

УЛЬТРАСТРУКТУРА КАРДИОМИОЦИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЦИТОСТАТИКОВ И ТРИТЕРПЕНОИДОВ**Елена Леонидовна ЛУШНИКОВА, Лев Моисеевич НЕПОМНЯЩИХ, Марина Геннадьевна КЛИННИКОВА, Евгений Анатольевич СВИРИДОВ***ГУ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН
630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2*

Проведено изучение ультраструктурных изменений кардиомиоцитов крыс при действии цитостатиков (циклофосфана и доксорубина) и лупановых тритерпеноидов (бетулоновой кислоты и ее β -аланинамида). Показано, что использованные тритерпеноиды могут вызывать сходные с цитостатиками, но менее выраженные изменения ультраструктуры кардиомиоцитов, которые достаточно быстро проходят. При последовательном применении цитостатиков и тритерпеноидов проявляется их синергизм в отношении основных видов ультраструктурных изменений кардиомиоцитов — литических повреждений миофибрилл, расширения везикул саркоплазматической сети и межмембранного околоядерного пространства, но восстановление ультраструктуры клеток в данных условиях происходит быстрее. По данным ультраструктурного исследования, фармакологическая активность амида бетулоновой кислоты выше, чем у бетулоновой кислоты при использовании как в качестве моноагента, так и в сочетании с цитостатиками.

Ключевые слова: доксорубициновые повреждения, циклофосфановые повреждения, бетулоновая кислота, амид бетулоновой кислоты, кардиомиоциты, ультраструктура.

Кардиотоксические эффекты цитостатических препаратов, в частности, применяющихся в онкологии, представляют одну из трудноразрешимых проблем современной медицины. К таким препаратам относятся, прежде всего, антрациклиновые антибиотики, цитотоксические свойства которых в значительной степени определяются кумулятивной дозой [1–3]. Кардиотоксические дозозависимые эффекты показаны также для таких препаратов, как циклофосфан (ЦФ), 5-фторурацил, таксоиды (паклитаксел и доцетаксел), трастузумаб, циклопентинилцитозин, цис-платина, мелфалан, флударабин, митомицин, бусульфан, мехлоретамин, декарбазин.

Кардиотоксические эффекты химиотерапии подразделяют на острые, хронические и отсроченные. Острые эффекты (снижение артериального давления, тахикардия, развитие аритмий, электрофизиологические изменения, желудочковая дисфункция) выявляются в течение нескольких минут после введения единственной дозы препаратов, как правило, хорошо купируются и быстро проходят. Хронические нарушения сердечной деятельности (пониженное артериальное давление, стойкие нарушения ритма, дилатация желудочков и сердечная недостаточность) развиваются в течение нескольких недель и месяцев после прекращения применения препаратов и часто являются угрожающими для жизни. Отсроченные кардиотоксические эффекты, характерные в основном для антрациклиновых антибиотиков,

проявляются в развитии необратимой кардиомиопатии и сердечной недостаточности через 4–20 лет после окончания лечения неопластических процессов [4]. Такие состояния практически не поддаются терапии и, как правило, заканчиваются летально.

Отсутствие избирательности действия цитостатических препаратов обуславливает необходимость разработки протективных и регенераторных технологий, снижающих негативные эффекты таких веществ и способствующих развитию тканеспецифических регенераторных реакций в органах и тканях, не пораженных неопластическим процессом. Необходимым требованием, предъявляемым к потенциальным протективным соединениям, служит отсутствие их влияния на антибластомные эффекты противоопухолевой терапии. Одной из приоритетных задач является также поиск препаратов и соединений, обладающих антиметастатическим действием и повышающих резистентность организма при опухолевой болезни.

Среди таких соединений все большее внимание исследователей привлекают в последнее время тритерпеноиды — обширный класс химических соединений, обладающих широким спектром биологической активности [5]. Особый интерес вызывают тритерпеноиды ряда лупана. Из природных лупановых тритерпеноидов, о биологической активности которых имеются достоверные сведения, можно выделить производные бетулина [6]. Важными производными бетулина являются бетулоновая кис-

Лушникова Е.Л. — д.б.н., проф., зав. лаб. цитологии и клеточной биологии, e-mail: pathol@soramn.ru

Непомнящих Л.М. — чл.-корр. РАМН, д.м.н., проф., директор

Клиникова М.Г. — д.б.н., вед.н.с. лаб. цитологии и клеточной биологии, e-mail: pathol@soramn.ru

Свиридов Е.А. — аспирант, e-mail: pathol@soramn.ru

лота (3-оксо-20(29)-лупен-28-овая кислота) (БК), которую получают путем окисления бетулина, и производное бетулоновой кислоты (ее амид), содержащее у атома С-28 в-аланин – 3-[3-оксо-20(29)-лупен-28-оил]-аминопропионовая кислота (АБК) [7]. При исследовании острой и субхронической токсичности БК и АБК на крысах и мышах было установлено, что данные агенты могут быть отнесены к IV классу низкотоксичных веществ.

Изучение медико-биологических эффектов БК и АБК выявило их противоопухолевые, антиметастатические [8], нефропротекторные [9], гепатопротекторные (при метастатическом поражении печени и противоопухолевой полихимиотерапии) [10] и антиоксидантные свойства [11]. Противоопухолевые свойства БК связывают с ее цитостатической активностью и способностью индуцировать апоптоз опухолевых клеток [12, 13]. Сведения о противоположных (протективных и цитотоксических) эффектах БК и АБК, полученные при исследовании разных тканевых и клеточных систем и при разных экспериментальных условиях, позволяют отнести их к многофункциональным химическим агентам с плейотропными свойствами по аналогии с другими природными и полусинтетическими тритерпеноидами, в частности, с олеаноловой кислотой и ее производными, взаимодействующими с ключевыми макромолекулами в нескольких сигнальных трансдукторных путях и с ядерными рецепторами [5]. В этом аспекте изучение всего спектра кардиотропных свойств БК и АБК имеет важное значение для их возможного использования в качестве компонентов как противоопухолевой терапии, так и агентов, способных модулировать различные внутриклеточные процессы в кардиомиоцитах, включая их пролиферацию и дифференцировку, т.е. индуцировать цитопротекцию и регенерацию клеток.

Цель работы – изучение характера ультраструктурных изменений кардиомиоцитов (КМЦ) при кардиотоксических воздействиях ЦФ и доксорубина (ДОК) и при использовании БК и АБК в качестве химических агентов, способных оказывать цитопротективное действие.

Материал и методы исследования

Проведено две серии экспериментов по моделированию циклофосфановых и доксорубиновых повреждений миокарда и их коррекции производными бетулина (БК и АБК), синтезированными в Новосибирском институте органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН.

В первой серии экспериментов использованы 120 крыс-самцов линии Вистар, которые

были разделены на 6 групп. Животным I–III групп (68 крыс) вводили однократно внутрибрюшинно ЦФ («Биохимик», Саранск) в дозе 125 мг/кг, далее крысам в группе II через сутки после введения ЦФ ежедневно внутривентрикулярно вводили водно-твинный раствор БК в дозе 50 мг/кг, а крысам в группе III – ежедневно внутривентрикулярно водно-твинный раствор АБК в дозе 50 мг/кг. Животным IV группы (23 крысы) вводили только водно-твинный раствор БК в той же дозе, а животным V группы (20 крыс) – только раствор АБК. Контрольную группу составили животные (VI группа, 12 крыс), которым одновременно с подопытными особями внутрибрюшинно однократно вводили физиологический раствор в соответствующем их массе тела объеме, а затем ежедневно внутривентрикулярно вводили воду.

Во второй серии экспериментов использованы 60 крыс-самцов линии Вистар, которые также были разбиты на 6 групп. Животным I–III групп вводили сначала доксорубина гидрохлорид (ДОК) («Лэнс», Москва) в дозе 7 мг/кг, а затем по аналогичной схеме БК и АБК в таких же дозах, как и в предыдущей серии. Контрольную группу составили 6 крыс, которые получали физиологический раствор и воду по той же схеме, что и животные VI группы первой серии экспериментов.

Животных в обеих сериях выводили из опыта декапитацией с использованием эфирного наркоза через 3 и 14 сут после введения ЦФ и ДОК. Эксперименты проведены в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных (Страсбург, 1986) и одобренными биоэтическим комитетом ГУ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАН.

Образцы миокарда левого желудочка для электронно-микроскопического исследования фиксировали в 4%-м параформальдегиде, постфиксировали в 1%-м растворе четырехоксида осмия, после стандартной проводки и пропитки заливали в смесь эпон и аралдита. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB III, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и исследовали в электронном микроскопе JEM 1010.

Результаты исследования

Общетоксические свойства использованных противоопухолевых препаратов и тритерпеноидов оценивали по уровню летальности. В исследованные сроки в группе животных, которым однократно вводили только ЦФ (в дозе 125 мг/кг), летальность составила 25% (смерть наступала через 7–10 сут после введения препарата). В группе животных, получавших однократно

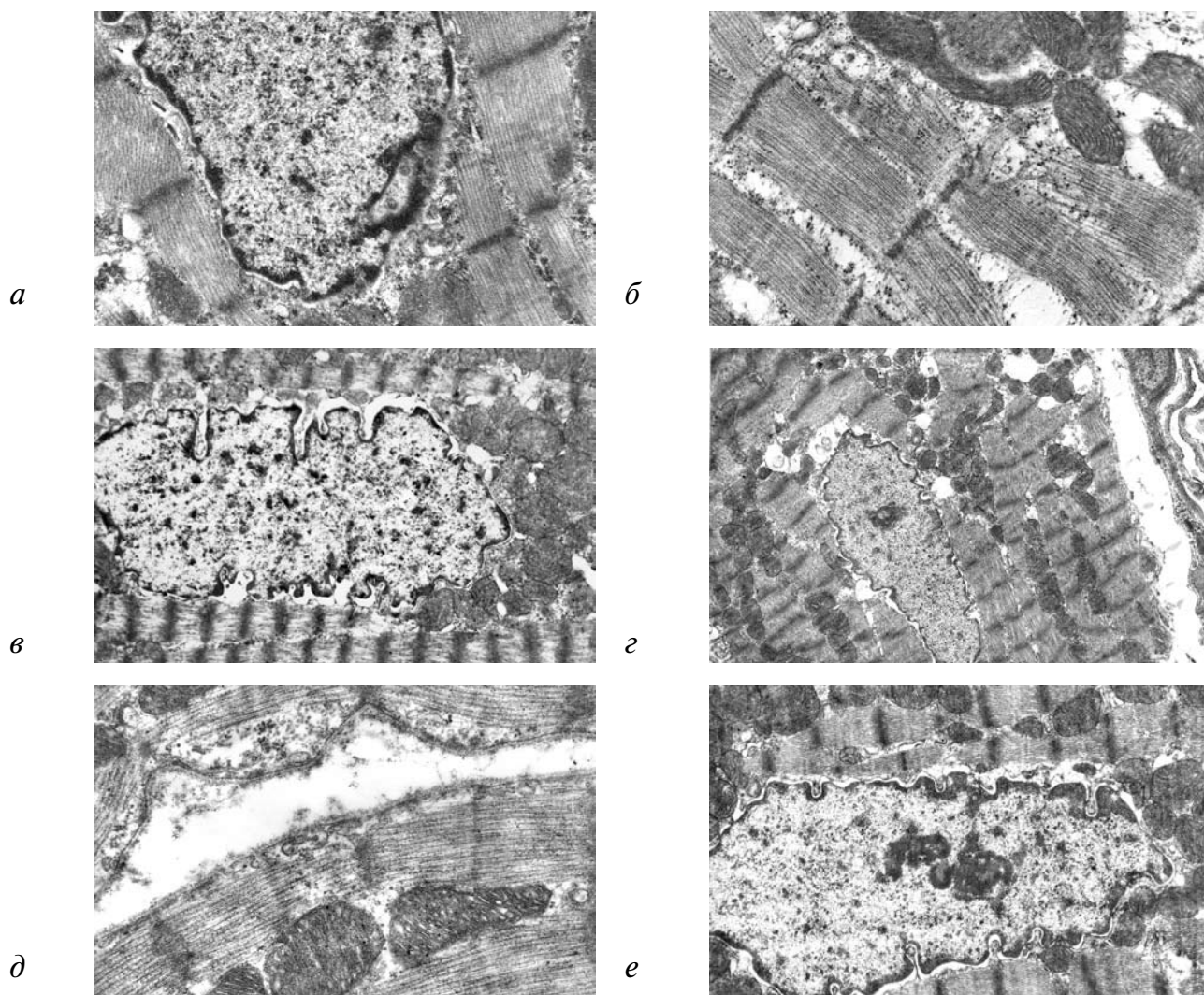


Рис. 1. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов крыс через 3 сут. после введения циклофосфана, доксорубицина, бетулоновой кислоты и ее амида в качестве моноагентов. а – фрагментация ядрышка и умеренные расширения везикул саркоплазматической сети после введения циклофосфана, увел. 15 000; б – выраженный лизис саркоплазматического матрикса и очаговый лизис миофибрилл после введения циклофосфана, увел. 15 000; в – расширения межмембранного околоядерного пространства и везикул саркоплазматической сети после введения доксорубицина, увел. 6000; г – появление миелиноподобных структур и расширение саркоплазматической сети после введения бетулоновой кислоты, увел. 4000; д – формирование субсарколеммальных пиноцитозных везикул после введения бетулоновой кислоты, увел. 20 000; е – сегрегация нуклеолемы, умеренные расширения саркоплазматической сети после введения амида бетулоновой кислоты, увел. 10 000.

ДОК (в дозе 7 мг/кг), летальных исходов не было. В группах животных, получавших БК (в дозе 50 мг/кг) и АБК (в дозе 50 мг/кг) в качестве моноагентов, летальность составила по 3%. В группах животных, которым вводили ЦФ с последующим введением БК и АБК, летальность составила соответственно 21 и 17%, при введении ДОК с последующим назначении БК летальных исходов было 8%, а при последующем введении АБК они отсутствовали.

Ультраструктурные изменения КМЦ через 3 сут. после введения ЦФ, ДОК, БК и АБК в качестве моноагентов имели некоторые общие

черты, но различались по уровню выраженности. Во всех случаях в миокарде крыс встречались КМЦ как с выраженными литическими и деструктивными изменениями основных оргanelл, так и с мало измененной внутриклеточной организацией, но соотношение количеств поврежденных и неповрежденных КМЦ различалось. При действии ЦФ изменения ядерного компартмента заключались в основном во фрагментации ядрышек (рис. 1, а), в выраженных инвагинациях ядерной оболочки и транслокации ядер в субсарколеммальную зону. Эти изменения сочетались с преимущественно

очаговым лизисом миофибриллярных пучков (рис. 1, б), деструкцией элементов комплекса Гольджи и разными по выраженности расширениями агранулярной саркоплазматической сети (АСС). Следует отметить, что при действии ЦФ в КМЦ сохранялось большое количество гликогена, наблюдалась его секвестрация.

Наиболее значительные литические изменения саркоплазмы и ультраструктур КМЦ выявлены при доксорубициновом воздействии. Литические изменения миофибрилл при доксорубициновом повреждении чаще носили диффузный характер. В изменениях ядрышек манифестировали явления сегрегации фибриллярного и гранулярного компонентов нуклеолемы и фрагментация. Практически во всех КМЦ наблюдались расширения межмембранного околоядерного пространства и АСС (рис. 1, в). Изменения митохондриального компартмента при действии обоих цитотоксических препаратов были незначительными и заключались в основном в неравномерном расширении крист. В то же время нахождение в местах локализации митохондрий небольших миелоноподобных образований, особенно частое при действии ЦФ, свидетельствовало о деградации этих органелл. Важно отметить, что и при циклофосфановых, и при доксорубициновых повреждениях КМЦ в очагах лизиса миофибрилл в этот срок эксперимента всегда регистрировались многочисленные полисомы и наблюдались хаотично расположенные новообразованные миофиламенты, что свидетельствовало об активации процессов внутриклеточной регенерации.

Через 14 сут. после однократного введения ЦФ отмечено восстановление ультраструктуры большинства КМЦ. В то же время в некоторых КМЦ следует отметить появления расширений межмембранного околоядерного пространства и смещение ядер в субсарколеммальную зону; ядрышки часто были фрагментированными (рис. 2, а) или с явлениями сегрегации фибриллярного и гранулярного компонентов. В этот срок эксперимента появлялись КМЦ, в которых в большинстве митохондрий наблюдались очаговый лизис матрикса, деструкция крист, вакуоли с хлопьевидным содержимым. В небольшом числе КМЦ сохранялись также литические изменения миофибриллярных пучков и расширенные везикулы АСС. В большей степени подобные изменения были выражены через 14 сут. после введения крысам ДОК (рис. 2, б). В КМЦ в этот срок эксперимента манифестировали также расширения межмембранного околоядерного пространства, отмечались явления аутофагоцитоза (особенно в око-

лоядерной зоне).

Изменения КМЦ через 3 сут. после ежедневного внутрижелудочного введения БК и АБК в дозе 50 мг/кг затрагивали преимущественно ядерный и миофибриллярный компарменты, а также АСС. При ведении БК в некоторых КМЦ отмечался значительный лизис саркоплазматического матрикса, особенно в околоядерной зоне. В большинстве КМЦ чаще наблюдались выраженные расширения везикул АСС (рис. 1, г). Литические изменения миофибриллярных пучков были незначительными, в этих участках всегда локализовались полисомы, наблюдалось новообразование миофиламентов. Следует отметить, что при действии БК отмечалось формирование пиноцитозных везикул и кавеол (рис. 1, д). Ежедневное употребление АБК в течение 3 сут. вызывало умеренные литические изменения миофибриллярных пучков и умеренные расширения везикул АСС (рис. 1, е). В участках лизиса миофибрилл всегда регистрировались многочисленные полисомы. Несмотря на незначительную выраженность литических изменений КМЦ, следует отметить, что в большинстве клеток в ядрышках наблюдалась сегрегация гранулярного и фибриллярного компонентов.

Через 14 сут. ежедневного употребления БК в КМЦ не отмечалось каких-либо заметных изменений ультраструктуры. В некоторых клетках сохранялись незначительные расширения везикул АСС, особенно вблизи ядер. Употребление АБК в течение 14 сут. вызывало более значительные изменения во внутриклеточной организации КМЦ. Прежде всего следует отметить наличие умеренно выраженных диффузных литических изменений миофибриллярных пучков во многих КМЦ; повсеместно в таких участках регистрировались многочисленные полисомы. Часто встречались также расширения межмембранного околоядерного пространства и АСС (рис. 2, в), которые характерны для действия цитостатиков. Следующим важным обстоятельством, отличающим АБК от других использованных химических соединений, являются изменения тонкой структуры митохондрий, которые регистрировались во многих КМЦ. Эти изменения заключались в очаговом и диффузном лизисе митохондриального матрикса, редукции крист и нарушении их упаковки (рис. 2, г). В некоторых КМЦ деструктивные изменения митохондрий были значительными, наблюдалось повреждение целостности их наружной и внутренней мембран; вблизи митохондрий часто обнаруживались скопления миелоноподобных структур. В то же время во многих КМЦ выявлялся

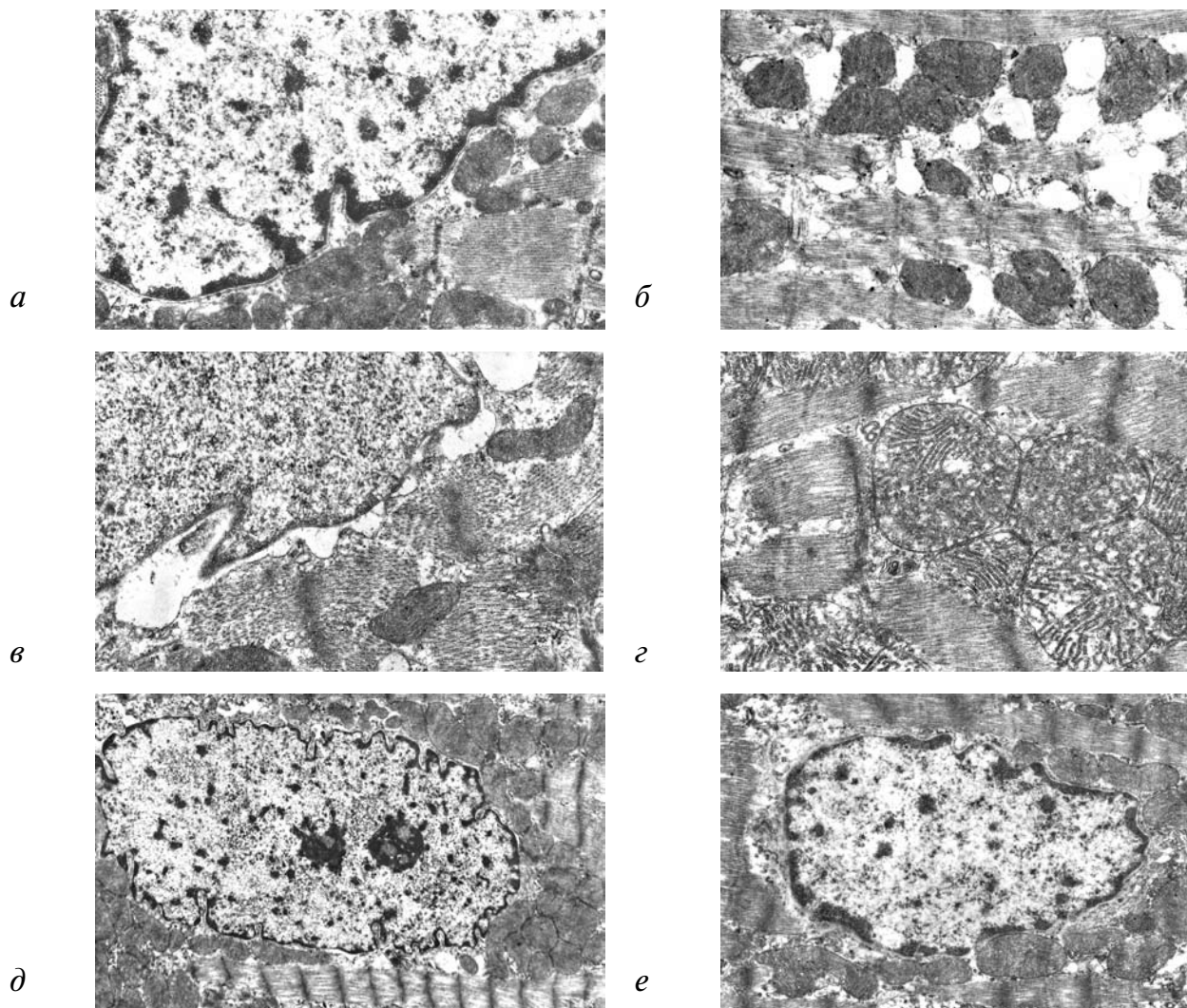


Рис. 2. Ультраструктура кардиомиоцитов крыс через 14 сут. после введения цитостатиков и тритерпеноидов. а — фрагментация ядрышка и отсутствие выраженных литических изменений саркоплазмы и миофибрилл, введение циклофосфана, увел. 15 000; б — выраженный диффузный лизис миофибриллярных пучков и расширения саркоплазматической сети после введения доксорубина, увел. 10 000; в — расширения межмембранного околоядерного пространства после введения амида бетулоновой кислоты, увел. 15 000; г — разрушение крист и очаговый лизис митохондриального матрикса после введения амида бетулоновой кислоты, увел. 15 000; д — сохранение сегрегации нуклеолемы и умеренного лизиса миофиламентов после введения циклофосфана и бетулоновой кислоты, увел. 6000; е — появление многочисленных полисом и гиперплазия элементов комплекса Гольджи в околоядерной зоне после введения циклофосфана и амида бетулоновой кислоты, увел. 12 000.

хорошо развитый пластинчатый комплекс Гольджи, в котором наблюдалась гиперплазия везикулярной составляющей. В ядрах КМЦ часто присутствовали фрагментированные ядрышки.

В группе животных, которые получали ЦФ и в последующем БК, первоначально (через 3 сут. эксперимента) в ряде КМЦ наблюдались литические изменения саркоплазматического матрикса (рис. 3, а) и миофибриллярных пучков, иногда значительные, особенно в околоядерной зоне. Отмечался значительный полиморфизм ядер КМЦ: наряду с овально-вытянутыми встречались ядра с глубокими

многочисленными инвагинациями нуклеолемы. В ядрах чаще всего присутствовали ядрышки петливой формы с фибриллярным и гранулярным компонентами. Через 14 сут. эксперимента ультраструктура большинства КМЦ существенно не отличалась от нормы. В то же время в некоторых клетках сохранялись умеренные литические изменения миофибриллярных пучков и саркоплазматического матрикса (рис. 2, д). Так же, как и в предыдущий срок, наблюдался значительный полиморфизм ядер КМЦ: формирование глубоких инвагинаций нуклеолемы и в некоторых случаях образова-

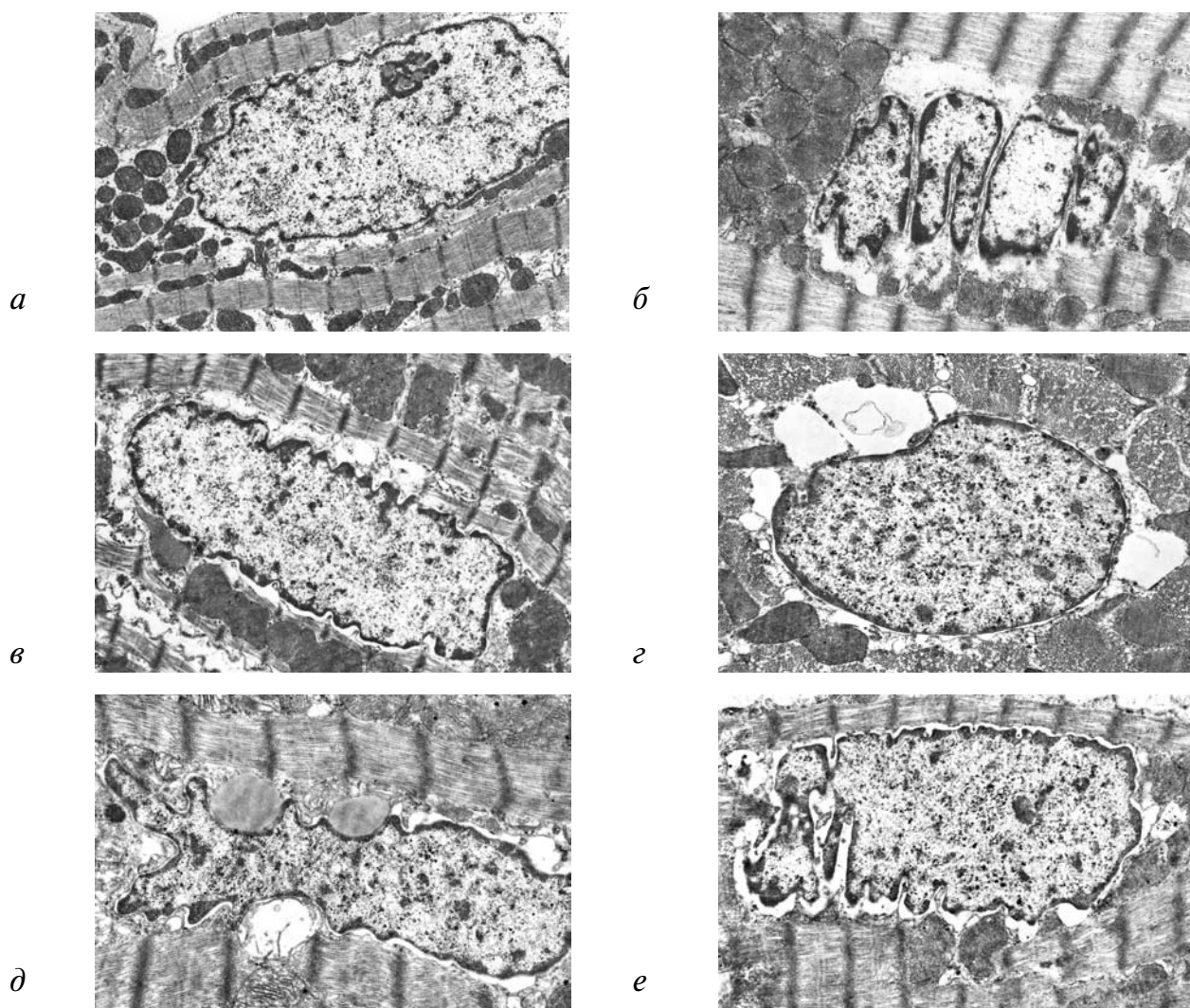


Рис. 3. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов крыс после сочетанного введения цитостатиков и тритерпеноидов. а — сегрегация фибриллярного и гранулярного компонентов ядрышка, лизис саркоплазматического матрикса через 3 сут. после введения циклофосфана и бетулоновой кислоты, увел. 6000; б — выраженная инвагинация ядерной оболочки и лизис саркоплазматического матрикса в околоядерной зоне через 3 сут. после введения циклофосфана и амида бетулоновой кислоты, увел. 8000; в — диффузный лизис миофиламентов и расширения межмембранного околоядерного пространства через 3 сут. после введения доксорубицина и бетулоновой кислоты, увел. 6000; г — выраженное расширение саркоплазматической сети в околоядерной зоне и лизис миофибрилл через 14 сут. после введения доксорубицина и бетулоновой кислоты, увел. 8000; д — расширения межмембранного околоядерного пространства и деструкция митохондрий через 3 сут. после введения доксорубицина и амида бетулоновой кислоты, увел. 10 000; е — сохранение расширений межмембранного околоядерного пространства через 14 сут. после введения доксорубицина и амида бетулоновой кислоты, увел. 6000.

ние «ядерных» выростов. В ядрах многих КМЦ в ядрышках сохранялась сегрегация фибриллярного и гранулярного компонентов. Следует отметить, что во всех КМЦ регистрировались многочисленные полисомы, которые были распределены по всему объему клеток.

В КМЦ крыс, получавших ЦФ и затем АБК, через 3 сут эксперимента регистрировались выраженные литические изменения саркоплазматического матрикса, особенно в околоядерной зоне, расширения межмембранного

околоядерного пространства и АСС (рис. 3, б). Эти изменения в ряде клеток сочетались с диффузным лизисом миофибриллярных пучков. Во многих КМЦ присутствовали ядра с сильно изрезанными контурами в результате инвагинаций ядерной оболочки. Через 14 сут. эксперимента отмечалась нормализация ультраструктуры большинства КМЦ, хотя в некоторых клетках продолжали регистрироваться преимущественно диффузные литические изменения миофибриллярных пучков и

расширения АСС. В то же время во многих КМЦ в саркоплазме присутствовали многочисленные полисомы, в околоядерной зоне отмечалась гиперплазия структурных элементов комплекса Гольджи (рис. 2, е). Сохранялся полиморфизм ядер и ядрышек.

В группе крыс, получавших ДОК и в последующем БК или АБК, ультраструктурные изменения КМЦ были более выраженными, чем в аналогичных группах с циклофосфановыми повреждениями. Через 3 сут после введения ДОК и последующего введения БК во многих КМЦ выявлялись значительные диффузные литические повреждения миофибриллярных пучков и саркоплазматического матрикса (рис. 3, в), в результате чего саркоплазма КМЦ выглядела разреженной. Манифестировали также расширения межмембранного околоядерного пространства и АСС. Во многих КМЦ эти изменения были даже более выраженными, чем при введении только доксорубина. К 14-м суткам общий характер изменений КМЦ сохранялся, но значительно уменьшалась выраженность литических изменений миофибриллярных пучков, отмечалось более компактное расположение органелл в клетках. Одновременно в некоторых КМЦ наблюдались значительные вакуолеобразные расширения межмембранного околоядерного пространства (рис. 3, г), в которых часто регистрировались мембранозные образования. Следует также отметить, что в КМЦ часто встречались единичные митохондрии со значительным лизисом матрикса и выраженной редукцией крист.

В КМЦ крыс, получавших ДОК и в последующем АБК, через 3 сут. эксперимента также регистрировался весь спектр отмеченных выше ультраструктурных изменений: диффузные литические изменения миофибриллярных пучков и митохондриального компартмента, расширения межмембранного околоядерного пространства и АСС (рис. 3, д). Отмечался выраженный полиморфизм ядер, в которых содержались фрагментированные и сегрегированные ядрышки. В саркоплазме КМЦ наблюдалось большое количество равномерно распределенных полисом. Через 14 сут. в КМЦ животных данной экспериментальной группы значительно снижалась выраженность литических изменений миофибрилл и митохондрий; реже встречались клетки с расширенным межмембранным околоядерным пространством и АСС (рис. 3, е). Регистрировался полиморфизм ядер КМЦ, в которых содержались фрагментированные ядрышки или ядрышки с преимущественно гранулярным компонентом.

Таким образом, ежедневное употребление

в течение 14 дней БК и АБК как моноагентов в использованных дозах (50 мг/кг) вызывало сходные по характеру, но менее выраженные, чем при действии ЦФ и ДОК, изменения основных органелл КМЦ. Это сходство было особенно очевидным в первые 3 сут. употребления данных лупановых тритерпеноидов. В последующие сроки происходило восстановление ультраструктуры КМЦ, при этом при употреблении БК в КМЦ отмечено усиление пиноцитозной активности, а при употреблении АБК — гиперплазия структурных элементов комплекса Гольджи и значительное увеличение количества полисом. При употреблении БК и АБК после однократного введения ЦФ и ДОК отмечен синергизм цитостатиков и тритерпеноидов в первые 3 сут. эксперимента в отношении выраженности ультраструктурных изменений основных компартментов КМЦ, но без длительного подавления процессов внутриклеточной регенерации и более быстрым восстановлением тонкой структуры клеток. Подобные положительные эффекты при восстановлении индуцированных ЦФ поврежденных КМЦ были выявлены при использовании других тритерпенов — лупеола и его линолевого эфира [14, 15], что подтверждает способность этих соединений влиять на внутриклеточные регенераторные процессы.

Принимая во внимание характер и выраженность ультраструктурных изменений КМЦ, можно заключить, что фармакологическая активность АБК выше, чем у бетулоновой кислоты. К фармакологическим особенностям АБК можно отнести его способность вызывать в той же дозе, что и БК, выраженные деструктивные изменения митохондриального компартмента. Такие свойства не проявляются у использованных цитостатиков и БК.

Литература

1. *Непомнящих Л.М.* Регенераторно-пластическая недостаточность сердца: Молекулярно-биологические механизмы и морфологические основы // Арх. патол. 2007. 1. 3-12.
2. *Непомнящих Л.М.* Regeneration-plastic heart failure: Molecular-biological mechanisms and morphologic basis // Arkh. patol. 2007. 1. 3-12.
3. *Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Клиникова М.Г., Молодых О.П.* Ультраструктурные проявления нарушений регенерации кардиомиоцитов при действии доксорубина // Морфология. 2005. 4. 81-84.
4. *Lushnikova E.L., Nepomnyaschikh L.M., Klinnikova M.G., Molodykh O.P.* Ultrastructural evidences of disorder of cardiomyocytes regeneration under doxorubicin // Morfologiya. 2005. 4. 81-84.
5. *Schimmel K.J.M., Richel D.J., van den Brink R.B.A., Guchelaar H.-J.* Cardiotoxicity of cytotoxic drugs // Cancer Treat. Rev. 2004. 30. 181-191.

4. *Steinherz L.J., Steinherz P.G., Tan C.T.C., Heller G., Murphy M.L.* Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy // *JAMA*. 1991. 266. 1672-1677.
5. *Liby K.T., Yore M.M., Sporn M.B.* Triterpenoids and rexinoids as multifunctional agents for the prevention and treatment of cancer // *Nature Rev. Cancer*. 2007. 7. 357-369.
6. *Толстикова Т.Г., Сорокина И.В., Толстиков Г.А. и др.* Терпеноиды ряда лупана — биологическая активность и фармакологические перспективы II. Полусинтетические производные лупана // *Биоорганическая химия*. 2006. 3. 291-307.
- Tolstikova T.G., Sorokina I.V., Tolstikov G.A. etc.* Terpenoids of lupane type — biologic activity and pharmacologic perspectives. II. Semi synthetic derivative substance of lupane // *Bioorganicheskaya khimiya*. 2006. 3. 291-307.
7. *Петренко Н.И., Еланцева Н.В., Петухова В.З., Шакиров М.М.* Синтез производных бетулоновой кислоты, содержащих аминокислотные фрагменты // *Химия природных соединений*. 2002. 4. 276-283.
- Petrenko N.I., Elantseva N.V., Petukhova V.Z., Shakirov M.M.* Synthesis of betulonic acid derivatives containing amino acids fragments // *Khimiya prirodnikh soedinenii*. 2002. 4. 276-283.
8. *Сорокина И.В., Толстикова Т.Г., Жукова Н.А. и др.* Оценка противоопухолевого и антиметастатического эффектов амидов бетулоновой кислоты на мышцах с перевиваемой карциномой Льюис // *Бюлл. экспер. биол.* 2006. 7. 78-81.
- Sorokina I.V., Tolstikova T.G., Zhukova N.A. etc.* Estimation of antineoplastic and antimetastatic effect of betulonic acid amides in mice with transplantable Lewis carcinoma // *Byul. eksper. biol.* 2006. 7. 78-81.
9. *Позднякова С.В., Грек О.Р., Фунтиков А.С. и др.* Нейропротекторный эффект производных бетулоновой кислоты при экспериментальном цитостатическом повреждении почек у крыс // *Бюлл. Сиб. отд-ния РАМН*. 2007. 5. 117-121.
- Pozdnyakova S.V., Grek O.R., Funtikov A.S. etc.* Nephro-tread effect of betulonic acid derivatives in experimental cytostatic failure of rat's kidney // *Byul. Sib. otd-niya RAMN*. 2007. 5. 117-121.
10. *Жукова Н.А., Семенов Д.Е., Сорокина И.В. и др.* Влияние бетулоновой кислоты и ее производного [3-оксо-20(29)-лупен-28-оил]-3-аминопропионовой кислоты на структуру печени мышей с лимфосаркомой RLS // *Бюлл. экспер. биол.* 2005. 9. 348-351.
- Zhukova N.A., Semenov D.E., Sorokina I.V. etc.* Influence of betulonic acid and its derivative [3-oxo-20(29)-lupen-28-oil]-3-aminopropionic acid on liver structure of mice with lymphosarcoma RLS // *Byul. eksper. biol.* 2005. 9. 348-351.
11. *Позднякова С.В., Грек О.Р., Жоголь Р.А. и др.* Активность монооксигеназ печени и биологические эффекты бетулоновой кислоты и ее амидных производных // *Вестн. НГУ. Сер.: Биология, клиническая медицина*. 2006. 3. 66-70.
- Pozdnyakova S.V., Grek O.P., Zhogol' R.A. etc.* Activity of monooxygenases of liver and biological effects of betulonic acid and its amide derivatives // *Vestn. NGU. Ser.: Biologiya i klinicheskaya meditsina*. 2006. 3. 66-70.
12. *Kim D.S., Pezzuto J.M., Pisha E.* Synthesis of betulonic acid derivatives with activity against human melanoma // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998. 8. 1707-1712.
13. *Lee S.M., Min B.S., Lee C.G. et al.* Cytotoxic triterpenoids from the fruits of *Zizyphus jujuba* // *Planta Med.* 2003. 69. 1051-1054.
14. *Sudharsan T.P., Mythili Y., Selvakumar E., Varalakshmi P.* Lupeol and its ester exhibit protective role against cyclophosphamide-induced cardiac mitochondrial toxicity // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2006. 47. 205-210.
15. *Sudharsan T.P., Mythili Y., Selvakumar E., Varalakshmi P.* Lupeol and its ester ameliorate the cyclophosphamide provoked cardiac lysosomal damage studied in rat // *Mol. Cell. Biochem.* 2006. 282. 23-29.

ULTRASTRUCTURE OF CARDIOMYOCYTES UNDER INFLUENCE OF CYTOSTATICS AND TRITERPENOIDS

Elena Leonidovna LUSHNIKOVA, Lev Moiseevich NEPOMNYASHCHIKH, Marina Gennadievna KLINNIKOVA, Evgeni Anatolievich SVIRIDOV

*SI RI for regional pathology and pathomorphology of SB RAMS,
2, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117*

Ultrastructural changes of rat cardiomyocytes under influence of cytostatics (cyclophosphamide and doxorubicine) and lupane triterpenoids (betulonic acid and its derivate β -alanine amide) were studied. It was shown that triterpenoids used can cause ultrastructural changes similar to those induced by cytostatics, but less profound and fast reversible. Cytostatics treatment followed by triterpenoids reveal synergism during developing of main cardiomyocyte damages — lysis of myofibrils, dilation of vesicles of sarcoplasmic reticulum and intermembrane perinuclear space connected to it, but regeneration of cell ultrastructure under combined treatment occur faster. According to ultrastructural study pharmacological activity of β -alanine amide of betulonic acid is greater than betulonic acid in using both as monoagent and in combination with cytostatics.

Key words: doxorubicine damages, cyclophosphamide damages, betulonic acid, β -alanine amide of betulonic acid, cardiomyocytes, ultrastructure.

*Lushnikova E.L. — doctor of Biological Sciences, professor, head of laboratory of cytology and cellular biology,
e-mail: pathol@soramn.ru*

Nepomnyashchikh L.M. — doctor of Medical Sciences, professor, director

Klinnikova M.G. — doctor of Biological Sciences, leading researcher of laboratory of cytology and cellular biology

Sviridov E.A. — postgraduate student