

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ORIGINAL RESEARCH

УДК 615.252.349.7+615.22]:615.015.4:616.127-005.8-092.9
DOI 10.11603/bmbr.2706-6290.2022.2.12890

Д. Ч. Анінго, О. О. Левенець, Д. Б. Коваль, К. Л. Островерха, Г. Я. Лой, М. П. Кланца,
В. В. Черняшова, О. М. Олещук

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

КАРДІОПРОТЕКТИВНА ДІЯ МЕТФОРМІНУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ІЗОПРОТЕРЕНОЛІНДУКОВАНОМУ ІНФАРКТІ МІОКАРДА

Кардіопротективна дія метформіну при експериментальному ізопротереноліндукованому інфаркті міокарда

Д. Ч. Анінго, О. О. Левенець, Д. Б. Коваль,
К. Л. Островерха, Г. Я. Лой, М. П. Кланца,
В. В. Черняшова, О. М. Олещук

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Резюме. Інфаркт міокарда (ІМ) у пацієнтів із цукровим діабетом (ЦД) виникає частіше, ніж у популяції, та характеризується більш несприятливим прогнозом. «Метформін» – препарат першої лінії для лікування ЦД 2 типу, який відомий вираженою кардіопротективною дією.

Мета дослідження – вивчити кардіопротективні ефекти метформіну, зокрема антигіпертрофічного та антифібротичного, та його вплив на експресію прогіпертрофічного білка BNP за умов інфаркту міокарда, індукованого ізопротеренолом.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на 50 білих статевозрілих щурах-самцях. ІМ моделювали за допомогою 2 ін'єкцій Iso (100 мг/кг) з інтервалом у 24 год. Лікування метформіном (200 мг/кг) проводили упродовж 7 днів, починаючи з першого дня експерименту. Гістологічні зрізи міокарда забарвлювали гематоксилином та еозином. Експресію BNP досліджували за допомогою набору реагентів Rat BNP ELISA Kit (Elabscience). Статистичну обробку проводили методом однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з попарним порівнянням груп за критерієм Бонфероні.

Результати. У щурів, які отримували ін'єкції Iso, відбувалося двократне збільшення площі кардіоміоцитів з $(230,30 \pm 3,64)$ мкм² у (C) групі до $(490,6 \pm 8,93)$ мкм² у групі (Iso). Лікування метформіном попередило гіпертрофічні зміни у кардіоміоцитах при ІМ, оскільки їх площа залишалася на 58 % меншою. У щурів з ІМ концентрація BNP сироватки крові зростала на 77 %: $(191,90 \pm 8,20)$ пг/мл в групі (Iso) проти $(108,0 \pm 8,36)$ пг/мл у групі контролю (C). Лікування метформіном сприяло зниженню концентрації BNP на 29 % до $(136,10 \pm 2,76)$ пг/мл у тварин з ІМ. Введення Iso призвело до масивного фіброзування у

Cardioprotective action of metformin in experimental isoproterenol-induced myocardial infarction

D. Ch. Aningo, O. O. Levenets, D. B. Koval,
K. K. Ostroverkha, H. Ya. Loi, M. P. Klantsa,
V. V. Chernyashova, O. M. Oleshchuk

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

e-mail: loy@tdmu.edu.ua

Summary. Myocardial infarction (MI) occurs more frequently in patients with diabetes mellitus (DM) than in the general population and is characterized by a less favorable prognosis. Metformin is a first-line drug for the treatment of type 2 diabetes, which is known for its pronounced cardioprotective effect.

The aim of the study – to investigate the antihypertrophic and antiapoptotic effects of metformin and its effect on the expression of brain natriuretic peptide (BNP) in isoproterenol (Iso) induced MI.

Materials and Methods. The study was performed on 50 white adult male rats. MI was induced by 2 injections of Iso (100 mg/kg) with 24 hours interval. Treatment with metformin (200 mg/kg) was performed for 7 days from the first day of the experiment. Histological sections of the myocardium were stained with hematoxylin and eosin. BNP expression was examined using the Rat BNP ELISA Kit (Elabscience). Statistical comparison of multiple groups was performed by one-way ANOVA followed by a Bonferroni post hoc test.

Results. Rats receiving Iso injections had a twofold increase in cardiomyocyte areas from (230.30 ± 3.64) μm² in (C) group to (490.6 ± 8.93) μm² in (Iso) group. Metformin treatment prevented hypertrophic changes in cardiomyocytes in MI, as their area remained 58 % smaller. In rats with MI, serum BNP concentrations increased by 77 %: (191.90 ± 8.20) pg/ml in group (Iso) vs (108.0 ± 8.36) pg/ml in control group (C). Metformin treatment reduced BNP concentrations by 29 % to (136.10 ± 2.76) pg/ml in rats with MI. Iso administration resulted in massive accumulation of fibrotic tissue from (0.19 ± 0.01) % in (C) group to (32.08 ± 2.46) % in (Iso)

міокарді з $(0,19 \pm 0,01) \%$ у (С) групі до $(32,08 \pm 2,46) \%$ у групі (Iso). Метформін зменшив накопичення фіброзної тканини у щурів з ІМ майже у 10 разів.

Висновки. При ізопротереноліндукованому ІМ у щурів метформін запобігає серцевій гіпертрофії, пригнічує експресію прогіпертрофічного маркера BNP та зменшує накопичення фіброзної тканини.

Ключові слова: метформін; інфаркт міокарда; гіпертрофія; фіброз.

ВСТУП

Інфаркт міокарда (ІМ) у пацієнтів із цукровим діабетом (ЦД) виникає частіше, ніж у популяції, та характеризується більш несприятливим прогнозом. Одним із основних наслідків ІМ є недостатність лівого шлуночка, який піддається гіпертрофічному та фіброзному ремоделюванню. Крім того, неабияку роль у прогресуванні шлуночкового ремоделювання та СН відіграє стресіндукована реактивація фетальних генів у пошкодженому міокарді [1].

Постінфарктні структурні зміни у серці, які об'єднують під терміном «ремоделювання міокарда», включають гіпертрофію, інтерстиціальний фіброз, прогресуюче стоншення стінок і дилатацію камери шлуночка, які врешті призводять до прогресування кардіальної дисфункції та СН. До того ж виникають порушення у регуляції нейрогуморальних сигнальних шляхів, тому окрім кардіоміоцитів у патогенез ремоделювання залучаються фібробласти, ендотеліоцити та клітини імунного захисту [2].

Отже, реверсування ремоделювання міокарда є ключовою терапевтичною стратегією, щоб сповільнити прогресування СН та зменшити смертність внаслідок ІМ [3]. Тому на сьогодні надзвичайно актуальним залишається пошук препаратів, які здатні попередити або зменшити зміни міокарда, що виникають у відповідь на стресові впливи як адаптивні реакції, проте врешті, призводять до кардіальної дисфункції. Крім того, важливим завданням є дослідження ефектів лікарських препаратів на різноманітні молекулярні мішені, що залучені у процеси ремоделювання міокарда.

«Метформін» – пероральний цукрознижуючий засіб, який характеризується високим профілем безпеки та доброю толерантністю у пацієнтів [4]. У останніх рекомендаціях, які опублікувала у 2021 р. Американська діабетична асоціація (ADA), «Метформін» залишається препаратом вибору для стартової фармакотерапії ЦД 2 типу.

Відомо, що застосування метформіну асоціюється із зниженням рівня смертності та кількості госпіталізацій серед пацієнтів, хворих на ЦД із серцевою недостатністю (СН), різними класами дисфункцій нирок та показниками фракцій викиду. Метформін характеризується зменшеним рівнем смертності й нижчим ризиком ІМ [5].

group. Metformin inhibited fibrotic changes in rats with MI by almost 10-fold.

Conclusions. *In isoproterenol-induced MI in rats, metformin prevents cardiac hypertrophy, inhibits the expression of the prohypertrophic marker BNP and suppresses fibrotic remodeling.*

Key words: metformin; myocardial infarction; hypertrophy; fibrosis.

Мета дослідження – вивчити кардіопротективні ефекти метформіну, зокрема антигіпертрофічного та антифібротичного, та його вплив на експресію прогіпертрофічного білка BNP за умов інфаркту міокарда, індукованого ізопротеренолом.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на 50 білих статевозрілих щурах-самцях віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Умови утримання тварин відповідали вимогам Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються для наукових цілей (Страсбург, 1986). Усі експерименти проведені відповідно до Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах.

Щурів із середньою масою 200 г методом випадкової вибірки поділили на 4 групи: С (n=10) – контроль, С + М (n=10) – контроль+метформін, Iso (n=15) – ізопротереноліндукований інфаркт міокарда, Iso + М (n=15) – ізопротереноліндукований інфаркт міокарда + лікування метформіном.

З метою моделювання інфаркту міокарда застосовували препарат «Ізопротеренол» (Isoprenaline hydrochloride, Sigma Aldrich) у високій дозі (100 мг/кг) упродовж 2 днів інтраперитонеально. Лікування проводили шляхом інтраперитонеального введення метформіну (Фармак) у дозі 200 мг/кг упродовж 7 днів, починаючи з першого дня експерименту.

Кровопускання тварин проводили під загальним знеболюванням тіопенталом натрію (інтраперитонеальне введення з розрахунку 40 мг/кг маси тіла тварини). Для подальших досліджень забирали серце та сироватку.

Гістологічні зрізи міокарда забарвлювали гематоксиліном та еозином відповідно до стандартних протоколів. Дослідження мікропрепаратів та фотореєстрацію проводили за допомогою мікроскопа Eclipse Ci-E (Японія) з цифровою фотокамерою Sigeta M3CMOS 14000.

Дослідження експресії мозкового натрійуретичного пептиду (BNP) виконано із використанням набору реагентів Rat BNP ELISA Kit (Elabscience) відповідно до інструкції виробника.

Дані представлені у вигляді $M \pm SEM$ (Standard Error of Measurement – стандартна похибка ви-

мірювання). Для статистичного аналізу між досліджуваними групами проводили однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з попарним порівнянням груп за критерієм Бонфероні. Різницю вважали достовірною при $p < 0,05$. Обрахунки здійснено за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism, версія 5.00 (GraphPad Software, Inc.).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

У пацієнтів із ЦД як наслідок нейропатичних ускладнень виникає дисфункція автономної регуляції, а діяльність серця характеризується надмірною симпатичною стимуляцією, що є одним із перших та основних проявів кардіальної автономної нейропатії [6]. Тривала активація β -адренорецепторів є потужним патологічним стимулом, що призводить до розвитку гіпертрофічного фенотипу, який включає надмірний синтез протеїнів, експресію протоонкогенів, посилений оксидативний стрес, запалення та стимуляцію мітогенактивованої протеїнкінази і слугує запуском експресії фетальних генів, зокрема BNP [7]. Це призводить до надмірного ремоделювання міокарда, оскільки підвищується ризик гіпертрофії лівого шлуночка, фіброзу та інфаркту міокарда [8].

Щоб відтворити стан, схожий до надмірної активації симпатoadреналової системи у пацієнтів з діабетом, ми вводили щурам ізопротеренол, адреноміметик, який діє виключно на β -адренорецептори, проявляючи виражену кардіостимулюючу дію, збільшуючи потребу міокарда в кисні [9].

При застосуванні вищих доз ізопротеренолу (85–300 мг/кг), що вводяться одноразово або двічі, виникає інфаркт міокарда. Ураження серця в експериментальних тварин, індуковане ізопротеренолом, характеризується тими ж метаболічними та

морфологічними змінами тканин, що і в людей [9].

Популяційні дослідження встановили, що ІМ у діабетиків виникає достовірно частіше, ніж у пацієнтів без ЦД. Більше того, наслідки інфаркту в таких пацієнтів значно тяжчі, що підвищує ризик його повторного виникнення та смерті [10].

На рисунку 1 продемонстровано вплив метформіну на гіпертрофію кардіоміоцитів у щурів з інфарктом міокарда. Ми виявили, що у тварин, які отримували ін'єкції ізопротеренолу (Iso), відбувалося значне збільшення (у понад 2 рази) площі кардіоміоцитів: $(490,6 \pm 8,93)$ мкм² у групі (Iso) проти $(230,30 \pm 3,64)$ мкм² у (C) групі.

Введення метформіну щурам без змодельованої патології не викликає структурних змін у міокарді: площа кардіоміоцитів у групі (C+M) становить $(253,3 \pm 7,62)$ мкм² проти $(230,30 \pm 3,64)$ мкм² у (C) групі, різниця недостовірна.

Лікування метформіном попереджає гіпертрофічні зміни у кардіоміоцитах при моделюванні інфаркту міокарда в щурів, оскільки їх площа залишалася на 58 % меншою: $(284,60 \pm 8,93)$ мкм² у групі (Iso+M) проти $(490,6 \pm 8,93)$ мкм² у групі (Iso).

Гіпертрофія кардіоміоцитів на початкових етапах вважається компенсаторним механізмом, що дає можливість серцю пристосовуватися до патологічних умов шляхом збільшення м'язової маси через ініціювання гіпертрофічної реакції. Проте з часом стійка гіпертрофія може призвести до дилатаційної кардіоміопатії, СН та раптової смерті [1]. Відомо, що збільшення розмірів кардіоміоцитів під впливом гіпертрофічних стимулів пов'язане із посиленням саркомерогенезу та збільшенням експресії натрійуретичних пептидів [2].

Щоб підтвердити антигіпертрофічний ефект метформіну в постінфарктному міокарді, було про-

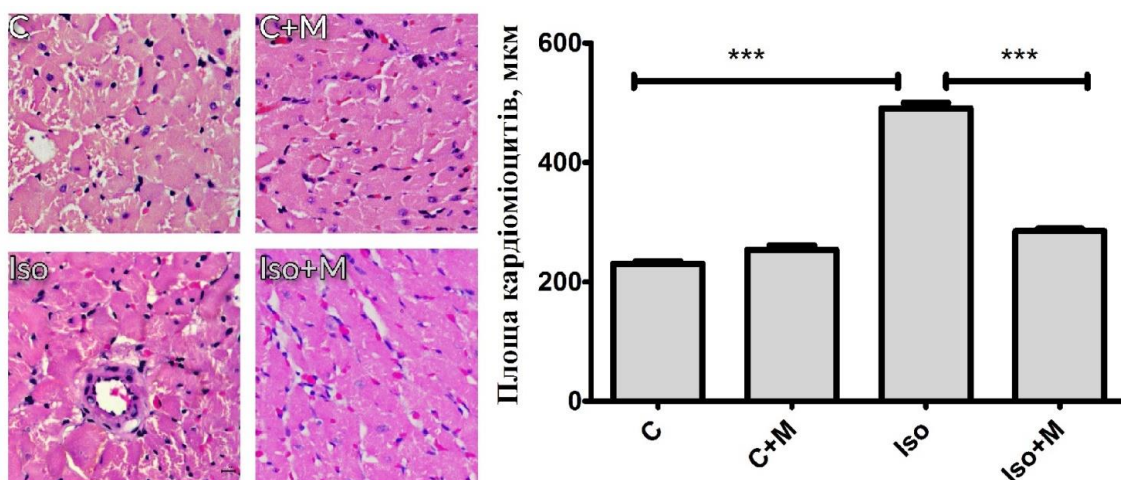


Рис. 1. Вплив метформіну на гіпертрофію кардіоміоцитів при ізопротереноліндукованому інфаркті міокарда у щурів.

Примітка. Зліва – репрезентативні зображення зрізів міокарда від щурів із контрольної групи (C) та групи інфаркту міокарда (Iso) при лікуванні метформіном (M). Справа – результати морфометрії кардіоміоцитів. Масштаб шкали 10 мкм. *** – $p < 0,001$ між вказаними групами.

ведено визначення концентрації BNP у сироватці крові імуноферментним аналізом.

Відомо, що стимуляція β_1 -адренорецепторів, окрім гіпертрофії кардіоміоцитів, провокує надмірний синтез протеїнів та запускає ап-регуляцію генів ранньої відповіді та експресію фетальних генів, зокрема BNP [11]. Тривале введення ізопротеренолу в щурів сприяє зміні типової експресії кардіальних генів [9].

На рисунку 2 наведені результати визначення концентрації BNP у сироватці крові щурів імуноферментним методом.

Встановлено, що введення ізопротеренолу провокує зростання концентрації BNP сироватки крові у щурів на 77 %: ($191,90 \pm 8,20$) пг/мл в групі інфаркту міокарда (Iso) проти ($108,0 \pm 8,36$) пг/мл у групі контролю (C).

Застосування метформіну в щурів без змодельованої патології вірогідно не впливає на рівень сироваткового BNP: ($0,21 \pm 0,02$) пг/мл у групі (C+M) проти ($0,19 \pm 0,01$) пг/мл у (C) групі.

Лікування метформіном приводить до зниження концентрації BNP на 29 % у щурів з інфарктом міокарда: ($136,10 \pm 2,76$) пг/мл у групі (Iso+M) проти ($191,90 \pm 8,20$) пг/мл у групі (Iso).

Раніше було виявлено, що експресія гена BNP зростає при розвитку СН, а підвищений рівень BNP, циркулюючого у плазмі, слугує біомаркером для скринінгу субклінічної діастолічної дисфункції шлуночка у пацієнтів із неконтрольованим діабетом та асоціюється із підвищеним ризиком смертності в осіб із серцево-судинними захворюваннями [12]. Тому зниження концентрації BNP при лікуванні метформіном після ІМ у нашому дослідженні можна розцінювати як здатність препарату репрограмувати

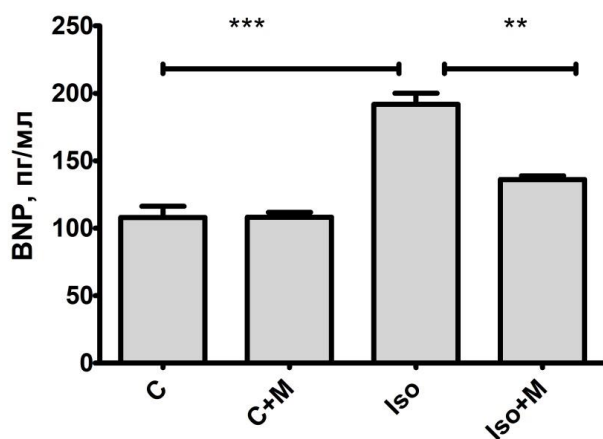


Рис. 2. Вплив метформіну на концентрацію BNP у сироватці крові щурів при ізопротереноліндукованому інфаркті міокарда.

Примітка. Концентрація BNP у сироватці крові щурів із контрольної групи (C) та групи інфаркту міокарда (Iso) при лікуванні метформіном (M), визначена імуноферментним методом. ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ між вказаними групами.

експресію фетальних генів і запобігати гіпертрофічному ремоделюванню міокарда. Раніше було встановлено, що метформін попереджає зростання BNP в умовах ізопротереноліндукованої кардіоміопатії [13], що корелює із отриманими даними.

Застосування ізопротеренолу у високих дозах викликає виражені фіброзні зміни в міокарді, що, врешті, призводять до дисфункції лівого шлуночка [9]. Це пов'язано із тим, що під впливом ізопротеренолу, внаслідок порушеного балансу між потребою в кисні та його надходженням, виникає некроз кардіоміоцитів із наступним відновленням тканини у вигляді фіброзу. Проте погіршення рівноваги між синтезом та деградацією протеїнів позаклітинного матриксу сприяє надмірному накопиченню фібрилярного колагену, що посилює жорсткість шлуночків та погіршує процеси скорочення і релаксації, електричну взаємодію між кардіоміоцитами та серцеву функцію в цілому [3].

Замісний фіброз, який виникає в ділянці некрозу як адаптивне явище, поширюється згодом на неінфарктну зону, що є прикладом реактивного фіброзу, який характеризується заповненням міжм'язових просторів колагеновими волокнами та посиленням периваскулярним фіброзом навколо більшості коронарних артерій. Надмірне депонування колагену, зумовлене порушенням балансом між його синтезом та деградацією, врешті, спричиняє надмірну жорсткість міокарда та є причиною аритмогенності [14].

Кардіальний фіброз є основним фактором прогресії СН, тому запобігання фіброзному ремоделюванню серцевого м'яза є потенційною терапевтичною мішенню у лікуванні СН [3].

На рисунку 3 відображено розростання фіброзних волокон, забарвлених за допомогою гематоксиліну та еозину в фіолетовий колір, у міокарді щурів з ізопротереноліндукованим інфарктом міокарда.

Результати даного дослідження свідчать про те, що введення ізопротеренолу призводить до масивного накопичення фіброзної тканини у міокарді: ($32,08 \pm 2,46$) % у групі (Iso) проти ($0,19 \pm 0,01$) % у (C) групі, $p < 0,001$.

Метформін запобігає накопиченню фіброзної тканини при інфаркті міокарда у щурів, зменшуючи її кількість майже у 10 разів: ($3,712 \pm 0,5115$) % у групі (Iso+M) проти ($32,08 \pm 2,464$) % у групі (Iso), $p < 0,001$.

Застосування метформіну в щурів без інфаркту не викликало достовірних змін у кількості фіброзної тканини: ($0,21 \pm 0,03$) % у групі (C+M) проти ($0,19 \pm 0,01$) % у (C) групі.

Зменшення накопичення фіброзної тканини у постінфарктному міокарді свідчить про виражену здатність метформіну запобігати ремоделюванню міокарда. Враховуючи також результати інших досліджень, які вивчали антифібротичні ефекти метформіну в міокарді, що піддавався ураженню внаслідок ішемії/реперфузії [15], хронічної ізопро-

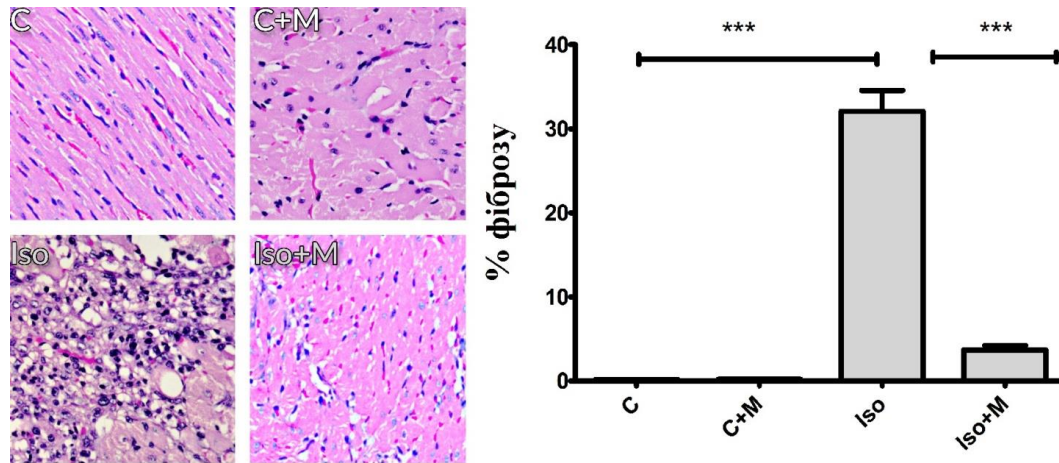


Рис. 3. Вплив метформіну на процеси фіброзу при ізопротереноліндукованому інфаркті міокарда у щурів.

Примітка. Зліва – репрезентативні зображення кардіальних секцій від щурів з контрольної групи (C) та групи інфаркту міокарда (Iso) при лікуванні метформіном (M). Справа – результати вимірювання відносної кількості фіброзної тканини у препаратах. *** – $p < 0,001$ між вказаними групами.

теренолової гіперстимуляції [13], можна зробити висновки, що застосування метформіну може бути потенційною стратегією у реверсуванні фіброзних змін та залежних від них СН й аритмій, викликаних ушкодженням серця різного генезу.

Отже, результати нашої роботи показали, що при ізопротереноліндукованому інфаркті міокарда протидіабетичний препарат «Метформін» запобігає гіпертрофічному і фібротичному ремоделюванню, а також попереджає репрограмування експресії фетальних генів, про що свідчить зниження концентрації мозкового натрійуретичного пептиду в

сироватці крові щурів, який є маркером кардіальної гіпертрофії та СН.

У перспективі – з'ясувати молекулярні мішені в механізмі кардіопротективної дії метформіну.

ВИСНОВКИ

При ізопротереноліндукованому інфаркті міокарда у щурів метформін запобігає серцевій гіпертрофії, призводить до зниження концентрації BNP у сироватці крові та зменшує накопичення фіброзної тканини. Такі ефекти препарату можуть слугувати потенційною стратегією у попередженні зловиясного ремоделювання міокарда.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Hypertrophy of the heart: a new therapeutic target? / N. Frey, H. A. Katus, E. N. Olson, J. A. Hill // *Circulation*. – 2004. – No. 109. – P. 1580–1589.
2. Dorn G. W. Phenotyping hypertrophy: eschew obfuscation / G. W. Dorn, J. Robbins, P. H. Sugden // *Circulation research*. – 2003. – No. 92. – P. 1171–1175.
3. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor improves cardiac function by attenuating adverse cardiac remodeling in rats with chronic myocardial infarction / T. Inthachai, S. Lekawanvijit, S. Kumfu [et al.] // *Experimental Physiology*. – 2015. – No. 100. – P. 667–679.
4. Metformin: from mechanisms of action to therapies / M. Foretz, B. Guigas, L. Bertrand [et al.] // *Cell Metabolism*. – 2014. – No. 20. – P. 953–966.
5. Comparative safety and effectiveness of metformin in patients with diabetes mellitus and heart failure: systematic review of observational studies involving 34 000 patients / D. T. Eurich, D. L. Weir, S. R. Majumdar [et al.] // *Circulation: Heart Failure*. – 2013. – No. 6. – P. 395–402.
6. Balcioglu A. S. Diabetes and cardiac autonomic neuropathy: clinical manifestations, cardiovascular consequences, diagnosis and treatment / A. S. Balcioglu, H. Muderrisoğlu // *World journal of diabetes*. – 2015. – No. 6. – P. 80.
7. Dimethyl fumarate interferes with MyD88-dependent toll-like receptor signalling pathway in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy model / A. A. Ahmed, A. A. Ahmed, E. M. El Morsy, S. Nofal // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. – 2018. – No. 70. – P. 1521–1530.
8. Isoproterenol and angiotensin I-converting enzyme in lung, left ventricle, and plasma during myocardial hypertrophy and fibrosis / M. P. Ocaranza, G. Díaz-Araya, M. Chiong [et al.] // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2002. – No. 40. – P. 246–254.
9. Isoprenaline: a tool for inducing myocardial infarction in experimental animals / M. A. Siddiqui, U. Ahmad, A. A. Khan [et al.] // *Int. J. Pharm.* – 2016. – No. 6. – P. 138–144.

10. Influence of diabetes mellitus on clinical outcomes following primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-segment elevation myocardial infarction / L. O. Jensen, M. Maeng, P. Thayssen [et al.] // *The American Journal of Cardiology*. – 2012. – No. 109. – P. 629–635.

11. He Q. Isoproterenol and cAMP regulation of the human brain natriuretic peptide gene involves Src and Rac / Q. He, G. Wu, M. C. Lapointe // *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. – 2000. – No. 278. – P. E1115–E1123.

12. Early cardiac changes in a rat model of prediabetes: brain natriuretic peptide overexpression seems to be the best marker / S. Nunes, E. Soares, J. Fernandes [et al.] // *Cardiovascular Diabetology*. – 2013. – No. 12. – P. 1–11.

13. Metformin exerts cardioprotection in Isoproterenol-induced cardiomyopathy in rats / H. Y. Loi, B. V. Pavliuk, S. B. Kramar [et al.] // *Medical and Clinical Chemistry*. – 2020. – P. 169–177.

14. Myocardial remodeling after infarction: the role of myofibroblasts / S. W. Van Den Borne, J. Diez, W. M. Blanckesteijn [et al.] // *Nature Reviews Cardiology*. – 2010. – No. 7. – P. 30–37.

15. Metformin attenuates postinfarction myocardial fibrosis and inflammation in mice / H. Loi, S. Kramar, C. Laborde [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – No. 22. – P. 9393.

REFERENCES

1. Frey N, Katus HA, Olson EN, Hill JA. Hypertrophy of the Heart: A New Therapeutic Target? *Circulation*. 2004;109(13): 1580–9. DOI: 10.1161/01.CIR.0000120390.68287.BB.

2. Dorn GW, Robbins J, Sugden PH. Phenotyping hypertrophy: Eschew obfuscation. *Circ Res*. 2003;92(11): 1171–5. DOI: 10.1161/01.RES.0000077012.11088.BC.

3. Inthachai T, Lekawanvijit S, Kumfu S, Apaijai N, Pongkan W, Chattipakorn SC, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor improves cardiac function by attenuating adverse cardiac remodeling in rats with chronic myocardial infarction. *Exp Physiol*. 2015;100(6): 667–79. DOI: 10.1113/EP085108.

4. Foretz M, Guigas B, Bertrand L, Pollak M, Viollet B. Metformin: From mechanisms of action to therapies. *Cell Metab*. 2014;20(6): 953–66. DOI: 10.1016/j.cmet.2014.09.018.

5. Eurich DT, Weir DL, Majumdar SR, Tsuyuki RT, Johnson JA, Tjosvold L, et al. Comparative safety and effectiveness of metformin in patients with diabetes mellitus and heart failure systematic review of observational studies involving 34 000 patients. *Circ Hear Fail*. 2013;6(3): 395–402. DOI: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.112.000162.

6. Balcioglu AS, Mudderrisoğlu H. Diabetes and cardiac autonomic neuropathy: Clinical manifestations, cardiovascular consequences, diagnosis and treatment. *World J Diabetes*. 2015;6(1): 80–91. DOI: 10.4239/wjd.v6.i1.80.

7. Ahmed AA, Ahmed AAE, El Morsy EM, Nofal S. Dimethyl fumarate interferes with MyD88-dependent toll-like receptor signalling pathway in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy model. *J Pharm Pharmacol*. 2018;70(11): 1521–30. DOI: 10.1111/jphp.13000.

8. Ocaranza MP, Díaz-Araya G, Chiong M, Muñoz D, Riveros JP, Ebensperger R, et al. Isoproterenol and angiotensin I-converting enzyme in lung, left ventricle,

and plasma during myocardial hypertrophy and fibrosis. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2002;40(2): 246–54. DOI: 10.1097/01.FJC.0000018355.73761.65

9. Siddiqui MA, Ahmad U, Khan AA, Ahmad M, Badruddeen, Khalid M, et al. Isoprenaline: a Tool for Inducing Myocardial Infarction in Experimental Animals. *Int J Pharm*. 2016;6(1): 1318–26.

10. Jensen LO, Maeng M, Thayssen P, Tilsted HH, Terkelsen CJ, Kalltoft A, et al. Influence of diabetes mellitus on clinical outcomes following primary percutaneous coronary intervention in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol [Internet]*. 2012;109(5): 629–35. DOI: 10.1016/j.amjcard.2011.10.018.

11. Quan He, Guiyun Wu, LaPointe MC. Isoproterenol and cAMP regulation of the human brain natriuretic peptide gene involves Src and Rac. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2000;278: 1115–23. DOI: 10.1152/ajpendo.2000.278.6.E1115.

12. Nunes S, Soares E, Fernandes J, Viana S, Carvalho E, Pereira FC, et al. Early cardiac changes in a rat model of prediabetes: Brain natriuretic peptide overexpression seems to be the best marker. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12(1): 1–11. <http://www.cardiab.com/content/12/1/44>.

13. Loi H. Ya., Pavliuk B.V., Kramar S.B., Korda M.M. OOM. Metformin exerts cardioprotection in isoproterenol-induced cardiomyopathy in rats. *Med Clin Chem*. 2019;4: 69–77. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2019.v.i4.10855.

14. Van Den Borne SWM, Diez J, Blanckesteijn WM, Verjans J, Hofstra L, Narula J. Myocardial remodeling after infarction: The role of myofibroblasts. *Nat Rev Cardiol [Internet]*. 2010;7(1): 30–7. DOI: 10.1038/nrcardio.2009.199.

15. Loi H, Kramar S, Laborde C, Marsal D, Pizzinat N, Cussac D, et al. Metformin attenuates postinfarction myocardial fibrosis and inflammation in mice. *Int J Mol Sci*. 2021;22(17): 9393. DOI: 10.3390/ijms22179393.