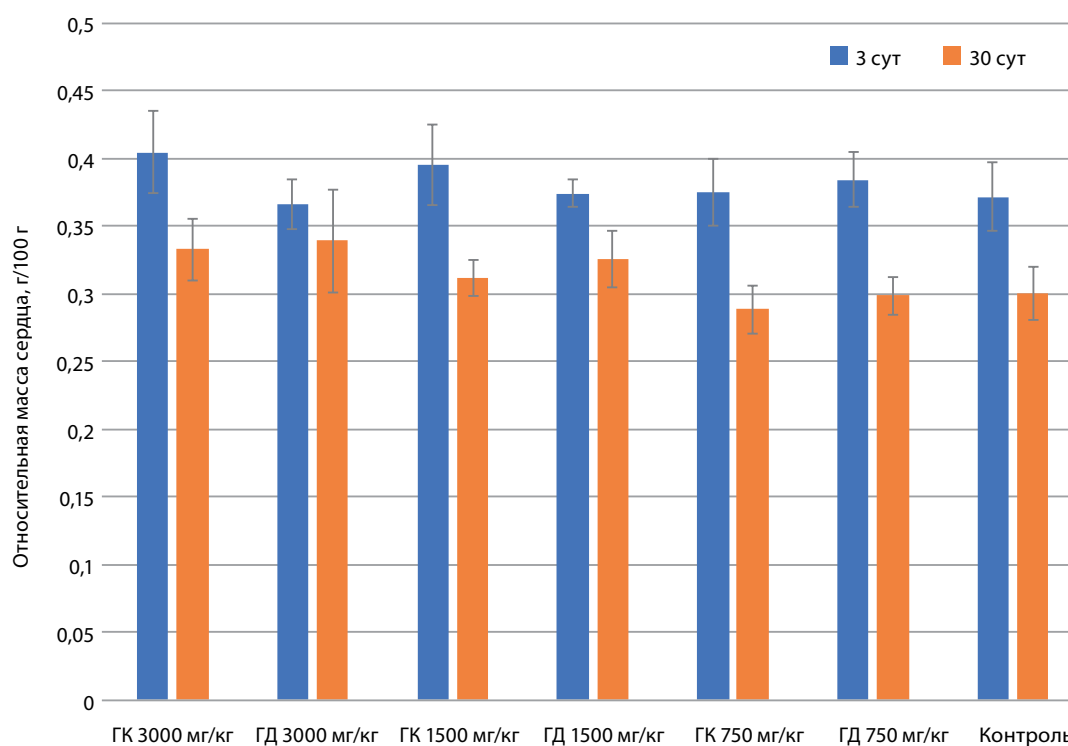


Рис. 6. Относительная масса сердца

массы данных органов у контрольных животных (рис. 5, 6).

Заключение

На основании результатов, полученных при сравнительном изучении хронической токсичности ГК

и ГД после перорального ежедневного 5-кратного применения на крысах, установлено, что изученные препараты практически аналогичны по показателям количественной и качественной токсичности (клиническая картина интоксикации, летальность, биомаркеры токсичности, морфометрия органов).

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

1. Лепешко П.Н. Особенности нормирования фармакологической субстанции гидроксикарбамид. В кн.: Новые исследования молодых ученых — 2017: сборник рецензируемых научных работ. Под ред. А.В. Сикорского, О.К. Дорониной. Минск: БГМУ, 2017. С. 66–73. [Lepeshko P.N. Features of the regulation of the pharmacological substance hydroxycarbamide. In: New Studies of Young Scientists — 2017: a collection of peer-reviewed scientific papers. Ed. by A.V. Sikorsky, O.K. Doronina. Minsk: Belarusian State Medical University, 2017. Pp. 66–73. (In Russ.)].
2. Лепешко П.Н., Соболев Ю.А. Токсикологическая оценка фармакологической субстанции гидроксикарбамид. В кн.: Материалы 17-й международной научной конференции «Сахаровские чтения 2017 года: экологические проблемы XXI века», Минск, 18–19 мая 2017 г. Минск: ИВЦ Минфина 2017. С. 184–5. [Lepeshko P.N., Sobol Yu.A. Toxicological assessment of the pharmacological substance hydroxycarbamide. In: Materials of the 17th International Scientific Conference “Sakharov Readings 2017: Environmental Problems of the XXI Century”, Minsk, May 18–19, 2017. Minsk: ITC Ministry of Finance, 2017. Pp. 184–5. (In Russ.)].
3. Brunner R.L., McLean M., Vorhees C.V., Butcher R.E. A comparison of behavioral and anatomical measures of hydroxyurea induced abnormalities. *Teratology* 1978;18(3):379–84. DOI: 10.1002/tera.1420180312. PMID: 741390.
4. Большаков О.П., Незнанов Н.Г., Бабаханян Р.В. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных. *Качественная клиническая практика* 2002;(1):58–61. [Bolshakov O.P., Neznanov N.G., Babakhanyan R.V. Didactic and ethical aspects of research on biomodels and laboratory animals. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika* = Good Clinical Practice 2002;(1):58–61. (In Russ.)].
5. Методические указания по изучению общетоксического действия противоопухолевых фармакологических средств. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. С. 170–204. [Methodological instructions for studying the general toxic effects of antitumor drugs. In: Guide to experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Ed. by R.U. Khabriev. 2nd edn., revised and additional. Moscow: Medicine, 2005. Pp. 170–204. (In Russ.)].
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. А.Н. Миронова. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. С. 13–24. [A guide to preclinical drug research. Ed. by A.N. Mironov. Part 1. Moscow: Grif and Co, 2012. Pp. 13–24. (In Russ.)].
7. Принципы надлежащей лабораторной практики. Национальный стандарт Российской Федерации (ГОСТ 53434–2009). М.: Стандартиформ, 2010. [Principles of Good Laboratory Practice. National Standard of the Russian Federation (GOST 53434–2009). Moscow: Standartinform, 2010. (In Russ.)].
8. Об утверждении Правил лабораторной практики. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 1 апреля 2016 г. № 199н. [On approval of the Rules of Laboratory Practice. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation from 01 April 2016 No. 199n. (In Russ.)].
9. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. 2-е изд., доп. М., 2008. 196 с. [Gus'kova T.A. Toxicology of medicines (second edition supplemented). Moscow, 2008. 196 p. (In Russ.)].

ORCID авторов/ORCID of authors

Н.Ю. Кульбачевская/N.Yu. Kulbachevskaya: <https://orcid.org/0000-0003-4214-3475>

В.А. Чалей/V.A. Chaley: <https://orcid.org/0000-0001-7867-2868>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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