

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ГИДРОКСИКАРБАМИДА И ПРЕПАРАТА СРАВНЕНИЯ ГИДРЕА

И.Б. Меркулова¹, Т.В. Абрамова¹, О.И. Коняева¹, Н.Ю. Кульбачевская¹,
Н.П. Ермакова¹, В.А. Чалей¹, А.Ю. Семушкина²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское ш., 24;

²ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии —
МВА им. К.И. Скрябина»; Россия, 109472 Москва, ул. Акад. Скрябина, 23

Контакты: Ирина Борисовна Меркулова Merkulovairina@rambler.ru

Введение. В соответствии с российской федеральной программой по импортозамещению зарубежных лекарственных препаратов качественными российскими препаратами в России воспроизведен препарат гидроксикарбамид (ГК), который проходил в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина доклинические токсикологические и патоморфологические исследования в сравнении с препаратом гидреа (ГД) производства Италии.

Цель исследования — сравнительная патоморфологическая оценка влияния ГК и ГД на внутренние органы крыс для подтверждения их идентичности по морфологическим критериям.

Материалы и методы. В ходе исследования были использованы 70 неинбредных крыс-самцов, по 10 в группе. Ежедневно в течение 5 дней ГК и ГД вводили крысам перорально в одинаковых суммарных дозах, соответствующих 2, 1 и 1/2 максимально переносимой дозы. Контрольным крысам в том же режиме перорально вводили 1 % крахмальный клейстер. Животных выводили из опыта на 3-и и 30-е сутки после окончания введений препаратов. Проводили макроскопическое и гистологическое исследования внутренних органов по общепринятым методикам, включавшим фиксацию материала в 10 % формалине и окраску срезов гематоксилином и эозином. Гистологические препараты внутренних органов исследовали под световым микроскопом при увеличении 100, 400 и 1000.

Результаты. Препараты ГК и ГД в суммарных дозах 3000 и 1500 мг/кг на 3-и сутки после окончания введений вызывали во внутренних органах крыс сходные морфологические изменения разной степени: умеренную гипоплазию в тимусе, костном мозге и селезенке, деструктивные и воспалительные изменения в желудке и двенадцатиперстной кишке и почках. На 30-е сутки после окончания применения ГК и ГД изменения в тимусе, костном мозге и селезенке полностью исчезали, в двенадцатиперстной кишке и почках сохранялись остаточные морфологические изменения, в семенниках крыс — умеренные атрофические изменения. Препараты ГК и ГД в суммарной дозе 750 мг/кг не оказали влияния на внутренние органы крыс.

Заключение. На основании полученных результатов макроскопического и гистологического исследований сделан вывод об аналогичном влиянии ГК и ГД на внутренние органы крыс.

Ключевые слова: гидроксикарбамид, гидреа, крысы, внутренние органы, морфологические изменения

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-2-66-73

COMPARATIVE PATHOMORPHOLOGICAL RESEARCH OF HYDROXYCARBAMIDE AND HYDREA

I.B. Merkulova¹, T.V. Abramova¹, O.I. Konyayeva¹, N. Yu. Kulbachevskaya¹, N.P. Ermakova¹, V.A. Chaley¹, A. Yu. Semushkina²

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia;
24 Kashirskoe Sh., Moscow 115478, Russia;

²K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary medicine and Biotechnology; 23 Acad. Skryabin St., Moscow 109472, Russia

Introduction. In accordance with Russian Federal Program of import substitution of foreign medicines replacement for high-quality Russian drugs in Russia reproduced hydroxycarbamide (HC), which passed preclinical toxicological and pathomorphological testing in comparison with hydrea (HD), produced by Italy.

The aim. The aim of present study was the comparative evaluation of HC and HD effect on the internal organs of rats for the clearing up of their identity according to the morphological criterions.

Materials and methods. 70 non-inbred male rats, by 10 rats per group, were used. HC and HD were administered to rats oral daily for 5 days in the same total doses correspond with to the 2, 1 and 1/2 maximum tolerated dose. In the same regime control rats were oral administered with 1 % starch paste solution. Of animals were removed from the experience on days 3 and 30 after the end of the administration

of the drugs. The macroscopic and histological examination of internal organs were performed by routine methods, including fixation of the material in 10 % formalin and staining of sections with hematoxylin and eosin. The histological preparations of the internal organs were analyzed in the light microscope at magnifications of 100, 400, 1000.

Results. HC, as well as HD, in total doses of 3000 and 1500 mg/kg at the 3 day after the end of the introduction caused different degrees of similar morphological changes in rat internal organs: moderate hypoplasia in the thymus, bone marrow and spleen, destructive and inflammatory changes in the stomach, duodenum and kidney. At the 30 day after the application of both drugs morphological changes in the thymus, the bone marrow and the spleen disappeared completely, residual morphological changes persisted in the duodenum and kidneys; in the testes of rats — moderate atrophic changes. HC, as well as HD in total dose 750 mg/kg did not cause changes in the internal organs of the rats.

Conclusion. Based on the results of macroscopic and histological examination the conclusion about the identity of the influence of HC and HD on the internal organs of rats was made.

Key words: hydroxycarbamide, hydrea, rats, internal organs, morphological changes

Введение

Гидроксикарбамид (ГК) — противоопухолевый препарат из группы антиметаболитов, производное гидроксимочевины, выпускается зарубежными фирмами. Он обладает выраженным противоопухолевым действием и применяется как в монотерапии, так и в комбинации с другими цитостатическими средствами или с облучением для лечения ряда злокачественных заболеваний: меланомы, лимфогранулематоза, хронического миелолейкоза, опухолей головы и шеи, рака яичников и шейки матки и др. [1–3].

Основной механизм действия ГК связывают с угнетением синтеза ДНК пролиферирующих клеток [3, 4]. Препарат оказывает побочное действие в виде подавления функции костного мозга (лейкопения, анемия, тромбоцитопения), диспепсии и ulcerации желудочно-кишечного тракта, гепатотоксичности, фиброза легких, интерстициального нефрита и др. [1, 3]. Эксперименты на собаках и крысах показали, что ГК в переносимых и высоких дозах может вызывать дозозависимые и обратимые изменения разной степени в костном мозге, тимусе, лимфатических узлах, селезенке, тонком кишечнике, печени, почках, семенниках [5, 6]. В России в соответствии с целевой федеральной программой реализации импортозамещения зарубежных лекарственных препаратов качественными российскими препаратами воспроизводятся и изучаются отечественные генерические препараты [7, 8]. В последние годы воспроизведен ряд активных противоопухолевых препаратов, аналогичных зарубежным: цисплатин, оксалиплатин, метотрексат, винкристин и др. Эти препараты проходили доклинические токсикологические и патоморфологические исследования в лаборатории фармакологии и токсикологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина [9–15].

В лекарственной форме ГК (капсулы по 500 мг) воспроизведен отечественным производителем ООО «Озон» и прошел доклинические токсикологические исследования в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в сравнении с препаратом гидреа (ГД) фирмы «Кор-

ден Фарма Латина С. п. А.» (Италия). На основании результатов токсикологического исследования установлено, что ГК и ГД по показателям субхронической токсичности вполне идентичны [16]. Патоморфологическое исследование при изучении субхронической токсичности ГК является конечным этапом доклинического токсикологического исследования и проводится в соответствии с требованиями по доклиническому изучению новых противоопухолевых, а также воспроизведенных препаратов [17–19].

Цель исследования — сравнительная патоморфологическая оценка влияния ГК и ГД на внутренние органы крыс для установления идентичности этих препаратов по морфологическим критериям.

Материалы и методы

В ходе исследования были использованы 70 неинбредных крыс-самцов, по 10 в группе. Препараты ГК и ГД грызунам вводили перорально ежедневно в течение 5 дней в 3 одинаковых дозах, рассчитанных исходя из максимально переносимой дозы (МПД): разовая доза — 600 мг/кг, суммарная — 3000 мг/кг (2 МПД), разовая — 300 мг/кг, суммарная — 1500 мг/кг (МПД), разовая — 150 мг/кг, суммарная — 750 мг/кг (1/2 МПД).

Контрольным крысам в том же режиме и тем же способом вводили 1 % крахмальный клейстер в объеме, соответствующем объему препаратов в максимальной дозе. Грызунов (по 5 из каждой группы) выводили из опыта гуманным методом — усыплением диэтиловым эфиром на 3-и и 30-е сутки после прекращения применения препаратов. На вскрытии проводили наружный осмотр и макроскопическое исследование внутренних органов. Для гистологического исследования у крыс были взяты участки головного мозга, сердца, легких, печени, желудка, поджелудочной железы, тонкого и толстого кишечника, почек, мочевого пузыря, тимуса, селезенки, лимфатических узлов брыжейки, семенников, надпочечников, щитовидной железы, гипофиза. Гистологическое исследование внутренних органов проводили

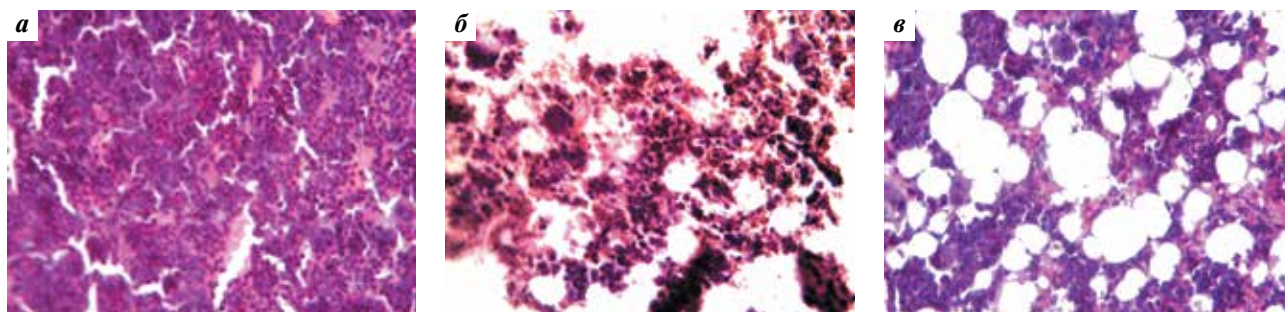


Рис. 1. Морфологические изменения в костном мозге крыс на 3-и сутки после применения гидроксикарбамида и гидреа в суммарной дозе 3000 мг/кг: а — после применения 1 % крахмального клейстера (контрольная группа): высокая плотность содержания кроветворных клеток; б — после применения гидроксикарбамида: уменьшенное содержание и некоторая деструкция кроветворных клеток; в — после применения гидреа: уменьшенное содержание и некоторая деструкция кроветворных клеток, повышенное число жировых клеток. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 1. Morphological changes in the rat bone marrow on day 3 after hydroxycarbamide and hydrea application with total dose of 3000 mg/kg: а — after application of 1 % starch paste (control group): high density of hematopoietic cells; б — after application of hydroxycarbamide: decreased number and some destruction of hematopoietic cells; в — after hydrea application: decreased number and some destruction of hematopoietic cells, increased number of fat cells. Hematoxylin and eosin staining, $\times 400$

по общепринятым методикам, включавшим фиксацию материала в 10 % нейтральном формалине и окраску срезов гематоксилином и эозином. Гистологические препараты исследовали и фотографировали под световым микроскопом Leica DM 1000 с использованием цветной цифровой камеры Leica DFC295 и компьютерной программы визуализации и захвата изображения.

Результаты и обсуждение

На 3-и сутки после 5-кратного ежедневного перорального введения 1 % крахмального клейстера крысам (контрольная группа) при макроскопическом и гистологическом исследовании внутренних органов изменения не обнаружены. Морфологическая (гистологическая) картина внутренних органов у 5 грызунов была сходной и соответствовала морфологической картине, обычно наблюдаемой у интактных неинбредных крыс-самцов.

На 3-и сутки после окончания применения ГК и ГД в суммарной дозе 3000 мг/кг у большинства животных, в отличие от контрольной группы, наблюдали уменьшение величины тимуса и селезенки, что согласуется с некоторым уменьшением массы этих органов [16]. А после применения ГК и ГД в суммарной дозе 1500 отмечали лишь уменьшение величины тимуса у отдельных крыс. У животных, получивших ГК и ГД в суммарной дозе 750 мг/кг, эти изменения не выражены.

При гистологическом исследовании внутренних органов крыс на 3-и сутки после окончания применения ГК и ГД в суммарной дозе 3000 мг/кг, в отличие от контрольной группы, отмечены морфологические изменения разной степени. Так, в костном мозге большинства грызунов выявлено уменьшение содержания (умеренная гипоплазия) ядросодер-

жащих гемопоэтических клеток, среди которых обнаруживаются островки жировых клеток (рис. 1). В тимусе большинства крыс наблюдалось выраженное снижение содержания лимфоцитов в корковом веществе (рис. 2). В селезенке после применения ГК, как и после ГД, несколько уменьшены площадь красной пульпы и количество ядросодержащих клеток в ней, причем в некоторых зонах хорошо были видны ретикулярные клетки. В сердце, в миокарде левого желудочка у большинства грызунов после применения ГК, как и после применения ГД, среди кардиомиоцитов выявлены немногочисленные участки измененных набухших кардиомиоцитов с повышенной окраской эозином и слабовыраженной поперечнополосатой исчерченностью (очаги гипоксии). В слизистой оболочке железистого отдела желудка у отдельных крыс после применения ГК и ГД отмечены участки деструкции поверхностного призматического эпителия, а у единичных самцов в фундальных железах — деструкция и вакуолизация цитоплазмы париетальных клеток. В тонком кишечнике (в двенадцатиперстной или тощей кишке) некоторых крыс после применения ГК и ГД в апикальной зоне ворсинок выявлены десквамация энтероцитов, некроз, а также воспалительная инфильтрация и отек стромы ворсинок (рис. 3). В почках самцов после применения ГК, как и после применения ГД, в прямых канальцах и собирательных трубочках мозгового вещества обнаруживались комочки погибшего десквамированного эпителия (рис. 4). В мозговом веществе у 1 крысы после применения ГК обнаружен очаг фиброза, а после применения ГД у 1 грызуна выявлены киста и участок фиброза. В корковом веществе почек у отдельных крыс находили вакуолизацию цитоплазмы некоторых клеток эпителия извитых канальцев. Учитывая изложенное, можно видеть, что при высокой

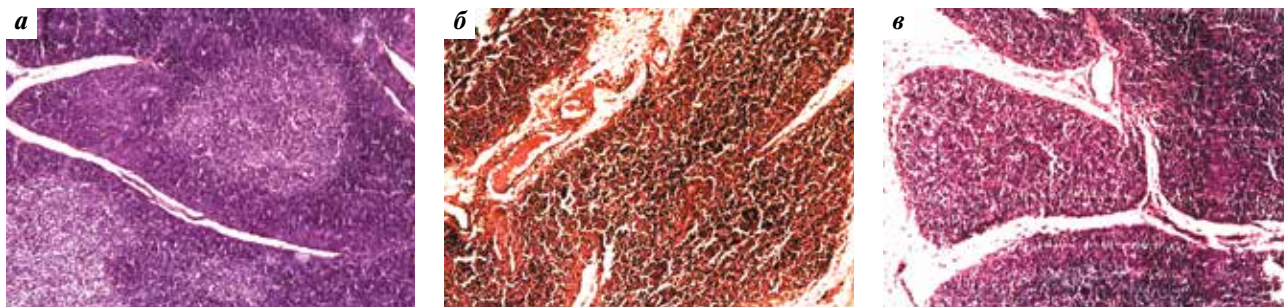


Рис. 2. Морфологические изменения в тимусе крыс на 3-и сутки после применения гидроксикарбамида и гидреа в суммарной дозе 3000 мг/кг: а — после применения 1 % крахмального клейстера (контрольная группа): высокое содержание лимфоцитов в корковом веществе; б — после применения гидроксикарбамида: выраженное снижение содержания лимфоцитов в корковом веществе (гипоплазия лимфоцитов); в — после применения гидреа: выраженное снижение содержания лимфоцитов в корковом веществе (гипоплазия лимфоцитов). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Fig. 2. Morphological changes in the rat thymus on day 3 after hydroxycarbamide and hydrea application with total dose of 3000 mg/kg: а — after application of 1 % starch paste (control group): high numbers of lymphocytes in the cortex; б — after application of hydroxycarbamide: pronounced decrease in lymphocytes in the cortex (lymphocyte hypoplasia); в — after hydrea application: pronounced decrease in lymphocytes in the cortex (lymphocyte hypoplasia); hematoxylin and eosin staining, $\times 100$

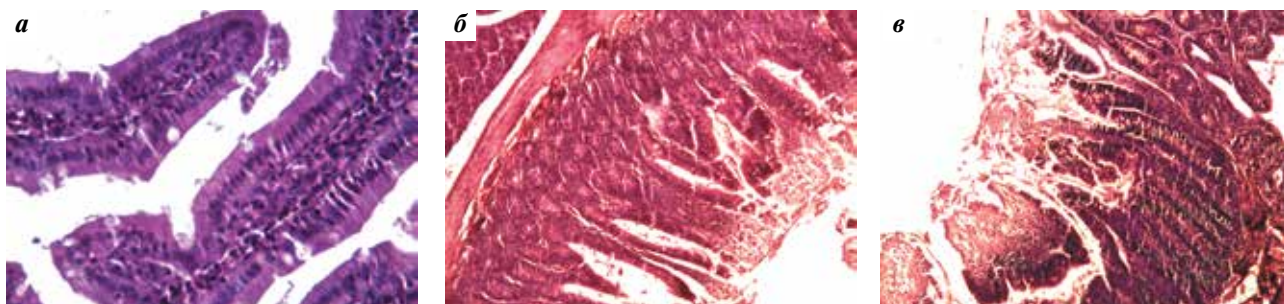


Рис. 3. Морфологические изменения в тонком кишечнике крыс на 3-и сутки после применения гидроксикарбамида и гидреа в суммарной дозе 1500 мг/кг: а — после применения 1 % крахмального клейстера (контроль): неизмененные ворсинки слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки; б — после применения гидроксикарбамида: участок слизистой оболочки тонкой кишки с деструктивными, некротическими и воспалительными изменениями апикальной зоны ворсинок; в — после применения гидреа: участок слизистой оболочки тонкой кишки с деструктивными, некротическими и воспалительными изменениями апикальной зоны ворсинок. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 3. Morphological changes in the rat small intestine on day 3 after hydroxycarbamide and hydrea application with total dose of 1500 mg/kg: а — after application of 1 % starch paste (control): unchanged villi of the duodenal mucosa; б — after application of hydroxycarbamide: a fragment of the duodenal mucosa with destructive, necrotic and inflammatory changes in the apical part of the villi; в — after hydrea application: a fragment of the duodenal mucosa with destructive, necrotic and inflammatory changes in the apical part of the villi; hematoxylin and eosin staining, $\times 400$

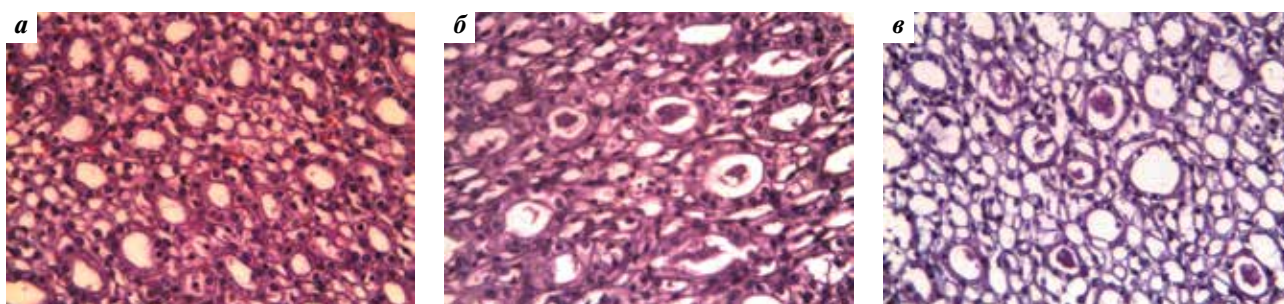


Рис. 4. Морфологические изменения в почках крыс на 3-и сутки после применения гидроксикарбамида и гидреа в суммарной дозе 3000 мг/кг: а — после применения 1 % крахмального клейстера (контроль): участок мозгового вещества — просветы собирательных трубочек и прямых канальцев свободны; б — после применения гидроксикарбамида: в просвете некоторых собирательных трубочек и прямых канальцев — десквамированный погибший эпителий («цилиндры»); в — после применения гидреа: в просвете некоторых собирательных трубочек и прямых канальцев — десквамированный погибший эпителий («цилиндры»). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

Fig. 4. Morphological changes in the rat kidney on day 3 after hydroxycarbamide and hydrea application with total dose of 3000 mg/kg: а — after application of 1 % starch paste (control): fragment of the medulla — lumens of the collector and straight tubules are empty; б — after application of hydroxycarbamide: desquamated dead epithelium ("cylinders") in the lumen of some collector and straight tubules; в — after hydrea application: desquamated dead epithelium ("cylinders") in the lumen of some collector and straight tubules; hematoxylin and eosin staining, $\times 400$

суммарной дозе 3000 мг/кг, соответствующей 2 МПД, оба препарата вызвали сходные изменения в одинаковых органах животных. Наиболее выраженные и четкие изменения отмечены в тимусе, костном мозге, селезенке, желудке, тонкой кишке, менее выраженные — в сердце и почках.

При гистологическом исследовании внутренних органов крыс на 3-и сутки после окончания применения ГК и ГД в суммарной дозе 1500 мг/кг морфологические изменения отмечены у отдельных животных в тимусе (в виде умеренной гипоплазии корковой зоны) и в почках (в виде десквамированного эпителия в прямых канальцах мозгового вещества и вакуолизации цитоплазмы некоторых клеток эпителия извитых канальцев коркового вещества). Кроме того, у некоторых крыс после применения ГК, как и после ГД, в слизистой оболочке железистого желудка отмечены участки разрыхления, отека и деструкции покровного призматического эпителия, а в двенадцатиперстной и тощей кишке наблюдались деструктивные и воспалительные изменения ворсинок.

Следует отметить, что после применения ГК в суммарной дозе 1500 мг/кг изменения в костном мозге, селезенке и сердце, отмеченные при применении суммарной дозы 3000 мг/кг (2 МПД), не наблюдались, тогда как после применения ГД в этой же дозе у отдельных крыс в костном мозге отмечена умеренная гипоплазия гемопоэтических клеток, а в селезенке (в красной пульпе) — некоторое снижение содержания ядросодержащих клеток. На основании изложенного можно сделать вывод, что оба препарата при применении суммарной дозы 1500 мг/кг, соответствующей МПД, оказали сходное действие на тимус, желудок и тонкую кишку крыс.

Но ГК в отличие от ГД не вызвал изменений в костном мозге, селезенке и сердце животных.

При применении ГК и ГД в суммарной дозе 750 мг/кг (1/2 МПД) макроскопическая и гистологическая картина во внутренних органах животных практически не отличалась от контрольной группы.

На 30-е сутки после окончания перорального применения ГК и ГД в суммарных дозах 3000, 1500 и 750 мг/кг макроскопические изменения внутренних органов не наблюдались, как и у самцов контрольной группы.

Гистологическое исследование на 30-е сутки после введения ГК и ГД в суммарных дозах 3000 и 1500 мг/кг показало, что изменения в тимусе, костном мозге, селезенке и железистом желудке крыс полностью исчезали, морфологическая картина в этих органах соответствовала контрольной группе. В двенадцатиперстной и в тощей кишке у некоторых крыс отмечены признаки остаточных воспалительных и атрофических изменений в виде укорочения и расширения ворсинок. Кроме того, в этот срок в семенниках большинства самцов, получивших ГК и ГД в суммарных дозах 3000 и 1500 мг/кг, обнаружены срезы семенных канальцев с атрофированным (сильно редуцированным) сперматогенным эпителием и пустым просветом семенного канальца (рис. 5). В почках отдельных крыс после применения ГК и ГД в суммарных дозах 3000 и 1500 мг/кг отмечали некоторые изменения в мозговом веществе: в просвете некоторых прямых канальцев и собирательных трубочек наблюдали гомогенные или зернистые цилиндры. А после окончания применения ГК в суммарной дозе 3000 мг/кг, кроме того, у 2 крыс в корковом веществе вблизи клубочков обнаружены признаки воспаления в виде мелких одиночных воспалительных

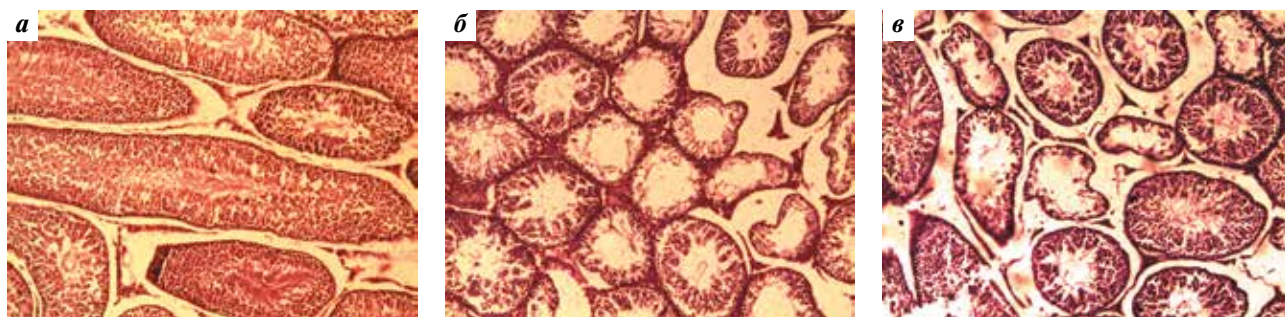


Рис. 5. Морфологические изменения в семенниках крыс на 30-е сутки после применения гидроксикарбамида и гидреа в суммарной дозе 3000 мг/кг: а — после применения 1 % крахмального клейстера (контроль): в срезах семенных канальцев — клетки сперматогенного эпителия на разных стадиях сперматогенеза; б — после применения гидроксикарбамида: среди срезов с неповрежденным сперматогенным эпителием видны срезы с повреждением и атрофией клеток сперматогенного эпителия; в — после применения гидреа: среди срезов с неповрежденным сперматогенным эпителием видны срезы с повреждением и атрофией клеток сперматогенного эпителия. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Fig. 5. Morphological changes in the rat testis on day 3 after hydroxycarbamide and hydrea application with total dose of 3000 mg/kg: а — after application of 1 % starch paste (control group): in testis sections — spermatogenic epithelial cells at different stages of spermatogenesis; б — after application of hydroxycarbamide: among sections with undamaged spermatogenic epithelium are sections with damaged and atrophied spermatogenic epithelial cells; в — after hydrea application: among sections with undamaged spermatogenic epithelium are sections with damaged and atrophied spermatogenic epithelial cells; hematoxylin and eosin staining, $\times 100$

инфильтратов из мононуклеаров. В сердце единичных самцов, в миокарде левого желудочка после применения ГК и ГД в суммарной дозе 3000 мг/кг отмечены небольшие очаги измененных набухших кардиомиоцитов, а после применения ГК в суммарной дозе 1500 мг/кг, кроме того, вблизи поврежденных кардиомиоцитов обнаружен мононуклеарный инфильтрат.

Таким образом, можно утверждать, что на 30-е сутки после применения ГК, как и ГД, в дозах 3000 и 1500 мг/кг оба препарата обнаруживают сходные изменения в семенниках, показывают их полную обратимость в тимусе, костном мозге и селезенке, остаточные изменения в почках и тонком кишечнике, несильно выраженные очаговые изменения в миокарде.

Сравнение результатов морфологических проявлений токсичности ГД и ГК в нашем исследовании с данными результатов других исследований токсичности производных гидроксимочевин, проведенных

на грызунах, показало, что мишенями повреждающего действия обоих сравниваемых препаратов являются одни и те же органы: тимус, костный мозг, селезенка, семенники, желудок и тонкий кишечник. Но, кроме перечисленных органов, в исследованиях, представленных в разных источниках литературы, изменения наблюдались и в других органах крыс: в печени и легких. Суммарные дозы препаратов были либо выше суммарных доз, которые использовались в нашем исследовании, либо применение препаратов было более длительным (не менее 10 дней) [3–5].

Заключение

Отечественный воспроизведенный препарат ГК при 5-кратном ежедневном пероральном применении в суммарных дозах 3000, 1500 и 750 мг/кг по патоморфологическим критериям оценки влияния на внутренние органы крыс оказался в целом идентичным препарату сравнения — ГД (Италия).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Характеристика отдельных противоопухолевых препаратов. В кн.: Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. Под ред. Н.И. Переводчиковой. 3-е изд., доп. и перераб. М.: Практическая медицина, 2011. С. 72–119. [Characteristics of individual anticancer drugs. In: Chemotherapy Guide for Tumor Diseases. 3rd edn., additional and revised. Ed.: N.I. Perevodchikova. Moscow: Prakticheskaya medicina, 2011. P. 72–119. (In Russ.)].
2. Гидреа — официальная инструкция по применению. https://medi.ru/instrukciya/gidrea_3182/ [Hydrea — the official instruction on the application. https://medi.ru/instrukciya/gidrea_3182/ (In Russ.)].
3. Клинико-фармакологическая характеристика противоопухолевых средств. В кн.: Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. Под ред. Н.И. Переводчиковой, 3-е изд., доп. и перераб. М.: Практическая медицина, 2011. С. 30–40. [Clinical and pharmacological characteristics of anticancer drugs. In: Chemotherapy Guide for Tumor Diseases. 3rd edn., additional and revised. Ed.: N.I. Perevodchikova. Moscow: Prakticheskaya meditsina, 2011. P. 30–40. (In Russ.)].
4. Frederick S. Philips, Stephen S. Sternberg, Herbert S. Schwartz et al. Hydroxyurea. I. Acute cell death in proliferating tissues in rats. Cancer Res 1967;27(1):61–74.
5. Asmaa M. Khamis, Samah S. Oda, Asmaa F. Khafaga et al. Hematocytological Evaluation of Hydroxyurea-Induced Toxicity in Male Rats. AJVS 2017;55(2):77–82. DOI: 10.5455/ajvs.267052.
6. Morton D., Reed L., Huang W. et al. Toxicity of Hydroxyurea in Rats and Dogs. Toxicol Pathol 2015;43(4):498–512. DOI: 10.1177/0192623314559103.
7. Денисова М.Н., Пархоменко Д.В. Дженерики и их место в лекарственном обеспечении. Медицинские технологии. Оценка и выбор 2012;2(8):94–9. [Denisova M.N., Parhomenko D.V. Generics and their place in drug supply. Meditsinskiye tekhnologii. Otsenka i vybor = Medical Technology. Evaluation and Selection 2012;2(8):94–9. (In Russ.)].
8. Гускова Т.А. Оценка безопасности применения генериков в странах СНГ: проблемы и перспективы. Биомедицина 2010;4:74–6. [Guskova T.A. Safety assessment of generic use in the CIS countries: problems and prospects. Biomeditsina = Biomedicine 2010;4:74–6. (In Russ.)].
9. Бухман В.М., Ермакова Н.П., Коняева О.И. и др. Эквитоксичность Цисплатина—РОНЦ® и Цисплатина—Тева при однократном введении мышам и крысам. Российский биотерапевтический журнал 2018;17(3):65–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-3-65-69. [Bukhman V.M., Ermakova N.P., Konyaeva O.I. et al. The equitoxicity of Cisplatin-RONC® and Cisplatin-Teva at a single injection to mice and rats. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2018;17(3):65–9. (In Russ.)].
10. Абрамова Т.В., Меркулова И.Б., Кульбачевская Н.Ю. и др. Сравнительное патоморфологическое исследование внутренних органов крыс при доклиническом изучении воспроизведенного винкристина—РОНЦ и винкристина фирмы Teva. Российский биотерапевтический журнал 2018;17(1):76–82. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-1-76-82. [Abramova T.V., Merkulova I.B., Kulbachevskaya N.Yu. et al. The comparative pathomorphological research of the internal organs of rats on the preclinical study of vincristine-RONC and vincristine-TEVA. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2018;17(1):76–82. (In Russ.)].
11. Меркулова И.Б., Абрамова Т.В., Кульбачевская Н.Ю. и др. Сравнительное патоморфологическое исследование внутренних органов крыс при 3-кратном внутривенном применении отечественного воспроизведенного оксалиплатина и оксалиплатина фирмы Teva. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(1):111. [Merkulova I.B., Abramova T.V., Kulbachevskaya N.Yu. et al. The comparative pathological study of the internal organs of rats with 3 times intravenous administration of domestic reproduced oxaliplatin and oxaliplatin of the Teva company.

- Rossiysky bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2014;13(1):111. (In Russ.).
12. Кульбачевская Н.Ю., Коняева О.И., Ермакова Н.П. и др. Сравнительное токсикологическое изучение отечественного воспроизведенного винкристина и винкристина фирмы Teva. *Российский биотерапевтический журнал* 2016;15(1):56. [Kulbachevskaya N.Yu., Konyaeva O.I., Ermakova N.P. et al. the comparative toxicological study of domestic reproduced vincristine and vincristine of the Teva company. *Rossiysky bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2016;15(1):56. (In Russ.)].
 13. Кульбачевская Н.Ю., Коняева О.И., Ермакова Н.П. и др. Сравнительное токсикологическое изучение отечественного воспроизведенного оксалиплатина и оксалиплатина фирмы Teva. *Российский биотерапевтический журнал* 2014;13(1):102. [Kulbachevskaya N.Yu., Konyaeva O.I., Ermakova N.P. et al. The comparative toxicological study of domestic reproduced oxalyplatin and oxaliplatin of the Teva company. *Rossiysky bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2014;13(1):102. (In Russ.)].
 14. Меркулова И.Б., Абрамова Т.В., Коняева О.И. и др. Сравнительное патоморфологическое изучение воспроизведенного метотрексата и метотрексата-Эбеве. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(1):105. [Merkulova I.B., Abramova T.V., Kulbachevskaya N.Yu. et al. The comparative pathomorphological study the reproduced metotrexate and metotrexate-Ebeve. *Rossiysky bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2015;14(1):105. (In Russ.)].
 15. Коняева О.И., Кульбачевская Н.Ю., Ермакова Н.П. и др. Сравнительное токсикологическое изучение отечественного воспроизведенного метотрексата и метотрексата фирмы Эбеве. *Российский биотерапевтический журнал* 2015;14(1):94. [Konyaeva O.I., Kulbachevskaya N.Yu., Ermakova N.P. et al. the comparative toxicological study of domestic reproduced metotrexate and metotrexate of the Ebeve company. *Rossiysky bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2015;14(1):94. (In Russ.)].
 16. Коняева О.И., Кульбачевская Н.Ю., Чалей В.А. и др. Эквитоксичность отечественного гидроксикарбамида и препарата сравнения гидреа на крысах. *Российский биотерапевтический журнал* 2019;18(1):80–6. DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-1-80-86. [Konyaeva O.I., Kulbachevskaya N.Yu., Chaley V.A. et al. The equitoxicity of the domestic hydroxycarbamide and the reference drug hydrea on rats. *Rossiysky bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2019;18(1):80–6. (In Russ.)].
 17. Методические указания по изучению общетоксического действия противопухолых фармакологических средств. В кн.: *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Под ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд., доп. и перераб. 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*. 2nd edn., revised and additional edition. Ed.: R.U. Khabriev. Moscow: Meditsina, 2005. P. 170–204 (In Russ.)].
 18. Миронов А.Н., Бутанян Н.Д. и др. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Ч.1. М.: Гриф и К, 2012. [Mironov A.N., Butanyan N.D. et al. *A guide to preclinical drug research*. Moscow: Grif i K, 2012. (In Russ.)].
 19. Березовская И.В., Гуськова Т.А., Дурнев А.Д. Методические рекомендации по изучению безопасности воспроизведенных лекарственных препаратов. *Биомедицина* 2011;3:78–80. [Berezovskaya I.V., Gus'kova T.A., Durnev A.D. The methodical recommendations for study of safety reproduced medicinal preparations. *Biomedicine* 2011;3:78–80 (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.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.
Compliance with principles of bioethics. The study was performed in accordance with ethical principles adopted by the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.

Статья поступила: 25.12.2018. Принята в печать: 12.04.2019.
Article received: 25.12.2018. Accepted for publication: 12.04.2019.