

В. Л. Голубєв, В. І. Жилюк

## **Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу**

*Дніпровський державний медичний університет, м. Дніпро*

*Ключові слова: цукровий діабет, поведінкові реакції, пам'ять, неврологічний дефіцит, едаравон, внутрішньомозковий кроволив*

Спонтанний внутрішньомозковий кроволив (ВМК) є серйозним цереброваскулярним захворюванням, яке щороку вражає понад 1 млн осіб у всьому світі (10–30 % усіх інсультів) та спричинює високу смертність у дорослих (40,4 % летальних випадків протягом 30 діб). Порівняно з ішемічним геморагічним інсультом має вищий рівень смертності, який протягом 5 років залишається на рівні понад 50 % (52 % для чоловіків, 56 % для жінок) у пацієнтів віком від 45 років. Навіть після хірургічного втручання 20 % пацієнтів з ВМК стикаються з різним ступенем неврологічних розладів, які вимагають тривалого лікування, госпіталізації та реабілітації, а також збільшують потребу в паліативній допомозі та зростанні витрат на систему охорони здоров'я.

Кров, яка накопичується ззовні ураженої судини, утворює гематому, що стискає навколишні тканини мозку. Водночас компоненти крові проникають у паренхіму мозку й ініціюють оксидативний стрес, нейрозапалення, ушкодження гематоенцефалічного бар'єра (ГЕБ). Основним рушієм уповільненого погіршення стану пацієнта після ВМК є форму-

вання та «еволюція» перифокального набряку мозку. Формування набряку здатне різко погіршити стан і можливість одужання хворого внаслідок підвищення внутрішньочерепного тиску та прогресування неврологічного дефіциту [1–4].

Цукровий діабет (ЦД) є серйозною проблемою для системи охорони здоров'я в усьому світі та водночас одним із модифікованих, незалежних і основних факторів ризику ішемічного інсульту, причому на ЦД 2 типу (ЦД 2) припадає майже 90 % з приблизно 537 млн зафіксованих випадків діабету у світі [5]. Глобальна епідемія переддіабету та діабету призводить до відповідного зростання випадків ускладнень. Сьогодні ЦД 2 асоціюється з більшою частотою геморагічного інсульту, а пацієнти з цим типом діабету мають важчий перебіг під час госпіталізації та виписки [6, 7]. Сьогодні варто розрізняти не лише судинні (макро-, мікро-), але й паренхіматозні ускладнення діабету [8]. Хронічна гіперглікемія, інсулінорезистентність, гіперінсулінемія, діабетичний кетоацидоз й епізоди гіпоглікемії у хворих на ЦД ініціюють ураження судин, окисний стрес, нейрозапалення, мітохондріальну дисфункцію, апоптоз, активацію ацетилхолінестерази, зміни рівнів нейромедіаторів, зниження експресії нейротрофічних факторів, порушення процесів нейрогенерации,

ураження лімфатичної системи мозку, накопичення  $\beta$ -амілоїду, тау-фосфорилювання та нейродегенерацію [9].

Едаравон є екзогенним поглиначем гідроксильних радикалів ( $\cdot\text{OH}$ ) і спроможний інгібувати як  $\cdot\text{OH}$ -залежне, так і  $\cdot\text{OH}$ -незалежне перекисне окиснення ліпідів [10]. Препарат уперше був клінічно використаний у 2001 році для лікування уражень нервової системи після гострого церебрального ішемічного інсульту [11, 12]. Сьогодні показами для його використання є гострий ішемічний інсульт і бічний аміотрофічний склероз. Хоча офіційні покази й обмежені вищезазначеними станами, проте останнім часом едаравон привернув до себе увагу дослідників завдяки ефективності при інших захворюваннях, таких як розсіяний склероз, онкологічна патологія, деякі вірусні інфекції, хвороба Альцгеймера [13–16]. Натепер відомості літератури щодо ефективності едаравону за умов геморагічного ураження мозку є обмеженими. За даними недавнього мета-аналізу, на основі 38 рандомізованих контрольованих досліджень використання едаравону протягом 7 днів після початку захворювання покращувало неврологічний статус, повсякденну діяльність і було асоційоване зі зменшенням об'єму гематоми, проте не зменшувало смертність пацієнтів. На думку авторів дослідження, результати цього мета-аналізу є недостатніми для підтвердження доцільності використання едаравону для рутинного лікування гострого ВМК [17]. Тому подальші дослідження едаравону як засобу нейропротективної терапії в разі ВМК є актуальними, а його унікальний механізм дії може бути корисним не лише за гострих чи хронічних захворювань нервової системи, але й у разі хронічної коморбідної патології, зокрема – ЦД, перебіг якого також

супроводжується надмірною продукцією вільних радикалів і розвитком окисного стресу, що є основною з патогенетичних ланок розвитку ускладнень при цьому захворюванні. ЦД чинить синергічний негативний вплив на стан нейронів і гліальних клітин і, тим самим, ініціює появу чи інтенсифікує перебіг ускладнень.

*Мета дослідження* – вивчення впливу едаравону на рівень неврологічного та когнітивного дефіциту, а також на поведінкові реакції в щурів з гострим ВМК за умов експериментально відтвореного еквівалента ЦД 2.

**Матеріали та методи.** Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи кафедри фармакології Дніпровського державного медичного університету (м. Дніпро, Україна) «Дослідження ендотелій-тромбоцитарних зв'язків у механізмах органопротекторної дії лікарських засобів за умов гіперглікемії та інсулінорезистентності» (0120U101502) за грантової підтримки МОЗ України, наказ від 24.02.2020 № 509. В експерименті використано 31 щура-самця лінії Вістар масою 200–250 г, що були отримані з розплідника ПП «Далі-2001», м. Київ. Дизайн дослідження схвалено Комісією з біоетики Дніпровського державного медичного університету (протокол від 17.12.2019 № 8). Експерименти проведено відповідно до Директиви 86/609/ЕЕС щодо захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей. Тварини знаходилися в стандартних умовах віварію (температура повітря – 22–24 °С, відносна вологість – 50 %, 12-год цикл день/ніч) з вільним доступом до води та їжі. За результатами перорального глюкозолерантного тесту всі щури з однаковим ступенем глікемії були випадковим чином розподілені на 5 груп: група 1 – інтактний контроль (фізіологічний розчин, 5 мл/кг, n = 8); група 2 – контроль патології 1 (ЦД + фізіологічний

розчин, 5 мл/кг n = 9); група 3 – контроль патології 2 (ЦД + ВМК + фізіологічний розчин, 5 мл/кг/добу, n = 7); 4 група – тварини, які отримували дослідний препарат (ЦД + ВМК + едаравон, 6 мг/кг, внутрішньоочеревинно, n = 6). У дослідженні використано препарат «Ксаврон» виробництва ТОВ «Юрія-Фарм», Україна (розчин в ампулах по 20 мл з вмістом едаравону 1,5 мг/мл, s/n GK100/1-1). Характеристику виявлених порушень вуглеводного обміну в експериментальних групах тварин надано раніше [18].

Перше введення едаравону проводили через 30 хв після внутрішньомозкової мікроін'єкції колагенази. Досліджуваний препарат вводили внутрішньоочеревинно протягом 10 днів, починаючи з 60-го дня після індукції ЦД. Щурам контрольних груп внутрішньошлунково вводили

фізіологічний розчин по 5 мл/кг/добу.

ЦД 2 моделювали одноразовою внутрішньоочеревинною ін'єкцією нікотинамідом (230 мг/кг) і стрептозоцину (65 мг/кг) у цитратному буфері (рН = 4,5, 0,1 моль/л) щурам, які голодували протягом ночі [19].

ВМК у анестезованих щурів індукували на 60-й день шляхом стереотаксичної мікроін'єкції 1 мкл бактеріальної колагенази 0,2 МО/мкл (тип IV-S) у проєкцію стріатуму (координати: 0,2 мм спереду, 2,8–3,0 мм збоку від брегми, глибина занурення – 5,5 мм) за допомогою мікрошприца Гамільтона [20].

Неврологічний дефіцит у тварин оцінювали за шкалою mNSS (Modified Neurological Severity Score) за нижчезазначеними критеріями [21] (табл. 1). Шкала дозволяє оцінити моторні, сенсорні, балансові

Таблиця 1

*Шкала оцінки неврологічного дефіциту (mNSS) [21]*

Тест	Бал
<b>Оцінка моторики</b>	
Піднімання щура за хвіст (норма = 0, максимум = 3)	3
Згинання передніх кінцівок	1
Згинання задніх кінцівок	1
Голова переміщується > 10° до вертикальної осі протягом 30 с	1
Опускання щура на плоску поверхню (норма = 0, максимум = 3)	
Звичайна хода	0
Неможливість рухатись прямо	1
Рух по колу в бік парезу	2
Падіння в бік парезу	3
<b>Тести чутливості</b>	
Тест розміщення передньої лапи (візуальний і тактильний тести)	1
Пропріоцептивний тест (глибока чутливість, при поштовху лапи від краю столу для стимуляції м'язів кінцівок)	2
<b>Максимальна кількість балів</b>	11

та рефлекторні функції. Для оцінки наявності дефіциту проводилися наступні тести: піднімання щура за хвіст (згинання передніх кінцівок, згинання задніх кінцівок), опускання щура на плоску поверхню, тести чутливості (тест розміщення передньої лапи, пропріоцептивний тест).

*Тест пасивного уникнення.* Вивчення впливу едаравону на процеси навчання проводили в тесті умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) [22]. Цей тест є швидким і надійним методом, який можна використовувати для скринінгової оцінки впливу фармакологічних агентів на емоційне навчання. Дослідження було поділено на 2 етапи: навчання (69-й день) та тестування (70-й день експерименту).

Для оцінки ефективності відтворення навички УРПУ розраховували коефіцієнт антиамнестичної дії препаратів (Aa) [23].

*Тест «відкрите поле».* Для оцінки поведінкової активності використовували тест «відкрите поле» [24]. На 69 день дослідження для кожної тварини проводили 3-хв сесію в установці, яка являла собою площадку з білого пластику, розмірами 100 x 100 см та стінками висотою 30 см [24, 25].

Усі дослідження проведені при кімнатному освітленні в часовому інтервалі від 12 до 17 год.

Для статистичного аналізу результатів використовували програмне забезпечення GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA, GPS-2169913-THSG-DF1FF) та StatPlus, AnalystSoft Inc (версія 7., [www.analystsoft.com/ua/](http://www.analystsoft.com/ua/), #176082062458225). На першому етапі статистичного аналізу всі отримані результати дослідження показників у групах тварин проходили перевірку на нормальність розподілу з використанням кри-

терію Шапіро – Уїлка. Зважаючи на результати перевірки в більшості груп і малий об'єм вибірок, статистичну значущість ( $p < 0,05$ ) визначали за допомогою U-критерію Манна-Уїтні, а показники надавали в таблицях як медіану (Me), нижній і верхній квартилі (25 %, 75 %). Для категоріальних показників порівняння груп проводили з використанням F-критерію Фішера. На рисунках для наглядної демонстрації отриманих результатів використано середнє (M) та стандартне відхилення (SD).

**Результати та їх обговорення.** У ході оцінки рівня неврологічного дефіциту (табл. 2) було встановлено його відсутність у щурів контролю патології 1. Водночас відтворення еквівалента ВМК на тлі ЦД характеризувалося появою неврологічного дефіциту ( $p < 0,05$ ) з найбільшою виразністю з першої по четверту добу спостереження (табл. 2). Слід зазначити, що на 7 та 10 добу після індукції ВМК неврологічний дефіцит був відсутнім, що може свідчити про інтенсивність природного відновлення уражених функцій мозку в щурів.

Водночас едаравон достовірно знижував виразність проявів неврологічного дефіциту ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Результати тесту УРПУ свідчать, що в групі тварин з експериментальним ЦД також спостерігалось зменшення тривалості латентного періоду (ЛП) на 70 добу відносно інтактного контролю на 33,2 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 3). Це свідчить про гірший ступінь закріплення умовної навички в цих тварин. Водночас гострий ВМК призводив до більш виразних порушень когнітивної сфери в щурів з ЦД. Свідченням цього було зменшення ЛП на 52,5 % ( $p < 0,05$ ) щодо показників інтактного контролю та 28,9 % ( $p > 0,05$ ) – контролю патології 1, причому від-

**Рівень неврологічного дефіциту в щурів з внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу за умов введення едаравону, бал mNSS (Q1–Q3)**

Група тварин	Дні спостереження			
	1	4	7	10
Інтактний контроль (n = 8)	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)
Контроль патології 1 (n = 9)	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)
Контроль патології 2 (n = 7)	7 (3,5–7)*	7 (7–7)*	0 (0–0)	0 (0–0)
Едаравон, 6 мг/кг (n = 6)	1 (0–4,25)#	0 (0–0,75)#	0 (0–0)	0 (0–0)

Примітка. Тут і в табл. 3–4: \* $p < 0,05$  порівняно з інтактним контролем, # $p < 0,05$  порівняно з показниками групи контролю патології 2.

соток щурів без сформованого рефлексу в цій групі склав 71,4 % ( $p < 0,05$ ) (рисунок).

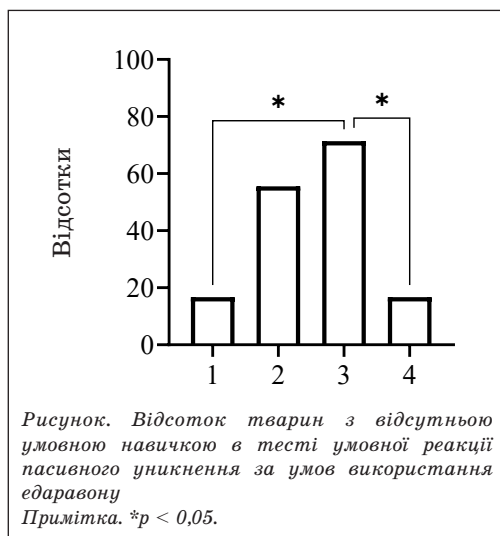
Курсове введення Едаравону було асоційоване зі зростанням показника ЛП на 70 добу в 2,1 разу ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою контролю патології 2 (табл. 3). Водночас частка тварин з набуттю навичкою була в 2,5 разу ( $p < 0,05$ ) більшою, що свідчило про наявний ноотропний потенціал цього засобу за даних умов експерименту (рисунок). Коефіцієнт антиамнестичної дії препарату склав 104,7 %.

Дослідженнями орієнтовно-дослідницької поведінки в тесті «відкрите поле» визначено, що для тварин групи контролю патології 1 показовим було статистично значиме зменшення локомоторної активності, яке характеризувалося змінами показника числа перетнутих квадратів на 41,17 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою інтактного контролю (табл. 4). Водночас моделювання ВМК спричинювало виразне пригнічення всіх показників, що характеризують рухову та дослідницьку активність. Так, у групі

Таблиця 3

**Тривалість латентного періоду в тесті умовної реакції пасивного уникнення в щурів із внутрішньомозковим крововиливом і цукровим діабетом 2 типу за умов введення едаравону, Ме (Q1–Q3)**

Група тварин	Латентний період, с	
	69 доба	70 доба
Інтактний контроль (n = 8)	28,5 (33,5–56)	180 (180–180)
Контроль патології 1 (n = 9)	18 (4–56)	110 (55–180)*
Контроль патології 2 (n = 7)	54 (32–90)	45 (30–180)*
Едаравон, 6 мг/кг (n = 6)	21 (10–63)	180 (180–180)#



контролю патології 2 показник локомоторної активності був на 47,2 % ( $p < 0,05$ ) нижчим, ніж у групі інтактного контролю. На відміну від тварин групи контролю патології 1 спостерігалось виразне зменшення числа вертикальних підйомів на 60,3 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою інтактних тварин. Слід зазначити,

що найзначимішим показником порушень дослідницької активності при моделюванні ВМК при ЦД стало суттєве зменшення кількості заглядань в отвори на 79,8 % ( $p < 0,05$ ) відповідно до значень цього показника в групі інтактного контролю та на 66,5 % ( $p < 0,05$ ) – до групи контролю патології 1. Разом з цим, у ході експерименту не зафіксовано значних змін показників, що характеризують емоційну та вегетативну складову поведінки дослідних тварин.

За умов експериментальної терапії едаравоном характерним було достовірне збільшення показників горизонтальної та вертикальної рухової активності відповідно в 1,98 ( $p < 0,05$ ) та 3,76 ( $p < 0,05$ ) рази відносно групи контролю патології 2, а також відсутність статистично значимих змін основного показника дослідницької активності – числа заглядань в отвори платформи, хоча він зростав у 2,7 рази ( $p > 0,05$ ) (табл. 4).

Таблиця 4

*Показники поведінкових реакцій у щурів з внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу в тесті «відкрите поле» за умов введення едаравону, Ме (Q1–Q3)*

Група тварин	Локомоторна активність	Дослідницька активність		Емоційна та вегетативна складова		Латентний період, с
	перетнуті квадрати	вертикальні підйоми	зазирання в нірки	грумінг, кількість	дефекації та уринації	
Інтактний контроль (n = 8)	17 (15–19,50)	4,5 (4–7)	4,5 (1,5–6)	3,5 (0–18,5)	1 (0–2,5)	4,5 (2–10,5)
Контроль патології 1 (n = 9)	10 (6–15)*	3 (2–5)	3 (1–4)	0 (0–10)	3 (1–4)	3 (1–8)
Контроль патології 2 (n = 7)	12 (7–18)*	3 (2–3)*	0 (0–2)*	0 (0–4)	3 (0–5)	3 (1–16)
Едаравон, 6 мг/кг (n = 6)	19,5 (15–22)#	8 (6–14)#	1,5 (1–3)	0 (0–0)	4 (3–4)	4 (1–14)

Отже, на основі проведених досліджень можна зробити висновки, що перебіг самого ЦД 2 в щурів не спричиняє появу неврологічного дефіциту протягом 70 днів і суттєвих розладів умовно-рефлекторної активності. Моделювання ВМК на тлі перебігу ЦД 2 супроводжується виразним неврологічним дефіцитом протягом перших чотирьох днів і зумовлює погіршення процесів навчання, а також характеризується суттєвим пригніченням як рухової, так і орієнтовно-дослідницької активності експериментальних тварин. Раннє застосування едаравону здатне повною мірою запобігати розвитку проявів неврологічного та когнітивного дефіциту, а також змінам поведінкових реакцій, спричинених гострою внутрішньомозковою гематомою.

Найімовірніше, що нейропротективний потенціал едаравону насамперед реалізується завдяки антиоксидантному потенціалу і, відповідно, впливу на «оксидативний» стрес, що розвивається в тканинах мозку внаслідок дії патогенних факторів [14, 26]. Відомо, що едаравон модулює діяльність еритроїд 2-залежного фактору (Nrf2), який регулює експресію антиоксидантних і детоксикаційних ферментів, забезпечує активацію протизапальних і антиоксидантних ефектів. Крім того, захисна дія едаравону можливо опосередковується активацією сигнального шляху Nrf2/НО-1, що зменшує окисне пошкодження через активацію ядерного фактору Nrf2 і відноситься до механізмів регуляції апоптозу клітин, чим покращує цілісність і стабільність ГЕБ [14]. Наприклад, експериментально визначені нейропротективні властивості едаравону в щурів з епілепсією, в яких препарат пом'якшував зниження рівня експресії мРНК, відповідальних за Nrf2 та

білок НО-1 (гемоксигеназа-1), ініційоване кайнітом у гіпокампі щурів через сигнальний шлях Nrf2/НО-1. Згідно з даними Liu та співавтор., едаравон також може відігравати захисну роль у функціонуванні ГЕБ, активуючи цей сигнальний шлях [27].

Однак існуючі експериментальні дослідження свідчать і про те, що едаравон може чинити нейропротективну дію шляхом посилення експресії mBDNF і Bcl-2, зниження активності каспази-3 і активації позаклітинних сигнал-регульованих кіназ 1/2 (ERK1/2), як це показано в культивованих нейронах [28]. В іншому дослідженні показано, що едаравон знижує нейротоксичність пропофолу в гіпокампі, зменшуючи спричинене анестетиком інгібування проліферації, нейроапоптозу та нейрозапалення через активацію шляху mBDNF/TrkB/PI3K [11].

Таким чином, отримані дані експериментально підтверджують наявність значного нейропротективного потенціалу едаравону при гострому ВМК на тлі перебігу ЦД 2, що є підставою для подальших поглиблених експериментальних досліджень механізмів нейропротективної дії цього лікарського засобу за відповідних умов.

## Висновки

1. Гострий мозковий крововилив на тлі перебігу ЦД 2 в щурів призводить до появи виразного неврологічного дефіциту протягом перших чотирьох днів, а також посилення виразності порушень процесів навчання, рухової та дослідницької активності.
2. Раннє курсове, протягом 10 днів, внутрішньоочеревинне введення едаравону запобігає розвитку неврологічного дефіциту, порушень пам'яті та поведінки в щурів, спричинених гострим ВМК на тлі ЦД 2.

1. Matrix metalloproteinases in acute intracerebral hemorrhage. S. Lattanzi, M. Di Napoli, S. Ricci, A. A. Divani. *Neurotherapeutics*. 2020. V. 17, No. 2. P. 484–496. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00839-0>.
2. IL-4/STAT6 signaling facilitates innate hematoma resolution and neurological recovery after hemorrhagic stroke in mice. J. Xu, Z. Chen, F. Yu et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020. V. 117, No. 51. P. 32679–32690. <https://doi.org/10.1073/pnas.2018497117>.
3. Hemorrhagic stroke outcomes of KApSR patients with co-morbid diabetes and Alzheimer’s disease. A. L. Trout, C. J. McLouth, P. Kitzman et al. *Annals of Translational Medicine*. 2021. V. 9, No. 17. P. 1371–1371. <https://doi.org/10.21037/atm-21-1451>.
4. Inflammatory and oxidative stress markers in intracerebral hemorrhage: relevance as prognostic markers for quantification of the edema volume. V. Rendeovski, B. Aleksovski, A. Mihajlovska Rendevska et al. *Brain Pathol.* 2023. V. 33, No. 2. P. e13106. <https://doi.org/10.1111/bpa.13106>.
5. Type 2 diabetes. E. Ahmad, S. Lim, R. Lamptey et al. *The Lancet*. 2022. V. 400, No. 10365. P. 1803–1820. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(22\)01655-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(22)01655-5).
6. Type 2 diabetes and hemorrhagic stroke: a population-based study in Spain from 2003 to 2012. N. Muñoz-Rivas, M. Méndez-Bailón, V. Hernández-Barrera et al. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2016. V. 25, No. 6. P. 1431–1443. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.02.031>.
7. Maciejczyk M., Żebrowska E., Chabowski A. Insulin resistance and oxidative stress in the brain: what’s new? *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. V. 20, No. 4. P. 874. <https://doi.org/10.3390/ijms20040874>.
8. Protective factors and the pathogenesis of complications in diabetes. M. G. Yu, D. Gordin, J. Fu et al. *Endocrine Reviews*. 2023. V. 45, No. 2. P. 227–252. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnad030>.
9. Hamed S. A. Brain injury with diabetes mellitus: evidence, mechanisms and treatment implications. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 2017. V. 10, No. 4. P. 409–428. <https://doi.org/10.1080/17512433.2017.1293521>.
10. Yamashita T., Abe K. Update on antioxidant therapy with edaravone: Expanding applications in neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2024. V. 25, No. 5. P. 2945. <https://doi.org/10.3390/ijms25052945>.
11. Yang Y., Yi J., Pan M. Edaravone alleviated propofol-induced neurotoxicity in developing hippocampus by mBDNF/TrkB/PI3K pathway. *Drug Design, Development and Therapy*. 2021. V. 15. P. 1409–1422. <https://doi.org/10.2147/dddt.s294557>.
12. Duranti E., Villa C. Muscle involvement in amyotrophic lateral sclerosis: understanding the pathogenesis and advancing therapeutics. *Biomolecules*. 2023. V. 13, No. 11. P. 1582. <https://doi.org/10.3390/biom13111582>.
13. The antioxidant drug edaravone binds to the aryl hydrocarbon receptor (AHR) and promotes the downstream signaling pathway activation. C. Veroni, S. Olla, M. S. Brignone et al. *Biomolecules*. 2024. V. 14, No. 4. P. 443. <https://doi.org/10.3390/biom14040443>.
14. Duranti E., Cordani N., Villa C. Edaravone: a novel possible drug for cancer treatment? *Int. J. Mol. Sci.* 2024. V. 25, No. 3. P. 1633. <https://doi.org/10.3390/ijms25031633>.
15. Antiviral effect and mechanism of edaravone against grouper iridovirus infection. J. Kuang, M. Liu, Q. Yu et al. *Viruses*. 2023. V. 15, No. 11. P. 2237. <https://doi.org/10.3390/v15112237>.
16. Clinical and pathological benefits of edaravone for Alzheimer’s disease with chronic cerebral hypoperfusion in a novel mouse model. T. Feng, T. Yamashita, J. Shang et al. *J. Alzheimers Dis.* 2019. V. 71. P. 327–339. <https://doi.org/10.3233/JAD-190369>.
17. Edaravone use in acute intracerebral hemorrhage: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. M. Qin, L. Feng, C. Yang et al. *Front. Pharmacol.* 2022. V. 13. P. 935198. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.935198>.
18. Effects of edaravone on oxidative protein modification and activity of gelatinases after intracerebral hemorrhage in rats with nicotinamide-streptozotocin induced diabetes. A. Lievykh, V. Zhyliuk, V. Tkachenko et al. *Journal of Biological Research*. 2022. V. 95, No. 2. <https://doi.org/10.4081/jbr.2022.10554>.
19. Yan L.-J. The nicotinamide/streptozotocin rodent model of type 2 diabetes: renal pathophysiology and redox imbalance features. *Biomolecules*. 2022. V. 12, No. 9. P. 1225. <https://doi.org/10.3390/biom12091225>.
20. Animal models of acute neurological injury. 2<sup>nd</sup> ed. J. Chen, Z. C. Xu, X. -M. Xu, J. H. Zhang. Springer International Publishing, 2019. 544 p. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-16082-1>.
21. Platelet-derived microparticles are implicated in remote ischemia conditioning in a rat model of cerebral infarction. L. Y. Shan, J. Z. Li, L. Y. Zu et al. *CNS Neurosci. Ther.* 2013. V. 19, No. 12. P. 917–925. <https://doi.org/10.1111/cns.12199>.
22. Effects of exercise training on anxious-depressive-like behavior in Alzheimer rat. C. Wu, L. Yang, Y. Li et al. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2020. V. 52, No. 7. P. 1456–1469. <https://doi.org/https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002294>.



23. Whishaw I. Q., Kolb B. The behavior of the laboratory rat: a handbook with tests. 1<sup>st</sup> Ed. New York : Oxford University Press, 2004. 520 p.
24. Hall C. S., Ballachey E. L. A study of the rat's behavior in a field: a contribution to method in comparative psychology. *University of California Publications in Psychology*. 1932. V. 6. P. 1–12.
25. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. N. Sestakova, A. Puzserova, M. Kluknavsky, I. Bernatova. *Interdiscip. Toxicol.* 2013. V. 6, No. 3. P. 126–35. <https://doi.org/10.2478/intox-2013-0020>.
26. Cruz M. P. Edaravone (Radicava): a novel neuroprotective agent for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *P&T*. 2018. V. 43, No. 1. P. 25–28.
27. Protective effect of edaravone on blood-brain barrier by affecting NRF-2/HO-1 signaling pathway. J. Liu, Y. Jiang, G. Zhang et al. *Exp. Ther. Med.* 2019. V.18, No. 4. P. 2437–2442. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7859>.
28. Edaravone enhances brain-derived neurotrophic factor production in the ischemic mouse brain. S. Okuyama, M. Morita, A. Sawamoto et al. *Pharmaceuticals*. 2015. V. 8, No. 2. P. 176–185. <https://doi.org/10.3390/ph8020176>.

**В. Л. Голубєв, В. І. Жилюк**

### **Дослідження впливу едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу**

*Мета дослідження* – вивчення впливу едаравону на рівень неврологічного та когнітивного дефіциту, а також на поведінкові реакції в щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом (ВМК) за умов експериментально відтвореного еквівалента цукрового діабету 2 типу (ЦД 2).

ЦД 2 моделювали внутрішньоочеревинною ін'єкцією нікотинаміду (230 мг/кг) і стрептозотоцину (65 мг/кг), ВМК – мікроін'єкцією 1 мкл бактеріальної колагенази 0,2 МО/мкл (тип IV-S) у стріатум анестезованих щурів на 60 добу експерименту. Щурів рандомізували на чотири групи: інтактний контроль (фізіологічний розчин, 5 мл/кг/добу, n = 8); контроль патології 1 (ЦД 2 + фізіологічний розчин, 5 мл/кг, n = 9); контроль патології 2 (ЦД 2 + ВМК + фізіологічний розчин 5 мл/кг, n = 7); експериментальна група (ЦД 2 + ВМК + едаравон, 6 мг/кг/добу, n = 6). Перше введення едаравону здійснювали через 30 хв після мікроін'єкції колагенази. Досліджуваний препарат вводили внутрішньоочеревинно протягом 10 днів. Фармакологічну ефективність едаравону оцінювали в тестах умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) та «відкрите поле». Ступінь неврологічного дефіциту визначали за шкалою mNSS. Статистичну значущість ( $p < 0,05$ ) визначали за допомогою U-критерію Манна-Уїтні та F-критерію Фішера.

Експериментально встановлено, що відтворення ЦД 2 не призводить до суттєвих порушень умовно-рефлекторної активності та не спричиняє розвиток неврологічного дефіциту. Водночас експериментальний ВМК на тлі ЦД 2 проявлявся ознаками неврологічного дефіциту ( $p < 0,05$ ) з найбільшою виразністю з першої по четверту добу спостережень. У цій групі число тварин без набутого рефлексу в тесті УРПУ склало 71,4 % ( $p < 0,05$ ). Водночас спостерігалось зменшення тривалості латентного періоду (ЛП) на 52,5 % ( $p < 0,05$ ) порівняно з інтактним контролем, а також статистично значиме пригнічення локомоторної та дослідницької діяльності в тесті «відкрите поле».

Слід зазначити, що едаравон зменшував прояви неврологічного дефіциту з першого (85,7 %,  $p < 0,05$ ) по четвертий (100 %,  $p < 0,05$ ) дні гострого ВМК. Також курсове введення едаравону було асоційоване зі зростанням показника ЛП у 2,1 разу ( $p < 0,05$ ) та числа тварин з набуттю умовною навичкою в 2,5 разу ( $p < 0,05$ ). Коефіцієнт антиамнестичної дії препарату склав 104,7 %. Крім того на фоні введення едаравону статистично значимо зростали показники локомоторно-дослідницької активності: у 3,76 разу – вертикальних підйомів і в 1,98 разу – кількість перетнутих квадратів порівняно з групою контролю патології 2.

Таким чином, раннє курсове, протягом 10 днів, внутрішньоочеревинне введення едаравону запобігає розвитку неврологічного дефіциту, порушень пам'яті та поведінки в щурів, спричинених гострим ВМК на тлі ЦД 2.

*Ключові слова:* цукровий діабет, поведінкові реакції, пам'ять, неврологічний дефіцит, едаравон, внутрішньомозковий кроволив

**V. L. Holubiev, V. I. Zhyliuk**

### **Study of edaravone effect on neurological deficit manifestations and conditioned-reflex activity in rats under acute intracerebral haemorrhage and type 2 diabetes mellitus**

*The aim of the study* – to investigate the effects of edaravone on the levels of neurological and cognitive deficits, as well as on behavioural reactions in rats with acute intracerebral haemorrhage (ICH) and experimentally reproduced equivalent of type 2 diabetes mellitus (T2DM).

---

---

T2DM was modelled by intraperitoneal injection of nicotinamide (230 mg/kg) and streptozotocin (65 mg/kg), ICH – by microinjection of 1  $\mu$ L of bacterial collagenase 0.2 IU/mL (type IV-S) into the striatum of anaesthetized rats on the day 60<sup>th</sup> of the experiment. The rats were randomized into four groups: intact control (saline, 5 ml/kg/day, n = 8); pathology control 1 (T2DM + saline, 5 ml/kg, n = 9); pathology control 2 (T2DM + ICH + saline, 5 ml/kg, n = 7); experimental group (T2DM + ICH + edaravone, 6 mg/kg/day, n = 6). The first administration of edaravone was performed 30 min after the microinjection of collagenase. The studied drug was administered intraperitoneally for 10 days. The pharmacological efficacy of edaravone was assessed in the passive avoidance conditioning test (PACT) and the open field test. The degree of neurological deficit was determined by the mNSS scale. Statistical significance ( $p < 0.05$ ) was determined using the Mann-Whitney U-test and Fisher's F-test.

It has been experimentally established, that the reproduction of type 2 diabetes does not lead to significant disturbance of conditioned reflex activity and does not cause the development of neurological deficit. Simultaneously, experimental ICH under the conditions of T2DM was manifested by signs of neurological deficit ( $p < 0.05$ ) with the greatest severity from the first to the fourth day of observation. In addition, 71.4% of animals in this group were without an acquired reflex in the PACT test ( $p < 0.05$ ). At the same time, there was a decrease in the duration of the latency period (LP) by 52.5% ( $p < 0.05$ ) compared to the intact control, as well as a statistically significant suppression of locomotor and exploratory activity in the open field test.

It should be noted that edaravone significantly reduced the manifestations of neurological deficit from the first (85.7%,  $p < 0.05$ ) to the fourth (100%,  $p < 0.05$ ) days of acute ICH. In addition, the course administration of edaravone was associated with a 2.1-fold increase in the LP index ( $p < 0.05$ ) and a 2.5-fold increase in the number of animals with acquired conditioned skills ( $p < 0.05$ ). The coefficient of anti-amnesic activity of the drug was 104.7%. In addition, the indicators of locomotor and exploratory activity after edaravone administration showed a statistically significant increase – 3.76 times for vertical lifts and 1.98 times for crossed squares, compared to the pathological control 2.

In conclusion, an early 10-day course of intraperitoneal administration of edaravone prevents the development of neurological deficits, memory and behavioural disorders in rats caused by acute ICH and T2DM.

*Key words: diabetes mellitus, behavioural reactions, memory, neurological deficit, edaravone, intracerebral haemorrhage*

---

Надійшла: 10 вересня 2024 р.

Прийнята до друку: 27 листопада 2024 р.

**Контактна особа:** Жиліюк Володимир Іванович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Дніпровський державний медичний університет, буд. 9, вул. Володимира Вернадського, м. Дніпро, 49044. Тел.: + 38 0 50 565 88 23.