

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ГОЛУБЄВ ВІКТОР ЛЕОНІДОВИЧ

УДК 616.831-005.1-021.3-092-085:616.379-008.64(043.3/.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ ПОРУШЕНЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ПРИ
СПОНТАННОМУ ВНУТРІШНЬОМОЗКОВОМУ КРОВОВИЛИВІ ЗА
УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ**

спеціальність – 222 «Медицина»

галузь знань – 22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Віктор ГОЛУБЄВ

Науковий керівник – Жилюк Володимир Іванович, доктор медичних наук,
професор

Дніпро – 2025

АНОТАЦІЯ

Голубєв В.Л. Фармакологічна корекція порушень головного мозку при спонтанному внутрішньомозковому крововиливі за умов експериментального цукрового діабету 2 типу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина» (22 «Охорона здоров'я»). – Дніпровський державний медичний університет, Дніпро, 2025.

Дисертаційна робота присвячена експериментальному обґрунтуванню можливості застосування гіпоглікемічних, антиоксидантних та метаботропних засобів для оптимізації корекції порушень та профілактики ускладнень з боку нервової системи при спонтанному внутрішньомозковому крововиливі за умов експериментального цукрового діабету 2 типу.

В основу роботи покладено результати власноруч проведених поведінкових, біохімічних та морфологічних методів досліджень, що лягли в основу вивчення церебропротекторної активності метформіну, едаравону та комбінованого засобу (сукцинат/інозин/нікотинамід/рибофлавін) за умов гострого внутрішньомозкового крововиливу на тлі цукрового діабету 2 типу.

Експериментальні дослідження виконані на 60 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 200 – 250 г. Цукровий діабет 2 типу (ЦД2) моделювали за допомогою одноразового внутрішньоочеревинного введення нікотинаміду 230 мг/кг (НА, Sigma-Aldrich, USA) та стрептозотоцину 65 мг/кг (СТЗ, AdooqBioscience, USA). Рівень глюкози в крові вимірювали через 72 години після введення НА/СТЗ. Тварини зі значеннями менше 8,3 ммоль/л були виключені з дослідження. Внутрішньомозковий крововилив був індукований шляхом мікроін'єкції 1 мкл розчиненої в стерильному фізіологічному розчині 0,2 МО бактеріальної колагенази (тип IV-S, 1 мкл 0,2 МО/мкл, «Sigma-Aldrich», США) на 60 день дослідження за стереотаксичними координатами: передньо-задня – 0,2 мм попереду від брегми, медіолатеральна – 2,8– 3,0 мм з правого боку від брегми, глибина 5,5 мм, які відповідали ділянці стріатума. Усі використані в процесі проведення досліджень препарати, окрім метформіну (внутрішньошлунково, 20 діб), вводили інтрапери-

тонеально один раз на добу протягом 10 діб. Для отримання однорідної суспензії для внутрішньошлункового введення таблетованої форми метформіну, використаний розчин Полісорбат LAUROPAN T/80 (Італія). Контрольні групи тварин отримували фізіологічний розчин із розрахунку 5 мл/кг/добу. Проводились дослідження інтегративних функцій мозку у тестах «Відкрите поле» та «Умовний рефлекс пасивного уникнення» (УРПУ), а також оцінка неврологічного дефіциту за шкалою mNSS. За допомогою біохімічних методів дослідження визначали рівень глюкози крові, глікованого гемоглобіну (HbA1c), кінцевих продуктів глікування (КПГ), кінцевих продуктів окиснення протеїнів (КПОП), лактату. Визначення рівнів, 8-гідрокси-2'-дезоксигуанозину (8-ОНдГ), молекули адгезії нервових клітин (NCAM), гліального фібрилярного кислого протеїну (GFAP), фактору некрозу пухлин- α (TNF- α), нейротрофічного фактору головного мозку (BDNF) та аквапорину-1 (AQP1) здійснювали за допомогою імуноферментного аналізу. Морфологічні методи включали в себе як загально прийняті методики – забарвлення тканин мозку гематоксиліном та еозином, забарвлення пікрофуксином з контрастуванням крезиловим фіолетовим для визначення мієлінізації нервових волокон, імпрегнацію сріблом за методом Більшовського-Кахала, так і імуногістохімічні, для оцінки експресії генів: ендотеліальної NO-синтази (eNOS); протеїну, асоційованого з ростом-43 (Growth-Associated Protein 43, GAP43); фактор 1 α , індукований гіпоксією (Hypoxia inducible factor 1 alpha subunit, HIF-1 α); нейрональний кадгерин (N-кадгерин, N-cadherin), кадгерин судинного ендотелію (VE-кадгерин, VE-cadherin).

Моделювання експериментального цукрового діабету 2 типу (ЦД2) супроводжувалося розвитком метаболічних порушень, таких як: гіперглікемія, підвищення рівня глікованого гемоглобіну, оксидативний стрес і активація нейрозапальних процесів. Незважаючи на відсутність вираженого неврологічного дефіциту, у тварин з даною формою діабету спостерігалися когнітивні порушення, у вигляді зниження умовно-рефлекторної активності та зміни у цитокиновому профілі головного мозку. Відтворення гострого внутрішньомозкового крововиливу (ВМК) на тлі цукрового діабету 2 типу характеризувалося виразним неврологічним дефіцитом, зниженням когнітивної, рухової та дослідницької активності, посилювалися

явища оксидативного стресу, нейрозапалення і судинної дисфункції, а також розвивалися виразні дегенеративні зміни у нервовій тканині.

При оцінці виразності явищ неврологічного дефіциту за шкалою mNSS, з'ясовано що едаравон достовірно знижував виразність проявів неврологічного дефіциту у гострому періоді ВМК ($p < 0,05$) – у першу добу на 85,7 %, на четверту на 100 % ($p < 0,05$). Водночас, інші препарати не чинили значного впливу на неврологічний дефіцит.

При проведенні тесту УРПУ були виявлені антиамнестичні ефекти едаравону, які підтверджувалися зростанням показника латентного періоду у 2,1 рази ($p < 0,05$), збільшенням частки тварин з набутою навичкою в 2,5 рази ($p < 0,05$) відносно до групи патологічного контролю 2 та високим значенням коефіцієнту антиамнестичної активності препарату, що склав 104,7 %. Метформін та комбінований засіб не впливали на показник латентного періоду та частку тварин зі збереженою навичкою, проте проявляли помірну антиамнестичну активність.

У тесті «відкрите поле» для експериментальної терапії едаравоном було притаманним достовірне збільшення показників як горизонтальної, так і вертикальної рухової активності в 1,98 ($p < 0,05$) та 3,76 ($p < 0,05$) рази відповідно, відносно до групи патологічного контролю 2. На фоні введення комбінованого засобу спостерігалось достовірне зростання показників локомоторно-дослідницької активності (у 2,9 рази – кількість заглядань у нірки та у 1,7 рази – перетнутих квадратів) ($p < 0,05$). Ефекти метформіну характеризувались ізольованим зростанням показника дослідницької діяльності у 3,5 рази ($p < 0,05$).

Дослідження глікемічного статусу показали, що застосування метформіну призводило до зниження рівня глюкози на 26,45 % ($p < 0,05$) та 22,76 % ($p < 0,05$) у порівнянні з групами патологічного контролю 1 та патологічного контролю 2 відповідно. Також було відмічено вплив препарату на ППК концентрації глюкози, яка зменшувалася на 23,94 % ($p < 0,05$) порівняно з групою 3. Усі досліджувані засоби знижували рівень глікованого гемоглобіну, найвиразніше – метформін: на 20,56 % ($p < 0,05$) і 29,21 % ($p < 0,01$) відносно груп 2 і 3 відповідно. Едаравон зменшував рівні цього показника на 18,3 % ($p < 0,05$) порівняно з групою 3. Ком-

бінований засіб мав подібну ефективність – зниження на 19,80 % ($p < 0,05$) відносно патологічного контролю 2.

Вплив досліджуваних засобів на процеси окиснення був неоднорідним. Метформін знижував рівні КПП, КПОП і 8-ОНДГ у гомогенатах кори головного мозку щурів із ЦД 2 типу та ВМК відповідно на 29,1 % ($p < 0,001$), 24,9 % ($p < 0,01$) і 29,3 % ($p < 0,05$) порівняно з патологічним контролем 2. Едаравон виявляв дещо меншу ефективність: знижував рівні КПП на 20,7 % ($p < 0,01$), КПОП – на 28,3 % ($p < 0,01$), а 8-ОНДГ – на 23,3 % ($p < 0,05$) відносно групи 3. Натомість введення комбінованого засобу супроводжувалося підвищенням вмісту КПП і КПОП на 39,49 % та 11,07 % відповідно ($p < 0,01$).

Всі досліджені засоби виявили здатність до зниження інтенсивності процесів нейрозапалення, проявом чого було зменшення рівнів фактора некрозу пухлин- α у головному мозку порівняно з групою 3. Найефективнішим щодо зниження рівня TNF- α був едаравон – на 46,3 % ($p < 0,05$). Комбінований засіб та метформін в однаковій мірі забезпечували зниження показника – на 33,3 % ($p < 0,05$) та 30,9 % ($p < 0,05$) відповідно. Встановлено помірної сили зворотний кореляційний зв'язок між рівнем TNF- α та показником дослідницької діяльності у тесті «відкрите поле» ($r = -0,52$; $p < 0,05$; $n = 22$).

Курсове введення метформіну та едаравону однаково ефективно (на 32,7 % і 29,3 %, $p < 0,05$) знижувало рівень GFAP порівняно з групою патологічного контролю 2, наближаючись до показників інтактного контролю. Водночас ці препарати не впливали на вміст NCAM, проте за умов введення комбінованого засобу спостерігалася виразна тенденція до його зниження на 27,1 % ($p = 0,07$). Концентрація BDNF у групах метформіну та комбінованого засобу достовірно збільшувалася на 36,9 % ($p < 0,05$) та 64,4 % ($p < 0,05$).

Притаманним виключно для метформіну було статистично значиме зниження вмісту аквапорину-1, концентрація якого зменшувалася на 31,7 % ($p < 0,01$), що свідчить про можливий сприятливий вплив на прояви набряку мозку при поєднаній патології.

Імовірно завдяки цьому метформін сприяв частковому зменшенню патологічних змін у корі головного мозку – менш виразному набряку, гліальній реакції та об'єму крововиливів. В ході дослідження виявлено тенденцію до зниження щільності ядер ($p = 0,07$) без впливу на площу їх поверхні. Спостерігалось покращення структур нервової тканини – зменшувалась кількість розривів аргірофільних волокон, нейрофібрилярних клубків, спостерігалася нижча вираженість пікнозу. Щільність нейронів зменшилась на 54,54 % ($p < 0,001$), площа їх поверхні зросла у 2,68 раза ($p < 0,05$) порівняно з групою 3. Едаравон забезпечував більш виразний нейропротекторний, антиоксидантний і вазостабілізуючий ефект, який морфологічно проявлявся виразним зменшенням набряку, обсягу крововиливу та гліальної реакції. Щільність клітинних ядер знизилась удвічі ($p < 0,05$) відносно групи патологічного контролю 2, а площа поверхні ядер не змінювалася. Мієлінові волокна мали рівномірніше забарвлення, а площа їх поверхні зросла на 82,35 % ($p < 0,0001$). Проте, спостерігалися дегенеративні зміни: тенденція до зростання щільності нейронів ($p = 0,05$), зменшення площі їх поверхні на 54,57 % ($p < 0,0001$). Призначення комбінованого засобу призводило до зниження мієлінізації, зменшення площі поверхні ($-41,0$ %, $p < 0,01$) та щільності ($p = 0,05$) мієлінових волокон. Поглиблювалися і нейрональні ушкодження: зростання щільності забарвлення на 90,95 % ($p < 0,0001$) та зменшення площі поверхні нейронів на 44,37 % ($p < 0,001$).

Метформін знижував рівень HIF-1 α на 68,36 % ($p < 0,01$), не змінюючи площу імунопозитивних зон. Едаравон мав подібний ефект ($-62,03$ %; $p < 0,01$), додатково знижуючи площу імунопозитивних зон ($-38,40$ %; $p < 0,01$). Метформін знижував щільність eNOS-позитивних зон ($-66,67$ %; $p < 0,05$), при одночасному зростанні площі специфічно забарвлених ділянок ($+11,42$ %; $p < 0,05$). Едаравон виявляв слабший вплив на щільність розподілу маркеру, але збільшував площу імунопозитивних зон на 18,26 % ($p < 0,01$). Комбінований засіб значно підвищував площу eNOS-позитивних зон ($+25,53$ %; $p < 0,0001$). Найвищий рівень GAP43 спостерігався у групі комбінованого засобу ($+87,5$ %; $p < 0,01$), без змін площі специфічно забарвлених ділянок. Метформін знижував експресію N-кадгерину,

але збільшував площу забарвлених ділянок на 25,7 % ($p < 0,01$). У групі едаравону площа N-кадгерин-позитивних зон зростала на 49,6 % ($p < 0,05$), тоді як щільність маркеру мала тенденцію до зниження ($p = 0,06$). Комбінований засіб не змінював щільності розподілу маркеру, але підвищував площу імунопозитивних зон на 49,2 % ($p < 0,001$). Метформін сприяв найвищій експресії VE-кадгерину (площа специфічно забарвлених ділянок збільшувалась у 7,31 раза; $p < 0,05$), незважаючи на зниження щільності ($-62,5$ %, $p < 0,0001$). Група лікування едаравоном характеризувалася помірною експресією кадгерину судинного ендотелію (площа імунопозитивних зон $+79,3$ %, $p < 0,0001$, щільність імунопозитивних зон -50 %, $p < 0,01$). Комбінований засіб збільшував площу специфічно забарвлених ділянок на 35,7 % ($p < 0,0001$), значно не змінюючи показники щільності маркеру.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше вивчені особливості нейропротекторних властивостей метформіну, едаравону та комбінованого метаболічного засобу на основі бурштинової кислоти, нікотинаміду, рибоксину, рибофлавіну мононуклеотиду за умов поєднаної патології – спонтанного внутрішньомозкового крововиливу на тлі тривалого перебігу експериментального цукрового діабету 2 типу із використанням поведінкових, біохімічних та морфологічних методів оцінки.

В роботі деталізовано та патогенетично обґрунтовано високу антиамнестичну та нейропротекторну ефективність метформіну та едаравону.

Вперше експериментально встановлено здатність метформіну знижувати вираженість набряку головного мозку та астрогліозу, нормалізувати проникність гематоенцефалічного бар'єру при гострому внутрішньомозковому крововиливі на тлі цукрового діабету 2 типу.

Вперше підтверджено фармакологічну активність метформіну та едаравону у зменшенні інтенсивності окисного стресу, процесів глікування протеїнів, нейрозапалення та реактивного астрогліозу, також встановлено їх антигіпоксичну дію та позитивний вплив на експресію кадгеринів і ендотеліальної NO-синтази за умов коморбідної патології.

Вперше виявлено здатність едаравону покращувати морфологічний стан нейронів і нейроглії, попереджувати постгеморагічну демієлінізацію при внутрішньомозковому крововиливі на тлі цукрового діабету 2 типу .

Вперше доведено негативний вплив комбінованого засобу на показники оксидативного стресу та імуноморфологічні параметри нервової тканини, що обмежує доцільність його використання за даних умов та потребує додаткового вивчення.

Практичне значення отриманих результатів. Проведені експериментальні дослідження обґрунтовують імовірні перспективи застосування гіпоглікемічних, антиоксидантних та метаболічних засобів для лікування порушень ЦНС, спричинених внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу.

Отримані результати розширюють уявлення про патогенез уражень головного мозку при внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу, зокрема щодо ролі окиснювального стресу, глікування протеїнів, нейрозапалення, порушень структурно-функціонального стану гематоенцефалічного бар'єру, нейроглії та експресії молекул клітинної адгезії.

Встановлено доцільність застосування метформіну та едаравону як засобів фармакологічної корекції нейродеструктивних змін при внутрішньомозковому крововиливі за умов ЦД2. Отримані дані обґрунтовують доцільність подальших доклінічних і клінічних досліджень щодо використання цих препаратів у комплексному лікуванні цереброваскулярної патології, поєднаної з метаболічними порушеннями.

Запропонований експериментальний підхід може бути використаний у доклінічному скринінгу нових нейропротекторних засобів з урахуванням метаболічних факторів ризику. Біохімічні та імуногістохімічні маркери (КПГ, КПОП, 8-ОНдГ, AQP1, GFAP, HIF-1 α , TNF- α , N-кадгерин, VE-кадгерин, GAP43, eNOS) можуть слугувати інформативними критеріями оцінки ефективності фармакологічного втручання при спонтанних внутрішньомозкових крововиливах на тлі ЦД2 в умовах експерименту.

Матеріали дисертаційної роботи впроваджені у наукову та освітню діяльність ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (протокол № 1 від 14.01.2025 р.), кафедри фармакології Полтавського державного медичного університету (протокол № 10 від 03.01.2025 р.), кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (протокол № 5 від 10.01.2025 р.), кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (протокол № 2 від 28.02.2025 р.), кафедри загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету (протокол № 9 від 20.02. 2025 р.), кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 8 від 05.03.2025 р.), кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету (протокол № 10 від 28.01.2025).

Ключові слова: цукровий діабет, внутрішньомозковий крововилив, поведінкові реакції, пам'ять, неврологічний дефіцит, метформін, едаравон, бурштинова кислота, нейрозапалення, нейропротекція, оксидативний стрес.

ANNOTATION

Holubiev V.L. Pharmacological correction of brain disorders in spontaneous intracerebral haemorrhage in experimental type 2 diabetes mellitus. – Qualifying scientific work with manuscript rights.

Dissertation for obtaining the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 222 «Medicine» (22 «Healthcare») – Dnipro State Medical University, Dnipro, 2025.

The dissertation is devoted to the experimental substantiation of the possibility of using hypoglycaemic, antioxidant and metabotropic agents to optimise the correction of disorders and prevent neural complications in spontaneous intracerebral haemorrhage in type 2 diabetes mellitus.

The work is based on the results of behavioural, biochemical and morphological methods of research, which formed the basis for the study of the cerebroprotective activity of metformin, edaravone and combined agent (succinate/inosine/nicotinamide/riboflavin) in acute intracerebral haemorrhage in the setting of type 2 diabetes mellitus.

Experimental studies were performed on 60 white mature male Wistar rats weighing 200 – 250 g. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) was modelled by a single intraperitoneal injection of nicotinamide 230 mg/kg (NA, Sigma-Aldrich, USA) and streptozotocin 65 mg/kg (STZ, AdooqBioscience, USA). The blood glucose level was measured 72 hours after the administration of NA/STZ. Animals with values less than 8.3 mmol/l were excluded from the study. Intracerebral hemorrhage was induced by microinjection of 1 µl of bacterial collagenase dissolved in sterile saline 0.2 IU (type IV-S, 1 µl 0.2 IU/µL, Sigma-Aldrich, USA) on day 60 of the study at stereotactic coordinates: anteroposterior – 0.2 mm anterior to the bregma, mediolateral – 2.8 – 3.0 mm to the right of the bregma, depth 5.5 mm, which corresponded to the striatum. All drugs used in the study, except metformin (intragastrically, 20 days), were administered intraperitoneally once daily for 10 days. To obtain a homogeneous suspension for intragastric administration of tablet forms, Polysorbate LAUROPAN T/80 solution

(Italy) was used. The control groups of animals received saline solution at the rate of 5 ml/kg/day. The integrative functions of the brain were studied in the open field test and passive avoidance test, as well as the assessment of neurological deficits using the mNSS scale. Biochemical methods were used to determine the level of blood glucose, glycated haemoglobin (HbA1c), advanced glycation end products (AGEs), advanced protein oxidation end products (AOPPs) and lactate. The levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-HDG), neural cell adhesion molecule (NCAM), glial fibrillary acidic protein (GFAP), tumour necrosis factor- α (TNF- α), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and aquaporin-1 (AQP1) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Morphological methods included both commonly used techniques - staining of brain tissue with hematoxylin and eosin, staining with picrofuchsin with cresyl violet contrast to determine myelination of nerve fibres, silver impregnation by the Bilshovsky-Kahal method, and immunohistochemical methods to assess gene expression: Endothelial NO synthase (eNOS); Growth-Associated Protein 43 (GAP43); Hypoxia inducible factor 1 α (HIF-1 α); neuronal cadherin (N-cadherin); and vascular endothelial cadherin (VE-cadherin).

Modelling of experimental type 2 diabetes mellitus (T2DM) was accompanied by the development of metabolic disorders, such as hyperglycaemia, increased levels of glycated haemoglobin, oxidative stress and activation of neuroinflammatory processes. Despite the absence of severe neurological deficits, cognitive impairment was observed due to a decrease in conditioned reflex activity and changes in the cytokine profile of brain tissue. Modelling of acute intracerebral haemorrhage (ICH) in the setting of type 2 diabetes mellitus was characterised by a distinct neurological deficit, a decrease in cognitive, motor and research activity, increased oxidative stress, neuroinflammation and vascular dysfunction, as well as distinct degenerative changes in the nervous tissue.

When assessing the severity of neurological deficit according to the mNSS scale, it was found that edaravone significantly reduced the severity of neurological deficit in the acute period of ICH ($p < 0.05$) – on the first day by 85.7 %, on the fourth day by 100 % ($p < 0.05$). Other drugs had no significant effect on neurological deficit.

In the passive avoidance test, the anti-amnesic effects of edaravone were revealed, which were confirmed by an increase in the latency period by 2.1 times ($p < 0.05$), an increase in the proportion of animals with the acquired skill by 2.5 times ($p < 0.05$) compared to the pathological control group 2 and a high coefficient of anti-amnesic effect of the drug, which was 104.7 %. Metformin and the combined drug did not affect the latency period and the proportion of animals with the preserved skill, but had moderate anti-amnesic activity.

In the open field test, experimental therapy with edaravone was characterised by a significant increase in both horizontal and vertical motor activity by 1.98 ($p < 0.05$) and 3.76 ($p < 0.05$) times compared to the pathology control 2 group, respectively. A significant increase in locomotor and exploratory activity (2.9-fold increase in the number of hole peeks and 1.7-fold increase in the number of crossed squares) was observed in the background of the combined agent administration ($p < 0.05$). The effects of metformin were characterised by an isolated increase in the index of exploratory activity by 3.5 times compared with the pathology control 2 ($p < 0.05$).

The study of glycaemic status showed that metformin administration led to a decrease in glucose levels by 26.45 % ($p < 0.05$) and 22.76 % ($p < 0.05$) compared with pathology control 1 and pathology control 2 groups, respectively. Also, the effect of the drug on the AUC of glucose concentration was noted, which decreased by 23.94 % ($p < 0.05$) compared with group 3. All the studied drugs reduced the level of glycated haemoglobin, most significantly – metformin: by 20.56 % ($p < 0.05$) and 29.21 % ($p < 0.01$) compared to groups 2 and 3 respectively. Edaravone reduced the value by 18.3 % ($p < 0.05$) compared with group 3. The combined agent had similar efficacy - a decrease of 19.80 % ($p < 0.05$) compared to pathological control 2.

The effect of the studied drugs on oxidation processes was heterogeneous. Metformin decreased the levels of AGEs, AOPPs and 8-OHdG in cerebral cortex homogenates of rats with type 2 diabetes mellitus and ICH by 29.1 % ($p < 0.001$), 24.9 % ($p < 0.01$) and 29.3 % ($p < 0.05$), respectively, compared with pathological control 2. Edaravone was somewhat less effective: it reduced the levels of AGEs by 20.7 % ($p < 0.01$), AOPPs by 28.3 % ($p < 0.01$), and 8-OHdG by 23.3 % ($p < 0.05$)

compared to group 3. Instead, the administration of the combined agent was accompanied by an increase in the content of AGEs and AOPPs by 39.49 % and 11.07 %, respectively ($p < 0.01$).

All the studied drugs showed the ability to reduce the intensity of neuroinflammation, which was manifested by a decrease in the concentration of tumour necrosis factor- α in the brain. Edaravone was the most effective in reducing TNF- α levels – by 46.3 % ($p < 0.05$) compared to group 3. The combined drug and metformin equally reduced the index - by 33.3 % ($p < 0.05$) and 30.9 % ($p < 0.05$), respectively. A moderate inverse correlation was found between TNF- α levels and the research activity score in the open field test ($r = -0.52$; $p < 0.05$; $n = 22$).

The course administration of metformin and edaravone was equally effective (by 32.7 % and 29.3 %, $p < 0.05$) in reducing GFAP levels compared with pathological control group 2, approaching the levels of intact controls. At the same time, these drugs did not affect the NCAM content, but the combined drug reduced it by 27.07 % at the level of statistical trend ($p = 0.07$). The concentration of BDNF in the metformin and combined agent groups increased significantly by 36.9 % and 64.4 % ($p < 0.05$).

A statistically significant decrease in the content of aquaporin-1 was inherent in metformin treatment group alone, with a 31.7 % decrease in its concentration ($p < 0.01$), indicating a possible beneficial effect on the severity of cerebral edema in comorbidities.

Presumably, this is the reason why metformin partially reduced pathological changes in the cerebral cortex, i.e. less severe edema, glial reaction and haemorrhage volume. The study revealed a tendency to decrease the density of nuclei ($p = 0.07$) without affecting their surface area. There was an improvement in the structures of the nervous tissue: the number of argyrophilic fibre ruptures and neurofibrillary tangles decreased, and the severity of pyknosis was lower. The neuronal density decreased by 54.54 % ($p < 0.001$), the surface area increased by 2.68 times ($p < 0.05$) compared to group 3. Edaravone provided a more pronounced neuroprotective, antioxidant and vasostabilising effect, which was morphologically manifested by a clear reduction in edema, haemorrhage and glial reaction. The density of cell nuclei decreased by half

($p < 0.05$) compared to the pathological control group 2, and the surface area of the nuclei did not change. Myelin fibres were more evenly coloured, and their surface area increased by 82.35 % ($p < 0.0001$). However, degenerative changes were observed: a tendency to increase the density of neurons ($p = 0.05$), a decrease in their surface area by 54.57 % ($p < 0.0001$). The administration of the combined agent led to a decrease in myelination, a decrease in surface area (-41.0 %, $p < 0.01$) and density ($p = 0.05$) of myelin fibres. Neuronal damage also deepened: an increase in staining density by 90.95 % ($p < 0.0001$) and a decrease in neuronal surface area by 44.37 % ($p < 0.001$).

Metformin reduced HIF-1 α levels by 68.36 % ($p < 0.01$) without changing the area of immunopositive zones. Edaravone had a similar effect (-62.03 %; $p < 0.01$), further reducing the area of immunopositive zones (-38.40 %; $p < 0.01$). Metformin decreased the density of eNOS-positive zones (-66.67 %; $p < 0.05$), while increasing the area of specifically stained areas ($+11.42$ %; $p < 0.05$). Edaravone had a weaker effect on the density of the marker distribution, but increased the area of immunopositive zones by 18.26 % ($p < 0.01$). The combined agent significantly increased the area of eNOS-positive zones ($+25.53$ %; $p < 0.0001$). The highest level of GAP43 was observed in the combined agent group ($+87.5$ %; $p < 0.01$) without changes in the area of specifically stained areas. Metformin reduced N-cadherin expression but increased the area of specifically stained areas by 25.7 % ($p < 0.01$). In the edaravone group, the area of N-cadherin-positive zones increased by 49.6 % ($p < 0.05$), while the density tended to decrease ($p = 0.06$). The combined agent did not change the density of the marker distribution, but increased the area of immunopositive zones by 49.2 % ($p < 0.001$). Metformin promoted the highest expression of VE-cadherin (area of specifically stained areas increased by 7.31 times; $p < 0.05$), despite a decrease in density (-62.5 %, $p < 0.0001$). The edaravone treatment group was characterised by moderate expression of vascular endothelial cadherin (area of immunopositive zones $+79.3$ %, $p < 0.0001$, density of immunopositive zones -50 %, $p < 0.01$). The combined agent increased the area of specifically stained areas by 35.7 % ($p < 0.0001$), without significantly changing the density of the marker.

Scientific novelty of the results. The peculiarities of the neuroprotective properties of metformin, edaravone and a combined metabotropic agent based on succinic acid, nicotinamide, riboxin, riboflavin mononucleotide in the conditions of combined pathology – spontaneous intracerebral hemorrhage in experimental type 2 diabetes mellitus using behavioural, biochemical and morphological methods of assessment were studied for the first time.

The study details and pathogenetically substantiates the high anti-amnestic and neuroprotective efficacy of metformin and edaravone in treatment of intracerebral hemorrhage in the setting of T2DM.

For the first time, the ability of metformin to reduce the severity of cerebral edema and astrogliosis, to normalise blood-brain barrier permeability in acute intracerebral haemorrhage and type 2 diabetes mellitus was experimentally established.

The pharmacological activity of metformin and edaravone in reducing the intensity of oxidative stress, protein glycation, neuroinflammation and reactive astrogliosis was confirmed for the first time, as well as their antihypoxic effects and positive impact on the expression of cadherins and endothelial NO-synthase in comorbid pathology was also established.

The ability of edaravone to improve the morphological state of neurons and neuroglia, to prevent post-haemorrhagic demyelination in intracerebral hemorrhage in the setting of type 2 diabetes mellitus was revealed for the first time.

For the first time, the negative effect of the combined agent on oxidative stress and immunomorphological parameters of nervous tissue was proved, which limits the feasibility of its use in combined pathology and requires further study.

Practical significance of the results. The experimental studies substantiate the probable prospects for the use of hypoglycaemic, antioxidant and metabotropic agents for the treatment of CNS disorders caused by intracerebral haemorrhage in type 2 diabetes mellitus.

The obtained results expand the understanding of the pathogenesis of brain damage in intracerebral haemorrhage in type 2 diabetes mellitus, in particular, the role

of oxidative stress, protein glycation, neuroinflammation, disorders of the blood-brain barrier, neuroglia and expression of cell adhesion molecules.

The expediency of using metformin and edaravone as a means of pharmacological correction of neurodestructive changes in the combination of T2DM and intracerebral haemorrhage was established. The obtained data substantiate the feasibility of further preclinical and clinical studies on the use of these drugs in the complex treatment of cerebrovascular disease combined with metabolic disorders.

The proposed experimental approach can be used in the preclinical screening of new neuroprotective agents with regard to metabolic risk factors. Biochemical and immunohistochemical markers (AGEs, AOPPs, 8-OHdG, AQP1, GFAP, HIF-1 α , TNF- α , N-cadherin, VE-cadherin, GAP43, eNOS) can serve as informative criteria for assessing the effectiveness of pharmacological intervention in intracerebral hemorrhage in the setting of T2DM under experimental conditions.

The materials of the dissertation have been implemented in the scientific and educational activities of State Institution 'Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine' (Protocol No. 1 of 14.01.2025), Department of Pharmacology of Poltava State Medical University (Protocol No. 10 of 03.01.2025), Department of Pharmacology and Medical Prescription of Zaporizhzhia State Medical University (Protocol No. 5 of 10.01.2025), Department of Pharmacology with Clinical Pharmacology of I. Gorbachevsky Ternopil National Medical University (Protocol No. 2 of 28.02.2025).), Department of General and Clinical Pharmacology and Pharmacognosy of Odesa National Medical University (Protocol No. 9 of 20.02.2025), Department of Pharmacology of Vinnytsia National Medical University named after M.I. Pirogov (Protocol No. 8 of 05.03.2025), Department of Pharmacology of Bukovinian State Medical University (Protocol No. 10 of 28.01.2025).

Key words: diabetes mellitus, intracerebral haemorrhage, behavioural reactions, memory, neurological deficit, metformin, edaravone, succinic acid, neuroinflammation, neuroprotection, oxidative stress.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Holubiev, V. L., Oberemok, M. H., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Yu. V., Bondarenko, O. O., Lievykh, A. E., Zhyliuk, V. I. (2024). Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage. *Medicni Perspektivi*, 29(2), 174–186. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690> (SCOPUS)

2. Holubiev, V. L., Lievykh, A. E., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Yu. V., Zhyliuk, V. I. (2024). Edaravone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 96(6), 56–65. <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056> (SCOPUS)

3. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І. (2024). Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 18(4), 263–272. <https://doi.org/10.33250/18.04.263>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

4. Голубєв, В. Л., Левих, А. Е., Оберемок, М. Г., Бондаренко, О. О., Шевцова, А. І., Жилюк, В. І. (2024). Дослідження нейропротекторних властивостей метформіну у щурів з цукровим діабетом 2 типу та спонтанним внутрішньомозковим крововиливом. *Сучасні досягнення експериментальної, клінічної, екологічної біохімії та молекулярної біології: Збірник публікацій I Міжнародної науково-практичної online конференції, присвяченої 85-річчю кафедри біохімії* (с. 546–548). Харків: НФаУ.

5. Holubiev, V., Zhyliuk, V., Lievykh, A., Kharchenko, Yu., Tkachenko, V. (2024). Effects of edaravone on oxidative stress in neocortex after acute intracerebral

hemorrhage in rats with type 2 diabetes mellitus. *Neuroscience Applied*, 3, 626–627. <https://doi.org/10.1016/j.nsa.2024.105310>

6. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І. (2024). Дослідження впливу едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету. *Актуальні питання фармакології та лікарської токсикології: Матеріали науково-практичної конференції молодих учених із міжнародною участю, Фармакологія та лікарська токсикологія*, 18(3), 212–213.

7. Holubiev, V., Ushakova, G., Suvarian, U., Zhyliuk, V. (2024). The effect of metformin and edaravone on the levels of neurospecific proteins in the cerebra of rats with acute intracerebral hemorrhage on the background of type 2 diabetes. *Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології: Матеріали VII Міжнародної наукової конференції (3–4 жовтня 2024 р., Дніпро, Україна)* (с. 101–103). Дніпро: Ліра.

8. Голубєв, В., Жилюк, В., Левих, А. (2024). Вплив метформіну на вміст аквапорину-1 у головному мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Матеріали X науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті проф. Т. А. Грошового (17–18 жовтня 2024 р.)* (с. 222–223). Тернопіль: ТНМУ.

9. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І., Левих, А. Е. (2024). Дослідження впливу комбінованого засобу, що містить бурштинову кислоту та інозин, на показники поведінки та рівень маркерів запалення у мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Експериментальна та клінічна фармакологія: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю кафедри фармакології НФаУ (23–24 жовтня 2024 р.)* (с. 19–22). Харків: НФаУ.

10. Жилюк, В. І., Голубєв, В. Л., Левих, А. Е., Ушакова, Г. О. (2024). Дослідження впливу метформіну на рівні маркерів нейрогенезу та запалення у мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету.

бету 2 типу. *Міжнародна конференція з нейронаук та Наукові читання, присвячені вісцеральній фізіології та патофізіології (19–21 листопада 2024 р., Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України), Фізіологічний журнал, 70(5), додаток, 33–34.*

ЗМІСТ

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| | С. |
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ..... | 24 |
| ВСТУП..... | 26 |
| РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ МОЖЛИВОСТІ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ВНУТРІШНЬОМОЗКОВОГО КРОВОВИЛИВУ В УМОВАХ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ (огляд літератури)..... | 33 |
| 1.1. Особливості патогенезу і взаємодії внутрішньомозкового крововиливу і цукрового діабету 2 типу | 33 |
| 1.2. Потенційна медикаментозна терапія внутрішньомозкового крововиливу, що виникає на тлі цукрового діабету 2 типу..... | 43 |
| РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ | 51 |
| 2.1. Об'єкт та предмети дослідження | 51 |
| 2.1.1 Характеристика лабораторних тварин, залучених до експериментальних досліджень..... | 51 |
| 2.1.2 Характеристика лікарських засобів, які використані в роботі..... | 51 |
| 2.2. Методи дослідження..... | 52 |
| 2.2.1. Методика відтворення еквіваленту хронічної гіперглікемії у щурів..... | 52 |
| 2.2.2. Методика відтворення внутрішньомозкового крововиливу у щурів | 53 |
| 2.2.3. Методи дослідження інтегративних функцій мозку..... | 55 |
| 2.2.3.1. Дослідження неврологічного дефіциту | 55 |
| 2.2.3.2. Дослідження процесів навчання та збереження умовної навички..... | 56 |
| 2.2.3.1. Дослідження рухово-дослідницької активності..... | 57 |
| 2.2.4. Біохімічні дослідження..... | 58 |
| 2.2.4.1. Підготовка проб | 58 |
| 2.2.4.2. Дослідження рівню глікованого гемоглобіну | 58 |
| 2.2.4.3. Дослідження оксидативного статусу .. | 59 |

| | | |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.4.4. | Вивчення вуглеводно – енергетичного обміну | 59 |
| 2.2.4.5. | Визначення рівнів маркерів нейрозапалення в цитозольній фракції неокортексу..... | 60 |
| 2.2.4.6. | Визначення рівнів нейроспецифічних білків в цитозольній фракції неокортексу..... | 60 |
| 2.2.4.7. | Визначення вираженості набряку мозку..... | 61 |
| 2.2.5. | Морфологічні методи дослідження..... | 61 |
| 2.2.5.1. | Оцінка гістологічних змін неокортексу..... | 61 |
| 2.2.5.2. | Оцінка експресії імуногістохімічних маркерів неокортексу | 61 |
| 2.2.5.3. | Морфометричний аналіз тканин неокортексу..... | 62 |
| 2.2.6. | Статистична обробка результатів..... | 63 |
| РОЗДІЛ 3. | ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗАСОБІВ НА РІВЕНЬ НЕВРОЛОГІЧНОГО ДЕФІЦИТУ, МНЕСТИЧНІ ФУНКЦІЇ ТА РУХОВО-ДОСЛІДНИЦЬКУ АКТИВНІСТЬ У ЩУРІВ З ВНУТРІШНЬОМОЗКОВИМ КРОВОВИЛИВОМ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ..... | 64 |
| 3.1. | Дослідження впливу експериментальних засобів на рівень неврологічного дефіциту..... | 64 |
| 3.2. | Вивчення впливу досліджуваних засобів на умовно-рефлекторну активність..... | 66 |
| 3.3. | Визначення впливу засобів на рухово-дослідницьку та емоційну активність в тесті «відкрите поле» | 71 |

| | | |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| РОЗДІЛ 4. | АНАЛІЗ ВПЛИВУ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗАСОБІВ НА ГЛІКЕМІЧНИЙ СТАТУС, АКТИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ ТА РЕАКЦІЇ ГЛІКОЛІЗУ В НЕОКОРТЕКСІ ЩУРІВ | 3 |
| | ВНУТРІШНЬОМОЗКОВИМ КРОВОВИЛИВОМ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ..... | 79 |
| 4.1. | Вплив досліджуваних засобів на глікемічний статус щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу..... | 79 |
| 4.2. | Вплив досліджуваних засобів на стан процесів вільнорадикального окислення в неокортексі щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу..... | 83 |
| 4.3 | Визначення впливу досліджуваних засобів на стан реакцій гліколізу в неокортексі щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу..... | 89 |
| РОЗДІЛ 5. | АНАЛІЗ ВПЛИВУ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗАСОБІВ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ НЕЙРОЗАПАЛЕННЯ, РІВЕНЬ НЕЙРОСПЕЦИФІЧНИХ БІЛКІВ ТА АКВАПОРИНУ-1 У НЕОКОРТЕКСІ ЩУРІВ З ВНУТРІШНЬОМОЗКОВИМ КРОВОВИЛИВОМ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ..... | 95 |
| 5.1. | Вплив досліджуваних засобів на перебіг процесів нейрозапалення у неокортексі щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу..... | 96 |
| 5.2. | Вплив досліджуваних засобів на рівень експресії нейроспецифічних білків у неокортексі щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу..... | 98 |
| 5.3 | Вплив досліджуваних засобів на вираженість набряку головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу..... | 104 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| РОЗДІЛ 6. ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТКАНИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ З ВНУТРІШНЬОМОЗКОВИМ КРОВОВИЛИВОМ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЗАСОБІВ | 109 |
| 6.1 Дослідження впливу експериментальної терапії на загальногістологічні характеристики неокортексу... | 109 |
| 6.2 Дослідження впливу експериментальної терапії на імуногістохімічні показники неокортексу..... | 122 |
| РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ..... | 145 |
| ВИСНОВКИ..... | 162 |
| ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ..... | 165 |
| ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ..... | 166 |
| ДОДАТКИ..... | 244 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АТФ/АДФ – аденозинтрифосфат / аденозиндифосфат

АФК – активні форми кисню

ВМК – внутрішньомозковий крововилив

в/ш – внутрішньошлункове введення

ВРО – вільнорадикальне окиснення

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ЕД – ендотеліальна дисфункція

ЕПР – ендоплазматичний ретикулум

ГЕБ – гематоенцефалічний бар'єр

ЗБ – загальний білок

K_{Aa} – коефіцієнт антиамнестичної активності

КПГ – кінцеві продукти глікування

КПОП – кінцеві продукти окиснення протеїнів

8-ОНдГ – 8-оксо-2'-деоксигуанозин

ЛП – латентний період

ММП – матриксна металопротеїназа

НАД/НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид

НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений

ОС – окислювальний стрес

ОМБ – окиснювальна модифікація білка

у.о. – умовні одиниці

УРПУ – умовна реакція пасивного уникнення

цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат

ЦД – цукровий діабет

ЦНС – центральна нервова система

AQP1 – аквапорин-1

AQP4 – аквапорин-4

BDNF – нейротрофічний фактор мозку

GAP43 – протеїн, асоційований з ростом – 43

GFAP – гліальний фібрилярний кислий протеїн

HIF-1 α – фактор, що індукується гіпоксією – 1 α

mNSS – модифікована шкала важкості неврологічного дефіциту

N-кадгерин – нейрональний кадгерин

NCAM – молекула адгезії нервових клітин

NO – оксид азоту

eNOS – ендотеліальна NO-синтаза

iNOS – індукцибельна NO-синтаза

TNF- α – фактор некрозу пухлин- α

VE-кадгерин – кадгерин судинного ендотел

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми. Геморагічні ураження центральної нервової системи мають множинну патофізіологічну етіологію і включають в себе внутрішньомозковий крововилив (ВМК), субарахноїдальний крововилив (САК) і черепно-мозкову травму (ЧМТ) [243]. Внутрішньомозковий крововилив є важливою медичною проблемою та має високий рівень смертності та інвалідизації [543].

Внутрішньомозковий крововилив є другим за поширеністю підтипом інсульту після ішемічного інсульту і становить приблизно від 10 % до 20 % усіх інсультів із щорічною захворюваністю від 14,6 до 29,9 на 100000 населення [41, 101, 171, 272, 438]. У патогенезі ВМК умовно виділяють дві фази ушкодження: первинну та вторинну. Первинне ушкодження спричинене механічним руйнуванням тканин головного мозку і мас-ефектом гематоми, які призводять до стищення мозку та розвитку неврологічних дефіцитів [178, 425]. Вторинне ушкодження здебільшого пов'язане з наявністю внутрішньопаренхіматозної крові і може залежати від початкового об'єму гематоми, віку або об'єму шлуночків [30, 36]. Воно може відбуватися багатьма паралельними патологічними шляхами, такими як: цитотоксичність крові; гіперметаболізм; ексайтотоксичність; кортикальна депресія; оксидативний стрес; нейрозапалення. Зрештою, ці процеси призводять до незворотного пошкодження компонентів нервово-судинної одиниці та гематоенцефалічного бар'єру та подальшим смертельним набряком головного мозку із масивною загибеллю клітин [30].

Цукровий діабет 2 типу (ЦД 2 типу) є основним супутнім захворюванням, що підвищує ймовірність постінсультної інвалідизації [37]. Це відбувається завдяки утворенню вільних радикалів шляхом неферментативного глікування білків, окислення глюкози та посилення перекисного окислення ліпідів, що в свою чергу призводить до пошкодження ДНК, ферментів та клітинних мембран і як наслідок, до загибелі клітин [18].

В даний час лікування ВМК зосереджено на первинному ушкодженні, та складається з хірургічної евакуації гематоми, зниження внутрішньочерепної гіпертензії, контролю артеріального тиску, гемостатичної терапії та реабілітації [311]. Натомість, медикаментозне лікування вторинного ушкодження є обіцяючим, але на даний момент малоефективним та потребує подальших досліджень для розробки ефективних стратегій лікування коморбідної патології [85, 425].

Цілком імовірно, що застосування антиоксидантних (едаравону), гіпоглікемічних (метформіну) та метаботропних засобів (енергетичних субстратів циклу Кребса, таких як бурштинова кислота разом з інозином та коферментами енергетичного обміну, такими як нікотинамід та рибофлавін) здатне вплинути на результати лікування вторинних ушкоджень при внутрішньомозкових крововиливах на тлі цукрового діабету 2 типу.

Таким чином, усе вищезазначене обґрунтовує доцільність удосконалення тактики запобігання виникненню вторинних ушкоджень при внутрішньомозкових крововиливах та їх фармакокорекції за умов цукрового діабету 2 типу, зокрема, шляхом призначення антиоксидантних, метаботропних та гіпоглікемічних засобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт кафедри фармакології, загальної та клінічної фармації Дніпровського державного медичного університету: «Вивчення ендотелій-тромбоцитарних відносин у механізмах органопротективної дії лікарських засобів за умов гіперглікемії та інсулінорезистентності», № держреєстрації 0120U101502 (2020–2022), «Вивчення інертних газів як засобів первинної нейропротекції при травматичних та нетравматичних ураженнях мозку (клініко-експериментальне дослідження)» № держреєстрації 0224U001640 (2023–2025) та «Вивчення ендотелій-тромбоцитарних відносин у механізмах органопротективної дії лікарських засобів за умов експериментальних патологічних станів» № держреєстрації 0123U100028 (2023–2026) Автор є співвиконавцем вказаних НДР.

Мета роботи: експериментальне обґрунтування можливості застосування антиоксидантних, метаботропних та гіпоглікемічних засобів для оптимізації корекції розладів та профілактики ускладнень з боку нервової системи при спонтанному внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

Для досягнення мети було сформульовано такі **задачі:**

1. Визначити вплив метформіну, едаравону, комбінованого метаботропного засобу (бурштинова кислота, інозин, нікотинамід та рибофлавін) на поведінкові реакції та мнестичні функції у тварин з внутрішньомозковим крововиливом за умов ЦД 2 типу

2. Вивчити вплив дослідних засобів на глікемічний статус, процеси окисної модифікації та енергетичний обмін при внутрішньомозковому крововиливі за умов ЦД 2 типу.

3. Дослідити вплив зазначених препаратів на процеси нейрозапалення, рівень експресії нейроспецифічних білків, а також вираженість набряку головного мозку за умов коморбідної патології.

4. Оцінити морфологічні та імуногістохімічні зміни тканин головного мозку експериментальних тварин з внутрішньомозковою гематомою при ЦД 2 типу за умов введення досліджуваних препаратів.

5. Провести порівняльний аналіз фармакологічної активності досліджуваних засобів при внутрішньомозковому крововиливі за умов експериментального цукрового діабету 2 типу.

Об'єкт дослідження: експериментально відтворений внутрішньомозковий крововилив у щурів з еквівалентом цукрового діабету 2 типу.

Предмет дослідження: фармакологічна активність гіпоглікемічних (метформін), антиоксидантних (едаравон), метаботропних (бурштинова кислота/інозит/нікотинамід/рибофлавін) засобів за умов гострого внутрішньомозкового крововиливу на тлі цукрового діабету 2 типу.

Методи дослідження: поведінкові, біохімічні, морфологічні, статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів: Вперше вивчені особливості нейропротекторних властивостей метформіну, едаравону та комбінованого ме-

таботропного засобу на основі бурштинової кислоти, нікотинаміду, рибоксину, рибофлавіну мононуклеотиду за умов поєднаної патології – спонтанного внутрішньомозкового крововиливу на тлі тривалого перебігу експериментального цукрового діабету 2 типу із використанням поведінкових, біохімічних та морфологічних методів оцінки.

В роботі деталізовано та патогенетично обґрунтовано високу антиамнестичну та нейропротекторну ефективність метформіну та едаравону.

Вперше експериментально встановлено здатність метформіну знижувати вираженість набряку головного мозку та астрогліозу, нормалізувати проникність гематоенцефалічного бар'єру при гострому внутрішньомозковому крововиливі на тлі цукрового діабету 2 типу.

Вперше підтверджено фармакологічну активність метформіну та едаравону у зменшенні інтенсивності окисного стресу, процесів глікування протеїнів, нейрозапалення та реактивного астрогліозу, також встановлено їх антигіпоксичну дію та позитивний вплив на експресію кадгеринів і ендотеліальної NO-синтази за умов коморбідної патології.

Вперше виявлено здатність едаравону покращувати морфологічний стан нейронів і нейроглії, попереджувати постгеморагічну демієлінізацію при внутрішньомозковому крововиливі на тлі цукрового діабету 2 типу .

Вперше доведено негативний вплив комбінованого засобу на показники оксидативного стресу та імуноморфологічні параметри нервової тканини, що обмежує доцільність його використання за даних умов та потребує додаткового вивчення.

Практичне значення отриманих результатів Проведені експериментальні дослідження обґрунтовують ймовірні перспективи застосування гіпоглікемічних, антиоксидантних та метаботропних засобів для лікування порушень ЦНС, спричинених внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу.

Отримані результати розширюють уявлення про патогенез уражень головного мозку при внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету

2 типу, зокрема щодо ролі окиснювального стресу, глікування протеїнів, нейрозапалення, порушень структурно-функціонального стану гематоенцефалічного бар'єру, нейроглії та експресії молекул клітинної адгезії.

Встановлено доцільність застосування метформіну та едаравону як засобів фармакологічної корекції нейродеструктивних змін при внутрішньомозковому крововиливі за умов ЦД2. Отримані дані обґрунтовують доцільність подальших доклінічних і клінічних досліджень щодо використання цих препаратів у комплексному лікуванні цереброваскулярної патології, поєднаної з метаболічними порушеннями.

Запропонований експериментальний підхід може бути використаний у доклінічному скринінгу нових нейропротекторних засобів з урахуванням метаболічних факторів ризику. Біохімічні та імуногістохімічні маркери (КПГ, КПОП, 8-ОНдГ, AQP1, GFAP, HIF-1 α , TNF- α , N-кадгерин, VE-кадгерин, GAP43, eNOS) можуть слугувати інформативними критеріями оцінки ефективності фармакологічного втручання при спонтанних внутрішньомозкових крововиливах на тлі ЦД2 в умовах експерименту.

Матеріали дисертаційної роботи впроваджені у наукову та освітню діяльність ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (протокол № 1 від 14.01.2025 р.), кафедри фармакології Полтавського державного медичного університету (протокол № 10 від 03.01.2025 р.), кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (протокол № 5 від 10.01.2025 р.), кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (протокол № 2 від 28.02.2025 р.), кафедри загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету (протокол № 9 від 20.02. 2025 р.), кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 8 від 05.03.2025 р.), кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету (протокол № 10 від 28.01.2025).

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною завершеною науковою працею. За участю наукового керівника обраний напрямок дослідження, сформульовані мета та задачі, а також методичні підходи. Автором самостійно проведений інформаційно-патентний пошук та аналіз літературних даних, відпрацьовані моделі та методи досліджень, проведені експериментальні дослідження, статистична обробка отриманих даних, їх наукова інтерпретація, сформульовані висновки та практичні рекомендації. Оформлення дисертаційної роботи виконано дисертантом самостійно. Дослідження рівнів нейроспецифічних білків у головному мозку проведені за консультативної допомоги професора кафедри фізіології та біохімії Дніпровського національного університету ім. Олеся Гончара Ушакової Г. О. Морфологічні дослідження головного мозку проведені за консультативної допомоги доцента Бондаренко О. О. (кафедра патологічної анатомії, судової медицини та патофізіології Дніпровського державного медичного університету).

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: I Міжнародній науково-практичній online конференції, присвяченій 85-річчю з дня заснування кафедри біохімії «Сучасні досягнення експериментальної, клінічної, екологічної біохімії та молекулярної біології» (7 березня 2024 р., м. Харків); 37th ECNP congress (21–24 вересня 2024 р., м. Мілан); Науково-практичній конференції молодих учених із міжнародною участю «Актуальні питання фармакології та лікарської токсикології» (25–26 вересня 2024 р., м. Київ); Сьомій міжнародній науковій конференції «Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології» (3–4 жовтня, 2024 р., м. Дніпро); X науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій пам'яті завідуючого кафедри управління та економіки фармацевції з технологією ліків, доктора фармацевтичних наук, професора Тараса Андрійовича Грошового (17–18 жовтня 2024 р., м. Тернопіль); Міжнародній науково-практичній конференції «Експериментальна та клінічна фармакологія», присвячена 100-річчю кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (23–24 жовтня 2024 року, м. Харків);

Міжнародній конференції з нейронаук та наукових читаннях, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології (19–21 листопада 2024 року, м. Київ).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 10 робіт, у тому числі 3 статті у фахових виданнях, з них 2 у виданнях, що індексуються у системі Scopus; 7 тез доповідей.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 255 сторінках машинописного тексту та складається з анотації, списку друкованих праць, вступу, розділів, розділу, присвяченого аналізу та узагальненню експериментальних даних, загальних висновків, практичних рекомендацій, переліку використаних джерел, що містить посилання на 553 джерела (8 – кирилицею, 545 – латиницею) та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 133 сторінки друкованого тексту. Дисертація ілюстрована 26 таблицями та 37 рисунками.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ МОЖЛИВОСТІ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ВНУТРІШНЬОМОЗКОВОГО КРОВОВИЛИВУ В УМОВАХ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

1.1. Особливості патогенезу і взаємодії внутрішньомозкового крововиливу і цукрового діабету 2 типу

Внутрішньомозковий крововилив (ВМК) є гострим і потенційно летальним цереброваскулярним захворюванням, що характеризується кровотечею в паренхіму мозку внаслідок розриву ослабленої артеріальної судини. Цей розрив може бути спричинений різними патологічними станами, включаючи хронічну артеріальну гіпертензію, церебральну амілоїдну ангіопатію, судинні мальформації, аневризми або мікроангіопатії [301]. ВМК становить від 10 до 30 % усіх випадків інсультів, щороку вражаючи понад 1 мільйон людей у світі, і асоціюється з високою 30-денною летальністю на рівні 40,4 %, що робить його однією з найсерйозніших форм цереброваскулярних подій [202, 284]. За останні два десятиліття захворюваність на ВМК зросла на 47 %, що пов'язано з глобальним старінням населення, зростанням поширеності артеріальної гіпертензії, цукрового діабету 2 типу (ЦД2), ожиріння, дисліпідемії та інших модифікованих факторів ризику. Це також спричинило зростання госпіталізацій на 18 % за останні 10 років, що створює значне навантаження на системи охорони здоров'я [94]. Порівняно з ішемічним інсультом, ВМК характеризується значно вищим рівнем смертності та тяжкими неврологічними наслідками через пряме ураження мозкової тканини, механічну компресію структур мозку, а також вторинні ускладнення, такі як перигематоматозний набряк, гідроцефалія, внутрішньочерепна гіпертензія та системні інфекції. Висока летальність і тяжкість ВМК зумовлені не лише початковим ураженням, а й каскадом молекулярних і клітинних подій, що посилюють пошкодження мозку [463].

Стать і вік суттєво впливають на клінічний перебіг і прогноз ВМК. Чоловіки мають вищий ризик летального результату, що може бути пов'язано з більшою частотою супутніх серцево-судинних захворювань, таких як ішемічна хвороба серця чи атеросклероз, а також вищим рівнем системного запалення. Проте серед тих, хто вижив, чоловіки частіше демонструють кращий функціональний прогноз, можливо, через меншу схильність до стійкого неврологічного дефіциту або кращу адаптацію до реабілітаційних заходів. Жінки, навпаки, частіше зазнають стійкої інвалідизації, що залежить від віку, супутніх патологій (наприклад, остеопорозу, серцевої недостатності, гормональних змін у постменопаузі чи аутоімунних захворювань) і тяжкості початкового неврологічного дефіциту за шкалою NIHSS [28, 64, 244, 473]. Ускладнення після ВМК також мають статеву специфіку: у чоловіків частіше розвиваються пневмонія та сепсис, що пов'язано з імуносупресією, викликаною гострим церебральним ураженням і тривалою іммобілізацією, тоді як жінки більш схильні до інфекцій сечовивідних шляхів, що може бути зумовлено анатомічними особливостями та частішим використанням катетерів. Ці ускладнення подовжують госпіталізацію, підвищують витрати на лікування та ускладнюють реабілітацію [244]. Довгострокові наслідки ВМК є серйозними: п'ятирічна смертність коливається від 22,2 % до 28,01 %, а від 31,19 % до 50,01 % пацієнтів виписуються з помірною або тяжкою інвалідизацією, що обмежує їхню здатність до самостійного життя, часто вимагає постійного догляду та призводить до значного зниження якості життя [49, 179, 293, 470]. Через рік після ВМК 20,1 % пацієнтів набувають нової інвалідності, з яких 13,6 % пов'язані з ураженням мозку, включаючи моторні порушення (геміпарез, атаксію), когнітивні розлади (проблеми з пам'яттю, увагою), сенсорні дефіцити (втрату чутливості) та порушення мови (афазію чи дизартрію) [269].

Фактори ризику ВМК поділяються на модифіковані та немодифіковані. Модифіковані фактори включають артеріальну гіпертензію, яка є провідною причиною ВМК, цукровий діабет 2 типу, куріння, надмірне вживання алкоголю, медикаментозну або набуту коагулопатію (наприклад, спричинену антикоа-

гулянтами, такими як варфарин чи прямі оральні антикоагулянти, або тромболітиками), а також вживання симпатоміметичних речовин, таких як кокаїн, амфетаміни чи псевдоефедрин, які різко підвищують артеріальний тиск і можуть викликати судинний розрив. Немодифіковані фактори охоплюють похилий вік (особливо після 65 років), чоловічу стать, несвропеїдне етнічне походження (зокрема азійське, африканське чи латиноамериканське), церебральну амілоїдну ангіопатію, яка частіше зустрічається у літніх осіб, церебральні мікрокровотечі, онкологічні захворювання (зокрема метастази у головний мозок), хронічну хворобу нирок, а також вроджені чи набуті судинні аномалії, такі як артеріовенозні мальформації, церебральні аневризми, кавернозні ангіоми чи синдром Мюрая [240].

Локалізація ВМК має критичне значення для клінічного перебігу, прогнозу та вибору терапевтичної стратегії. Найпоширенішими ділянками є базальні ганглії, зокрема путамен (32,7–46,7 %), лобні долі (19,83–36 %), таламус (15–18,3 %) та шлуночки мозку (21,87 %) [39, 73, 324]. Рідше крововиливи виникають у мозочку, довгастому мозку, внутрішній капсулі, тім'яних чи скроневих долях. Крововиливи в стовбурі мозку (зокрема в міст чи середній мозок) та внутрішньошлуночкові крововиливи (ВШК) асоціюються з вищою госпітальною смертністю через анатомічну близькість до життєво важливих центрів регуляції дихання, серцевої діяльності, свідомості та вегетативних функцій [324]. ВШК ускладнює перебіг ВМК, спричиняючи гостру гідроцефалію через обструкцію шлуночкової системи згустками крові, що призводить до підвищення внутрішньочерепного тиску (ВЧТ), а також вторинне ураження мозку через токсичність продуктів розпаду гему, заліза, тромбіну та інших метаболітів, які викликають запалення, оксидативний стрес і нейрональну загибель [158, 468]. Проте первинні ВШК, не пов'язані зі спонтанним паренхіматозним крововиливом, мають кращий довгостроковий прогноз, із сприятливим функціональним результатом у 83,33 % випадків, що може бути зумовлено меншим об'ємом ураження паренхіми та можливістю раннього дренивання [274].

Патогенез ВМК поділяється на первинні та вторинні ураження. Первинні ураження розвиваються в перші 6 годин після крововиливу і включають формування гематоми, механічний мас-ефект на прилеглі тканини, що призводить до компресії нейронів, гліальних клітин і судин, та підвищення ВЧТ. Високий ВЧТ може викликати локальну ішемію, здавлення мозкових структур і порушення церебральної перфузії, що погіршує неврологічний стан [48]. У 20 % пацієнтів гематома продовжує розширюватися протягом перших 24 годин через триваючу кровотечу, порушення локального гемостазу або вторинне ушкодження судин, що загрожує дислокацією мозку, здавленням стовбура та летальним результатом [97, 240, 256]. Об'єм гематоми є ключовим предиктором виживаності та функціонального відновлення: гематоми об'ємом понад 30 мл асоціюються з гіршим прогнозом, тоді як менші крововиливи (<10 мл) частіше дозволяють досягти функціональної незалежності [304, 436].

Вторинні ураження виникають у наступні дні чи тижні та охоплюють складний каскад молекулярних і клітинних змін, таких як перигематоматозний набряк, порушення цілісності гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), запальні реакції, оксидативний стрес (ОС), гемотоксичність і нейродегенерація [94, 178]. Перигематоматозний набряк є важливим маркером вторинного ураження, оскільки він підвищує ВЧТ, погіршує неврологічний дефіцит і вважається потенційною терапевтичною мішенню для медикаментозного (наприклад, осмотерапії) або хірургічного втручання (наприклад, декомпресивної краніоектомії чи евакуації гематоми). Набряк формується через підвищену проникність ГЕБ у перші 24–72 години, що призводить до вазогенного набряку, який становить до 60 % його об'єму. Протягом 7–11 діб набряк посилюється через деградацію згустків, активацію коагуляційного каскаду, системи комплементу, прозапальних цитокінів (IL-1 β , TNF- α), хемокінів (CCL2, CXCL8) і матриксних металопротеїназ, що додатково ушкоджують ГЕБ, сприяють нейрональній дегенерації та посилюють неврологічний дефіцит [219, 425, 178].

Запальна реакція при ВМК розпочинається одразу після крововиливу і характеризується швидкою активацією мікроглії – основних імунних клітин

центральної нервової системи, які відіграють ключову роль у нейроімунній відповіді. Мікроглія виділяє прозапальні цитокини (IL-1 β , TNF- α , IL-6), хемокіни (CCL2, CXCL8), активні форми кисню (АФК) і протеази, координовані транскрипційним фактором NF- κ B, що посилює локальне запалення і залучає периферичні імунні клітини [343, 396, 474]. Активація мікроглії досягає піку через 7 діб і може тривати до 4–6 тижнів, залежно від об'єму гематоми, локалізації крововиливу та індивідуальних факторів, таких як вік чи супутні захворювання [21]. Виділяють два основні фенотипи мікроглії: M1 (прозапальна), яка посилює нейрозапалення шляхом секреції цитокінів, АФК і матриксних металопротеїназ, та M2 (протизапальна), яка сприяє еритрофагоцитозу, розсмоктуванню гематоми, репарації тканин і нейропротекції. M1 мікроглія продукує IL-1 β , IL-6, TNF- α , тоді як M2 підтипи (M2a, M2b, M2c) експресують протизапальні маркери, такі як IL-10, CD206, CD163, що сприяють зменшенню запалення і відновленню тканин [55, 226, 433, 510].

Нейтрофіли, які проникають у мозок протягом перших годин після ВМК через ушкоджений ГЕБ, відіграють ключову роль у ранній запальній відповіді, продукуючи АФК, протеази (наприклад, еластазу, катепсин G) і нейтрофільні екстрацелюлярні пастки (NETs), що ушкоджують ГЕБ, викликають загибель нейронів і посилюють набряк [76, 144]. Астроцити, залежно від контексту, виконують як прозапальні (A1), так і протизапальні (A2) функції. A1 астроцити сприяють руйнуванню ГЕБ, секреції прозапальних медіаторів і нейротоксичності, тоді як A2 підтримують репарацію тканин, зменшують неврологічний дефіцит, сприяють нейропротекції та беруть участь у формуванні гліального рубця. Реактивний астрогліоз, що супроводжується експресією гліального фібрилярного кислотного білка (GFAP), може як ізолювати зону ураження, так і сприяти хронічному запаленню, залежно від фази відновлення. Макрофаги та Т-лімфоцити, які проникають пізніше, також сприяють запальній відповіді, модулюючи баланс між ушкодженням і репарацією [106, 177, 301, 344].

Оксидативний стрес є центральним механізмом вторинного ураження при ВМК і виникає через дисбаланс між продукцією активних форм кисню (АФК)

та азоту (АФА) і антиоксидантним захистом, що призводить до ушкодження білків, ліпідів, ДНК, клітинних мембран і мітохондрій [261, 349, 350, 482]. Основними джерелами АФК є фермент НАДФН-оксидаза (NOX2), мітохондрії, мієлопероксидаза, що виділяється активованими фагоцитами, ксантиоксидаза, а також ліпоксигеназа і циклооксигеназа, які активуються в умовах ішемії та запалення [102, 198, 366, 545]. Активація NOX2 після ВМК значно посилює ураження мозку, що підтверджується експериментами на NOX2-нокаутних моделях, де спостерігалися менші об'єми кровотечі, набряку, загибелі нейронів та кращі неврологічні прогнози [127, 295, 378].

Надлишок глутамату в синаптичному просторі активує NMDA-рецептори, спричиняючи надходження кальцію, що призводить до мітохондріальної дисфункції, утворення пероксинітриду, активації полі (АДФ-рибоза)-полімерази (PARP) і подальшого ушкодження ДНК, білків і клітинних структур [50, 107, 142, 336, 338, 415, 515]. Тромбін, що вивільняється при ВМК, активує рецептори PAR-1, додатково посилюючи кальцієвий потік через NMDA-рецептори, що сприяє ексайтотоксичності та загибелі нейронів [74, 484]. Антиоксидантний захист регулюється шляхом KEAP1-NRF2-ARE, який контролює експресію гемоксигенази-1 (HO-1), супероксиддисмутази (SOD), глутатіонпероксидази, каталази та інших цитопротекторних білків. Активація NRF2 зменшує ураження на ранніх стадіях ВМК, що робить цей шлях перспективною мішенню для нейропротекторної терапії, зокрема із застосуванням агоністів NRF2, таких як сульфорафан або диметилфумарат [72, 231, 403, 517].

Гемотоксичність при ВМК зумовлена руйнуванням еритроцитів у гематомі, що призводить до вивільнення гемоглобіну, який трансформується в метгемоглобін, генеруючи супероксидні радикали, що ушкоджують нейрони, глію, ендотеліальні клітини та ГЕБ [103, 424]. Гемін (Fe^{3+} протопорфірин IX), що утворюється з гему, викликає ендотеліальну дисфункцію, руйнування щільних контактів ГЕБ (ZO-1, клаудин-5, оклюдин), демієлінізацію білої речовини, активацію прозапальних шляхів і апоптоз, що погіршує неврологічний прогноз і

сприяє хронічним неврологічним дефіцитам [9, 16, 30, 42, 176, 214, 305, 408, 422, 478].

Еритрофагоцитоз, опосередкований мікроглією, макрофагами, перицитами та нейтрофілами, відіграє ключову роль у нейтралізації продуктів гемолізу, зменшуючи нейротоксичність, запалення та вторинне ураження мозку. Мікроглія й макрофаги поглинають еритроцити через рецептори CD36 і CD163, що сприяє розсмоктуванню гематоми [168, 229, 459]. Гемопексин (Нрх) зв'язує гемін і транспортує його до клітин через рецептор LRP1, де він розщеплюється гемоксигеназою-1 (НО-1) до менш токсичних метаболітів, таких як білірубін, вуглекислий газ і ферритин, які мають антиоксидантні властивості [96, 161, 417]. Вільне залізо, що вивільняється з гему, каталізує реакцію Фентона, генеруючи високореактивні гідроксильні радикали, які посилюють ОС, викликають пероксидацію ліпідів, пошкодження ДНК і апоптоз або некроз нейронів і гліальних клітин. Хелатори заліза, такі як деферамін, досліджуються як потенційні терапевтичні агенти для зменшення гемотоксичності [129, 131, 169, 209, 367, 444].

Порушення ГЕБ є критичним механізмом вторинного ураження при ВМК, що призводить до вазогенного набряку, інфільтрації імунних клітин (нейтрофілів, макрофагів, Т-лімфоцитів), посилення запалення та нейрональної дегенерації [177]. Хемокін CCL2 підвищує проникність ГЕБ через активацію сигнального шляху Р38-МАРК і підвищену експресію аквапорину-4 (AQP4), що сприяє накопиченню рідини в паренхімі, погіршує набряк мозку та підвищує ВЧТ [81, 143]. АФК, продуковані NOX4, разом із матриксними металопротеїназами (ММП-3, ММП-9), руйнують щільні контакти ГЕБ (клаудин-5, оклюдин, ZO-1), що сприяє екстравазації плазми, накопиченню білків у паренхімі та вторинному ушкодженню нейронів [202, 462]. Мітохондріальна дисфункція, спричинена ОС і кальцієвим перевантаженням, а також прозапальні медіатори, такі як USP11, NF-κB і VEGF, додатково погіршують цілісність ГЕБ [512]. НК-клітини, нейтрофіли та активовані Т-лімфоцити викликають цитотоксичність

ендотеліальних клітин, сприяючи набряку мозку, нейрональній дегенерації та хронічному запаленню [220].

Апоптоз є важливою формою запрограмованої клітинної смерті при ВМК і активується через кілька шляхів, включаючи внутрішній (мітохондріальний) і зовнішній (рецепторний). Шлях PERK (протеїнкіназа ендоплазматичного ретикулу) фосфорилує eIF2 α , блокуючи трансляцію білків і активуючи фактор транскрипції ATF4, що може призвести до загибелі нейронів при тривалому ендоплазматичному стресі через активацію CHOP і каспаз [56, 248, 413]. Запалення, індуковане TLR4, сприяє апоптозу через активацію прозапальних цитокінів, але його можна послабити антагоністами IL-1 β і TNF- α , що знижують каспазну активність і нейрональну загибель [117]. Мітохондріальна дисфункція, спричинена ОС, кальцієвим перевантаженням і пероксинітридом, відкриває мітохондріальну пору перехідної проникності (mPTP), вивільняючи цитохром С, який активує каспазу-9 і запускає каспазний апоптоз [218, 351].

Аутофагія відіграє двояку роль: захисну, сприяючи видаленню пошкоджених органел (мітохондрій, ендоплазматичного ретикулу), агрегованих білків і токсинів, що зменшує клітинний стрес, і руйнівну при надмірній активації, що посилює вторинне ураження шляхом надмірної деградації клітинних компонентів, включаючи життєво важливі білки та органели [122, 531]. Аутофагія активується через шлях HMGB1/TLR4 і корелює з тяжкістю ураження мозку, особливо при великих гематомах або ВМК. Вона може зменшувати запалення шляхом деградації прозапальних компонентів (наприклад, інфламасом NLRP3), але також активує мікроглію, посилюючи нейрозапалення і вторинне ураження. [122, 207, 449]. Модуляція аутофагії, наприклад, за допомогою інгібіторів mTOR або активаторів AMPK, досліджується як потенційна стратегія нейропротекції [551, 552].

Когнітивні порушення після ВМК, такі як порушення пам'яті, уваги, виконавчих функцій, просторово-візуальних навичок, обробки інформації та навчання, частіше спостерігаються у літніх пацієнтів із великими гематомами, вираженим неврологічним дефіцитом і ураженням субкортикальних структур (гі-

покамп, таламус, біла речовина). Низький бал за шкалою МоСА (Монреальська когнітивна оцінка) в гострій фазі ВМК є незалежним предиктором відстрочених когнітивних порушень, що підвищують ризик судинної деменції, знижують якість життя та ускладнюють соціальну адаптацію [138, 163]. Ці порушення можуть бути зумовлені як прямим ураженням кортикальних і субкортикальних структур, так і вторинними ефектами, такими як хронічне запалення, нейродегенерація, порушення нейрональних зв'язків, мікрогліальна активація і демієлінізація. Реабілітаційні програми, включаючи когнітивну терапію та медикаментозну підтримку (наприклад, інгібітори ацетилхолінестерази), можуть частково покращувати когнітивні функції, але результати залежать від об'єму ураження та часу початку терапії.

Цукровий діабет 2 типу значно підвищує ризик ВМК через хронічне системне запалення, оксидативний стрес, ендотеліальну дисфункцію, порушення цілісності гематоенцефалічного бар'єру та мікроангіопатію [14, 32, 37, 148, 257, 268, 279, 314]. Поширеність ЦД2 серед тих, хто вижив після ВМК, становить 26,67 %, але серед летальних випадків сягає 43,75 %, що підкреслює його негативний вплив на прогноз, виживаність і функціональний результат [277]. Пацієнти з ЦД2 мають тяжчі інсульти з вищими показниками за шкалою NIHSS, гіршим функціональним результатом за модифікованою шкалою Ренкіна і вищим ризиком рецидивів через судинну дисфункцію та хронічне запалення [259, 395].

Гіперглікемія при ЦД2 сприяє розширенню гематоми через цереброваскулярне ремоделювання, підвищену експресію фактора росту ендотелію судин (VEGF), активацію матриксних металопротеїназ (ММП-9), порушення гемостазу, опосередковане калікреїном плазми, тромбіном і прозапальними факторами, а також зниження еластичності судин [38, 78, 114, 200, 215, 228]. Ендотеліальна дисфункція, спричинена хронічною гіперглікемією, накопиченням кінцевих продуктів глікації (КПГ) і підвищеною продукцією АФК, призводить до руйнування щільних контактів ГЕБ, підвищення його проникності, вазогенного набряку, інфільтрації імунних клітин і посилення запалення [45, 160, 251, 306]. Гіперглікемія також порушує взаємодію астроцитів і ендотеліоцитів, знижуючи

експресію коннексину 43, що погіршує міжклітинну комунікацію, і підвищуючи секрецію VEGF, що сприяє патологічному ангиогенезу, набряку та геморагічним ускладненням [135].

ЦД2 посилює нейрозапалення, збільшуючи інфільтрацію лейкоцитів (нейтрофілів, макрофагів, Т-лімфоцитів), продукцію прозапальних цитокінів (TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ) і пригнічуючи олігодендрогенез, що призводить до тяжкого ураження білої речовини, порушення мієлінізації, втрати нейрональних зв'язків і погіршення когнітивних функцій [201, 212, 236, 237, 303, 348, 428, 499, 503]. Оксидативний стрес при ЦД2 зумовлений активацією поліолового шляху, накопиченням КППГ, надмірною активністю протеїнкінази С, гексозаміновим шляхом, мітохондріальною дисфункцією і зниженням антиоксидантного захисту (SOD, глутатіон), що сприяє апоптозу нейронів, гліальних і ендотеліальних клітин, а також судинному ремоделюванню [54, 70, 249, 300, 483].

Антиоксидантна терапія, спрямована на нейтралізацію АФК, захист нейронів і зменшення запалення (наприклад, за допомогою N-ацетилцистеїну чи вітаміну E), разом із ретельним контролем артеріальної гіпертензії (інгібітори АПФ, бета-блокатори), дисліпідемії (статири) та інших метаболічних порушень, є перспективними стратегіями для зниження ризику ВМК у пацієнтів із ЦД2 [283, 426, 532]. Хоча суворий контроль гіперглікемії (HbA1c <6,5 %) не довів прямого зниження частоти інсультів у великих клінічних дослідженнях через ризик гіпоглікемії, корекція вуглеводного обміну, включаючи використання інсуліну, метформіну, інгібіторів SGLT-2 чи агоністів GLP-1, залишається основою профілактики хронічних ускладнень ЦД, включаючи цереброваскулярні події. Ці препарати сприяють зменшенню системного запального фону, покращенню ендотеліальної функції та зниженню судинного стресу, що опосередковано знижує ризик ВМК [257].

Всі вищевикладені факти підкреслюють важливість взаємодії між цукровим діабетом 2 типу і внутрішньомозковим крововиливом та потребу в комплексному лікуванні цієї коморбідної патології.

1.2. Потенційна медикаментозна терапія внутрішньомозкового крововиливу, що виникає на тлі цукрового діабету 2 типу

Метформін, препарат першої лінії, який найчастіше призначають при цукровому діабеті 2 типу має доведений позитивний вплив на серцево-судинну систему у пацієнтів з ЦД2 і є єдиним антигіперглікемічним препаратом, який знижує смертність від серцево-судинних ризиків [283, 394, 549]. Ще одним позитивним фактом є те, що метформін не викликає гіпоглікемії, тому його ще називають «антигіперглікемічним засобом» [213, 260]. Основними механізмами дії метформіну є активація АМРК (аденозинмонофосфат-активована протеїнкіназа) та послідуєче пригнічення гліуконеогенезу в печінці зі збільшенням поглинання глюкози скелетними м'язами. Метформін може проникати через гематоенцефалічний бар'єр і чинити специфічний вплив на центральну нервову систему, активувати певні нейрони та нейроглію для забезпечення різноманітних нейрофізіологічних ефектів [69, 255]. Метформін може чинити потенційну нейропротекторну, нейротрофічну та стимулюючу нейрогенез дію; крім того, метформін також чинить протизапальну дію, пригнічуючи активацію мікроглії та регулюючи поляризацію мікроглії. Ці дані вказують на широку фармакологічну ефективність та терапевтичні можливості метформіну в клінічному застосуванні при неврологічних захворюваннях [69].

У клінічних та експериментальних дослідженнях було виявлено, що метформін чинить нейропротекторну дію при багатьох неврологічних розладах, [22, 29, 47, 88, 280, 316], але необхідна подальша перевірка на різних тваринних моделях та вивчення механізмів, що лежать в його основі. Метформін може покращувати синаптичну передачу, впливаючи на нейронні ланцюги та регулюючи баланс збудження/гальмування в нейронних мережах [213].

Також відомо, що лікування метформіном здатно зменшувати ендотеліальну дисфункцію, мітохондріальну дисрегуляцію, оксидативний стрес, запалення та утворення кінцевих продуктів глікування [206, 328]. Дослідження показали, що метформін посилює Nrf2-опосередковану транскрипцію, стимулює

ючи антиоксидантні процеси та забезпечуючи захист від оксидативного стресу [186, 495].

Як показали дослідження Amerg та співавт., гістологічні зміни в тканині головного мозку щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЦД) включали дезорганізацію у всіх регіонах і виражене ішемічне пошкодження нейронів у зернистому шарі мозолистого тіла, що характеризувалося ядерним пікнозом, тоді як у молекулярному шарі спостерігалися збільшені нейрони і надлишок гліальних клітин. У корі головного мозку щурів з ЦД виявлено перинейронний набряк і малацитарні вогнища, пов'язані з агрегацією мікрогліальних клітин. Крім того, вони повідомляли, що в гіпокампі діабетичних щурів спостерігалось значне підвищення експресії каспази-3 порівняно з контрольними щурами [23].

Експерименти з вивчення нейропротекторних ефектів метформіну при ЦД, ішемії мозку або черепно-мозковій травмі (ЧМТ) виявили його позитивний вплив на пошкоджену тканину мозку. У доповіді Тао та співавт. показано, що метформін значно покращує неврологічний дефіцит, зменшує набряк мозку та пригнічує апоптоз нейронів у щурів після ЧМТ. Однак вони виявили, що прийом метформіну пригнічував мікрогліальну активацію [382].

Крім того, Karimroug та співавт. повідомили про значне зниження лейкоцитарної інфільтрації, активності мієлопероксидази та рівня малонового діальдегіду в зразках, отриманих від щурів, які отримували метформін перед ішемією головного мозку. У підсумку, вони показали, що метформін як до, так і після лікування зменшував розмір інфаркту порівняно з інтактними тваринами [184].

Первинний механізм метформіну включає активацію шляху протеїнкінази, активованої АМФ (АМРК). Активація АМРК відновлює енергетичний баланс, зменшує апоптоз та посилює нейрозахист як у моделях ВМК, так і в моделях ЧМТ. Дослідження показали, що метформін збільшує фосфорилування АМРК, що корелює з покращеними неврологічними результатами на тваринних моделях ЧМТ та інсульту [123, 145, 294].

Метформін проявляє потужні протизапальні та антиоксидантні властивості, які мають вирішальне значення для пом'якшення вторинного пошкодження мозку після ВМК та ЧМТ. Він пригнічує прозапальні цитокіни, такі як IL-1 β , IL-6 і TNF- α , а також зменшує маркери окислювального стресу, такі як 8-ISO-PGF2 α [58, 289]. Ці ефекти сприяють збереженню цілісності гематоенцефалічного бар'єру та зменшенню нейрозапалення.

Було показано, що метформін інгібує апоптоз шляхом зниження регуляції проапоптотичних факторів, таких як розщеплена каспаза-3, p-JNK та p-c-Jun. Крім того, він регулює мітофагію, процес, критично важливий для підтримки функції мітохондрій, активуючи шлях AMPK/ULK1/Pink1/Parkin. Цей механізм особливо актуальний при церебральній ішемії/реперфузійній травмі, де метформін зменшує апоптоз нейронів і покращує функцію мітохондрій [145, 511].

Останні дослідження показують, що нейропротекторні ефекти метформіну можуть також включати мікробіоту кишечника. Метформін змінює склад мікробіоти кишечника, що, у свою чергу, зменшує нейрозапалення та покращує результати в моделях ВМК. Ця модуляція осі кишечника та мозку підкреслює новий механізм, за допомогою якого метформін надає свою захисну дію [491].

На тваринних моделях ВМК було показано, що метформін зменшує неврологічний дефіцит, зменшуючи набряк мозку, пригнічуючи апоптоз та пригнічуючи окислювальний стрес. Ці ефекти пов'язані з покращенням виживання нейронів смугастого тіла та зниженням рівня прозапальних цитокінів [289]. Крім того, здатність метформіну регулювати поляризацію мікроглії/макрофагів до протизапального фенотипу ще більше сприяє його нейропротекторній дії [491].

Хоча доклінічні дослідження є багатообіцяючими, клінічні докази використання метформіну при ВМК обмежені. Дослідження, що вивчало передінсультне застосування метформіну у пацієнтів з цукровим діабетом, не виявило значного поліпшення 1-річного прогнозу, що свідчить про те, що переваги метформіну можуть бути більш вираженими в гострих умовах, а не в довгострокових результатах [401].

Тваринні моделі ЧМТ продемонстрували, що метформін зменшує набряк мозку, покращує вестибуломоторну функцію та покращує нейроповедінкове відновлення. Ці ефекти опосередковуються активацією AMPK, яка відновлює енергетичний баланс і зменшує вторинне пошкодження мозку [294, 375]. Метформін також пригнічує запальні шляхи, включаючи інфламасому NLRP3, яка відіграє ключову роль у прогресуванні ЧМТ [297].

Рандомізоване контрольоване дослідження у пацієнтів із важким ЧМТ показало, що лікування метформіном значно знижує рівень біомаркерів у сироватці крові, таких як S100b та співвідношення нейтрофілів до лімфоцитів (NLR), що вказує на його потенціал як терапевтичного втручання. Однак для підтвердження цих висновків потрібні масштабніші багатоцентрові дослідження [375].

Діабет є значним фактором ризику когнітивних порушень та деменції, часто пов'язаного з нейрозапаленням та окислювальним стресом. Було показано, що метформін покращує когнітивні функції у хворих на діабет, зменшуючи резистентність до інсуліну, пригнічуючи поділ мітохондрій та пом'якшуючи окислювальний стрес [162, 279]. Його здатність проходити через гематоенцефалічний бар'єр і регулювати активацію мікроглії додатково підкреслює його потенціал як нейропротекторного агента у діабетичних популяціях [58, 211].

У хворих на діабет з гострим інсультом показано, що метформін покращує неврологічну функцію та зменшує окислювальний стрес. Ці ефекти опосередковуються через сигнальний шлях AMPK/mTOR, який відіграє вирішальну роль у виживанні та відновленні нейронів [524]. Крім того, здатність метформіну покращувати гемодинаміку судин та ендотеліальну функцію може додатково сприяти його нейропротекторному ефекту у людей з діабетом [58, 375].

Хоча гострі переваги метформіну добре задокументовані, його довгостроковий вплив на когнітивні та неврологічні результати у хворих на діабет потребує подальшого дослідження. Дослідження показують, що метформін може знизити ризик деменції у людей з діабетом, хоча дані ще не є переконливими [11, 91].

Хоча докази нейропротекторних ефектів метформіну є багатообіцяючими, залишається кілька прогалин. Масштабні клінічні випробування необхідні для підтвердження його ефективності як при ВМК, так і при ЧМТ. Крім того, оптимальне дозування, тривалість та терміни введення метформіну вимагають подальшого дослідження. Роль метформіну в довгострокових когнітивних та неврологічних результатах у хворих на діабет також вимагає подальшого дослідження.

Отже, нейропротекторні властивості метформіну роблять його перспективним терапевтичним засобом для людей з діабетом, які перебувають у групі ризику або мають ВМК. Його здатність модулювати кілька внутрішньоклітинних шляхів, включаючи активацію АМПК, протизапальну дію та регуляцію мікробіоти кишечника, підкреслює його потенціал як універсального варіанту лікування.

Едаравон є потужним антиоксидантним засобом, який виступає екзогенним поглиначем гідроксильних радикалів ($\cdot\text{OH}$), інгібуючи як $\cdot\text{OH}$ -залежне, так і $\cdot\text{OH}$ -незалежне перекисне окиснення ліпідів. Препарат застосовується для лікування бічного аміотрофічного склерозу (БАС) та гострого ішемічного інсульту у перші 24 години після нападу [53, 469, 480]. Незважаючи на обмежені офіційні показання, едаравон вивчається як перспективний засіб при інших патологіях, зокрема при розсіяному склерозі, онкологічних захворюваннях, деяких вірусних інфекціях та хворобі Альцгеймера [109, 118, 195, 416]. Завдяки амфільним властивостям едаравон ефективно нейтралізує як водо-, так і жиророзчинні пероксильні радикали, пригнічуючи ліпідне окиснення [442]. Він також активує експресію генів Nrf2, HO-1, підвищує активність мітохондріального комплексу II/III, знижує активність комплексу IV і підтримує синтез АТФ [250]. Нейропротекторна дія пов'язана зі збільшенням експресії mBDNF і Bcl-2, зниженням активності каспази-3, активацією ERK1/2, а також зменшенням токсичності пропофолу шляхом впливу на шлях mBDNF/TrkB/PI3K [270, 480]. У клінічних умовах едаравон сприяє зниженню рівня металопротеїнази-9 у пацієнтів із мозковим крововиливом, зменшуючи неврологічний дефіцит [520]. У щурів

із внутрішньошлуночковим крововиливом за умов призначення едаравону спостерігалось зниження набряку мозку, покращення навчання і пам'яті [84]. Попри обмеженість даних, результати метааналізу 38 РКД свідчать про покращення неврологічних показників та зменшення об'єму гематоми після застосування едаравону упродовж 7 днів після інсульту, хоча смертність залишалася незмінною [290]. Едаравон чинить нейропротекторну дію завдяки модуляції окисного стресу, інгібуванню нейрозапалення та апоптозу нейронів. Він зменшує експресію прозапальних цитокінів TNF- α , IL-6, IL-1 β , сприяє пригніченню астроцитів A1 через шлях NF- κ B, модуляції активації астроцитів у бік захисного фенотипу A2 [83, 232, 452]. В експериментах едаравон покращував мітохондріальну функцію, пригнічував ферроптоз шляхом регуляції GPX4, xCT, ACSL4, 5-LOX [71, 276]. Нейропротекторний ефект також супроводжувався зниженням рівня малонового діальдегіду, захистом дофамінергічних нейронів при хворобі Паркінсона, моторних нейронів при БАС, а також зменшенням продукції активних форм кисню при хворобі Альцгеймера [71]. У поєднанні з дексборнеолом ефективність едаравону зростала, що відкриває перспективи комбінованої терапії [83]. Крім того, едаравон демонструє здатність протидіяти нейротоксичним ефектам миш'яку, зменшуючи окислювально-нітрозативний стрес, покращуючи мітохондріальну та холінергічну функцію в гіпокампі та лобовій корі, а також підвищуючи рівень ацетилхолінестерази [31]. Він відновлює експресію BDNF, FGF2 та їх сигнальних шляхів (TrkB, Akt, Bcl-2), сприяє виживанню нейронів, зменшує їх апоптоз, окислювальний стрес і гліальну активацію [105]. Також відомо, що едаравон здатний зменшувати експресію індукованої синтази оксиду азоту (iNOS) та запобігати втраті клітин гіпокампу за умов епілептичного статусу [183].

Таким чином, едаравон – перспективний засіб нейропротекції при гострих та хронічних ураженнях ЦНС, включаючи коморбідні стани, такі як цукровий діабет, патогенез ускладнень якого також пов'язаний із надмірною продукцією вільних радикалів. Подальші дослідження необхідні для повного розкриття потенціалу препарату, особливо у контексті нейросудинної патології.

Бурштинова кислота (сукцинат) проявляє виражені нейропротекторні властивості, зумовлені її здатністю покращувати функцію мітохондрій, зменшувати окислювальний стрес і модуляцію нейрозапалення. Вона сприяє покращенню окислення субстратів у мітохондріях, стимулює утворення АТФ, відновлює метаболічні шляхи циклу Кребса та посилює дихальну активність клітин, що особливо важливо для енергозабезпечення нейронів [411]. У дослідженнях показано, що бурштинова кислота знижує рівень лактату в мозку при ішемії/реперфузії, пригнічує перекисне окислення ліпідів (маркер оксидативного пошкодження), підвищує рівень глутатіону, що разом свідчить про її антиоксидантні властивості [312, 411]. Крім того, сукцинат активує білок роз'єднання мітохондрій UCP2, який опосередковує зниження нейрозапалення після внутрішньомозкових крововиливів шляхом активації AMPK та стабілізації NIF-1 α [141, 440, 464]. У моделях нейродегенеративних захворювань бурштинова кислота демонструвала здатність усувати дисфункцію комплексу I мітохондрій, запобігати атрофії клітин Пуркінє та покращувати моторну поведінку в умовах спіноцеребелярної атаксії типу 1 [120, 199]. Похідні янтарної кислоти, такі як реамберин та Neurox, також виявляють церебропротекторну активність, знижуючи апоптоз, відновлюючи мітохондріальний потенціал і покращуючи енергетичний метаболізм у тканині мозку, хоча деякі з них виявились менш ефективними, ніж мексидол або цитофлавін [167, 241, 285, 288, 420]. Бурштинова кислота позитивно впливає на мікроциркуляцію, покращує транспорт кисню та стабілізує електронтранспортний ланцюг у гіпоксичних умовах [155, 192, 317]. Сукцинат також виявив потенціал у терапії діабету, зокрема завдяки взаємодії з рецептором SUCNR1, що може бути використано для зниження вираженості діабетичних ускладнень [33, 119]. Крім того, він покращує співвідношення лактат/піруват у пацієнтів з черепно-мозковими травмами та мітохондріальною дисфункцією, підтверджуючи його здатність стабілізувати клітинний метаболізм в умовах патології [362].

Отже, стає очевидним що внутрішньомозковий крововилив у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу є складним клінічним викликом. Ефективне підтри-

мання нормоглікемії та застосування антиоксидантної та метаболічної терапії може впливати на зниження важкості ВМК у цій категорії пацієнтів. Це вказує на необхідність розробки комплексних підходів медикаментозної терапії цієї коморбідної патології для отримання кращих результатів лікування.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкт та предмети дослідження

Об'єкт дослідження: експериментально відтворений внутрішньомозковий крововилив у щурів з еквівалентом цукрового діабету 2 типу.

Предмет дослідження: нейропротективна активність гіпоглікемічних (метформін), антиоксидантних (едаравон), метаботропних (бурштинова кислота/інозин/нікотинамід/рибофлавін) засобів.

2.1.1 Характеристика лабораторних тварин, залучених до експериментальних досліджень

Експериментальні дослідження виконані на 60 білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 200-250 г, отриманих з розплідника ПП «Далі-2001», м. Київ з відтвореними в експерименті еквівалентами цукрового діабету 2 типу та внутрішньомозкового крововиливу.

Тварини знаходилися на стандартному раціоні та в стандартних умовах віварію при вільному доступі до води та їжі в умовах 12-годинного циклу день/ніч при температурі повітря $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ та відносній вологості повітря $50\pm 10\%$ [8]. Усі досліди проводили відповідно до методик і вимог ДФЦ МОЗ України [2, 4, 8]. Всі досліди проводили відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою» (м. Страсбург, 1986) [89] та «Положення про використання тварин у біомедичних дослідках» [1]. Дизайн дослідження схвалено Комісією з біоетики Дніпровського державного медичного університету (протокол №2 від 26.10.2021).

2.1.2. Характеристика лікарських засобів, які використані в роботі

Усі використані в процесі проведення досліджень препарати, окрім метформіну (внутрішньошлунково, 20 діб) вводили інтраперитонеально один раз на добу протягом 10 діб. Для отримання однорідної суспензії для внутрішньо-

шлункового введення таблетованих форм використаний розчин Полісорбат LAUROPAN T/80 (Італія). Дози препаратів запозичені з літературних джерел чи розраховані шляхом використання міжвидового коефіцієнта перерахунку доз та є еквівалентними терапевтичному діапазону для людини (Табл. 2.1). Контрольні групи тварин отримували фізіологічний розчин із розрахунку 5 мл/кг/добу.

Таблиця 2.1

Групи фармакологічних засобів

| Фармакологічна група | Назва лікарського препарату (Торгова назва, виробник) | Доза | Форма випуску |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------|-----------|------------------------------|
| Гіпоглікемічні засоби | Метформін (Сіофор, ФРН) | 250 мг/кг | Таблетки по 0,5 г |
| Антиоксиданти | Едаравон (Ксаврон, Україна) | 6 мг/кг | Р-н для ін'єкцій, амп. 20 мл |
| Метаботропні засоби | Сукцинат/Інозин/Нікотинамід /Рибофлавін (Цитофлавін, Україна) | 1.7 мл/кг | Р-н для ін'єкцій, амп. 10 мл |

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Методика відтворення еквіваленту хронічної гіперглікемії у щурів

У даному дослідженні експериментальною моделлю ендокринної патології підшлункової залози слугував патологічний процес, що розвивається у тварин за умов застосування діабетогенної речовини – стрептозоцину та одночасного застосування нікотинаміді з метою часткового захисту β -клітин. Цей метод створює модель ЦД 2 типу, що характеризується стабільною помірною гіперглікемією, пов'язаною з втратою функції 40 % β -клітин [287].

Цукровий діабет 2 типу (ЦД2) моделювали за допомогою одноразового внутрішньоочеревинного введення нікотинаміді 230 мг/кг (НА, Sigma-Aldrich, USA) та стрептозоцину 65 мг/кг (СТЗ, AdooqBioscience, USA) у цитратному буфері (рН = 4,5, 0,1 М) щурам, які голодували протягом ночі [472]. Рівень глюкози в крові вимірювали через 72 години після введення НА/СТЗ. Тварини зі значеннями менше 8,3 ммоль/л були виключені з дослідження.

Рівень глюкози вимірювали за допомогою глюкометра Bionime Rightest GM300 (Bionime Corporation, Швейцарія) у зразках крові, отриманих з хвостової вени. Пероральний глюкозотолерантний тест (ПГТТ) проводили на 69-ту добу дослідження. Тваринам, які перебували на ніч натщесерце, вводили глюкозу у дозі 2 г/кг (20 % розчин) шляхом внутрішньошлункового зондування через 2 години після введення препарату. Площу під глікемічною кривою (AUC) розраховували за допомогою програмного забезпечення GraphPad Prism 8.0 і виражали як $\text{min} \times \text{ммоль/л}$.

2.2.2. Методика відтворення внутрішньомозкового крововиливу у щурів

Інтрацеребральний крововилив був індукований шляхом мікроін'єкції 1 мкл розчиненої в стерильному фізіологічному 0,2 МО бактеріальної колагенази (тип IV-S, 1 мкл 0.2 МО/мкл, «Sigma-Aldrich», США) на 60 день дослідження за стереотаксичними координатами: передньо-задня – 0.2 мм попереду від брегми, медіолатеральна – 2.8-3.0 мм з правого боку від брегми, глибина 5.5 мм, які відповідали ділянці стріатума [79]. Перед проведенням процедури дослідним тваринам проводилась загальна анестезія за схемою: внутрішньом'язове введення тілетаміну (15 мг/кг, Zoetis, Іспанія), золазепаму (15 мг/кг, Zoetis, Іспанія), ксилазину (5 мг/кг, Interchemie, Нідерланди).

Структура дослідження представлена у табл. 2.2.

Структура експериментального дослідження

| № п/п | Етап дослідження | Групи тварин | Основні методи для оцінки | Кількість тварин | Дослідні показники/групи тварин, що досліджувалися |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. | Визначити вплив метформіну, едаравону, комбінованого метаботропного засобу (бурштинова кислота, інозин, нікотинамід та рибофлавін) на поведінкові реакції та мнестичні функції у тварин з внутрішньомозковим крововиливом за умов ЦД 2 типу | I – інтактні, (інтактний контроль контроль); II –НА/СТЗ + фізіологічний розчин (патологічний контроль 1); III –НА/СТЗ + ВМК + фізіологічний розчин (патологічний контроль 2); IIIa - НА/СТЗ + ВМК + Мет; IIIб - НА/СТЗ + ВМК + Еда; IIIв - НА/СТЗ + ВМК + КЗ; | Неврологічний дефіцит | 60 | mNSS / всі |
| | | | Мнестичні функції | | УРПУ: Латентний період, відсоток тварин із відсутньою навичкою, K_{La} , / всі |
| | | | Поведінкові реакції | | Тест «відкрите поле»: рухово-дослідницька та емоційна активність/ всі |
| | | | Дослідження вуглеводного обміну | | Рівень глюкози у крові, глікований гемоглобін, площа під кривою концентрації глюкози / всі |
| | | | Дослідження оксидатного статусу | | КПГ, КПОБ, 8-OHdG / всі |
| 2. | Вивчення впливу дослідних засобів на глікемічний статус, процеси окисної модифікації та енергетичний обмін при внутрішньомозковому крововиливі за умов ЦД 2 типу. | | Дослідження енергетичного обміну | | Лактат / всі |
| | | | Імуноферментні дослідження | | 8-OHdG, TNF- α , AQP-1, NCAM , GFAP, BDNF / всі |
| 3. | Дослідження впливу експериментальних препаратів на процеси нейрозапалення, рівень експресії нейроспецифічних білків, а також вираженість набряку головного мозку за умов коморбідної патології. | | Морфологічні дослідження | | Гістологічні та імуногістохімічні (eNOS, GAP43, HIF-1 α , N-кадгерин, VE-кадгерин) зміни неокортексу, морфометрія / всі |
| 4. | Оцінка морфологічних та імуногістохімічних змін тканин головного мозку експериментальних тварин з внутрішньомозковою гематомою при ЦД 2 типу за умов введення досліджуваних препаратів | | Статистичні дослідження | | Критерій Шапіро-Уїлка; двосторонній t-критерій Стьюдента або односторонній ANOVA; U-критерій Манна-Уїтні або H-критерій Крускала-Уолліса; F-критерій Фішера та критерій χ^2 Пірсона; розрахунок M(SD).та (Me, Q1-Q3), побудова відповідних графіків/ всі |
| 5. | Проведення порівняльного аналізу фармакологічної активності досліджуваних засобів при внутрішньомозковому крововиливі за умов експериментального цукрового діабету 2 типу | | | | |

2.2.3. Методи дослідження інтегративних функцій мозку

2.2.3.1. Дослідження неврологічного дефіциту

Неврологічний дефіцит у тварин оцінювали за шкалою mNSS (Modified Neurological Severity Score) за нижчезазначеними критеріями [335]. Шкала дозволяє оцінити моторні, сенсорні, балансові та рефлекторні функції. Для оцінки наявності дефіциту проводилися наступні тести: піднімання щура за хвіст (згинання передніх кінцівок, згинання задніх кінцівок), опускання щура на пласку поверхню, тести чутливості (тест розміщення передньої лапи, пропріоцептивний тест).

Таблиця 2.3

Шкала оцінки неврологічного дефіциту (mNSS)

| Тести | Бали |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Оцінка моторики | |
| <i>Піднімання щура за хвіст (норма = 0, максимум = 3)</i> | 3 |
| Згинання передніх кінцівок | 1 |
| Згинання задніх кінцівок | 1 |
| Голова переміщується $>10^\circ$ до вертикальної осі протягом 30 с | 1 |
| <i>Опускання щура на пласку поверхню (норма = 0, максимум = 3)</i> | |
| Звичайна хода | 0 |
| Неможливість рухатись прямо | 1 |
| Рух по колу в бік парезу | 2 |
| Падіння в бік парезу | 3 |
| Тести чутливості | |
| 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 |
| Максимальна кількість балів | 11 |

2.2.3.2. Визначення впливу на процеси навчання та збереження умовної навички

Одним із основних питань у нашій роботі було питання впливу стану хронічної гіперглікемії та внутрішньомозкового крововиливу на когнітивні функції тварин та властивості гіпоглікемічних, антиоксидантних та метаболічних препаратів. Експериментальних підходів до визначення стану когнітивних функцій існує достатньо багато. У даному дослідженні оцінку інтегративних процесів у головному мозку у щурів проведено за допомогою методу – умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ). Це швидкий і надійний метод, який можна використовувати для оцінки впливу фармакологічних агентів на емоційне навчання [450].

Вказаний рефлекс формували в камері розміром $60 \times 30 \times 35$ см, поділеній на два рівних відсіки. Правий відсік є освітленим, а лівий темним та оснащений електрифікованою підлогою. Вироблення та відтворення УРПУ проводили протягом 2 днів. На 69-й день експерименту (від введення стрептозоцину та нікотинаміду), тварин поміщали в камеру з відкритими дверцятами та протягом 3 хвилин фіксували латентний період заходу в темний відсік (ЛП₁) зважаючи на природжену прихильність цього виду гризунів до темряви та замкненого середовища. Після заходу щура в темний відсік та фіксації тривалості латентного періоду, дверцята закривали і через електрифіковану підлогу наносили тварині 5 ударів струмом силою 1 мА з інтервалом 5 с та тривалістю кожного імпульсу – 1 с. На 70-ту добу проводили тестування. Тварин поміщали в стартовий відсік при відкритих дверцятах та фіксували латентний період заходу до темного відсіку (ЛП₂). Спостереження проводилося протягом 180 с. Важливим критерієм на даному етапі була кількість тварин, що залишилися у центральному відсіку, яка свідчила про ступінь навчання експериментальних тварин. Для тварин, які залишилися у світлому відсіку протягом усього часу спостереження, латентний період приймався за 180 с. При збереженні набутої навички тварина пам'ятала про нанесене в темній камері електробольове подразнення, тому бі-

льша різниця між ЛП₁ і ЛП₂ ($\Delta\text{ЛП}_{2-1}$) свідчила про кращий ступінь запам'ятовування [5, 7, 113, 152, 450].

Для оцінки ефективності відтворення навички УРПУ при використанні дослідних препаратів та їх комбінацій вираховували коефіцієнт антиамнестичної активності ($K_{\text{Аа}}$) за наступною формулою[292]:

$$K_{\text{Аа}} = \frac{\Delta\text{ЛП}_{\text{препарат}} - \Delta\text{ЛП}_{\text{дослідні}}}{\Delta\text{ЛП}_{\text{інтактні}} - \Delta\text{ЛП}_{\text{дослідні}}} \times 100 \%,$$

$$\text{де } \Delta\text{ЛП} = \text{ЛП}_{\text{тестування}} - \text{ЛП}_{\text{вироблення рефлексу}}$$

Вищий коефіцієнт ($K_{\text{Аа}}$) свідчить про більший антиамнестичний потенціал дослідної терапії.

2.2.3.3. Дослідження рухово-дослідницької активності

Для оцінки поведінкових реакцій тварин використаний тест «відкрите поле», який дозволяє відносно швидко визначити фізіологічну реакцію на нове середовище та отримати багатогранну інформацію про рухову, дослідницьку та емоційну активність тварин. Дана модель заснована на конфлікті двох мотивацій – інстинктивної тенденції до дослідження нового середовища і тенденції до мінімізації можливої небезпеки з його боку.

Експериментальна установка «відкрите поле» являє собою добре освітлену квадратну площадку розмірами 100 x 100 см з білими вертикальними стінками висотою 40 см. На всій площині підлоги даної установки рівномірно розміщені 16 отворів («нірок») діаметром 6 см. Тварин по черзі приміщували в центр поверхні і протягом 3 хвилин відстежували їхню поведінку. Цілісну оцінку проводили по кількості перетнутих квадратів (горизонтальна активність), вертикальних підйомів та заглядань у нірки (дослідницька активність) а також кількості актів ґрумінгу та числа болюсів дефекації і уринацій на 70 добу експерименту [3].

2.2.4. Біохімічні дослідження

2.2.4.1 Підготовка проб

На 70 добу дослідження, після досягнення наркозу, тварини виводились з експерименту шляхом декапітації. Після перфузування крижаним фосфатним буферним розчином (PBS, Sigma-Aldrich, США), розкривалась черепна коробка та проводилось швидке видалення головного мозку, з подальшим промиванням, висушуванням і виділенням кори півкуль. Кожен зразок відокремлювався, зважувався і зберігався при -45°C для подальших аналізів. Крім того, всі зразки мозку з геморагічно уражених півкуль були зібрані і поміщені в 10 % нейтральний забуферений формалін для гістопатологічного дослідження.

Першу половину тканин кори головного мозку гомогенізували (5 % м/к) у 20 мМ фосфатному буфері (рН 7,4) і центрифугували при 10000g протягом 10 хв при 4°C . Отримані супернатанти використовували для вимірювання рівнів кінцевих продуктів глікації (КПГ), кінцевих продуктів окислення білків (КПОБ) та лактату. Іншу половину кортикальних тканин гомогенізували (10 % м/к) у буфері, що містив 25 мМ трис-НСІ (Sigma-Aldrich, США) рН 7,4, 1 мМ ЕДТА (Sigma-Aldrich, США), 2 мМ β -меркаптоетанол (Sigma-Aldrich, США), 0,2 мМ фенілметилсульфонілфторид (Sigma-Aldrich, США) та 0,01 % мертіолят (Sigma-Aldrich, США). Гомогенати центрифугували при 10000g протягом 10 хв (4°C), а супернатанти використовували для імуноферментного аналізу (ELISA).

2.2.4.2. Дослідження рівню глікованого гемоглобіну

Глікований гемоглобін (HbA1c) визначали спектрофотометричним методом у зразках цільної крові за допомогою стандартного набору HbA1c («Реагент», Україна). Принцип методу базується на наявності 1-дезоксиглюкози-1(N-валіл)фруктози в стабільній формі HbA1c. В подальшому вона дегідратується фосфоною кислотою до 5-гідроксиметил-2-фуральдегіду, який утворює кольоровий комплекс з 2-тіобарбітуровою кислотою з максимумом поглинання при довжині хвилі 443 нм [130]. Вміст HbA1c виражали в мкмоль фруктози/г Hb.

2.2.4.3. Дослідження оксидативного статусу

Визначення маркерів окисної модифікації білків

Рівень кінцевих продуктів глікації (КПГ) вимірювали флуоресцентним методом [258] за допомогою флуорометра Hoesfer DQ 2000 (США) з фіксованою довжиною хвилі (збудження/випромінювання = 365/460 нм). Результати виражали в довільних одиницях (ДО) на мг білка.

Рівень кінцевих продуктів окиснення білків (КПОБ) вимірювали за допомогою спектрофотометрії на мікропланшетному рідері, згідно з модифікованим методом, описаним Вітко-Сарсатом [387, 446]. КПОБ калібрували розчином хлораміну-Т, який має довжину поглинання 340 нм у присутності йодиду калію. Зразки розподіляли на стандартному 96-лунковому мікротитрувальному планшеті і додавали до них 30 мкл 50 % оцтової кислоти (Sigma-Aldrich, США). У стандартні лунки до 200 мкл розчину хлораміну-Т 0-100 мкмоль/л (Sigma-Aldrich, США) додавали 15 мкл 1,16 М йодиду калію (Sigma-Aldrich, США), після цього – 30 мкл оцтової кислоти. Поглинання реакційної суміші негайно зчитували при 340 нм на мікропланшетному рідері у порівнянні з контрольною лункою, що містила 200 мкл фосфатного буферного розчину, 15 мкл йодиду калію і 30 мкл оцтової кислоти. Оскільки поглинання хлораміну-Т при 340 нм є лінійним до 100 мкмоль/л, рівні КПОБ були виражені як мкмоль-еквіваленти хлораміну-Т на мг білка (мкмоль/мг білка).

Визначення маркерів окисного ураження ДНК

Визначення вмісту 8-гідрокси-2'-дезоксигуанозину (8-OHdG) в гомогенатах мозку проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою стандартного тест-набору (ELISA kit E-EL-0028 Elabscience, США) згідно з протоколами виробника.

2.2.4.4. Вивчення вуглеводного – енергетичного обміну

Стан енергетичного обміну в гомогенатах мозку щурів оцінювали за вмістом лактату.

Рівень лактату вимірювали спектрофотометрично за допомогою стандартного тест-набору «Lactate, каталожний номер: 2-187» (PZ Cormay S.A., Польща) згідно з інструкцією виробника.

2.2.4.5. Визначення рівнів маркерів нейрозапалення в цитозольній фракції неокортекса

Визначення вмісту фактора некрозу пухлин-альфа (TNF- α) в гомогенатах мозку проводили за допомогою стандартного тестового набору ІФА згідно з протоколами виробника (Rat TNF- α (Tumor Necrosis Factor Alpha) ELISA kit E-EL-R2856, Elabscience, США).

2.2.4.6. Визначення рівнів нейроспецифічних білків в цитозольній фракції неокортекса

Кількісний вміст нейротрофічного фактору головного мозку (BDNF), гліального фібрилярного кислого протеїну (GFAP) визначали за допомогою стандартних тестових наборів ІФА згідно з протоколами виробника (Rat BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) ELISA Kit E-EL-R1235E, Elabscience, США; Rat GFAP ELISA Kit ER0229, FineTest, США). Вміст молекули адгезії нервових клітин (NCAM) визначали за допомогою конкурентного твердофазного імуноферментного аналізу з використанням первинних моноспецифічних поліклональних антитіл проти NCAM (Anti-NCAM1 antibody CAL53 ab237708, Abcam, Великобританія) вторинних антикролячих антитіл, мічених пероксидазою хрому (HRP Anti-NCAM1 antibody [EP2567Y] ab303038, Abcam, Великобританія) та очищеного протеїну NCAM (Recombinant Rat NCAM1 protein (Tagged) ab235818, Abcam, Великобританія) в якості стандарту. Принцип методу заснований на твердофазній ензимозв'язаній імуносорбції за принципом «сендвіча». Вміст NCAM характеризували відношенням його кількості у пробі до кількості загального білка (ЗБ) у даному екстракті (мкг NCAM / мг ЗБ). Кількість ЗБ у фракції визначали за методом Бредфорда [60]. Вимірювання оптичної густини здійснювали на мікропланшетному рідері «Rayto RT2100C» при довжині хвилі 492 нм.

2.2.4.6. Визначення вираженості набряку мозку

Рівні аквапорину-1 в гомогенатах ураженої півкулі визначали методом ІФА з використанням стандартного тест-набору «AQP1 ELISA Kit (Rat), каталожний номер: ОКЕН06279» (Aviva Systems Biology, Сан-Дієго, Каліфорнія, США).

2.2.5. Морфологічні методи дослідження

2.2.5.1. Оцінка гістологічних змін неокортексу

Матеріал фіксували в 10 % нейтральному забуференому розчині формаліну (рН 7,4) протягом 24 годин при кімнатній температурі [302]. Інфільтрацію зразків проводили за допомогою гістопроектора Microm STP-120 (Thermo Fisher Scientific, Німеччина). Зразки зневоднювали у зростаючих концентраціях ізопропанолу (70 %, 80 %, 95 % і в три зміни по 100 % протягом 90 хв за зміну), очищали в ксилолі та інфільтрували у дві зміни розплавленого парафіну протягом 120 хв за зміну. Після цього парафінові тканини заливали в парафінові блоки за допомогою станції для заливки HistoStar (Thermo Fisher Scientific, США). Серійні зрізи товщиною не більше 4 мкм отримували за допомогою мікротома Thermo HM 355S (Thermo Fisher Scientific, Німеччина). Зрізи кожного зразка тканини використовували для загального гістологічного забарвлення тканин з використанням гематоксиліну та еозину [44], пікрофуксину для мієліну з контрастуванням крезиловим фіолетовим, імпрегнації сріблом за методом Більшовського-Кахала [156] та для подальшого імуногістохімічного забарвлення.

Мікроскопію гістологічних зрізів проводили за допомогою мікроскопа Axio Imager 2 (Zeiss, Німеччина) при збільшенні $\times 100$, $\times 200$ та $\times 400$.

2.2.5.2. Оцінка експресії імуногістохімічних маркерів неокортексу

Зрізи товщиною 4 мкм фіксували на предметні скельця клеєм Superfrost (Thermo, Німеччина), потім депарафінували ксилолом і регідратували. Активність ендогенної пероксидази блокували 3 % розчином перекису водню в 70 % метанолі протягом 20 хвилин при кімнатній температурі. Після цього зрізи від-

мивали в трьох змінах фосфатного буферного розчину (ФБР) з наступним проведенням термоіндукованого пошуку антигенів шляхом нагрівання на водяній бані в цитратному буфері з рН 6,0 (через 20 хвилин після досягнення температури 98°C) з симетричним розташуванням предметних стекол у банці з додаванням 2 мл детергенту Triton-X100 (Sigma, Німеччина) на 200 мл буфера [174].

Після відмивання в трьох змінах ФБР предметні скельця поміщали у вологу камеру та інкубували з 1 % блокуючою сироваткою (нормальна козяча сироватка) протягом 20 хвилин. Для даного дослідження використовували наступні первинні антитіла: анти-ендотеліальна NO-синтаза, eNOS (мишачі моноклональні антитіла, клон M221, розведення 1:400, Abcam, Великобританія); анти-GAP43 (кролячі поліклональні антитіла, 1: 1000, Thermo Fisher Scientific, США); анти-NIF-1 α (мишачі моноклональні антитіла, клон ESEE122, 1:5000, Thermo Fisher Scientific, США); анти-N-кадгерин (кролячі поліклональні антитіла, 1:1000, Thermo Fisher Scientific, США); антиVE-кадгерин (кролячі поліклональні антитіла, 1:500, Abcam, Великобританія).

Зрізи інкубували з первинними антитілами у вологій камері при 4°C протягом ночі. Візуалізацію проводили за допомогою набору реагентів Master Polymer Plus Detection System (Master Diagnostica, Іспанія) і завершували реакцією ДАВ-хромогену з перекисом водню в присутності пероксидази хрому до утворення коричневого забарвлення в місцях зв'язування первинних антитіл [174]. Після цього зрізи додатково забарвлювали гематоксилином Гілла протягом 30 секунд, зневоднювали висхідними концентраціями спирту, очищали ксилолом і фіксували на покривні скельця.

2.2.5.3. Морфометричний аналіз тканин неокортексу

Морфометричний аналіз клітин кори головного мозку здійснювали в напівавтоматичному режимі за допомогою програмного забезпечення з відкритим вихідним кодом, ImageJ 1.54p (National Institute of Health, США). Визначали наступні показники:

- щільність ядер клітин, мієлінізованих нервових волокон, тіл нейронів та імунопозитивних зон (кількість елементів на 1мм^2 площі зрізу кори мозку) у 5 п'яти полях зору;

- площа ядер клітин, мієлінізованих нервових волокон, тіл і відростків нейронів та імунопозитивних зон (мкм^2).

2.2.6. Статистична обробка результатів

Статистична обробка даних наукових досліджень проводилась з використанням ліцензійного програмного 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/, #176082062458225). На першому етапі статистичного аналізу всі отримані результати досліджень показників у групах тварин проходили перевірку на нормальність розподілу із використанням критерію Шапіро-Уїлка. Статистичну значущість ($p < 0,05$) визначали за допомогою двостороннього t-критерію Стьюдента або одностороннього ANOVA для нормально розподілених змінних; і U-критерію Манна-Уїтні або Н-критерію Крускала-Уолліса для ненормально розподілених змінних. При «нормальному» розподілі отримані дані були представлені у вигляді середнього та стандартного відхилення $M(SD)$. При розподілі, що відрізняється від «нормального», отримані дані представлені у вигляді медіани (Me) і інтерквартильного розмаху (25-75 процентіль). Для категоріальних показників порівняння груп проводилося з використанням F-критерію Фішера та критерію χ^2 Пірсона. Аналіз зв'язку між кількісними показниками проводили за допомогою коефіцієнту кореляції Пірсона. На графіках використано середнє (M) та стандартне відхилення (SD) для нормального розподілу та медіана з інтерквартильним розмахом для ненормального розподілу [281].

РОЗДІЛ 3

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗАСОБІВ НА РІВЕНЬ НЕВРОЛОГІЧНОГО ДЕФІЦИТУ, МНЕСТИЧНІ ФУНКЦІЇ ТА РУХОВО-ДОСЛІДНИЦЬКУ АКТИВНІСТЬ У ЩУРІВ З ВНУТРІШНЬОМОЗКОВИМ КРОВОВИЛИВОМ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Порушення когнітивних функцій, є характерними для ВМК [138]. Найчастіше страждають такі когнітивні сфери, як невербальний IQ, швидкість обробки інформації, виконавча функція, пам'ять, мова та візуально-конструктивні здібності [43, 188]. Відомо також, що порушення у цих когнітивних сферах можуть поглиблюватися на тлі цукрового діабету за відносно порівнянними механізмами [37].

В даному розділі наведені результати власних досліджень, які відображають порівняльну характеристику впливу досліджуваних засобів на умовно-рефлекторну активність, рівень неврологічного дефіциту та поведінкові реакції щурів за умов їх курсового введення.

3.1. Дослідження впливу експериментальних засобів на рівень неврологічного дефіциту

В ході оцінки рівня неврологічного дефіциту у щурів патологічного контролю 1, було встановлено його відсутність. Водночас, відтворення еквіваленту ВМК на тлі ЦД2 характеризувалося появою неврологічного дефіциту ($p < 0,05$) з найбільшою виразністю з першої по четверту добу спостережень (табл. 3.1; рис. 3.1). Слід зазначити, що на сьому та десяту добу після індукції ВМК, неврологічний дефіцит був відсутнім, що може свідчити про інтенсивність природнього відновлення уражених функцій мозку у щурів.

Таблиця 3.1.

**Рівень неврологічного дефіциту у щурів з внутрішньомозковим кроволи-
вом на тлі цукрового діабету 2 типу за умов введення засобів, Me (Q1 –
Q3)**

| № з/п | Група тварин | Дні спостереження/бали mNSS | | | |
|-------|-----------------------------------------------|-----------------------------|----------------|------------|------------|
| | | 1 | 4 | 7 | 10 |
| 1. | Інтактний контроль (n = 8) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| 2. | Патологічний контроль 1 (n = 9) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| 3. | Патологічний контроль 2 (n = 7) | 7 (3,5-7)* | 7 (7-7)* | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| 4. | Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 7) | 3 (0- 6,25) | 2 (0-7) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| 5. | Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 6) | 1 (0-4,25)# | 0 (0-0,75)# | 0 (0-0) | 0 (0-0) |
| 6. | Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 8) | 3,5 (0-7) | 3,5 (0-7) | 0 (0-0) | 0 (0-0) |

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2

Водночас, едаравон достовірно знижував виразність проявів неврологічного дефіциту при гострому ВМК ($p < 0,05$) – у першу добу на 85,7 %, на четверту на 100 % ($p < 0,05$) (табл. 3.1).

Призначення метформіну на перший день після моделювання гострого ВМК призводило до незначного зниження неврологічного дефіциту на 57,1 % ($p = 0,18$), на четвертий – на 71,4 % ($p = 0,09$), демонструючи статистичну тенденцію у порівнянні з показниками групи 3.

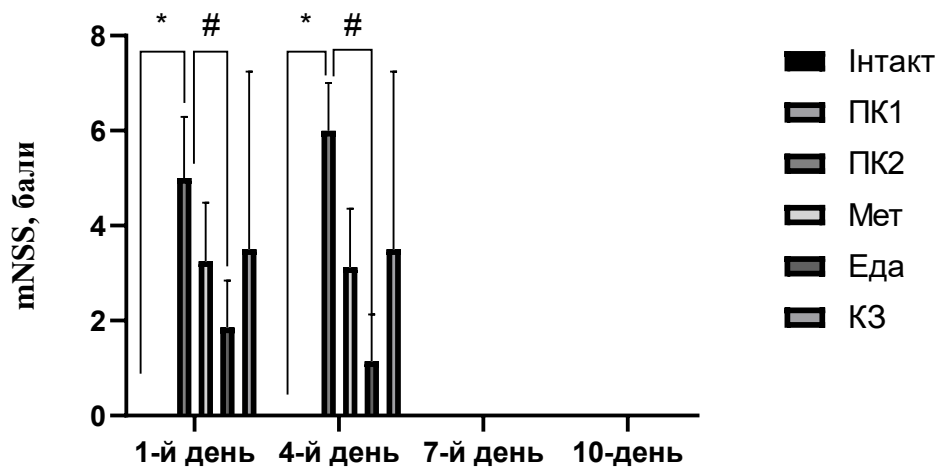


Рис. 3.1. Рівень неврологічного дефіциту у щурів з внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу за умов введення засобів, ($M \pm SD$)

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2;

Найменший ефект на вираженість ознак неврологічного дефіциту чинило призначення комбінованого засобу – було зафіксовано зниження показника неврологічного дефіциту на 42,9 % ($p > 0,05$), як на першу, так і на четверту добу після ВМК.

Наведені результати демонструють, що перебіг цукрового діабету 2 типу не призводить до змін у неврологічному статусі щурів, тоді як для перебігу гострого внутрішньомозкового крововиливку на тлі цукрового діабету 2 типу характерно формування неврологічного дефіциту середньої тяжкості. Найбільш значна нейропротекторна активність була притаманна едаравону, тоді як зміни у неврологічному статусі дослідних тварин, викликані метформіном та комбінованим засобом, не мали статистичної достовірності.

3.2. Вивчення впливу досліджуваних засобів на умовно-рефлекторну активність

Вивчення впливу досліджуваних засобів на умовно-рефлекторну активність проводили в тесті умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) на білих

щурах лінії Вістар. Для визначення впливу досліджуваних препаратів на процеси формування умовно-рефлекторних реакцій, їх попередньо вводили до моменту навчання: метформін протягом 20 діб, едаравон та комбінований засіб протягом 10 діб. Наші дослідження показують, що латентний період (ЛП₁) заходу тварин у темну камеру на етапі вироблення умовної навички, суттєво не відрізнявся у всіх дослідних групах, що вказувало на їх гомогенність та природну схильність щурів до темного простору (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Навчання та збереження навички УРПУ у щурів з ВМК та цукровим діабетом 2 типу за умов використання засобів, Ме (Q1-Q3)

| № з/п | Група тварин | Латентний період, с | |
|-------|--------------------------------------------|---------------------|-------------------------------|
| | | 69 доба | 70 доба |
| 1. | Інтактний контроль (n = 8) | 28,5 (33,5-56) | 180 (180-180) |
| 2. | Патологічний контроль 1 (n = 9) | 18 (4-56) | 110 (55-180)* |
| 3. | Патологічний контроль 2 (n = 7) | 54 (32-90) | 45 (30-180)* |
| 4. | Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 7) | 25 (14-48) | 180 (104,5-180) |
| 5. | Едаравон, 6 мг/кг (n = 6) | 21 (10-63) | 180 (180-180) [#] |
| 6. | Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 8) | 28 (12,75-49,75) | 180 (170,75-180) |

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2;

Встановлено, що у групі інтактних тварин (інтактний контроль) збільшення латентного періоду на 70 добу дослідження (ЛП₂), значно перевищувало вихідні показники і свідчило про ефективне навчання щурів у цій групі, а кіль-

кість тварин з відсутньою навичкою склала 12,5 % (табл. 3.2; табл. 3.3; рис.3.3).

Результати отриманих нами досліджень свідчать, що в групі тварин з експериментальним цукровим діабетом спостерігалось зменшення тривалості ЛП₂ відносно до інтактного контролю на 33,2 % ($p < 0,05$) (табл. 3.2; рис. 3.2.) Однак відсоток щурів без сформованої навички в групі ЦД 2 типу (55,6 %) не характеризувався статистичною достовірністю ($p = 0,36$) (табл. 3.3; рис. 3.3). Наведені факти свідчать про гірший ступінь закріплення умовної навички у цих тварин. Водночас, гострий ВМК призводив до більш виразних порушень когнітивної сфери у щурів з ЦД. Свідченням цього було зменшення ЛП₂ на 52,5 % ($p < 0,05$) відносно до показників інтактного контролю та 28,9 % ($p > 0,05$) – патологічного контролю 1, причому відсоток щурів без сформованого рефлексу у цій групі склав 71,4 % ($p < 0,05$) (табл. 3.2; табл. 3.3; рис. 3.2; рис. 3.3).

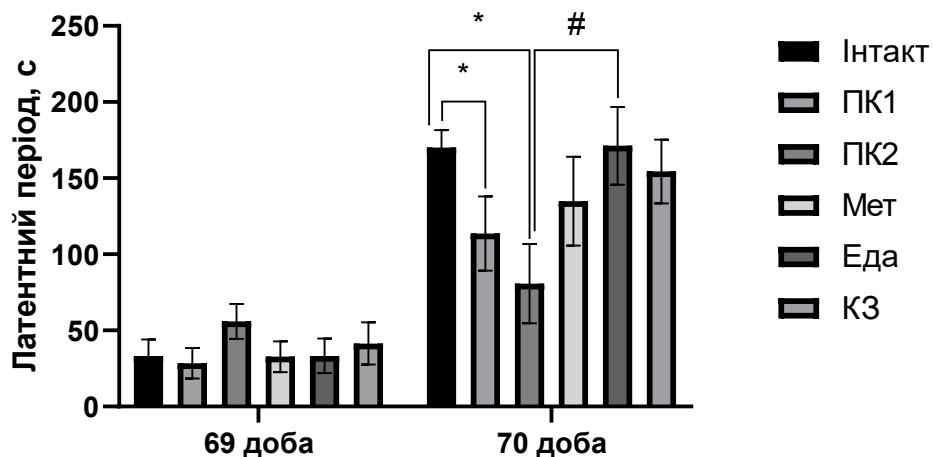


Рис. 3.2. Латентний період (с) заходу в темний відсік на 70 добу дослідження у тесті УРПУ за умов ВМК на тлі ЦД2 у щурів при використанні досліджуваних засобів, ($M \pm SD$)

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2;

Розподіл тварин у тесті УРПУ за умов ВМК на тлі ЦД2 у щурів при використанні досліджуваних засобів

| № п/п | Група тварин | Небезпечний відсік | Стартовий відсік | K_{Aa} , % |
|-------|-----------------------------------------------|--------------------|------------------|--------------|
| 1. | Інтактний контроль (n = 8) | 1 | 7 | |
| 2. | Патологічний контроль 1 (n = 9) | 5 | 4 | |
| 3. | Патологічний контроль 2 (n = 7) | 5 | 2* | |
| 4. | Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 7) | 2 | 5 | 79,03 |
| 5. | Едаравон, 6 мг/кг/день (n = 6) | 1 | 5# | 104,7 |
| 6. | Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 8) | 2 | 6 | 88,11 |

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2;

Курсове застосування досліджуваних препаратів у щурів при ВМК на тлі ЦД 2 типу, сприяло статистично значимому збільшенню часу рефлексу пасивного уникнення через 24 години після формування умовної навички (табл. 3.2).

Визначено, що найбільш виразний вплив чинило курсове введення едаравону, яке було асоційоване із зростанням показника ЛП₂ в 2,1 раза ($p < 0,05$) відносно до групи патологічного контролю 2 (табл. 3.2; рис. 3.2). При чому частка тварин з набутою навичкою була в 2,5 раза ($p < 0,05$) більшою, що свідчило

про наявний ноотропний потенціал цього засобу за даних умов експерименту (табл. 3.3; рис. 3.3). Заразом, препарат мав найвищий коефіцієнт антиамнестичної дії препарату, який склав 104,7 % (табл. 3.3; рис.3.4).

Призначення комбінованого засобу мало менш виразний вплив на показники умовно-рефлекторної діяльності. Так, тривалість латентного періоду у порівнянні із показником групи 3 збільшувалась на 91,3 % ($p = 0,12$), не маючи статистичної достовірності. Показник антиамнестичної активності склав $K_{Аа} = 88,11\%$, а частка тварин без сформованої навички дорівнювала 25 % ($p = 0,07$) та мала чітку тенденцію до показників патологічного контролю 2 (табл.3.2; табл.3.3; рис.3.2; рис.3.3; рис.3.4).

Найменшу ноотропну активність демонструвало попереднє пероральне введення метформіну, яке збільшувало показник латентного періоду на 67,1 % порівняно з групою 3 не маючи статистичної значущості ($p = 0,45$) але демонструвало певну антиамнестичну активність ($K_{Аа} = 79,03\%$) (табл. 3.2.; табл.3.3; рис. 3.2; рис. 3.4).

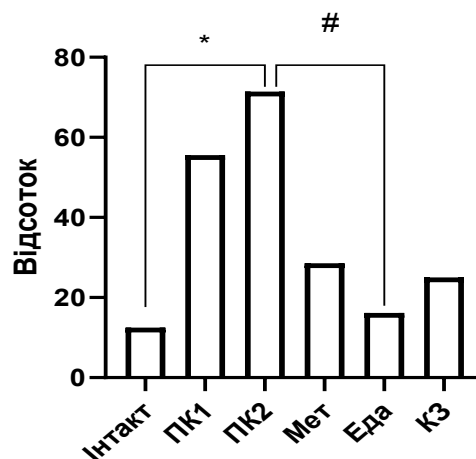


Рис 3.3 Частка тварин з відсутньою умовною навичкою в тесті УРПУ за умов використання дослідних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2.

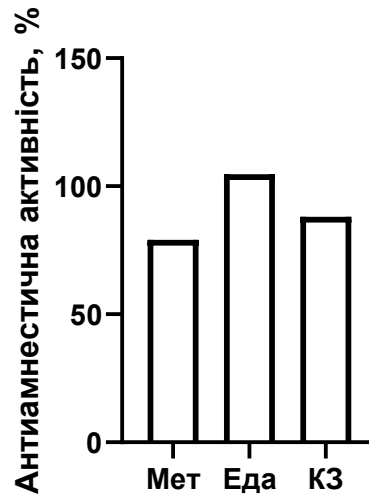


Рис 3.4 Антиамнестична активність (K_{Aa}) досліджуваних засобів у щурів за умов ВМК на тлі ЦД2, (%)

Частка тварин з відсутньою умовною навичкою склала 28,6 % на рівні статистичної тенденції по відношенню до групи патологічного контролю 2 ($p = 0,1$) (табл. 3.3; рис. 3.3).

Отже, експериментальне моделювання внутрішньомозкового крововиливу на тлі цукрового діабету 2 типу призводило до погіршення процесів вироблення умовного рефлексу. Отримані результати свідчать і про те, що едаравон у значній мірі покращує процеси навчання, має найвищі антиамнестичні властивості та його використання призводить до значного збільшення числа тварин із збереженою навичкою. Метформін та комбінований засіб мали менш значний вплив на стан умовно-рефлекторної діяльності.

3.3. Визначення впливу засобів на рухово-дослідницьку та емоційну активність у тесті «відкрите поле»

Дослідженнями орієнтовно-дослідницької у тесті «відкрите поле» визначено, що для тварин групи патологічного контролю 1 показовим було статистично значиме зниження локомоторної активності, яке характеризувалося змінами показника числа перетнутих квадратів на 41,17 % ($p < 0,05$) у порівнянні з групою інтактного контролю. Показники, які характеризують вертикальну і дослідницьку активність, а також емоційний стан тварин, достовірно не відрізня-

лися від аналогічних, зафіксованих у інтактних тварин (табл. 3.4; рис. 3.5 – рис.3.9).

Водночас, моделювання ВМК спричинювало виразне пригнічення усіх показників, що характеризують рухову та дослідницьку активність. Так, у групі патологічного контролю 2, показник локомоторної активності був на 47,2 % ($p < 0,05$) нижчим, ніж у групі інтактного контролю. Заразом, на відміну від тварин групи патологічного контролю 1, спостерігалось і виразне зменшення числа вертикальних підйомів на 60,3 % ($p < 0,05$) у порівнянні з групою інтактних тварин. Слід зазначити, що найбільш значимим показником порушень дослідницької активності при моделюванні ВМК при ЦД стало істотне зниження кількості заглядань в отвори – на 79,8 % ($p < 0,05$) відповідно до значень цього показника у групі інтактного контролю та на 66,5 % ($p < 0,05$) – відносно групи патологічного контролю 1. Разом з цим, в ході експерименту не зафіксовано значних змін показників, що характеризують емоційну та вегетативну складову поведінки дослідних тварин (табл. 3.4; рис. 3.5 – рис. 3.9).

Таким чином, на основі проведених досліджень можна зробити висновок, що моделювання цукрового діабету 2 типу змінює поведінку щурів в тесті «відкрите поле», а моделювання внутрішньомозкового крововиливу на тлі ЦД2 поглиблює дані зміни.

Таблиця 3.4

Дослідження поведінкових реакцій у щурів з ВМК на тлі цукрового діабету 2 типу в тесті “відкрите поле” за умов введення досліджуваних засобів, Ме (Q1-Q3)

| № з/п | Група тварин | Локомоторна активність | Дослідницька активність | | Емоційна та вегетативна складова | |
|-------|--------------------------------------------|------------------------|-------------------------|---------------------|----------------------------------|-----------------------|
| | | Перетнуті квадрати | Вертикальні підйоми | Заглядання в отвори | Грумінг | Дефекації та уринації |
| 1. | 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) |
| 2. | Патологічний контроль 1 (n = 9) | 10 (6-15)* | 3 (2-5) | 3 (1-4) | 0 (0-10) | 3 (1-4) |
| 3. | Патологічний контроль 2 (n = 7) | 12 (7-18)* | 3 (2-3)* | 0 (0-2)* | 0 (0-4) | 3 (0-5) |
| 4. | Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 7) | 15 (11-19) | 3 (2-3) | 3 (1-4)# | 0 (0-0) | 5 (3-6) |
| 5. | Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 6) | 19,5 (15-22)# | 8 (6-14)# | 1,5 (1-3) | 0 (0-0) | 4 (3-4) |
| 6. | Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 8) | 19,5 (15-26)# | 4 (2-6) | 2,5 (1-4)# | 0 (0-1,5) | 4 (2-5) |

Примітки: * – $p < 0,05$ – статистичні відмінності по відношенню до відповідного показника інтактного контролю;

– $p < 0,05$ – статистичні відмінності по відношенню до показників групи патологічного контролю 2

Ефекти метформіну характеризувались ізольованим зростанням показника дослідницької діяльності у 3,5 раза у порівнянні з групою патологічного контролю 2, без впливу на показники рухової активності (табл.3.4; рис.3.5 – рис.3.7).

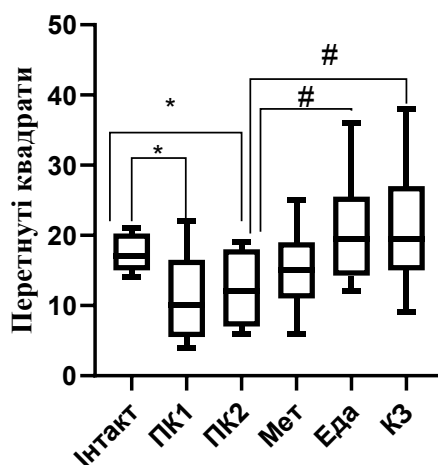


Рис. 3.5 Характеристика змін показників локомоторної активності (*перетнуті квадрати*) у щурів з ВМК на тлі цукрового діабету 2 типу за умов експериментальної фармакотерапії, Ме (Q1-Q3)

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2;

Характерно, що за умов експериментальної терапії едаравоном притаманним було достовірне збільшення показників як горизонтальної, так і вертикальної рухової активності в 1,98 ($p < 0,05$) та 3,76 ($p < 0,05$) раза відносно до групи патологічного контролю 2 відповідно, а також відсутність статистично значимих змін основного показника дослідницької активності – числа заглядань в отвори платформи, який зростав в 2,7 раза ($p > 0,05$) (табл.3.4; рис.3.5-рис.3.7).

На фоні введення комбінованого засобу спостерігалось достовірне зростання показників локомоторно-дослідницької активності (у 2,9 раза кількість заглядань у нірки та у 1,7 раза – перетнутих квадратів) ($p < 0,05$) (табл. 3.4; рис.3.5; рис.3.7).

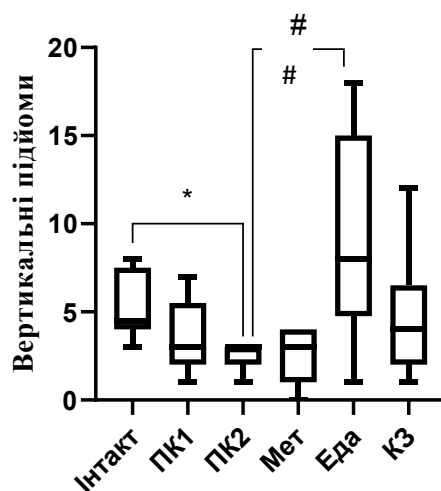


Рис. 3.6 Зміни показників вертикальної рухової активності у щурів з ВМК на тлі цукрового діабету 2 типу за умов експериментальної фармакотерапії, Ме (Q1-Q3)

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2;

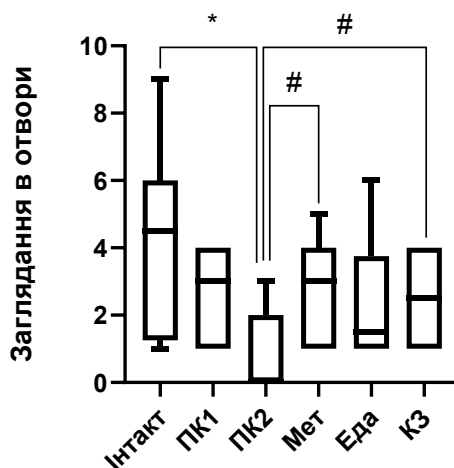


Рис. 3.7 Зміни показників дослідницької активності у щурів з ВМК на тлі цукрового діабету 2 типу за умов експериментальної фармакотерапії, Ме (Q1-Q3)

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2;

Жодний з досліджуваних засобів не призводив до значних змін показників, що характеризують емоційну та вегетативну складову поведінки дослідних тварин (табл.3.4; рис.3.8; рис 3.9).

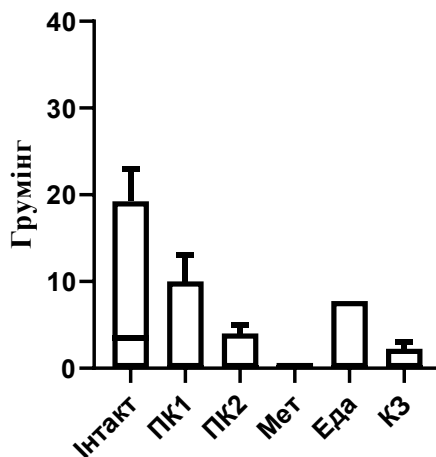


Рис. 3.8 Зміни показників емоційного стану (*грумінг*) у щурів у щурів з ВМК на тлі цукрового діабету 2 типу за умов експериментальної фармакотерапії Ме, (Q1-Q3)

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2;

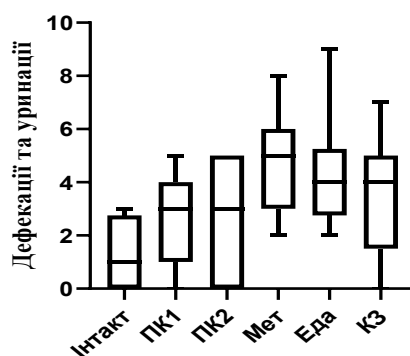


Рис. 3.9 Зміни показників емоційного стану (*болюси*) у щурів у щурів з ВМК на тлі цукрового діабету 2 типу за умов експериментальної фармакотерапії, Ме (Q1-Q3)

Примітки:

* – $p < 0,05$ – відносно до пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – відносно до показників зафіксованих у групі патологічного контролю 2;

Отже, досліджені нами засоби порізному впливають на поведінкову активність тварин. Едаравон більшою мірою був спроможний підвищувати локомоторну активність, водночас не маючи достовірного впливу на показники дослідницької діяльності. У свою чергу, використання метформіну насамперед покращувало дослідницьку діяльність без істотного впливу на рухово-дослідницьку активність. Слід зазначити, що введення комбінованого засобу суттєво змінювало як окремі показники локомоторної діяльності, так і показники дослідницької активності.

Висновки розділу:

1. Перебіг експериментального цукрового діабету 2 типу не спричинює неврологічного дефіциту, проте призводить до порушень умовно-рефлекторної активності, які можуть відображатися помірними когнітивними розладами.
2. Гострий внутрішньомозковий крововилив на тлі перебігу цукрового діабету 2 типу у щурів призводить до появи виразного неврологічного дефіциту протягом перших чотирьох днів, а також посилення виразності порушень процесів навчання, рухової та дослідної активності.
3. Раннє курсове, протягом 10 днів, внутрішньочеревинне введення Едаравону, запобігає розвитку неврологічного дефіциту, порушень пам'яті і поведінки у щурів, спричинених гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету.
4. На відміну від едаравону, метформін та комбінований засіб чинять менш виразний вплив на показники локомоторно-дослідницької активності в тестах «відкрите поле», значно не впливають на неврологічний дефіцит та тривалість латентного періоду в тесті УРПУ за умов гострого ВМК на тлі ЦД 2 типу.

Матеріали даного розділу відображені в наступних публікаціях:

1. Holubiev, V. L., Oberemok, M. H., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Yu. V., Bondarenko, O. O., Lievykh, A. E., Zhyliuk, V. I. (2024). Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by

intracerebral hemorrhage. *Medicni Perspektivi*, 29(2), 174–186.
<https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690>

2. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І. (2024). Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 18(4), 263–272. <https://doi.org/10.33250/18.04.263>

3. Голубєв, В. Л., Левих, А. Е., Оберемок, М. Г., Бондаренко, О. О., Шевцова, А. І., Жилюк, В. І. (2024). Дослідження нейропротекторних властивостей метформіну у щурів з цукровим діабетом 2 типу та спонтанним внутрішньомозковим крововиливом. *Сучасні досягнення експериментальної, клінічної, екологічної біохімії та молекулярної біології: Збірник публікацій I Міжнародної науково-практичної online конференції, присвяченої 85-річчю кафедри біохімії* (с. 546–548). Харків: НФаУ.

4. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І. (2024). Дослідження впливу едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету. *Актуальні питання фармакології та лікарської токсикології: Матеріали науково-практичної конференції молодих учених із міжнародною участю, Фармакологія та лікарська токсикологія*, 18(3), 212–213.

5. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І., Левих, А. Е. (2024). Дослідження впливу комбінованого засобу, що містить бурштинову кислоту та інозин, на показники поведінки та рівень маркерів запалення у мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Експериментальна та клінічна фармакологія: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю кафедри фармакології НФаУ (23–24 жовтня 2024 р.)* (с. 19–22). Харків: НФаУ.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ВПЛИВУ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗАСОБІВ НА ГЛІКЕМІЧНИЙ СТАТУС, АКТИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ВІЛЬНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕННЯ ТА РЕАКЦІЇ ГЛІКОЛІЗУ В НЕОКОРТЕКСІ ЩУРІВ З ВНУТРІШНЬОМОЗКОВИМ КРОВОВИЛИВОМ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Основною характеристикою цукрового діабету 2 типу є порушення секреції інсуліну та інсулінорезистентність, які призводить до порушення метаболізму глюкози та до підвищення її рівня в крові [132, 319]. Гіперглікемія може викликати оксидативний стрес через такі механізми, як автооксидація глюкози, активація поліолового шляху та утворення кінцевих продуктів глікування [70, 139]. Це призводить до збільшення утворення активних форм кисню, які можуть пошкоджувати компоненти клітин та порушувати фізіологічний гомеостаз [121]. Відомо, що наявність цукрового діабету здатна посилювати явища оксидативно-го/нітрозативного стресу при розвитку внутрішньомозкового крововиливу [38]. Крім цього, внутрішньомозковий крововилив асоціюється зі значними метаболічними порушеннями в головному мозку за рахунок анаеробного метаболізму глюкози та накопичення лактату в уражених ділянках [234].

Даний розділ присвячений оцінці впливу досліджуваних засобів на глікемічний статус, інтенсивність реакцій вільнорадикального окиснення та ефективність утилізації глюкози у щурів з гострим ВМК за умов перебігу ЦД 2 типу.

4.1 Вплив досліджуваних засобів на глікемічний статус щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу

Дослідження рівня глюкози в крові показало, що розвиток експериментального цукрового діабету 2 типу у щурів призводив до значного підвищення базальної глікемії. Також встановлено, що перебіг супутнього внутрішньомозкового крововиливу не впливав на її вираженість (табл. 4.1). Крім того, результати перорального глюкозотолерантного тесту свідчать про достовірні зміни площі під

кривою концентрації глюкози крові в усіх дослідних групах порівняно з інтактними тваринами.

Таблиця 4.1

Вплив досліджуваних засобів на гомеостаз глюкози у щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу (M ± SD)

| Група тварин | Глюкоза, ммоль/л | Глікований гемоглобін, мкмоль фруктози/г гемоглобіну | Площа під кривою, хв×ммоль/л |
|--------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Інтактний контроль (n = 8) | 5,25 ± 1,282 | 1,31 ± 0,317 | 754,7 ± 212,21 |
| Патологічний контроль 1 (n = 9) | 6,92 ± 1,761* | 1,80 ± 0,324* | 1193,2 ± 304,75** |
| Патологічний контроль 2 (n = 7) | 6,59 ± 0,353* | 2,02 ± 0,356** | 1323,0 ± 206,91** |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 7) | 5,09 ± 1,267 ^{&#} | 1,43 ± 0,223 ^{&##} | 1006,29 ± 227,973 ^{*#} |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 6) | 6,90 ± 1,401 | 1,65 ± 0,227 [#] | 1124,8 ± 222,57** |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 8) | 6,37 ± 2,801 | 1,62 ± 0,248 [#] | 1102 ± 280,263* |

Примітки:

* – p < 0,05; ** – p < 0,01 – по відношенню до інтактного контролю

& – p < 0,05 – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

– p < 0,05; ## – p < 0,01 – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Згідно з отриманими даними, перебіг ЦД2 (патологічний контроль 1) призводив до розвитку толерантності до глюкози, про що свідчило зростання ППК

глікемії на 58,1 % ($p < 0,01$). Водночас моделювання ВМК (патологічний контроль 2) не підвищувало рівень толерантності до глюкози в цьому тесті, а ППК була вищою на 75,3 % ($p < 0,01$) порівняно з групою інтактних тварин, але достовірних змін між групами 2 і 3 не спостерігалось.

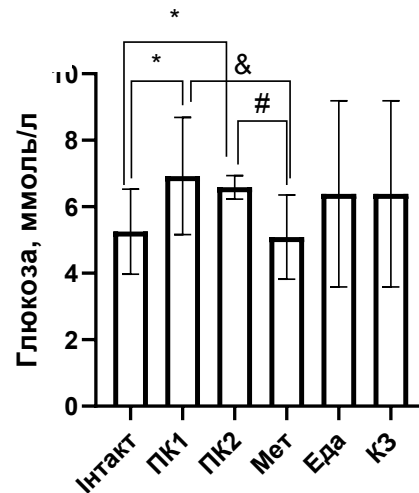


Рис. 4.1. Вміст глюкози в крові щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

& – $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

– $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Застосування метформіну призводило до зниження рівню глюкози на 26,45 % ($p < 0,05$) та 22,76 % ($p < 0,05$) у порівнянні з групами патологічного контролю 1 та патологічного контролю 2 відповідно. Також було відмічено вплив препарату на ППК концентрації глюкози, яка зменшувалася на 23,94 % ($p < 0,05$) порівняно з групою 3. Слід зазначити, що едаравон та комбінований засіб не мали значного гіпоглікемічного ефекту (табл. 4.1., рис. 4.1 – 4.2)

У щурів групи патологічного контролю 1 рівень глікованого гемоглобіну був підвищений на 37,4 % ($p < 0,05$) порівняно з тваринами першої групи на 69-й

день експерименту. Крім того, цей маркер був вищим на 54,2 % ($p < 0,01$) у щурів з ЦД2 та ВМК (група 3) порівняно з групою 1 (табл. 4.1, рис. 4.3).

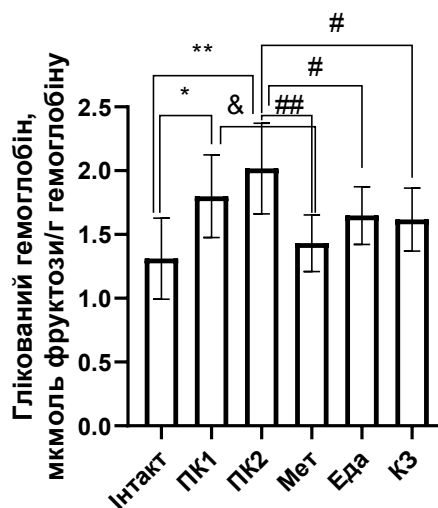


Рис. 4.2. Вміст глікованого гемоглобіну в крові щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – по відношенню до інтактного контролю

& – $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

– $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Всі досліджувані засоби проявляли здатність до зниження концентрації глікованого гемоглобіну, з яких найвиразнішою була дія метформіну, що знижував рівень маркеру на 20,56 % ($p < 0,05$) та 29,21 % ($p < 0,01$) відносно груп 2 і 3 відповідно. Едаравон незначно знижував рівень глікованого гемоглобіну на 18,3 % ($p < 0,05$) порівняно з групою 3 (табл. 4.1, рис. 4.3). Комбінований засіб показав співставні результати, знижуючи показник глікованого гемоглобіну на 19,80 % ($p < 0,05$) у порівнянні з групою патологічного контролю 2.

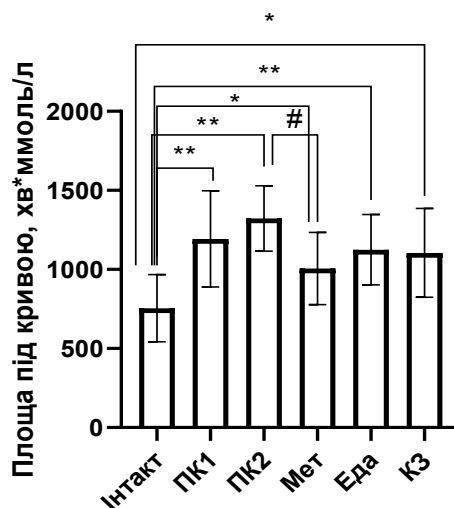


Рис. 4.3. Площа під кривою концентрації глюкози в крові щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – по відношенню до інтактного контролю

– $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Таким чином, моделювання ЦД2 призводить до розвитку стійкої гіперглікемії, толерантності до глюкози та підвищення рівня глікованого гемоглобіну. Водночас перебіг супутнього ВМК незначно впливає на ці показники. Всі досліджені засоби мають помірну ефективність у корекції рівню глікованого гемоглобіну, тоді як гіпоглікемічна активність була притаманна виключно метформіну.

4.2 Вплив досліджуваних засобів на стан процесів вільнорадикального окислення в неокортексі щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу

Антиоксидантні властивості досліджуваних засобів оцінювали шляхом визначення у супернатантах гомогенатів кори головного мозку щурів вмісту кінцевих продуктів глікування (КПГ), кінцевих продуктів окислення протеїнів (КПОП) та 8-гідрокси-2'-дезоксигуанозину (8-ОНдГ).

Результати проведених досліджень свідчать, що моделювання ЦД 2 типу суттєво не впливало на рівень КПГ у гомогенатах кори головного мозку. Однак у групі патологічного контролю 2 рівень цього маркера зростав на 18,5 % ($p < 0,05$) у порівнянні з групою інтактного контролю, що свідчило про зростання інтенсивності глікування протеїнів при розвитку внутрішньомозкового крововиливу на тлі цукрового діабету у корі головного мозку дослідних тварин та можливе посилення явищ оксидативного стресу (табл. 4.2; рис. 4.4).

Таблиця 4.2

Вміст КПГ в неокортексі щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

| Група тварин | КПГ, у.о./мг протеїну |
|--------------------------------------------|-----------------------|
| Інтактний контроль (n = 6) | 24,88 \pm 2,59 |
| Патологічний контроль 1 (n = 7) | 29,25 \pm 4,74 |
| Патологічний контроль 2 (n = 6) | 28,93 \pm 2,29* |
| Метформін, 250 мг/кг/день (n = 8) | 20,49 \pm 2,09### |
| Едаравон, 6 мг/кг/день (n = 6) | 22,94 \pm 2,66## |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 6) | 40,35 \pm 6,85## |

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

– $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Курсове, протягом 20 діб, внутрішньошлункове введення метформіну сприяло зниженню рівню КПГ в гомогенатах кори головного мозку щурів з ЦД 2 типу та гострим ВМК на 29,1 % ($p < 0,001$) у порівнянні із групою патологічного контролю 2 (табл. 4.2; рис. 4.4).

Курсове використання едаравону протягом 10 діб мало дещо менший ефект на рівень кінцевих продуктів глікування, достовірно знижуючи рівень цього мар-

керу на 20,7 % ($p < 0,01$) відносно групи тварин з ЦД 2 типу та ВМК (табл. 4.2; рис. 4.4).

Вплив комбінованого засобу на рівень КППГ в гомогенатах кори головного мозку дослідних тварин відрізнявся від впливу вищеописаних засобів: курсове введення препарату призводило до значного підвищення рівню КППГ на 39,49 % ($p < 0,01$) порівняно з показниками групи 3 (табл. 4.2; рис. 4.4). Це може свідчити про несприятливий вплив засобу на процеси окисної модифікації протеїнів, що сприяє посиленню оксидативних ушкоджень.

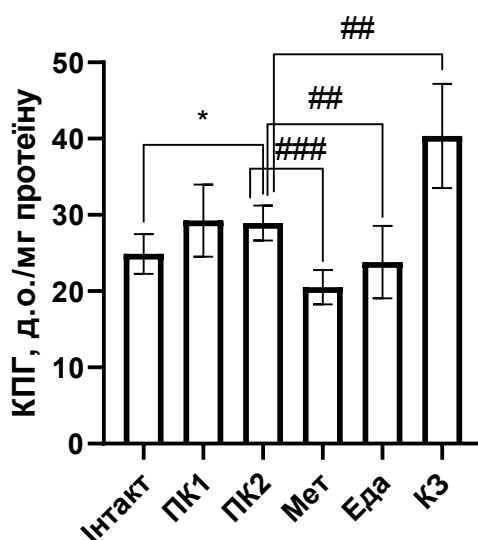


Рис. 4.4. Вміст КППГ в неокортексі щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

– $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$; – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Відтворення експериментального еквіваленту ЦД 2 типу сприяло збільшенню рівню КПОП на 20,3 % ($p = 0,07$) на рівні статистичної тенденції порівняно із групою інтактних тварин. У щурів з коморбідною патологією спостерігалось достовірне підвищення рівня КПОП на 53,1 % ($p < 0,001$) порівняно з групою інтактного контролю та на 27,2 % ($p < 0,01$) порівняно з групою патологічного контро-

лю 1, що свідчить про інтенсифікацію оксидативного стресу внаслідок геморагічного ураження головного мозку (табл. 4.3; рис. 4.5).

Курсове (протягом 20 діб) внутрішньошлункове введення метформіну сприяло пригніченню активності реакцій вільнорадикального окислення в корі великих півкуль, знижуючи вміст КПОП на 24,9 % ($p < 0,01$) у порівнянні з групою патологічного контролю 2 (табл. 4.3; рис. 4.5).

За умов використання едаравону рівень КПОП у гомогенатах головного мозку щурів після 10-денного застосування знижувався на 28,3 % ($p < 0,01$) по відношенню до групи тварин з ЦД2 та ВМК (табл. 4.3; рис. 4.5).

Таблиця 4.3

Вміст КПОП в неокортексі щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

| Група тварин | КПОП, мкмоль/мг протеїну |
|--------------------------------------------|---------------------------------------|
| Інтактний контроль (n = 5) | 5,22 ± 0,61 |
| Патологічний контроль 1 (n = 6) | 6,29 ± 1,07 |
| Патологічний контроль 2 (n = 6) | 7,998 ± 0,53 ^{***&&} |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 5) | 6,02 ± 0,82 ^{##} |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 5) | 5,73 ± 0,79 ^{##} |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 3) | 8,88 ± 4,27 ^{##} |

Примітки:

*** – $p < 0,001$ – по відношенню до інтактного контролю

&& – $p < 0,01$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

– $p < 0,01$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Введення комбінованого засобу супроводжувалося підвищенням рівню КПОП на 11,07 % відносно третьої групи ($p < 0,01$). Отриманий результат може свідчити про несприятливий вплив препарату на оксидативний статус в корі великих півкуль головного мозку дослідних тварин (табл. 4.3; рис. 4.5).

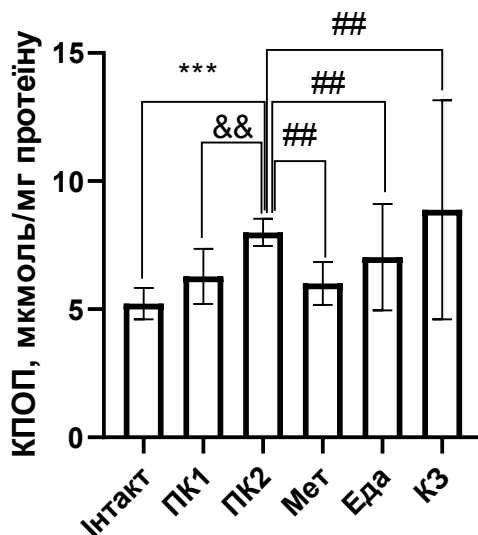


Рис. 4.5 Вміст КПОП в неокортексі щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

*** – $p < 0,001$ – по відношенню до інтактного контролю

&& – $p < 0,01$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

– $p < 0,01$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Згідно з отриманими результатам, формування цукрового діабету 2 типу у щурів, супроводжувалося значною активацією процесів окиснення ДНК в клітинах головного мозку. Свідченням цього процесу було динамічне зростання рівню 8-ОНдГ на 48,6 % ($p < 0,05$) в групі патологічного контролю 1 по відношенню до групи інтактних тварин. Зазначені процеси мали ще більшу інтенсивність в групі 3 - рівень 8-ОНдГ перевищував показники групи інтактного контролю на 90,9 % ($p < 0,05$) (табл. 4.4; рис. 4.6).

За умов проведення експериментальної терапії були отримані такі результати впливу лікарських засобів на процеси окиснення ДНК в нейронах неокортексу.

Найбільш значні зміни концентрації 8-ОНдГ спостерігалось на тлі курсового внутрішньошлункового введення метформіну – рівень маркеру достовірно

знижувався на 29,3 % ($p < 0,05$) у порівнянні із показниками групи патологічного контролю 2.

Курсове призначення едаравону характеризувалося дещо меншим впливом на рівень 8-ОНдГ, достовірно знижуючи його на 23,3 % ($p < 0,05$) порівняно з групою 3 (рис. 4.6).

Таблиця 4.4

Вміст 8-ОНдГ в неокортексі щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

| Група тварин | 8-ОНдГ, нг/мл |
|--------------------------------------------|---------------|
| Інтактний контроль (n = 6) | 14,22 ± 4,35 |
| Патологічний контроль 1 (n = 9) | 21,13 ± 4,32* |
| Патологічний контроль 2 (n = 6) | 27,15 ± 4,81* |
| Метформін, 250 мг/кг/день (n = 6) | 19,21 ± 5,07# |
| Едаравон, 6 мг/кг/день (n = 6) | 20,81 ± 3,86# |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 6) | 23,16 ± 6,01 |

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

– $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Найменш визначні результати продемонструвало курсове введення комбінованого засобу – зниження вмісту 8-ОНдГ становило лише 16,57 % у порівнянні із групою тварин з ЦД2 та ВМК і не мало статистичної достовірності ($p = 0,18$) (табл. 4.4; рис. 4.6).

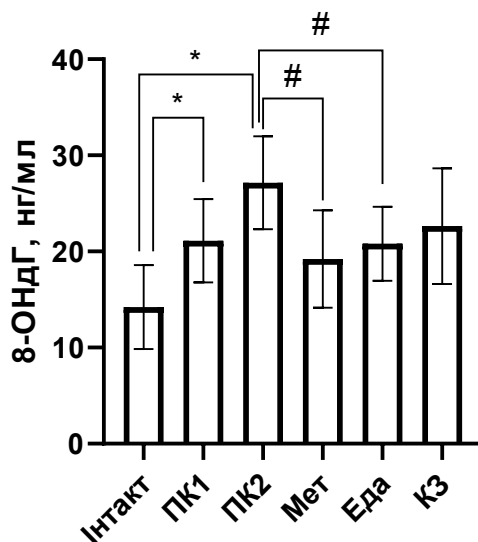


Рис. 4.6 Вміст 8-ОНдГ в неокортексі щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

– $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Отже, експериментальне відтворення цукрового діабету 2 типу сприяло посиленню оксидативного стресу та активації процесів глікування, окиснення протеїнів і ДНК у корі головного мозку щурів. Ці процеси достовірно інтенсифікувалися при моделюванні гострого ВМК. Курсове введення метформіну протягом 20 діб виявило найбільшу антиоксидантну ефективність серед досліджуваних засобів, тоді як курсове призначення едаравону продемонструвало дещо менший антиоксидантний потенціал. Використання комбінованого засобу, натомість, продемонструвало несприятливі ефекти, зумовлюючи підвищення рівнів КПГ та КПОП і лише незначне зниження рівня 8-ОНдГ.

4.3 Визначення впливу досліджуваних засобів на стан реакцій гліколізу неокортексі щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу

Основним енергетичним субстратом головного мозку є глюкоза, оскільки на відміну від інших тканин, мозок не здатний забезпечувати енергетичні потреби за рахунок окислення жирних кислот [59, 246]. У зв'язку із високими енергетичними потребами мозку, виникає необхідність у безперервному надходженні енергії у вигляді АТФ, більша частина якого виробляється з глюкози шляхом окисного фосфорилування в мітохондріях, що доповнюється аеробним гліколізом у цитоплазмі [93]. Піруватдегідрогеназний комплекс відіграє ключову роль у метаболізмі пірувату в мітохондріях мозку і регулюється співвідношенням АТФ/АДФ, НАД⁺/НАДН та ацетил-КоА/КоА [150, 189]. За умов гіпоксії процес окислювального фосфорилування порушується, а енергетичні процеси мозку задовольняються за рахунок перетворення пірувату на лактат в цитоплазмі клітин – процес, який називається анаеробним гліколізом. Цей процес є значно менш ефективним у порівнянні з окислювальним фосфорилуванням та може призводити до розвитку лактат-ацидозу [151, 247].

Встановлено, що відтворення експериментального еквіваленту цукрового діабету 2 типу не мало значного впливу на рівень лактату в гомогенатах головного мозку щурів ($p = 0,28$). Водночас, моделювання гострого внутрішньомозкового крововиливу на тлі цукрового діабету 2 типу призводить до активації анаеробного шляху метаболізму глюкози – гліколізу (табл. 4.5; рис. 4.7), про що свідчило статистично значиме накопичення лактату. Так, в головному мозку щурів групи 3 рівень лактату був вищим як у порівнянні з групою 1 на 51 % ($p < 0,05$), так і з групою 2 на 31 % ($p < 0,01$) (табл 4.5; рис. 4.7).

Нашими дослідженнями встановлено, що використання досліджуваних засобів не чинило достовірного впливу на процеси окиснення глюкози та явища лактат-ацидозу у головному мозку тварин з ЦД2 типу та ВМК (табл. 4.5; рис. 4.7).

Відповідно до отриманих результатів, найбільшу активність по відношенню до вмісту молочної кислоти у гомогенатах мозку продемонстрував комбінований

засіб, який сприяв зниженню концентрації лактату на 14,68 % ($p = 0,07$) на рівні статистичної тенденції (табл. 4.5; рис. 4.7). Курсове введення метформіну мало менш виражені ефекти, знижуючи рівень лактату на 8,21 % ($p = 0,17$) (табл. 4.5; рис. 4.7). Найменш значними були результати, зафіксовані при курсовому застосуванні едаравону – зниження рівню лактату склало 4,58 % ($p = 0,7$) (табл. 4.5; рис. 4.7).

Таблиця 4.5

Вміст лактату в неокортексі щурів в умовах використання експериментальних засобів, $M \pm SD$

| Група тварин | Лактат, ммоль/л |
|--------------------------------------------|---------------------|
| Пасивний контроль (n = 6) | 0,72 ± 0,2 |
| Патологічний контроль 1 (n = 6) | 0,83 ± 0,12 |
| Патологічний контроль 2 (n = 6) | 1,09 ± 0,13* $\&\&$ |
| Метформін, 250 мг/кг/день (n = 7) | 1,005 ± 0,06 |
| Едаравон, 6 мг/кг/день (n = 4) | 1,04 ± 0,24 |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/день (n = 5) | 0,93 ± 0,14 |

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

$\&\&$ – $p < 0,01$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

Таким чином, проведеними дослідженнями було встановлено, що відтворення експериментального еквіваленту цукрового діабету 2 типу (ЦД2) не мало достовірного впливу на рівень лактату в гомогенатах головного мозку щурів. Натомість, моделювання гострого ВМК на тлі ЦД2 призводило до активації анаеробного гліколізу, що проявлялося статистично значимим накопиченням лактату по відношенню як до контрольної групи так і до групи патологічного контролю 2.

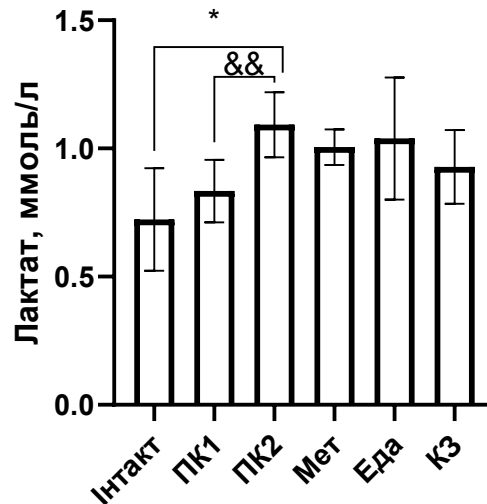


Рис. 4.7 Вміст лактату в неокортексі щурів в умовах використання експериментальних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

&& – $p < 0,01$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

Застосування досліджуваних засобів не продемонструвало достовірного впливу на процеси окиснення глюкози та розвиток лактат-ацидозу у мозковій тканині щурів з ЦД2 і ВМК. Проте серед цих препаратів комбінований засіб виявив найбільшу активність, сприяючи зниженню концентрації лактату на рівні статистичної тенденції. Таким чином, результати вказують на потенційну ефективність комбінованого засобу у корекції порушень метаболізму глюкози за умов ЦД2 та ВМК.

Висновки розділу:

1. Встановлено, що моделювання цукрового діабету 2 типу призводило до значного підвищення рівня глікемії, толерантності до глюкози та глікованого гемоглобіну. Перебіг внутрішньомозкового крововиливу на тлі ЦД2 посилював ці зміни. Всі досліджені засоби мали помірну ефективність у коре-

кції вмісту глікованого гемоглобіну, тоді як гіпоглікемічна активність була притаманна виключно метформіну.

2. При цукровому діабеті 2 типу та внутрішньомозковому крововиливі спостерігалось посилення оксидативного стресу, що проявлялось зростанням кінцевих продуктів глікування, окиснення протеїнів та пошкодженням ДНК. Метформін продемонстрував найвираженіший антиоксидантний ефект, едаравон мав помірний вплив, тоді як комбінований засіб виявився найменш ефективним і навпаки сприяв накопиченню продуктів окиснення.
3. Перебіг цукрового діабету 2 типу значно не впливав на процеси утилізації глюкози у головному мозку, однак індукція гострого внутрішньомозкового крововиливу призводила до активації анаеробного гліколізу з накопиченням лактату. Досліджені засоби не мали значного впливу на рівень цього метаболіту.

Матеріали даного розділу відображені в наступних публікаціях:

1. Holubiev, V. L., Oberemok, M. H., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Yu. V., Bondarenko, O. O., Lievykh, A. E., Zhyliuk, V. I. (2024). Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage. *Medicni Perspektivi*, 29(2), 174–186. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690>
2. Holubiev, V. L., Lievykh, A. E., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Yu. V., Zhyliuk, V. I. (2024). Edaravone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 96(6), 56–65. <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056>
3. Голубєв, В. Л., Левих, А. Е., Оберемок, М. Г., Бондаренко, О. О., Шевцова, А. І., & Жилюк, В. І. (2024). Дослідження нейропротекторних властивостей метформіну у щурів з цукровим діабетом 2 типу та спонтанним внутрішньомозковим крововиливом. *Сучасні досягнення експериментальної, клінічної, екологічної*

біохімії та молекулярної біології: Збірник публікацій I Міжнародної науково-практичної online конференції, присвяченої 85-річчю кафедри біохімії (с. 546–548). Харків: НФаУ.

4. Holubiev, V., Zhyliuk, V., Lievykh, A., Kharchenko, Y., Tkachenko, V. (2024). Effects of edaravone on oxidative stress in neocortex after acute intracerebral hemorrhage in rats with type 2 diabetes mellitus. *Neuroscience Applied*, 3, 626–627. <https://doi.org/10.1016/j.nsa.2024.105310>

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ВПЛИВУ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗАСОБІВ НА ІНТЕНСИВНІСТЬ НЕЙРОЗАПАЛЕННЯ, РІВЕНЬ НЕЙРОСПЕЦИФІЧНИХ БІЛКІВ ТА ВИРАЖЕНІСТЬ НАБРЯКУ МОЗКУ У НЕОКОРТЕКСІ ЩУРІВ З ВНУТРІШНЬОМОЗКОВИМ КРОВОВИЛИВОМ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Нейрозапалення є одним з ключових патогенетичних механізмів вторинного ураження при ВМК, який може інтенсифікуватися при наявності супутнього цукрового діабету [38, 185, 346]. Одним з наслідків нейрозапалення є набряк мозку, розвиток якого може бути пов'язаний зі зростанням експресії аквапорину [128]. Отже, цілком імовірно що аквапорини можуть бути ефективними мішенями для лікарських засобів у боротьбі з набряком головного мозку, особливо за умов коморбідної патології.

Нейроспецифічні білки мають вирішальне значення для функціонування нервової системи і слугують маркерами для нервових клітин і процесів. Ці білки переважно експресуються в нервовій тканині і беруть участь у специфічних функціях, таких як нейротрансмісія та мієлінізація [57]. Нейроспецифічні білки також можуть слугувати біохімічними індикаторами нейротоксичності, допомагаючи у виявленні та характеристиці нейрональних ушкоджень [267]. Вивчення нейроспецифічних білків дає цінну інформацію про функцію та патологію нервової системи. Таким чином, вивчення експресії цих маркерів в умовах патології та терапевтичного втручання може пролити світло на механізми нейродегенерації, нейрорегенерації та адаптивних змін у нервовій системі, а також сприяти розробці нових терапевтичних стратегій для лікування неврологічних розладів.

Даний розділ присвячений оцінці впливу досліджуваних засобів на вираженість нейрозапалення, рівень нейроспецифічних білків та експресію аквапорину-1 у щурів з гострим ВМК за умов перебігу ЦД 2 типу.

5.1 Вплив досліджуваних засобів на перебіг процесів нейрозапалення у неокортексі щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу

Встановлено, що перебіг ізольованого цукрового діабету 2 типу призводив до підвищення рівня ФНП- α у гомогенатах головного мозку на 38,6 % ($p < 0,05$) порівняно з інтактним контролем. Це свідчить про значну активацію процесів нейрозапалення при цьому захворюванні, що може бути пов'язано з метаболічними порушеннями, характерними для даної патології (табл. 5.1; рис. 5.1).

Таблиця 5.1

Рівень ФНП- α в неокортексі щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

| Група тварин | ФНП- α , пг/мг протеїну |
|--------------------------------------------|--------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 6) | 18,83 \pm 4,98 |
| Патологічний контроль 1 (n = 8) | 26,09 \pm 6,81* |
| Патологічний контроль 2 (n = 6) | 41,69 \pm 11,13**& |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 6) | 28,79 \pm 5,58# |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 6) | 23,52 \pm 7,53# |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 6) | 27,75 \pm 7,22# |

Примітки:

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – по відношенню до інтактного контролю

& – $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

– $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Перебіг цукрового діабету 2 типу, ускладнений гострим внутрішньомозковим крововиливом, характеризувався ще більш вираженим підвищенням рівня ФНП- α – на 121,3 % ($p < 0,01$) у порівнянні з інтактною контрольною групою та на 59,8 % ($p < 0,05$) порівняно з групою патологічного контролю 1, що підкреслює додатковий вплив гострого нейрозапального процесу на показники цитокінового профілю, що підкреслює значну активацію запального процесу на тлі гострого ВМК (табл. 5.1; рис. 5.1).

Усі досліджувані засоби демонстрували певний ступінь здатності до зниження рівня ФНП- α , що є важливим показником їхньої протизапальної активності.

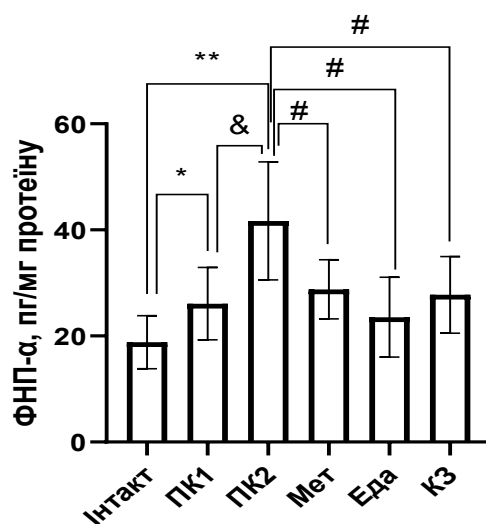


Рис. 5.1 Рівень ФНП- α в неокортексі шурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – по відношенню до інтактного контролю

& – $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

– $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Найбільш ефективним серед них виявився едаравон, який сприяв зниженню рівня ФНП- α на 46,3 % ($p < 0,05$) порівняно з групою 3 (табл. 5.1; рис. 5.1). Це свідчить про виражену нейропротекторну дію едаравону, що, імовірно, пов'язано з його антиоксидантними властивостями та здатністю інгібувати утворення активних форм кисню. Лікування комбінованим засобом забезпечило результат проміжної ефективності. Воно достовірно знижувало рівень ФНП- α на 33,3 % ($p < 0,05$), що свідчить про синергетичний ефект активних компонентів препарату. Курсове призначення метформіну, який широко застосовується для корекції гіперглікемії, мало найменший вплив серед досліджуваних засобів. Тим не менш, навіть воно достовірно знижувало рівень ФНП- α на 30,9 % ($p < 0,05$), що свідчить про його певну протизапальну дію.

Необхідно відмітити, що між показниками ФНП- α та кількістю заглядань у нирки виявлено статистично значущий, середньої сили зворотній зв'язок ($n = 22$; коефіцієнт кореляції Пірсона $r = -0,52$; $p < 0,05$).

Отже, перебіг ізольованого цукрового діабету 2 типу супроводжувався помірним підвищенням рівня ФНП- α у гомогенатах головного мозку, тоді як його ускладнення гострим внутрішньомозковим крововиливом викликало значно вираженішу активацію запального процесу. Серед досліджуваних засобів найбільш ефективним у зниженні рівня ФНП- α виявився едаравон, який показав потужну протизапальну дію. Комбінований засіб продемонстрував проміжну ефективність, а метформін мав найменший, але достовірний вплив на зниження рівня цього цитокіну, що свідчить про різний ступінь протизапальної активності препаратів і їхній потенціал у терапії досліджуваної коморбідної патології.

5.2 Вплив досліджуваних засобів на рівень експресії нейроспецифічних білків у неокортексі щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу

В ході експерименту визначено, що моделювання цукрового діабету 2 типу було асоційоване із статистичною тенденцією до зниження вмісту нейротрофічного фактору головного мозку. Так, вміст НФГМ у неокортексі тварин другої групи

був на 36,1 % ($p = 0,07$) нижчим у порівнянні з групою інтактних тварин. Моделювання ВМК на тлі ЦД 2 типу призводило до подальшого зниження показника на 51,9 % ($p < 0,05$) (табл. 5.2; рис. 5.2).

Таблиця 5.2

Вміст НФГМ в неокортексі щурів в умовах використання експериментальних засобів, $M \pm SD$

| Група тварин | НФГМ, пг/мг протеїну |
|--------------------------------------------|----------------------------|
| Пасивний контроль (n = 6) | 61,28 ± 21,43 |
| Патологічний контроль 1 (n = 5) | 39,17 ± 13,35 |
| Патологічний контроль 2 (n = 6) | 29,49 ± 8,94 [*] |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 6) | 40,36 ± 5,47 [#] |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 6) | 38,30 ± 8,34 |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 6) | 48,48 ± 14,66 [#] |

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

– $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Показники дослідних груп, які отримували експериментальну фармакотерапію мали певні відмінності поміж собою. Так, зафіксовані достовірні зміни значень концентрації НФГМ у групах метформіну та комбінованого засобу на 36,9 % та 64,4 % перевищували показники групи патологічного контролю 2. Курсове використання едаравону не продемонструвало значної ефективності і не призводило до збільшення експресії НФГМ (табл. 5.2; рис. 5.2).

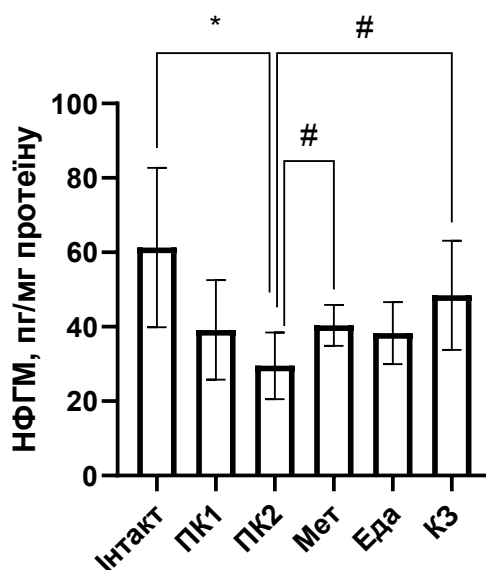


Рис. 5.2 Вміст НФГМ в неокортексі щурів в умовах використання експериментальних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

– $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Аналіз експериментально отриманих даних встановив, що перебіг ЦД2 типу у щурів призвів до статистично значимого ($p < 0,05$) підвищення рівнів ГФКБ на 25,4 % у головному мозку. Виявлені зміни можна розцінити як компенсаторну активацію астроглії, спричинену дією агресивних факторів внутрішнього середовища, внаслідок перебігу цукрового діабету (табл. 5.3; рис. 5.3).

Водночас, моделювання ВМК на тлі ЦД 2 типу сприяло подальшому зростанню вмісту цього нейроспецифічного білка в ураженій півкулі мозку, значення якого на 14,4 % ($p < 0,05$) були вищими від значень патологічного контролю 1 та 43,5 % ($p < 0,05$) – групи інтактних тварин, що вказує на прояви реактивного астрогліозу (табл. 5.3; рис. 5.3).

Курсове введення і метформіну, і едаравону практично у рівній мірі – на 32,7 % ($p < 0,05$) та 29,3 % ($p < 0,05$) відповідно, було асоційоване з істотно нижчими значеннями ГФКБ у порівнянні з групою патологічного контролю 2, які ста-

тистично не відрізнялися від показників інтактного контролю. Призначення комбінованого засобу не мало значного впливу на рівень досліджуваного маркеру (табл. 5.3; рис. 5.3).

Таблиця 5.3

Вміст ГФКБ в неокортексі щурів в умовах використання експериментальних засобів, М ± SD

| Група тварин | ГФКБ, пг/мг протеїну |
|--------------------------------------------|----------------------------|
| Пасивний контроль (n = 6) | 43,22 ± 6,09 |
| Патологічний контроль 1 (n = 6) | 54,18 ± 5,87** |
| Патологічний контроль 2 (n = 6) | 62,00 ± 4,78***& |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 6) | 41,73 ± 15,16 [#] |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 6) | 43,82 ± 6,35### |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 6) | 66,71 ± 28,44 |

Примітки:

** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – по відношенню до інтактного контролю

& – $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

– $p < 0,05$; ### – $p < 0,001$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

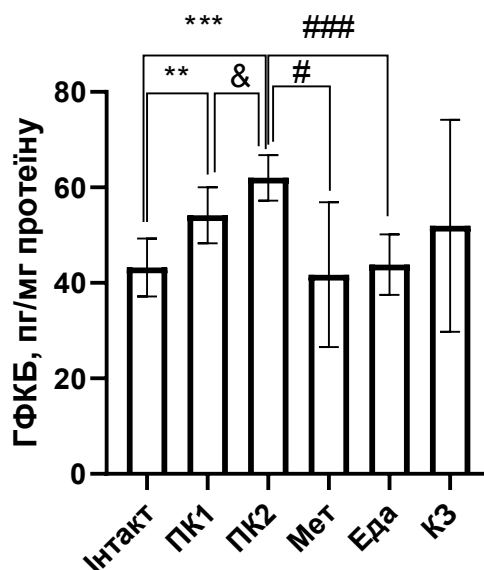


Рис. 5.3 Вміст ГФКБ в неокортексі щурів в умовах використання експериментальних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ - по відношенню до інтактного контролю

& – $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

– $p < 0,05$; ### – $p < 0,001$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Встановлено, що перебіг ЦД 2 типу істотно не впливав на рівні НМКА, проте їх значення зростали на 55,1 % ($p < 0,05$) за умов експериментального ВМК, що найімовірніше є свідченням активації процесів нейрорегенерації за умов активації астроглії (табл. 5.4; рис. 5.4).

Слід зазначити, що курсове введення метформіну чи едаравону не впливало на вміст цього нейроспецифічного білка, тоді як курсове призначення комбінованого засобу знижувало рівень маркера на 27,07 % на рівні статистичної тенденції ($p = 0,07$) (табл. 5.4; рис. 5.4).

Таблиця 5.4

Вміст НМКА в неокортексі щурів в умовах використання експериментальних засобів, М ± SD

| Група тварин | НМКА, пг/мг протеїну |
|--------------------------------------------|--------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 6) | 6,69 ± 1,99 |
| Патологічний контроль 1 (n = 6) | 6,63 ± 2,41 |
| Патологічний контроль 2 (n = 6) | 10,28 ± 2,79 ^{*&} |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 6) | 10,60 ± 1,48 |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 6) | 10,27 ± 2,87 |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 6) | 7,50 ± 1,79 |

Примітки:

* – $p < 0,05$ – по відношенню до інтактного контролю

& – $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

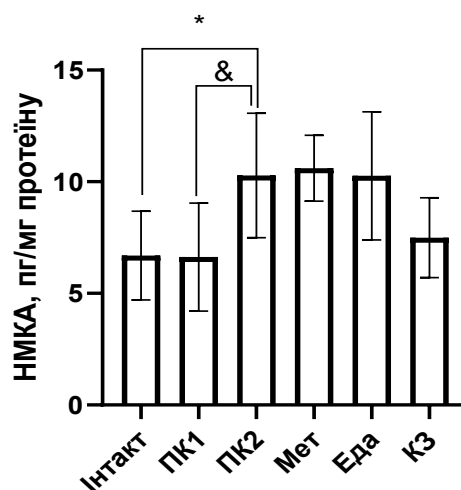


Рис. 5.4 Вміст НМКА в неокортексі щурів в умовах використання експериментальних засобів, М ± SD

Примітки:

* – $p < 0,05$ - по відношенню до інтактного контролю

& – $p < 0,05$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ЦД2 (патологічний контроль 1)

Експеримент показав, що ЦД 2 типу знижує рівень НФГМ у неокортексі, а індукція ВМК посилює цей ефект. Метформін і комбінований засіб підвищували рівень НФГМ, тоді як едаравон не мав значного впливу. Моделювання ЦД 2 типу збільшувало експресію ГФКБ, що вказує на активацію астроглії, а ВМК додатково інтенсифікував цей процес. Метформін та едаравон сприяли зниженню концентрації ГФКБ, тоді як комбінований засіб не мав достовірного впливу на цей маркер. Експериментальний ЦД 2 типу не змінював рівень НМКА, тоді як ВМК на тлі експериментального ЦД 2 тип підвищував його, що свідчить про активацію нейрорегенерації. Метформін і едаравон не впливали на рівень маркеру, а комбінований засіб знижував рівень НМКА.

5.3 Вплив досліджуваних засобів на вираженість набряку головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу

Аналіз експериментальних даних показав, що перебіг ЦД2 типу призводив до статистично значущого підвищення рівнів аквапорину-1, про що свідчать на 46 % вищі значення показника ($p < 0,01$) порівняно з групою інтактного контролю (табл. 5.5; рис. 5.5).

Моделювання ВМК сприяло подальшому зростанню вмісту досліджуваного маркера, значення якого були на 81,4 % ($p < 0,001$) вищими від групи інтактних тварин. Зокрема, це може вказувати на те, що процеси, які запускаються в умовах ВМК, можуть активувати експресію аквапорину-1, що у свою чергу, може бути пов'язане з розвитком набряку тканин мозку (табл. 5.5; рис. 5.5).

Таблиця 5.5

Вміст аквапорину-1 в неокортексі щурів в умовах використання експериментальних засобів, $M \pm SD$

| Група тварин | Аквапорин-1, пг/мг протеїну |
|--------------------------------------------|-----------------------------|
| Пасивний контроль (n = 6) | 75,32 ± 14,12 |
| Патологічний контроль 1 (n = 6) | 109,95 ± 16,59** |
| Патологічний контроль 2 (n = 6) | 136,63 ± 25,31*** |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 6) | 93,38 ± 11,98## |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 6) | 134,00 ± 27,82) |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 6) | 112,89 ± 1 2,28) |

Примітки:

** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – по відношенню до інтактного контролю

– $p < 0,01$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Встановлено, що курсове внутрішньошлункове введення метформіну протягом 20 діб асоціювалося із статистично значимим зниженням вмісту аквапорину-1 на 31,7 % ($p < 0,01$) у гомогенатах ураженої півкулі головного мозку у порівнянні з групою патологічного контролю 2. Цей ефект може свідчити про нейропротекторну дію метформіну, який, ймовірно, знижує запальні реакції або покращує функціонування бар'єрних структур мозку (табл. 5.5; рис. 5.5).

Комбінований засіб продемонстрував помірне зниження рівня досліджуваного маркера в неокортексі щурів на 17,4 % ($p = 0,08$) на рівні статистичної тенденції (табл. 5.5; рис. 5.5).

Найменш виразними були результати, показані курсовим призначенням едаравону – зниження показника склало лише 1,9 %, не маючи статистичної достовірності ($p = 0,87$). Це свідчить про недостатню ефективність едаравону у впливі на експресію аквапорину-1 за умов даної моделі, що може вказувати на потребу

в подальших дослідженнях для уточнення його потенційного терапевтичного ефекту в цих умовах (табл. 5.5; рис. 5.5).

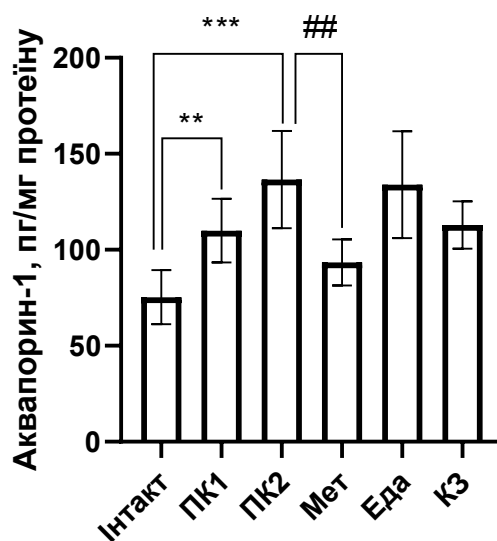


Рис. 5.5 Рівень аквапорину-1 в неокортексі щурів в умовах використання досліджуваних засобів, $M \pm SD$

Примітки:

** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ – по відношенню до інтактного контролю

– $p < 0,01$ – по відношенню до показників зафіксованих у групі тварин з ВМК та ЦД2 (патологічний контроль 2)

Загалом отримані результати демонструють значний вплив перебігу ЦД2 типу та моделювання ВМК на рівні аквапорину-1, що підкреслює важливість цього маркера в патогенезі зазначених станів. Метформін продемонстрував найбільш виражену ефективність у зниженні рівня аквапорину-1, що дозволяє розглядати його як перспективний препарат із нейропротекторними властивостями. Потенційно можливим є також використання комбінованого засобу, який показав помірний результат у зниженні рівня аквапорину-1. Водночас низька ефективність едаравону вказує на потребу у додаткових дослідженнях для пошуку оптимальних терапевтичних підходів, спрямованих на зниження рівня аквапорину-1 і покращення результатів лікування пацієнтів із ЦД2 типу та ВМК.

Висновки розділу:

1. Перебіг цукрового діабету 2 типу спричиняє активацію нейрозапалення та набрякових процесів у головному мозку, що супроводжується підвищенням рівнів ФНП- α , аквапорину-1 та ГФКБ, а також зниженням рівня НФГМ. Поєднання ЦД 2 типу з ВМК посилює ці зміни, що свідчить про значний вплив коморбідної патології на цитокіновий профіль та нейрогліальні процеси.

2. Метформін продемонстрував найбільш виражену нейропротекторну дію, знижуючи рівні ФНП- α , аквапорину-1 і ГФКБ, а також підвищуючи вміст НФГМ. Це вказує на його перспективність для корекції нейрозапальних та нейротрофічних порушень. Комбінований засіб також мав позитивний вплив на рівень НФГМ, проте не демонстрував достовірного впливу на ГФКБ.

3. Едаравон показав обмежену ефективність у регуляції нейрозапальних маркерів, проте сприяв зниженню рівня ФНП- α та ГФКБ. Водночас, він не впливав на рівень НФГМ і НМКА, що свідчить про його вибірккову дію, яка потребує подальшого вивчення.

Матеріали даного розділу відображені в наступних публікаціях:

1. Holubiev, V. L., Lievykh, A. E., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Yu. V., Zhyliuk, V. I. (2024). Edaravone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 96(6), 56–65. <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056>

2. Holubiev, V., Ushakova, G., Suvarian, U., Zhyliuk, V. (2024). The effect of metformin and edaravone on the levels of neurospecific proteins in the cerebra of rats with acute intracerebral hemorrhage on the background of type 2 diabetes. *Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології: Матеріали VII Міжнародної наукової конференції (3–4 жовтня 2024 р., Дніпро, Україна)* (с. 101–103). Дніпро: Ліра.

3. Голубєв, В., Жилюк, В., Лєвих, А. (2024). Вплив метформіну на вміст аквапорину-1 у головному мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Матеріали X науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті проф. Т. А. Грошового (17–18 жовтня 2024 р.)* (с. 222–223). Тернопіль: ТНМУ.

4. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І., Лєвих, А. Е. (2024). Дослідження впливу комбінованого засобу, що містить бурштинову кислоту та інозин, на показники поведінки та рівень маркерів запалення у мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Експериментальна та клінічна фармакологія: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю кафедри фармакології НФаУ (23–24 жовтня 2024 р.)* (с. 19–22). Харків: НФаУ.

5. Жилюк, В. І., Голубєв, В. Л., Лєвих, А. Е., Ушакова, Г. О. (2024). Дослідження впливу метформіну на рівні маркерів нейрогенезу та запалення у мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Міжнародна конференція з нейронаук та Наукові читання, присвячені вісцеральній фізіології та патофізіології (19–21 листопада 2024 р., Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України), Фізіологічний журнал, 70(5), додаток, 33–34.*

РОЗДІЛ 6

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТКАНИН ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ З ВНУТРІШНЬОМОЗКОВИМ КРОВОВИЛИВОМ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ ПРИ ВИ- КОРИСТАННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЗАСОБІВ

6.1. Дослідження впливу експериментальної терапії на загальногістологічні характеристики неокортексу

Гістологічний аналіз тканини головного мозку інтактних щурів показав нормальну гістоархітектоніку кори великих півкуль і білої речовини: нейрони мали чіткі контури, рівномірно розподілений хроматин у ядрах і збережену цитоплазму.

У групі патологічного контролю 1 відзначено незначний набряк і сателітизацію окремих нейронів. Морфометричний аналіз виявив, що щільність клітинних ядер у групі інтактного контролю та патологічного контролю 1 суттєво не відрізнялася між собою ($p > 0,05$), При порівнянні площі поверхні ядер між групою 1 і групою 2 відзначено зниження цього показника у групі 2 на 30,66 % ($p < 0,01$).

При гістологічному дослідженні тканин головного мозку у групі патологічного контролю 2 виявлено стереотипні зміни в білій речовині півкуль головного мозку. Зокрема, у зоні ураження спостерігалася зруйнована ділянка нервової тканини з вираженою мікрогліальною реакцією, набряком, відкладенням гемосидерину та поодинокими еритроцитами, що інфільтрували нейропіл. У прилеглих до вогнища ураження ділянках кори нейрони також демонстрували сателітоз, а на межі між здоровою тканиною та зоною ураження виявлено скупчення пінистих макрофагів і гемосидерофагів. Аналогічна до групи 2 відсутність відмінностей у щільності ядер нейронів зафіксована між групами пасивного контролю та патологічного контролю 2. Між групами пасивного контролю та патологічного контролю

лю 2 спостерігалася статистична тенденція до збільшення площі поверхні ядер ($p = 0,08$) (табл. 6.1; рис.6.1 – 6.2).

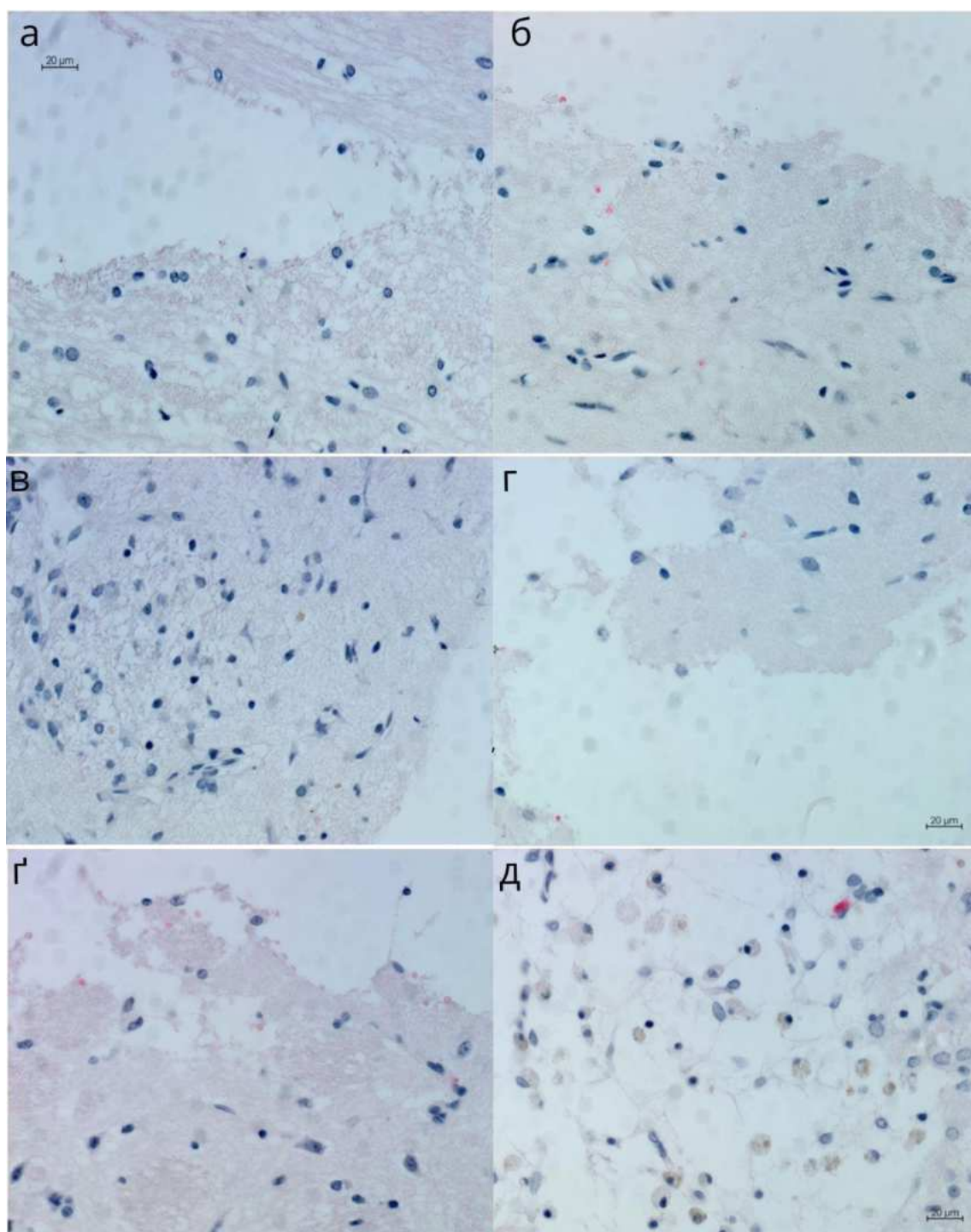


Рис. 6.1. Гістологічна картина тканин головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу при використанні експериментальних засобів, забарвлення гематоксилін-еозин; а) Пасивний контроль; б) Патологічний контроль 1; в) Патологічний контроль 2; г) Метформін; г) Едаравон; д) Комбінований засіб. Збільшення $\times 400$.

За умов експериментальної терапії метформіном спостерігалось часткове послаблення патологічних змін у білій речовині кори головного мозку порівняно з патологічним контролем 2. Зменшення набряку, гліальної реакції та інтенсивності крововиливу свідчить про потенційний нейропротекторний і вазостабілізуючий ефект метформіну. Курсове призначення метформіну показало статистичну тенденцію до зменшення щільності клітинних елементів ($p = 0.07$) не впливаючи на показник площі поверхні ядер.

Едаравон сприяв помітному покращенню стану кори головного мозку та білої речовини порівняно з патологічним контролем 2 і групою метформіну. Гістологічно відзначено зменшення набряку, гліальної реакції, інтенсивності крововиливу та зони вторинного ураження, що підтверджує виражений нейропротекторний, антиоксидантний і вазостабілізуючий ефект препарату. Серед досліджуваних засобів едаравон продемонстрував найвиразніший вплив на показник щільності ядер нейронів, знижуючи його удвічі ($p < 0.05$) порівняно з групою 3. Курсове застосування едаравону не мало значного впливу на площі поверхні ядер ($p > 0,05$).

Натомість комбінований засіб у групі експериментальної терапії 3 продемонстрував найменшу ефективність серед усіх досліджених груп, не впливаючи на вираженість набряку, гліальної реакції та інтенсивності крововиливу. Комбінований засіб суттєво не вплинув на площу поверхні ядер та їх щільність ($p > 0,05$) (табл. 6.1; рис. 6.1 – 6.2).

Таблиця 6.1

Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники тканин головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

| Група тварин | Щільність клітинних ядер, ядер/мм ² | Площа поверхні клітинних ядер, мкм ² |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 1) | 849,7 (326,8-1340) | 19,37 (9,048-27,66) |
| Патологічний контроль 1 (n = 1) | 980,4 (882,3-980,4) | 13,43 (7,479-19,77)** |
| Патологічний контроль 2 (n = 1) | 1307 (817,0-2059) | 21,89 (15,48-29,32) |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 1) | 784,3 (392,2-882,3) | 23,79 (14,57-31,51) |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 1) | 653,6 (294,1-817,0)# | 19,07 (9,081-30,38) |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 1) | 1046 (817,0-1569) | 21,49 (13,81-29,48) |

Примітка:

** – $p < 0,01$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

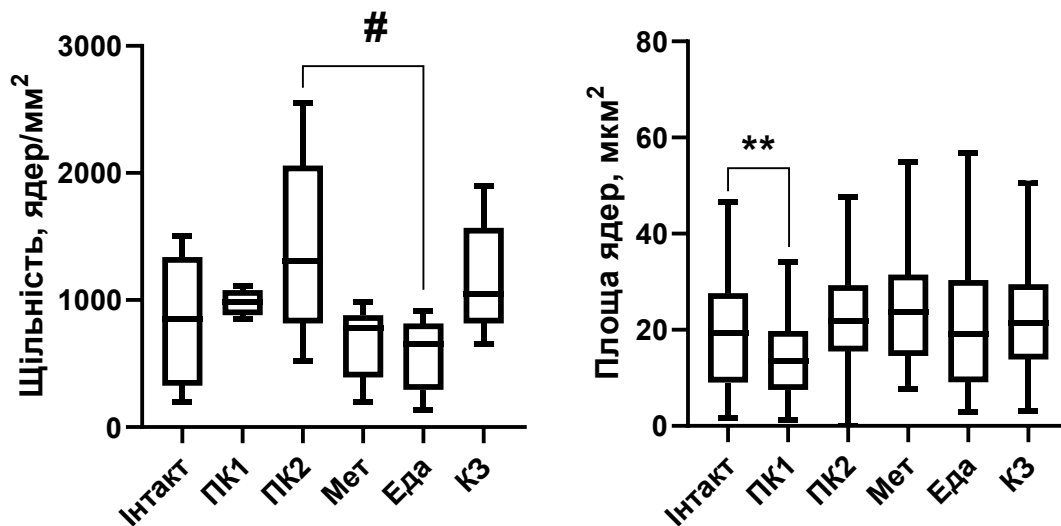


Рис. 6.2 Вплив експериментальних засобів на морфофункціональні показники тканин головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

Примітка:

** – $p < 0,01$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,05$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

Гістологічне дослідження зразків білої речовини, що прилягає до кори головного мозку, із застосуванням забарвлення пікрофуксином у групі пасивного контролю (інтактні тварини) виявило нормальну гістоархітекtonіку. Мієлінові волокна мали щільну, однорідну структуру з рівномірним синьо-зеленим забарвленням, без ознак демієлінізації, розрідження чи вакуолізації.

Моделювання цукрового діабету 2 типу показало патологічні зміни – мієлінові волокна демонстрували нерівномірне забарвлення з ділянками демієлінізації, розрідженням пучків і порушенням їхньої орієнтації. Для цієї групи були характерними зміни площі поверхні мієлінізованих волокон, яка була на 26,48 % ($p < 0,001$) меншою, ніж у першій групі.

У групі патологічного контролю 2 зміни були вираженішими: забарвлення пікрофуксином виявило різку втрату цілісності розподілу мієліну на межі між пошкодженою та інтактною тканиною. У зоні ураження спостерігалася значна

демієлінізація, фрагментація мієлінових волокон, ослаблення синьо-зеленого забарвлення та вакуолізація. Кількісно це проявлялося зниженням щільності нервових волокон на 56,12 % ($p < 0.001$) порівняно з інтактним контролем (табл. 6.2, рис. 6.3 – 6.4).

У групі лікування метформіном забарвлення пікрофуксином показало часткове відновлення структури тканини. Демієлінізація була менш вираженою, мієлінові волокна мали більш рівномірне синьо-зелене забарвлення, а фрагментація пучків зменшилася.

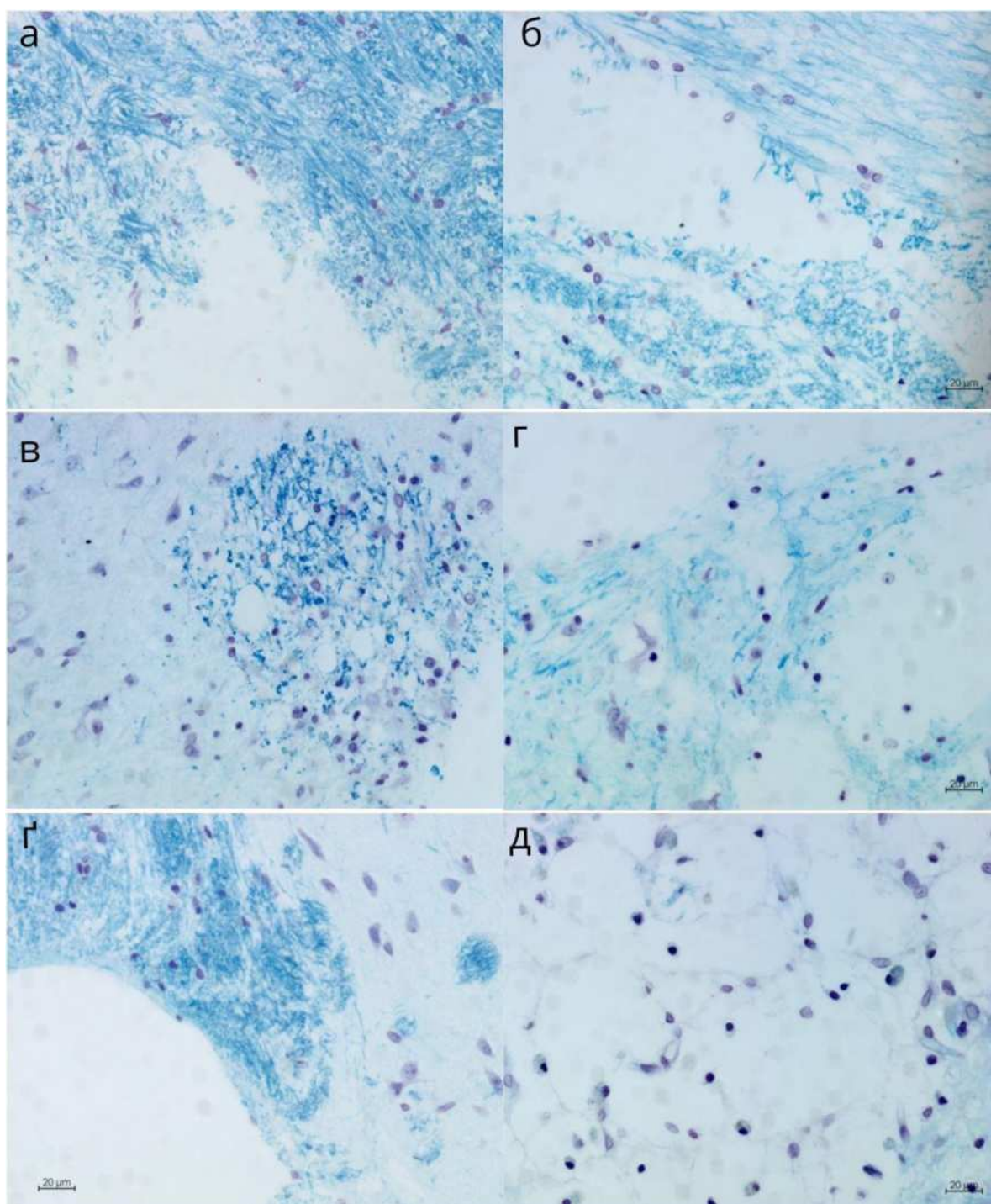


Рис. 6.3 Мієлінізація тканин головного мозку щурів з внутрішньомозковим крово-
 виливом за умов цукрового діабету 2 типу при використанні експериментальних
 засобів, забарвлення пікрофуксином для мієліну з контрастуванням крезіловим
 фіолетовим. а)Пасивний контроль; б)Патологічний контроль 1; в) Патологічний
 контроль 2; г) Метформін; г) Едаравон; д) Комбінований засіб. Збільшення $\times 400$.

Таблиця 6.2

Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники мієлінізації тканин головного мозку у щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

| Група тварин | Щільність мієлінізованих волокон, волокон/мм ² | Площа поверхні мієлінізованих волокон, мкм ² |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 1) | 2680 (2614-2778) | 24,84 (14,75-54,50) |
| Патологічний контроль 1 (n = 1) | 2614 (2516-2843) | 18,26 (10,24-36,52) ^{***} |
| Патологічний контроль 2 (n = 1) | 1176 (359,5-1536) ^{***} | 24,25 (13,67-45,12) |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 1) | 1111 (1078-1176) | 23,94 (13,17-32,80) |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 1) | 915,0 (849,7-1013) | 44,22 (20,70-88,96) ^{####} |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 1) | 326,8 (228,8-424,8) | 14,30 (7,773-20,04) ^{##} |

Примітка:

^{***} – p < 0,001 – по відношенню до групи пасивного контролю;

^{##} – p < 0,01; ^{####} – p < 0,0001 – по відношенню до групи патологічного контролю 2

Ефекти лікування едаравоном були більш вираженими: мієлінові волокна мали рівномірніше забарвлення, демієлінізація та фрагментація зменшилися, а середня площа поверхні мієлінових волокон зросла на 82,35 % (p < 0,0001) відносно показника групи патологічного контролю 2.

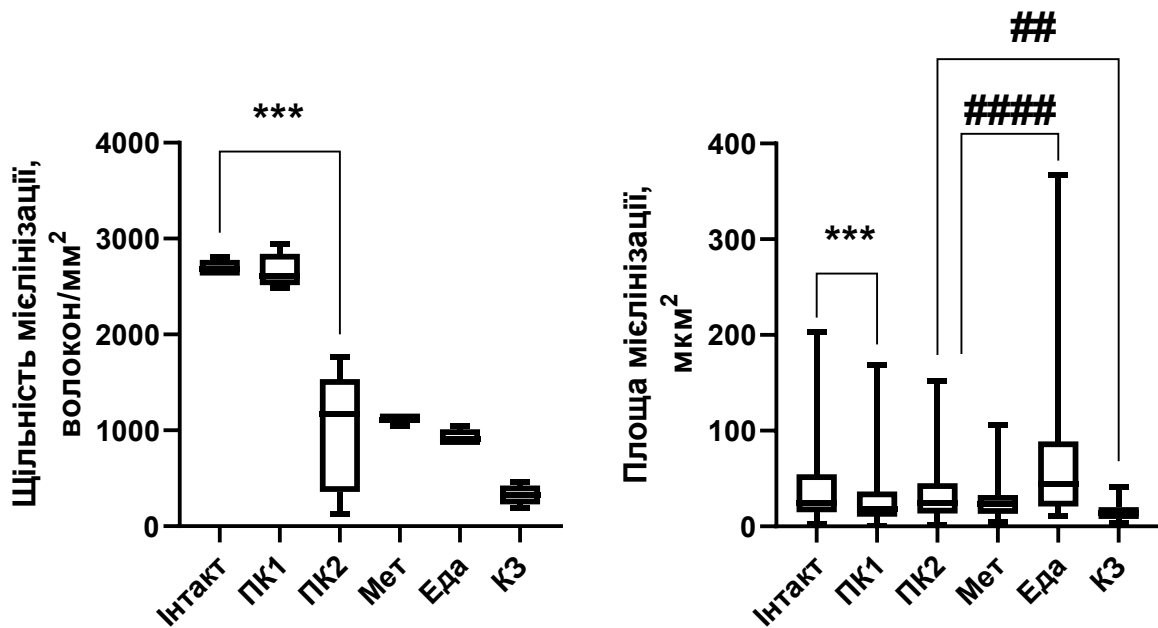


Рис. 6.4 Вплив експериментальних засобів на морфофункціональні показники мієлінізації тканин головного мозку у щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

Примітка:

*** – $p < 0,001$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,01$; #### – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

Найменш визначними були результати експериментальної терапії комбінованим засобу, яке призводило до значного зниження мієлінізації у порівнянні з групою 3. Щільність мієлінових волокон мала тенденцію до зниження ($p = 0.05$), а середня площа поверхні зменшилася на 41,03 % ($p < 0.01$), що може вказувати на можливі негативні ефекти препарату (табл. 6.2, рис. 6.3 – 6.4).

Гістологічне дослідження зразків кори головного мозку та прилеглої білої речовини інтактних щурів (група пасивного контролю), забарвлених за методом Більшовського-Кахала, виявило нормальну структуру нервової тканини. Нейрони мали чіткі контури з рівномірно забарвленими нейрофібрилами в тілах і відростках, без ознак дегенеративних змін. Аксони та дендрити демонстрували цілісність, гладку структуру та паралельну орієнтацію в білій речовині.

У групі цукрового діабету 2 типу були виявлені патологічні зміни. Нейрони демонстрували нерівномірне забарвлення нейрофібрил, пікноз ядер і скупчення нейрофібрилярних клубків. Аксони та дендрити мали фрагментовану структуру з розривами та потоншенням, особливо у білій речовині, де пучки аксонів розривалися та втрачали просторову орієнтацію. Помірна гліальна реакція із сателітозом нейронів вказувала на нейрозапальний процес. Площа поверхні нейронів мала тенденцію до збільшення ($p = 0,05$).

У групі патологічного контролю 2 (цукровий діабет 2 типу + внутрішньомозковий крововилив) зміни були значно вираженішими: імпрегнація сріблом показала переривання аргірофільних волокон на межі між пошкодженою та інтактною тканинами. Нейрони мали виражені дегенеративні зміни з нейрофібрилярними клубками, пікнозом ядер і фрагментацією нейрофібрил. Аксони та дендрити у білій речовині були значно фрагментовані, а щільність нейронів перевищувала показник інтактних тварин у 2,75 рази ($p < 0,001$). Середня площа поверхні нейронів знизилася на 77,33 % ($p < 0,001$) порівняно з групою 1 (табл 6.3, рис. 6.5 – 6.6).

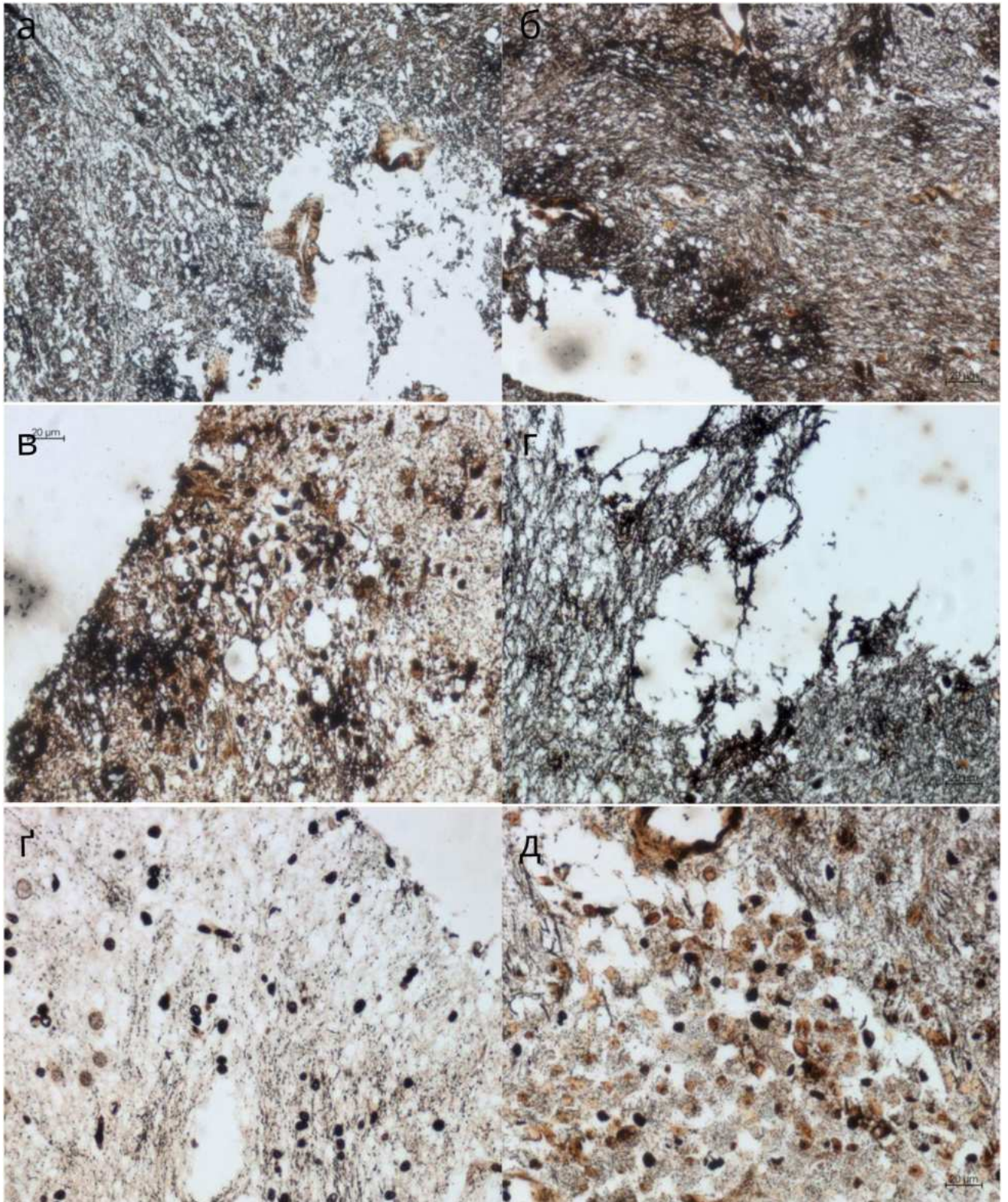


Рис. 6.5 Вплив експериментальних засобів на структурний стан тканин головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, імпрегнація сріблом за методом Більшовського-Кахала; а) Пасивний контроль; б) Патологічний контроль 1; в) Патологічний контроль 2; г) Метформін; е) Едаравон; д) Комбінований засіб. Збільшення $\times 400$.

Таблиця 6.3

Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники структурного стану тканин головного мозку у щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

| Група тварин | Щільність нейронів, волокон/мм ² | Площа поверхні нейронів, мкм ² |
|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 1) | 261,4 (163,4-359,5) | 249,8 (95,31-485,9) |
| Патологічний контроль 1 (n = 1) | 326,8 (228,8-359,5) | 420,9 (156,6-894,2) |
| Патологічний контроль 2 (n = 1) | 719,0 (620,9-817,0) ^{***} | 56,62 (31,75-78,10) ^{****} |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 1) | 326,8 (261,4-424,8) ^{###} | 152,3 (31,41-299,8) [#] |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 1) | 1046 (751,6-1111) | 25,72 (17,04-36,16) ^{####} |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 1) | 1373 (1307-1601) ^{####} | 31,50 (20,05-49,58) ^{###} |

Примітка

^{***} – $p < 0,001$; ^{****} – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

[#] – $p < 0,05$; ^{###} – $p < 0,001$; ^{####} – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

У групі терапії метформіном спостерігалось часткове відновлення структури нервової тканини. Переривання аргірофільних волокон на межі тканин було менш вираженим, дегенеративні зміни нейронів зменшилися, а кількість нейрофібрилярних клубків і пікнотичних ядер значно зменшилась. Аксони та дендрити зберігали кращу цілісність і орієнтацію. Щільність розподілу нейронів знизилася

на 54,54 % ($p < 0,001$), а площа поверхні нейронів зросла у 2,68 раза ($p < 0,05$) порівняно з групою 3.

Курсове застосування едаравону призводило до негативних змін структури нервової тканини. Гістологічна картина була подібною до групи цукрового діабету 2 типу та внутрішньомозкового крововиливу, але із збільшеною дегенерацією тіл та відростків нейронів. Морфометричні методи дослідження показали тенденцію до збільшення щільності нейронів ($p = 0,05$) а площа поверхні нейронів знизилася на 54,57 % ($p < 0,0001$) порівняно з патологічним контролем 2.

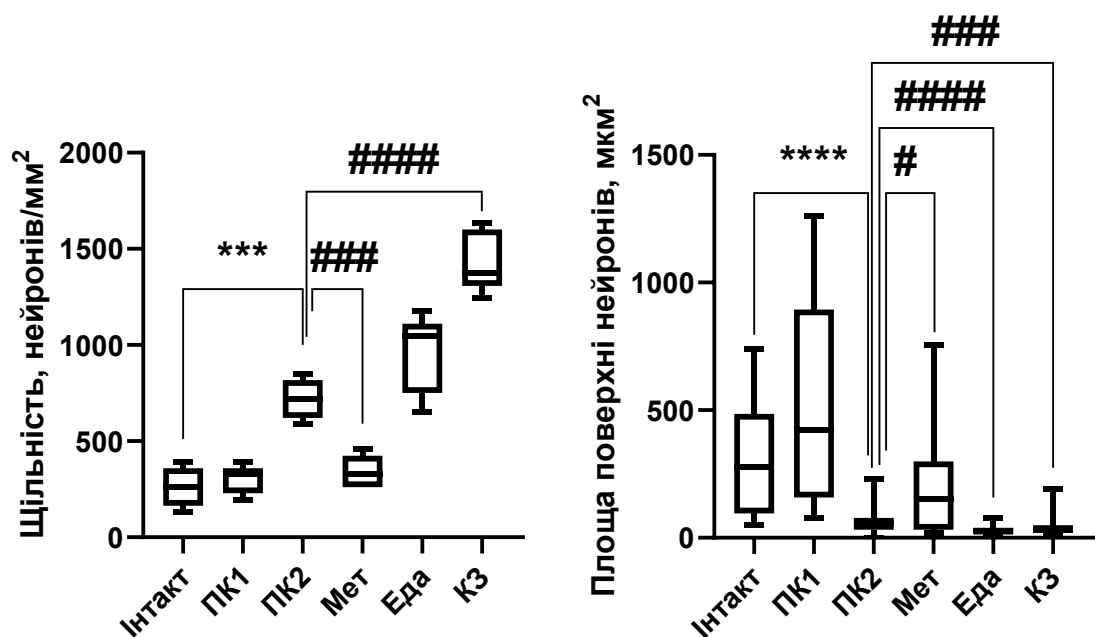


Рис. 6.6 Вплив експериментальних засобів на структурний стан тканин головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Ме (Q1-Q3)

Примітка

*** – $p < 0,001$; **** – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,05$; ### – $p < 0,001$; #### – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

Комбінований засіб продемонстрував найгірші результати, посилюючи дегенеративні зміни нейронів кори головного мозку. Щільність забарвлених ділянок зросла на 90,95 % ($p < 0,0001$) порівняно з групою ЦД 2 типу та ВМК, при цьому

площа поверхні нейронів зменшилася на 44,37 % ($p < 0,001$) (табл. 6.3, рис. 6.5 – 6.6).

Таким чином, гістологічне дослідження нервової тканини у щурів з цукровим діабетом 2 типу та внутрішньомозковим крововиливом виявило виражені патологічні зміни в білій речовині та корі головного мозку: набряк, гліальну реакцію, демієлінізацію, фрагментацію мієлінових волокон, дегенеративні зміни нейронів, підвищення щільності нейронів і зменшення їхньої площі поверхні. У групі патологічного контролю 2 ці порушення були найбільш інтенсивними. Метформін мав помірний нейропротекторний ефект – частково зменшував набряк, гліальну реакцію, демієлінізацію та відновлював структуру мієліну й цілісність нейронів. Едаравон продемонстрував неоднозначну дію: з одного боку, він достовірно зменшував набряк, гліальну реакцію, інтенсивність крововиливу, покращував мієлінізацію, знижував щільність нейронів, з іншого – разом із комбінованим засобом сприяв поглибленню нейродегенеративних змін, зокрема фрагментації аксонів і дендритів. Найгірші морфологічні результати були зафіксовані в групі комбінованого засобу, і проявлялись зменшенням щільності й площі поверхні мієлінових волокон та найбільш вираженими деструктивними процесами в нейроцитах, що може свідчити про потенційно несприятливий вплив цього засобу на нервову тканину.

6.2. Дослідження впливу експериментальної терапії на імуногістохімічні показники неокортексту

Імуногістохімічне дослідження фактору, індукованого гіпоксією 1-альфа (HIF-1 α), показало накопичення цього маркера переважно в нейропілі, цитоплазмі клітин глії, нейронів та ендотеліальних клітинах. Інтенсивність забарвлення нейропіля в інтактній групі була найнижчою.

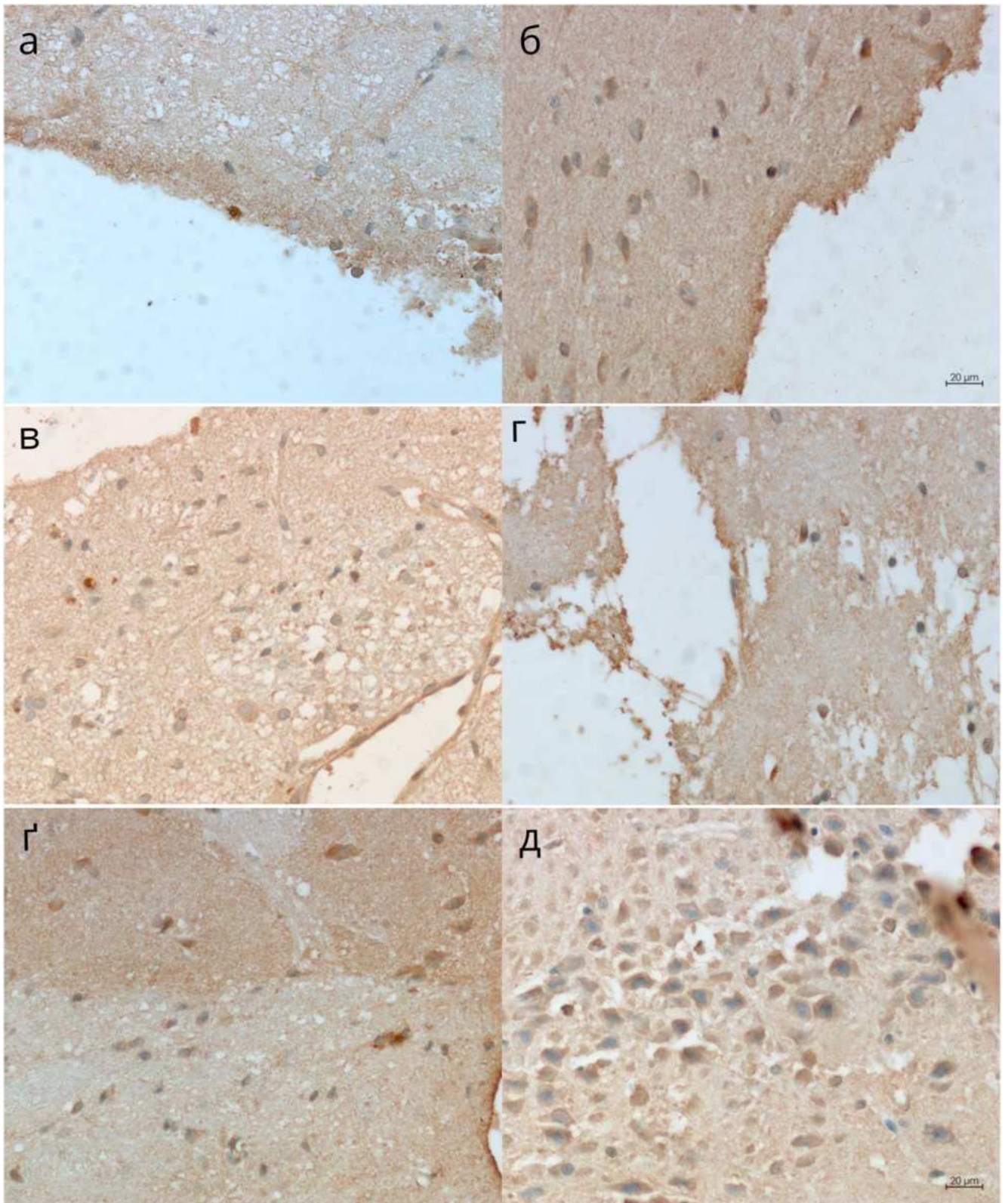


Рис. 6.7. Вплив експериментальних засобів на експресію HIF-1 α у головному мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу; а) Пасивний контроль; б) Патологічний контроль 1; в) Патологічний контроль 2; г) Метформін; г) Едаравон; д) Комбінований засіб. Збільшення $\times 400$.

**Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії
НІF-1 α у тканинах головного мозку щурів з внутрішньомозковим
крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)**

| Група тварин | Щільність, імуно- позитивних зон/мм ² | Площа імунопозитивних зон, мкм ² |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 1) | 457,5 (261,4-555,6) | 31,87 (26,57-41,75) |
| Патологічний контроль 1 (n = 1) | 522,9 (392,2-751,6) | 32,35 (24,11-43,80) |
| Патологічний контроль 2 (n = 1) | 1033 (751,6-1275)** | 31,85 (24,84-38,09) |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 1) | 326,8 (163,4- 424,8)## | 27,42 (18,75-42,81) |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 1) | 392,2 (294,1- 490,2)## | 19,62 (17,01- 29,18)## |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 1) | 1046 (424,8-1275) | 30,25 (17,03-42,98) |

Примітка:

** – $p < 0,01$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,01$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2.

Аналіз щільності імунопозитивних зон НІF-1 α не виявив значних відмінностей між групою пасивного контролю та патологічним контролем 1 у щільності розподілу та площі імунопозитивних зон.

Найвища інтенсивність та рівномірність забарвлення НІF-1 α спостерігалася в групі патологічного контролю 2, з локалізацією найбільш інтенсивно забарвлених ділянок товщиною до 20 мкм уздовж дефекту мозкової тканини у місці крововиливу. Окремі гліальні клітини у цій зоні демонстрували ядерну локалізацію

маркера, а подібна ядерна експресія HIF-1 α була виявлена і в окремих нейронах. Ці спостереження підтверджуються даними морфометричного аналізу – показник щільності комплексів HIF-1 α перевищував аналогічні значення групи 1 у 2,25 раза ($p < 0,01$) (таб 6.4.; рис. 6.7 – 6.8).

Експресія HIF-1 α мала відмінності у досліджуваних групах, характеризуючись меншою інтенсивністю, ніж у групах патологічних контролів, хоча і перевищувала показники інтактних груп, із специфічною інтенсифікацією забарвлення в тканинах, прилеглих до дефекту, де окремі клітини (нейрони та гліоцити) також мали ядернопозитивне забарвлення.

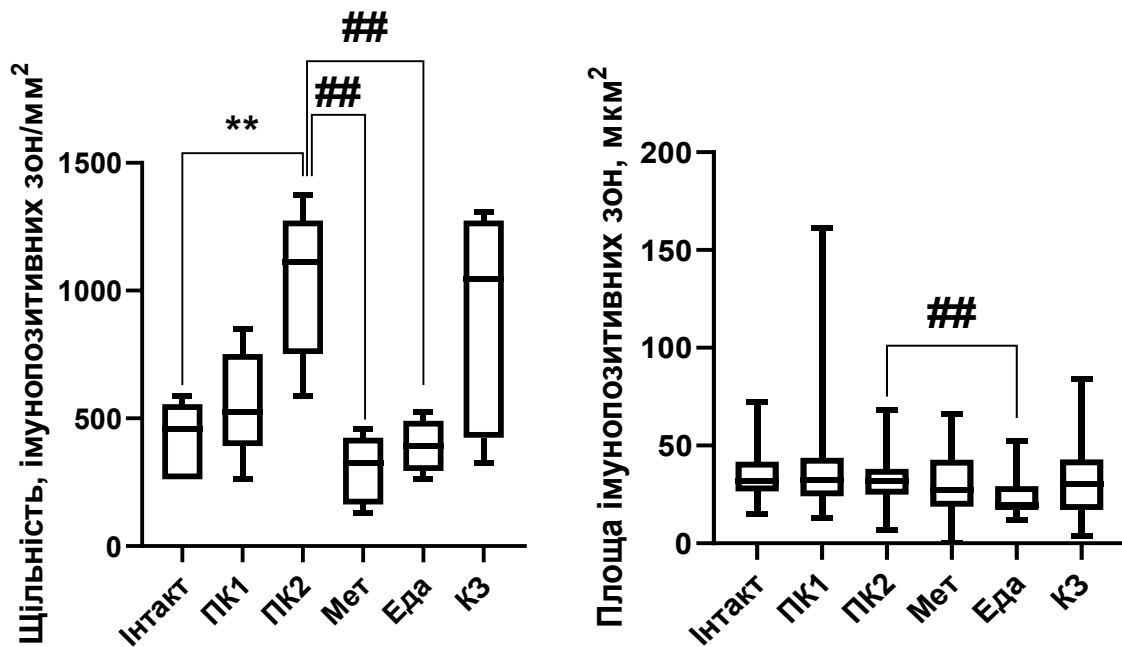


Рис. 6.8. Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії фактору, індукованого гіпоксією 1-альфа у тканинах головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

Примітка:

** – $p < 0,01$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,01$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2.

Курсове пероральне введення метформіну в дозі 250 мг/кг на добу мало найбільший вплив на рівень HIF-1 α , знижуючи його на 68,36 % ($p < 0,01$), водно-

час не впливаючи на площу імунопозитивних зон. Співставний вплив на щільність комплексів HIF-1 α спостерігався і при введенні едаравону – показник знижувався на 62,03 % ($p < 0,01$). Характерним для едаравону було зниження показника площі імунопозитивних зон HIF-1 α на 38,40 % ($p < 0,01$). Комбінований засіб не впливав на щільність та площу імунопозитивних зон (табл. 6.4.; рис. 6.7 – 6.8).

У групі інтактних тварин забарвлення eNOS було чітким, фіксувалося у стінках капілярів і дрібних судин, що свідчить про нормальну судинну функцію. Нейропіль мав слабе фонове забарвлення без значної експресії eNOS поза судинами. Ядра клітин, контрафарбовані гематоксиліном, мали рівномірний розподіл, без скупчень чи ознак гліозу.

Мікроскопічне дослідження імуногістохімічного забарвлення ендотеліальної NO-синтази продемонструвало наявність імунопозитивних ендотеліальних клітин у судинах у всіх контрольних і дослідних зразках, однак забарвлення цим маркером було більш вираженим у судинах головного мозку груп патологічного контролю.

Моделювання цукрового діабету 2 типу дещо збільшувало інтенсивність забарвлення eNOS порівняно з інтактним контролем, середня площа імунопозитивних зон перевищувала показник 1 групи на 98,71 % ($p < 0,0001$). Нейропіль виглядав розрідженим із помірним інтерстиціальним набряком, ядра клітин були розподілені нерівномірно з помірними скупченнями.

У групі патологічного контролю 2 забарвлення на eNOS було візуально сильнішим, із суттєвим збільшенням кількості забарвлених капілярів. Нейропіль мав вигляд розрідженого із вираженим набряком і вакуолізацією, а в зоні ураження спостерігалися ознаки крововиливу. Ядра клітин скупчені в зоні ушкодження, що вказує на виражений гліоз, а забарвлення eNOS виявлялося також у ядрах деяких іпсилатеральних кортикальних нейронів із боку пошкодження, свідчачи про активацію eNOS у відповідь на геморагічне ураження. Індукція внутрішньомозкового крововиливу на тлі ЦД 2 типу спричиняла зниження показника середньої площі імунопозитивних зон на 7,08 % ($p < 0,05$), без змін у щільності розподілу забарвлених ділянок (табл 6.5, рис. 6.9 – 6.10).

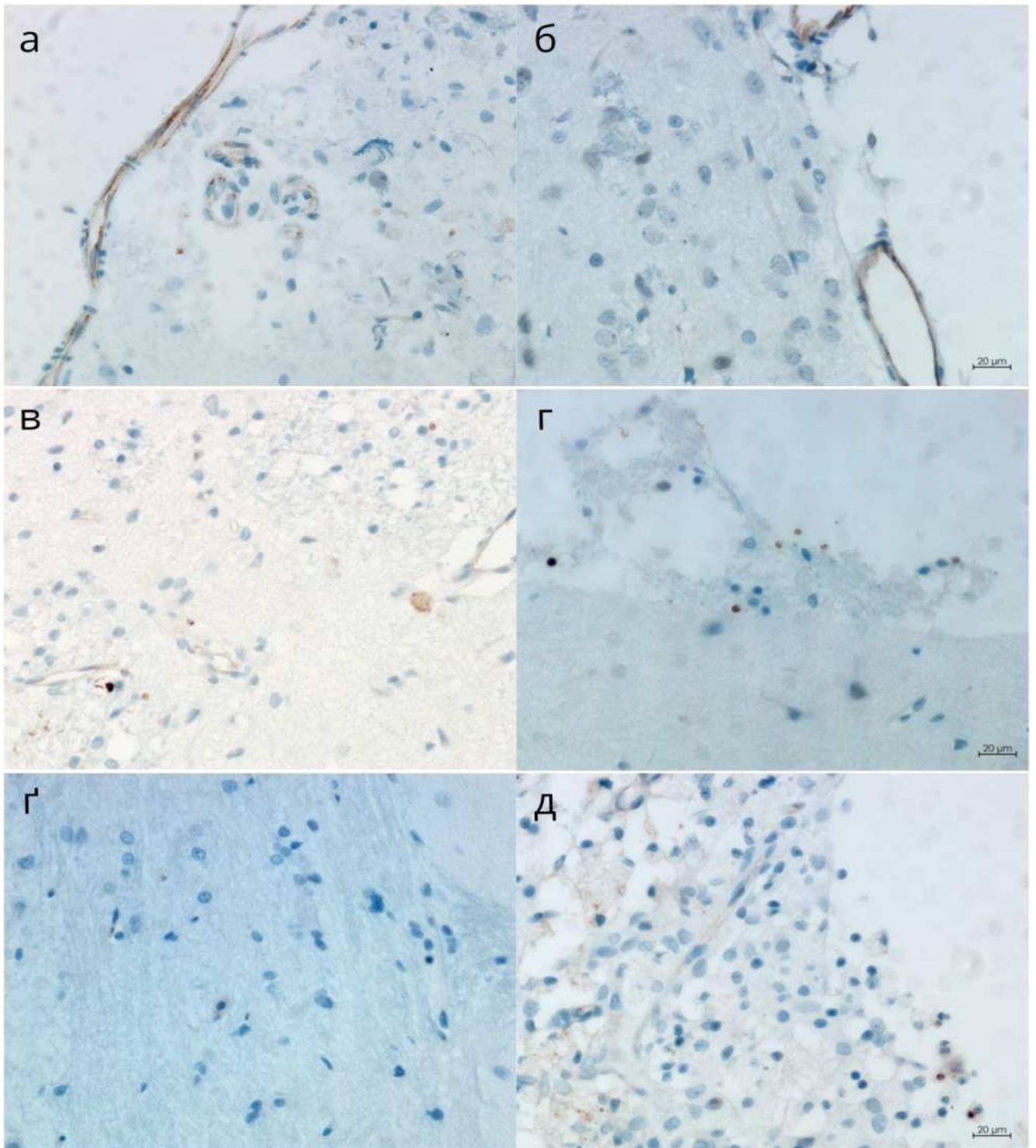


Рис. 6.9. Вплив експериментальних засобів на експресію eNOS у головному мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу; а) Пасивний контроль; б) Патологічний контроль 1; в) Патологічний контроль 2; г) Метформін; г) Едаравон; д) Комбінований засіб. Збільшення $\times 400$.

**Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії
ендотеліальної NO-синтази у тканинах головного мозку щурів з
внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me
(Q1-Q3)**

| Група тварин | Щільність, імунопозитивних зон/мм ² | Площа імунопози- тивних зон, мкм ² |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 1) | 915,0 (653,6-1667) | 23,35 (15,30-37,82) |
| Патологічний конт- роль 1 (n = 1) | 980,4 (653,6-1078) | 46,40 (27,06- 68,94) ^{****} |
| Патологічний конт- роль 2 (n = 1) | 1569 (683,3-2124) | 21,70 (13,98-26,07) [*] |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 1) | 522,9 (392,2-719,0) [#] | 24,18 (15,49-31,14) [#] |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 1) | 915,0 (490,2-1503) | 25,66 (15,37- 43,91) ^{##} |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 1) | 1634 (1471-2091) | 27,24 (19,64- 38,44) ^{####} |

Примітка:

* – $p < 0,05$; **** – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,05$ ## – $p < 0,01$; #### – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

Групи експериментальної терапії показали меншу вираженість імуногістохімічного забарвлення ендотеліальної NO-синтази (за виключенням групи комбінованого засобу).

У групі експериментальної терапії метформіном забарвлення eNOS було менш вираженим, ніж у групах патологічного контролю, але вищим, ніж у групі інтактних тварин, що вказує на часткове відновлення судинної функції. Нейропіль був розрідженим із помірним набряком і залишками крововиливу, ядра клітин ро-

зподілені нерівномірно з помірними скупченнями, а забарвлення eNOS у ядрах кортикальних нейронів було менш вираженим, ніж у патологічному контролі 2. Експресія маркера була на 66,67 % нижчою ($p < 0,05$) порівняно з групою патологічного контролю 2, а площа імунопозитивних зон зросла на 11,42 % ($p < 0,05$).

Лікування едаравоном також знижувало рівень експресії ендотеліальної NO-синтази, але вираженість цього ефекту була меншою, ніж у групі метформіну. Площа специфічно забарвлених ділянок зросла на 18,26 % ($p < 0,01$). Нейропіль мав менш розріджений вигляд, із помірним набряком, ядра клітин були розподілені рівномірніше, а гліоз мав меншу вираженість.

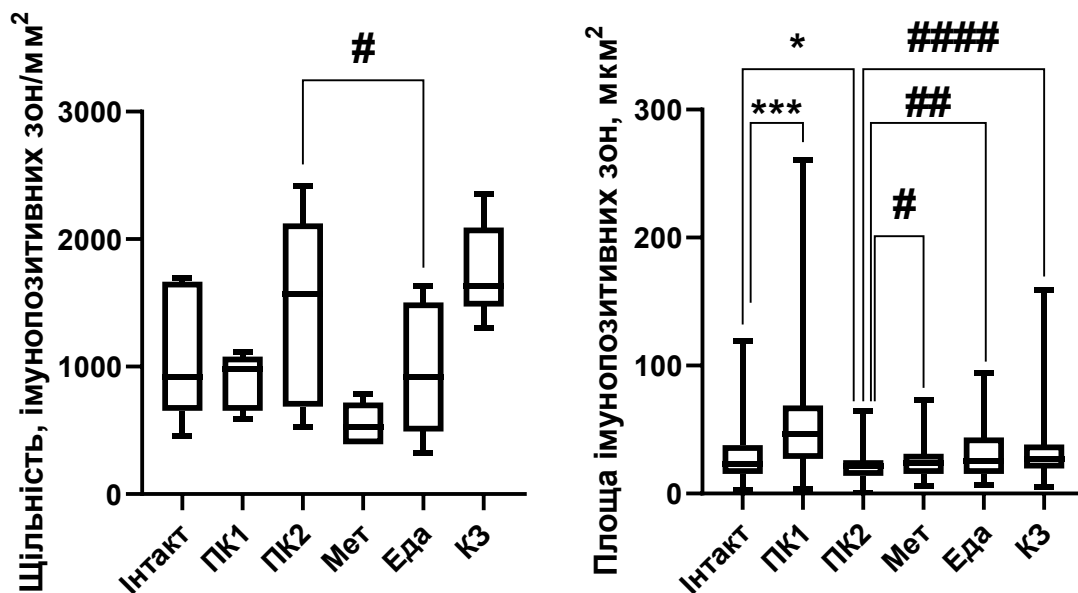


Рис. 6.10. Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії ендотеліальної NO-синтази у тканинах головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

Примітка:

* – $p < 0,05$; **** – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,05$ ## – $p < 0,01$; ##### – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

Призначення комбінованого засобу призводило до інтенсифікації забарвлення eNOS, із підвищеною експресією в стінках судин і більшою кількістю забарвлених капілярів, що вказує на можливу індукцію ензиму. Площа імунопозитивних зон зросла на 25,53 % ($p < 0,0001$) порівняно з патологічним контролем 2. Нейропіль мав більш виражену вакуолізацію та набряк, розподіл ядер клітин характеризувався нерівномірністю розподілу із скупченнями у зоні пошкодження, та позитивним забарвленням ядер нейронів (табл 6.5, рис. 6.9 – 6.10).

Експресія GAP43 у дослідних групах не демонструвала значної варіабельності. У групі інтактних тварин мікроскопічне дослідження імуногістохімічного забарвлення зразків кори головного мозку виявило рівномірну та помірну експресію GAP43 у нейропіль, що вказує на фізіологічний рівень експресії маркера. Ядра клітин, контрафарбовані гематоксиліном, були рівномірно розподілені без ознак аномальних скупчень або гліозу, а нейропіль мав щільний вигляд, без набряку чи вакуолізації, що підтверджує відсутність локальної гіперекспресії GAP43 та фізіологічний стан тканин головного мозку.

Моделювання цукрового діабету 2 типу не змінювало показники експресії GAP43. Так, аналіз мікрознімків показав неоднорідне забарвлення з незначною експресією GAP43, переважно в нейропіль. Ядра клітин мали відносно рівномірний розподіл, хоча в деяких ділянках спостерігалися скупчення, що може свідчити про локальні патологічні зміни. Нейропіль мав дещо розріджений вигляд із можливими ознаками мінімального набряку.

У групі патологічного контролю 2 відзначалася неоднорідність забарвлення із помірно збільшеною експресією GAP43 у вигляді інтенсивних бурштинових ділянок у нейропіль. Ядра клітин були розподілені нерівномірно з помітними скупченнями, а нейропіль був розрідженим із ознаками набряку та вакуолізації, особливо біля осередків крововиливів (табл. 6.6.; рис. 6.11– 6.12).

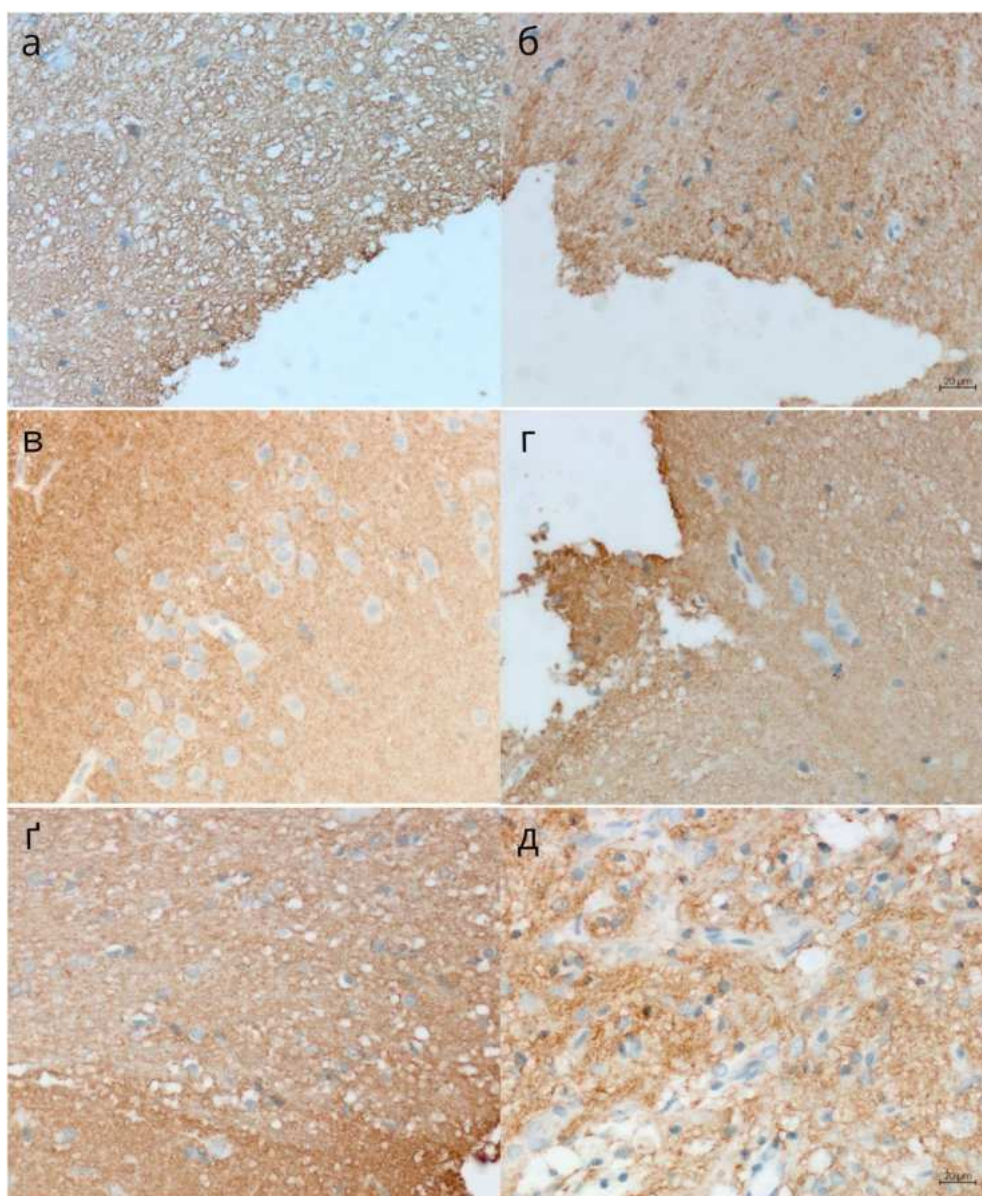


Рис. 6.11. Вплив експериментальних засобів на експресію GAP43 у головному мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу; а) Пасивний контроль; б) Патологічний контроль 1; в) Патологічний контроль 2; г) Метформін; г) Едаравон; д) Комбінований засіб. Збільшення $\times 400$.

**Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії
GAP43 у тканинах головного мозку щурів з внутрішньомозковим
крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)**

| Група тварин | Щільність, імунопозитивних зон/мм ² | Площа імунопозитивних зон, мкм ² |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 1) | 522,9 (359,5-653,6) | 28,93 (20,41-41,69) |
| Патологічний контроль 1 (n = 1) | 588,2 (294,1-751,6) | 28,36 (18,4-38,97) |
| Патологічний контроль 2 (n = 1) | 1046 (392,2-1340) | 24,46 (16,46-35,69) |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 1) | 457,5 (326,8-751,6) | 23,31 (14,75-31,88) |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 1) | 980,4 (490,2-1242) | 25,07 (19,86-35,38) |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 1) | 1961 (1634-2451) ^{##} | 22,19 (16,17-28,39) |

Примітка:

^{##} – $p < 0,01$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

У групі експериментальної терапії метформіном спостерігалася неоднорідна експресія GAP43 з помірною інтенсивністю у нейропілі, що може свідчити про модулюючий ефект метформіну, Ядра клітин були розподілені відносно рівномірно з невеликими скупченнями. Нейропіль був щільнішим із меншими ознаками набряку, що свідчить про позитивний вплив терапії.

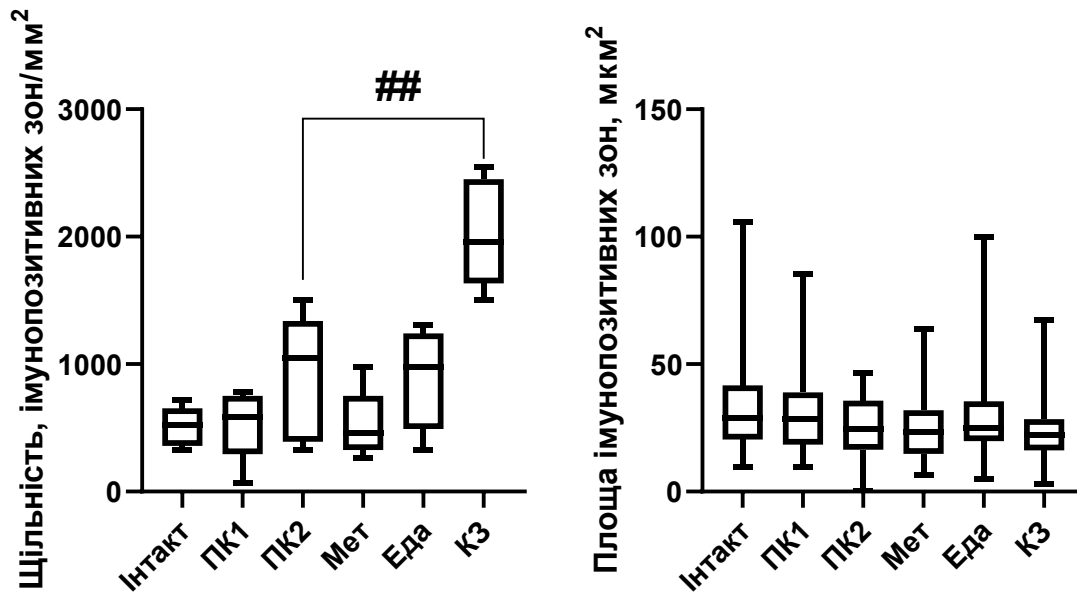


Рис. 6.12. Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії GAP43 у тканинах головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

Примітка:

– $p < 0,01$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

У групі едаравону експресія GAP43 та розподіл контрафарбованих ядер клітин істотно не відрізнялися від групи патологічного контролю 2.

Водночас найбільша інтенсивність експресії GAP43 спостерігалася в групі комбінованого засобу (+87,5 %, $p < 0,01$). Вимірювання показників середньої площі поверхонь імунопозитивних зон не мали достовірних відмінностей відносно групи 3 (табл. 6.6.; рис. 6.11 – 6.12).

У групі інтактних тварин мікроскопічний аналіз виявив експресію N-кадгерину переважно в тілах нейронів та їх відростках із бурштиновим забарвленням у нейропілі, яке варіювало від слабкого до помірного. Ядра клітин, контрафарбовані гематоксилином, були розподілені рівномірно без ознак патологічних скупчень чи гліозу, а нейропіль мав щільний вигляд, без набряку чи вакуолізації, що свідчить про нормальну міжклітинну взаємодію та синаптичну стабільність.

У групі патологічного контролю 1 імуноекспресія N-кадгерину мала подібний характер розподілу. Рівень експресії був якісно та кількісно подібним до гру-

пи інтактних тварин, при цьому площі імунопозитивних зон були знижені на 22,3 % ($p < 0,05$) Ядра клітин розподілені відносно рівномірно, хоча в деяких ділянках спостерігалися невеликі скупчення, що може вказувати на активацію глії чи локальні запальні зміни.

У групі ЦД2 та ВМК 2 експресія N-кадгерину ставала значно інтенсивнішою у зонах нейропілю, прилеглих до внутрішньомозкової гематоми. Це супроводжувалось подальшим зниженням площі імунопозитивних зон на 29,3 % ($p < 0,0001$) у порівнянні із групою інтактних тварин. Ядра клітин мали нерівномірний розподіл із скупченнями, що вказує на гліальні або запальні реакції. Нейропіль виглядав розрідженим із вираженим набряком та вакуолізацією, що свідчить про значні структурні порушення, але стабільна експресія N-кадгерину в зонах ураження може вказувати на адаптивні зміни (табл. 6.7; рис. 6.13 – 6.14).

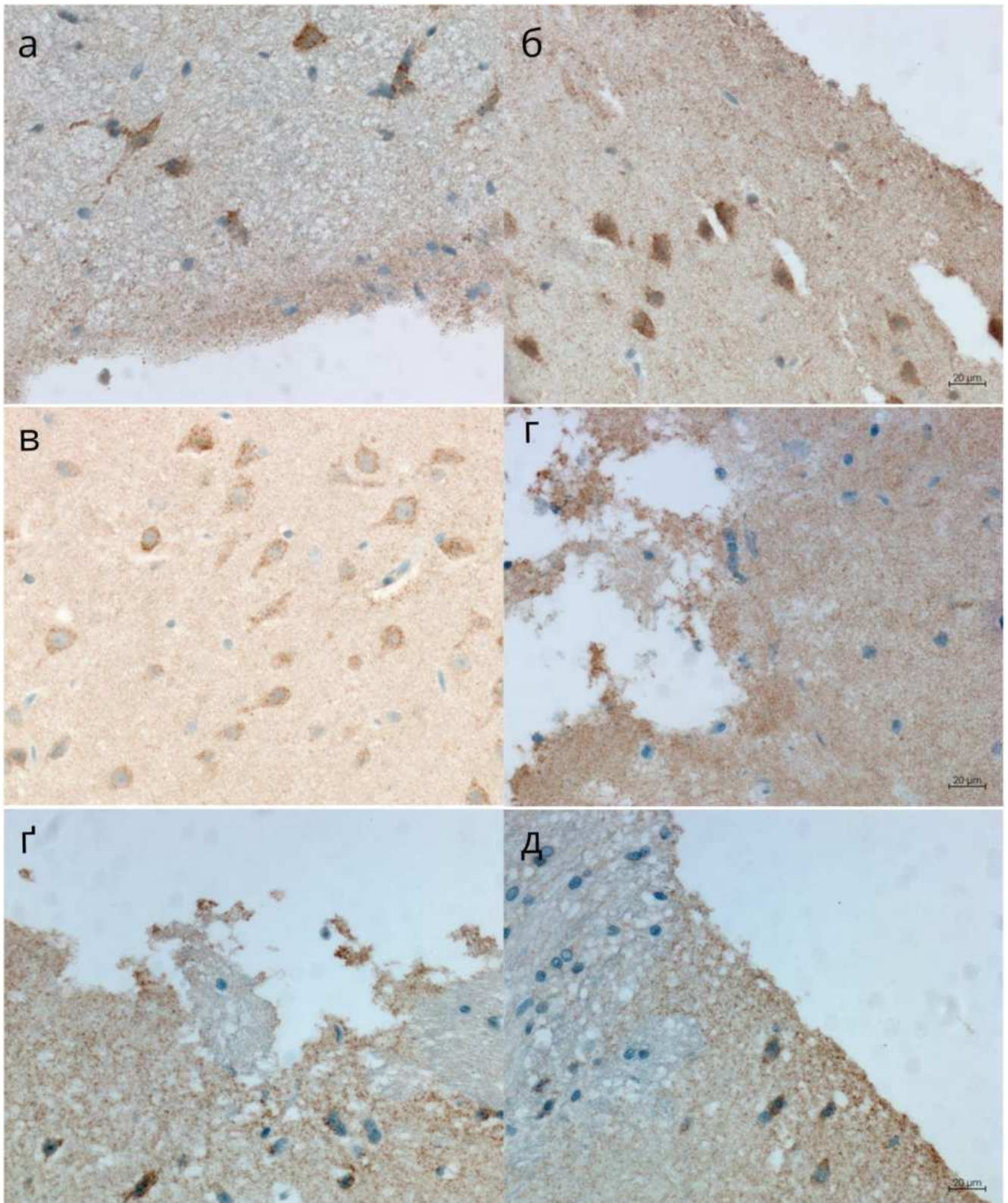


Рис. 6.13. Вплив експериментальних засобів на експресію N-кадгерину у головному мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу; а) Пасивний контроль; б) Патологічний контроль 1; в) Патологічний контроль 2; г) Метформін; д) Едаравон; е) Комбінований засіб. Збільшення $\times 40$

Таблиця 6.7

**Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії N-кадгерину у тканинах головного мозку щурів з внутрішньомозковим крово-
вливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)**

| Група тварин | Щільність, імуно- позитивних зон/мм ² | Площа імунопо- зитивних зон, мкм ² |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 1) | 588,2 (326,8- 849,7) | 49,33 (41,54- 90,41) |
| Патологічний конт- роль 1 (n = 1) | 326,8 (294,1- 849,7) | 38,31 (24,89- 57,72) * |
| Патологічний конт- роль 2 (n = 1) | 719,0 (588,2- 947,7) | 35,02 (24,15- 43,33) **** |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 1) | 588,2 (457,5- 882,3) | 44,01 (29,80- 67,75)## |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 1) | 457,5 (261,4- 653,6) | 52,37 (32,78- 67,78)# |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 1) | 783,3 (228,8- 947,7) | 52,24 (35,15- 74,58)### |

Примітки:

* – $p < 0,05$; **** – $p < 0,0001$ по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

У групах терапевтичного втручання імунопозитивні зони мали аналогічний характер розподілу, але різну інтенсивність забарвлення навколо зони ураження.

У групі експериментальної терапії метформіном імуноекспресія N-кадгерину була нижчою навколо зони гематоми. При цьому спостерігався приріст

показника середньої площі забарвлених ділянок, що склав 25,71 % ($p < 0,01$) порівняно із групою ЦД 2 типу та ВМК. Ядра клітин мали відносно рівномірний розподіл з невеликими скупченнями, а нейропіль виглядав щільнішим із меншими ознаками набряку та вакуолізації порівняно із патологічним контролем 2, що вказує на позитивний вплив терапії.

Інтенсивність перигематомної експресії N-кадгерину візуально була меншою, що підтверджувалося результатами статистичного аналізу щільності імунопозитивних зон який виявив тенденцію до зниження значень у групі едаравону ($p = 0,06$) у порівнянні із групою 3. При цьому спостерігалось збільшення площі забарвлених ділянок на 49,60 % ($p < 0,05$). Ядра клітин були розподілені рівномірно з мінімальними скупченнями, а нейропіль мав щільніший вигляд із меншими ознаками набряку, що свідчить про покращення стану тканини.

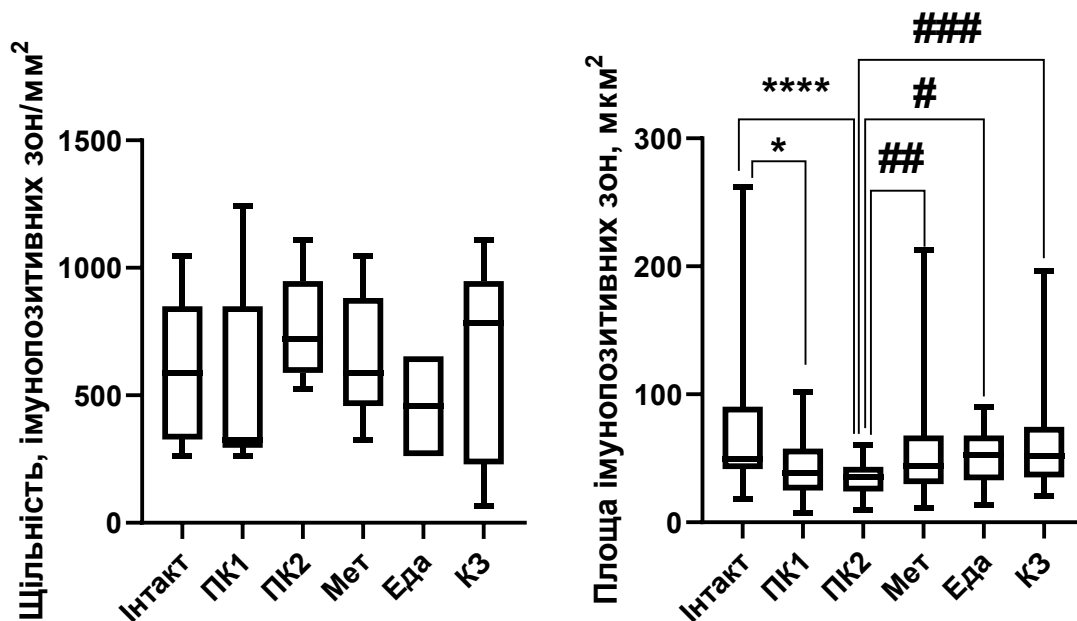


Рис. 6.14. Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії N-кадгерину у тканинах головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу

Примітки:

* – $p < 0,05$; **** – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

У групі комбінованого засобу інтенсивність перигематомного забарвлення N-кадгерину не відрізнялася від показнику групи патологічного контролю 2. Відмічалася значне збільшення площі імунопозитивних зон – (+49,20 %, $p < 0,001$) порівняно із групою 3. Ядра клітин були розподілені нерівномірно, нейропіль мав щільний вигляд із мінімальними ознаками набряку, що свідчить про значне покращення структури тканини та зменшення запальних реакцій (табл. 6.7; рис. 6.13 – 6.14).

У групі пасивного контролю аналіз мікрознімків показав вогнищеву експресію VE-кадгерину з бурштиновим забарвленням, переважно навколо дрібних судин, що вказує на нормальну цілісність судинного бар'єру. Ядра клітин, контрафарбовані гематоксиліном, були рівномірно розподілені, без ознак гліозу, а нейропіль залишався щільним, без набряку чи вакуолізації, підтверджуючи фізіологічний стан тканини.

Група цукрового діабету 2 типу виявила слабшу експресію VE-кадгерину відносно інтактних тварин, яка поширювалась не лише на судинний компонент, а й на тіла окремих нейронів та гліальних клітин. При цьому площа специфічно забарвлених зон маркеру на 43,54 % ($p < 0,01$) перевищувала показник групи інтактного контролю. Ядра клітин розташовувались у вигляді невеликих скупчень, що може вказувати на активацію глії. Нейропіль мав розріджений вигляд із мінімальним набряком і поодинокими вакуолями, а знижена експресія VE-кадгерину в судинах та його поява в нейронах і глії свідчили про порушення судинного бар'єру та адаптивні зміни, спричинені метаболічним стресом.

У групі патологічного контролю 2 експресія VE-кадгерину меншою мірою охоплювала судинний компонент, а більшою – тіла нейронів і гліальні клітини, кількісно не маючи відмінностей у порівнянні із інтактним контролем. Нерівномірний розподіл ядер із скупченнями вказував на гліальні або запальні реакції, а розріджений нейропіль із вираженим набряком і вакуолізацією відображав серйозні структурні порушення. Значне зниження VE-кадгерину в судинах свідчило про втрату міжклітинних контактів у судинному ендотелії через вплив коморбідної патології (табл. 6.8; рис.6.15 – 6.16).

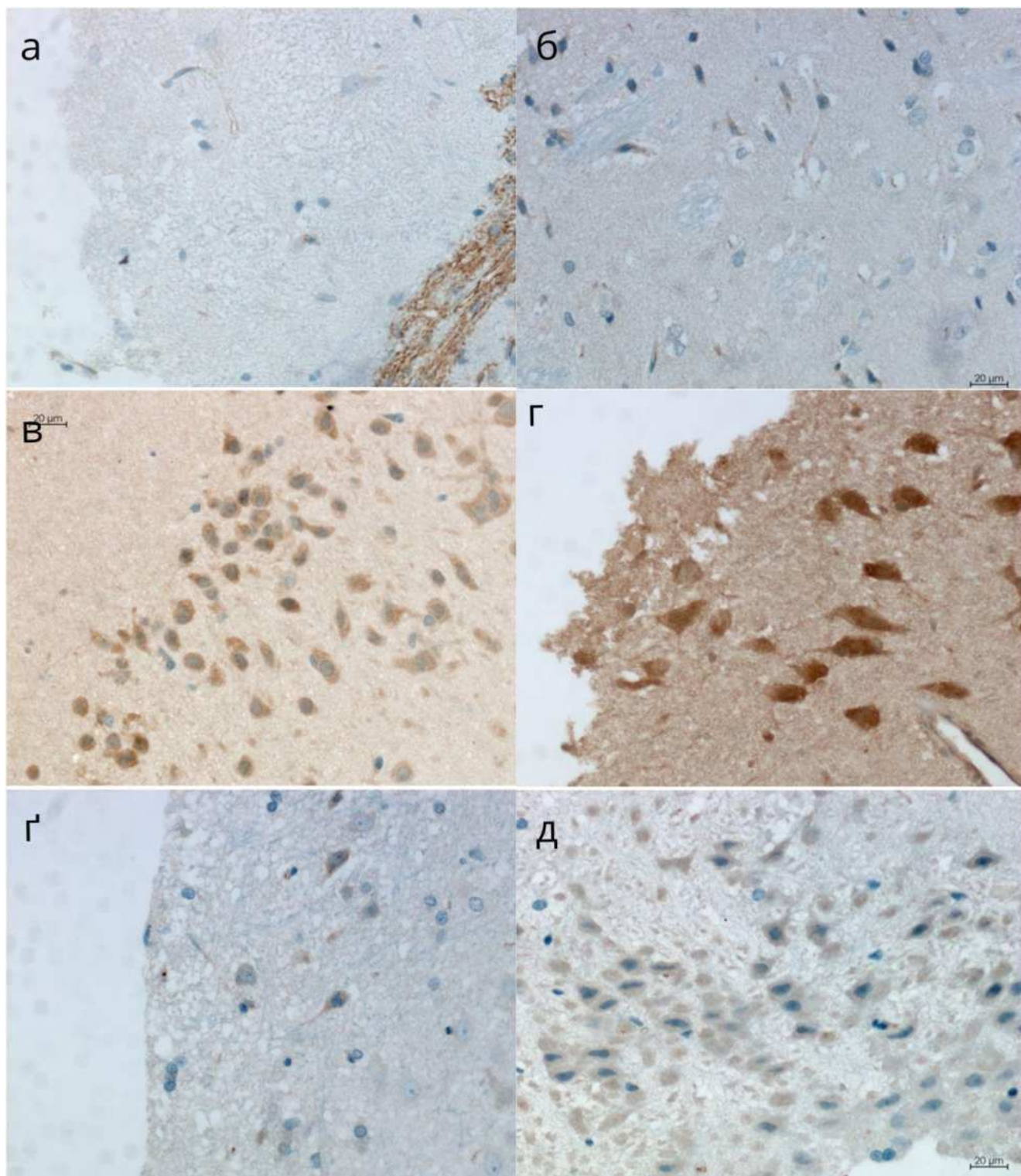


Рис. 6.15. Вплив експериментальних засобів на експресію VE-кадгерину у головному мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу; а) Пасивний контроль; б) Патологічний контроль 1; в) Патологічний контроль 2; г) Метформін; г) Едаравон; д) Комбінований засіб. Збільшення $\times 400$.

У групі метформіну спостерігалася найбільш інтенсивна експресія VE-кадгерину з бурштиновим забарвленням нейропілю, особливо в іпсилатеральній

до ураження півкулі. Забарвлення також було помітним у тілах нейронів, судинному компоненті та гліальних клітинах. Щільність забарвлених ділянок знизилась на 62,50 % ($p < 0,05$), але показник площі специфічно забарвлених ділянок у 7,31 раза перевищив значення у групі патологічного контролю 2. Ядра клітин були розподілені відносно рівномірно з мінімальними скупченнями, а нейропіль виглядав щільнішим із меншими ознаками набряку порівняно з патологічним контролем 2, що свідчить про позитивний вплив метформіну.

У групі лікування едаравоном експресія VE-кадгерину була помірною, охоплюючи судинний компонент, нейрони та гліальні клітини. Щільність розподілу імунопозитивних зон проявляла тенденцію до зниження ($p = 0,07$) і була меншою ніж у групі ЦД 2 типу та ВМК, а площа поверхні специфічно забарвлених ділянок на 79,26 % ($p < 0,0001$) перевищувала показник групи 3. Розподіл ядер клітин та стан нейропілю був аналогічним групі метформіну.

Експериментальна терапія комбінованим засобом мала співставний з едаравоном вплив на розподіл VE-кадгерину. Комбінований засіб також виявляв здатність до збільшення площі імунопозитивних зон маркеру (+ 35,72 %, $p < 0,0001$). Характер розподілу клітинних ядер та стан нейропіля був подібним до групи цукрового діабету 2 типу та внутрішньомозкового крововиливу (табл. 6.8; рис. 6.15 – 6.16).

Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії VE-кадгерину у тканинах головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

| Група тварин | Щільність, імуно- позитивних зон/мм ² | Площа імунопозитивних зон, мкм ² |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Пасивний контроль (n = 1) | 1046 (359,5-1405) | 27,94 (20,85-37,88) |
| Патологічний контроль 1 (n = 1) | 653,6 (490,2-949,7) | 40,10 (31,25-53,04)** |
| Патологічний контроль 2 (n = 1) | 1046 (784,3-1176) | 24,83 (19,09-34,81) |
| Метформін, 250 мг/кг/добу (n = 1) | 392,2 (228,8-522,9)# | 181,7 (110,0-244,2)#### |
| Едаравон, 6 мг/кг/добу (n = 1) | 784,3 (424,8-849,7) | 44,51 (30,56-76,13)#### |
| Комбінований засіб, 1,7 мл/кг/добу (n = 1) | 784,3 (228,8-947,7) | 33,70 (26,38-48,92)#### |

Примітка:

** – $p < 0,01$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,05$; #### – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

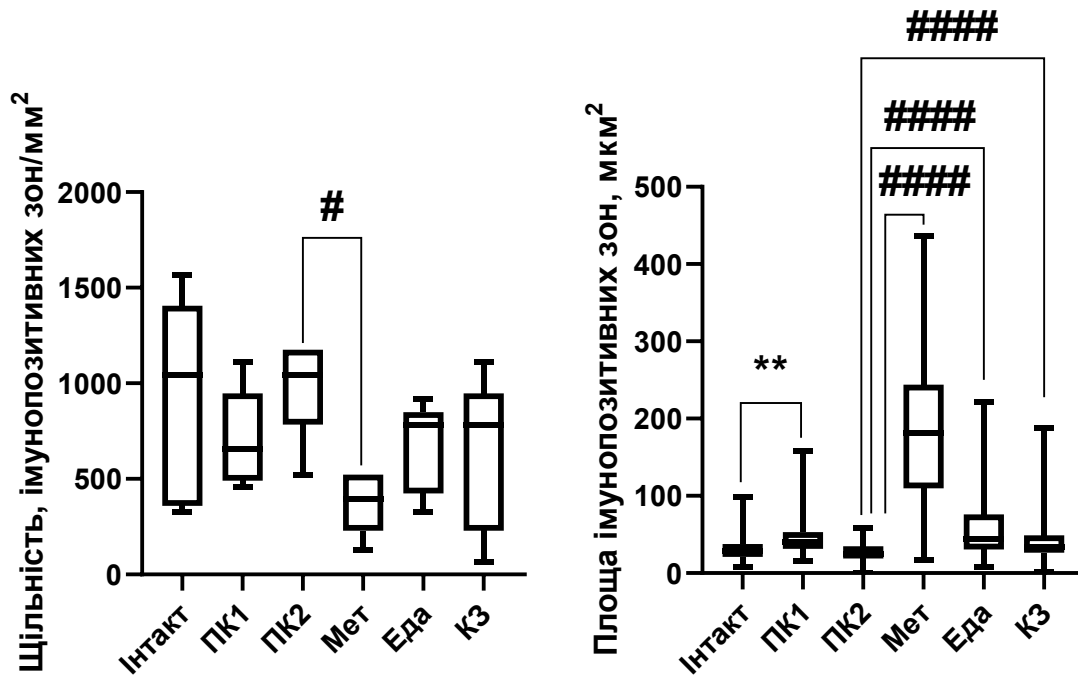


Рис. 6.16. Вплив експериментальних засобів на морфометричні показники експресії VE-кадгерину у тканинах головного мозку щурів з внутрішньомозковим крововиливом за умов цукрового діабету 2 типу, Me (Q1-Q3)

Примітка:

** – $p < 0,01$ – по відношенню до групи пасивного контролю;

– $p < 0,05$; #### – $p < 0,0001$ – по відношенню до групи патологічного контролю 2

Отже, імуногістохімічне дослідження показало, що у щурів із цукровим діабетом 2 типу та внутрішньомозковим крововиливом спостерігалися значні зміни експресії маркерів HIF-1 α , eNOS, GAP43, N-кадгерину та VE-кадгерину, що відображало виражене ушкодження нейросудинної тканини. Метформін знижував експресію HIF-1 α , eNOS і GAP43, покращував міжклітинні контакти шляхом підвищення експресії N-кадгерину та VE-кадгерину, сприяючи відновленню судинної цілісності, едаравон мав подібний, хоча менш виражений ефект, особливо щодо N- і VE-кадгерину. Комбінований засіб виявив суперечливу активність: він не впливав на експресію HIF-1 α , підвищував рівні eNOS та GAP43, що може свідчити про індукцію ензимної та нейропластичної відповіді, однак мав помірний

вплив на покращував експресію N- і VE-кадгерину, що вказує на недостатню ефективність у відновленні міжклітинних контактів і судинної цілісності.

Висновки до розділу:

1. У щурів із цукровим діабетом 2 типу та внутрішньомозковим крововиливом було виявлено виражені патологічні зміни в корі та білій речовині головного мозку, зокрема набряк, посилену гліальну реакцію, демієлінізацію, фрагментацію нейрональних відростків і дегенеративні зміни нейронів. Метформін частково зменшував набряк, гліоз і демієлінізацію, сприяв збереженню цілісності нервової тканини, хоча не впливав на площу поверхні ядер нейронів. Едаравон ефективно зменшував набряк, гліальну реакцію, інтенсивність крововиливу та покращував мієлінізацію, однак при тривалому застосуванні сприяв поглибленню нейродегенеративних змін, що проявлялось фрагментацією аксонів і дендритів та зменшенням площі поверхні нейронів. Комбінований засіб не покращував морфологічні показники, знижував щільність і площу поверхні мієлінових волокон та сприяв найвираженішим проявам нейродегенерації, що вказує на його потенційно несприятливий вплив на структурний стан мозкової тканини.

2. Імуногістохімічне дослідження показало, що у щурів з цукровим діабетом 2 типу та внутрішньомозковим крововиливом спостерігалися значні зміни експресії маркерів тканинного стресу, судинної та нейрональної відповіді. Експресія HIF-1 α була суттєво підвищеною у групах патологічного контролю, особливо при наявності крововиливу, що вказує на виражений гіпоксичний стрес; метформін ефективно знижував рівень цього маркера, едаравон мав помірний ефект, тоді як комбінований засіб залишав експресію незмінною. Рівень eNOS був підвищеним за умов цукрового діабету та крововиливу, що свідчить про активацію судинної відповіді на ушкодження; метформін сприяв її нормалізації, едаравон діяв слабше, а комбінований засіб, навпаки, ще більше підвищував експресію eNOS. Експресія GAP43 істотно не змінювалася між більшістю груп, але її зростання у тварин, що отримували комбінований засіб, може

свідчити про стимуляцію нейропластичних процесів. У групах патологічного контролю експресія N-кадгерину була зниженою, що вказує на порушення міжнейрональних контактів; терапія метформіном і особливо едаравоном частково відновлювала експресію, а комбінований засіб не впливав на щільність забарвлення, проте збільшував площу імунопозитивних зон маркера. VE-кадгерин також був знижений у патологічних умовах, що відображає порушення судинного бар'єру; метформін і едаравон покращували його стан, тоді як комбінований засіб мав лише помірний вплив на відновлення експресії цього маркера.

Матеріали даного розділу відображені в наступних публікаціях:

1. Holubiev, V. L., Oberemok, M. H., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Yu. V., Bondarenko, O. O., Lievykh, A. E., Zhyliuk, V. I. (2024). Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage. *Medicni Perspektivi*, 29(2), 174–186. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690>

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Фармакологічне лікування внутрішньомозкових крововиливів залишається обмеженим за своєю ефективністю. На сьогоднішній день не існує затверджених методів лікування, які б знижували захворюваність і смертність при цій патології [51, 221]. Сучасні стратегії лікування зосереджені на підтримуючому лікуванні, спрямованому на розширення гематоми, купування судом, зменшення набряку мозку та попередження ускладнень, пов'язаних з перебуванням у відділенні інтенсивної терапії [278].

Цукровий діабет 2 типу суттєво впливає на перебіг ВМК через різні механізми. ЦД2 посилює оксидативний стрес, погіршує ліпідний профіль та посилює ендотеліальну дисфункцію при ВМК [222]. Хоча ЦД2 не обов'язково погіршує неврологічний прогноз, він призводить до посилення набряку мозку, та як наслідок до збільшення зміщення структур мозку [550]. Поєднання ЦД2 та ВМК порушує цілісність гематоенцефалічного бар'єру, збільшує набряк мозку та призводить до розширення гематоми [38]. Крім того, ЦД2 сприяє системному запаленню, дисфункції судинного ендотелію, потовщенню капілярної мембрани та підвищенню жорсткості артерій, що потенційно може призвести до гіпертонічного крововиливу [12]. Як ЦД2, так і ВМК можуть погіршувати когнітивні функції через схожі механізми, які можуть бути пов'язані з оксидативним стресом, запаленням та дисфункцією мітохондрій [37]. Антиоксидантних (едаравон), гіпоглікемічних (метформін) та метаботропних засобів (енергетичних субстратів циклу Кребса, таких як бурштинова кислота, коферментів енергетичного обміну, таких як нікотинамід та рибофлавін) здатне вплинути на результати лікування вторинних ушкоджень при гострому внутрішньомозковому крововиливі на тлі цукрового діабету 2 типу.

Виходячи з цього, нами було визначено мету дослідження: експериментальне обґрунтування можливості застосування антиоксидантних (едаравон), метаботропних (комбінований засіб) та гіпоглікемічних засобів (метформін) для оптимізації

корекції розладів та профілактики ускладнень з боку нервової системи при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

Проведені нами дослідження рівню неврологічного дефіциту, дозволили встановити його відсутність при моделюванні цукрового діабету 2 типу та розвиток значного неврологічного дефіциту при індукції гострого ВМК на тлі ЦД 2 типу. Встановлено що едаравон достовірно знижував виразність проявів неврологічного дефіциту у гострому періоді ВМК ($p < 0,05$) – у першу добу на 85,7 %, на четверту на 100 % ($p < 0,05$), тоді як інші засоби не мали достовірного впливу на цей показник. Слід зазначити, що на сьому та десяту добу після індукції ВМК, неврологічний дефіцит був відсутнім, що може вказувати на інтенсивне природне відновлення уражених функцій мозку у щурів.

При проведенні тесту «умовний рефлекс пасивного уникнення» зафіксоване прогресивне зниження показників латентного періоду у групах 2 і 3 на 33,2 % ($p < 0,05$) та на 52,5 % ($p < 0,05$) відповідно відносно групи пасивного контролю. При цьому відсоток щурів без сформованого рефлексу у третій групі склав 71,4 % ($p < 0,05$), що свідчить про гірший ступінь закріплення умовної навички у цих тварин. Курсове введення едаравону характеризувалося зростанням показника латентного періоду у 2,1 раза ($p < 0,05$), збільшенням частки тварин з набутою навичкою в 2,5 рази ($p < 0,05$) відносно до групи патологічного контролю 2 та високим коефіцієнтом антиамнестичної дії препарату, який склав 104,7 %. Інші засоби мали певні антиамнестичні ефекти, хоча і не впливали на тривалість латентного періоду та частку тварин із збереженою навичкою. Ці результати узгоджуються з літературними даними, адже у багатьох експериментальних дослідженнях було продемонстровано негативний вплив ЦД на пам'ять та навчання після ішемічного інсульту [37]. Відмінності в результатах, отриманих у людей і тварин, можуть бути значною мірою пов'язані з розміром і локалізацією гематоми, а також вираженістю набряку головного мозку, що вимагає подальших досліджень. Особливо це може стосуватися залучення гіпокампу у патологічний процес, оскільки відомо, що обидва типи ЦД є незалежним фактором розвитку когнітивних порушень, що, ймовірно, пов'язано з апоптозом нейронів гіпокампу та порушенням синаптичної

пластичності [37]. Експериментально підтверджено, що у тварин, які демонструють довші латентні періоди, з великою ймовірністю формується гіпокамп-залежна контекстна пам'ять [77]. Крім того, у доклінічних моделях ВМК було виявлено, що гіперглікемія ініціює розширення гематоми шляхом активації плазматичного калікреїну, який інгібує агрегацію тромбоцитів [228].

Встановлено, що використані нами препарати порізному впливали на поведінкову активність тварин у тесті «відкрите поле». Зокрема, едаравон більшою мірою підвищував локомоторну, метформін – дослідницьку активність, тоді як при введенні комбінованого засобу спостерігалось достовірне зростання показників локомоторно-дослідницької активності. Жодний з досліджуваних засобів не призводив до значних змін показників, що характеризують емоційну та вегетативну складову поведінки дослідних тварин.

Найімовірніше, що високий нейропротективний потенціал едаравону насамперед реалізується завдяки антиоксидантному потенціалу і, відповідно, впливу на «оксидативний» стрес, що розвивається в тканинах мозку внаслідок дії патогенних факторів [90, 109]. 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 [90]. Наприклад, експериментально визначені нейропротективні властивості едаравону у щурів з епілепсією, в яких препарат пом'якшував зниження рівня експресії мРНК, відповідальних за Nrf2 та білок НО-1 (гемоксигеназа-1), ініційоване каїнатом 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 [230].

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 на культивованих нейронах [270]. В іншому дослідженні показано, що едаравон знижує нейротоксичність пропофолу в гіпокампі, зменшуючи спричинене анестетиком інгібування проліферації, нейроаптозу та нейрозапалення через активацію шляху mBDNF/TrkB/PI3K [480].

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.

Дослідження рівня глюкози в крові показало, що розвиток експериментального цукрового діабету 2 типу у щурів призводив до значного підвищення базальної глікемії, толерантності до глюкози та підвищення рівню глікованого гемоглобіну. Також встановлено, що перебіг супутнього внутрішньомозкового крововиливу не впливав на їх вираженість. За умов застосування метформіну спостерігалось зниження концентрацій глюкози та глікованого гемоглобіну у крові зменшення толерантності до глюкози. Слід зазначити, що едаравон та комбінований засіб не мали значного гіпоглікемічного ефекту та впливу на толерантність до глюкози, але помірно знижували рівень глікованого гемоглобіну.

Високі рівні КПОП, КПП та 8-ОНдГ свідчать про оксидативний стрес у тканині мозку при ЦД 2 типу та підтверджують його важливість у патогенезі когнітивної дисфункції при цій патології [112]. Крім того, було виявлено, що ВМК значно посилює вираженість оксидативного стресу в тканині мозку діабетичних щурів, що може мати негативний вплив як на нейрони, так і на ендотеліальні клітини мікросудин головного мозку.

Відомо, що підвищений рівень глюкози в крові посилює розпад ГЕБ, збільшує вміст води у мозку та призводить до клітинного апоптозу після ВМК [38, 353]. ЦД ще більше ускладнює прогноз при ВМК, порушуючи різні механічні шляхи, що беруть участь у вторинному ушкодженні мозку, включаючи нейрозапальні процеси, оксидативний стрес, судинну дисфункцію та системне запалення [38, 86, 528]. Підвищений окислювальний стрес і нейрозапалення тісно пов'язані

між собою і призводять до дисфункції мікросудинного ендотелію при цукровому діабеті. Більше того, ендотеліальна дисфункція може бути ключовим причинним фактором розвитку ВМК при діабеті [228]. Результати наших попередніх досліджень показали, що розвиток внутрішньомозкового крововиливу у щурів з ЦД2 може посилювати прояви оксидативного стресу, погіршувати ліпідний профіль та поглиблювати ендотеліальну дисфункцію. При цьому патологічний процес може мати характер «порочного кола» [86]. Нами встановлено, що як у щурів з ЦД2, так і у щурів з ЦД2+ВМК глікемічний профіль був достовірно підвищеним порівняно з інтактними тваринами. Поєднана патологія додатково характеризувалася порушенням ліпідного профілю (підвищенням рівня тригліцеридів та зниженням загального холестерину і ліпопротеїдів високої щільності), що призводило до зростання атерогенного індексу плазми крові. Вміст маркерів окисної модифікації білків достовірно збільшувався в обох експериментальних групах. Але у щурів з ЦД2+ВМК рівень КПП був вищим порівняно з інтактними тваринами. Найвищі рівні ендотеліну-1, як біомаркера ендотеліальної дисфункції спостерігалися у тварин з ЦД2+ВМК. Такий ефект не супроводжувався вираженим підвищенням рівня асиметричного диметиларгініну в сироватці крові, хоча й спостерігалася чітка тенденція до нього [222]. Ці зміни були пов'язані з окиснювальною модифікацією білків (ОМБ), зокрема, нейтральних та основних карбонілів (РС370 та РС430), КПП, ішемічно модифікованого альбуміну (ІМА), а також активністю матриксних металопротеїназ ММП2/ММП9 (желатиназ) у щурів з експериментальним ЦД2+ВМК. Ці дані свідчать про те, що ВМК у діабетичних щурів супроводжується підвищенням рівня КПОП, КПП, нейтральних та основних карбонілів (РС370), а також активності матриксних металопротеїназ ММП2/ММП9 (желатиназ) [223]. Відомо, що високий вплив глюкози *in vitro* на ендотеліальні клітини головного мозку людини індукує апоптотичну загибель клітин, опосередковану каспазою-3 через активацію ММП-9 [251].

У нашому дослідженні метформін мав достовірний вплив на маркери оксидативного стресу (КПП, КПОП та 8-ОНдГ), що свідчить про його позитивний вплив на перебіг реакцій вільнорадикального окислення, інтенсифікованих як ЦД,

так і ВМК. Відомо, що метформін зменшує синтез КПП та індуковану гіперглікемією продукцію АФК в ендотелії, а отже, покращує серцево-судинний прогноз [110, 328]. Ці дані узгоджуються з попередніми дослідженнями, які виявили, що метформін при цукровому діабеті, ускладненому гострим внутрішньомозковим крововиливом, мав переваги над периндоприлом щодо ендотеліальної дисфункції. Дія метформіну характеризувалася достовірним зниженням рівнів КПП, ET-1 та vWF. Але ендотеліотропні властивості досліджуваного препарату не були пов'язані з впливом на рівень гомоцистеїну [540]. Імовірно, що його захисні властивості щодо судинного ендотелію відіграють ключову роль у забезпеченні функціонування ГЕБ і таким чином, виявляють нейропротекторні властивості. Однак здатність метформіну проникати через ГЕБ може також забезпечувати його пряму нейропротекторну дію, яка може бути пов'язана з різними механізмами. Зокрема, відомо, що метформін покращує експресію нейротрофічного фактора головного мозку (BDNF) [22]. У нашому дослідженні едаравон мав значний вплив на маркери оксидативного стресу (КПП, КПОП і 8-ОНдГ) в головному мозку. Така дія свідчить про позитивний вплив препарату на перебіг реакцій вільнорадикального окислення, інтенсифікованих як при ЦД, так і при ВМК. Антиоксидантні властивості едаравону, як екзогенного поглинача вільних радикалів відомі давно, а сучасне експериментальне дослідження підтверджує його потенціал при поєднаній патології ЦД+ВМК. Nata і співавт. продемонстрували роль едаравону у зменшенні індукованих гідроксильними радикалами пошкоджень ДНК, особливо у відновленні пошкоджень основ та абазисних ділянок [154]. Також було чітко встановлено захисну роль едаравону проти радіаційно-індукованого окисного пошкодження. Це узгоджується з нашими даними про те, що едаравон знижує рівень маркерів оксидативного стресу 8-ОНдГ та КПП, що свідчить про його широку здатність протидіяти оксидативному пошкодженню за різних патологічних станів.

Комбінований засіб мав протилежний вплив на маркери оксидативного стресу, значно збільшуючи концентрацію КПП та КПОП. Цей ефекти свідчать про потенційний негативний вплив препарату на оксидативний статус та глікацію білків. Подібні результати були отримані при дослідженнях моделей епілепсії, при

яких накопичення сукцинату було пов'язане зі збільшенням окислювального стресу та накопиченням заліза, тоді як інгібування сукцинатдегідрогенази послаблювало ці ефекти та зменшувало тяжкість нападів [514].

Підвищений рівень лактату у щурів з ВМК потребує подальшого вивчення, оскільки може свідчити як про компенсаторну активацію астроглії, так і про прояви лактат-ацидозу.

Фактор некрозу пухлин-альфа є головним регулятором системних і нейрональних запальних процесів. Він бере участь у патогенезі багатьох захворювань центральної нервової системи, включаючи церебральну ішемію, хворобу Паркінсона та черепно-мозкову травму (ЧМТ). У нашому дослідженні перебіг як цукрового діабету 2 типу, так ВМК на тлі ЦД2 супроводжувався значним підвищенням концентрації TNF- α . Подібні результати були отримані і у інших наукових працях. Так, повідомляється, що рівень TNF- α швидко підвищується після ЧМТ і потенційно може призвести до вторинного ушкодження нейронів. Відомо, що TNF- α бере участь у відстроченій загибелі нейрональних клітин та гліозі, які виникають після черепно-мозкової травми, що призводить до когнітивного дефіциту. У той же час, фармакологічне обмеження підвищення рівня TNF- α протягом 12 годин після події черепно-мозкової травми помітно зменшує таке вторинне ушкодження і призводить до покращення когнітивних результатів [46, 196]. Підвищення перигематомного рівня TNF- α сприяє формуванню набряку мозку після ВМК [164]. Підвищення плазмової концентрації рецепторів фактора некрозу пухлин ФНП пов'язане з випадками ВМК, найбільше – з ВМК нелобарної локалізації. Також існує вірогідність того, що запалення, опосередковане TNF- α , може бути пов'язане з судинними змінами, що передують ВМК [364]. Стимуляція продукції та активності різних факторів запалення, ймовірно, може бути ініційована не тільки оксидативним стресом, але й ФНП- α . Регуляція матриксних металопротеїназ, особливо ММП-9, відіграє вирішальну роль у розвитку патологічних процесів у ЦНС. ММП-9 є маркером запалення, що викликає ряд розладів ЦНС, в тому числі нейродегенерацію. Як експериментальні, так і клінічні дослідження показують, що рівень ММП підвищується після гострого ВМК. Вони вивільняються в зону

ушкодження мозку різними клітинами, включаючи активовану мікроглію, лейкоцити, астроцити, нейрони та ендотеліальні клітини. Експресія ММП зростає рано після ВМК: рівень ММП у мозку та сироватці крові досягає піку протягом перших днів і залишається високим впродовж першого тижня після розвитку гематоми. Надмірна експресія специфічних ізоформ ММП відіграє певну роль у розвитку вторинного ушкодження мозку. Сприяючи втраті цілісності судин, підвищуючи проникність судинних стінок, активуючи запальну реакцію та клітинну загибель, ММП сприяють порушенню кровообігу, поширенню набряку, збільшенню об'єму гематоми та втраті нейронів. Загалом, дані експериментальних досліджень свідчать про те, що раннє та короткочасне пригнічення ММП після ВМК може бути ефективною стратегією для зменшення ушкодження головного мозку та покращення результатів, тоді як довготривале лікування може бути пов'язане з більшою шкодою, ніж з користю [202, 205]. У нашому попередньому дослідженні едаравон зменшував окислювальну модифікацію білків і модулював активність ММП2 і ММП9 у сироватці крові щурів з експериментальним ЦД2, ускладненим колагеновою ВМК [223]. Цей взаємозв'язок можна пояснити тим, що ФНП- α , ключовий запальний цитокін, та оксидативний стрес, як відомо, індукують транскрипцію та активацію ММП [202]. ФНП- α , поряд з іншими прозапальними цитокінами, такими як IL-6, IL-1 β та IL-18, бере участь у регуляції експресії ММП [204]. Здатність едаравону знижувати маркери оксидативного стресу та запальні цитокіни, показана в нашому поточному та попередніх дослідженнях, дозволяє припустити, що він може опосередковано модулювати ММП через ці шляхи. Зниження активності ММП може призвести до зменшення деградації матриксу, що підкреслює нейропротекторну дію едаравону при поєднаній патології ЦД2 та ВМК. Ця складна взаємодія між окислювальним стресом, запаленням і ММП може пояснити, як едаравон зменшує ушкодження тканин і запальні реакції.

Всі дослідженні засоби виявили здатність до зниження інтенсивності процесів нейрозапалення, проявом чого було зменшення концентрації фактора некрозу пухлин- α у головному мозку. Найефективнішим щодо зниження рівня TNF- α був едаравон – на 46,3 % ($p < 0,05$) порівняно з групою 3. Значне зниження рівнів

TNF- α у тканині головного мозку є одним з основних можливих механізмом дії едаравону на пригнічення проявів нейрозапалення при поєднаній патології ЦД2+ВМК. Для пацієнтів з ішемічним інсультом едаравон покращує неврологічну функцію та якість життя, знижуючи рівні сироваткового TNF- α та IL-8 без значних побічних реакцій [217]. Крім того, едаравон захищає від фероптотичної загибелі клітин *in vitro*, пригнічуючи рівні заліза (II) та ліпідних пероксидів, навіть за умов дефіциту цистину, які зазвичай призводять до виснаження глутатіону [159].

Комбінований засіб та метформін забезпечували зниження показника TNF- α в однаковій мірі - на 33,3 % ($p < 0,05$) та 30,9 % ($p < 0,05$) відповідно. У моделях ЧМТ застосування метформіну зменшувало нейрозапалення, покращувало когнітивні функції та знижувало біомаркери ушкодження мозку [104, 375]. Ефективність препарату пов'язана з його здатністю змінювати поляризацію мікроглії з фенотипу M1 на M2 та інгібувати активацію інфламасоми NLRP3 через механізми, залежні від AMPK [134]. Також відомо, що бурштинова кислота здатна пригнічувати анафілаксію, залежну від опасистих клітин, та вивільнення гістаміну, зменшуючи при цьому секрецію ФНП- α з опасистих клітин [192].

З огляду на зростаючий інтерес до ролі TNF- α в ініціюванні та модуляції нейрозапалення, що може сприяти прогресуванню гострих і хронічних неврологічних розладів, наше дослідження підкреслює цінність таргетування TNF- α як стратегії лікування травми головного мозку, особливо для нейропротекції після ВМК.

У ході експерименту встановлено, що моделювання цукрового діабету 2 типу (ЦД2) асоціюється зі зниженням вмісту нейротрофічного фактору головного мозку (BDNF). Так, у неокортексі тварин другої групи концентрація BDNF була нижчою на 36,1 % ($p = 0,07$) порівняно з інтактною групою, а на тлі внутрішньомозкового крововиливу (ВМК) в умовах ЦД2 показник знижувався вже на 51,9 % ($p < 0,05$), що свідчить про суттєве пригнічення нейротрофічної підтримки. Ці результати узгоджуються з даними літератури, де постійно спостерігаються нижчі рівні BDNF у сироватці пацієнтів з ЦД2 порівняно зі здоровими особами [126,

254]. Інші дослідження показують, що ВМК може призводити як до підвищення експресії мРНК BDNF в іпсилатеральній моторній корі, що корелює з функціональним відновленням, так і до пригнічення просторового навчання та пам'яті внаслідок зниження експресії BDNF та нейроглобіну [146, 170]. Водночас, метформін – поширений антидіабетичний препарат – здатен модулювати експресію BDNF. Зокрема, *in vitro* дослідження демонструють, що він регулює рівень BDNF через AMPK/CREB-шлях в ендотеліальних клітинах, оброблених високою глюкозою [2018]. Обчислювальні та епідеміологічні дослідження також припускають активацію BDNF шляхом зв'язування APP з PRKAB1, а клінічні спостереження підтверджують зростання BDNF у сироватці крові після лікування метформіном [26, 115]. Також препарат активує PI3K/АКТ-сигнальний шлях, що призводить до підвищення експресії BDNF. Цікаво, що рівні основних метаболітів циклу Кребса (лимонна, бурштинова, фумарова, яблучна кислоти та їх аналоги) позитивно корелювали з активністю BDNF [140]. Позитивний вплив на нейротрофічну систему демонструє і розиридин, лікування яким супроводжувалося покращенням поведінкових параметрів (у тестах на координацію та пам'ять), а також зниженням рівнів прозапальних маркерів, окислювального стресу, нітритів та ацетилхолінестерази, з одночасним підвищенням BDNF [13].

Гліальний фібрилярний кислий білок (GFAP) є важливим структурним компонентом астроцитів, який бере участь у формуванні реактивного фенотипу у відповідь на пошкодження ЦНС [62, 157]. У нашому дослідженні перебіг ЦД2 супроводжувався статистично значущим підвищенням рівня GFAP на 25,4 % ($p < 0,05$), що можна трактувати як прояв компенсаторної активації астроглії. В умовах ВМК на тлі ЦД2 вміст GFAP у пошкодженій півкулі зростав додатково на 14,4 % порівняно з патологічним контролем 1 та на 43,5 % – порівняно з хибнооперованою групою ($p < 0,05$), що свідчить про розвиток вираженого реактивного астрогліозу.

Курсове застосування як метформіну, так і едаравону знижувало рівень GFAP на 32,7 % та 29,3 % відповідно ($p < 0,05$) щодо патологічного контролю, до значень, які статистично не відрізнялися від інтактної групи. Натомість комбіно-

ваний засіб не чинив істотного впливу на рівень цього маркера (табл. 5.3; рис. 5.3). Згідно з літературними даними, підвищення GFAP асоціюється з нейрокогнітивними розладами при діабеті і може виступати периферичним маркером дисфункції ЦНС [34]. Крім того, аутоантитіла до GFAP реєструються при діабеті 1-го і 2-го типу, що дозволяє розглядати їх як потенційні біомаркери [276]. Підвищення GFAP у сироватці також пов'язане з тяжчим перебігом ВМК та може відрізнити ВМК від ішемічного інсульту [203, 235]. Метформін, згідно з даними Oliveira та співавт., знижує експресію GFAP і маркерів запалення у діабетичних мишей, водночас покращуючи просторову пам'ять [271]. Аналогічно, едаравон зменшував експресію GFAP у моделях епілептичного статусу і гідроцефалії, що свідчить про його нейропротекторний потенціал [307, 430].

Молекула адгезії нервових клітин (NCAM) також є важливим нейроспецифічним маркером. Цей глікопротеїн відіграє ключову роль у розвитку та пластичності нервової системи, сприяючи диференціації нейронів, росту аксонів і дендритів, а також міжклітинним взаємодіям [208, 310]. Дослідження на передчасно народжених немовлятах з постгеморагічною гідроцефалією показало підвищення рівня NCAM-1 у спинномозковій рідині, що корелювало з гіршими когнітивними та моторними результатами, вказуючи на потенціал NCAM як біомаркеру тяжкості ушкодження [224]. У нашому дослідженні лікарські засоби не мали достовірного впливу на вміст NCAM у головному мозку щурів.

Аквапорини є інтегральними мембранними білками, які утворюють пори в клітинній мембрані і є важливими для забезпечення транспорту води [10]. На сьогоднішній день відомі 13 типів цих білків, які широко представлені у тканинах та органах організму людини [35, 465]. Аквапорин-1 і аквапорин-4 є основними водними каналами в головному і спинному мозку, а аквапорин-1 локалізується у різних структурах мозку, включаючи хоріоїдальне сплетіння та м'яку оболонку головного мозку [95, 309]. У нашому дослідженні моделювання цукрового діабету 2 типу призводило до підвищення рівню аквапорину-1 у головному мозку щурів на 46 % ($p < 0,01$), а індукція внутрішньомозкового крововиливу на тлі ЦД2 типу призводила до подальшого збільшення експресії протеїну (+81,4 %, $p < 0,01$). Фо-

рмування набряку мозку після ішемічного чи геморагічного інсультів може бути пов'язане з аквапорином-4, експресія якого значно зростає [363, 377, 465]. Водночас, експериментально визначено, що супутня гіперглікемія порушує регуляцію експресії аквапорину-4, що супроводжується посиленням вазогенного набряку мозку та більш вираженим руйнуванням гематоенцефалічного бар'єру [86]. Також відомими є експериментальні дані щодо аквапорину-1 і його ролі у формуванні посттравматичного набряку головного мозку [296]. Встановлено, що курсове внутрішньошлункове введення метформіну протягом 20 діб асоціювалося із статистично значимим зниженням вмісту аквапорину-1 на 31,7 % ($p < 0,01$) у гомогенатах ураженої півкулі головного мозку у порівнянні з групою патологічного контролю 2. Цей ефект може свідчити про нейропротекторну дію метформіну, який, ймовірно, знижує запальні реакції або покращує функціонування бар'єрних структур мозку. Також лікування метформіном послаблювало експресію білка AQP4 у культивованих астроцитах. Такий ефект пов'язаний з активацією AMPK та інгібуванням NF- κ B. Нарешті, лікування метформіном дозозалежно зменшувало гліомаіндуковану судинну проникність та набряк мозку *in vivo* у щурів. Таким чином, наші результати свідчать про те, що метформін може захищати ендотеліальні клітини, запобігати пошкодженню гематоенцефалічного бар'єру, спричиненому ростом пухлини головного мозку, та зменшувати утворення набряку головного мозку. Крім того, оскільки утворення цитотоксичного набряку та експресія AQP4 позитивно корелюють, наші результати вказують на те, що метформін може зменшувати утворення цитотоксичного набряку. Однак, враховуючи ключову роль AQP4 у патогенезі набряку головного мозку, пригнічення експресії маркера метформіном може зменшити прояви цього патологічного стану. Отже, майбутні дослідження будуть необхідні для вивчення специфічних механізмів дії метформіну, що лежать в основі динаміки пухлинно-індукованого набряку мозку *in vivo* [519]. Комбінований засіб та едаравон не мали достовірного впливу на рівень цього маркера.

При гістологічному дослідженні тканин головного мозку тварин групи патологічного контролю 1 спостерігався легкий набряк і сателітоз нейронів, але

морфометричні показники (щільність ядер) істотно не змінювались ($p > 0.05$). У патологічному контролі 2 (цукровий діабет 2 типу + ВМК) виявлялись типові ушкодження: набряк, наявність гемосидерину, мікрогліальна реакція, сателітоз, скупчення макрофагів. Площа поверхні нейронів знижувалась на 30,66 % ($p < 0.01$), спостерігалась тенденція до збільшення площі клітин у групі порівняно з пасивним контролем ($p = 0.08$).

Метформін частково покращував стан тканин: зменшував набряк, крововилив і гліоз, не змінюючи площу ядер. Едаравон демонстрував виражений нейропротекторний ефект – зменшував гліальну реакцію, інтенсивність ураження, знижував щільність ядер удвічі ($p < 0.05$), однак не впливав на площу ядер ($p > 0.05$). Комбінований засіб мав найменшу ефективність: морфологічні та морфометричні показники не відрізнялись від показників патологічного контролю 2 ($p > 0.05$).

У діабетичних щурів фіксувались порушення мієлінізації – фрагментація аксонів, демієлінізація, скупчення глії [63, 99, 419]. Подібні ураження білої речовини спостерігаються й при ВМК – вони корелюють з когнітивними порушеннями [124]. Після ВМК активується проліферація клітин-попередників олігодендроцитів (КПО), що сприяє ремієлінізації [181]. Метформін стимулює цей процес у дорослих КПО, але пригнічує – у дитячих [548]. У моделях демієлінізації препарат зменшував запалення, активував регенерацію через СВР Ser436, покращував ремієлінізацію й поведінку тварин [136, 193, 262], що підтверджує його потенціал як ремієлінізуючого засобу у дорослому віці. Позитивний вплив едаравону на стан мієлінових волокон у нашому дослідженні можна пояснити виразним пригніченням перикисного окиснення ліпідів внаслідок ефективного поглинання препаратом вільних радикалів та як наслідок, попередженням демієлінізації нервових волокон [551].

При забарвленні сріблом тканин головного мозку діабетичних тварин спостерігалися нейрофібрилярні клубки, фрагментація аксонів, пікноз ядер, порушення орієнтації волокон. У групі патологічного контролю 2 ці зміни були найбільш вираженими: щільність нейронів зросла в 2,75 раза ($p < 0,001$), площа поверхні нейронів зменшилась на 77,33 % ($p < 0,001$).

Метформін сприяв покращенню морфологічної картини: зменшував фрагментацію, збільшував показник площі поверхні нейронів у 2,68 рази ($p < 0,05$), знижуючи їхню щільність на 54,54 % ($p < 0,001$). Натомість, едаравон не забезпечував покращення: спостерігались виражені дегенеративні зміни, зниження площі поверхні нейронів на 54,57 % ($p < 0.0001$), а щільність нейронів мала тенденцію до збільшення ($p = 0.05$). Комбінований засіб посилював ураження: щільність нейронів зросла на 90,95 % ($p < 0.0001$), площа поверхні нейронів зменшилась на 44,37 % ($p < 0.001$).

Хоча едаравон є перспективним антиоксидантом, у моделі ішемії-реперфузії він не сприяв нейрогенезу у підшлуночковій зоні (ПШЗ): пригнічував проліферацію клітин, знижував рівні АФК, HIF-1 α та VEGF [508]. Це може пояснювати відсутність нейрорегенераторного ефекту при ВМК на тлі цукрового діабету.

У низці досліджень виявлено посилення експресії HIF-1 α в іпсилатеральній корі після черепно-мозкової травми (ЧМТ). Зокрема, Лі та співавт. показали значне підвищення експресії HIF-1 α у нейронах, але не в астроцитах, мікроглії або олігодендроцитах, а TUNEL-аналіз підтвердив його зв'язок з апоптозом нейронів [210]. У пацієнтів з внутрішньомозковими крововиливами (ВМК) рівні HIF-1 α корелювали з тяжкістю ураження та гіршим прогнозом на 90-й день [65]. HIF-1 α також регулює запальні реакції при ішемії, зокрема шляхом активації інфламасоми NLRP3, що впливає на апоптоз і піроптоз [180]. Його активація зменшує ушкодження мозку, пригнічуючи прозапальні фактори (iNOS, TNF- α , NF- κ B) та посилюючи продукцію IL-10 [24].

Метформін пригнічує HIF-1 α у фібробластах, асоційованих із раком, через активацію АМПК, що веде до деградації HIF-1 α і зниження продукції SDF-1 і IL-8 [332]. Також метформін знижує експресію IL-1 β при тривалому впливі LPS шляхом зменшення ROS і підвищення IL-10 [286]. Едаравон здатний зменшувати запалення при ревматоїдному артриті, пригнічуючи вісь HIF-1 α –VEGF–ANG-1 [227].

Серед ендотеліальних маркерів важливе місце займає eNOS. Після ЧМТ було виявлено її індукцію у мікросудинах поблизу зони ушкодження, що сприяє ро-

зладам бар'єрної функції [87]. Едаравон, зменшуючи продукування гідроксильних радикалів і експресію нейрональної NOS, проявляє нейропротекторні ефекти при ішемії [187]. У пацієнтів із ЦД2 спостерігається знижена експресія eNOS та підвищений рівень iNOS [147]. Також повідомлялося про ранню регуляцію eNOS і зниження L-аргініну в спинномозковій рідині після ВМК, що пов'язане з гіршим прогнозом [239]. Метформін сприяє підвищенню eNOS і зменшенню ендотеліну-1, що опосередковує його судинозахисну дію при ЦД2 [245, 337].

Іншим показником ураження є пресинаптичний білок GAP43. Його експресія значно зростає у відповідних ділянках кори й гіпокампа після ЧМТ, що пов'язують із порушеннями локомоторної активності та пам'яті [166]. У нашому дослідженні достовірний вплив на експресію цього маркера мало введення комбінованого засобу, яке сприяло її значному збільшенню, що може свідчити про потенційний негативний вплив на когнітивну сферу.

Кадгерини, зокрема N- та VE-кадгерин, відіграють ключову роль у клітинних взаємодіях та бар'єрній функції. Експресія N-кадгерину зростає в астроцитах зони гліального рубця після ЧМТ, що свідчить про його участь у формуванні та стабілізації гліального рубця [409]. Також підвищення N-кадгерину виявлено у пацієнтів із діабетичною нефропатією [19, 323]. Ці спостереження підтверджуються отриманими нами результатами. У нашому дослідженні всі експериментальні засоби частково відновлювали нормальний патерн експресії N-кадгерину.

VE-кадгерин, ключовий компонент адгезивних контактів, забезпечує цілісність гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ). Його фосфорилування, зокрема по Tyr731, порушує бар'єрну функцію, а зниження клаудину-5 також супроводжується розпадом ГЕБ [52]. У моделі ВМК було показано, що інтерналізація VE-кадгерину, спричинена VEGF-сигналізацією, пов'язана з розвитком гідроцефалії, тоді як метформін зменшував її вираженість, підвищуючи експресію VE-кадгерину [547]. Метформін також запобігав VE-кадгерин-асоційованій дисфункції в ендотеліальних клітинах при дії високого рівня глюкози, хоча не скасував ефекти інгібування протеїнфосфатази 2A [17, 20, 386]. Його здатність підтримувати VE-кадгерин у складі міжэндотеліальних з'єднань вказує на потенціал у збере-

женні цілісності ГЕБ. Едаравон також здатний впливати на VE-кадгерин. У клітинах мікросудин він зменшував гіперпроникність, індуковану цитокінами, завдяки підвищенню експресії VE-кадгерину, що свідчить про його бар'єрозахисні властивості [313].

Проведений порівняльний системний аналіз активностей досліджуваних препаратів вказує на те, що курсове введення метформіну та едаравону найбільшою мірою зменшує патологічні та посилює фізіологічні процеси в головному мозку при спонтанному внутрішньомозковому крововиливі на тлі цукрового діабету 2 типу (табл. 7.1).

Отримані результати, їх узагальнення та аналіз можуть слугувати експериментально-теоретичним обґрунтуванням для подальшої розробки диференційованого підходу до медикаментозної терапії когнітивної дисфункції та вторинних уражень головного мозку, які виникають при внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

Таблиця 7.1

Системний аналіз видів фармакологічної активності досліджуваних засобів при внутрішньомозковому крововиливі за умов експериментального цукрового діабету 2 типу

| Вид активності / Препарат | Неврологічний дефіцит (mNSS) | Умовно-рефлекторна активність (УРПУ) | Рухово-дослідницька активність (відкрите поле) | Метаболічні зміни (глюкоза, HbA1c, лактат) | Оксидативний стрес (КПГ, КПОП, 8-ОНДГ) | Нейрозапалення (TNF- α) | Нейрогенез (BDNF, NCAM, загальні морфологічні методи) | Синаптична пластичність (GAP43, N-кадгерин) | Активність глії (GFAP) | Набряк мозку (AQP1) | Ендотеліопротективна дія (eNOS, VE-кадгерин) | Антигіпоксична дія (HIF-1 α) |
|---------------------------|------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------|---------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------|
| Метформін | 0 | 0 | ↑ | ↓ | ↓↓ | ↓ | ↑ | ↑ | ↓ | ↓↓ | ↑ | ↑ |
| Едаравон | ↓ | ↑ | ↑ | 0 | ↓↓ | ↓ | 0 | 0 | ↓ | 0 | 0 | ↑↑ |
| Комбінований засіб | 0 | 0 | ↑ | 0 | ↑ | ↓ | ↓ | ↑↑ | 0 | 0 | 0 | 0 |

Примітка: ↑↑/ ↓↓ - середня; ↑/ ↓ - помірна; 0 – відсутня.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено експериментальне вирішення актуального завдання сучасної фармакології – встановлення особливостей перебігу внутрішньомозкового крововиливу за умов цукрового діабету 2 типу, а також теоретичне обґрунтування доцільності застосування метформіну, едаравону та комбінованого засобу (сукцинат/інозин/нікотинамід/рибофлавін) для фармакологічної корекції ушкоджень мозкової тканини, спричинених поєднанням цих патологій.

1. Раннє курсове, протягом 10 днів, внутрішньочеревинне введення едаравону, запобігає розвитку неврологічного дефіциту ($-85,7\%$ на першу добу, -100% на четверту добу, $p < 0,05$), порушень пам'яті (збільшення показника ЛПІ у 2,1 рази ($p < 0,05$) та зменшення частки тварин із відсутньою навичкою у 2,5 рази ($p < 0,05$), $K_{Aa} = 104,7\%$) і поведінки у щурів (горизонтальна активність зростала у 2 рази ($p < 0,05$), вертикальна активність у 3,8 рази ($p < 0,05$), дослідницька активність у 2,7 рази, ($p < 0,05$)), спричинених гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. На відміну від едаравону, метформін (підвищення дослідницької активності в 3,5 рази, $p < 0,05$; $K_{Aa} = 79,03\%$) та комбінований засіб (підвищення горизонтальної активності в 1,7 рази ($p < 0,05$) та заглядань у нірки в 2,9 рази ($p < 0,05$), $K_{Aa} = 88,11\%$) значно не впливають на неврологічний дефіцит і тривалість латентного періоду в тесті УРПУ та чинять менш виразний вплив на показники локомоторно-дослідницької активності в тесті «відкрите поле», хоча і мають певний рівень антиамнестичної активності за умов гострого ВМК на тлі ЦД 2 типу.

2. Всі досліджені засоби мали помірну ефективність у корекції вмісту глікованого гемоглобіну (метформін $-29,21\%$ ($p < 0,01$), едаравон $-18,3\%$ ($p < 0,05$), комбінований засіб $-19,80\%$ ($p < 0,05$)), тоді як гіпоглікемічна активність була притаманна виключно метформіну (зниження рівню глюкози крові та ППК глікемії на $22,76\%$ ($p < 0,05$) та $23,94\%$ ($p < 0,05$)). Метформін (КПГ $-29,1\%$ ($p < 0,001$), КПОП $-24,9\%$ ($p < 0,01$), 8-ОНдГ $-29,3\%$ ($p < 0,05$)) та едаравон (КПГ $-20,7\%$ ($p < 0,01$), КПОП $-28,3\%$ ($p < 0,01$), КПОП $-28,3\%$ ($p < 0,01$)) продемон-

стрували виражені антиоксидантні ефекти, тоді як комбінований засіб навпаки сприяв накопиченню продуктів окиснення. Всі досліджені засоби не мали значного впливу на рівень лактату.

3. Метформін продемонстрував найбільш виражену нейропротекторну дію, знижуючи рівні TNF- α ($-30,9\%$, $p < 0,05$), аквапорину-1 ($-31,7\%$, $p < 0,01$) і GFAP ($-32,7\%$, $p < 0,05$), а також підвищуючи вміст BDNF ($+36,9\%$, $p < 0,05$) що вказує на його перспективність для корекції нейрозапальних та нейротрофічних порушень. Комбінований засіб також мав позитивний вплив на рівень BDNF ($+64,4\%$, $p < 0,05$) та TNF- α ($-33,3\%$, $p < 0,05$), проте не демонстрував достовірного впливу на GFAP. Едаравон показав виражений протизапальний ефект знижуючи рівень TNF- α на $43,6\%$ ($p < 0,05$) та обмежену ефективність у регуляції експресії нейроспецифічних протеїнів, проте сприяв зниженню рівня GFAP ($-29,3\%$, $p < 0,05$). Водночас, він не впливав на рівень BDNF і NCAM, що свідчить про його вибіркочу дію, яка потребує подальшого вивчення.

4. Метформін частково зменшував набряк і гліальну реакцію, не впливаючи на щільність розподілу та площу поверхні ядер нейронів. Метформін частково відновлював структуру мієлінових волокон, зменшуючи демієлінізацію та фрагментацію нервових волокон, сприяв зменшенню дегенеративних змін у тканинах головного мозку. Едаравон показав найвищу ефективність у зменшенні набряку, гліальної реакції, щільності ядер нейронів (у 2 рази, $p < 0,05$) та інтенсивності крововиливу, значно покращував показники мієлінізації (площа поверхні мієлінізованих волокон зростала на $82,35\%$ ($p < 0,0001$)) що свідчить про його нейропротекторні властивості. Комбінований засіб не продемонстрував суттєвого впливу на морфологічні показники порівняно з іншими досліджуваними групами. Для едаравону (зниження площі поверхні нейронів на $54,57\%$, $p < 0,0001$) та комбінованого засобу (збільшення щільності нейронів на $90,95\%$ ($p < 0,0001$), зниження площі поверхні нейронів на $44,37\%$ ($p < 0,001$)) був притаманний обмежений негативний вплив на структуру нервових тканин.

5. Метформін значно знижував рівень експресії HIF-1 α (зниження щільності імунопозитивних зон на $68,36\%$ ($p < 0,01$)) та eNOS (зниження щільності імунопо-

зитивних зон на 66,67 %), підвищував експресію N-кадгерину (площа імунопозитивних зон зростала на 25,71 % ($p < 0,01$) та VE-кадгерину (збільшення площі імунопозитивних зон у 7,31 раза ($p < 0,05$)) не впливаючи на рівень GAP43. Едаравон мав подібні ефекти (HIF-1 α : зниження щільності та площі імунопозитивних зон на 62,03 % ($p < 0.01$) та 38,40 % ($p < 0.01$) відповідно, N-кадгерину (зростання площі імунопозитивних зон на 49,60 % ($p < 0,05$), VE-кадгерину (зростання площі імунопозитивних зон на 79,26 % ($p < 0,0001$)) за виключенням впливу на eNOS. Комбінований засіб не мав впливу на вираженість експресії HIF-1 α , сприяв підвищенню експресії GAP43 (щільність імунопозитивних зон зростала на 87,5 % ($p < 0,01$)), мав помірний позитивний вплив на вміст кадгеринів: N-кадгерин – збільшення площі імунопозитивних зон на 49,20 % ($p < 0,001$); VE-кадгерин – зростання площі імунопозитивних зон на 35,72 % ($p < 0,0001$).

6. Проведений порівняльний аналіз фармакологічної активності досліджуваних засобів показав переваги метформіну та едаравону як засобів фармакологічної корекції розладів головного мозку при спонтанному внутрішньомозковому крововиливі за умов експериментального цукрового діабету 2 типу.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При поєднаному перебігу цукрового діабету 2 типу та гострого внутрішньомозкового крововиливу є доцільним раннє призначення едаравону з нейропротекторною метою, оскільки він знижує вираженість неврологічного дефіциту, порушень поведінки, когнітивних функцій, а також покращує морфофункціональний стан нервової тканини.

2. При поєднаному перебігу цукрового діабету 2 типу та гострого внутрішньомозкового крововиливу є доцільним раннє призначення метформіну, у зв'язку з його гіпоглікемічною, антиоксидантною та нейропротекторною дією, зокрема позитивним впливом на нейрозапалення, стан мієлінових волокон, судинну реакцію та експресію клітинних адгезивних молекул.

3. Комбінований засіб, що містить сукцинат, інозин, нікотинамід і рибофлавін, не рекомендований як самостійний засіб для корекції наслідків ВМК у пацієнтів із ЦД 2 типу, зважаючи на його обмежену ефективність у зменшенні нейрозапалення, можливість посилення оксидативного стресу та патологічних змін у мозковій тканині.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. [Без автора]. (2003). Етика лікаря та права людини: Положення про використання тварин у біомедичних дослідках. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія, 2 (22), 108–109.
2. Западнюк, И. П., Западнюк, В. И., Захария, Е. А., & Западнюк, Б. В. (1983). Лабораторные животные: Разведение, содержание, использование в эксперименте. Вища школа.
3. Калуев, А. В. (1999). Проблемы изучения стрессового поведения.
4. Кожем'якін, Ю. М., Хромов, О. С., Філоненко, М. А., & Сайретдінова, Г. А. (2002). Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Авіцена
5. Манухина, Е. Б., Пшенникова, М. Г., Горячева, А. В., Хоменко, И. П., Машина, С. Ю., Покидышев, Д. А., & Downey, Н. F. (2008). Роль оксида азота в предупреждении когнитивных нарушений при нейродегенеративном повреждении мозга крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 146 (10), 371–375.
6. Пашковська, Н., & Пашковський, В. (2018). Цукровий діабет і мозковий інсульт: сучасний погляд на проблему. *МІЖНАРОДНИЙ ЕНДОКРИНОЛОГІЧНИЙ ЖУРНАЛ (Україна)* 14(4), 298–309. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.14.4.2018.140181>
7. Разумовская, М. А., Мурзина, Г. Б., & Островская, Р. У. (2018). Модуляция ноопептом и пирацетамом никотиновых рецепторов нейронов виноградной улитки. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*, 68 (4), 537–548
8. Стефанов, О. В. (2002). Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації. Авіцена

9. Abe, C., Miyazawa, T., & Miyazawa, T. (2022). Current Use of Fenton Reaction in Drugs and Food. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *27*(17), 5451. <https://doi.org/10.3390/molecules27175451>
10. Adeoye, A., Odugbemi, A., & Ajewole, T. (2021). Structure and Function of Aquaporins: the Membrane Water Channel Proteins. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *12*(1), 690–705.
11. Aderinto, N., Olatunji, G., Kokori, E., Fawehinmi, P., Moradeyo, A., Igwe, S., Ojabo, R., Alabi, B. O., Okafor, E. C., Ologbe, D., Olafimihan, A., & Olawade, D. B. (2024). Metformin mitigates dementia risk among individuals with type 2 diabetes. *Clinical diabetes and endocrinology*, *10*(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s40842-024-00168-7>
12. Adjepong, D. (2020). The effects of diabetes type II in hypertensive thalamic hemorrhage: a review. *Surgery Current Trends and Innovations*, *4*(1), 1–4. <https://doi.org/10.24966/scti-7284/100029>
13. Afzal, M., Sayyed, N., Alharbi, K. S., Alzarea, S. I., Alshammari, M. S., Alomar, F. A., Alenezi, S. K., Quazi, A. M., Alzarea, A. I., & Kazmi, I. (2022). Anti-Huntington's Effect of Rosiridin via Oxidative Stress/AchE Inhibition and Modulation of Succinate Dehydrogenase, Nitrite, and BDNF Levels against 3-Nitropropionic Acid in Rodents. *Biomolecules*, *12*(8), 1023.
14. Ahmad, E., Lim, S., Lamptey, R., Webb, D. R., & Davies, M. J. (2022). Type 2 diabetes. *Lancet (London, England)*, *400*(10365), 1803–1820. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01655-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01655-5)
15. Al-Khlaiwi, T., Habib, S. S., Al-Khliwi, H., Alsomali, A., Almushawah, A., Alhumud, M., Alorainy, J., & Habib, S. M. (2023). Relationship of serum inducible and endothelial nitric oxide synthase with exercise in healthy adult males and patients with type 2 diabetes mellitus. *European review for medical and pharmacological sciences*, *27*(10), 4619–4625.
16. Alayash, A. I. (2022). Oxidation reactions of cellular and acellular hemoglobins: Implications for human health. *Frontiers in Medical Technology*, *4*, 1068972. <https://doi.org/10.3389/fmedt.2022.1068972>

17. Alenazi, F., Schmidt, R., Schroder, C., Girgis, R., Klein, M., Hufnagl, K., & Spiers, P. (2023). 14 Metformin does not reverse the effect of pharmacological inhibition of protein phosphatase 2A on VE-cadherin in human microvascular endothelial cells. *Abstracts*, A5.1-A5. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-scf-2023.14>
18. Ali, A., Kumar, M., Srivastava, N., Khan, M. M., & Khan, M. A. (2023). FREE RADICALS AND DIABETES MELLITUS. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine*, 8(3), 1–19. <https://doi.org/10.47760/ijpsm.2023.v08i03.001>
19. Ali, H., Abu-Farha, M., Hammad, M. M., Devarajan, S., Bahbahani, Y., Al-Khairi, I., Cherian, P., Alsairafi, Z., Vijayan, V., Al-Mulla, F., Attar, A. A., & Abubaker, J. (2022). Potential Role of N-Cadherin in Diagnosis and Prognosis of Diabetic Nephropathy. *Frontiers in endocrinology*, 13, 882700.
20. Ali, S., Doan, D., Ojong, T., Solomon, H., Corpuz, E., Huynh, T., Haziq, M., Shahid, M., Siddiqui, M. R., Newaz, M., Akhtar, S., Ahmad, Z., & Tauseef, M. (2020). Metformin attenuates high Glucose-Induced coronary vascular endothelial hyper permeability via inhibition of ORAI-1 mediated Store-Operated calcium entry. *The FASEB Journal*, 34(S1), 1.
21. Almarghalani, D. A., Sha, X., Mrak, R. E., & Shah, Z. A. (2023). Spatiotemporal Cofilin Signaling, Microglial Activation, Neuroinflammation, and Cognitive Impairment Following Hemorrhagic Brain Injury. *Cells*, 12(8), 1153. <https://doi.org/10.3390/cells12081153>
22. Alnaaim, S. A., Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Ali, N. H., Alexiou, A., & Papadakis, M. (2023). New insights on the potential anti-epileptic effect of metformin: Mechanistic pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 27(24), 3953–3965. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17965>
23. Amer, M. E., Othamn, A. I., & El-Missiry, M. A. (2021). Melatonin ameliorates diabetes-induced brain injury in rats. *Acta histochemica*, 123(2), 151677. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2020.151677>

24. Amin, N., Chen, S., Ren, Q., Tan, X., Botchway, B. O. A., Hu, Z., Chen, F., Ye, S., Du, X., Chen, Z., & Fang, M. (2021). Hypoxia Inducible Factor-1 α Attenuates Ischemic Brain Damage by Modulating Inflammatory Response and Glial Activity. *Cells*, *10*(6), 1359.
25. Andrés, C. M. C., Pérez de la Lastra, J. M., Andrés Juan, C., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2023). Superoxide Anion Chemistry-Its Role at the Core of the Innate Immunity. *International journal of molecular sciences*, *24*(3), 1841. <https://doi.org/10.3390/ijms24031841>
26. Anirudhan, A., Ahmad, S. F., Emran, T. B., Angulo-Bejarano, P. I., Sharma, A., & Ahmed, S. S. S. J. (2023). Comparative Efficacy of Metformin and Glimepiride in Modulating Pharmacological Network to Increase BDNF Levels and Benefit Type 2 Diabetes-Related Cognitive Impairment. *Biomedicines*, *11*(11), 2939.
27. Anthony Rhodes. (2013). Fixation of tissues. In S. Kim Suvarna, Christopher Layton, John D. Bancroft (Eds.), *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques (Seventh Edition)* (pp. 69–93). Churchill Livingstone. ISBN 9780702042263
28. Apostolaki-Hansson, T., Kremer, C., Pihlsgård, M., Petersson, J., Norrving, B., & Ullberg, T. (2024). Diverging Trends in Survival and Functional Outcome between Males and Females after Intracerebral Hemorrhage. *Neuroepidemiology*, *1–11*. <https://doi.org/10.1159/000539958>
29. Arnoux, I., Willam, M., Griesche, N., Krummeich, J., Watari, H., Offermann, N., Weber, S., Narayan Dey, P., Chen, C., Monteiro, O., Buettner, S., Meyer, K., Bano, D., Radyushkin, K., Langston, R., Lambert, J. J., Wanker, E., Methner, A., Krauss, S., Schweiger, S., ... Stroh, A. (2018). Metformin reverses early cortical network dysfunction and behavior changes in Huntington's disease. *eLife*, *7*, e38744. <https://doi.org/10.7554/eLife.38744>
30. Aronowski, J., & Zhao, X. (2011). Molecular pathophysiology of cerebral hemorrhage: secondary brain injury. *Stroke*, *42*(6), 1781–1786. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.596718>

31. Arora, M. K., Singh, D., Tomar, R., & Jangra, A. (2023). Neuroprotective Efficacy of Edaravone against Arsenic-Induced Behavioral and Neurochemical Deficits in Rats: Amelioration of Cholinergic and Mitochondrial Functions. *CNS & neurological disorders drug targets*, 22(1), 125–136. <https://doi.org/10.2174/1871527321666220225112241>
32. Arroyave, F., Montaña, D., & Lizcano, F. (2020). Diabetes Mellitus Is a Chronic Disease that Can Benefit from Therapy with Induced Pluripotent Stem Cells. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8685. <https://doi.org/10.3390/ijms21228685>
33. Avram, V. F., Bîna, A. M., Sima, A., Aburel, O. M., Sturza, A., Burlacu, O., Timar, R. Z., Muntean, D. M., Elmér, E., & Crețu, O. M. (2021). Improvement of Platelet Respiration by Cell-Permeable Succinate in Diabetic Patients Treated with Statins. *Life (Basel, Switzerland)*, 11(4), 288. <https://doi.org/10.3390/life11040288>
34. Ayala-Guerrero, L., García-delaTorre, P., Sánchez-García, S., & Guzmán-Ramos, K. (2022). Serum Levels of Glial Fibrillary Acidic Protein Association with Cognitive Impairment and Type 2 Diabetes. *Archives of medical research*, 53(5), 501–507.
35. Azad, A. K., Raihan, T., Ahmed, J., Hakim, A., Emon, T. H., & Chowdhury, P. A. (2021). Human Aquaporins: Functional Diversity and Potential Roles in Infectious and Non-infectious Diseases. *Frontiers in genetics*, 12, 654865.
36. Babu, R., Bagley, J. H., Di, C., Friedman, A. H., & Adamson, C. (2012). Thrombin and hemin as central factors in the mechanisms of intracerebral hemorrhage-induced secondary brain injury and as potential targets for intervention. *Neurosurgical focus*, 32(4), E8.
37. Bahader, G. A., & Shah, Z. A. (2021). Intracerebral Hemorrhage and Diabetes Mellitus: Blood-Brain Barrier Disruption, Pathophysiology and Cognitive Impairments. *CNS & neurological disorders drug targets*, 20(4), 312–326. <https://doi.org/10.2174/1871527320666210226163514>

38. Bahader, G. A., Nash, K. M., Almarghalani, D. A., Alhadidi, Q., McInerney, M. F., & Shah, Z. A. (2021). Type-I diabetes aggravates post-hemorrhagic stroke cognitive impairment by augmenting oxidative stress and neuroinflammation in mice. *Neurochemistry International*, *149*, 105151. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105151>
39. Bahrami, M., Keyhanifard, M., & Afzali, M. (2022). Spontaneous intracerebral hemorrhage, initial computed tomography (CT) scan findings, clinical manifestations and possible risk factors. *American journal of nuclear medicine and molecular imaging*, *12*(3), 106–112.
40. Bai, Q., Xue, M., & Yong, V. W. (2020). Microglia and macrophage phenotypes in intracerebral haemorrhage injury: therapeutic opportunities. *Brain*, *143*(5), 1297–1314. <https://doi.org/10.1093/brain/awz393>
41. Bako, A. T., Pan, A., Potter, T., Tannous, J., Johnson, C., Baig, E., Meeks, J., Woo, D., & Vahidy, F. S. (2022). Contemporary Trends in the Nationwide Incidence of Primary Intracerebral Hemorrhage. *Stroke*, *53*(3), e70–e74.
42. Baldacchino, K., Peveler, W. J., Lemgruber, L., Smith, R. S., Scharler, C., Hayden, L., Komarek, L., Lindsay, S. L., Barnett, S. C., Edgar, J. M., & Thümmeler, K. (2022). Myelinated axons are the primary target of hemin-mediated oxidative damage in a model of the central nervous system. *Experimental Neurology*, *354*, 114113. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2022.114113>
43. Banerjee, G., Summers, M., Chan, E., Wilson, D., Charidimou, A., Cipolotti, L., & Werring, D. J. (2018). Domain-specific characterisation of early cognitive impairment following spontaneous intracerebral haemorrhage. *Journal of Neurological Sciences*, *391*, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2018.05.015>
44. Bancroft, J. D., & Layton, C. (2013). The hematoxylin and eosin. In S. K. Suvarna, C. Layton, & J. D. Bancroft (Eds.), *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (7th ed., pp. 173–186). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4226-3.00010-5>

45. Banks W. A. (2020). The Blood-Brain Barrier Interface in Diabetes Mellitus: Dysfunctions, Mechanisms and Approaches to Treatment. *Current pharmaceutical design*, *26*(13), 1438–1447. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200325110014>
46. Baratz, R., Tweedie, D., Wang, J. Y., Rubovitch, V., Luo, W., Hoffer, B. J., Greig, N. H., & Pick, C. G. (2015). Transiently lowering tumor necrosis factor- α synthesis ameliorates neuronal cell loss and cognitive impairments induced by minimal traumatic brain injury in mice. *Journal of Neuroinflammation*, *12*, 45.
47. Battini, V., Cirnigliaro, G., Leuzzi, R., Rissotto, E., Mosini, G., Benatti, B., Pozzi, M., Nobile, M., Radice, S., Carnovale, C., Dell'Osso, B., & Clementi, E. (2023). The potential effect of metformin on cognitive and other symptom dimensions in patients with schizophrenia and antipsychotic-induced weight gain: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Frontiers in psychiatry*, *14*, 1215807. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2023.1215807>
48. Bautista, W., Adelson, P. D., Bicher, N., Themistocleous, M., Tsivgoulis, G., & Chang, J. J. (2021). Secondary mechanisms of injury and viable pathophysiological targets in intracerebral hemorrhage. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, *14*, 17562864211049208. <https://doi.org/10.1177/17562864211049208>
49. Béjot, Y., Blanc, C., Delpont, B., Thouant, P., Chazalon, C., Daumas, A., Osseby, G. V., Hervieu-Bègue, M., Ricolfi, F., Giroud, M., & Cordonnier, C. (2018). Increasing early ambulation disability in spontaneous intracerebral hemorrhage survivors. *Neurology*, *90*(23), e2017–e2024. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005633+>
50. Belambri, S. A., Rolas, L., Raad, H., Hurtado-Nedelec, M., Dang, P. M., & El-Benna, J. (2018). NADPH oxidase activation in neutrophils: Role of the phosphorylation of its subunits. *European Journal of Clinical Investigation*, *48*(Suppl 2), e12951. <https://doi.org/10.1111/eci.12951>

51. Belur, P. K., Chang, J. J., He, S., Emanuel, B. A., & Mack, W. J. (2013). Emerging experimental therapies for intracerebral hemorrhage: targeting mechanisms of secondary brain injury. *Neurosurgical focus*, *34*(5), E9.
52. Béziaud, T., Ru Chen, X., El Shafey, N., Fréchou, M., Teng, F., Palmier, B., et al. (2011). Simvastatin in traumatic brain injury: Effect on brain edema mechanisms. *Critical Care Medicine*, *39*(10), 2300–2307. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3182227e4a>
53. Bhandari, R., Kuhad, A., & Kuhad, A. (2018). Edaravone: a new hope for deadly amyotrophic lateral sclerosis. *Drugs of today (Barcelona, Spain : 1998)*, *54*(6), 349–360. <https://doi.org/10.1358/dot.2018.54.6.2828189>
54. Bhatti, J. S., Sehrawat, A., Mishra, J., Sidhu, I. S., Navik, U., Khullar, N., Kumar, S., Bhatti, G. K., & Reddy, P. H. (2022). Oxidative stress in the pathophysiology of type 2 diabetes and related complications: Current therapeutics strategies and future perspectives. *Free radical biology & medicine*, *184*, 114–134. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.03.019>
55. Bi, R., Fang, Z., You, M., He, Q., & Hu, B. (2021). Microglia Phenotype and Intracerebral Hemorrhage: A Balance of Yin and Yang. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *15*, 765205. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.765205>
56. Bobinger, T., Burkardt, P., B Huttner, H., & Manaenko, A. (2018). Programmed Cell Death after Intracerebral Hemorrhage. *Current neuropharmacology*, *16*(9), 1267–1281. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170602112851>
57. Bock, E. (1978). Nervous system specific proteins. *Journal of Neurochemistry*, *30*(1), 7–14. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1978.tb07028.x>
58. Bora, K., & James, R. (2023). Potential Role of Metformin in Central Nervous System with a Focus on Its Mechanism of Actions. *International Journal for Multidisciplinary Research*, *5*(4). <https://doi.org/10.36948/ijfmr.2023.v05i04.4279>

59. Bordone, M. P., Salman, M. M., Titus, H. E., Amini, E., Andersen, J. V., Chakraborti, B., Diuba, A. V., Dubouskaya, T. G., Ehrke, E., Espindola de Freitas, A., Braga de Freitas, G., Gonçalves, R. A., Gupta, D., Gupta, R., Ha, S. R., Hemming, I. A., Jaggar, M., Jakobsen, E., Kumari, P., Lakkappa, N., Marsh, A. P. L., Mitlöhner, J., Ogawa, Y., Paidi, R. K., Ribeiro, F. C., Salamian, A., Saleem, S., Sharma, S., Silva, J. M., Singh, S., Sulakhiya, K., Tefera, T. W., Vafadari, B., Yadav, A., Yamazaki, R., & Seidenbecher, C. I. (2019). The energetic brain - A review from students to students. *Journal of Neurochemistry*, *151*(2), 139–165. <https://doi.org/10.1111/jnc.14829>
60. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
61. Brand, M. D. (2010). The sites and topology of mitochondrial superoxide production. *Experimental Gerontology*, *45*(7–8), 466–472. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.01.003>
62. Brenner, M. (1994). Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP). *Brain Pathology*, *4*(3), 219–220.
63. Britland, S., & Sharma, A. (1990). A new perspective on myelinated nerve fibre pathology in experimental diabetes. *Diabetes research (Edinburgh, Scotland)*, *15*(2), 69–75.
64. Cadena, A., Haghghi, N., Sariyeva, M., Valdes, E., Connolly, E. S., Agarwal, S., Park, S., Ghoshal, S., Claassen, J., Roh, D., & Miller, E. C. (2024). Abstract WMP77: In-Hospital Mortality Sex Differences in young Adults with intracerebralhemorrhage. *Stroke*, *55*(Suppl_1). https://doi.org/10.1161/str.55.suppl_1_1.wmp77
65. Cai, Y., Zhuang, Y. K., Wu, X. Y., Dong, X. Q., Du, Q., Yu, W. H., Wang, K. Y., Hu, W., & Zheng, Y. K. (2021). Serum Hypoxia-Inducible Factor 1alpha Levels Correlate with Outcomes After Intracerebral Hemorrhage. *Therapeutics and clinical risk management*, *17*, 717–726.

66. Casper, E. (2023). The crosstalk between Nrf2 and NF- κ B pathways in coronary artery disease: Can it be regulated by SIRT6? *Life Sciences*, 330, 122007. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.122007>
67. Cadena, A., Haghghi, N., Sariyeva, M., Valdes, E., Connolly, E. S., Agarwal, S., et al. (2024). Abstract WMP77: In-hospital mortality sex differences in young adults with intracerebral hemorrhage. *Stroke*, 55(Suppl_1). https://doi.org/10.1161/str.55.suppl_1.wmp77
68. Cao, G., Gong, T., Du, Y., Wang, Y., Ge, T., & Liu, J. (2022). Mechanism of metformin regulation in central nervous system: Progression and future perspectives. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 156, 113686. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113686>
69. Caturano, A., D'Angelo, M., Mormone, A., Russo, V., Mollica, M. P., Salvatore, T., Galiero, R., Rinaldi, L., Vetrano, E., Marfella, R., Monda, M., Giordano, A., & Sasso, F. C. (2023). Oxidative Stress in Type 2 Diabetes: Impacts from Pathogenesis to Lifestyle Modifications. *Current issues in molecular biology*, 45(8), 6651–6666. <https://doi.org/10.3390/cimb45080420>
70. Ceriello, A. (1997). Acute hyperglycaemia and oxidative stress generation. *Diabetic Medicine*, 14(Suppl 3), S45–S49. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9136\(199708\)14:3+s45::aid-dia4143.3.co;2-i](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9136(199708)14:3+s45::aid-dia4143.3.co;2-i)
71. Cha, S. J., & Kim, K. (2022). Effects of the Edaravone, a Drug Approved for the Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis, on Mitochondrial Function and Neuroprotection. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(2), 195. <https://doi.org/10.3390/antiox11020195>
72. Chakkittukandiyil, A., Sajini, D. V., Karuppaiah, A., & Selvaraj, D. (2022). The principal molecular mechanisms behind the activation of Keap1/Nrf2/ARE pathway leading to neuroprotective action in Parkinson's disease. *Neurochemistry International*, 156, 105325. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2022.105325>
73. Chakraborty, N., Banani Kundu, Soham Chakraborty, & Prabir Kumar Kundu. (2024). Study on location of cerebral lesion among patients with

hemorrhagic cerebrovascular accident. *Asian Journal of Medical Sciences*, 15(3), 186–190. <https://doi.org/10.3126/ajms.v15i3.59402+>

74. Chandrabalan, A., & Ramachandran, R. (2021). Molecular mechanisms regulating Proteinase-Activated Receptors (PARs). *FEBS Journal*, 288(8), 2697–2726. <https://doi.org/10.1111/febs.15829>

75. Chaudhari, N., Talwar, P., Parimisetty, A., Lefebvre d'Hellencourt, C., & Ravanan, P. (2014). A molecular web: endoplasmic reticulum stress, inflammation, and oxidative stress. *Frontiers in cellular neuroscience*, 8, 213. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00213>

76. Chen, C., Huang, T., Zhai, X., Ma, Y., Xie, L., Lu, B., Zhang, Y., Li, Y., Chen, Z., & Yin, J. (2021). Targeting neutrophils as a novel therapeutic strategy after stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 41(9), 2150–2161. <https://doi.org/10.1177/0271678X211000137>

77. Chen, C. C., Shen, J. W., Chung, N. C., Min, M. Y., Cheng, S. J., & Liu, I. Y. (2012). Retrieval of context-associated memory is dependent on the Ca(v)3.2 T-type calcium channel. *PLoS One*, 7(1), e29384.

78. Chen, J., Cui, X., Zacharek, A., Cui, Y., Roberts, C., & Chopp, M. (2011). White matter damage and the effect of matrix metalloproteinases in type 2 diabetic mice after stroke. *Stroke*, 42(2), 445–452. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.596486>

79. Chen, J., Venkat, P., Zacharek, A., & Chopp, M. (Eds.). (2019). *Animal models of acute neurological injury*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-16082-1>

80. Chen, W., Guo, C., Feng, H., & Chen, Y. (2021). Mitochondria: Novel Mechanisms and Therapeutic Targets for Secondary Brain Injury After Intracerebral Hemorrhage. *Frontiers in aging neuroscience*, 12, 615451. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.615451>

81. Chen, X., Deng, S., Lei, Q., He, Q., Ren, Y., Zhang, Y., Nie, J., & Lu, W. (2020). miR-7-5p Affects Brain Edema After Intracerebral Hemorrhage

and Its Possible Mechanism. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 598020. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.598020>

82. Chen, Y., Chen, S., Chang, J., Wei, J., Feng, M., & Wang, R. (2021). Perihematomal Edema After Intracerebral Hemorrhage: An Update on Pathogenesis, Risk Factors, and Therapeutic Advances. *Frontiers in Immunology*, 12, 740632. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.740632>

83. Chen, Z., Li, T., Tang, H. B., Lu, Z. W., Chen, Z. Y., Zhao, Z. H., Yang, X. L., Zhao, L. L., Dang, M. J., Li, Y., Li, W. X., Wang, X. J., Jiang, P. P., Zhan, S. Q., Zhang, G. L., & Fan, H. (2024). Edaravone Dexborneol provides neuroprotective effect by inhibiting neurotoxic activation of astrocytes through inhibiting NF- κ B signaling in cortical ischemia. *Brain research bulletin*, 218, 111097. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2024.111097>

84. Chen, Z., Zhang, J., Chen, Q., Guo, J., Zhu, G., & Feng, H. (2014). Neuroprotective effects of edaravone after intraventricular hemorrhage in rats. *Neuroreport*, 25(9), 635–640. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000050>

85. Chiang, P. T., Tsai, L. K., & Tsai, H. H. (2025). New targets in spontaneous intracerebral hemorrhage. *Current Opinion in Neurology*, 38(1), 10–17. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000001325>

86. Chiu, C. D., Chen, C. C., Shen, C. C., Chin, L. T., Ma, H. I., Chuang, H. Y., Cho, D. Y., Chu, C. H., & Chang, C. (2013). Hyperglycemia exacerbates intracerebral hemorrhage via the downregulation of aquaporin-4: temporal assessment with magnetic resonance imaging. *Stroke*, 44(6), 1682–1689. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.675983>

87. Cobbs, C. S., Fenoy, A., Bredt, D. S., & Noble, L. J. (1997). Expression of nitric oxide synthase in the cerebral microvasculature after traumatic brain injury in the rat. *Brain Research*, 751(2), 336–338. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(96\)01429-1](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(96)01429-1)

88. Correll, C. U., Sikich, L., Reeves, G., Johnson, J., Keeton, C., Spanos, M., Kapoor, S., Bussell, K., Miller, L., Chandrasekhar, T., Sheridan, E.

M., Pirmohamed, S., Reinblatt, S. P., Alderman, C., Scheer, A., Borner, I., Bethea, T. C., Edwards, S., Hamer, R. M., & Riddle, M. A. (2020). Metformin add-on vs. antipsychotic switch vs. continued antipsychotic treatment plus healthy lifestyle education in overweight or obese youth with severe mental illness: results from the IMPACT trial. *World psychiatry : official journal of the World Psychiatric Association (WPA)*, *19*(1), 69–80. <https://doi.org/10.1002/wps.20714>

89. Council of Europe. (1986). *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. (No. 123). Council of Europe.

90. Cruz, M. P. (2018). Edaravone (Radicava): a novel neuroprotective agent for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *P&T*, *43*(1), 25–28.

91. Cui, W., Lv, C., Geng, P., Fu, M., Zhou, W., Xiong, M., & Li, T. (2024). Novel targets and therapies of metformin in dementia: old drug, new insights. *Frontiers in pharmacology*, *15*, 1415740. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1415740>

92. Cui, X., Chopp, M., Zacharek, A., Ye, X., Roberts, C., & Chen, J. (2011). Angiopoietin/Tie2 pathway mediates type 2 diabetes induced vascular damage after cerebral stroke. *Neurobiology of disease*, *43*(1), 285–292. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.04.005>

93. Cunnane, S. C., Trushina, E., Morland, C., Prigione, A., Casadesus, G., Andrews, Z. B., Beal, M. F., Bergersen, L. H., Brinton, R. D., de la Monte, S., Eckert, A., Harvey, J., Jeggo, R., Jhamandas, J. H., Kann, O., la Cour, C. M., Martin, W. F., Mithieux, G., Moreira, P. I., Murphy, M. P., Nave, K. A., Nuriel, T., Oliek, S. H. R., Saudou, F., Mattson, M. P., Swerdlow, R. H., & Millan, M. J. (2020). Brain energy rescue: an emerging therapeutic concept for neurodegenerative disorders of ageing. *Nature Reviews Drug Discovery*, *19*(9), 609–633. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0072-x>

94. Dasari, R., Bonsack, F., & Sukumari-Ramesh, S. (2021). Brain injury and repair after intracerebral hemorrhage: The role of microglia and brain-

infiltrating macrophages. *Neurochemistry International*, 142, 104923. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2020.104923>

95. Dasdelen, D., Mogulkoc, R., & Baltaci, A. K. (2020). Aquaporins and Roles in Brain Health and Brain Injury. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 20(6), 498–512.

96. de Oliveira, J., Denadai, M. B., Costa, D. L. (2022). Crosstalk between Heme Oxygenase-1 and Iron Metabolism in Macrophages: Implications for the Modulation of Inflammation and Immunity. *Antioxidants (Basel)*, 11(5), 861. <https://doi.org/10.3390/antiox11050861>

97. de Oliveira Manoel, A. L. (2020). Surgery for spontaneous intracerebral hemorrhage. *Critical Care*, 24(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-2749-2>

98. de Ridder, I., Kerkhofs, M., Lemos, F. O., Loncke, J., Bultynck, G., & Parys, J. B. (2023). The ER-mitochondria interface, where Ca²⁺ and cell death meet. *Cell calcium*, 112, 102743. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2023.102743>

99. DeJong, R. N. (1977). CNS manifestations of diabetes mellitus. *Postgraduate Medicine*, 61(1), 101–107.

100. Del Bigio, M. R., Deck, J. H., & Davidson, G. S. (2000). Glial swelling with eosinophilia in human post-mortem brains: a change indicative of plasma extravasation. *Acta Neuropathologica*, 100(6), 688–694. <https://doi.org/10.1007/s004010000236>

101. DeLago, A. J., Jr, Singh, H., Jani, C., Rupal, A., Shalhoub, J., Goodall, R., Shah, D., Hartley, A., Hammond-Haley, M., Marshall, D. C., Gizzi, M., AbdelRazek, M., & Salciccioli, J. D. (2022). An observational epidemiological study to analyze intracerebral hemorrhage across the United States: Incidence and mortality trends from 1990 to 2017. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 31(4), 106216.

102. Deng, L., Du, C., Song, P., Chen, T., Rui, S., Armstrong, D. G., & Deng, W. (2021). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic

Wound Healing. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 8852759. <https://doi.org/10.1155/2021/8852759>

103. Derry, P. J., Vo, A. T. T., Gnanansekaran, A., Mitra, J., Liopo, A. V., Hegde, M. L., Tsai, A. L., Tour, J. M., & Kent, T. A. (2020). The Chemical Basis of Intracerebral Hemorrhage and Cell Toxicity With Contributions From Eryptosis and Ferroptosis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14, 603043. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.603043>

104. DiBona, V. L., Shah, M. K., Krause, K. J., Zhu, W., Voglewede, M. M., Smith, D. M., Crockett, D. P., & Zhang, H. (2021). Metformin reduces neuroinflammation and improves cognitive functions after traumatic brain injury. *Neuroscience Research*, 172, 99–109.

105. Ding, Y., Zhu, W., Kong, W., Li, T., Zou, P., & Chen, H. (2019). Edaravone attenuates neuronal apoptosis in hippocampus of rat traumatic brain injury model via activation of BDNF/TrkB signaling pathway. *Archives of medical science : AMS*, 17(2), 514–522. <https://doi.org/10.5114/aoms.2019.89849>

106. Dong, H., Wen, X., Zhang, B. W., Wu, Z., & Zou, W. (2024). Astrocytes in intracerebral hemorrhage: impact and therapeutic objectives. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 17, 1327472. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2024.1327472>

107. Duan, X., Wen, Z., Shen, H., Shen, M., & Chen, G. (2016). Intracerebral Hemorrhage, Oxidative Stress, and Antioxidant Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1203285. <https://doi.org/10.1155/2016/1203285>

108. Duan, Z. Z., Zhang, F., Li, F. Y., Luan, Y. F., Guo, P., Li, Y. H., Liu, Y., & Qi, S. H. (2016). Protease activated receptor 1 (PAR1) enhances Src-mediated tyrosine phosphorylation of NMDA receptor in intracerebral hemorrhage (ICH). *Scientific Reports*, 6, 29246. <https://doi.org/10.1038/srep29246>

109. Duranti, E., & Cordani, N., Villa, C. (2024). Edaravone: a novel possible drug for cancer treatment? *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3), 1633.
110. Dutta, S., Shah, R. B., Singhal, S., Dutta, S. B., Bansal, S., Sinha, S., et al. (2023). Metformin: A Review of Potential Mechanism and Therapeutic Utility Beyond Diabetes. *Drug Design, Development and Therapy*, 17, 1907–1932.
111. Ebrahimi, H., Kazem Nezhad, S., Farmoudeh, A., Babaei, A., Ebrahimnejad, P., Akbari, E., & Siahposht-Khachaki, A. (2022). Design and optimization of metformin-loaded solid lipid nanoparticles for neuroprotective effects in a rat model of diffuse traumatic brain injury: A biochemical, behavioral, and histological study. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 181, 122–135. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2022.10.018>
112. Ehtewish, H., Arredouani, A., & El-Agnaf, O. (2022). Diagnostic, Prognostic, and Mechanistic Biomarkers of Diabetes Mellitus-Associated Cognitive Decline. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 6144.
113. Elrod, K., & Buccafusco, J. J. (1988). An evaluation of the mechanism of scopolamine-induced impairment in two passive avoidance protocols. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 29 (1), 15–21. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(88\)90267-5](https://doi.org/10.1016/0091-3057(88)90267-5)
114. Ergul, A., Elgebaly, M. M., Middlemore, M. L., Li, W., Elewa, H., Switzer, J. A., Hall, C., Kozak, A., & Fagan, S. C. (2007). Increased hemorrhagic transformation and altered infarct size and localization after experimental stroke in a rat model type 2 diabetes. *BMC neurology*, 7, 33. <https://doi.org/10.1186/1471-2377-7-33>
115. Eyileten, C., Mirowska-Guzel, D., Milanowski, L., Zaremba, M., Rosiak, M., Cudna, A., Kaplon-Cieslicka, A., Opolski, G., Filipiak, K. J., Malek, L., & Postula, M. (2019). Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor is Related to

Platelet Reactivity and Metformin Treatment in Adult Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Canadian Journal of Diabetes*, 43(1), 19–26.

116. Fan, J., Zhang, N., Yin, G., Zhang, Z., Cheng, G., Qian, W., Long, H., & Cai, W. (2012). Edaravone protects cortical neurons from apoptosis by inhibiting the translocation of BAX and Increasing the interaction between 14-3-3 and p-BAD. *The International journal of neuroscience*, 122(11), 665–674. <https://doi.org/10.3109/00207454.2012.707714>

117. Fei, X., He, Y., Chen, J., Man, W., Chen, C., Sun, K., Ding, B., Wang, C., & Xu, R. (2019). The role of Toll-like receptor 4 in apoptosis of brain tissue after induction of intracerebral hemorrhage. *Journal of neuroinflammation*, 16(1), 234. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1634-x>

118. Feng, T., Yamashita, T., Shang, J., Shi, X., Nakano, Y., Morihara, R., Tsunoda, K., Nomura, E., Sasaki, R., Tadokoro, K., Matsumoto, N., Hishikawa, N., Ohta, Y., & Abe, K. (2019). Clinical and Pathological Benefits of Edaravone for Alzheimer's Disease with Chronic Cerebral Hypoperfusion in a Novel Mouse Model. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 71(1), 327–339. <https://doi.org/10.3233/JAD-190369>

119. Fernández-Veledo, S., Marsal-Beltran, A., & Vendrell, J. (2024). Type 2 diabetes and succinate: unmasking an age-old molecule. *Diabetologia*, 67(3), 430–442. <https://doi.org/10.1007/s00125-023-06063-7>

120. Ferro, A., Carbone, E., Zhang, J., Marzouk, E., Villegas, M., Siegel, A., Nguyen, D., Possidente, T., Hartman, J., Polley, K., Ingram, M. A., Berry, G., Reynolds, T. H., Possidente, B., Frederick, K., Ives, S., & Lagalwar, S. (2017). Short-term succinic acid treatment mitigates cerebellar mitochondrial OXPHOS dysfunction, neurodegeneration and ataxia in a Purkinje-specific spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) mouse model. *PloS one*, 12(12), e0188425. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188425>

121. Fiorentino, T. V., Prioletta, A., Zuo, P., & Folli, F. (2013). Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related

cardiovascular diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 19(32), 5695–5703. <https://doi.org/10.2174/1381612811319320005>

122. Fu, K., Xu, W., Lenahan, C., Mo, Y., Wen, J., Deng, T., Huang, Q., Guo, F., Mo, L., & Yan, J. (2023). Autophagy regulates inflammation in intracerebral hemorrhage: Enemy or friend?. *Frontiers in cellular neuroscience*, 16, 1036313. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.1036313>

123. Fu, W., Tang, Y., Che, X., Tan, J., Ma, Y., & He, Z. (2022). Neuropharmacological efficacy of metformin for stroke in rodents: A meta-analysis of preclinical trials. *Frontiers in pharmacology*, 13, 1009169. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1009169>

124. Fu, X., Zhou, G., Zhuang, J., Xu, C., Zhou, H., Peng, Y., Cao, Y., Zeng, H., Li, J., Yan, F., Wang, L., & Chen, G. (2021). White Matter Injury After Intracerebral Hemorrhage. *Frontiers in Neurology*, 12, 562090. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.562090>

125. Fujii, J., Homma, T., & Osaki, T. (2022). Superoxide Radicals in the Execution of Cell Death. *Antioxidants (Basel)*, 11(3), 501. <https://doi.org/10.3390/antiox11030501>

126. Fujinami, A., Ohta, K., Obayashi, H., Fukui, M., Hasegawa, G., Nakamura, N., Kozai, H., Imai, S., & Ohta, M. (2008). Serum brain-derived neurotrophic factor in patients with type 2 diabetes mellitus: Relationship to glucose metabolism and biomarkers of insulin resistance. *Clinical Biochemistry*, 41(10–11), 812–817.

127. Fukai, T., & Ushio-Fukai, M. (2020). Cross-Talk between NADPH Oxidase and Mitochondria: Role in ROS Signaling and Angiogenesis. *Cells*, 9(8), 1849. <https://doi.org/10.3390/cells9081849>

128. Fukuda, A. M., & Badaut, J. (2012). Aquaporin 4: a player in cerebral edema and neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*, 9, 279. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-279>

129. Gaasch, J. A., Lockman, P. R., Geldenhuys, W. J., Allen, D. D., & Van der Schyf, C. J. (2007). Brain iron toxicity: differential responses of

astrocytes, neurons, and endothelial cells. *Neurochemical Research*, 32(7), 1196–1208. <https://doi.org/10.1007/s11064-007-9290-4>

130. Gabbay, K. H., Sosenko, J. M., Banuchi, G. A., Mininsohn, M. J., & Flückiger, R. (1979). Glycosylated hemoglobins: increased glycosylation of hemoglobin A in diabetic patients. *Diabetes*, 28(4), 337–340. <https://doi.org/10.2337/diab.28.4.337>

131. Galaris, D., Barbouti, A., & Pantopoulos, K. (2019). Iron homeostasis and oxidative stress: An intimate relationship. *Biochimica et Biophysica Acta Molecular Cell Research*, 1866(12), 118535. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.118535>

132. Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>

133. Gao, W., Guo, L., Yang, Y., Wang, Y., Xia, S., Gong, H., Zhang, B. K., & Yan, M. (2022). Dissecting the Crosstalk Between Nrf2 and NF-κB Response Pathways in Drug-Induced Toxicity. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 809952. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.809952>

134. Gao, W., Jin, W., Xu, X., Yin, D., Zhou, S., Li, F., Zhou, Z., & Zhang, J. (2021). Metformin protects against traumatic brain injury by switching M1/M2 phenotypes and regulating NLRP3 inflammasome activation. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-898507/v1>

135. Garvin, J., Semenikhina, M., Liu, Q., Rarick, K., Isaeva, E., Levchenko, V., Staruschenko, A., Palygin, O., Harder, D., & Cohen, S. (2022). Astrocytic responses to high glucose impair barrier formation in cerebral microvessel endothelial cells. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 322(6), R571–R580. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00315.2020>

136. Gilbert, E. A. B., Livingston, J., Flores, E. G., Khan, M., Kandavel, H., & Morshead, C. M. (2024). Metformin treatment reduces inflammation,

dysmyelination and disease severity in a mouse model of multiple sclerosis, experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Research*, 1822, 148648.

137. Giorgi, C., Marchi, S., & Pinton, P. (2018). The machineries, regulation and cellular functions of mitochondrial calcium. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 19(11), 713–730. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0052-8>

138. Gong, L., Gu, Y., Yu, Q., Wang, H., Zhu, X., Dong, Q., Xu, R., Zhao, Y., & Liu, X. (2020). Prognostic Factors for Cognitive Recovery Beyond Early Poststroke Cognitive Impairment (PSCI): A Prospective Cohort Study of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *Frontiers in Neurology*, 11, 278. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00278>

139. González, P., Lozano, P., Ros, G., & Solano, F. (2023). Hyperglycemia and Oxidative Stress: An Integral, Updated and Critical Overview of Their Metabolic Interconnections. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9352. <https://doi.org/10.3390/ijms24119352>

140. Gonulalan, E. M., Nemitlu, E., Bayazeid, O., Koçak, E., Yalçın, F. N., & Demirezer, L. O. (2020). Metabolomics and proteomics profiles of some medicinal plants and correlation with BDNF activity. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 74, 152920.

141. Grimolizzi, F., & Arranz, L. (2018). Multiple faces of succinate beyond metabolism in blood. *Haematologica*, 103(10), 1586–1592. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.196097>

142. Guo, C., & Ma, Y. Y. (2021). Calcium Permeable-AMPA Receptors and Excitotoxicity in Neurological Disorders. *Frontiers in Neural Circuits*, 15, 711564. <https://doi.org/10.3389/fncir.2021.711564>

143. Guo, F., Xu, D., Lin, Y., Wang, G., Wang, F., Gao, Q., Wei, Q., & Lei, S. (2020). Chemokine CCL2 contributes to BBB disruption via the p38 MAPK signaling pathway following acute intracerebral hemorrhage. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for*

<https://doi.org/10.1096/fj.201902203RR>

144. Guo, Y., Dai, W., Zheng, Y., Qiao, W., Chen, W., Peng, L., Zhou, H., Zhao, T., Liu, H., Zheng, F., & Sun, P. (2022). Mechanism and Regulation of Microglia Polarization in Intracerebral Hemorrhage. *Molecules*, 27(20), 7080. <https://doi.org/10.3390/molecules27207080>

145. Guo, Y., Jiang, H., Wang, M., Ma, Y., Zhang, J., & Jing, L. (2023). Metformin alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury aggravated by hyperglycemia via regulating AMPK/ULK1/PINK1/Parkin pathway-mediated mitophagy and apoptosis. *Chemico-biological interactions*, 384, 110723. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2023.110723>

146. Guo, Y. C., Song, X. K., Xu, Y. F., Ma, J. B., Zhang, J. J., & Han, P. J. (2017). The expression and mechanism of BDNF and NGB in perihematoma tissue in rats with intracerebral hemorrhage. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(15), 3452–3458.

147. Habib, S. S., Al-Regaiey, K. A., Al-Khlaiwi, T., Habib, S. M., Bashir, S., Al-Hussain, F., & Habib, S. H. (2022). Serum inducible and endothelial nitric oxide synthase in coronary artery disease patients with Type 2 Diabetes mellitus. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 26(10), 3695–3702.

148. Hamed S. A. (2017). Brain injury with diabetes mellitus: evidence, mechanisms and treatment implications. *Expert review of clinical pharmacology*, 10(4), 409–428. <https://doi.org/10.1080/17512433.2017.1293521>

149. Han, X., Wang, B., Sun, Y., Huang, J., Wang, X., Ma, W., Zhu, Y., Xu, R., Jin, H., & Liu, N. (2018). Metformin Modulates High Glucose-Incubated Human Umbilical Vein Endothelial Cells Proliferation and Apoptosis Through AMPK/CREB/BDNF Pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 1266.

150. Hansford, R. G. (1976). Studies on the effects of coenzyme A-SH: acetyl coenzyme A, nicotinamide adenine dinucleotide: reduced nicotinamide adenine dinucleotide, and adenosine diphosphate: adenosine triphosphate ratios

on the interconversion of active and inactive pyruvate dehydrogenase in isolated rat heart mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 251(18), 5483–5489.

151. Harris, R. A., & Johnson, J. S. (2019). Glycolysis Overview. *Reference Module in Biomedical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801238-3.11342-x>

152. Hasanein, P., Emamjomeh, A., Chenarani, N., & Bohlooli, M. (2020). Beneficial effects of rutin in diabetes-induced deficits in acquisition learning, retention memory and pain perception in rats. *Nutritional Neuroscience*, 23 (7), 563–574. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1533269>

153. Hashmat, A., Ya, J., Kadir, R., Alwjwaj, M., & Bayraktutan, U. (2024). Hyperglycaemia perturbs blood-brain barrier integrity through its effects on endothelial cell characteristics and function. *Tissue Barriers*, 2350821.

154. Hata, K., Urushibara, A., Yamashita, S., Lin, M., Muroya, Y., Shikazono, N., Yokoya, A., Fu, H., & Katsumura, Y. (2015). Chemical repair activity of free radical scavenger edaravone: reduction reactions with dGMP hydroxyl radical adducts and suppression of base lesions and AP sites on irradiated plasmid DNA. *Journal of Radiation Research*, 56(1), 59–66.

155. Hayrapetyan, N. N. (2022). STUDY OF THE ANTIHYPOXIC EFFICIENCY OF SUCCINATE UNDER THE CONDITIONS OF METHEMOGLOBINEMIA. *Proceedings of the YSU B Chemical and Biological Sciences*, 56(3 (259)), 245–252. <https://doi.org/10.46991/pysu:b/2022.56.3.245>

156. Highley, J. R., & Sullivan, N. (2013). Neuropathology and muscle biopsy techniques. In S. K. Suvarna, C. Layton, & J. D. Bancroft (Eds.), *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (7th ed., pp. 311–313). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4226-3.00016-6>

157. Hol, E. M., & Pekny, M. (2015). Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system. *Current Opinion in Cell Biology*, 32, 121–130.

158. Holste, K. G., Xia, F., Ye, F., Keep, R. F., & Xi, G. (2022). Mechanisms of neuroinflammation in hydrocephalus after intraventricular

hemorrhage: a review. *Fluids and Barriers of the CNS*, 19(1), 28.
<https://doi.org/10.1186/s12987-022-00324-0>

159. Homma, T., Kobayashi, S., Sato, H., & Fujii, J. (2019). Edaravone, a free radical scavenger, protects against ferroptotic cell death in vitro. *Experimental Cell Research*, 384(1), 111592.

160. Horani, M. H., & Mooradian, A. D. (2003). Effect of diabetes on the blood brain barrier. *Current pharmaceutical design*, 9(10), 833–840.
<https://doi.org/10.2174/1381612033455314>

161. Hu, S., Hua, Y., Keep, R. F., Feng, H., & Xi, G. (2019). Deferoxamine therapy reduces brain hemin accumulation after intracerebral hemorrhage in piglets. *Experimental Neurology*, 318, 244–250.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2019.05.003>

162. Hu, Y., Zhou, Y., Yang, Y., Tang, H., Si, Y., Chen, Z., Shi, Y., & Fang, H. (2022). Metformin Protects Against Diabetes-Induced Cognitive Dysfunction by Inhibiting Mitochondrial Fission Protein DRP1. *Frontiers in pharmacology*, 13, 832707. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.832707>

163. Hu, X., Tao, C., Gan, Q., Zheng, J., Li, H., & You, C. (2016). Oxidative Stress in Intracerebral Hemorrhage: Sources, Mechanisms, and Therapeutic Targets. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 3215391.
<https://doi.org/10.1155/2016/3215391>

164. Hua, Y., Wu, J., Keep, R. F., Nakamura, T., Hoff, J. T., & Xi, G. (2006). Tumor necrosis factor- α increases in the brain after intracerebral hemorrhage and thrombin stimulation. *Neurosurgery*, 58(3), 542–550.

165. Huang, Y., Gu, C., Zhang, W., Wang, J., Xu, J., Liu, J., Hu, H., You, S., & Cao, Y. (2022). Early Cognitive Impairment at Acute Stage After Intracerebral Hemorrhage. *Current neurovascular research*, 19(5), 505–514.
<https://doi.org/10.2174/1567202620666221107102321>

166. Hulsebosch, C. E., DeWitt, D. S., Jenkins, L. W., & Prough, D. S. (1998). Traumatic brain injury in rats results in increased expression of Gap-43

that correlates with behavioral recovery. *Neuroscience Letters*, 255(2), 83–86.
[https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(98\)00712-5](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(98)00712-5)

167. Iasnetsov, V. V., Prosvirova, E. P., Tsublova, E. G., Iasnetsov, V. V., Motin, V. G., & Karsanova, S. K. (2012). Comparative studies of antihypoxic, neuroprotective and analgesic action of succinate-containing drugs. *Aerospace and environmental medicine*, 46(6), 41–45.

168. Imai, T., Iwata, S., Hirayama, T., Nagasawa, H., Nakamura, S., Shimazawa, M., & Hara, H. (2019). Intracellular Fe²⁺ accumulation in endothelial cells and pericytes induces blood-brain barrier dysfunction in secondary brain injury after brain hemorrhage. *Scientific Reports*, 9(1), 6228.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-42370-z>

169. Imoto, S., Kono, M., Suzuki, T., Shibuya, Y., Sawamura, T., Mizokoshi, Y., Sawada, H., Ohbuchi, A., & Saigo, K. (2018). Haemin-induced cell death in human monocytic cells is consistent with ferroptosis. *Transfusion and Apheresis Science*, 57(4), 524–531.
<https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.05.028>

170. Inoue, T., Takamatsu, Y., Okamura, M., & Maejima, H. (2021). Ipsilateral BDNF mRNA expression in the motor cortex positively correlates with motor function of the affected forelimb after intracerebral hemorrhage. *Brain Research*, 1767, 147536.

171. Ikram, M. A., Wieberdink, R. G., & Koudstaal, P. J. (2012). International epidemiology of intracerebral hemorrhage. *Current Atherosclerosis Reports*, 14(4), 300–306.

172. Iqbal, S., Shah, F. A., Naeem, K., Nadeem, H., Sarwar, S., Ashraf, Z., Imran, M., Khan, T., Anwar, T., & Li, S. (2020). Succinamide Derivatives Ameliorate Neuroinflammation and Oxidative Stress in Scopolamine-Induced Neurodegeneration. *Biomolecules*, 10(3), 443.
<https://doi.org/10.3390/biom10030443>

173. Ismail Hassan, F., Didari, T., Baeri, M., Gholami, M., Hagh-Aminjan, H., Khalid, M., Navaei-Nigjeh, M., Rahimifard, M., Solgi, S.,

Abdollahi, M., & Mojtahedzadeh, M. (2020). Metformin Attenuates Brain Injury by Inhibiting Inflammation and Regulating Tight Junction Proteins in Septic Rats. *Cell journal*, 22(Suppl 1), 29–37. <https://doi.org/10.22074/cellj.2020.7046>

174. Jackson, P., & Blythe, D. (2013). Immunohistochemical techniques. In S. K. Suvarna, C. Layton, & J. D. Bancroft (Eds.), *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (7th ed., pp. 381–426). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4226-3.00020-8>

175. Jakubczyk, K., Dec, K., Kałduńska, J., Kawczuga, D., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Reactive oxygen species - sources, functions, oxidative damage. *Polski Merkurusz Lekarski*, 48(284), 124–127.

176. James, J., Srivastava, A., Varghese, M. V., Eccles, C. A., Zemskova, M., Rafikova, O., & Rafikov, R. (2020). Heme induces rapid endothelial barrier dysfunction via the MKK3/p38MAPK axis. *Blood*, 136(6), 749–754. <https://doi.org/10.1182/blood.2019003986>

177. Jia, P., Peng, Q., Fan, X., Zhang, Y., Xu, H., Li, J., Sonita, H., Liu, S., Le, A., Hu, Q., Zhao, T., Zhang, S., Wang, J., Zille, M., Jiang, C., Chen, X., & Wang, J. (2024). Immune-mediated disruption of the blood-brain barrier after intracerebral hemorrhage: Insights and potential therapeutic targets. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 30(7), e14853. <https://doi.org/10.1111/cns.14853>

178. Jiang, C., Guo, H., Zhang, Z., Wang, Y., Liu, S., Lai, J., Wang, T. J., Li, S., Zhang, J., Zhu, L., Fu, P., Zhang, J., & Wang, J. (2022). Molecular, Pathological, Clinical, and Therapeutic Aspects of Perihematoma Edema in Different Stages of Intracerebral Hemorrhage. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 3948921. <https://doi.org/10.1155/2022/3948921>

179. Jiang, G., Cai, H., Wen, X., Chen, K., Li, H., Zhang, Y., Yang, Y., Chen, J., & Chen, L. (2021). Cardiovascular and cerebrovascular events in patients with intracerebral hemorrhage: Clinical characteristics and long-term predictors. *Journal of Clinical Neuroscience*, 90, 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2021.05.037>

180. Jiang, Q., Geng, X., Warren, J., Eugene Paul Cosky, E., Kaura, S., Stone, C., Li, F., & Ding, Y. (2020). Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α). Mediates NLRP3 Inflammasome-Dependent-Pyroptotic and Apoptotic Cell Death Following Ischemic Stroke. *Neuroscience*, *448*, 126–139.
181. Joseph, M. J., Caliaperumal, J., & Schlichter, L. C. (2016). After Intracerebral Hemorrhage, Oligodendrocyte Precursors Proliferate and Differentiate Inside White-Matter Tracts in the Rat Striatum. *Translational Stroke Research*, *7*(3), 192–208.
182. J. Robin Highley, & Nicky Sullivan. (2013). Neuropathology and muscle biopsy techniques. In S. Kim Suvarna, Christopher Layton, John D. Bancroft (Eds.), *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques (Seventh Edition)* (pp. 311–313). Churchill Livingstone. ISBN 9780702042263
183. Kamida, T., Fujiki, M., Ooba, H., Anan, M., Abe, T., & Kobayashi, H. (2009). Neuroprotective effects of edaravone, a free radical scavenger, on the rat hippocampus after pilocarpine-induced status epilepticus. *Seizure*, *18*(1), 71–75. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2008.06.012>
184. Karimipour, M., Shojaei Zarghani, S., Mohajer Milani, M., & Soraya, H. (2018). Pre-Treatment with Metformin in Comparison with Post-Treatment Reduces Cerebral Ischemia Reperfusion Induced Injuries in Rats. *Bulletin of emergency and trauma*, *6*(2), 115–121. <https://doi.org/10.29252/beat-060205>
185. Kashif, H., Shah, D., & Sukumari-Ramesh, S. (2021). Dysregulation of microRNA and Intracerebral Hemorrhage: Roles in Neuroinflammation. *International journal of molecular sciences*, *22*(15), 8115. <https://doi.org/10.3390/ijms22158115>
186. Katila, N., Bhurtel, S., Park, P. H., & Choi, D. Y. (2021). Metformin attenuates rotenone-induced oxidative stress and mitochondrial damage via the AKT/Nrf2 pathway. *Neurochemistry international*, *148*, 105120. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105120>
- Kashif, H., Shah, D., & Sukumari-Ramesh, S. (2021). Dysregulation of microRNA and Intracerebral Hemorrhage:

Roles in Neuroinflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 8115. <https://doi.org/10.3390/ijms22158115>

187. Kawasaki, H., Ito, Y., Kitabayashi, C., Tanaka, A., Nishioka, R., Yamazato, M., Ishizawa, K., Nagai, T., Hirayama, M., Takahashi, K., Yamamoto, T., & Araki, N. (2020). Effects of Edaravone on Nitric Oxide, Hydroxyl Radicals and Neuronal Nitric Oxide Synthase During Cerebral Ischemia and Reperfusion in Mice. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 29(3), 104531.

188. Kazim, S. F., Ogulnick, J. V., Robinson, M. B., Eliyas, J. K., Spangler, B. Q., Hough, T. J., Martinez, E., Karimov, Z., Vidrine, D. W., Schmidt, M. H., & Bowers, C. A. (2021). Cognitive Impairment After Intracerebral Hemorrhage: A Systematic Review and Meta-Analysis. *World Neurosurgery*, 148, 141–162. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2021.01.026>

189. Kerbey, A. L., Radcliffe, P. M., & Randle, P. J. (1977). Diabetes and the control of pyruvate dehydrogenase in rat heart mitochondria by concentration ratios of adenosine triphosphate/adenosine diphosphate, of reduced/oxidized nicotinamide-adenine dinucleotide and of acetyl-coenzyme A/coenzyme A. *Biochemical Journal*, 164(3), 509–519. <https://doi.org/10.1042/bj1640509>

190. Khellaf, A., Garcia, N. M., Tajsic, T., Alam, A., Stovell, M. G., Killen, M. J., Howe, D. J., Guilfoyle, M. R., Jalloh, I., Timofeev, I., Murphy, M. P., Carpenter, T. A., Menon, D. K., Ercole, A., Hutchinson, P. J., Carpenter, K. L., Thelin, E. P., & Helmy, A. (2022). Focally administered succinate improves cerebral metabolism in traumatic brain injury patients with mitochondrial dysfunction. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 42(1), 39–55. <https://doi.org/10.1177/0271678X211042112>

191. Kikuchi, K., Kawahara, K. I., Uchikado, H., Miyagi, N., Kuramoto, T., Miyagi, T., Morimoto, Y., Ito, T., Tanchaen, S., Miura, N., Takenouchi, K., Oyama, Y., Shrestha, B., Matsuda, F., Yoshida, Y., Arimura, S., Mera, K., Tada, K. I., Yoshinaga, N., Maenosono, R., ... Shigemori, M. (2011). Potential of edaravone for neuroprotection in neurologic diseases that do not involve cerebral

infarction. *Experimental and therapeutic medicine*, 2(5), 771–775.
<https://doi.org/10.3892/etm.2011.281>

192. Kim, H. M., Jung, H. S., Shin, H. Y., & Jung, K. Y. (1999). Inhibition of mast cell-dependent anaphylaxis by succinic acid. *Pharmacology & Toxicology*, 84(4), 154–158.

193. Kosaraju, J., Seegobin, M., Gouveia, A., Syal, C., Sarma, S. N., Lu, K. J., Ilin, J., He, L., Wondisford, F. E., Lagace, D., De Repentigny, Y., Kothary, R., & Wang, J. (2020). Metformin promotes CNS remyelination and improves social interaction following focal demyelination through CBP Ser436 phosphorylation. *Experimental Neurology*, 334, 113454.

194. Kriechbaumer, V., & Brandizzi, F. (2020). The plant endoplasmic reticulum: an organized chaos of tubules and sheets with multiple functions. *Journal of Microscopy*, 280(2), 122–133. <https://doi.org/10.1111/jmi.12909>

195. Kuang, J., Liu, M., Yu, Q., Cheng, Y., Huang, J., Han, S., Shi, J., Huang, L., & Li, P. (2023). Antiviral Effect and Mechanism of Edaravone against Grouper Iridovirus Infection. *Viruses*, 15(11), 2237. <https://doi.org/10.3390/v15112237>

196. Kurniawan, V. R., Islam, A. A., Adhimarta, W., Zainuddin, A. A., Widodo, D., Nasrullah, Ihwan, A., Wahyudi, & Faruk, M. (2022). The role of diphenhydramine HCl on tumor necrosis factor- α levels in wistar rats with traumatic brain injury: An in vivo study. *Annals of Medicine and Surgery (London)*, 81, 104399.

197. Kuznetsov, K. O., Safina, E. R., Gaimakova, D. V., Frolova, Y. S., Oganesyanyan, I. Y., Sadertdinova, A. G., Nazmieva, K. A., Islamgulov, A. H., Karimova, A. R., Galimova, A. M., & Rizvanova, E. V. (2022). *Problemy endokrinologii*, 68(5), 45–55. <https://doi.org/10.14341/probl13097>

198. Kwon, N., Kim, D., Swamy, K. M. K., & Yoon, J. (2021). Metal-coordinated fluorescent and luminescent probes for reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Coordination Chemistry Reviews*, 427, 213581. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213581>

199. Lagalwar, S. (2017). Succinic acid treatment of SCA1 transgenic mice [Dataset]. In *Figshare*. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.5406787.v9>
200. Lai, A. K. W., Ng, T. C., Hung, V. K. L., Tam, K. C., Cheung, C. W., Chung, S. K., & Lo, A. C. Y. (2022). Exacerbated VEGF up-regulation accompanies diabetes-aggravated hemorrhage in mice after experimental cerebral ischemia and delayed reperfusion. *Neural regeneration research*, *17*(7), 1566–1575. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.330612>
201. Lattanzi, S., Cagnetti, C., Rinaldi, C., Angelocola, S., Provinciali, L., & Silvestrini, M. (2018). Neutrophil-to-lymphocyte ratio improves outcome prediction of acute intracerebral hemorrhage. *Journal of the neurological sciences*, *387*, 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2018.01.038>
202. Lattanzi, S., Di Napoli, M., Ricci, S., & Divani, A. A. (2020). Matrix Metalloproteinases in Acute Intracerebral Hemorrhage. *Neurotherapeutics*, *17*(2), 484–496. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00839-0>
203. Leasure, A. C., Vanent, K. N., Bevers, M., Kimberly, W. T., Mayer, S. A., Steiner, T., Matouk, C., Sansing, L. H., Falcone, G. J., & Sheth, K. N. (2021). Abstract P410: Association of serum GFAP with hematoma expansion and poor outcome after intracerebral hemorrhage: the Factor VII for ICH Trial. *Stroke*, *52*(Suppl_1). https://doi.org/10.1161/str.52.suppl_1.p410
204. Lee, H. S., & Kim, W. J. (2022). The role of matrix metalloproteinase in inflammation with a focus on infectious diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(18), 10546.
205. Lee, T. H., Chen, J. L., Tsai, M. M., Wu, Y. H., Tseng, H. C., Cheng, L. C., Shanmugam, V., & Hsieh, H. L. (2023). Protective effects of sophoraflavanone G by inhibiting TNF- α -induced MMP-9-mediated events in brain microvascular endothelial cells. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(1), 283.
206. Leech, T., Chattipakorn, N., & Chattipakorn, S. C. (2019). The beneficial roles of metformin on the brain with cerebral ischaemia/reperfusion

- injury.*Pharmacological research*, *146*, 104261.
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104261>
207. Lei, C., Li, Y., Zhu, X., Li, H., & Chang, X. (2022). HMGB1/TLR4 induces autophagy and promotes neuroinflammation after intracerebral hemorrhage.*Brain research*, *1792*, 148003.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2022.148003>
208. Leshchyns'ka, I., & Sytnyk, V. (2015). Intracellular transport and cell surface delivery of the neural cell adhesion molecule (NCAM). *BioArchitecture*, *5*(3–4), 54–60. <https://doi.org/10.1080/19490992.2015.1118194>
209. Levy, Y. S., Streifler, J. Y., Panet, H., Melamed, E., & Offen, D. (2002). Hemin-induced apoptosis in PC12 and neuroblastoma cells: implications for local neuronal death associated with intracerebral hemorrhage. *Neurotoxicity Research*, *4*(7–8), 609–616. <https://doi.org/10.1080/1029842021000045624>
210. Li, A., Sun, X., Ni, Y., Chen, X., & Guo, A. (2013). HIF-1 α Involves in Neuronal Apoptosis after Traumatic Brain Injury in Adult Rats. *Journal of Molecular Neuroscience*, *51*(3), 1052–1062.
211. Li, H., Liu, R., Liu, J., & Qu, Y. (2024). The Role and Mechanism of Metformin in the Treatment of Nervous System Diseases. *Biomolecules*, *14*(12), 1579. <https://doi.org/10.3390/biom14121579>
212. Li, L., Zhang, H., & Feng, G. L. (2022). Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Predicts in-Hospital Mortality in Intracerebral Hemorrhage. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association*, *31*(8), 106611.
<https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2022.106611>
213. Li, N., Zhou, T., & Fei, E. (2022). Actions of Metformin in the Brain: A New Perspective of Metformin Treatments in Related Neurological Disorders.*International journal of molecular sciences*, *23*(15), 8281.
<https://doi.org/10.3390/ijms23158281>
214. Li, Q. Q., Li, L. J., Wang, X. Y., Sun, Y. Y., & Wu, J. (2018). Research Progress in Understanding the Relationship Between Heme Oxygenase-

1 and Intracerebral Hemorrhage. *Frontiers in Neurology*, 9, 682. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00682>

215. Li, W., Prakash, R., Kelly-Cobbs, A. I., Ogbi, S., Kozak, A., El-Remessy, A. B., Schreihofner, D. A., Fagan, S. C., & Ergul, A. (2010). Adaptive cerebral neovascularization in a model of type 2 diabetes: relevance to focal cerebral ischemia. *Diabetes*, 59(1), 228–235. <https://doi.org/10.2337/db09-0902>

216. Li, X., Lu, F., Li, W., Qin, L., Yao, Y., Ge, X., Yu, Q., Liang, X., Zhao, D., Li, X., & Zhang, J. (2017). Edaravone injection reverses learning and memory deficits in a rat model of vascular dementia. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 49(1), 83–89. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmw116>

217. Li, X., Ma, D., & Sun, G. (2020). Effects of Edaravone on Neurological Function and Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin 8 Levels in Patients with Cerebral Infarction. *European Neurology*, 83(1), 73–79.

218. Li, Y., Liu, H., Tian, C., An, N., Song, K., Wei, Y., Sun, Y., Xing, Y., & Gao, Y. (2022). Targeting the multifaceted roles of mitochondria in intracerebral hemorrhage and therapeutic prospects. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 148, 112749. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112749>

219. Li, Y.-L., & Lv, F.-J. (2023). Advances in prediction for perihematomal edema growth in intracerebral hemorrhage. *Neurodegenerative Diseases: Current Research*, 3(1). <https://doi.org/10.53043/ndcr-3-001>

220. Li, Z., Li, M., Shi, S. X., Yao, N., Cheng, X., Guo, A., Zhu, Z., Zhang, X., & Liu, Q. (2020). Brain transforms natural killer cells that exacerbate brain edema after intracerebral hemorrhage. *The Journal of experimental medicine*, 217(12), e20200213. <https://doi.org/10.1084/jem.20200213>

221. Liao, K. H., Sung, C. W., Huang, Y. N., Li, W. J., Yu, P. C., & Wang, J. Y. (2017). Therapeutic Potential of Drugs Targeting Pathophysiology of Intracerebral Hemorrhage: From Animal Models to Clinical Applications. *Current Pharmaceutical Design*, 23(15), 2212–2225.

222. Lievykh, A. E., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Y. V., Shevtsova, A. I., Ushakova, G. A., & Zhyliuk, V. I. (2021). Changes in biomarkers of endothelial function in the blood after intracerebral hemorrhage in rats with type 2 diabetes mellitus. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, *12*(4), 733–739. <https://doi.org/10.15421/0221101>
223. Lievykh, A., Zhyliuk, V., Tkachenko, V., Kharchenko, Y., Ushakova, G., & Shevtsova, A. (2022). Effects of edaravone on oxidative protein modification and activity of gelatinases after intracerebral hemorrhage in rats with nicotinamide-streptozotocin induced diabetes. *Journal of Biological Research – Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale*, *95*, Article 10554. <https://doi.org/10.4081/jbr.2022.10554>
224. Limbrick, D. D., Morales, D. M., Shannon, C. N., Wellons, J. C., Kulkarni, A. V., Alvey, J. S., Reeder, R. W., Freimann, V., Holubkov, R., Riva-Cambrin, J. K., Whitehead, W. E., Rozzelle, C. J., Tamber, M., Oakes, W. J., Drake, J. M., Pollack, I. F., Naftel, R. P., Inder, T. E., Kestle, J. R., & Hydrocephalus Clinical Research Network. (2021). Cerebrospinal fluid NCAM-1 concentration is associated with neurodevelopmental outcome in post-hemorrhagic hydrocephalus of prematurity. *PLoS One*, *16*(3), e0247749.
225. Lingappan, K. (2018). NF- κ B in Oxidative Stress. *Current Opinion in Toxicology*, *7*, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.11.002>
226. Liu, C. Y., Wang, X., Liu, C., & Zhang, H. L. (2019). Pharmacological Targeting of Microglial Activation: New Therapeutic Approach. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *13*, 514. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00514>
227. Liu, J., & Zhao, N., Su, S. H., Gao, Y., & Qi, B. (2023). Anti-Arthritic Effect of Edaravone Against Complete Freund Adjuvant Induced Arthritis via Osteoclast Differentiation and HIF-1 α -VEGF-ANG-1 Axis. *Drug Design, Development and Therapy*, *17*, 519–534.

228. Liu, J., Gao, B.-B., Clermont, A. C., et al. (2011). Hyperglycemia-induced cerebral hematoma expansion is mediated by plasma kallikrein. *Nature Medicine*, *17*(2), 206–210.
229. Liu, J., Zhu, Z., & Leung, G. K. (2022). Erythrophagocytosis by Microglia/Macrophage in Intracerebral Hemorrhage: From Mechanisms to Translation. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *16*, 818602. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.818602>
230. Liu, J., Jiang, Y., Zhang, G., et al. (2019). Protective effect of edaravone on blood-brain barrier by affecting NRF-2/HO-1 signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *18*(4), 2437–2442. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7859>
231. Liu, S., Pi, J., & Zhang, Q. (2022). Signal amplification in the KEAP1-NRF2-ARE antioxidant response pathway. *Redox Biology*, *54*, 102389. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102389>
232. Liu, T., Duan, Z., Jia, Q., Chen, H., Jia, W., Zheng, L., Xu, D., Yang, Y., Yuan, Y., Yang, L., & Wu, C. (2023). Edaravone promotes A1/A2 polarization of astrocytes through JAK2 / STAT3 pathway. *Research Square (Research Square)*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3072656/v1>
233. Liu, X., Shao, R., Li, M., & Yang, G. (2014). Edaravone protects neurons in the rat substantia nigra against 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress damage. *Cell biochemistry and biophysics*, *70*(2), 1247–1254. <https://doi.org/10.1007/s12013-014-0048-8>
234. Liu, Y., Yang, S., Cai, E., Lin, L., Zeng, P., Nie, B., Xu, F., Tian, Q., & Wang, J. (2020). Functions of lactate in the brain of rat with intracerebral hemorrhage evaluated with MRI/MRS and in vitro approaches. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, *26*(10), 1031–1044. <https://doi.org/10.1111/cns.13399>
235. Luger, S., Witsch, J., Dietz, A., Hamann, G. F., Minnerup, J., Schneider, H., Sitzer, M., Wartenberg, K. E., Niessner, M., Foerch, C., & BE FAST II and the IGNITE Study Groups. (2017). Glial Fibrillary Acidic Protein

Serum Levels Distinguish between Intracerebral Hemorrhage and Cerebral Ischemia in the Early Phase of Stroke. *Clinical Chemistry*, 63(1), 377–385.

236. Luo, P., Li, R., Yu, S., Xu, T., Yue, S., Ji, Y., Chen, X., & Xie, H. (2017). The Relationship between Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Intracerebral Hemorrhage in Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association*, 26(5), 930–937.
<https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.10.041>

237. Ma, S., Wang, J., Wang, Y., Dai, X., Xu, F., Gao, X., Johnson, J., Xu, N., Leak, R. K., Hu, X., Luo, Y., & Chen, J. (2018). Diabetes Mellitus Impairs White Matter Repair and Long-Term Functional Deficits After Cerebral Ischemia. *Stroke*, 49(10), 2453–2463.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.118.021452>

238. Maciejczyk, M., Żebrowska, E., & Chabowski, A. (2019). Insulin Resistance and Oxidative Stress in the Brain: What's New?. *International journal of molecular sciences*, 20(4), 874. <https://doi.org/10.3390/ijms20040874>

239. Mader, M. M., Böger, R., Appel, D., Schwedhelm, E., Haddad, M., Mohme, M., Lamszus, K., Westphal, M., Czorlich, P., & Hannemann, J. (2021). Intrathecal and systemic alterations of L-arginine metabolism in patients after intracerebral hemorrhage. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 41(8), 1964–1977.

240. Magid-Bernstein, J., Girard, R., Polster, S., Srinath, A., Romanos, S., Awad, I. A., & Sansing, L. H. (2022). Cerebral Hemorrhage: Pathophysiology, Treatment, and Future Directions. *Circulation Research*, 130(8), 1204–1229.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.319949>

241. Maksimova, M. Y. (2022). Combined effect of succinic acid, riboxin, nicotinamide, riboflavin for the treatment of chronic brain ischaemia. *Meditinskiy Sovet = Medical Council*, 21, 20–26.
<https://doi.org/10.21518/2079-701x-2022-16-21-20-26>

242. Malhotra, J. D., & Kaufman, R. J. (2007). Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxidants & Redox Signaling*, *9*(10), 2277–2293.
243. Marcolini, E., Stretz, C., & DeWitt, K. M. (2019). Intracranial Hemorrhage and Intracranial Hypertension. *Emergency Medicine Clinics of North America*, *37*(3), 529–544.
244. Marini, S., Morotti, A., Lena, U. K., Goldstein, J. N., Greenberg, S. M., Rosand, J., & Anderson, C. D. (2018). Men Experience Higher Risk of Pneumonia and Death After Intracerebral Hemorrhage. *Neurocritical Care*, *28*(1), 77–82. <https://doi.org/10.1007/s12028-017-0431-6>
245. Martins, A. F., Neto, A. C., Rodrigues, A. R., Oliveira, S. M., Sousa-Mendes, C., Leite-Moreira, A., Gouveia, A. M., Almeida, H., & Neves, D. (2022). Metformin Prevents Endothelial Dysfunction in Endometriosis through Downregulation of ET-1 and Upregulation of eNOS. *Biomedicines*, *10*(11), 2782.
246. McKenna, M. C., Schuck, P. F., & Ferreira, G. C. (2019). Fundamentals of CNS energy metabolism and alterations in lysosomal storage diseases. *Journal of Neurochemistry*, *148*(5), 590–599. <https://doi.org/10.1111/jnc.14577>
247. Melkonian, E. A., & Schury, M. P. (2023). Biochemistry, Anaerobic Glycolysis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
248. Meng, C., Zhang, J., Dang, B., Li, H., Shen, H., Li, X., & Wang, Z. (2018). PERK Pathway Activation Promotes Intracerebral Hemorrhage Induced Secondary Brain Injury by Inducing Neuronal Apoptosis Both *in Vivo* and *in Vitro*. *Frontiers in neuroscience*, *12*, 111. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00111>
249. Merdzo, I., Rutkai, I., Sure, V. N. L. R., Katakam, P. V. G., & Busija, D. W. (2019). Effects of prolonged type 2 diabetes on mitochondrial function in cerebral blood vessels. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, *317*(5), H1086–H1092. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00341.2019>

250. Michaličková, D., Kübra Öztürk, H., Hroudová, J., Ľupták, M., Kučera, T., Hrnčíř, T., Kutinová Canová, N., Šíma, M., & Slanař, O. (2022). Edaravone attenuates disease severity of experimental auto-immune encephalomyelitis and increases gene expression of Nrf2 and HO-1. *Physiological research*, 71(1), 147–157. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934800>
251. Mishiro, K., Imai, T., Sugitani, S., et al. (2014). Diabetes mellitus aggravates hemorrhagic transformation after ischemic stroke via mitochondrial defects leading to endothelial apoptosis. *PLoS One*, 9(8), e103818.
252. Miyano, K., Okamoto, S., Yamauchi, A., Kajikawa, M., Kiyohara, T., Taura, M., Kawai, C., & Kuribayashi, F. (2020). Constitutive activity of NADPH oxidase 1 (Nox1) that promotes its own activity suppresses the colon epithelial cell migration. *Free Radical Research*, 54(8–9), 640–648. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1823383>
253. Mohammed Thangameeran, S. I., Tsai, S. T., Hung, H. Y., Hu, W. F., Pang, C. Y., Chen, S. Y., & Liew, H. K. (2020). A Role for Endoplasmic Reticulum Stress in Intracerebral Hemorrhage. *Cells*, 9(3), 750. <https://doi.org/10.3390/cells9030750>
254. Moosaie, F., Mohammadi, S., Saghadzadeh, A., Dehghani Firouzabadi, F., & Rezaei, N. (2023). Brain-derived neurotrophic factor in diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 18(2), e0268816.
255. Moreira P. I. (2014). Metformin in the diabetic brain: friend or foe?. *Annals of translational medicine*, 2(6), 54. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2014.06.10>
256. Morotti, A., Boulouis, G., Dowlathshahi, D., Li, Q., Shamy, M., Al-Shahi Salman, R., Rosand, J., Cordonnier, C., Goldstein, J. N., & Charidimou, A. (2023). Intracerebral haemorrhage expansion: definitions, predictors, and prevention. *The Lancet Neurology*, 22(2), 159–171. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(22\)00338-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00338-6)

257. Mosenzon, O., Cheng, A. Y., Rabinstein, A. A., & Sacco, S. (2023). Diabetes and Stroke: What Are the Connections?. *Journal of stroke*, *25*(1), 26–38. <https://doi.org/10.5853/jos.2022.02306>
258. Münch, G., Keis, R., Wessels, A., Riederer, P., Bahner, U., Heidland, A., Niwa, T., Lemke, H. D., & Schinzel, R. (1997). Determination of advanced glycation end products in serum by fluorescence spectroscopy and competitive ELISA. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, *35*(9), 669–677. <https://doi.org/10.1515/cclm.1997.35.9.669>
259. Muñoz-Rivas, N., Méndez-Bailón, M., Hernández-Barrera, V., de Miguel-Yanes, J. M., Jimenez-Garcia, R., Esteban-Hernández, J., & Lopez-de-Andrés, A. (2016). Type 2 Diabetes and Hemorrhagic Stroke: A Population-Based Study in Spain from 2003 to 2012. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association*, *25*(6), 1431–1443. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.02.031>
260. Nafisa, A., Gray, S. G., Cao, Y., Wang, T., Xu, S., Wattoo, F. H., Barras, M., Cohen, N., Kamato, D., & Little, P. J. (2018). Endothelial function and dysfunction: Impact of metformin. *Pharmacology & therapeutics*, *192*, 150–162. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.07.007>
261. Nakamura, H., & Takada, K. (2021). Reactive oxygen species in cancer: Current findings and future directions. *Cancer science*, *112*(10), 3945–3952. <https://doi.org/10.1111/cas.15068>
262. Narine, M., Azmi, M. A., Umali, M., Volz, A., & Colognato, H. (2023). The AMPK activator metformin improves recovery from demyelination by shifting oligodendrocyte bioenergetics and accelerating OPC differentiation. *Frontiers in cellular neuroscience*, *17*, 1254303. <https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1254303>
263. Nazari, B., Jaquet, V., & Krause, K. H. (2023). NOX family NADPH oxidases in mammals: Evolutionary conservation and isoform-defining sequences. *Redox Biology*, *66*, 102851. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2023.102851>

264. Nisimoto, Y., Ogawa, H., Kadokawa, Y., & Qiao, S. (2018). NADPH oxidase 4 function as a hydrogen peroxide sensor. *Journal of Biochemistry*, *163*(6), 489–501. <https://doi.org/10.1093/jb/mvy014>
265. Niu, M., Dai, X., Zou, W., Yu, X., Teng, W., Chen, Q., Sun, X., Yu, W., Ma, H., & Liu, P. (2017). Autophagy, Endoplasmic Reticulum Stress and the Unfolded Protein Response in Intracerebral Hemorrhage. *Translational Neuroscience*, *8*, 37–48. <https://doi.org/10.1515/tnsci-2017-0008>
266. Nocella, C., D'Amico, A., Cammisotto, V., Bartimoccia, S., Castellani, V., Loffredo, L., Marini, L., Ferrara, G., Testa, M., Motta, G., Benazzi, B., Zara, F., Frati, G., Sciarretta, S., Pignatelli, P., Violi, F., & Group, S. (2023). Structure, Activation, and Regulation of NOX2: At the Crossroad between the Innate Immunity and Oxidative Stress-Mediated Pathologies. *Antioxidants (Basel)*, *12*(2), 429. <https://doi.org/10.3390/antiox12020429>
267. O'Callaghan, J. P. (1988). Neurotypic and gliotypic proteins as biochemical markers of neurotoxicity. *Neurotoxicology and Teratology*, *10*(5), 445–452. [https://doi.org/10.1016/0892-0362\(88\)90006-2](https://doi.org/10.1016/0892-0362(88)90006-2)
268. Oguntibeju O. O. (2019). Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, *11*(3), 45–63.
269. Oh, T. K., Kim, S., & Song, I. A. (2024). Joblessness, decreased income, and disability in intensive care unit survivors of nontraumatic intracranial hemorrhage in South Korea. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, *33*(1), 107459. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2023.107459+>
270. Okuyama, S., Morita, M., Sawamoto, A., et al. (2015). Edaravone enhances brain-derived neurotrophic factor production in the ischemic mouse brain. *Pharmaceuticals*, *8*(2), 176–185. <https://doi.org/10.3390/ph8020176>
271. Oliveira, W. H., Nunes, A. K., França, M. E., Santos, L. A., Lós, D. B., Rocha, S. W., Barbosa, K. P., Rodrigues, G. B., & Peixoto, C. A. (2016). Effects of metformin on inflammation and short-term memory in streptozotocin-induced diabetic mice. *Brain Research*, *1644*, 149–160.

272. On, S., Poh, R., Salor, R. S., Philip, R. G., Chekkattu, R. H., Lim, M. A., & Thien, A. (2022). The burden and risks factors for intracerebral hemorrhage in a Southeast Asian population. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, *214*, 107145.
273. Ong, G., & Logue, S. E. (2023). Unfolding the Interactions between Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *12*(5), 981. <https://doi.org/10.3390/antiox12050981>
274. Pai, A., Hegde, A., Nair, R., & Menon, G. (2020). Adult Primary Intraventricular Hemorrhage: Clinical Characteristics and Outcomes. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, *11*(4), 623–628. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1716770>
275. Pang, Y., Liu, X., Wang, X., Shi, X., Ma, L., Zhang, Y., Zhou, T., Zhao, C., Zhang, X., Fan, B., Hao, J., Li, W., Zhao, X., Zhang, R., Zhou, S., Kong, X., Feng, S., & Yao, X. (2022). Edaravone Modulates Neuronal GPX4/ACSL4/5-LOX to Promote Recovery After Spinal Cord Injury. *Frontiers in cell and developmental biology*, *10*, 849854. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.849854>
276. Pang, Z., Kushiya, A., Sun, J., Kikuchi, T., Yamazaki, H., Iwamoto, Y., Koriyama, H., Yoshida, S., Shimamura, M., Higuchi, M., Kawano, T., Takami, Y., Rakugi, H., Morishita, R., & Nakagami, H. (2017). Glial fibrillary acidic protein (GFAP) is a novel biomarker for the prediction of autoimmune diabetes. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *31*(9), 4053–4063.
277. Pangovski, I. (2021). Diabetes mellitus and hypertensive cerebral hemorrhage. *Archives of Public Health*, *13*(2), 57–61. <https://doi.org/10.3889/aph.2021.6012>
278. Parker, D., Jr, Rhoney, D. H., & Liu-DeRyke, X. (2010). Management of spontaneous nontraumatic intracranial hemorrhage. *Journal of Pharmacy Practice*, *23*(5), 398–407.

279. Pashkovska, N. (2023). Cognitive impairment in type 2 diabetes mellitus: prospects for the use of metformin. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY (Ukraine)*, 19(3), 215–224. <https://doi.org/10.22141/2224-0721.19.3.2023.1274>
280. Paudel, Y. N., Angelopoulou, E., Piperi, C., Shaikh, M. F., & Othman, I. (2020). Emerging neuroprotective effect of metformin in Parkinson's disease: A molecular crosstalk. *Pharmacological research*, 152, 104593. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104593>
281. Peacock, J. L., & Peacock, P. J. (2020). *Oxford Handbook of Medical Statistics (2nd ed.)*. Oxford University Press.
282. Perkins, H. T., & Allan, V. (2021). Intertwined and Finely Balanced: Endoplasmic Reticulum Morphology, Dynamics, Function, and Diseases. *Cells*, 10(9), 2341. <https://doi.org/10.3390/cells10092341>
283. Pikula, A., Howard, B. V., & Seshadri, S. (2018). Stroke and Diabetes. In C. C. Cowie (Eds.) et. al., *Diabetes in America*. (3rd ed.). National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (US).
284. Pinho, J., Costa, A. S., Araújo, J. M., Amorim, J. M., & Ferreira, C. (2019). Intracerebral hemorrhage outcome: A comprehensive update. *Journal of the Neurological Sciences*, 398, 54–66. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2019.01.013>
285. Pizova, N. V. (2010). SUCCINIC ACID DERIVATIVES IN THERAPY FOR CEREBROVASCULAR DISEASE. *Neurology Neuropsychiatry Psychosomatics*, 0(1), 67. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2010-74>
286. Postler, T. S., Peng, V., Bhatt, D. M., & Ghosh, S. (2021). Metformin selectively dampens the acute inflammatory response through an AMPK-dependent mechanism. *Scientific Reports*, 11(1), 18721.
287. Potârniche, A., Dreanca, A., Sarpataki, O., Sevastre, B., & Marcus, I. (2018). Experimental model of streptozotocin-nicotinamide induced diabetes mellitus type II in Sprague-Dawley rats: Step by step protocol and the encountered issues. *Revista Română de Medicină Veterinară*, 28(2), 22–26.

288. Pozdnyakov, D.I., Zolotych, D.S., & Larsky, M.V.. (2021). Correction of mitochondrial dysfunction by succinic acid derivatives under experimental cerebral ischemia conditions. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 34(1), 2021. 42-48. <https://doi.org/10.2478/cipms-2021-0008>
289. Qi, B., Hu, L., Zhu, L., Shang, L., Wang, X., Liu, N., Wen, N., Hong, Y., & Fang, D. (2017). Metformin Attenuates Neurological Deficit after Intracerebral Hemorrhage by Inhibiting Apoptosis, Oxidative Stress and Neuroinflammation in Rats. *Neurochemical research*, 42(10), 2912–2920. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2322-9>
290. Qin, M., Feng, L., Yang, C., Wei, D., Li, T., Jiang, P., Guan, J., Zhang, X., Shi, X., Liang, N., Lai, X., Zhou, L., Zhang, C., & Gao, Y. (2022). Edaravone use in acute intracerebral hemorrhage: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in pharmacology*, 13, 935198. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.935198>
291. Qu, J., Chen, W., Hu, R., & Feng, H. (2016). The Injury and Therapy of Reactive Oxygen Species in Intracerebral Hemorrhage Looking at Mitochondria. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2592935. <https://doi.org/10.1155/2016/2592935>
292. Radionova, K. S., Belnik, A. P., & Ostrovskaya, R. U. (2008). Original nootropic drug noopept prevents memory deficit in rats with muscarinic and nicotinic receptor blockade. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 146 (1), 59–62. <https://doi.org/10.1007/s10517-008-0209-0>
293. Radu, R. A., Terecoasa, E. O., Tiu, C., Ghita, C., Purcaru, L. I., Marinescu, A. N., & Bajenaru, O. A. (2020). Clinical Characteristics and Outcomes of Patients with Intracerebral Hemorrhage - A Feasibility Study on Romanian Patients. *Journal of Medicine and Life*, 13(2), 125–131. <https://doi.org/10.25122/jml-2020-0042>
294. Rahimi, S., Ferdowsi, A., & Siahposht-Khachaki, A. (2020). Neuroprotective effects of metformin on traumatic brain injury in rats is

associated with the AMP-activated protein kinase signaling pathway. *Metabolic brain disease*, 35(7), 1135–1144. <https://doi.org/10.1007/s11011-020-00594-3>

295. Rathore, R., Zheng, Y. M., Niu, C. F., Liu, Q. H., Korde, A., Ho, Y. S., & Wang, Y. X. (2008). Hypoxia activates NADPH oxidase to increase [ROS]_i and [Ca²⁺]_i through the mitochondrial ROS-PKCε signaling axis in pulmonary artery smooth muscle cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(9), 1223–1231. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.06.012>

296. Rauen, K., Pop, V., Trabold, R., Badaut, J., & Plesnila, N. (2020). Vasopressin V1a Receptors Regulate Cerebral Aquaporin 1 after Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, 37(4), 665–674. <https://doi.org/10.1089/neu.2019.6653>

297. Razavi, S. M., Arab, Z. N., Niknejad, A., Hosseini, Y., Fouladi, A., Khales, S. D., Shahali, M., Momtaz, S., Butler, A. E., Sukhorukov, V. N., Jamialahmadi, T., Abdolghaffari, A. H., & Sahebkar, A. (2024). Therapeutic effects of anti-diabetic drugs on traumatic brain injury. *Diabetes & metabolic syndrome*, 18(2), 102949. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2024.102949>

298. Reeta, K. H., Singh, D., & Gupta, Y. K. (2017). Edaravone attenuates intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive impairment in rats. *The European journal of neuroscience*, 45(7), 987–997. <https://doi.org/10.1111/ejn.13543>

299. Rendeovski, V., Aleksovski, B., Mihajlovska Rendevska, A., Hadzi-Petrushev, N., Manusheva, N., Shuntov, B., & Gjorgoski, I. (2023). Inflammatory and oxidative stress markers in intracerebral hemorrhage: Relevance as prognostic markers for quantification of the edema volume. *Brain Pathology*, 33(2), e13106. <https://doi.org/10.1111/bpa.13106>

300. Rehni, A. K., Nautiyal, N., Perez-Pinzon, M. A., & Dave, K. R. (2015). Hyperglycemia / hypoglycemia-induced mitochondrial dysfunction and cerebral ischemic damage in diabetics. *Metabolic brain disease*, 30(2), 437–447. <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9538-z>

301. Ren, H., Han, R., Chen, X., Liu, X., Wan, J., Wang, L., Yang, X., & Wang, J. (2020). Potential therapeutic targets for intracerebral hemorrhage-associated inflammation: An update. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, *40*(9), 1752–1768. <https://doi.org/10.1177/0271678X20923551>+
302. Rhodes, A. (2013). Fixation of tissues. In S. K. Suvarna, C. Layton, & J. D. Bancroft (Eds.), *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (7th ed., pp. 69–93). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4226-3.00005-1>
303. Ristikj-Stomnaroska, D., Risteska-Nejashmikj, V., & Papazova, M. (2019). Role of Inflammation in the Pathogenesis of Diabetic Peripheral Neuropathy. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, *7*(14), 2267–2270. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.646>
304. Rizal, A., Faisal, A., & Dwidanarti, S. R. (2018). Correlation of volume and intracerebral site with hemorrhagic stroke mortality based on CT Scan. *Academic Hospital Journal*, *1*(1), 20. <https://doi.org/10.22146/ahj.v1i1.33621> +
305. Robinson, S. R., Dang, T. N., Dringen, R., & Bishop, G. M. (2009). Hemin toxicity: a preventable source of brain damage following hemorrhagic stroke. *Redox Report*, *14*(6), 228–235. <https://doi.org/10.1179/135100009X12525712409931>
306. Rom, S., Heldt, N. A., Gajghate, S., Seliga, A., Reichenbach, N. L., & Persidsky, Y. (2020). Hyperglycemia and advanced glycation end products disrupt BBB and promote occludin and claudin-5 protein secretion on extracellular microvesicles. *Scientific reports*, *10*(1), 7274. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64349-x>
307. Romeiro, T. H., Da Silva, S. C., Beggiora, P. D. S., Sampaio, G. B., Brandão, R. A., Santos, M. V., Machado, H. R., & Lopes, L. D. S. (2022). The association of Edaravone with shunt surgery improves behavioral performance, reduces astrocyte reaction and apoptosis, and promotes neuroprotection in young hydrocephalic rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *119*, 102059.

308. Rosa, A. C., Corsi, D., Cavi, N., Bruni, N., & Dosio, F. (2021). Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules*, 26(7), 1844. <https://doi.org/10.3390/molecules26071844>
309. Rosu, G. C., Pirici, I., Grigorie, A. A., Istrate-Ofiteru, A. M., Iovan, L., Tudorica, V., & Pirici, D. (2019). Distribution of Aquaporins 1 and 4 in the Central Nervous System. *Current Health Sciences Journal*, 45(2), 218–226.
310. Rutishauser, U., & Goridis, C. (1986). NCAM: the molecule and its genetics. *Trends in Genetics*, 2, 72–76.
311. Sadaf, H., Desai, V. R., Misra, V., Golanov, E., Hegde, M. L., Villapol, S., Karmonik, C., Regnier-Golanov, A., Sayenko, D., Horner, P. J., Krencik, R., Weng, Y. L., Vahidy, F. S., & Britz, G. W. (2021). A contemporary review of therapeutic and regenerative management of intracerebral hemorrhage. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 8(11), 2211–2221.
312. Safonova, O. A., Popova, T. N., Slivkin, A. I., Belenova, A. S., & Talmi, Y. (2015). Effect of succinic acid and chitosan derivatives on aconitate hydratase activity and citrate content in rat brain tissues under Ischemia/Reperfusion conditions. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 48(12), 771–774. <https://doi.org/10.1007/s11094-015-1192-1>
313. Saito, Y., Fujii, Y., Yashiro, M., Tsuge, M., Nosaka, N., Yamashita, N., Yamada, M., Tsukahara, H., & Morishima, T. (2015). Inhibitory Effects of Edaravone, a Free Radical Scavenger, on Cytokine-induced Hyperpermeability of Human Pulmonary Microvascular Endothelial Cells: A Comparison with Dexamethasone and Nitric Oxide Synthase Inhibitor. *Acta Medica Okayama*, 69(5), 279–290.
314. Saliba, W., Barnett-Griness, O., Gronich, N., Molad, J., Naftali, J., Rennert, G., & Auriel, E. (2019). Association of Diabetes and Glycated Hemoglobin With the Risk of Intracerebral Hemorrhage: A Population-Based Cohort Study. *Diabetes care*, 42(4), 682–688. <https://doi.org/10.2337/dc18-2472>

315. San-Millán I. (2023). The Key Role of Mitochondrial Function in Health and Disease. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 12(4), 782. <https://doi.org/10.3390/antiox12040782>
316. Sanati, M., Aminyavari, S., Afshari, A. R., & Sahebkar, A. (2022). Mechanistic insight into the role of metformin in Alzheimer's disease. *Life sciences*, 291, 120299. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120299>
317. Sanders, A. P., Hall, I. H., & Woodhall, B. (1965). Succinate: protective agent against hyperbaric oxygen toxicity. *Science (New York, N.Y.)*, 150(3705), 1830–1831. <https://doi.org/10.1126/science.150.3705.1830>
318. Santos, C. X., Tanaka, L. Y., Wosniak, J., & Laurindo, F. R. (2009). Mechanisms and implications of reactive oxygen species generation during the unfolded protein response: roles of endoplasmic reticulum oxidoreductases, mitochondrial electron transport, and NADPH oxidase. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11(10), 2409–2427. <https://doi.org/10.1089/ars.2009.2625>
319. Saxena, R., Saxena, S., Singh, A. P., & Maurya, N. K. (2024). Metabolic reasons of diabetes mellitus: An update. *International Journal of Clinical Biochemistry and Research*, 11(1), 8–11. <https://doi.org/10.18231/j.ijcbr.2024.002>
320. Schiavone, S., & Trabace, L. (2018). The interplay between oxidative stress and bioenergetic failure in neuropsychiatric illnesses: can we explain it and can we treat it? *Molecular Neurobiology*, 55(6), 4667–4678. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0700-8>
321. Schimmel, S. J., Acosta, S., & Lozano, D. (2017). Neuroinflammation in traumatic brain injury: A chronic response to an acute injury. *Brain Circulation*, 3(3), 135–142. https://doi.org/10.4103/bc.bc_18_17
322. Scimone, C., Donato, L., Alafaci, C., Granata, F., Rinaldi, C., Longo, M., D'Angelo, R., Sidoti, A., & Italian ICH Study Group. (2020). High-Throughput Sequencing to Detect DNA-RNA Changes in RNAs Isolated from Cerebral Hematoma Surrounding Tissue of Intracerebral Hemorrhage Patients. *Applied Sciences*, 10(18), 6357. <https://doi.org/10.3390/app10186357>

323. Seif, R. H. a. I., Sherbeny, A. a. E., Bekhet, M. M., & Taha, B. M. (2024). N-Cadherin as a new marker for diagnosis of diabetic nephropathy. *QJM*, *117*(Supplement_2). <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcae175.464>
324. Seifi, A., & Rawlings, J. (2022). Description of intracerebral hemorrhage locations, in the United States, based on international classification of diseases, tenth revision. *Journal of the neurological sciences*, *436*, 120224. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2022.120224+>
325. Sekerdag, E., Solaroglu, I., & Gursoy-Ozdemir, Y. (2018). Cell Death Mechanisms in Stroke and Novel Molecular and Cellular Treatment Options. *Current Neuropharmacology*, *16*(9), 1396–1415. <https://doi.org/10.2174/1570159X16666180302162244>
326. Selim, M., & Sheth, K. N. (2020). Perihematoma edema: Implications for intracerebral hemorrhage research and therapeutic advances. *Journal of Neuroscience Research*, *98*(1), 212–218. <https://doi.org/10.1002/jnr.24372>
327. Selvaraj, V., Venkatesh, K., & Yeldho, K. V. (2024). Exploring the neuroprotective potential of Nrf2 activators in Parkinson's disease: a review of preclinical evidence and future directions. *Molecular Biology Reports*, *51*(1), 816. <https://doi.org/10.1007/s11033-024-09736-x>
328. Sena, C. M., Matafome, P., Louro, T., Nunes, E., Fernandes, R., & Seiça, R. M. (2011). Metformin restores endothelial function in aorta of diabetic rats. *British Journal of Pharmacology*, *163*(2), 424–437. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01230.x>
329. Shakkour, Z., Issa, H., Ismail, H., Ashekyan, O., Habashy, K. J., Nasrallah, L., Jourdi, H., Hamade, E., Mondello, S., Sabra, M., Zibara, K., & Kobeissy, F. (2021). Drug Repurposing: Promises of Edaravone Target Drug in Traumatic Brain Injury. *Current medicinal chemistry*, *28*(12), 2369–2391. <https://doi.org/10.2174/0929867327666200812221022>
330. Shang, J., Liu, N., Liu, J., Tan, H., Zhang, Q., Peng, Z., Shang, X., Tan, Q., & Li, Z. (2023). Hemin induces microglia activation via NADPH

oxidase 2 and NADPH oxidase 4 after intracerebral hemorrhage in mice. *Frontiers in Immunology*, *14*, 1283117. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1283117>

331. Shao, A., Zhu, Z., Li, L., Zhang, Q., & Yang, J. (2020). Emerging therapeutic targets associated with the immune system in patients with intracerebral haemorrhage (ICH): From mechanisms to translation. *EBioMedicine*, *63*, 103177. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.103177>

332. Shao, S., Zhao, L., An, G., Zhang, L., Jing, X., Luo, M., Li, W., Meng, D., Ning, Q., Zhao, X., & Lei, J. (2020). Metformin suppresses HIF-1 α expression in cancer-associated fibroblasts to prevent tumor-stromal cross talk in breast cancer. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *34*(8), 10860–10870. <https://doi.org/10.1096/fj.202000951RR>

333. Shao, Z., Tu, X., & Zhang, J. (2022). Inflammation in Intracerebral Hemorrhage: From Bench to Bedside. *Frontiers in Immunology*, *13*, 853431. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.853431>

334. Sharma, R., & Kim, G. H. (2022). Acute Intracerebral Hemorrhage: Present and Future Directions for Translational Research on Neuroinflammation. *Biomedicines*, *10*(7), 1534. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10071534>

335. Shan, L. Y., Li, J. Z., Zu, L. Y., Niu, C. G., Ferro, A., Zhang, Y. D., Zheng, L. M., & Ji, Y. (2013). Platelet-derived microparticles are implicated in remote ischemia conditioning in a rat model of cerebral infarction. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, *19* (12), 917–925. <https://doi.org/10.1111/cns.12199>

336. Sharp, F., Liu, D. Z., Zhan, X., & Ander, B. P. (2008). Intracerebral hemorrhage injury mechanisms: glutamate neurotoxicity, thrombin, and Src. *Acta neurochirurgica. Supplement*, *105*, 43–46. https://doi.org/10.1007/978-3-211-09469-3_9

337. Shati, A. A., Maarouf, A., Dawood, A. F., Bayoumy, N. M., Alqahtani, Y. A., A Eid, R., Alqahtani, S. M., Abd Ellatif, M., Al-Ani, B., &

Albawardi, A. (2023). Lower Extremity Arterial Disease in Type 2 Diabetes Mellitus: Metformin Inhibits Femoral Artery Ultrastructural Alterations as well as Vascular Tissue Levels of KIIIs/ET-1 Axis-Mediated Inflammation and Modulation of Vascular iNOS and eNOS Expression. *Biomedicines*, *11*(2),361. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11020361>

338. Shavit-Stein, E., Berkowitz, S., Gofrit, S. G., Altman, K., Weinberg, N., & Maggio, N. (2022). Neurocoagulation from a Mechanistic Point of View in the Central Nervous System. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, *48*(3), 277–287. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1741569>

339. Shen, D., Ye, X., Li, J., Hao, X., Jin, L., Jin, Y., Tong, L., & Gao, F. (2022). Metformin Preserves VE-Cadherin in Choroid Plexus and Attenuates Hydrocephalus via VEGF/VEGFR2/p-Src in an Intraventricular Hemorrhage Rat Model. *International journal of molecular sciences*, *23*(15), 8552. <https://doi.org/10.3390/ijms23158552>

340. Sheth, K. N. (2018). Intracerebral hemorrhage: challenges and opportunities. *The Lancet Neurology*, *17*(11), 939–940. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30356-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30356-8)

341. Shi, E., Shi, K., Zhou, Q., Ni, J., Shi, F. D., & Liu, Q. (2022). Targeting the blood-brain barrier in intracerebral hemorrhage: Recent advances and future directions. *Frontiers in Neuroscience*, *16*, 1033527. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1033527>

342. Shi, K., Tian, D. C., Li, Z. G., Ducruet, A. F., Lawton, M. T., & Shi, F. D. (2019). Global brain inflammation in stroke. *The Lancet Neurology*, *18*(11), 1058–1066. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30078-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30078-X)

343. Shi, S. X., Li, Y. J., Shi, K., Wood, K., Ducruet, A. F., & Liu, Q. (2020). IL (Interleukin)-15 Bridges Astrocyte-Microglia Crosstalk and Exacerbates Brain Injury Following Intracerebral Hemorrhage. *Stroke*, *51*(3), 967–974. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.119.028638>

344. Shi, X., Luo, L., Wang, J., Shen, H., Li, Y., Mamtilahun, M., Liu, C., Shi, R., Lee, J. H., Tian, H., Zhang, Z., Wang, Y., Chung, W. S., Tang, Y., &

Yang, G. Y. (2021). Stroke subtype-dependent synapse elimination by reactive gliosis in mice. *Nature communications*, 12(1), 6943. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27248-x>

345. Shi, Y., Zhang, L., Pu, H., Mao, L., Hu, X., Jiang, X., Xu, N., Stetler, R. A., Zhang, F., Liu, X., Leak, R. K., Keep, R. F., Ji, X., & Chen, J. (2016). Rapid endothelial cytoskeletal reorganization enables early blood-brain barrier disruption and long-term ischaemic reperfusion brain injury. *Nature Communications*, 7, 10523. <https://doi.org/10.1038/ncomms10523>

346. Shtaya, A., Bridges, L. R., Esiri, M. M., Lam-Wong, J., Nicoll, J. A. R., Boche, D., & Hainsworth, A. H. (2019). Rapid neuroinflammatory changes in human acute intracerebral hemorrhage. *Annals of clinical and translational neurology*, 6(8), 1465–1479. <https://doi.org/10.1002/acn3.50842>

347. Shuaib, A., Lees, K. R., Lyden, P., Grotta, J., Davalos, A., Davis, S. M., Diener, H. C., Ashwood, T., Wasiewski, W. W., & Emeribe, U. (2007). NXY-059 for the treatment of acute ischemic stroke. *New England Journal of Medicine*, 357(6), 562–571. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa070240>

348. Shukla, V., Shakya, A. K., Perez-Pinzon, M. A., & Dave, K. R. (2017). Cerebral ischemic damage in diabetes: an inflammatory perspective. *Journal of neuroinflammation*, 14(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0774-5>

349. Sies H. (2020). Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(9), 852. <https://doi.org/10.3390/antiox9090852>

350. Sies, H., Belousov, V. V., Chandel, N. S., Davies, M. J., Jones, D. P., Mann, G. E., Murphy, M. P., Yamamoto, M., & Winterbourn, C. (2022). Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 23(7), 499–515. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00456-z>

351. Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., & Kukreti, S. (2019). Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(8), 1583. <https://doi.org/10.3390/molecules24081583>
352. Sivandzade, F., Alqahtani, F., Dhaibar, H., Cruz-Topete, D., & Cucullo, L. (2023). Antidiabetic Drugs Can Reduce the Harmful Impact of Chronic Smoking on Post-Traumatic Brain Injuries. *International journal of molecular sciences*, 24(7), 6219. <https://doi.org/10.3390/ijms24076219>
353. Song, E. C., Chu, K., Jeong, S. W., Jung, K. H., Kim, S. H., Kim, M., & Yoon, B. W. (2003). Hyperglycemia exacerbates brain edema and perihematomal cell death after intracerebral hemorrhage. *Stroke*, 34(9), 2215–2220. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000088060.83709.2C>
354. Song, K., Li, Y., Zhang, H., et al. (2020). Oxidative Stress-Mediated Blood-Brain Barrier (BBB) Damage in Neurological Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 4356387. <https://doi.org/10.1155/2020/4356387>
355. Song, S., Hua, Y., Keep, R. F., He, Y., Wang, J., Wu, J., & Xi, G. (2011). Deferoxamine reduces neuronal death and hematoma lysis after intracerebral hemorrhage in aged rats. *Translational Stroke Research*, 2(3), 346–353. <https://doi.org/10.1007/s12975-011-0088-z>
356. Song, Y., Yang, Y., Zhang, Y., Duan, H., Ma, X., Wang, Y., & Xu, Z. (2023). NCAM2 regulates neuronal differentiation via BDNF/TrkB/PI3K/Akt signaling in mouse hippocampal neural stem cells. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2790542/v1>
357. Soriano, S., & Hardick, J. (2022). Neuroinflammation: Breaking Barriers and Bridging Understanding in CNS Injuries and Diseases. *Biomedicines*, 10(12), 3071. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123071>
358. Spagnoli, L. G., Orlandi, A., & Santeusano, G. (1991). Glial fibrillary acidic protein: biology and diagnostic applications. *Pathologica*, 83(1083), 141–154.

359. Sprenkle, N. T., Sims, S. G., Sánchez, C. L., & Meares, G. P. (2017). Endoplasmic reticulum stress and inflammation in the central nervous system. *Molecular Neurodegeneration*, *12*(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0183-y>
360. Spronk, E., Sykes, G., Falcione, S., Munsterman, D., Joy, T., Kamtchum-Tatuene, J., & Jickling, G. C. (2021). Hemorrhagic Transformation in Ischemic Stroke and the Role of Inflammation. *Frontiers in Neurology*, *12*, 661258. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.661258>
361. Stanne, T. M., Åberg, N. D., Nilsson, S., Jood, K., Blomstrand, C., Andreasson, U., Blennow, K., Zetterberg, H., & Jern, C. (2016). Low Circulating Acute Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels Are Associated With Poor Long-Term Functional Outcome After Ischemic Stroke. *Stroke*, *47*(7), 1943–1945.
362. Stovell, M. G., Mada, M. O., Helmy, A., Carpenter, T. A., Thelin, E. P., Yan, J. L., Guilfoyle, M. R., Jalloh, I., Howe, D. J., Grice, P., Mason, A., Giorgi-Coll, S., Gallagher, C. N., Murphy, M. P., Menon, D. K., Hutchinson, P. J., & Carpenter, K. L. H. (2018). The effect of succinate on brain NADH/NAD⁺ redox state and high energy phosphate metabolism in acute traumatic brain injury. *Scientific reports*, *8*(1), 11140. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29255-3>
363. Strbian, D., Durukan, A., Pitkonen, M., Marinkovic, I., Tatlisumak, E., Pedrono, E., Abo-Ramadan, U., & Tatlisumak, T. (2008). The role of aquaporin-4 in cerebral edema formation after focal cerebral ischemia and reperfusion in mice. *Neuroscience*, *154*(2), 656–662. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.03.066>
364. Svensson, E. H., Söderholm, M., Abul-Kasim, K., & Engström, G. (2017). Tumor necrosis factor receptor 1 and 2 are associated with risk of intracerebral hemorrhage. *Stroke*, *48*(10), 2710–2715. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.117.017849>

365. Su, K., Cao, J., Ma, G., Li, Z., Cai, Y., & Zhang, X. (2022). Brain-derived neurotrophic factor, adiponectin, and pro-inflammatory cytokines in obese diabetic patients with and without diabetic retinopathy. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 1015322.
366. Su, L., Zhang, J., Gomez, H., Kellum, J. A., & Peng, Z. (2023). Mitochondria ROS and mitophagy in acute kidney injury. *Autophagy*, *19*(2), 401–414. <https://doi.org/10.1080/15548627.2022.2084862>
367. Su, X., Wang, H., Lin, Y., & Chen, F. (2018). RIP1 and RIP3 mediate hemin-induced cell death in HT22 hippocampal neuronal cells. *Neuropsychiatric disease and treatment*, *14*, 3111–3119. <https://doi.org/10.2147/NDT.S181074>
368. Sun, J., Liu, Y., Zhu, J., et al. (2020). Metformin protects against blood-brain barrier disruption in a mouse model of intracerebral hemorrhage. *American Journal of Translational Research*, *12*(10), 6392–6403.
369. Sun, M., Zhao, X., Li, X., Wang, C., Lin, L., & Wang, J. (2022). The Effect of Inflammation on the Formation and Development of Intracerebral Hemorrhage-Induced Secondary Brain Injury. *Frontiers in Immunology*, *13*, 919398. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.919398>
370. Sun, S., Tang, X., Guo, Y., & Hu, J. (2021). Endoplasmic reticulum composition and form: Proteins in and out. *Current opinion in cell biology*, *71*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2021.01.008>
371. Sun, X., & Liu, Y. (2023). The role of microglia in the pathogenesis of intracerebral hemorrhage: A narrative review. *Frontiers in Neuroscience*, *17*, 1137935. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1137935>
372. Sun, Y., Chen, X., Zhang, X., Shen, X., Wang, M., Wang, X., Liu, W. C., Zhang, B., Liu, J., Zhang, X., Yang, J., Sun, Y., Jin, H., & Lu, H. (2021). β 2-Adrenergic receptor-mediated HIF-1 α upregulation mediates blood brain barrier damage in acute cerebral ischemia. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *14*, 569605. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.569605>

373. Szelenberger, R., Saluk-Bijak, J., & Bijak, M. (2020). Heme Oxygenase as a Therapeutic Target in Central Nervous System Disorders. *Current Pharmaceutical Design*, 26(33), 4122–4133. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200714167208>
374. Szymański, M., Skopek, R., Wiśniewska, J., Bińkowski, J., Sławik, J., & Dobrzycka, M. (2023). State-of-the-art of studies of hemorrhagic stroke – a review of the literature. *Frontiers in Neurology*, 14, 1113757. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1113757>
375. Taheri, A., Emami, M., Asadipour, E., Kasirzadeh, S., Rouini, M. R., Najafi, A., Heshmat, R., Abdollahi, M., & Mojtahedzadeh, M. (2019). A randomized controlled trial on the efficacy, safety, and pharmacokinetics of metformin in severe traumatic brain injury. *Journal of neurology*, 266(8), 1988–1997. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09366-1>
376. Tait, S. W., & Green, D. R. (2010). Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(9), 621–632. <https://doi.org/10.1038/nrm2952>
377. Tang, G., & Yang, G. Y. (2016). Aquaporin-4: A Potential Therapeutic Target for Cerebral Edema. *International journal of molecular sciences*, 17(10), 1413. <https://doi.org/10.3390/ijms17101413>
378. Tang, J., Liu, J., Zhou, C., Ostanin, D., Grisham, M. B., Neil Granger, D., & Russell, J. (2005). Role of NADPH oxidase in the brain injury of intracerebral hemorrhage. *Journal of Neurochemistry*, 94(5), 1342–1350. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03278.x>
379. Tang, X. N., Zheng, Z., Yenari, M. A., & Rosenberg, P. A. (2018). Deferoxamine: An Angiogenic and Antioxidant Molecule for Brain Repair After Stroke. In P. A. Lapchak & J. H. Zhang (Eds.), *Cellular and Molecular Approaches to Regeneration and Repair* (pp. 289–301). Springer.
380. Tao, C., Hu, X., Li, H., & You, C. (2017). White matter injury after intracerebral hemorrhage: pathophysiology and therapeutic strategies. *Frontiers in Human Neuroscience*, 11, 468. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2017.00468>

381. Tao, C., Keep, R. F., Xi, G., & Hua, Y. (2020). White matter injury after intracerebral hemorrhage. *Reviews in the Neurosciences*, 31(1), 31–41. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2019-0035>
382. Tao, L., Li, D., Liu, H., Jiang, F., Xu, Y., Cao, Y., Gao, R., & Chen, G. (2018). Neuroprotective effects of metformin on traumatic brain injury in rats associated with NF- κ B and MAPK signaling pathway. *Brain research bulletin*, 140, 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.04.008>
383. Tao, X., Sun, M., Chen, M., Ying, R., Su, W., Zhang, J., Xie, X., Wei, W., Meng, X., Wang, Y., Zhang, X., & Ming, D. (2020). Activation of cellular antioxidant defense system by naturally occurring dibenzopyrone derivatives protects cultured rat cortical neurons from glutamate-induced oxidative stress and apoptosis. *Chemical Research in Toxicology*, 33(6), 1395–1406. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00463>
384. Tarafdar, A., & Pula, G. (2018). The Role of NADPH Oxidases and Oxidative Stress in Neurodegenerative Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 3824. <https://doi.org/10.3390/ijms19123824>
385. Tatlisumak, T., Cucchiara, B., Kuroda, S., Kasner, S. E., & Putaala, J. (2018). Nontraumatic intracerebral haemorrhage in young adults. *Nature Reviews Neurology*, 14(4), 237–250. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2018.14>
386. Tauseef, M., Patel, R., Yadav, C., Shahid, M., Faridi, H., Siddiqui, M. R., Newaz, M., & Ahmad, Z. (2019). Metformin prevents high glucose induced disruption of coronary artery endothelial barrier function and accelerates wound healing via regulating junctional protein, VE-Cadherin. *The FASEB Journal*, 33(S1). https://doi.org/10.1096/fasebj.2019.33.1_supplement.512.5
387. Taylor, E. L., Armstrong, K. R., Perrett, D., Hattersley, A. T., & Winyard, P. G. (2015). Optimisation of an advanced oxidation protein products assay: Its application to studies of oxidative stress in diabetes mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, Article 496271. <https://doi.org/10.1155/2015/496271>

388. Taylor, R. A., Chang, C. F., Goods, B. A., Hammond, M. D., MacGrory, B., Ai, Y., Steinschneider, A. F., Renfroe, S. C., Askenase, M. H., McCullough, L. D., Kasner, S. E., Mullen, M. T., Hafler, D. A., Hinckley, P. J., & Sansing, L. H. (2017). TGF- β 1 modulates microglial phenotype and promotes recovery after intracerebral hemorrhage. *Journal of Clinical Investigation*, 127(1), 333–349. <https://doi.org/10.1172/JCI88647>

389. Tesfaye, S., & Selvarajah, D. (2012). Advances in the epidemiology, pathogenesis and management of diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 28(Suppl 1), 8–14. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2239>

390. Thiex, R., & Tsirka, S. E. (2007). Brain edema after intracerebral hemorrhage: mechanisms, treatment options, management strategies, and operative indications. *Neurosurgical Focus*, 22(5), E6. <https://doi.org/10.3171/foc.2007.22.5.7>

391. Tian, Y., Liu, B., Li, Y., Zhang, Y., Ma, Q., Li, Y., Liu, Y., & Zhao, M. (2022). Edaravone Ameliorates Cognitive Deficits in 5xFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease by Inhibiting Oxidative Stress and Neuroinflammation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 846683. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.846683>

392. Tilling, T., Chowienczyk, P., & Clapp, B. (2000). Endothelins and the vascular system. *Cardiovascular Research*, 47(3), 425–426. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(00\)00161-8](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(00)00161-8)

393. Török, E., Dinya, E., & Kulcsár, Z. (2020). NADPH Oxidase and Mitochondria Are Relevant Sources of Superoxide Anion in the Oxidative Response of Macrophages Exposed to Airborne Particulate Matter. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(20), 7646. <https://doi.org/10.3390/ijms21207646>

394. Triggle, C. R., Marei, I., Ye, K., Ding, H., Anderson, T. J., Hollenberg, M. D., & Hill, M. A. (2023). Repurposing Metformin for Vascular

Disease. *Current medicinal chemistry*, 30(35), 3955–3978.
<https://doi.org/10.2174/0929867329666220729154615>

395. Trout, A. L., McLouth, C. J., Kitzman, P., Dobbs, M. R., Bellamy, L., Elkins, K., & Fraser, J. F. (2021). Hemorrhagic stroke outcomes of KApSR patients with co-morbid diabetes and Alzheimer's disease. *Annals of translational medicine*, 9(17), 1371. <https://doi.org/10.21037/atm-21-1451>

396. Tschoe, C., Bushnell, C. D., Duncan, P. W., Alexander-Miller, M. A., & Wolfe, S. Q. (2020). Neuroinflammation after Intracerebral Hemorrhage and Potential Therapeutic Targets. *Journal of Stroke*, 22(1), 29–46. <https://doi.org/10.5853/jos.2019.02236> +

397. Tseng, M. Y., Hutchinson, P. J., Richards, H. K., Czosnyka, M., Pickard, J. D., Erber, W. N., Brown, S., & Kirkpatrick, P. J. (2005). Acute systemic erythropoietin therapy to reduce delayed ischemic deficits following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a Phase II randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Neurosurgery*, 102(5), 831–838. <https://doi.org/10.3171/jns.2005.102.5.0831>

398. Tsivgoulis, G., Wilson, D., Katsanos, A. H., Sargento-Freitas, J., Marques-Matos, C., Azevedo, E., Adachi, T., von der Brelie, C., Aizawa, Y., Abe, H., Tomita, H., Fukuma, K., Matsuki, T., Clark, W., Murai, Y., Okuchi, K., Toyoda, K., Nagatsuka, K., Pinho, J., & Falcão, A. (2018). Neuroimaging and clinical outcomes of oral anticoagulant-associated intracerebral hemorrhage. *Annals of Neurology*, 84(5), 694–704. <https://doi.org/10.1002/ana.25342>

399. Tsuchiya, M., Suda, T., & Shirota, T. (1994). Expression of the neural cell adhesion molecule (NCAM). in pancreatic beta-cells during development and in the adult rat pancreas. *Cell Structure and Function*, 19(3), 133–140. <https://doi.org/10.1247/csf.19.133>

400. Tu, L., Yang, X. L., Zhang, Q., Wang, Q., Tian, T., Liu, Q., Zhang, X., Tang, X., Liu, Y., Zhang, J., Zhou, J., & Yan, T. (2020). Edaravone and Sodium Hyaluronate Dual-Action Eye Drops Protect the Rat Retina from Light-

Induced Retinal Damage by Multiple Mechanisms. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 8314092. <https://doi.org/10.1155/2020/8314092>

401. Tu, W. J., Zeng, Q., Wang, K., Wang, Y., Sun, B. L., Zeng, X., & Liu, Q. (2021). Prestroke Metformin Use on the 1-Year Prognosis of Intracerebral Hemorrhage Patients with Type 2 Diabetes. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 2027359. <https://doi.org/10.1155/2021/2027359>

402. Tu, B. P., & Weissman, J. S. (2004). Oxidative protein folding in eukaryotes: mechanisms and consequences. *The Journal of cell biology*, 164(3), 341–346. <https://doi.org/10.1083/jcb.200311055>

403. Tu, W., Wang, H., Li, S., Liu, Q., & Sha, H. (2019). The Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE Signaling Pathway in Chronic Diseases. *Aging and disease*, 10(3), 637–651. <https://doi.org/10.14336/AD.2018.0513>

404. Tu, W. J., Wang, L. D., & Special Writing Group of China Stroke Surveillance Report. (2019). China stroke surveillance report 2018. *Chinese Journal of Cerebrovascular Diseases*, 16(8), 395–401.

405. Urday, S., Kimberly, W. T., Beslow, L. A., Vortmeyer, A. O., Selim, M. H., Rosand, J., Simard, J. M., & Sheth, K. N. (2015). Targeting secondary injury in intracerebral haemorrhage--perihematomal oedema. *Nature Reviews Neurology*, 11(2), 111–122. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.264>

406. Valenta, H., Dupré-Crochet, S., Abdesselem, M., Bizouarn, T., Baciou, L., Nüsse, O., Deniset-Besseau, A., & Erard, M. (2022). Consequences of the constitutive NOX2 activity in living cells: Cytosol acidification, apoptosis, and localized lipid peroxidation. *Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research*, 1869(9), 119276. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2022.119276>

407. van Asch, C. J., Luitse, M. J., Rinkel, G. J., van der Tweel, I., Algra, A., & Klijn, C. J. (2010). Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral haemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*, 9(2), 167–176. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70340-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70340-0)

408. Vasconcellos, L. R. C., Martimiano, L., Dantas, D. P., Fonseca, F. M., Mata-Santos, H., Travassos, L., Mendez-Otero, R., Bozza, M. T., & Pimentel-Coelho, P. M. (2021). Intracerebral Injection of Heme Induces Lipid Peroxidation, Neuroinflammation, and Sensorimotor Deficits. *Stroke*, *52*(5), 1788–1797. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.120.031911>
409. Vázquez-Chona, F., & Geisert, E. E., Jr (1999). N-cadherin at the glial scar in the rat. *Brain research*, *838*(1-2), 45–50. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(99\)01679-0](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(99)01679-0)
410. Vellimana, A. K., & Zipfel, G. J. (2020). Perihematomal edema in intracerebral hemorrhage: pathophysiology and clinical significance. *Neurosurgery*, *87*(4), E455–E456. <https://doi.org/10.1093/neuros/nyaa267>
411. Vengerovskii, A. I., & Khazanov, V. A. (2007) Effects of silymarin and its combination with succinic acid on brain bioenergetics in rats with experimental inhibition of beta-oxidation of fatty acids. *Eksperimental'naia i klinicheskaia farmakologiya*, *70*(2), 51–55.
412. Venkatesh, K., & Selvaraj, V. (2024). Neuroprotective Potentials of Flavonoids in Brain Disorders: The Mechanistic Role of Nrf2 Signaling Pathways. *Molecular Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s12033-024-01194-x>
413. Verfaillie, T., Rubio, N., Garg, A. D., Bultynck, G., Rizzuto, R., Decuypere, J. P., Piette, J., Linehan, C., Gupta, S., Samali, A., & Agostinis, P. (2012). PERK is required at the ER-mitochondrial contact sites to convey apoptosis after ROS-based ER stress. *Cell death and differentiation*, *19*(11), 1880–1891. <https://doi.org/10.1038/cdd.2012.74>
414. Verma, M., Lizama, B. N., & Chu, C. T. (2022). Excitotoxicity, calcium and mitochondria: a triad in synaptic neurodegeneration. *Translational neurodegeneration*, *11*(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s40035-021-00278-7>
415. Vermot, A., Petit-Härtlein, I., Smith, S. M. E., & Fieschi, F. (2021). NADPH Oxidases (NOX): An Overview from Discovery, Molecular Mechanisms to Physiology and Pathology. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *10*(6), 890. <https://doi.org/10.3390/antiox10060890>

416. Veroni, C., Olla, S., Brignone, M. S., Siguri, C., Formato, A., Marra, M., Manzoli, R., Macario, M. C., Ambrosini, E., Moro, E., & Agresti, C. (2024). The Antioxidant Drug Edaravone Binds to the Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR) and Promotes the Downstream Signaling Pathway Activation. *Biomolecules*, *14*(4), 443. <https://doi.org/10.3390/biom14040443>
417. Vijayan, V., Wagener, F. A. D. T. G., & Immenschuh, S. (2018). The macrophage heme-heme oxygenase-1 system and its role in inflammation. *Biochemical pharmacology*, *153*, 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.02.010>
418. Villa Gonzalez, M., & Toscano, R. A. (2020). Intracerebral Hemorrhage: Perihemorrhagic Edema and Secondary Hematoma Expansion: From Bench to Bedside. *Frontiers in Neurology*, *11*, 539. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.00539>
419. Vlassara, H., Brownlee, M., & Cerami, A. (1983). Excessive nonenzymatic glycosylation of peripheral and central nervous system myelin components in diabetic rats. *Diabetes*, *32*(7), 670–674. <https://doi.org/10.2337/diab.32.7.670>
420. Volchegorskiĭ, I. A., Rassokhina, L. M., & Miroshnichenko, I. I. (2013). Cerebroprotective effect of 3-oxypyridine and succinic acid derivatives in experimental diabetes mellitus. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*, *113*(6), 50–61.
421. Wada, K., Chatzipanteli, K., Busto, R., & Dietrich, W. D. (1998). Role of nitric oxide in traumatic brain injury in the rat. *Journal of Neurosurgery*, *89*(5), 807–818. <https://doi.org/10.3171/jns.1998.89.5.0807>
422. Wagner, K. R., Sharp, F. R., Ardizzone, T. D., Lu, A., & Clark, J. F. (2003). Heme and iron metabolism: role in cerebral hemorrhage. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *23*(6), 629–652. <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000073905.87928.6D>

423. Walkon, L. L., Strubbe-Rivera, J. O., & Bazil, J. N. (2022). Calcium Overload and Mitochondrial Metabolism. *Biomolecules*, *12*(12), 1891. <https://doi.org/10.3390/biom12121891>
424. Wan, J., Ren, H., & Wang, J. (2019). Iron toxicity, ferroptosis and ferrotherapy in intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Neuroscience*, *13*, 1317. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01317>
425. Wan, Y., Holste, K. G., Hua, Y., Keep, R. F., & Xi, G. (2023). Brain edema formation and therapy after intracerebral hemorrhage. *Neurobiology of disease*, *176*, 105948. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105948>
426. Wander, G. S., Hukkeri, M. Y. K., Yalagudri, S., Mahajan, B., & Panda, A. T. (2018). Rosuvastatin: Role in Secondary Prevention of Cardiovascular Disease. *The Journal of the Association of Physicians of India*, *66*(3), 70–74.
427. Wang, D., Wang, W., Wang, A., & Zhao, X. (2020). Association of hyperglycemia and perihematomal edema in patients with intracerebral hemorrhage: A cohort study. *Journal of Clinical Neuroscience*, *78*, 193–197. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2020.04.102>
428. Wang, F., Wang, L., Jiang, T. T., Xia, J. J., Xu, F., Shen, L. J., Kang, W. H., Ding, Y., Mei, L. X., Ju, X. F., Hu, S. Y., & Wu, X. (2018). Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Is an Independent Predictor of 30-Day Mortality of Intracerebral Hemorrhage Patients: a Validation Cohort Study. *Neurotoxicity research*, *34*(3), 347–352. <https://doi.org/10.1007/s12640-018-9890-6>
429. Wang, G., Li, Z., Gao, Q., Zhang, C., Zou, Y., Chen, N., Zhang, L., & Hu, J. (2022). Crosstalk between NADPH oxidase and mitochondrial ROS in ferroptosis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *10*, 1042542. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1042542>
430. Wang, H. P., Deng, X. L., & Li, G. Q. (2011). *Zhongguo dang dai er ke za zhi = Chinese journal of contemporary pediatrics*, *13*(3), 231–235.

431. Wang, J. (2010). Preclinical and clinical research on inflammation after intracerebral hemorrhage. *Progress in Neurobiology*, 92(4), 463–477. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.08.001>
432. Wang, J., & Doré, S. (2007). Heme oxygenase-1 exacerbates early brain injury after intracerebral haemorrhage. *Brain*, 130(Pt 6), 1643–1652. <https://doi.org/10.1093/brain/awm095>
433. Wang, J., He, W., & Zhang, J. (2023). A richer and more diverse future for microglia phenotypes. *Heliyon*, 9(4), e14713. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14713>
434. Wang, J., & Tsirka, S. E. (2005). Contribution of extracellular proteolysis and microglia to intracerebral hemorrhage. *Neurocritical Care*, 3(1), 77–85. <https://doi.org/10.1385/NCC:3:1:077>
435. Wang, J., Zhuang, J., Fu, X., Xu, C., Zhou, H., Peng, Y., Cao, Y., Zeng, H., Li, J., Yan, F., Wang, L., & Chen, G. (2022). White matter injury and recovery after intracerebral hemorrhage in rodents: A systematic review. *Frontiers in Neurology*, 13, 1003321. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.1003321>
436. Wang, L., Liu, C., Lu, E., Zhang, D., Zhang, H., Xu, X., Liu, R., Yuan, C., Sun, J., Zhou, Q., Chen, X., Wang, L., & Yang, G. (2022). Total intracranial volume as a covariate for predicting prognosis in patients with primary intracerebral hemorrhage. *Clinical neurology and neurosurgery*, 214, 107135. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2022.107135>
437. Wang, M., Hong, Z., Wang, Y., Wu, F., Zhang, C., & Wu, Z. (2024). Astrocyte-microglia interaction in perihematomal edema of intracerebral hemorrhage: from mechanisms to therapeutic targets. *Frontiers in Immunology*, 15, 1373161. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1373161>
438. Wang, S., Zou, X. L., Wu, L. X., Zhou, H. F., Xiao, L., Yao, T., Zhang, Y., Ma, J., Zeng, Y., & Zhang, L. (2022). Epidemiology of intracerebral hemorrhage: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in neurology*, 13, 915813. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.915813>

439. Wang, Y., Chen, Q., Tan, Q., Feng, Z., Tang, Z., Zhuang, J., Xiao, Z., Chen, Z., & Zhou, Y. (2021). The role of microglia polarization in intracerebral hemorrhage: From mechanism to therapeutic opportunities. *Frontiers in Immunology*, *12*, 766467. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.766467>
440. Wang, Y., Huang, C., Wang, X., Cheng, R., Li, X., Wang, J., Zhang, L., Li, F., Wang, H., Li, X., Li, Y., Xia, Y., Cheng, J., Pan, X., Jia, J., & Xiao, G. D. (2024). Succinate Activates Uncoupling Protein 2 to Suppress Neuroinflammation and Confer Protection Following Intracerebral Hemorrhage. *Antioxidants & redox signaling*, 10.1089/ars.2024.0573. Advance online publication. <https://doi.org/10.1089/ars.2024.0573>
441. Wang, Y., Liu, X., Zhang, Y., Wan, J., & Ren, H. (2022). The role of innate immune cells in the response and resolution of perihematomal edema after intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Immunology*, *13*, 962345. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.962345>
442. Watanabe, K., Tanaka, M., Yuki, S., Hirai, M., & Yamamoto, Y. (2018). How is edaravone effective against acute ischemic stroke and amyotrophic lateral sclerosis?. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, *62*(1), 20–38. <https://doi.org/10.3164/jcbtn.17-62>
443. Wei, J., Wang, J., Ji, X., & Feng, Q. (2023). The role of perihematomal edema in outcome prediction for patients with intracerebral hemorrhage: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Neurology*, *14*, 1097608. <https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1097608>
444. Wei, Y., Song, X., Gao, Y., Gao, Y., Li, Y., & Gu, L. (2022). Iron toxicity in intracerebral hemorrhage: Physiopathological and therapeutic implications. *Brain research bulletin*, *178*, 144–154. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2021.11.014>
445. Wilkinson, D. A., Pandey, A. S., Thompson, B. G., Keep, R. F., Hua, Y., & Xi, G. (2018). Injury mechanisms in acute intracerebral hemorrhage.

Neuropharmacology, 134(Pt B), 240–248.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.09.033>

446. Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillère-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A. T., Zingraff, J., Jungers, P., & Descamps-Latscha, B. (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney International*, 49 (5), 1304–1313. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.186>

447. Wu, B., Ma, Q., Suzuki, H., Chen, C., Liu, W., & Tang, J. (2020). Recombinant adiponectin peptide promotes neuronal survival after intracerebral haemorrhage by suppressing mitochondrial and ATF4-CHOP apoptosis pathways in diabetic mice via Smad3 signaling inhibition. *Cell Proliferation*, 53(3), e12759. <https://doi.org/10.1111/cpr.12759>

448. Wu, C. H., Wu, Y. Q., Wu, J., Wu, S. Y., Zhang, C. Y., Chen, J. L., & Li, M. (2022). Long-Term Outcomes of Young Patients After Spontaneous Intracerebral Hemorrhage: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Neurology*, 13, 869137. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.869137>

449. Wu, C., Yan, X., Liao, Y., Liao, L., Huang, S., Zuo, Q., Zhou, L., Gao, L., Wang, Y., Lin, J., Li, S., Wang, K., Ge, X., Song, H., Yang, R., & Lu, F. (2019). Increased perihematoma neuron autophagy and plasma thrombin-antithrombin levels in patients with intracerebral hemorrhage: An observational study. *Medicine*, 98(39), e17130. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017130>

450. Wu, C., Yang, L., Li, Y., Dong, Y., Yang, B., Tucker, L. D., Zong, X., & Zhang, Q. (2020). Effects of exercise training on anxious-depressive-like behavior in Alzheimer rat. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 52 (7), 1456–1469. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002294>

451. Wu, H., Wu, T., Xu, X., Wang, J., & Wang, J. (2011). Iron toxicity in mice with collagenase-induced intracerebral hemorrhage. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 31(5), 1243–1250. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.209>

452. Wu, H. T., Yu, Y., Li, X. X., Lang, X. Y., Gu, R. Z., Fan, S. R., Fang, X., Bai, J. P., Lan, R., & Qin, X. Y. (2021). Edaravone attenuates H₂O₂ or glutamate-induced toxicity in hippocampal neurons and improves AlCl₃/D-galactose induced cognitive impairment in mice. *Neurotoxicology*, *85*, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2021.05.005>
453. Wu, J., Hua, Y., Keep, R. F., Nakamura, T., Hoff, J. T., & Xi, G. (2003). Iron and iron-handling proteins in the brain after intracerebral hemorrhage. *Stroke*, *34*(12), 2964–2969. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000107369.34946.4F>
454. Wu, J., Yang, S., Xi, G., Song, S., Fu, G., Keep, R. F., & Hua, Y. (2008). Microglial activation and brain injury after intracerebral hemorrhage. *Acta Neurochirurgica Supplement*, *105*, 59–65. https://doi.org/10.1007/978-3-211-09469-3_12
455. Wu, Q., Jia, X. Y., Zhang, S. H., Wu, Y. Z., Xu, L. S., Han, J. G., Yu, W., & Zhou, Q. H. (2025). Metformin activates the PI3K/AKT/BDNF axis to attenuate postoperative cognitive dysfunction. *Neuropharmacology*, *265*, 110262. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2024.110262>
456. Wu, X., Luo, C., Xu, W., Cheng, Z., Yang, S., Shang, L., Zhang, Y., Zhang, H., Fu, X., & Wang, X. (2022). Protective effects of HSYA on intracerebral hemorrhage injury by inhibiting oxidative stress and apoptosis signaling pathways. *Frontiers in Pharmacology*, *13*, 1013204. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1013204>
457. Xi, G., Keep, R. F., & Hoff, J. T. (2006). Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage. *The Lancet Neurology*, *5*(1), 53–63. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(05\)70283-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70283-0)
458. Xi, G., Strahle, J., Hua, Y., & Keep, R. F. (2014). Progress in translational research on intracerebral hemorrhage: is there an end in sight? *Progress in Neurobiology*, *115*, 45–63. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.09.005>

459. Xia, F., Keep, R. F., Ye, F., Holste, K. G., Wan, S., Xi, G., & Hua, Y. (2022). The Fate of Erythrocytes after Cerebral Hemorrhage. *Translational stroke research, 13*(5), 655–664. <https://doi.org/10.1007/s12975-021-00980-8>
460. Xiao, M., Li, Q., Feng, H., Zhang, L., & Chen, Y. (2017). Neural vascular mechanism for the cerebral blood flow autoregulation after intracerebral hemorrhage. *Translational Stroke Research, 8*(4), 357–364. <https://doi.org/10.1007/s12975-017-0524-9>
461. Xie, J., Hong, E., Ding, B., Jiang, W., Zheng, S., Xie, Z., Tian, D., & Chen, Y. (2020). Inhibition of NOX4/ROS Suppresses Neuronal and Blood-Brain Barrier Injury by Attenuating Oxidative Stress After Intracerebral Hemorrhage. *Frontiers in cellular neuroscience, 14*, 578060. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.578060>
462. Xie, R. X., Li, D. W., Liu, X. C., Yang, M. F., Fang, J., Chen, B. Z., Chen, W. C., & Zhang, W. H. (2020). Carnosine Attenuates Brain Oxidative Stress and Apoptosis in a Rat Model of Subarachnoid Hemorrhage. *Neurochemical Research, 45*(12), 2959–2968. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03143-6>
463. Xu, J., Chen, Z., Yu, F., Liu, Y., Wang, W., & Wang, C. (2020). IL-4/STAT6 signaling facilitates innate hematoma resolution and neurological recovery after intracerebral hemorrhage in mice. *Translational Stroke Research, 11*(6), 1366–1380. <https://doi.org/10.1007/s12975-020-00809-1>
464. Xu, J., Pan, H., Xie, X., Zhang, J., Wang, Y., & Yang, G. (2018). Inhibiting Succinate Dehydrogenase by Dimethyl Malonate Alleviates Brain Damage in a Rat Model of Cardiac Arrest. *Neuroscience, 393*, 24–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.09.041>
465. Xu, L., Guo, X., Wang, W., & Li, C. (2023). Classification and Gene Structure of Aquaporins. *Advances in experimental medicine and biology, 1398*, 1–13. https://doi.org/10.1007/978-981-19-7415-1_1
466. Xu, W., Li, T., Gao, L., Zheng, J., Yan, J., Zhang, J., & Shao, A. (2019). Apelin-13/APJ system attenuates early brain injury via suppression of

endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation and oxidative stress in a AMPK-dependent manner after subarachnoid hemorrhage in rats. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1), 137. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1526-2>

467. Xue, M., & Yong, V. W. (2020). Neuroinflammation in intracerebral haemorrhage: immunotherapies with potential for translation. *The Lancet Neurology*, 19(12), 1023–1032. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(20\)30311-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(20)30311-1)

468. Yamamoto T. (2022). *No shinkei geka. Neurological surgery*, 50(2), 419–428. <https://doi.org/10.11477/mf.1436204569>

469. Yamashita, T., & Abe, K. (2024). Update on Antioxidant Therapy with Edaravone: Expanding Applications in Neurodegenerative Diseases. *International journal of molecular sciences*, 25(5), 2945. <https://doi.org/10.3390/ijms25052945>

470. Yan, F., Yi, Z., Hua, Y., Shen, Y., Li, M., Ding, Y., Chandra, A., Ji, X., & Yue, W. (2018). Predictors of mortality and recurrent stroke within five years of intracerebral hemorrhage. *Neurological research*, 40(6), 466–472. <https://doi.org/10.1080/01616412.2018.1451266>

471. Yan, J., Zuo, G., & Zhang, J. H. (2022). Inflammation and immune response in acute intracerebral hemorrhage: A narrative review. *Frontiers in Neurology*, 13, 1035987. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.1035987>

472. Yan, L. J. (2022). The nicotinamide/streptozotocin rodent model of type 2 diabetes: Renal pathophysiology and redox imbalance features. *Biomolecules*, 12 (9), 1225. <https://doi.org/10.3390/biom12091225>

473. Yang, L., Han, J., Qin, C., & Shou, W. (2024). Sex-Based Differences in the Outcomes of Intracerebral Haemorrhage: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland)*, 53(6), 753–766. <https://doi.org/10.1159/000535612>

474. Yang, G., Fan, X., Mazhar, M., Guo, W., Zou, Y., Dechsupa, N., & Wang, L. (2022). Neuroinflammation of microglia polarization in intracerebral

hemorrhage and its potential targets for intervention. *Frontiers in molecular neuroscience*, *15*, 1013706. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.1013706>

475. Yang, G., Hu, R., Zhang, C., Qian, C., Luo, Q., Yung, W. H., Ke, Y., Feng, H., & Qian, Z. M. (2016). Role of Aquaporin-4 in the Change of Interstitial Fluid in Injured Spinal Cord. *Neuroscience Bulletin*, *32*(5), 431–440. <https://doi.org/10.1007/s12264-016-0055-9>

476. Yang, H., Song, Z., Jin, Z., Jin, G., & Jin, J. (2022). Regulatory T cells in intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Immunology*, *13*, 1014384. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1014384>

477. Yang, J., Li, Q., Wang, Z., Qi, C., Han, X., Lan, X., Wan, J., Wang, W., Zhao, X., Hou, Z., Gao, Y., Gao, L., Zhao, J., & Yang, Y. (2017). Multimodality MRI assessment of grey and white matter injury and blood-brain barrier disruption after intracerebral haemorrhage in mice. *Scientific Reports*, *7*, 40358. <https://doi.org/10.1038/srep40358>

478. Yang, S., Chen, Y., Deng, X., Jiang, W., Li, B., Fu, Z., Du, M., & Ding, R. (2013). Hemoglobin-induced nitric oxide synthase overexpression and nitric oxide production contribute to blood-brain barrier disruption in the rat. *Journal of molecular neuroscience : MN*, *51*(2), 352–363. <https://doi.org/10.1007/s12031-013-9990-y>

479. Yang, S. H., & Liu, R. (2021). ER stress in neurodegenerative disease: a promising therapeutic target? *Frontiers in Neuroscience*, *15*, 736750. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.736750>

480. Yang, Y., Yi, J., & Pan, M. (2021). Edaravone alleviated propofol-induced neurotoxicity in developing hippocampus by mBDNF/TrkB/PI3K pathway. *Drug Design, Development and Therapy*, *15*, 1409–1422. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S294557>

481. Yang, Y., Zhang, X. J., Wu, H., & Xi, G. (2020). Role of iron in secondary brain injury after intracerebral hemorrhage: An update. *Current Neuropharmacology*, *18*(11), 1087–1096. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666200428113423>

482. Yao, Z., Bai, Q., & Wang, G. (2021). Mechanisms of Oxidative Stress and Therapeutic Targets following Intracerebral Hemorrhage. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 8815441. <https://doi.org/10.1155/2021/8815441>
483. Yaribeygi, H., Sathyapalan, T., Atkin, S. L., & Sahebkar, A. (2020). Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020, 8609213. <https://doi.org/10.1155/2020/8609213>
484. Ye, F., Garton, H. J. L., Hua, Y., Keep, R. F., & Xi, G. (2021). The Role of Thrombin in Brain Injury After Hemorrhagic and Ischemic Stroke. *Translational stroke research*, 12(3), 496–511. <https://doi.org/10.1007/s12975-020-00855-4>
485. Ye, F., Wang, J., Wu, J., Hua, Y., Keep, R. F., Huang, Y., & Xi, G. (2024). The role of white matter in the pathophysiology and treatment of intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Neuroscience*, 18, 1353444. <https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1353444>
486. Yi, H., Yang, X., Mo, Y., & Chen, P. (2023). The role of microglia/macrophage and astrocyte in neuroinflammation and iron regulation after intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Immunology*, 14, 1146052. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1146052>
487. Yin, M., Chen, Z., Ouyang, Y., Zhang, H., Wan, Z., Wang, H., Wu, W., & Yin, X. (2020). Thrombin-induced, microglial toll-like receptor 4 activation leads to neuroinflammation and neuronal loss after intracerebral hemorrhage. *Translational Stroke Research*, 11(5), 1082–1096. <https://doi.org/10.1007/s12975-020-00783-8>
488. Yong, H., Wang, M., Wu, W., Liang, X., He, Q., Chen, Z., & Luo, C. (2023). White matter injury in intracerebral hemorrhage: Pathophysiology and therapeutic strategies. *Frontiers in Neuroscience*, 17, 1092375. <https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1092375>

489. Yu, A., Zhang, T., Duan, H., Pan, Y., Zhu, X., Ma, X., Wang, Y., Fan, Z., Zhang, Z., Wang, Y., Wang, Y., Yang, Y., Xu, Z., & Liang, G. (2023). Antioxidant tetra peptide modified chitosan/hyaluronic acid hydrogels enhance the proliferation and differentiation of C28/I2 chondrocyte cells. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *11*, 1266157. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1266157>
490. Yu, M. G., Gordin, D., Fu, J., Park, K., Li, Q., & King, G. L. (2024). Protective Factors and the Pathogenesis of Complications in Diabetes. *Endocrine reviews*, *45*(2), 227–252. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnad030>
491. Yu, X., Fu, X., Wu, X., Tang, W., Xu, L., Hu, L., Xu, C., Zhou, H., Zhou, G., Li, J., Cao, S., Liu, J., Yan, F., Wang, L., Liu, F., & Chen, G. (2022). Metformin Alleviates Neuroinflammation Following Intracerebral Hemorrhage in Mice by Regulating Microglia/Macrophage Phenotype in a Gut Microbiota-Dependent Manner. *Frontiers in cellular neuroscience*, *15*, 789471. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.789471>
492. Yu, X., Xu, J., & Huang, G. (2022). Disorder of coagulation-fibrinolysis system: An emerging toxicity target of pollutants. *Journal of Environmental Management*, *317*, 115395. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115395>
493. Yuan, B., Zhao, X. D., Shen, J. D., Chen, S. J., Huang, H. Y., Zhou, S. M., & Fan, W. J. (2020). Activation of S1PR2 has a protective effect on brain injury after intracerebral hemorrhage via promoting mitochondrial function and mitophagy. *Acta Pharmacologica Sinica*, *41*(12), 1517–1528. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-00507-8>
494. Yuan, R., Wang, D., Liu, Y., Wu, J., & Shi, Y. (2022). The Emerging Role of Glia in Intracerebral Hemorrhage. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *15*, 934429. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.934429>
495. Zamanian, M. Y., Giménez-Llort, L., Nikbakhtzadeh, M., Kamiab, Z., Heidari, M., & Bazmandegan, G. (2023). The Therapeutic Activities of Metformin: Focus on the Nrf2 Signaling Pathway and Oxidative Stress

- Amelioration. *Current molecular pharmacology*, *16*(3), 331–345. <https://doi.org/10.2174/1874467215666220620143655>
496. Zazulia, A. R., Diringier, M. N., Derdeyn, C. P., & Powers, W. J. (1999). Progression of mass effect after intracerebral hemorrhage. *Stroke*, *30*(6), 1167–1173. <https://doi.org/10.1161/01.str.30.6.1167>
497. Zeeshan, H. M., Lee, G. H., Kim, H. R., & Chae, H. J. (2016). Endoplasmic Reticulum Stress and Associated ROS. *International journal of molecular sciences*, *17*(3), 327. <https://doi.org/10.3390/ijms17030327>
498. Zeng, J., Chen, Y., Ding, R., Feng, L., Fu, Z., Yang, S., Deng, X., Xie, Z., & Zhou, S. (2017). Isoliquiritigenin alleviates early brain injury after experimental intracerebral hemorrhage via suppressing ROS- and/or NF- κ B-mediated NLRP3 inflammasome activation by promoting Nrf2 antioxidant pathway. *Journal of Neuroinflammation*, *14*(1), 119. <https://doi.org/10.1186/s12974-017-0895-5>
499. Zeng, J., Xu, Y., Shi, Y., & Jiang, C. (2018). Inflammation role in sensory neuropathy in Chinese patients with diabetes/prediabetes. *Clinical neurology and neurosurgery*, *166*, 136–140. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2018.01.031>
500. Zeng, L., Tan, L., Chen, L., Lu, Z., Chen, Q., Zhao, J., & Wang, J. (2022). The role of iron and ferroptosis in the pathogenesis of intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *15*, 952282. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.952282>
501. Zhang, B., Zhang, H. X., Shi, S. T., Bai, Y. L., Zhang, X., Hu, X. Y., Yang, W. Z., Zhang, J., & Yuan, Q. (2020). Interleukin-11 treatment protected against cerebral ischemia/reperfusion injury. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *131*, 110686. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110686>
502. Zhang, F., Ren, Y., Fu, W., Wang, Y., Zhang, M., & Fu, W. (2020). Higenamine exerts an antidepressant effect in a chronic unpredictable mild stress model by inhibiting brain inflammation and oxidative stress. *Journal of Neuroinflammation*, *17*(1), 104. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01786-8>

503. Zhang, F., Zhao, Q., Jiang, Y., Liu, N., Liu, Q., Shi, F. D., Hao, J., Xu, Y., Lo, E. H., & Wang, X. (2019). Augmented Brain Infiltration and Activation of Leukocytes After Cerebral Ischemia in Type 2 Diabetic Mice. *Frontiers in Immunology*, *10*, 2392. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02392>
504. Zhang, H., Huang, Y., Li, X., Han, Y., Wang, J., & Wang, J. (2022). Dynamic process of secondary pulmonary infection in mice with intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Immunology*, *13*, 943865. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.943865>
505. Zhang, J., Shi, K., Li, Z., Li, M., Han, Y., Wang, L., Zhang, Z., Zhu, C., Zhang, F., Keep, R. F., & Xi, G. (2018). Organ- and cell-specific release of matrix metalloproteinases after intracerebral hemorrhage in aged rats. *Neurobiology of Aging*, *66*, 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.02.014>
506. Zhang, L., Li, Z., Feng, D., Shen, H., Tian, X., Li, H., Sun, Z., & Zhang, D. (2020). Neuronal Protective Effect of Edaravone and Its Potential to Inhibit NF- κ B Pathway in a Mouse Model of Intracerebral Hemorrhage. *Frontiers in Neurology*, *11*, 579894. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.579894>
507. Zhang, M., Teng, C. H., Wu, F. F., Ge, L. Y., Xiao, J., Zhang, H. Y., & Chen, D. Q. (2019). Edaravone attenuates traumatic brain injury through anti-inflammatory and anti-oxidative modulation. *Experimental and therapeutic medicine*, *18*(1), 467–474. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7632>
508. Zhang, P., Li, W., Li, L., Wang, N., Li, X., Gao, M., Zheng, J., Lei, S., Chen, X., Lu, H., & Liu, Y. (2012). Treatment with edaravone attenuates ischemic brain injury and inhibits neurogenesis in the subventricular zone of adult rats after focal cerebral ischemia and reperfusion injury. *Neuroscience*, *201*, 297–306. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.11.005>
509. Zhang, Q., Jia, M., Wang, Y., Wei, Q., & Li, S. (2022). Modulation of Microglia Polarization through Silencing of NF- κ B p65 by Functionalized

Curdlan Nanoparticle-Mediated RNAi. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14(5), 6342–6354. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c19122>

510. Zhang S. (2019). Microglial activation after ischaemic stroke. *Stroke and vascular neurology*, 4(2), 71–74. <https://doi.org/10.1136/svn-2018-000196>

511. Zhang, S., Zou, W., Leng, Y., Mu, Z., & Zhan, L. (2024). Neuroprotective Effects of Metformin on Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury: Modulation of JNK and p38 MAP Kinase Signaling Pathways. *Cell biochemistry and biophysics*, 82(3), 2597–2606. <https://doi.org/10.1007/s12013-024-01373-y>

512. Zhang, X., Liu, T., Xu, S., Gao, P., Dong, W., Liu, W., Gao, M., Song, L., Cui, L., & Dong, X. (2021). A pro-inflammatory mediator USP11 enhances the stability of p53 and inhibits KLF2 in intracerebral hemorrhage. *Molecular therapy. Methods & clinical development*, 21, 681–692. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2021.01.015>

513. Zhang, X., Wu, Q., Lu, Y., Wan, J., Dai, H., Zhou, X., & Lv, P. (2018). Cerebroprotection by salvianolic acid B after experimental subarachnoid hemorrhage occurs via Nrf2- and SIRT1-dependent effects. *Frontiers in Neuroscience*, 12, 878. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00878>

514. Zhang, Y., Cui, Y., Cheng, Y., Zhu, W., Zhang, M., Li, S., Liu, W., Xin, W., Huang, W., & Sun, H. (2021). Succinate accumulation contributes to oxidative stress and iron accumulation in pentylenetetrazol-induced epileptogenesis and kainic acid-induced seizure. *Neurochemistry international*, 149, 105123. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105123>

515. Zhang, Y., Khan, S., Liu, Y., Wu, G., Yong, V. W., & Xue, M. (2022). Oxidative stress following intracerebral hemorrhage: From molecular mechanisms to therapeutic targets. *Frontiers in Immunology*, 13, 847246. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.847246>

516. Zhang, Y., Yang, Y., Zhang, G. Z., Gao, C., Yang, X. Y., Zhao, M. G., & Wang, L. P. (2020). Carnosine reduces brain damage after intracerebral hemorrhage in rats through antioxidative and anti-inflammatory effects. *Acta*

Pharmacologica Sinica, 41(6), 789–797. <https://doi.org/10.1038/s41401-019-0323-5>

517. Zhang, Y., Yu, W., Liu, Y., Chang, W., Wang, M., & Zhang, L. (2022). Regulation of nuclear factor erythroid-2-related factor 2 as a potential therapeutic target in intracerebral hemorrhage. *Frontiers in molecular neuroscience*, 15, 995518. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2022.995518>

518. Zhang, Z., Song, Y., Zhang, Z., Li, D., Zhu, L., Liang, R., Wu, F., Su, L., Lai, X., Lai, M., & Chen, Z. (2022). Distinct role of heme oxygenase-1 in early- and late-stage intracerebral hemorrhage in 12-month-old mice. *Neurobiology of Aging*, 109, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2020.08.015>

519. Zhao, B., Wang, X., Zheng, J., Wang, H., & Liu, J. (2016). Effects of metformin treatment on glioma-induced brain edema. *American journal of translational research*, 8(8), 3351–3363.

520. Zhao, F., & Liu, Z. (2014). Beneficial effects of edaravone on the expression of serum matrix metalloproteinase-9 after cerebral hemorrhage. *Neurosciences (Riyadh, Saudi Arabia)*, 19(2), 106–110.

521. Zhao, F., & Xi, G. (2022). Mechanisms of perihematomal edema formation and its dynamic change after intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Immunology*, 13, 885345. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.885345>

522. Zhao, H., Zhang, X., Dai, Z., Feng, Y., Li, Q., & Zhang, J. H. (2020). Crosstalk between Microglia and Astrocytes in the Secondary Brain Injury after Intracerebral Hemorrhage. *Translational Stroke Research*, 11(5), 1061–1063. <https://doi.org/10.1007/s12975-020-00803-7>

523. Zhao, L., Chen, S., Yang, Y., Chen, J., & Liu, J. (2024). Crosstalk between oxidative stress and neuroinflammation in pathogenesis of intracerebral hemorrhage. *Frontiers in Neuroscience*, 18, 1384162. <https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1384162>

524. Zhao, M., Li, X. W., Chen, Z., Hao, F., Tao, S. X., Yu, H. Y., Cheng, R., & Liu, H. (2019). Neuro-Protective Role of Metformin in Patients with Acute

Stroke and Type 2 Diabetes Mellitus via AMPK/Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Signaling Pathway and Oxidative Stress. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 25, 2186–2194. <https://doi.org/10.12659/MSM.911250>

525. Zhao, X., Sun, G., Ting, S. M., Song, S., Zhang, J., Edwards, N. J., & Aronowski, J. (2015). Cleaning up after ICH: the role of Nrf2 in modulating microglia function and hematoma clearance. *Journal of Neurochemistry*, 133(1), 144–152. <https://doi.org/10.1111/jnc.12997>

526. Zhao, X., Ting, S. M., Liu, C. H., Sun, G., Kruzel, M., Roy-O'Reilly, M., & Aronowski, J. (2017). Neutrophil polarization by IL-27 as a therapeutic target for intracerebral hemorrhage. *Nature Communications*, 8(1), 602. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00770-7>

527. Zhao, Y., Huang, Y., Fang, Y., Chen, X., Zhang, J., & Liu, Y. (2022). The role of ferroptosis in acute brain injury: From mechanism to therapeutic opportunities. *Frontiers in Neuroscience*, 16, 1036688. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1036688>

528. Zheng, G. R., Chen, B., Shen, J., Qiu, S. Z., Yin, H. M., Mao, W., Wang, H. X., & Gao, J. B. (2018). Serum myeloperoxidase concentrations for outcome prediction in acute intracerebral hemorrhage. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 487, 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.10.026>

529. Zheng, H., Chen, C., Zhang, J., & Hu, Z. (2016). Mechanism and Therapy of Brain Edema after Intracerebral Hemorrhage. *Cerebrovascular Diseases*, 42(3–4), 155–169. <https://doi.org/10.1159/000445170>

530. Zheng, J., Shi, L., Liang, F., Yang, W., Tan, X., He, W., Chen, Q., Wang, L., Yu, J., & Xu, W. (2020). Sirt3 Ameliorates Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction After Intracerebral Hemorrhage in Diabetic Rats. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 414. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00414>

531. Zheng, J., Zou, W., & Yu, X. (2023). Autophagy in Intracerebral Hemorrhage: From Mechanism to Regulation. *Journal of integrative neuroscience*, 22(5), 134. <https://doi.org/10.31083/j.jin2205134>
532. Zheng, Y., Li, R., & Fan, X. (2022). Targeting Oxidative Stress in Intracerebral Hemorrhage: Prospects of the Natural Products Approach. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(9), 1811. <https://doi.org/10.3390/antiox11091811>
533. Zhong, Q., Kowluru, R., & Kowluru, A. (2020). The Regulatory Role of Rac1, a Small Molecular Weight GTPase, in the Development of Diabetic Retinopathy. *Journal of Clinical Medicine*, 9(3), 865. <https://doi.org/10.3390/jcm9030865>
534. Zhou, H. J., Zhang, H. N., Tang, T., Sun, Y. Y., Liu, Y. H., & Yang, Q. (2020). Alterations of brain network hubs in Alzheimer's disease with different glucose metabolism status. *Brain and Behavior*, 10(10), e01776. <https://doi.org/10.1002/brb3.1776>
535. Zhou, Y., Wang, Y., Wang, J., Anne Stetler, R., & Yang, Q. W. (2014). Inflammation in intracerebral hemorrhage: from mechanisms to clinical translation. *Progress in Neurobiology*, 115, 25–44. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.11.003>
536. Zhu, H., Wang, Z., Yu, J., Yang, X., He, F., Liu, Z., Che, F., Chen, X., Ren, H., Hong, M., & Wang, J. (2019). Edaravone Attenuates Acute Cerebral Infarction through Inhibiting Oxidative Stress and Inflammation in Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 9498219. <https://doi.org/10.1155/2019/9498219>
537. Zhu, W., Gao, Y., Wan, J., Zhang, X., Liu, X., Zang, W., Zhang, H., Ding, L., & Ye, X. (2022). Targeting heme oxygenase-1 in early diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes Research*, 2022, 6923779. <https://doi.org/10.1155/2022/6923779>
538. Zhu, X., Tao, L., Tejima-Mandeville, E., Qiu, J., Park, J., Garber, K., Ericsson, M., Lo, E. H., & Whalen, M. J. (2012). Plasminogen activator inhibitor-

1 antagonist TM5441 attenuates N ω -nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertension and vascular senescence. *Circulation*, 126(18), 2209–2219. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.108209>

539. Zhuang, J., Peng, Y., Gu, C., Chen, H., Lin, Z., Zhou, H., Wu, X., Li, J., Yu, X., Cao, Y., Wang, L., & Chen, G. (2021). Neuroprotective effects of a novel peptide from *Lignosus rhinocerotis* against 6-hydroxydopamine-induced toxicity in PC12 cells by attenuating mitochondrial apoptosis pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 656395. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.656395>

540. Zhyliuk, V., Lievykh, A., Shevtsova, A., Tkachenko, V., & Kharchenko, Y. (2021). The impact of perindopril and metformin on the markers of endothelial dysfunction in rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus. *Medicni Perspektivi*, 26(4), 15–22. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2021.4.24805>

541. Ziai, W. C., & Carhuapoma, J. R. (2018). Intracerebral Hemorrhage. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 24(6), 1603–1622. <https://doi.org/10.1212/CON.0000000000000672>

542. Zille, M., Farr, T. D., Keep, R. F., Römer, C., Xi, G., & Boltze, J. (2022). Novel targets, treatments, and advanced models for intracerebral haemorrhage. *EBioMedicine*, 76, 103880. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103880>

543. Zille, M., Farr, T. D., Przesdzing, I., Müller, J., Sommer, C., Dirnagl, U., & Wunder, A. (2012). Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32(2), 213–231. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.150>

544. Zong, X., Dong, Y., Li, Y., Yang, L., Li, Y., Yang, B., Tucker, L., Zhao, Y., Brann, D. W., Zhang, Q., & Yan, S. (2020). Beneficial Effects of Theta-Burst Transcranial Magnetic Stimulation on Stroke Injury via Improving Neuronal Environment and Mitochondrial Integrity. *Translational Stroke Research*, 11(3), 414–428. <https://doi.org/10.1007/s12975-019-00733-8>

545. Zuo, W., Wang, Y., Sun, J., & Zhang, Y. (2022). Effects and mechanism of myeloperoxidase on microglia in the early stage of intracerebral hemorrhage. *Frontiers in neuroscience, 16*, 1046244. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1046244>
546. Zuo, Y., Wang, J., Liao, F., Yan, Y., & Shi, Y. (2023). Crosstalk between inflammatory signaling and methylation in the pathogenesis of intracranial aneurysm. *Frontiers in Immunology, 14*, 1136508. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1136508>
547. Shen, D., Ye, X., Li, J., Hao, X., Jin, L., Jin, Y., Tong, L., & Gao, F. (2022). Metformin Preserves VE-Cadherin in Choroid Plexus and Attenuates Hydrocephalus via VEGF/VEGFR2/p-Src in an Intraventricular Hemorrhage Rat Model. *International journal of molecular sciences, 23*(15), 8552. <https://doi.org/10.3390/ijms23158552>
548. Cui, Q. L., Mohammadnia, A., Yaqubi, M., Weng, C., Dorion, M. F., Pernin, F., Hall, J. A., Dudley, R., Stratton, J. A., Kennedy, T. E., Srour, M., & Antel, J. P. (2025). Myelination potential and injury susceptibility of grey versus white matter human oligodendrocytes. *Brain : a journal of neurology, 148*(3), 921-932. <https://doi.org/10.1093/brain/awae311>
549. Flory, J., & Lipska, K. (2019). Metformin in 2019. *JAMA, 321*(19), 1926–1927. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.3805>
550. Gómez-de Frutos, M. C., Laso-García, F., Diekhorst, L., Otero-Ortega, L., Fuentes, B., Jolkkonen, J., Detante, O., Moisan, A., Martínez-Arroyo, A., Díez-Tejedor, E., Gutiérrez-Fernández, M., & RESSTORE consortium (2019). Intravenous delivery of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improves brain repair in hyperglycemic stroke rats. *Stem cell research & therapy, 10*(1), 212. <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1322-x>
551. Miyamoto, N., Maki, T., Pham, L. D., Hayakawa, K., Seo, J. H., Mandeville, E. T., Mandeville, J. B., Kim, K. W., Lo, E. H., & Arai, K. (2013). Oxidative stress interferes with white matter renewal after prolonged cerebral

hypoperfusion in mice. *Stroke*, 44(12), 3516–3521.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.002813>

552. Benito-Cuesta, I., Ordóñez-Gutiérrez, L., & Wandosell, F. (2021). AMPK activation does not enhance autophagy in neurons in contrast to MTORC1 inhibition: different impact on β -amyloid clearance. *Autophagy*, 17(3), 656–671. <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1728095>

553. Sarkar S. (2013). Regulation of autophagy by mTOR-dependent and mTOR-independent pathways: autophagy dysfunction in neurodegenerative diseases and therapeutic application of autophagy enhancers. *Biochemical Society transactions*, 41(5), 1103–1130. <https://doi.org/10.1042/BST20130134>

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Holubiev, V. L., Oberemok, M. H., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Yu. V., Bondarenko, O. O., Lievykh, A. E., Zhyliuk, V. I. (2024). Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage. *Medicni Perspektivi*, 29(2), 174–186. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690> (SCOPUS)
2. Holubiev, V. L., Lievykh, A. E., Tkachenko, V. A., Kharchenko, Yu. V., Zhyliuk, V. I. (2024). Edaravone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 96(6), 56–65. <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056> (SCOPUS)
3. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І. (2024). Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 18(4), 263–272. <https://doi.org/10.33250/18.04.263>
4. Голубєв, В. Л., Левих, А. Е., Оберемок, М. Г., Бондаренко, О. О., Шевцова, А. І., Жилюк, В. І. (2024). Дослідження нейропротекторних властивостей метформіну у щурів з цукровим діабетом 2 типу та спонтанним внутрішньомозковим крововиливом. *Сучасні досягнення експериментальної, клінічної, екологічної біохімії та молекулярної біології: Збірник публікацій I Міжнародної науково-практичної online конференції, присвяченої 85-річчю кафедри біохімії* (с. 546–548). Харків: НФаУ.
5. Holubiev, V., Zhyliuk, V., Lievykh, A., Kharchenko, Y., Tkachenko, V. (2024). Effects of edaravone on oxidative stress in neocortex after acute intracerebral hemorrhage in rats with type 2 diabetes mellitus. *Neuroscience Applied*, 3, 626–627. <https://doi.org/10.1016/j.nsa.2024.105310>

6. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І. (2024). Дослідження впливу едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету. *Актуальні питання фармакології та лікарської токсикології: Матеріали науково-практичної конференції молодих учених із міжнародною участю, Фармакологія та лікарська токсикологія*, 18(3), 212–213.

7. Holubiev, V., Ushakova, G., Suvarian, U., Zhyliuk, V. (2024). The effect of metformin and edaravone on the levels of neurospecific proteins in the cerebra of rats with acute intracerebral hemorrhage on the background of type 2 diabetes. *Актуальні проблеми сучасної біохімії, клітинної біології та фізіології: Матеріали VII Міжнародної наукової конференції (3–4 жовтня 2024 р., Дніпро, Україна)* (с. 101–103). Дніпро: Ліра.

8. Голубєв, В., Жилюк, В., Левих, А. (2024). Вплив метформіну на вміст аквапорину-1 у головному мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Матеріали X науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті проф. Т. А. Грошового (17–18 жовтня 2024 р.)* (с. 222–223). Тернопіль: ТНМУ.

9. Голубєв, В. Л., Жилюк, В. І., Левих, А. Е. (2024). Дослідження впливу комбінованого засобу, що містить бурштинову кислоту та інозин, на показники поведінки та рівень маркерів запалення у мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Експериментальна та клінічна фармакологія: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю кафедри фармакології НФаУ (23–24 жовтня 2024 р.)* (с. 19–22). Харків: НФаУ.

10. Жилюк, В. І., Голубєв, В. Л., Левих, А. Е., Ушакова, Г. О. (2024). Дослідження впливу метформіну на рівні маркерів нейрогенезу та запалення у мозку щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу. *Міжнародна конференція з нейронаук та Наукові читання, присвячені вісцеральній фізіології та патофізіології (19–21 листопада 2024 р., Інститут фізіо-*

логії ім. О. О. Богомольця НАН України), *Фізіологічний журнал*, 70(5), додаток, 33–34.

ДОДАТОК Б

Відомості про апробацію результатів дисертації:

- I Міжнародна науково-практична online конференція, присвячена 85-річчю з дня заснування кафедри біохімії «Сучасні досягнення експериментальної, клінічної, екологічної біохімії та молекулярної біології» м. Харків, 7 березня 2024 р. *(публікація)*
- 37th ECNP congress, м. Мілан, 21-24 вересня 2024 р. *(стендова доповідь і публікація)*
- Науково-практична конференції молодих учених із міжнародною участю «Актуальні питання фармакології та лікарської токсикології» м. Київ, 25-26 вересня 2024 р. *(публікація)*
- Сьома міжнародна наукова конференція «Актуальні проблеми сучасної біохімії, Клітинної біології та фізіології» м.Дніпро, 3-4 жовтня 2024 р. *(стендова доповідь і публікація)*
- X науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена пам'яті завідуючого кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, доктора фармацевтичних наук, професора Тараса Андрійовича Грошового м. Тернопіль, 17 – 18 жовтня 2024 р. *(публікація)*
- Міжнародна науково-практична конференція «Експериментальна та клінічна фармакологія», присвячена 100-річчю кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету м. Харків, 23-24 жовтня 2024 р. *(доповідь і публікація)*
- Міжнародна конференція з нейронаук та Наукові читання, присвячені вісцеральній фізіології та патофізіології м. Київ, 19-21 листопада 2024 р. *(публікація)*

ДОДАТОК В.1

**АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ**

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. Пропозиція для впровадження: Нейропротекторні властивості метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

2. Установа-розробник: Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044); кафедра фармакології, загальної та клінічної фармації; аспірант Віктор ГОЛУБЕВ, д.мед.н., проф. Володимир ЖИЛЮК, к.фарм.н., доцент Антон ЛЄВИХ, к.фарм.н., доцент Юлія ХАРЧЕНКО, к.б.н., доцент Вікторія ТКАЧЕНКО.

3. Джерела інформації:

- Holubiev V. L., Oberemok M. H., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Bondarenko O. O., Lievykh A. E., Zhyliuk V. I. Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage // *Medicini perspektivi*. 2024. Vol. 29, Issue 2. P. 174–186. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690>
- Holubiev V. L., Lievykh A. E., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Zhyliuk V. I. Edaravone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus // *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2024. Vol. 96, Issue 6. P. 56–65. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056>
- Голубев В. Л., Жилюк В. І. Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2024. Т. 18, № 4. С. 263–272. DOI: <https://doi.org/10.33250/18.04.263>

4. Базова установа, яка проводить впровадження: Полтавський державний медичний університет (вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011).

5. Термін впровадження: 2025 р.

6. Форма впровадження: у наукову та навчальну роботу.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3): використання результатів наукових досліджень у науковому та навчальному процесі дозволяє розширити та поглибити уявлення щодо нейропротекторних ефектів метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

8. Зауваження, пропозиції: не вносились.

9. Обговорено та затверджено на засіданні структурного підрозділу: протокол № 10 від «3» січня 2025 року.

Відповідальний за впровадження:

Зав. каф. фармакології,
д. мед. н., проф.

 Луценко Р.В.

ДОДАТОК В.2

ЗАТВЕРДЖЕНО



Проректор з науково-педагогічної,
навчальної роботи та якості освіти
Запорізького державного медико-
фармацевтичного університету
доц. С.А. Моргунцова
2025 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. Пропозиція для впровадження: Нейропротекторні властивості метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

2. Установа-розробник: Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044); кафедра фармакології, загальної та клінічної фармації, аспірант Віктор ГОЛУБЄВ, д.мед.н., проф. Володимир ЖИЛЮК, к.фарм.н., доцент Антон ЛЄВИХ, к.фарм.н., доцент Юлія ХАРЧЕНКО, к.б.н., доцент Вікторія ТКАЧЕНКО.

3. Джерела інформації:

- Holubiev V. L., Oberemok M. H., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Bondarenko O. O., Lievykh A. E., Zhyliuk V. I. Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage // *Medicni perspektivi*. 2024. Vol. 29, Issue 2. P. 174–186. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690>
- Holubiev V. L., Lievykh A. E., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Zhyliuk V. I. Edaravone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus // *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2024. Vol. 96, Issue 6. P. 56–65. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056>
- Голубєв В. Л., Жилюк В. І. Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2024. Т. 18, № 4. С. 263–272. DOI: <https://doi.org/10.33250/18.04.263>

4. Базова установа, яка проводить впровадження: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет (просп. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035).

5. Термін впровадження: 2025 р.

6. Форма впровадження: у наукову та навчальну роботу.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3): використання результатів наукових досліджень у науковому та навчальному процесі дозволяє розширити та поглибити уявлення щодо нейропротекторних ефектів метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

8. Зауваження, пропозиції: не вносились.

9. Обговорено та затверджено на засіданні структурного підрозділу: протокол № 5 від «10» січня 2025 року.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології
та медичної рецептури з курсом
нормальної фізіології,
Професор



І.Ф. Беленічев

ДОДАТОК В.4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Одеського національного медичного
університету, д. мед. н., професор
Світлана КОТЮЖИНСЬКА

« » 2025 р.


АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Нейропротекторні властивості метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу
2. **Установа, її адреса, виконавець:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044); кафедра фармакології, загальної та клінічної фармації; аспірант Віктор ГОЛУБЕВ, д.мед.н., проф. Володимир ЖИЛЮК, к.фарм.н., доцент Антон ЛЄВИХ, к.фарм.н., доцент Юлія ХАРЧЕНКО, к.б.н., доцент Вікторія ТКАЧЕНКО.
3. **Джерела інформації:**
 1. Holubiev V. L., Oberemok M. H., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Bondarenko O. O., Lievykh A. E., Zhyliuk V. I. Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage // *Medicni perspektivi*. 2024. Vol. 29, Issue 2. P. 174–186. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690>
 2. Holubiev V. L., Lievykh A. E., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Zhyliuk V. I. Eदारавone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus // *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2024. Vol. 96, Issue 6. P. 56–65. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056>
 3. Голубев В. Л., Жилюк В. І. Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2024. Т. 18, № 4. С. 263–272. DOI: <https://doi.org/10.33250/18.04.263>
4. **Впроваджено:** у освітньо-науковий процес кафедри загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету (ОНМедУ). Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та фармакогнозії ОНМедУ, протокол №9 від «20» лютого 2025р.
5. **Термін впровадження:** 2024-2025 рр.
6. **Ефективність впровадження:** використання результатів досліджень показало, що дозволяє розширити та поглибити уявлення щодо нейропротекторних ефектів метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри загальної і клінічної фармакології
та фармакогнозії Одеського національного
медичного університету
д. мед. наук, професор



Ярослав РОЖКОВСЬКИЙ

ДОДАТОК В.5

ЗАТВЕРДЖЕНО

Проректор з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України
« » проф. А.Г. Шульгай
« » 2025 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. Пропозиція для впровадження: Нейропротекторні властивості метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

2. Установа-розробник: Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044); кафедра фармакології, загальної та клінічної фармації; аспірант Віктор ГОЛУБЄВ, д.мед.н., проф. Володимир ЖИЛЮК, к.фарм.н., доцент Антон ЛЄВИХ, к.фарм.н., доцент Юлія ХАРЧЕНКО, к.б.н., доцент Вікторія ТКАЧЕНКО.

3. Джерела інформації:

- Holubiev V. L., Oberemok M. H., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Bondarenko O. O., Lievykh A. E., Zhyliuk V. I. Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage // *Medicni perspektivi*. 2024. Vol. 29, Issue 2. P. 174–186. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690>
- Holubiev V. L., Lievykh A. E., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Zhyliuk V. I. Edaravone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus // *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2024. Vol. 96, Issue 6. P. 56–65. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056>
- Голубєв В. Л., Жилюк В. І. Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2024. Т. 18, № 4. С. 263–272. DOI: <https://doi.org/10.33250/18.04.263>

4. Базова установа, яка проводить впровадження: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського (майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001).

5. Термін впровадження: 2025 р.

6. Форма впровадження: у наукову та навчальну роботу.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3): використання результатів наукових досліджень у науковому та навчальному процесі дозволяє розширити та поглибити уявлення щодо нейропротекторних ефектів метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

8. Зауваження, пропозиції: не вносились.

9. Обговорено та затверджено на засіданні структурного підрозділу: протокол № 2 від «28» лютого 2025 року.

Відповідальний за впровадження:

О.О.Шульгай

д-р мед. наук, проф. Олещук О.М.

ДОДАТОК В.6

**АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ**

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у науково-педагогічну роботу та навчальний процес

1. Пропозиція для впровадження: Нейропротекторні властивості метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

2. Установа-розробник: Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044): кафедра фармакології, загальної та клінічної фармації, аспірант Віктор ГОЛУБЄВ, д.мед.н., проф. Володимир ЖИЛЮК, к.фарм.н., доцент Антон ЛЄВИХ, к.фарм.н., доцент Юлія ХАРЧЕНКО, к.б.н., доцент Вікторія ТКАЧЕНКО.

3. Джерела інформації:

1. Holubiev V. L., Oberemok M. N., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Bondarenko O. O., Lievykh A. E., Zhyliuk V. I. Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage // *Medicini perspektivi*. 2024. Vol. 29. Issue 2. P. 174–186. DOI: https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2_307690
2. Holubiev V. L., Lievykh A. E., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Zhyliuk V. I. Edaravone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus // *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2024. Vol. 96. Issue 6. P. 56–65. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056>
3. Голубєв В. Л., Жиліук В. І. Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2024. Т. 18. № 4. С. 263–272. DOI: <https://doi.org/10.33250/18.04.263>

4. Базова установа, яка проводить впровадження:

5. Термін впровадження: 2025 р.

6. Форма впровадження: у науково-педагогічну роботу та навчальний процес.

7. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3): використання результатів наукових досліджень у науковому та навчальному процесі дозволяє розширити та поглибити уявлення щодо нейропротекторних ефектів метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.

8. Зауваження, пропозиції: не вносились.

9. Обговорено та затверджено на засіданні структурного підрозділу:

протокол № 7 від 05 03 2025 року.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова
д. мед.н., проф.



Н.І. Волошук

ДОДАТОК В.7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи
Буковинського державного
медичного університету
доц. Х. С. ДОРОШЧУК В. М.

2025 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, в освітньо-науковий процес

1. **Пропозиція для впровадження:** Нейропротекторні властивості метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.
2. **Установа-розробник:** Дніпровський державний медичний університет (вул. Володимира Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044); кафедра фармакології, загальної та клінічної фармації; аспірант Віктор ГОЛУБЄВ, д.мед.н., проф. Володимир ЖИЛЮК, к.фарм.н., доцент Антон ЛЄВИХ, к.фарм.н., доцент Юлія ХАРЧЕНКО, к.б.н., доцент Вікторія ТКАЧЕНКО.
3. **Джерела інформації:**
 1. Holubiev V. L., Oberemok M. H., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Bondarenko O. O., Lievykh A. E., Zhyliuk V. I. Study of the neuroprotective properties of metformin in rats with type 2 diabetes mellitus and brain injury induced by intracerebral hemorrhage // *Medicini perspektivi*. 2024. Vol. 29, Issue 2. P. 174–186. DOI: <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2024.2.307690>
 2. Holubiev V. L., Lievykh A. E., Tkachenko V. A., Kharchenko Yu. V., Zhyliuk V. I. Edaravone reduces the markers of oxidative stress and neuroinflammation in neocortex of rats with acute intracerebral hemorrhage and type 2 diabetes mellitus // *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2024. Vol. 96, Issue 6. P. 56–65. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj96.06.056>
 3. Голубєв В. Л., Жилюк В. І. Вплив едаравону на прояви неврологічного дефіциту та умовно-рефлекторну активність у щурів з гострим внутрішньомозковим крововиливом на тлі цукрового діабету 2 типу // *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2024. Т. 18, № 4. С. 263–272. DOI: <https://doi.org/10.33250/18.04.263>
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Буковинський державний медичний університет (пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002).
5. **Термін впровадження:** 2025 р.
6. **Форма впровадження:** в освітньо-науковий процес кафедри фармакології.
7. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3):** використання результатів наукових досліджень в освітньо-науковому процесі дозволяє розширити та поглибити уявлення щодо нейропротекторних ефектів метформіну та едаравону при гострому внутрішньомозковому крововиливі за умов цукрового діабету 2 типу.
8. **Зауваження, пропозиції:** не вносились.
9. **Обговорено та затверджено на засіданні структурного підрозділу:** протокол № 10 від «28» січня 2025 року.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології
д. мед. н., професор

Заморський І. І.