

УДК 616-018.1.127:615.277.3:547.597

СТРУКТУРНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ МИОКАРДА КРЫС И ЧИСЛЕННОСТЬ КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ДОКСОРУБИЦИНА И ТРИТЕРПЕНОИДОВ

Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Молодых Н.А.,
Клиникова М.Г., Молодых О.П.

*НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН,
Новосибирск, e-mail: pathol@soramn.ru*

Изучена структурная реорганизация миокарда крыс при введении доксорубина и тритерпеноидов (бетулоновой кислоты и ее β-аланиламида). Показано, что доксорубин вызывает значительные некробиотические повреждения кардиомиоцитов, их гибель, обуславливая уменьшение массы сердца и общей численности кардиомиоцитов. Одновременно происходит значительное уменьшение репликативного пула миокарда – доли одноядерных кардиомиоцитов. При введении бетулоновой кислоты и ее β-аланиламида в схему химиотерапии отмечаются сходные морфофункциональные изменения миокарда, но степень выраженности изменений массы сердца, общей численности КМЦ и доли одноядерных клеток различна. При использовании обоих тритерпеноидов после однократного введения доксорубина численность кардиомиоцитов в сердце снижается в меньшей степени, чем только после введения одного цитостатика. Установленная возможность восстановления численности кардиомиоцитов после воздействия кардиотоксическими препаратами и изменения соотношения одно- и двуядерных кардиомиоцитов под действием тритерпеноидов может способствовать развитию новых технологий стимулирования клеточных форм регенерации кардиомиоцитов при сердечной патологии.

Ключевые слова: миокард, численность кардиомиоцитов, репликативный резерв, доксорубин, бетулоновая кислота и ее амид

STRUCTURAL REORGANIZATION OF THE RAT MYOCARDIUM AND CARDIOMYOCYTE NUMBER UNDER INFLUENCE OF DOXORUBICIN AND TRITERPENOIDS

Lushnikova E.L., Nepomnyashchikh L.M., Molodykh N.A.,
Klinnikova M.G., Molodykh O.P.

*Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology SD RAMS,
Novosibirsk, e-mail: pathol@soramn.ru*

Structural reorganization of rat myocardium under the impact of doxorubicin, betulonic acid and its β-alanine amide was studied. It is shown that the cardiotoxic effects of doxorubicin appear in the necrobiotic cardiomyocyte damages and their death resulting in decrease of heart mass and reduction in the total number of cardiomyocytes. At the same time the replicative pool of cardiomyocytes, namely mononuclear cells, was significantly reduced. The impact doxorubicin followed by betulonic acid and its β-alanine amide caused similar morphofunctional damages of myocardium, but changes in heart mass, total cardiomyocyte number and mononuclear cell share were differed. Under combination both triterpenoids with doxorubicin the total cardiomyocyte number reduced less than after cytostatic agent along. The possibility revealed restoring cardiomyocyte number in heart after influence of cardiotoxic drugs so as variations in proportions of mono- and binucleated cells may promote the development of new technologies for stimulation of cardiomyocyte regeneration in cardiac pathology.

Keywords: myocardium, total cardiomyocyte number, replicative pool, doxorubicin, betulonic acid and its β-alanine amide

Кардиотоксические эффекты веществ с противоопухолевой активностью, в первую очередь, антрациклиновых антибиотиков, связаны с развитием необратимой кардиомиопатии и сердечной недостаточности в течение длительных сроков после окончания лечения [4, 9]. В последнее время ведутся поиск и разработка протективных и регенераторных технологий, снижающих кардиотоксическое действие и повышающих переносимость традиционной химиотерапии [3, 6, 10]. Одним из таких путей является поиск новых биологически активных агентов растительного происхождения, которые обычно обладают комплексной активностью (органопротекторной, антиоксидантной,

противовоспалительной и иммуномодулирующей) и лучше переносятся организмом. К таким соединениям относятся тритерпеноиды лупанового ряда, в частности бетулоновая кислота и ряд ее производных, обладающих широким спектром биологической активности, что позволяет использовать их в клинической практике [6].

Для оценки кардиотоксических и цитопротекторных эффектов цитостатиков и возможных корректоров/модификаторов биологических реакций большое значение имеет выяснение характера и выраженности повреждений тканей и клеток, форм их регенерации на основе комплексного морфологического анализа.

Цель исследования – сравнительное изучение характера структурной реорганизации миокарда экспериментальных животных при действии доксорубина и тритерпеноидов (бетулоновой кислоты и ее аланиламида) с оценкой общей численности кардиомиоцитов в сердце как интегрального показателя выраженности регенераторных реакций.

Материал и методы исследования

Исследования проведены на 60 крысах-самцах Вистар, содержащихся в стандартных условиях вивария. Все эксперименты проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755) и «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г.

Комплексный морфологический анализ миокарда крыс Вистар выполнен при моделировании доксорубиновых повреждений и при использовании производных бетулина – бетулоновой кислоты (3-оксо-20(29)-лупен-28-овая кислота) и ее β-аланиламида ([3-оксо-20(29)-лупен-28-оил]-3-аминопропионовая кислота), синтезированных в лаборатории медицинской химии Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН [6].

Животные были разделены на 6 экспериментальных групп. Животным 1-й группы ($n = 10$) вводили однократно внутрибрюшинно доксорубин (ДОК) («ЛЭНС-Фарм», Москва) в дозе 7 мг/кг. Животным 2-й группы ($n = 12$) через 1 сут после однократного внутрибрюшинного введения ДОК ежедневно внутривенно вводили водно-твиновый раствор бетулоновой кислоты (БК) в дозе 50 мг/кг. Крысам 3-й группы ($n = 12$) через 1 сут после однократного внутрибрюшинного введения ДОК ежедневно вводили водно-твиновый раствор амида БК в дозе 50 мг/кг. Животным 4-й группы ($n = 10$) вводили ежедневно водно-твиновый раствор БК в той же дозе, а животным 5-й группы ($n = 10$) – ежедневно раствор амида БК. Контрольной (6-й) группе животных ($n = 6$) внутрибрюшинно однократно вводили физиологический раствор в соответствующем их массе тела объеме, а затем ежедневно внутривенно вводили воду. Половину животных всех групп декапитировали с использованием эфирного наркоза через 3 сут, другую половину – через 14 сут после введения препаратов.

После вскрытия грудной клетки сердце быстро отделяли от окружающих тканей и взвешивали, для получения парафиновых срезов образцы фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина и для получения полутонких срезов – в 4%-м растворе параформальдегида. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином с постановкой реакции Перлса и по ван Гизону. Полутонкие срезы окрашивали 1%-м раствором азура II. Исследование и морфометрический анализ (измерение диаметра КМЦ) проводили в универсальном микроскопе «Leica DM 4000B» с использованием цифровой фотокамеры «Leica DFC 320» и компьютерной программы «Leica QWin».

Для количественной оценки общей популяции КМЦ в сердце применяли метод щелочной диссоциации фиксированных тканей [1]. Кроме общей численности КМЦ в сердце определяли количественное

соотношение одно-, дву- и многоядерных (3 и более ядер) КМЦ. Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Морфологические изменения миокарда через 3 сут после однократного введения ДОК (1-я группа) проявлялись в выраженных нарушениях кровообращения и значительных литических изменениях одних КМЦ и контрактурных повреждениях других. Морфологическими эквивалентами литических повреждений КМЦ на светоптическом уровне являются нарушение компактной упаковки и разрежение миофибрилл, выраженное просветление цитоплазмы, образование очагов «опустошения», преимущественно вблизи ядер. Наблюдался некроз и некробиоз отдельных КМЦ со скоплениями в данных участках моноклеаров. Нарушения кровообращения в виде значительного венозного полнокровия и развития выраженного межволоконного и интерстициального отека способствовали разволокнению миокарда.

Анализ абсолютного числа КМЦ в сердце выявил снижение этого параметра (на 13%, $p < 0,05$), что сопровождалось изменением соотношения одно- и двуядерных КМЦ, а именно уменьшением доли одноядерных клеток (на 4,1%) и соответствующим увеличением доли двуядерных клеток (таблица). Снижение абсолютной численности КМЦ обусловлено кардиотоксическим эффектом этого препарата и гибелью клеток преимущественно путем апоптоза [4]. По нашим данным и результатам других исследователей [3, 7], одноядерные КМЦ сохраняют способность вступать в клеточный цикл, завершающийся кариокинезом, что приводит к снижению их количества и соответственно, к увеличению пула двуядерных КМЦ. Снижение доли одноядерных КМЦ может свидетельствовать об истощении регенераторных резервов миокарда. Важно отметить, что снижение общей численности КМЦ и уменьшение их размеров (снижение диаметра КМЦ на 11%) вызывало снижение массы сердца (на 6%) без изменений массы тела.

Через 14 сут после воздействия ДОК литические повреждения КМЦ и интерстициальный отек сохранялись, у некоторых животных – усиливались. В результате гибели КМЦ формировались мелкие очаги кардиосклероза. Происходило дальнейшее снижение общей численности КМЦ и доли одноядерных клеток (соответственно на 40%, $p < 0,05$, и 4,8%, $p < 0,01$); диаметр КМЦ снижался на 25%. Эти изменения вызвали существенное уменьшение массы серд-

ца (на 24%, $p < 0,05$) и свидетельствовали о выраженном кардиотоксическом эффекте данного антрациклинового антибиотика даже через 2 недели после его введения.

Морфометрический анализ и количественная оценка популяции кардиомиоцитов в сердце крыс Вистар после воздействия доксорубина и производных бетулина ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Экспериментальные группы				
		ДОК	ДОК+БК	ДОК+АБК	БК	АБК
<i>3 сут</i>						
Масса тела, г	222,7 ± 6,4	217,0 ± 22,4	189,2 ± 13,6	244,0 ± 1,9	233,1 ± 7,7	210,8 ± 5,2
Масса сердца, г	0,89 ± 0,03	0,84 ± 0,07	0,75 ± 0,04*	0,92 ± 0,02	0,84 ± 0,05	0,86 ± 0,07
Диаметр кардиомиоцитов, мкм	14,99 ± 0,20	13,32 ± 0,17	12,24 ± 0,70*	13,98 ± 0,24	15,26 ± 0,42	15,36 ± 0,26
Концентрация кардиомиоцитов, 10 ³ /мг ткани	14,654 ± 0,487	15,340 ± 1,120	15,115 ± 0,869	14,790 ± 0,555	16,741 ± 1,549	17,672 ± 1,629
Абсолютная численность кардиомиоцитов в сердце, x10 ⁶	11,086 ± 0,453	9,610 ± 0,200*	10,684 ± 0,787	11,416 ± 1,095	11,868 ± 0,812	11,947 ± 1,186
Количество клеток, %:						
однойдерных	19,7 ± 0,5	15,6 ± 2,1	15,3 ± 2,4	12,7 ± 1,0*	24,0 ± 5,4	30,4 ± 6,9
двухдерных	79,2 ± 0,5	83,1 ± 1,8	84,1 ± 2,3	87,0 ± 0,9*	75,1 ± 5,2	68,8 ± 6,9
многодерных (3 и более ядер)	1,1 ± 0,2	1,3 ± 0,5	0,6 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,8 ± 0,4	0,8 ± 0,6
<i>14 сут</i>						
Масса тела, г	319,0 ± 3,8	209,4 ± 17,0*	253,6 ± 29,1	279,6 ± 9,9*	246,2 ± 19,0*	258,2 ± 26,5
Масса сердца, г	1,03 ± 0,03	0,78 ± 0,08*	0,88 ± 0,06	0,96 ± 0,04	0,93 ± 0,06	0,96 ± 0,06
Диаметр кардиомиоцитов, мкм	14,75 ± 0,38	11,03 ± 0,36*	13,19 ± 0,78	15,16 ± 0,29	15,00 ± 0,08	14,59 ± 0,24
Концентрация кардиомиоцитов, 10 ³ /мг ткани	14,811 ± 0,500	15,656 ± 0,664	14,124 ± 1,269	16,522 ± 0,967	15,217 ± 0,959	15,289 ± 1,443
Абсолютная численность кардиомиоцитов в сердце, x10 ⁶	13,807 ± 1,029	8,429 ± 1,055*	10,116 ± 0,622*	12,961 ± 0,241	12,284 ± 1,094	13,414 ± 0,958
Количество клеток, %:						
однойдерных	14,3 ± 0,7	9,5 ± 0,4**	13,2 ± 1,8	9,8 ± 1,1*	13,9 ± 1,4	16,1 ± 1,6
двухдерных	85,5 ± 0,8	90,3 ± 0,4	85,9 ± 2,3	89,7 ± 1,1*	85,4 ± 1,7	83,2 ± 1,6
многодерных (3 и более ядер)	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,9 ± 0,5	0,4 ± 0,05	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2

Примечание. ДОК – доксорубин, БК – бетулоновая кислота, АБК – амид бетулоновой кислоты. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ при сравнении с контролем.

Уменьшение диаметра КМЦ (атрофические изменения) связано с нарушением воспроизводства внутриклеточных структур, т.е. пластическим обеспечением функций мышечных клеток сердца в результате снижения или подавления синтеза белков под действием ДОК. Сердечную недостаточность, которая развивается в подобных случаях, мы расцениваем как регенераторно-пластическую недостаточность [4]. К основным типам повреждения КМЦ при регенераторно-пластической недостаточности относятся литические изменения с редукцией миофибриллярных пучков, основным видом клеточной гибели является апоптоз. Повреждения и гибель КМЦ носят диффузный характер и при хроническом течении сопровождаются развитием диффузного или мелкоочагового кардиосклероза. Ремоделирование сердца при хронической регенераторно-пластической недостаточности проходит, как правило, по дилатаци-

онному варианту, что является причиной развития застойной сердечной недостаточности в отдаленные сроки после противоопухолевого лечения [2].

После введения ДОК и последующего применения БК (2-я группа) в миокарде крыс Вистар через 3 сут присутствовали КМЦ как с литическими, так и контрактурными повреждениями миофибрилл, при этом многие КМЦ сохраняли свои тинкториальные свойства. В некоторых зонах миокарда наблюдался некробиоз КМЦ и развитие заместительного кардиосклероза. Как и в 1-й группе, регистрировались нарушения гемодинамики в виде полнокровия сосудов, интерстициального отека, значительного в некоторых зонах миокарда. Общая численность КМЦ в сердце у крыс этой группы была снижена в меньшей степени, чем в 1-й группе (на 4%), но доля однойдерных клеток была уменьшена в той же степени (на 4,4%). В большей степени уменьшались

размеры КМЦ, о чем свидетельствовало заметное уменьшение их диаметра (на 18%, $p < 0,05$) (см. таблицу). Именно это обстоятельство обусловило наиболее значительное снижение массы сердца в этот срок эксперимента (на 16%, $p < 0,05$) среди всех исследованных групп.

Через 14 сут у крыс этой группы морфологические изменения литические и контрактурные повреждения КМЦ сохранялись, но становились менее выраженными. В некоторых участках в результате гибели КМЦ формировались мелкие очаги кардиосклероза. Здесь же наиболее выраженными были явления интерстициального отека. Одновременно в разных зонах миокарда регистрировались кластеры «малых» одноядерных или двуядерных КМЦ с близко расположенными ядрами, которые мы относим к новообразованным клеткам. Общее количество КМЦ в сердце резко снижалось (на 27%), но доля одноядерных КМЦ восстанавливалась почти до уровня контроля. Следовательно, можно говорить о восстановлении пула этих клеток, то есть о восстановлении репликативного резерва миокарда. В то же время размеры КМЦ оставались уменьшенными (диаметр был снижен на 11%), что обуславливало сохранение уменьшенной массы сердца (на 14%, $p < 0,05$) в этот период эксперимента.

После введения ДОК и последующего применения амида БК (3-я группа) через 3 сут эксперимента в миокарде также регистрировались КМЦ с литическими и контрактурными повреждениями, отмечалось полнокровие сосудов, в некоторых участках – выраженный интерстициальный отек, приводящий к разволокнению ткани. В целом морфологические изменения миокарда были сходными с таковыми у животных 2-й группы. В миокарде также появлялись «малые» кардиомициты с митотически делящимися ядрами. Общая численность КМЦ в этой группе не изменялась по сравнению с контролем, однако доля одноядерных КМЦ снижалась (на 5%, $p < 0,05$). Размеры КМЦ в этой группе снижались в меньшей степени (на 7%), чем в других группах с введением ДОК. Масса сердца соответственно сохранилась на уровне контроля, а масса тела увеличилась (на 10%, $p < 0,05$).

Через 14 сут у крыс 3-й группы выраженное полнокровие сосудов и интерстициальный отек сохранялись в основном во внутреннем слое миокарда стенки левого желудочка. Там же регистрировались наиболее распространенные литические и контрактурные повреждения КМЦ. Так же встречались кластеры «малых» КМЦ, что свидетельствовало о сохранении клеточной формы регенерации. Общая числен-

ность КМЦ и доля одноядерных КМЦ были уменьшены незначительно (соответственно на 6 и 4,5%, $p < 0,05$). Диаметр КМЦ восстанавливался до контрольного уровня, что способствовало сохранению массы сердца.

При введении только БК (4-я группа) и только АБК (5-я группа) через 3 сут отмечались сходные изменения миокарда: большинство клеток сохраняло нормальные морфологические и тинкториальные свойства, но регистрировались КМЦ с контрактурными и литическими изменениями. Нарушения гемодинамики проявлялись в виде полнокровия сосудов, сладжа эритроцитов, наблюдались очаги гемо- и плазморрагий, интерстициальный отек был умеренным. В миокарде регистрировались «малые» КМЦ с близко расположенными ядрами, что можно считать морфологическим эквивалентом прошедшего кариокинеза. При этом общая численность КМЦ в сердце несколько увеличивалась (соответственно на 2 и 8%), а доля одноядерных КМЦ снижалась (на 4,5 и 5,4%, $p < 0,05$), что могло отражать усиление кариокинеза. Диаметр КМЦ существенно не изменялся (см. таблицу). Все это в целом способствовало сохранению массы сердца на уровне контрольных значений.

Через 14 сут после применения тритерпеноидов в миокарде возрастало количество некробиотически измененных КМЦ, ядра таких клеток часто смешались в подсарколеммальную зону. Следует отметить возрастание количества как атрофированных, так и гипертрофированных КМЦ. Гемодинамические нарушения (преимущественно полнокровие) сопровождалась умеренной диффузной инфильтрацией стромы миокарда мононуклеарами; у некоторых животных развивался диффузный и мелкоочаговый кардиосклероз. Общая численность КМЦ в сердце у крыс 4-й группы в этот срок была несколько снижена (на 10%), но доля одноядерных клеток восстанавливалась до уровня контроля. У крыс 5-й группы общая численность КМЦ соответствовала контрольным значениям, а доля одноядерных КМЦ даже возрастала (на 2%). Эти данные свидетельствуют о восстановлении репликативного пула и активации регенераторных процессов. Диаметр КМЦ в обеих группах не отличался от контрольных значений.

Возможность регулярного обновления пула КМЦ на протяжении всей жизни и после воздействия цитотоксическими агентами продемонстрирована в ряде исследований, в которых представлены морфологические эквиваленты пролиферативной активности КМЦ и разработаны подходы к количественной оценке репликативного резерва миокарда [1, 3, 5, 7, 8]. В наших исследованиях показано, что после повреждающего цикло-

фосфанового воздействия происходят не только гибель и элиминация КМЦ, но и индукция их пролиферации [1, 5]. В миокарде после однократного введения циклофосфана (в дозе 125 мг/кг) мы наблюдали митотическое деление ядер КМЦ и появление «малых» КМЦ (длиной около 40 мкм) с близко расположенными ядрами. Такая картина соответствует завершению телофазы и не свойственна зрелым КМЦ.

Малые КМЦ, которые мы регистрировали при циклофосфановых и доксорубициновых повреждениях миокарда, а также при комбинированных воздействиях цитостатиков и тритерпеноидов, располагались часто на концах мышечных волокон и формировали своеобразные точки роста. В ряде случаев происходил интермедиантный рост мышечных волокон – за счет деления клеток, расположенных в середине волокон. Кроме митотического деления ядер КМЦ и телофаз, в миокарде встречались также картины формирования вставочных дисков между разделившимися малыми КМЦ с образованием одноядерных клеток. Выявление фаз митоза ядер КМЦ и формирование вставочных дисков (цитокинеза) с очевидностью свидетельствуют об их делении. Важной характеристикой индуцированного кардиомиогенеза является формирование кластеров новообразованных клеток.

Заключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что однократное введение ДОК вызывает значительные преимущественно литические повреждения КМЦ, сопровождающиеся их атрофией и апоптотической гибелью, что приводит к заметному уменьшению численности КМЦ в сердце и инволюции органа. Одновременно происходит значительное уменьшение репликативного пула миокарда – доли одноядерных КМЦ. При введении тритерпеноида (бетулоновой кислоты и ее β-аланиламида) в схему химиотерапии отмечаются сходные морфофункциональные изменения миокарда, но степень выраженности изменений массы сердца, общей численности КМЦ и доли одноядерных клеток различна. Введение ДОК с последующим применением БК вызывает наиболее значительное при сравнении с амидом БК снижение массы сердца и диаметра КМЦ через 3 сут эксперимента, через 14 сут – наиболее значительное уменьшение общей численности КМЦ. После введения ДОК с последующим применением амида БК масса сердца и общая численность КМЦ в сердце существенно не изменяются, но значительно снижается доля одноядерных клеток. При использовании обоих тритерпеноидов после однократного введения ДОК численность КМЦ в сердце снижалась в меньшей степени, чем только после введения одного цитостатика.

При изолированном введении интактным животным БК и ее β-аланиламид оказывают одновременно умеренное цитотоксическое и стимулирующее действие на КМЦ. Кардиотоксические эффекты тритерпеноидов проявляются в мелкоочаговой гибели КМЦ и развитии заместительного мелкоочагового кардиосклероза. В то же время оба агента не влияют существенно на изменения массы сердца и общей численности КМЦ при их применении в течение 13 сут, а в ранние сроки – стимулируют кариокинез в одноядерных КМЦ, что приводит к увеличению доли двуядерных клеток.

Полученные данные позволяют полагать, что БК и ее β-аланиламид могут быть использованы в комплексных схемах химиотерапии для стимуляции регенераторных реакций КМЦ и уменьшения осложнений противоопухолевой терапии.

Список литературы

1. Численность кардиомиоцитов в миокарде крыс при воздействии на организм агентов с противоопухолевой активностью – циклофосфана и тритерпеноидов / Е.Л. Лушникова, Т.Г. Толстикова, Л.М. Непомнящих, М.Г. Клиникова, О.П. Молодых, Е.А. Свиридов, Сорокина И.В., Жукова Н.А. // Бюл. экспер. биол. – 2007. – Т. 144, № 9. – С. 331–337.
2. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Розенберг В.Д. Морфологические и молекулярно-генетические основы дилатационной кардиомиопатии. – М.: Изд-во РАМН, 2004. – 192 с.
3. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Толстикова Т.Г. Патоморфология мышечных клеток сердца при действии циклофосфамида и тритерпеноидов. – М.: Изд-во РАМН, 2009. – 272 с.
4. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Семенов Д.Е. Регенераторно-пластическая недостаточность сердца: Морфологические основы и молекулярные механизмы. – М.: Изд-во РАМН, 2003. – 255 с.
5. Регенерация миокарда: Пролиферативный потенциал кардиомиоцитов и индукция кардиомиогенеза при альтернативной и пластической недостаточности сердца / Л.М. Непомнящих, Е.Л. Лушникова, П.М. Ларионов, М.Г. Шурыгин // Вестник РАМН. – 2010. – № 5. – С. 3–11.
6. Терпеноиды ряда лупана – биологическая активность и фармакологические перспективы. II. Полусинтетические производные лупана / Т.Г. Толстикова, И.В. Сорокина, Г.А. Толстиков и др. // Биоорганическая химия. – 2006. – Т. 32, № 3. – С. 291–307.
7. Bergmann O., Bhardwaj R.D., Bernard S. et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans // Science. – 2009. – Vol. 324, № 5923. – P. 98–102.
8. Chen X., Wilson R.M., Kubo H. et al. Adolescent feline heart contains a population of small, proliferative ventricular myocytes with immature physiological properties // Circ. Res. – 2007. – Vol. 100, № 4. – P. 536–544.
9. Schimmel K.J., Richel D.J., van den Brink R.B., Guchelaar H.J. Cardiotoxicity of cytotoxic drugs // Cancer Treat. Rev. – 2004. – Vol. 30, № 2. – P. 181–191.
10. Speyer J., Wasserheit C. Strategies for reduction of anthracycline cardiac toxicity // Semin. Oncol. – 1998. – Vol. 25, № 5. – P. 525–537.

Рецензенты:

Ляхович В.В., д.б.н., профессор, академик РАМН, зав. отделом молекулярной биологии и директор НИИ молекулярной биологии и биофизики Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск;

Поляков Л.М., д.м.н., профессор, зав. лабораторией медицинской биотехнологии и зам. директора по научной работе НИИ биохимии Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск.