

ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ КАРДИОМИОЦИТОВ В СЕРДЦЕ ПРИ ИЗОЛИРОВАННОМ И СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ДОКСОРУБИЦИНА И АТОРВАСТАТИНА

Клиникова М.Г.¹, Турсунова Н.В.¹, Клочкова С.В.², Лушникова Е.Л.¹

¹Институт молекулярной патологии и патоморфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, e-mail: pathol@inbox.ru;

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, e-mail: rektorat@sechenov.ru

Изучена динамика общей численности кардиомиоцитов в сердце крыс породы Вистар при изолированном и сочетанном воздействии доксорубицина (внутрибрюшинно однократно в дозе 15 мг/кг) и аторвастатина (ежедневно внутривентрикулярно в дозе 20 мг/кг в течение 14 суток). Аторвастатин начинали вводить животным за 4 суток до инъекций доксорубицина. Абсолютную численность кардиомиоцитов в сердце оценивали с помощью метода щелочной диссоциации фиксированной ткани. Установлено, что доксорубицин при изолированном или сочетанном с аторвастатином введении оказывает выраженное повреждающее воздействие на кардиомиоциты, вызывая снижение их общей численности и, как следствие, заметное снижение массы сердца, что и является основой кардиотоксического эффекта этого антрациклинового антибиотика. При изолированном введении аторвастатина, наоборот, выявлено достоверное увеличение (на 29%) общей численности кардиомиоцитов в сердце через 14 суток эксперимента, однако при сочетанном с доксорубицином потреблении этот эффект отсутствовал. Изолированное и сочетанное потребление доксорубицина и аторвастатина вызывало заметные изменения в соотношениях одноядерных, двуядерных и многоядерных кардиомиоцитов (при общей тенденции к снижению доли одноядерных и многоядерных клеток и увеличению доли двуядерных клеток, в большей степени выраженной при изолированном потреблении аторвастатина), что отражает адаптивную пластичность миокарда в ответ на действие неблагоприятных факторов или некоторых химических агентов с митогенной активностью.

Ключевые слова: кардиомиопатия, доксорубицин, аторвастатин, структурные изменения, общая численность кардиомиоцитов

DYNAMICS OF NUMBER OF CARDIOMYOCYTES IN THE HEART UNDER ISOLATED AND COMBINED EXPOSURE OF DOXORUBICIN AND ATORVASTATIN

Klinnikova M.G.¹, Tursunova N.V.¹, Klochkova S.V.², Lushnikova E.L.¹

¹Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Federal State Budget Scientific Institution «Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine», Novosibirsk, e-mail: pathol@inbox.ru;

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M.Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Sechenovskiy University), Moscow, e-mail: rektorat@sechenov.ru

The dynamics of the total number of cardiomyocytes in the heart of Wistar rats under isolated and combined exposure to doxorubicin (intraperitoneal single dose of 15 mg/kg) and atorvastatin (daily intragastric dose of 20 mg/kg for 14 days) was studied. Atorvastatin was administered to animals 4 days before doxorubicin injections. Absolute number of cardiomyocytes in the heart was estimated using the method of alkaline dissociation of fixed tissue. It was established that doxorubicin in isolated form or combined with atorvastatin administration had a pronounced damaging effect on cardiomyocytes, causing a decrease in their total number and, as a consequence, a marked decrease in heart weight, these changes are the basis of the cardiotoxic effect of this anthracycline antibiotic. In contrast, isolated administration of atorvastatin showed a significant increase (by 29%) in the total number of cardiomyocytes in the heart after 14 days of the experiment, but when combined with doxorubicin administration, this effect was absent. Isolated and combined administration of doxorubicin and atorvastatin caused noticeable changes in the ratios of mono-, bi- and multinuclear cardiomyocytes (with a general tendency to decrease the proportion of mononuclear and multinuclear cells and increase the proportion of binuclear cells, more pronounced in isolated consumption of atorvastatin), which reflects the adaptive plasticity of the myocardium in response to unfavourable factors or some chemical agents with mitogenic activity.

Keywords: cardiomyopathy, doxorubicin, atorvastatin, structural changes, total cardiomyocyte number

Потеря кардиомиоцитов в результате их гибели от разных причин может

обуславливать развитие сердечной недостаточности, а при массивных поражениях – быть ведущей причиной смерти. К наиболее распространенным факторам, которые вызывают гибель кардиомиоцитов и необратимые повреждения мышцы сердца, относятся ишемия/реперфузия миокарда, вызываемая атеросклеротическими повреждениями коронарных артерий, и кардиотоксические агенты, среди которых прежде всего следует отметить химиотерапевтические препараты, характеризующиеся выраженным дозозависимым эффектом. В ряде проведенных ранее клинических и экспериментальных исследований показано, что наиболее выраженным кардиотоксическим эффектом обладают антрациклиновые антибиотики, особенно доксорубицин [1–3].

Особо актуальной проблема доксорубицин-индуцированной кардиотоксичности в ближайшие десятилетия может быть для детей, переживших онкологические заболевания. Поскольку показатели 5-летней выживаемости для всех видов рака у детей продолжают расти, то неуклонно будет увеличиваться популяция пациентов с повышенным риском развития отдаленной сердечно-сосудистой патологии [4]. Доксорубицин воздействует на развивающееся сердце не так, как на взрослое сердце, и у некоторых пациентов, подвергшихся его воздействию, возможно развитие в более поздние сроки необратимой кардиомиопатии. Предполагается, что к 2020 г. число выживших детей после перенесенных онкологических заболеваний достигнет 500 000, и более 50 000 из них будут страдать от кардиомиопатий, индуцированных доксорубицином [5].

Изменение численности кардиомиоцитов в сердце млекопитающих в процессе онтогенеза и при действии на организм патогенных факторов, а именно возможность увеличения числа кардиомиоцитов в результате митотического деления в сердце взрослых особей, широко обсуждается в литературе в последние десятилетия, поскольку этот вопрос непосредственно связан с возможностью замещения утраченной в результате гибели части кардиомиоцитов вновь образованной популяцией паренхиматозных клеток, т.е. с регенеративными технологиями. В настоящее время преобладает парадигма, согласно которой активная пролиферация кардиомиоцитов, которая обеспечивает рост сердца и регенерацию миокарда за счет деления предсуществующих клеток, может манифестировать в ранний постнатальный период (до 2 недель у мелких грызунов) [6–8]. За счет пролиферации (которая может происходить в два этапа) предсуществующих кардиомиоцитов их количество в сердце в этот период может увеличиться на 40% [9]. В более поздние периоды онтогенеза пролиферативная активность кардиомиоцитов существенно замедляется и регистрируется на уровне менее 1% в год [10]. Аналогичные данные о скорости обновления кардиомиоцитов в сердце человека в постнатальный период были получены на основании детекции ^{14}C в молекулах ДНК. Согласно этим результатам

скорость обновления кардиомиоцитов снижается от 1% в год у индивидов в возрасте 25 лет до 0,45% – в возрасте 75 лет, т.е. в течение нормальной продолжительности жизни могут обновляться около 50% кардиомиоцитов [11, 12].

Приведенные данные об обновлении популяции кардиомиоцитов в сердце млекопитающих в разные периоды онтогенеза имеют принципиальное значение для разрешения вопроса о возможной стимуляции пролиферативной активности кардиомиоцитов при разных патологических состояниях и разработки новых подходов в регенеративной медицине. В этом аспекте большое значение имеет оценка возможного влияния на пролиферативную активность кардиомиоцитов широко используемых лекарственных препаратов, в частности статинов, для установления их возможных стимулирующих или ингибирующих эффектов в отношении пролиферации клеток.

Цель работы – проанализировать изменения общей численности кардиомиоцитов в сердце экспериментальных животных при изолированном и сочетанном воздействии доксорубицина и аторвастатина.

Материал и методы исследования

В опытах использовали крыс-самок породы Вистар (n=30), которых содержали в стандартных условиях вивария на полноценном рационе, вода *ad libitum*. Эксперименты проводили с соблюдением всех правил и рекомендаций «Европейской конвенции о защите прав позвоночных, используемых экспериментов или в иных научных целях» от 18.03.1986 г. Животные были разделены на 4 группы. 1-я группа (n=9) – однократное внутрибрюшинное введение доксорубицина в дозе 15 мг/кг в растворе 0,9% NaCl (Фармахеми Б.В., Нидерланды); 2-я группа (n=6) – ежедневное внутривентрикулярное введение аторвастатина («Северная звезда», Россия) в дозе 20 мг/кг; 3-я группа (n=9) – однократное внутрибрюшинное введение доксорубицина в дозе 15 мг/кг в растворе 0,9% NaCl и ежедневное внутривентрикулярное введение аторвастатина в дозе 20 мг/кг. Аторвастатин животным 2-й и 3-й групп начинали вводить за 4 суток до инъекций доксорубицина (крысы 2-й группы получали однократное внутрибрюшинное введение физиологического раствора одновременно с введением ДОК животным 1-й и 3-й групп). Крысы 4-й группы (n=6) были контрольными, они получали однократное внутрибрюшинное введение физиологического раствора, а затем ежедневно внутривентрикулярно – воду в эквивалентном объеме одновременно с экспериментальными животными. Животных выводили из эксперимента декапитацией через 3 и 7 суток после введения доксорубицина (соответственно через 7 и 14 суток потребления аторвастатина).

Для оценки морфологических изменений образцы миокарда фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, проводку осуществляли в гистологическом автомате STP-120.

Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, ставили PAS-реакцию. Для получения полутонких срезов образцы миокарда фиксировали в 4%-ном параформальдегиде, постфиксировали в четырехокиси осмия и после дегидратации заливали в смесь эпона и аралдита. Полутонкие срезы получали на ультратоме LKB III, окрашивали азуром II и исследовали в универсальном исследовательском микроскопе Leica DM 4000B.

Абсолютную численность кардиомиоцитов сердца определяли, используя метод щелочной диссоциации предварительно фиксированной ткани. Сердце взвешивали до фиксации и после нее. Материал фиксировали в 10%-ном формалине на 0,1М фосфатном буфере в течение 10 суток. После фиксации из стенок желудочков вырезали пластинку ткани толщиной около 1 мм, из которой брали навеску 10–20 мг. Взвешивание производили на торсионных весах, предварительно осушив кусочек фильтровальной бумагой. Навеску пинцетом погружали в пробирку с 4 мл 40%-ного КОН на 20–21 ч при температуре 18–20° С. Затем щелочь сливали, кусочек промывали в трех сменах холодной дистиллированной воды по 8–10 мл каждая.

После промывки в пробирку наливали 10 мл дистиллированной воды, в которой кусочек набухал в течение 1 суток при комнатной температуре. Затем лишнюю воду сливали, пробирку энергично встряхивали до полного распада кусочка на отдельные клетки. Полученную суспензию окрашивали азур-эозином по Романовскому. Окрашивание суспензии завершали через 30 мин, после чего ее разводили дистиллированной водой до концентрации 5 мг/л. Подсчет клеток проводили в камере Горяева. Для каждого животного брали по 3 навески, для каждой навески проводили подсчет в 10 повторах.

Статистическая обработка данных включала нахождение среднего значения, ошибки среднего и оценку межгрупповых различий по критерию Стьюдента. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

После однократного введения доксорубина пало 2 животных, а после сочетанного применения доксорубина и аторвастатина – 1 животное. Введение доксорубина (в дозе 15 мг/кг) обуславливало достоверное снижение массы тела крыс (на 33,6%, $p < 0,001$) через 7 суток эксперимента (табл.). Потребление аторвастатина существенно не влияло на массу тела животных во все сроки эксперимента, в то время как при сочетанном воздействии доксорубина и аторвастатина выявлено достоверное снижение массы тела крыс как через 3 суток, так и через 7 суток (соответственно на 16,9% и 27,8%, $p < 0,001$). Подобным образом изменялась и масса сердца: через 3 суток после введения доксорубина этот показатель был уменьшен на 15% ($p < 0,05$), через 7 суток – на 27,8% ($p < 0,001$); после потребления аторвастатина масса сердца существенно не менялась, а после сочетанного воздействия

обоих препаратов этот показатель был достоверно уменьшен (на 24%, $p < 0,01$). Гибель животных, снижение массы тела и сердца при действии доксорубина отражают его выраженные общетоксические и кардиотоксические свойства, которые относят к серьезным побочным эффектам противоопухолевой терапии с использованием данного препарата и других антрациклиновых антибиотиков [3].

При микроскопическом исследовании в миокарде животных через 3 суток после однократного введения доксорубина манифестировали гемодинамические нарушения в виде венозного и капиллярного полнокровия. В части кардиомиоцитов выявлялись повреждения (диффузный лизис саркоплазмы, околядерные «опустошения», вакуолизация саркоплазмы), характерные для действия антрациклиновых антибиотиков (рис. 1, а). Через 7 суток эксперимента в миокарде сохранялись все выявленные ранее изменения. Дополнительно следует отметить усиление вакуолизации отдельных кардиомиоцитов и появление мелкокапельной липидной инфильтрации в некоторых сердечных миоцитах (рис. 1, б).

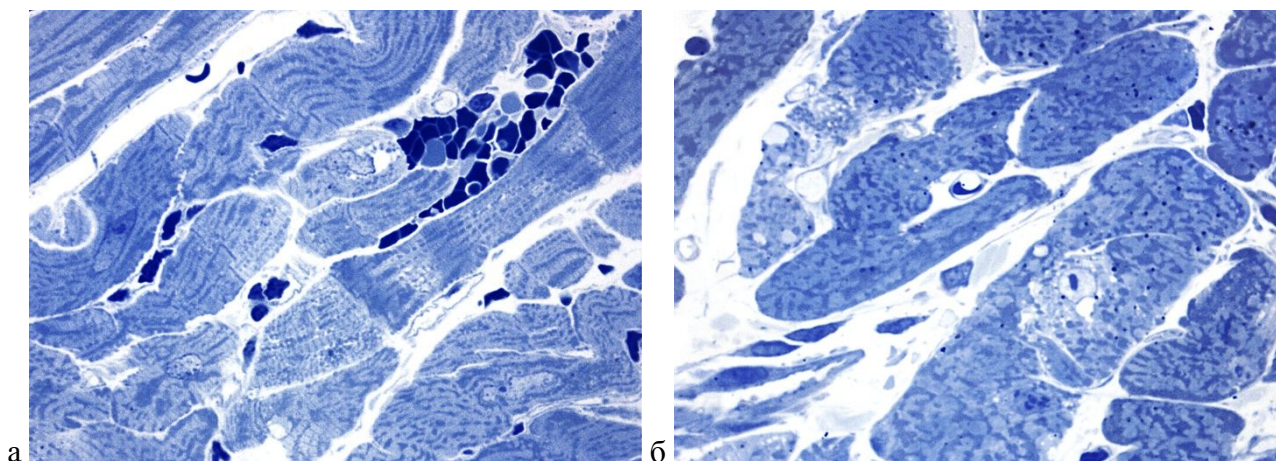


Рис. 1. Миокард крыс после введения доксорубина. Полутонкие срезы.

Окраска азуром II. $\times 1000$, а – появление околядерной «опустошенности» в кардиомиоцитах и сдвиг эритроцитов в капиллярах через 3 суток; б – вакуолизация саркоплазмы кардиомиоцитов через 7 суток

В миокарде животных с введением только аторвастатина через 7 суток встречались единичные кардиомиоциты с литическими изменениями или околядерными «опустошениями» саркоплазмы. При этом манифестировала значительная мелкокапельная липидная инфильтрация кардиомиоцитов (рис. 2, а). Гемодинамические расстройства (преимущественно в виде неравномерного полнокровия капилляров) регистрировались редко. Через 14 суток после потребления аторвастатина сохранялись незначительные литические повреждения отдельных кардиомиоцитов, в некоторых клетках отмечалась

значительная вакуолизация околядерного пространства.

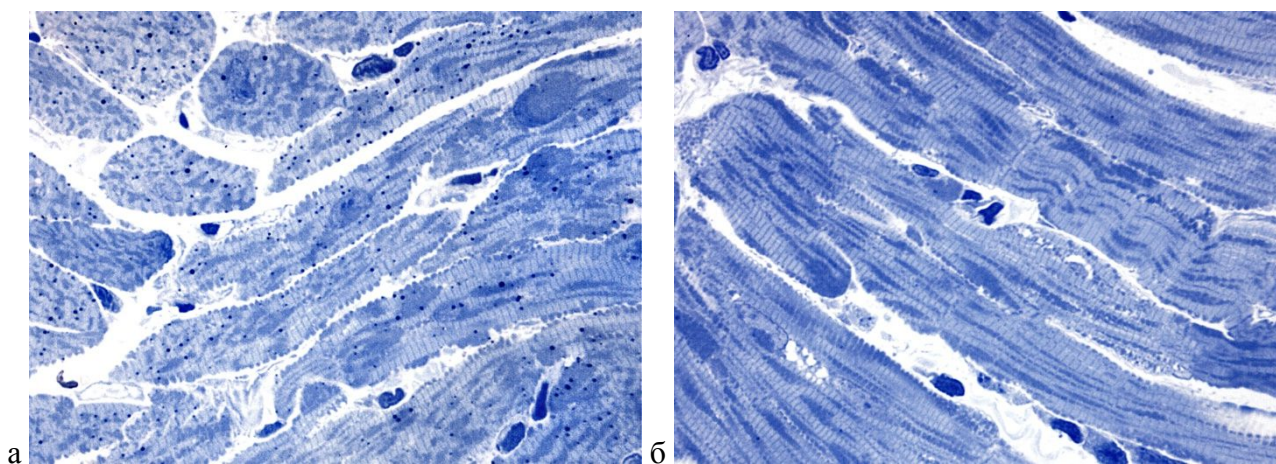


Рис. 2. Миокард крыс после потребления аторвастатина. Полутонкие срезы. Окраска азуром II, а – диффузная мелкокапельная липидная инфильтрация кардиомиоцитов через 7 суток x400; б – вакуолизация околядерного пространства в кардиомиоците через 14 суток x1000

В группе животных, подвергавшихся сочетанному воздействию доксорубицина и аторвастатина, характер морфологических изменений миокарда через 3 и 7 суток эксперимента был таким же, как и после изолированного воздействия доксорубицина (рис. 3). Повреждения кардиомиоцитов были обусловлены литическими изменениями саркоплазмы и миофибриллярных пучков, а также вакуолизацией и «опустошением» околядерной зоны. При этом следует отметить, что гемодинамические нарушения были менее выраженными.

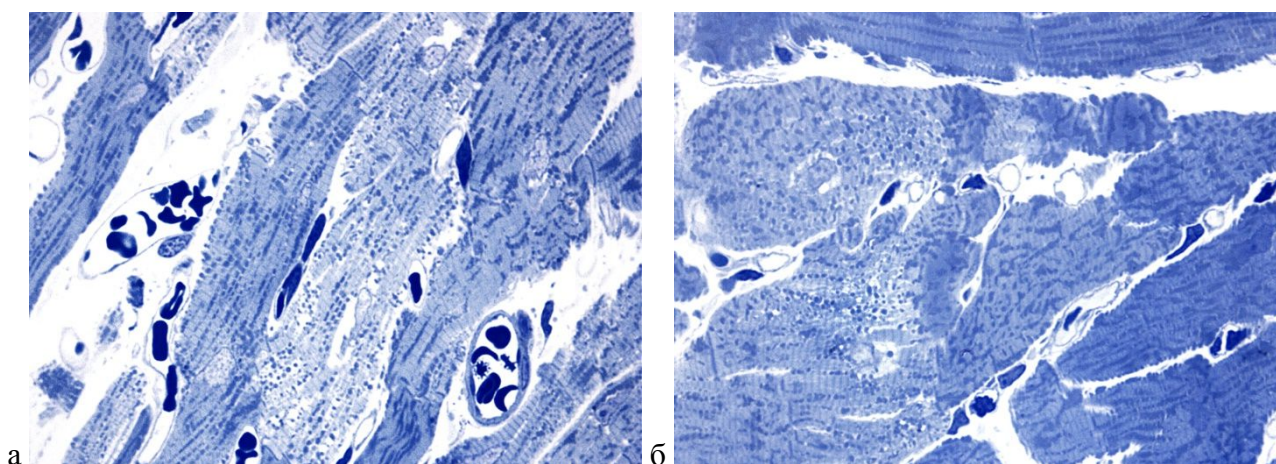


Рис. 3. Миокард крыс после сочетанного воздействия доксорубицина и аторвастатина. Полутонкие срезы. Окраска азуром II. x1000, а – кардиомиоциты с литическими изменениями через 3 суток; б – литические изменения и околядерная вакуолизация саркоплазмы в кардиомиоцитах через 7 суток

Через 3 суток после введения доксорубина выявлена тенденция к увеличению абсолютной численности кардиомиоцитов (на 18%) в сердце крыс относительно контроля, а через 7 суток – к снижению данного показателя ниже контрольного уровня (на 11%) (см. табл.). Через 3 суток эксперимента в миокарде животных этой группы достоверно уменьшилась (в 1,8 раза, $p < 0,05$) по сравнению с контролем доля одноядерных кардиомиоцитов; через 7 суток этот показатель был снижен в 1,5 раза. При этом доля двуядерных кардиомиоцитов через 3 суток эксперимента достоверно увеличивалась (на 10%, $p < 0,05$), через 7 суток сохранилась тенденция к увеличению этого показателя (на 9%) (табл.).

Количественный анализ популяции кардиомиоцитов в сердце крыс после введения доксорубина и аторвастатина ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Введение доксорубина		Введение аторвастатина		Введение доксорубина и аторвастатина	
		3 суток	7 суток	3 суток	7 суток	3 суток	7 суток
Масса тела, г	240,2±1,6	219,3±8,3	159,40±8,9 4***	253,3±18, 2	239,7±9,9	199,5±4,4* **	173,4±9,6* **
Масса сердца, г	0,79±0,02	0,67±0,03 *	0,57±0,01* **	0,81±0,02	0,76±0,02	0,60±0,03* *	0,60±0,03* *
Относительная масса сердца, %	0,33±0,01	0,30±0,00 2	0,36±0,02	0,26±0,01	0,32±0,02	0,30±0,01	0,35±0,04
Концентрация кардиомиоцитов в 1 мг ткани, $\times 10^3$	9,30±0,70	12,98±1,7 6	11,63±0,54 *	9,27±0,67	12,49±0,17 **	12,73±1,62	11,01±0,57
Абсолютная численность кардиомиоцитов в сердце, $\times 10^6$	7,37±0,58	8,70±1,33	6,54±0,21	7,40±0,18	9,50±0,39*	7,69±1,07	6,22±0,31
Доля одноядерных кардиомиоцитов, %	15,14±2,5 6	8,60±0,95 *	10,26±2,72	10,93±0,5 4	6,27±1,62*	7,91±0,72*	7,36±1,43*
Доля двуядерных кардиомиоцитов, %	78,92±2,7 8	87,04±1,1 4*	86,11±2,37	84,25±1,2 4	90,98±2,42 *	87,45±0,71 *	88,94±1,99 *
Доля многоядерных кардиомиоцитов, %	5,94±1,21	4,36±0,44	3,63±0,39	4,82±0,72	2,74±0,86	4,64±0,50	3,70±0,60

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ при сравнении с контролем.

Абсолютная численность кардиомиоцитов в сердце крыс через 7 суток после потребления аторвастатина существенно не изменялась по сравнению с контролем. Однако через 14 суток после эксперимента этот показатель превышал контрольный уровень на 28,9% ($p < 0,05$). Доля одноядерных кардиомиоцитов в первый срок наблюдений уменьшилась на 28%, а к концу эксперимента – на 58,6% ($p < 0,05$) и была наименьшей для всех групп животных (см. табл.). Одновременно происходило увеличение доли двуядерных кардиомиоцитов – соответственно на 6,7 и 15,3% ($p < 0,05$) через 7 и 14 суток эксперимента. Следует отметить, что доля двуядерных кардиомиоцитов через 14 суток потребления аторвастатина была максимальной среди всех исследованных групп. В этот же срок выявлена наименьшая доля многоядерных кардиомиоцитов (снижение относительно контроля на 53,9%) (см. табл.).

При оценке абсолютной численности кардиомиоцитов в сердце после сочетанного воздействия доксорубицина и аторвастатина выявлена тенденция к увеличению этого показателя через 3 суток эксперимента (на 4%), но к 7-м суткам этот показатель был уменьшен на 16% относительно контроля, т.е. обнаружена та же динамика, что и при воздействии только доксорубицина. Доля одноядерных кардиомиоцитов была достоверно снижена в оба срока наблюдения соответственно на 58,6 и 47,8% ($p < 0,05$); доля двуядерных кардиомиоцитов достоверно возрастала соответственно на 10,8 и 12,7% ($p < 0,05$) через 3 и 7 суток эксперимента.

По данным проведенного исследования при изолированном и сочетанном с аторвастатином однократном введении доксорубицина первоначально прослеживается тенденция к увеличению общей численности кардиомиоцитов в сердце с последующим уменьшением (на 11–16%) этого показателя, что согласуется с полученными ранее данными [13]. При изолированном введении аторвастатина нами установлено достоверное увеличение (на 29%, $p < 0,05$) численности кардиомиоцитов в сердце через 14 суток эксперимента. Динамика изменений доли одноядерных (снижение на 58,6%) и двуядерных (увеличение на 15%) кардиомиоцитов в этой группе позволяет полагать, что увеличение числа кардиомиоцитов в сердце может происходить за счет предсуществующей популяции одноядерных кардиомиоцитов, а именно вступления их в клеточный цикл с последующей редупликацией и кариокинезом без цитокинеза. Следует отметить, что при изолированном введении доксорубицина наиболее значительное снижение доли одноядерных кардиомиоцитов происходило через 3 суток эксперимента (43%), затем этот показатель проявлял тенденцию к восстановлению, в то время как при сочетанном воздействии обоих препаратов выявлено стойкое снижение доли одноядерных кардиомиоцитов (на 49–51%) в

течение всего эксперимента. В этом отношении динамика изменений при сочетанном применении препаратов повторяла таковую при изолированном потреблении аторвастатина. Важно также отметить выявленную во всех группах тенденцию к снижению доли многоядерных (3 и более ядер) кардиомиоцитов в сердце, наиболее выраженную при изолированном потреблении аторвастатина, что может быть связано с отсроченным цитокинезом этих клеток.

Увеличение численности кардиомиоцитов в сердце взрослых млекопитающих после повреждающих воздействий или потребления некоторых лекарственных препаратов может быть объяснено их делением, причем не столько отсроченным цитокинезом двуядерных (доля которых, наоборот, возрастает) и многоядерных кардиомиоцитов, сколько вступлением в клеточный цикл предсуществующих кардиомиоцитов. Значительное снижение доли одноядерных кардиомиоцитов во всех экспериментальных группах может свидетельствовать о том, что эти клетки являются основным резервом для репопуляции миокарда после массовой гибели кардиомиоцитов. Вступление одноядерных кардиомиоцитов в клеточный цикл с последующей бинуклеацией является основной стратегией роста сердца мелких грызунов в раннем постнатальном периоде, а увеличение популяции двуядерных кардиомиоцитов до 80% свидетельствует о структурно-функциональном «созревании» миокарда [14]. Возможность вступления в клеточный цикл с последующим делением в разные периоды постнатального онтогенеза была показана и для кардиомиоцитов человека. При использовании антител к фосфорилированному гистону H3 (маркеру M-фазы) и с помощью лазер-сканирующей цитометрии было определено, что содержание кардиомиоцитов в M-фазе в течение года после рождения равнялось $0,04 \pm 0,01\%$, в возрастном интервале от 10 до 20 лет их доля снижалась до $0,009 \pm 0,006\%$ ($p < 0,05$), даже в возрасте старше 40 лет такие кардиомиоциты продолжали выявляться [15].

Заключение

Доксорубин при изолированном или сочетанном с аторвастатином введении оказывает выраженное повреждающее воздействие на кардиомиоциты, вызывая снижение их общей численности и, как следствие, заметное снижение массы сердца, что и является основой кардиотоксического эффекта этого антрациклинового антибиотика. Изолированное потребление аторвастатина в течение 14 суток, наоборот, сопровождалось достоверным увеличением (на 29%) общей численности кардиомиоцитов в сердце, однако при сочетанном с доксорубицином потреблении этот эффект отсутствовал. Изолированное и сочетанное потребление доксорубина и аторвастатина вызывает заметные изменения в соотношениях одноядерных, двуядерных и многоядерных кардиомиоцитов, что отражает адаптивную пластичность миокарда в ответ на действие неблагоприятных факторов или некоторых

химических агентов с митогенной активностью. Результаты проведенного исследования и данные литературы позволяют считать, что количественная характеристика одно-, дву- и многоядерных кардиомиоцитов имеет большое значение для оценки регенераторного потенциала миокарда в разные периоды онтогенеза.

Список литературы

1. Клиникова М.Г., Лушникова Е.Л., Колдышева Е.В., Толстикова Т.Г., Сорокина И.В., Южик Е.И., Мжельская М.М. Кардиотоксический и дислипидемический эффекты доксорубина и амида бетулоновой кислоты // Бюл. exper. биол. 2016. Т. 162, № 8. С.247-252.
2. Лушникова Е.Л., Никитюк Д.Б., Клиникова М.Г., Колдышева Е.В., Мжельская М.М. Экспрессия металлопротеиназы-2 в миокарде при моделировании антрациклиновой кардиомиопатии // Морфология. 2016. Т. 150, № 6. С. 29-34.
3. Levis B.E., Binkley P.F., Shapiro C.L. Cardiotoxic effects of anthracycline-based therapy: what is the evidence and what are the potential harms? *Lancet Oncol.* 2017. vol. 18. no. 8. P. e445-e456.
4. Mancilla T.R., Iskra B., Aune G.J. Doxorubicin-induced cardiomyopathy in children. *Compr. Physiol.* 2019. vol. 9. no. 3. P. 905-931.
5. Bansal N., Amdani S.M., Hutchins K.K., Lipshultz S.E. Cardiovascular disease in survivors of childhood cancer. *Curr. Opin. Pediatr.* 2018. vol. 30. no. 5. P. 628-638.
6. Ali S.R., Hippenmeyer S., Saadat L.V., Luo L., Weissman I.L., Ardehali R. Existing cardiomyocytes generate cardiomyocytes at a low rate after birth in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. vol. 111. P. 8850-8855.
7. Porrello E.R., Mahmoud A.I., Simpson E., Hill J.A., Richardson J.A., Olson E.N., Sadek H.A. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science.* 2011. vol. 331. P. 1078-1080.
8. Puente B.N., Kimura W., Muralidhar S.A., Moon J., Amatruda J.F., Phelps K.L., Grinsfelder D., Rothermel B.A., Chen R., Garcia J.A. et al. The oxygen-rich postnatal environment induces cardiomyocyte cell-cycle arrest through DNA damage response. *Cell.* 2014. vol. 157. P. 565-579.
9. Naqvi N., Li M., Calvert J.W., Tejada T., Lambert J.P., Wu J., Kesteven S.H., Holman S.R., Matsuda T., Lovelock J.D., Howard W.W., Iismaa S.E., Chan A.Y., Crawford B.H., Wagner M.B., Martin D.I., Lefer D.J., Graham R.M., Husain A. A proliferative burst during preadolescence establishes the final cardiomyocyte number. *Cell.* 2014. vol. 157. P. 795-807.
10. Senyo S.E., Steinhauser M.L., Pizzimenti C.L., Yang V.K., Cai L., Wang M., Wu T.D.,

Guerquin-Kern J.L., Lechene C.P., Lee R.T. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes. *Nature*. 2013. vol. 493. P. 433-436.

11. Bergmann O., Bhardwaj R.D., Bernard S., Zdunek S., Barnabé-Heider F., Walsh S., Zupicich J., Alkass K., Buchholz B.A., Druid H., Jovinge S., Frisén J. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*. 2009. vol. 324. no. 5923. P. 98-102.

12. Lázár E., Sadek H.A., Bergmann O. Cardiomyocyte renewal in the human heart: insights from the fall-out. *Eur. Heart J.* 2017. vol. 38. no 30. P. 2333-2342.

13. Lushnikova E.L., Molodykh O.P., Nikityuk D.B., Semenov D.E., Klinnikova M.G. Structural analysis of the myocardium in experimental anthracycline-induced cardiomyopathy combined with adrenergic stimulation. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019. vol. 166. no. 5. P. 689-694.

14. Li F., Wang X., Capasso J.M., Gerdes A.M. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1996. vol. 28. no. 8. P. 1737-1746.

15. Mollova M., Bersell K., Walsh S., Savla J., Das L.T., Park S.Y., Silberstein L.E., Dos Remedios C.G., Graham D., Colan S., Kühn B. Cardiomyocyte proliferation contributes to heart growth in young humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013. vol. 110. no. 4. P.1446-1451.