

УДК612.398:616.12-005.4+615.22-092.9

Вплив кардіопротекторів на протеазно-інгібіторний потенціал крові та серця щурів з адреналін-індукованою ішемією міокарда

В.А. Паронік¹, О.Е. Шаульська¹, Л.М. Дяченко², А.І. Шевцова¹

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпропетровськ, Україна

²Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, Дніпропетровськ, Україна

Проведене комплексне дослідження впливу корвітину та доксицикліну на фізіологічний стан і протеазно-інгібіторний баланс крові та серцевого м'язу у щурів з адреналін-індукованою ішемією міокарда (АІМ). Активність матриксних металопротеїназ 2 та 9 (ММП2 та ММП9) визначено методом ензим-зимографії, активність трипсиноподібних ензимів (ТПЕ), рівень альфа-1 інгібітора протеїназ (ІП1) та альфа-2 макроглобуліну (α 2-МГ) – методами спектрофотометричного аналізу з використанням специфічного субстрату. За АІМ порушується протеазно-інгібіторний потенціал крові та серцевого м'язу. У плазмі крові підвищується активність ММП9, проММП9/2 та рівень ІП1 на тлі незмінної активності ММП2. Активність ТПЕ та рівень ІП1 у щурів з АІМ не змінюються, але знижується рівень α 2-МГ. У серцевому м'язі, навпаки, збільшується активність ММП2 та рівень ІП1. Застосування корвітину сприяє відновленню рівня ММП, але порушує баланс системи ТПЕ/ІП1- α 2-МГ. За впливу доксицикліну блокується активність ММП9, значно знижується активність ММП2, що свідчить про інгібувальний вплив цього препарату на активність досліджуваних матриксних металопротеїназ. Зроблено висновок про перспективність визначення протеазно-інгібіторного балансу під час дослідження ефективності дії фармакологічних препаратів.

Ключові слова: адреналінова ішемія міокарда; інгібітори протеолізу; матриксні металопротеїнази; кардіопротектори

The effect of cardioprotectors on protease-inhibitory potential in blood and heart of rats with epinephrine-induced myocardial ischemia

V. Paronik¹, O. Shaul's'ka¹, L. Diachenko², A. Shevtsova¹

¹Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine, Dnipropetrovsk, Ukraine

²Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Dnipropetrovsk, Ukraine

Coronary heart disease is one of the major causes of illness and of deaths in Europe, therefore the definition of the signaling pathways involved in cardioprotection represents a challenging goal in order to discover novel pharmacological approaches. One of the mechanisms included in the implementation of signaling methods is proteolysis, so the aim of our study was to study the balance between activity of the proteolytic enzymes and their inhibitors in the experimental myocardial ischemia of rats and the impact of corvutin (C) and doxycycline (D) on these parameters. Ischemia was induced in Wistar rats by the intraperitoneal injection of epinephrine at a dose of 0.2 mg/100 g of weight during 10 days. All animals were divided into 4 groups: 1 – control (8 rats), 2 – rats with epinephrine-induced myocardial ischemia (EIM, n = 10), 3 – rats, which were entered C after completion of epinephrine injections (n = 10), 4 – rats, which accepted D during 6 days after finishing of epinephrine injections (n = 10). The electrical activity of the heart was recorded on an electrocardiogram (ECG). Activities of matrix metalloproteinases 2 and 9 (MMP2, MMP9) were studied by enzyme-zymography, the activity of trypsin-like enzymes (TLE), levels of alpha-1 proteinase inhibitor (IP1) and alpha-2-macroglobulin (α 2-MG) in the blood and the heart were determined by spectrophotometric methods. The experimental results suggest that epinephrine injections lead to changes in the ECG typical for ischemic myocardium. The data obtained showed that the protease-inhibitory balance in the blood and in heart was disturbed. Activity of MMP9, proMMP9/2 and level of IP1 increased in blood plasma of rats with EIM, but activities of MMP2, TLE were unchanged in this group. In the heart muscle the activity

ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія МОЗ України», вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна
SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Health Ministry of Ukraine", Dzerzhinsky Str., 9, Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine

Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет, вул. Ворошилова, 25, Дніпропетровськ, 49600, Україна
Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University, Voroshylova Str., 25, Dnipropetrovsk, 49600, Ukraine
Tel.: +38-099-735-09-10. E-mail: paronic@ukr.net, info@dsau.dp.ua

of MMP2 and level of IP1 increased. Administration of C resulted in the recovery of MMPs level, but disturbed the balance in the system TLE/IP1- α 2-MG. Administration of D blocked the activity of MMP9, significantly reduced the activity of MMP2, which testifies the inhibitory effect of this drug on the activity of matrix metalloproteinases. Based on these results, we conclude that definition of protease-inhibitory balance in the blood plasma of patients with coronary artery disease is promising as an additional diagnostic complex and for monitoring of the effectiveness of therapy.

Keywords: epinephrine-induced myocardial ischemia; inhibitors of proteolysis; matrix metalloproteinases; cardioprotectors

Вступ

Ішемічна хвороба серця (ІХС) – серйозна проблема сучасності. Незважаючи на досягнення у профілактиці та розробленні лікувальних заходів, ІХС залишається найпоширенішим захворюванням на планеті, лідером за частотою ускладнень і сумної медичної статистики. Для захисту міокарда в умовах ішемії застосовують фармакологічні препарати, які мають різноманітні точки дії та ефекти впливу, об'єднані під загальною назвою «кардіопротектори». Серед препаратів із кардіопротекторною дією велику увагу привертають біофлавоноїд кверцетин і антибіотик доксициклін. Обидва препарати володіють антиоксидантними, протизапальними та цитопротекторними властивостями (Malik et al., 2013), що сприяє зменшенню ушкоджень кардіоміоцитів за умов ішемії та відновленню їх функціональної активності після інфаркту міокарда (Aljavi et al., 2012). У зв'язку з тим, що біофлавоноїди впливають на структуру та сигнальні шляхи мітохондрій (органел, які постачають більшу частину енергії у клітинах), інтерес багатьох дослідників прикутий до пошуку раціонального та ефективного застосування цих препаратів у лікуванні серцево-судинних захворювань (Testai, 2015). В експериментах із дослідження впливу різних кардіопротекторів на стан серцевого м'яза під час моделювання ішемії або реперфузії у щурів доведено позитивний ефект синергічного використання біофлавоноїду епікатехіну разом із доксицикліном (Ortiz-Vilchis et al., 2014). Як вважають автори цього дослідження, зниження зони інфаркту за умов комплексного застосування зазначених препаратів пов'язане зі швидшим відновленням стану мітохондрій і постачанням енергії у зону ушкодження міокарда.

Останнім часом з'явилися публікації, в яких обговорюється здатність препаратів із кардіопротекторною дією впливати на активність матриксних металопротеїназ – ензимів, що беруть участь у дестабілізації та руйнуванні атеросклеротичної бляшки та процесах ангіогенезу (Rodriguez-Granillo et al., 2011, Deleon-Pennell et al., 2015). Серед трьох десятків відомих нині матриксних металопротеїназ найбільшу увагу в кардіології приділяють ММП2 та ММП9, або желатиназам А та В. Установлено їх патогенетичне та діагностичне значення у розриві покриття нестабільної атеросклеротичної бляшки (Baggen et al., 2016) та процесах постінфарктного ремоделювання лівого шлуночка (Münch et al., 2016). Пошук кардіопротекторних препаратів, в основі лікувальної дії яких лежить регулювальний вплив на активність матрикс-деградувальних ферментів, вважають перспективним напрямом фармакокорекції серцево-судинних захворювань (Lizotte-Waniewski, 2015) і трансплантології (Malik, 2013; Ozcinar, 2014). У деяких статтях показано зниження активності ММП за дії доксицикліну (Oliveira et al., 2016), але його вплив на загальний протеазно-інгібіторний потенціал крові та серцевого м'яза після випадку ішемії

практично не висвітлений. Що стосується корвітину, то дані відносно ролі цього біофлавоноїду у підтриманні рівноваги в системі «протеоліз – антипротеоліз» суперечливі та потребують ретельної перевірки. Визначення балансу між процесами протеолізу та його гальмування за дії інгібіторів в умовах ішемії міокарда може надати корисну інформацію стосовно біохімічних механізмів ушкодження клітин і раціонального застосування кардіопротекторів.

Мета статті – визначити зміни функціонального стану, активності матрикс-деградувальних ферментів та їх інгібіторів в умовах ішемії міокарда у щурів, оцінити вплив на зазначені показники корвітину та доксицикліну.

Матеріал і методи досліджень

Ішемію міокарда моделювали у щурів лінії Вістар за схемою, запропонованою Л.Д. Хідровою (Hidrova, 2010), згідно з якою адреналін (0,2 мг/100 г маси) вводили підшкірно упродовж 10 діб. Середня маса дослідних тварин складала 195 ± 5 г. Щурів поділили на чотири групи: I група – контрольна ($n = 8$, щурам вводили фізіологічний розчин), II – щури з адреналін-індукованою ішемією міокарда (АІМ, $n = 10$), III група після моделювання АІМ отримувала корвітин (К) упродовж 5 діб внутрішньочеревинно за такою схемою: перша доба – 5,2 мг/100 г; друга та третя – по 1,8 мг/100 г ваги тварини. У IV групі щурів застосовували доксициклін (Д) після моделювання АІМ, який вводили перорально у дозі 3,5 мг/кг. Тварин утримували у стандартних умовах віварію ДЗ «Дніпропетровська медична академія» (температура повітря 22 ± 2 °С, коливання світло / темрява – 12 / 12 годин). Упродовж експерименту тварин тричі зважували: на початку експерименту, після набуття АІМ та після закінчення лікування. Наприкінці експерименту оцінювали функціональний стан міокарда за даними електрокардіограми (ЕКГ) у другому стандартному відведенні за допомогою комп'ютерного електрокардіографічного комплексу CardioLab 2000 (ХАІ-Медика, Харків). Виведення тварин з експерименту проводили відповідно до Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження». Як знеболувальний препарат застосовували тіопентал натрію (40 мкг/кг).

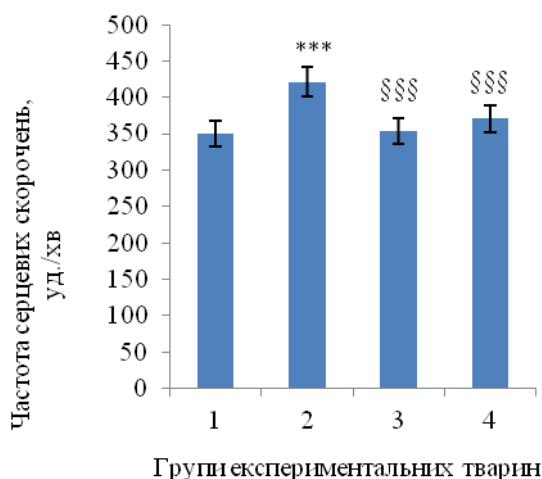
Для біохімічного аналізу використовували плазму та екстракт розчинних білків серцевого м'яза експериментальних тварин, який готували за схемою, описаною раніше (Pagonik et al., 2015). У дослідних зразках визначали активність матриксних металопротеїназ ММП2 та ММП9 методом желатин-зимографії в нашій модифікації, розраховуючи активність проформ і зрілих форм зазначених ензимів відносно кількості білка у досліджуваних зразках, яку визначали методом Бредфорд. Активність трипсиноподібних ензимів (ТПЕ) визначали за розщепленням синтетичного безбарвного субстрату N-бензоїл-DL-аргінін-4-паратітроанілідгідрохлориду з утворенням

п-нітроаніліну жовтого кольору, реєструючи ступінь забарвлення на фотометрі (Human, Німеччина) за довжини хвилі 410 нм. Концентрацію $\alpha 1$ -інгібітора протеїназ ($\alpha 1$ -ІП) та $\alpha 2$ -макроглобуліну ($\alpha 2$ -МГ) визначали за мікроеваріантом методу Веремеєнко (Veremeenko et al., 1988).

Дані аналізували за допомогою програм Statistica та Sorbflil TLC. Враховуючи невелику кількість щурів у кожній групі, для статистичної обробки результатів дослідження застосовано непараметричний аналіз, в якому вірогідність різниці оцінювали за критерієм Манна – Уїтні. Відмінності між величинами в контрольній і дослідній групах визнавали достовірними за $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

За результатами моделювання адреналін-індукованої ішемії міокарда встановлено, що після ін'єкцій препарату упродовж 10 діб у тварин спостерігали пригнічення поведінкових реакцій через погіршення фізичного стану (апатія, млявість, тахікардія, замінення кінцівок після ін'єкцій, дисфункція сечового міхура). Смертність в експеримен-



тальних групах тварин склала 18%. Електрофізіологічні параметри міокарда у тварин перевіряли наприкінці експерименту за допомогою ЕКГ у другому стандартному відведенні. У першій групі щурів показники ЕКГ відповідали значенням, наведеним у літературі (Karkishhenko, 2010): відсутній зубець Q, зубець P – позитивний, зубець S одразу переходив у T, формуючи інтервал S–T. Амплітуда зубця R складала в середньому $0,61 \pm 0,01$ мВ, а зубця T – $0,25 \pm 0,01$ мВ. Частота серцевих скорочень (ЧСС) становила $349,4 \pm 7,8$ удара за хвилину (уд./хв) (рис. а).

За даними ЕКГ, у 60% експериментальних тварин після закінчення ін'єкцій адреналіну зафіксовано набуту ішемію міокарда, про що свідчить елевація сегмента ST відносно ізолінії (рис. б). У другій групі тварин спостерігали підвищення ЧСС на 20% відносно групи контролю, зміни амплітуди зубця R та елевацію сегмента ST відносно ізолінії на $1,90 \pm 0,11$ мм. Зубець S зливається з позитивним зубцем T, розширюється сегмент ST, що говорить про формування зони трансмурального пошкодження м'язових волокон унаслідок гострого порушення коронарного кровоплину.



Рис. Частота серцевих скорочень (а) та електрокардіограми (б) експериментальних тварин:

1 – контрольна група, 2 – щури з адреналін-індукованою ішемією (АІМ), 3 – щури з АІМ після введення корвітину, 4 – введення доксицикліну після набуття АІМ; *** – вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи за $P < 0,001$, §§§ – вірогідна різниця відносно групи АІМ за $P < 0,001$

Після лікування у тварин III та IV груп показники ЧСС повернулись до значень контрольної групи (відповідно, 378 ± 13 та 398 ± 18 уд./хв). Отримані результати узгоджуються з даними інших авторів (Hushmatov et al., 2015), згідно з якими антиоксиданти дають двофазний іонотропний ефект на скорочувальну активність папілярного м'яза щурів, зменшуючи частоту тахікардії. Такий ефект може бути пов'язаний з активацією Р-адренорецептора, збільшенням цАМФ і Ca^{2+} у кардіоміоцитах. Антиаритмічна дія може бути пов'язана з модуляцією функціональної активності натрієвих і кальцієвих каналів у кардіоміоцитах. Уведення корвітину впродовж п'яти діб зумовлювала відновлення положення сегмента ST у третій групі, хоча амплітуда зубця R не поверталась до контрольних значень, а інтервал S-T був дещо розширеним. Отже, після застосування корвітину показники електричної активності серця тварин поліпшились, прямі ознаки ішемії на ЕКГ були відсутні, але зазначені вище супутні зміни ЕКГ свідчать про залишкові наслідки гострого пошкодження міокарда.

У четвертій групі тварин, які приймали доксициклін, також була відсутня елевація сегмента ST, спостерігався розширений інтервал S-T, але амплітуда зубця T була нижчою за контрольні значення. Можливо, це пов'язано із частковою реполяризацією внаслідок залишкової дії адреналіну, тому й не відбувалося повного відновлення функціональної активності кардіоміоцитів. Слід зауважити також, що в нашому дослідженні використано дози доксицикліну, що відповідають його антимікробній дії, а, за даними літератури, саме низькі дози цього препарату здійснюють регулювальну дію на процеси ремоделювання лівого шлуночка після інфаркту міокарда (Cerisano, 2014).

За результатами визначення активності ММП2 та ММП9 встановлено, що за адреналінової ішемії міокарда у плазмі крові щурів достовірно підвищується відносна активність ММП9 та спостерігається тенденція до збільшення проформ ММП9/2, хоча активність ММП2 залишається незмінною. У фракції розчинних білків серцевого м'яза, навпаки, ММП9 не визначалась, а обидві форми ММП2 достовірно збільшувались (табл. 1). Засто-

сування корвітину спричинило зниження активності досліджуваних ММП у плазмі, особливо проММП9, значення якої були навіть нижчими за такі у контрольній групі. У серцевому м'язі зберігалась висока активність

проММП2 та визначено достовірне збільшення активності зрілої форми цього ензиму. Слід зауважити, що в нашому експерименті у розчинній фракції білків серця ММП9 не визначалась у жодній із досліджуваних груп.

Таблиця 1

Активність ММП2/9 (М ± m, ум. од./мг білка) у плазмі крові та фракції розчинних білків серцевого м'язу щурів

Показники	Групи тварин			
	контроль	АІМ	АІМ + К	АІМ + Д
Плазма крові				
проММП9	4,11 ± 0,87	5,60 ± 0,31	3,37 ± 0,06 ^{§§§}	–
ММП9	4,49 ± 0,81	7,41 ± 0,58 ^{**}	5,81 ± 0,54	–
проММП2	4,81 ± 0,49	6,10 ± 0,79	5,56 ± 1,51	8,31 ± 1,34 [*]
ММП2	4,90 ± 0,41	4,98 ± 0,51	5,10 ± 0,46	5,26 ± 0,35
Екстракт розчинних білків серцевого м'язу				
проММП2	7,81 ± 0,22	13,02 ± 1,17 ^{***}	13,17 ± 1,09 ^{***}	8,38 ± 1,05 ^{§§}
ММП2	9,31 ± 0,62	12,90 ± 0,68 ^{***}	15,79 ± 1,16 ^{***§}	11,91 ± 0,76 [*]

Примітки: * – P < 0,05, *** – P < 0,001 вірогідна різниця порівняно з показниками контрольної групи, § – P < 0,05, §§ – P < 0,001 вірогідна різниця відносно групи з адреналіновою ішемією міокарда (АІМ); АІМ + К – застосування корвітину після моделювання АІМ; АІМ + Д – застосування доксицикліну після моделювання АІМ.

Інша реакція спостерігалась за впливу доксицикліну: у плазмі крові ММП9 не визначалась, а рівень активності обох форм ММП2 був підвищений, у той час як у серцевому м'язі активність ММП2 знижувалась порівняно з II групою, а активність проформи цього ензиму зменшувалась практично до нормальних значень (табл. 1). Отримані дані підтверджують гіпотезу про регульовальний вплив досліджуваних препаратів на експресію та активність матриксних металопротеїназ. За літературними даними, доксициклін знижує активність ММП2 і блокує апоптоз клітин, активуючи протеїназу В – продукт генів Akt. Ця кінза інгібує апоптоз, бере участь у регулюванні клітинного циклу, індукує синтез білків і є ключовим білком у регуляції процесів росту тканин і розвитку м'язової дистрофії (Ozcinar, 2014). Як було вказано вище, наслідки дії доксицикліну залежать від дози та тривалості його застосування. У дозі 100–200 мг/добу у

людей він проявляє антимікробну, протизапальну дію, а за нижчих доз інгібує ММП2 (Schulze, 2013; Horwitz, 2014). Вірогідно, протиріччя отриманих нами даних із літературними пов'язане з перевищенням дози цього препарату в наших дослідженнях. Цікаво, що на тлі збільшення ММП2 активність іншої желатинази (ММП9) у групі щурів, які вживали доксициклін, зовсім не визначалась. Отже, за великих доз цей антибіотик інгібує ММП9, а за низьких – ММП2, але для остаточного висновку слід провести додаткові дослідження.

Результати визначення активності трипсиноподібних ензимів і неспецифічних інгібіторів протеолізу наведено у таблиці 2. У плазмі крові щурів з АІМ ці показники не змінюються, за винятком α2-макроглобуліну, кількість якого достовірно знижується у цій групі тварин. У тканині серця, навпаки, кількість цього інгібітора не змінюється, а кількість α1-інгібітора протеїназ була збільшеною удвічі.

Таблиця 2

Активність трипсиноподібних ензимів (ТПЕ), альфа-1-інгібітора протеїназ (ІП1) та альфа-2-макроглобуліну (α2-МГ) в експериментальних тварин (М ± m)

Показники	Групи тварин			
	контроль	АІМ	АІМ + К	АІМ + Д
ТПЕ у плазмі щурів, МЕ/мл	0,455 ± 0,044	0,439 ± 0,067	0,611 ± 0,063 [*]	0,500 ± 0,065
ТПЕ у гомогенаті серця щурів, МЕ/мг білка	0,015 ± 0,005	0,020 ± 0,005	0,024 ± 0,005	0,030 ± 0,008
ІП1 у плазмі щурів, мкмоль/л	339,1 ± 14,7	332,9 ± 15,9	322,1 ± 12,7	326,7 ± 12,3
ІП1 у гомогенаті серця щурів, мкмоль/л/мг білка	9,8 ± 0,7	20,3 ± 1,4 ^{***}	18,1 ± 2,1 ^{***}	16,4 ± 2,6 ^{***}
α2-МГ у плазмі щурів, мкмоль/л	9,4 ± 0,4	7,4 ± 0,2 ^{***}	–	1,4 ± 0,1 ^{***}
α2-МГ у гомогенаті серця щурів, мкмоль/л/мг білка	0,207 ± 0,039	0,311 ± 0,029	0,312 ± 0,049	0,287 ± 0,049

Примітки: див. табл. 1.

За умов застосування кардіопротекторів основні зміни стосувались α2-макроглобуліну: його кількість у плазмі крові різко знижувалась за впливу доксицикліну, а за умов застосування корвітину взагалі не визначалась. Отримані дані свідчать, що за адреналінової ішемії міокарда порушується протеазно-інгібіторний потенціал серцевого м'язу, в першу чергу, за рахунок зміни співвідношення основних інгібіторів серинових протеїназ (ІП1 та α2-МГ). Обидва інгібітори відіграють значну роль у підтриманні гемостазу, впливаючи на активність ферментів систем коагуляції та фібринолізу.

Нещодавно з'явилися публікації, в яких доводиться безпосередня участь α2-МГ у розвитку інфаркту міокарда (Vélez et al., 2014) і пропонується включення цього показника в панель біомаркерів ушкоджень серця та перелік фармакологічних мішеней (Yang et al, 2015). Наші результати також свідчать про перспективність визначення протеазно-антипротеазного балансу у плазмі крові хворих на ІХС як додаткового діагностичного комплексу та оцінки ефективності терапевтичних засобів.

Висновки

У хворих з адреналіновою ішемією міокарда порушується протеазно-інгібіторний потенціал крові та серцевого м'язу: якщо у плазмі підвищується активність ММП9, проММП9/2 та рівень α 1-інгібітора протеїназ на тлі незмінної активності ММП2, трипсиноподібних ензимів та зниження рівня α 2-макроглобуліну, то у серцевому м'язі, навпаки, збільшується активність ММП2 та рівень α 1-інгібітору протеїназ.

Застосування корвітину сприяє відновленню функціонального стану серця, рівня ММП, але порушує баланс у системі трипсиноподібних ензимів та їх інгібіторів.

За впливу доксицикліну блокується активність ММП9, значно знижується активність ММП2, що свідчить про інгібувальний вплив цього препарату на активність матриксних металопротеїназ.

Бібліографічні посилання

- Aljavi, A.L., Kenzhaev, M.L., Haitov, S.S., Kenzhaev, S.R., 2012. Profilaktika diastolicheskoy disfunkcii levogo zheludochka pri ostrom koronarnom syndrome s jelevaciej segmenta ST [Prevention of left ventricular diastolic dysfunction in acute coronary syndrome with ST segment elevation]. *Ukr. Medicnij Chasopis* 88, (in Ukrainian).
- Baggen, V.J., Eindhoven, J.A., van den Bosch, A.E., Witsenburg, M., Cuypers, J.A., Langstraat, J.S., Boersma, E., Roos-Hesselink, J.W., 2016. Matrix metalloproteinases as candidate biomarkers in a adults with congenital heart disease. *Biomarkers* 17, 1–8.
- Cerisano, G., Buonamici, P., Valenti, R., Moschi, G., Taddeucci, E., Giurlani, L., Migliorini, A., Vergara, R., Parodi, G., Sciarra, R., Romito, R., Colonna, P., Antoniucci, D., 2014. Effects of a timely therapy with doxycycline on the left ventricular remodeling according to the pre-procedural TIMI flow grade in patients with ST-elevation acute myocardial infarction. *Basic. Res. Cardiol.* 109(4), 412.
- Deleon-Pennell, K.Y., Altara, R., Yabluchanskiy, A., Modesti, A., Lindsey, M.L. 2015. The circular relationship between matrix metalloproteinase-9 and inflammation following myocardial. *IUBMB Life* 67(8), 611–618.
- Hidirova, L.D., 2010. Izmenenie balansa mezhdru aktivnost'ju perekisnogo okislenija lipidov, antioksidantnoj zashhitoy i sodержaniem zheleza u kryss pri jeksperimental'nom infarkte miokarda [Change in balance between activity of lipid peroxidation, antioxidant system and ferrum content in rats with experimental myocardial infarction]. *Racional'naja Farmakoterapija v Kardiologii* 6(2), 216–219 (in Russian).
- Horwitz, V., Dachir, S., Cohen, M., Gutman, H., Cohen, L., Fishbine, E., Brandeis, R., Turetz, J., Amir, A., Gore, A., Kadar, T., 2014. The beneficial effects of doxycycline, an inhibitor of matrix metalloproteinases, on sulfur mustard-induced ocular pathologies depend on the injury stage. *Curr. Eye. Res.* 39(8), 803–812.
- Hushmatov, S.S., Mahmudov, R.R., Mavljanov, S.M., 2015. Sravnitel'noe izuchenie inotropnoj i antiaritmicheskoy aktivnosti flavonoidov – kvercetina, rutina i (+) – katehina [Comparison of inotropic and antiarrhythmic activity of flavonoids – quercetin, rutin and (+) – catechin]. *Rossijskij Kardiologicheskij Zhurnal* 11, 35–41 (in Russian).
- Karkischenko, N.N., Gracheva, S.V., 2010. Rukovodstvo po laboratornym zhivotnym i al'ternativnym modeljam v biomedicinskih tehnologijah [The guidance for laboratory animals and alternative models in biomedical technology]. *Alternatives of Biomedicine, Moscow* (in Russian).
- Lizotte-Waniewski, M., Brew, K., Hennekens, C.H., 2015. Hypothesis: Metalloproteinase inhibitors decrease risks of cardiovascular disease. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* pii: 1074248415615237.
- Malik, Y.S., Sheikh, M.A., Zhu, X., 2013. Doxycycline can stimulate cytoprotection in neural stem cells with oxygen-glucose deprivation-reoxygenation injury: A potential approach to enhance effectiveness of cell transplantation therapy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 432(2), 355–358.
- Münch, J., Avanesov, M., Bannas, P., Säring, D., Krämer, E., Mearini, G., Carrier, L., Suling, A., Lund, G., Patten, M., 2016. Serum matrix metalloproteinases as quantitative biomarkers for myocardial fibrosis and sudden cardiac death risk stratification in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Card. Fail.* S1071-9164(16)00101-9.
- Oliveira, H.L., Tedesco, T.K., Rodrigues-Filho, L.E., Soares, F.Z., Rocha, R.O., 2016. Doxycycline as a matrix metalloproteinase inhibitor to prevent bond degradation: The effect of acid and neutral solutions on dentin bond strength. *Gen. Dent.* 64(2), 14–17.
- Ortiz-Vilchis, P., Yamazaki, K.G., Rubio-Gayosso, I., Ramirez-Sanchez, I., Calzada, C., Romero-Perez, D., Ortiz, A., Meaney, E., Taub, P., Villarreal, F., Ceballos, G., 2014. Co-administration of the flavanol (-)-epicatechin with doxycycline synergistically reduces infarct size in a model of ischemia reperfusion injury by inhibition of mitochondrial swelling. *Eur. J. Pharmacol.* 744, 76–82.
- Ozcinar, E., Okatan, E.N., Tuncay, E., Eryilmaz, S., Turan, B., 2014. Improvement of functional recovery of donor heart following cold static storage with doxycycline cardioplegia. *Cardiovasc. Toxicol.* 14(1), 64–73.
- Parhomenko, A.N., Kozhuhov, S.N., 2004. Kardioprotekcija pri ostrom infarkte miokarda: Teoreticheskie predposylki i vozmozhnye puti klinicheskogo reshenija problemy [Cardioprotection in acute myocardial infarction: Theoretical pre-requisites and possible ways of clinical solution of the problem]. *Kardiologija* 2, 6–11 (in Russian).
- Paronik, V.A., Shaul's'ka, O.E., Zhylyuk, V.I., Shevtsova, A.I., 2015. Aktivnist' antyoksydantnykh fermentiv ta zheltynaz za adrenalinovoy ishemiyi miokarda u shchuriv [Activity of antioxidant enzymes and gelatinases in rats with epinephrine-induced myocardial ischemia]. *Medychna ta Klinichna Biokhimiya* 3, 71–75 (in Ukrainian).
- Rodriguez-Granillo, G.A., Rodriguez-Granillo, A., Milei, J., 2011. Effect of doxycycline on atherosclerosis: From bench to bedside. *Recent Pat. Cardiovasc. Drug Discov.* 6(1), 42–54.
- Schulze, C.J., Castro, M.M., Kandasamy, A.D., Cena, J., Bryden, C., Wang, S.H., Koshal, A., Tsuyuki, R.T., Finegan, B.A., Schulz, R., 2013. Doxycycline reduces cardiac matrix metalloproteinase-2 activity but does not ameliorate myocardial dysfunction during reperfusion in coronary artery bypass patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Crit. Care Med.* 41(11), 2512–2520.
- Testai, L., 2015. Flavonoids and mitochondrial pharmacology: A new paradigm for cardioprotection. *Life Sci.* 135, 68–76.
- Vélez, P., Parguina, A.F., Ocaranza-Sánchez, R., Grigorian-Shamagian, L., Rosa, I., Alonso-Orgaz, S., dela Cuesta, F., Guitián, E., Moreu, J., Barderas, M.G., González-Juanatey, J.R., García, Á., 2014. Identification of a circulating microvesicle protein network in volvedin ST-elevation myocardial infarction. *Thromb. Haemost.* 112(4), 716–726.
- Veremeenko, K.N., Goloborod'ko, O.P., Kizim, A.I., 1988. Proteoliz v norme i pri patologii. *Zdorovja, Kiev* (in Russian).
- Yang, S., Chen, L., Sun, S., Shah, P., Yang, W., Zhang, B., Zhang, Z., Chan, D.W., Kass, D.A., van Eyk, J.E., Zhang, H., 2015. Glycoproteins identified from heart failure and treatment models. *Proteomics* 15, 567–579.

Надійшла до редколегії 29.01.2016