

Шакова Ф.М.¹, Калинина Т.И.³, Барсков И.В.², Стельмашук Е.В.²,
Генрихс Е.Е.³, Юрин В.Л.¹, Романова Г.А.¹

Сравнение нейропротективных эффектов производных эритропоэтина при разных способах введения на модели двустороннего фокального ишемического повреждения префронтальной коры мозга крысы

¹ — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение НИИ общей патологии и патофизиологии

² — Федеральное государственное бюджетное учреждение Научный центр неврологии

³ — Федеральное государственное унитарное предприятие государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов

Сравнение нейропротективных и антиамнестических эффектов цитопротекторных карбамиллированных форм ЕРО и его производных ЕРО-Fc и ЕРО-TR проведено на модели фототромбоза префронтальной коры мозга крыс при внутрибрюшинном и интраназальном способах введения через 1 ч после ишемического повреждения коры. При сравнении двух способов введения показана ноотропная и нейропротективная активность гибридных белков, причем наиболее выраженный эффект был достигнут при внутрибрюшинном введении ЕРО-TR и интраназальном введении ЕРО-Fc.

Ключевые слова: фототромбоз; префронтальная кора мозга крыс; эритропоэтин; его производные: ЕРО-TR, ЕРО-Fc; интраназальное и внутрибрюшинное введение

Shakova F.M.¹, Kalinina T.I.³, Barskov I.V.², Stelmashuk E.V.²,
Genrixc E.E.², Yrin V.L.³, Romanova G.A.¹

Comparison of neuroprotective effects of derivatives of eritropoetine by different way of bringing in drugs with model of bilateral photochemically induced thrombosis of the prefrontal cortex of rat brain

¹ — FGBU NII General Pathology and Pathophysiology

² — FGBU Scientific Center of Neurology

³ — State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms GosNIIGenetika

It was stated with model of bilateral photochemically induced thrombosis of the prefrontal cortex by injected intranasally or intraperitoneally in 1h after operation new derivatives of eritropoetine: Epo, Epo-Fc, Epo-Tr provoked neuroprotective and antiamnesic action. Epo-Fc demonstrated more effective action by intranasal injection.

Key words: photothrombosis; prefrontal cortex; derivatives of eritropoetine: Epo, Epo-Fc, Epo-Tr; neuroprotective and antiamnesic action; intranasal and intraperitoneal injection

Ишемический инсульт занимает второе место в структуре общей смертности и первое — как причина стойкой утраты трудоспособности. Более 85% всех инсультов регистрируются в развивающихся странах [1]. Развитие инсульта приводит к морфологическому дефекту мозговых структур и функциональным расстройствам.

Фокальная церебральная ишемия обусловлена недостаточностью кровоснабжения определённого уча-

стка головного мозга в условиях тромбоза, геморрагии или травмы мозга и ее проявления и тяжесть зависят от места локализации очага. В первую очередь возникают когнитивные расстройства, выражающиеся в нарушениях памяти, способности к обучению и анализу ситуации, затруднениях принятия решений, а также двигательные дисфункции и параличи. Поиск лекарственных средств, снижающих степень нейродегенерации и улучшающих функции ЦНС, нарушенные при инсульте, является актуальной медицинской и социально значимой задачей.

Основные проблемы создания и применения препаратов цитоЕРО связаны как с «выключением» его

Для корреспонденции: Шакова Ф.М., канд. мед.наук, вед. науч. сотр. лаб. общей патологии нервной системы ФГБНУ НИИ ОПП, e-mail: shakova.fatima@yandex.ru

гемопоэтической активности, так и с оптимизацией цитопротекторной функции молекулы ЕРО за счет пролонгации её действия в организме. С этой целью были получены варианты генно-инженерных гибридов ЕРО с неонатальным Fc-фрагментом иммуноглобулина человека и фрагментом человеческого гликопептида MUC1-(TR), несущего дополнительные сайты O-гликозилирования. Пролонгация в данном случае достигается не только за счет увеличения молекулярного веса белка, что приводит к изменению его гидродинамических свойств и снижает клиренс препарата через почки, но и за счет механизма рециркуляции белка через неонатальные рецепторы (F_{сп}) экспрессированные на эндотелии. Тот или другой механизм взаимодействия определяет индивидуальные терапевтические свойства препарата, его форму: инфузионную или ингаляционную. Ранее было продемонстрировано присутствие неонатального F_{сп} рецептора на клетках эпителия сосудов мозга [3]. Анализ фармакокинетических свойств показал, что полученные гибридные белки обладают пролонгированным временем полужизни (в 2-2,5 раза) по сравнению со стандартным ЕРО [4]. Была разработана методика карбамилирования, позволяющая получить препараты белков, не обладающих эритропоэтической активностью, но сохраняющих нейропротекторные свойства [5].

Одной из экспериментальных моделей, которая наиболее полно воспроизводит клиническую картину фокального ишемического инфаркта мозга, является фотохимический тромбоз кровеносных сосудов коры. Использование данной модели дает возможность количественной оценки нейропротективного и антиамнестического действия препаратов, используемых для фармакологической коррекции ишемической патологии мозга [6-8].

Целью данной работы было сравнение нейропротективных и антиамнестических эффектов цитопротекторных карбамилированных форм ЕРО и его производных ЕРО-Fc и ЕРО-TR при внутрибрюшинном и интраназальном способах введения на модели фототромбоза сосудов префронтальной коры мозга крыс.

Методика

Опыты выполнены на 67 самцах беспородных белых крыс массой 200-220 г, содержащихся в виварии при свободном доступе к пище и воде и естественной смене светового режима. При работе соблюдались требования, сформулированные в Директивах Совета Европейского сообщества 86/609/ЕЕС об использовании животных для экспериментальных исследований. Введение всех исследованных карбами-

лированных форм производных эритропоэтина осуществлялось однократно, внутрибрюшинно в дозе 50 мкг/кг или интраназально в дозе 25 мкг/кг в черед 1 ч после фототромбоза префронтальной коры головного мозга крыс.

Все экспериментальные животные были разделены на 2 серии по 4 группы в каждой:

I. Внутрибрюшинное введение исследуемых веществ:

1. Фототромбоз + 0,9% раствор NaCl в объеме 50 мкл (n = 8);

2. Фототромбоз + ЕРО в дозе 50 мкг/кг (n = 8);

3. Фототромбоз + ЕРО-TR в дозе 50 мкг/кг (n = 8);

4. Фототромбоз + ЕРО-Fc в дозе 50 мкг/кг (n = 7).

II. Интраназальное введение исследуемых веществ:

1. Фототромбоз + 0,9% раствор NaCl в объеме 25 мкл (n = 10);

2. Фототромбоз + ЕРО в дозе 25 мкг/кг (n = 6);

3. Фототромбоз + ЕРО-TR в дозе 25 мкг/кг (n = 10);

4. Фототромбоз + ЕРО-Fc в дозе 25 мкг/кг (n = 10).

Для оценки функционального состояния животных исследовали уровень их двигательной активности (ДА) в автоматизированной установке РОДЭО-1, время наблюдения 5 мин. Анализ ДА проводили до и на 4-е сутки после фототромбоза префронтальной коры, при этом ДА в экспериментальных группах животных до и после операции не имела значимых различий.

Условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ) вырабатывали по ранее описанной схеме [9]. Определяли латентный период (ЛП) — время, которое проходило от начала теста до момента пересечения крысой отверстия, разделяющего освещенный и темный отсеки камеры. При повторном заходе крысы в темный отсек камеры дверь в него закрывали и через металлические прутья пола пропускали электрический ток (1,3 мА, 50 Гц, 5 с). УРПИ считали выработанным, если ЛП составлял не менее 300 с. Животных с меньшим ЛП исключали из эксперимента. Оценку антиамнестического действия исследуемых гибридных белков проводили на 4-е сутки после индукции коркового инфаркта.

Двусторонний фокальный ишемический инфаркт префронтальной коры головного мозга крыс (цитоархитектонические поля Frl и Fr2) создавали методом фотохимически индуцируемого тромбоза [10, 11]. Операцию проводили под наркозом (внутрибрюшин-

ное введение хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг). После введения фотосенсибилизирующего красителя бенгальского розового (внутривенно 40 мг/кг, «Sigma», USA) крысу фиксировали в стереотаксисе. Для облучения использовали специальную установку, состоящую из источника холодного света — галогеновой лампы мощностью 250 Вт и световода с диаметром внутреннего сечения 3 мм. Световод устанавливали на расстоянии 1 мм от поверхности черепа, на 2 мм роstralнее брегмы и на 2 мм латеральнее сагиттального шва и облучали через кость черепа каждое из полушарий мозга холодным светом длиной волны 560 нм в течение 15 мин.

Для морфометрического измерения площади очага серийного среза и объема ишемического повреждения использовали мозг экспериментальных животных, фиксированный методом погружения в смесь формалин-спирт-уксусная кислота (ФУС) в пропорции 2:7:1 на ночь. После фиксации материал переносили на сутки в 70%-ный спирт и резали в дистиллированной воде на вибротоме 1000 (Tecpical Product international inc., USA) с шагом 100 мкм. Каждый второй срез последовательно монтировали на предметных стеклах, покрытых желатином, окрашивали 0,2% водным метиленовым синим. Далее препараты обрабатывали по стандартной гистологической методике: обезживали в спирте восходящей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в бальзам. Гистологические препараты сканировали на слайдовой приставке сканера V100 PHOTO (Epson, USA). Этот метод позволяет получить файл с изображением среза мозга нежно-голубого цвета, на котором четко виден очаг ишемического повреждения — темноокрашенный по краю и светлый в середине. Иногда некротическая ткань распадалась, в таком случае очагом поражения считали недостающий участок ткани. Для определения площади ишемического повреждения использовали специализированную компьютерную программу Image J («Bethesda», США).

Объем очага повреждения фотоиндуцированным тромбозом определяли по формуле:

$$V = \sum S_n \cdot d,$$

где:

d — толщина пары срезов (200 мкм);

S_n — измеренная площадь ишемического очага серийного среза (мм²);

Σ — сумма объемов ишемического повреждения на срезах.

Коэффициент эффективности защиты (КЭЗ) рассчитывали по формуле:

$$\text{КЭЗ} = (V_0 - V_B) / V_0 \cdot 100\%,$$

где:

V_0 — средний суммарный объем очага поражения у животных с введением физраствора;

V_B — средний объем очага поражения у животных с введением вещества.

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы Statistica 6.0. Для сравнения показателей латентного периода в тесте УРПИ использовали U -критерий Манна—Уитни для независимых выборок и критерий Вилкоксона для парных сравнений для связанных выборок. Статистическую значимость различий объемов инфаркта оценивали по t -критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Ранее показано, что фотохимически индуцируемый двусторонний тромбоз кровеносных сосудов в префронтальной области коры головного мозга крыс приводит к формированию ишемического очага, который захватывает всю толщину коры и отделен от окружающей неповрежденной ткани четко выраженной границей, такое повреждение коры сопровождается потерей выработанного до ишемии условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) [7, 12—13].

В предыдущих исследованиях получены данные, свидетельствующие о том, что новые гибридные белки на основе рекомбинантного эритропоэтина человека (ЕРО): карбамилированные формы ЕРО-Fc и ЕРО-TR при их внутрибрюшинном введении через 1ч после ишемического повреждения коры способствуют сохранению условного рефлекса пассивного избегания, выработанного до фототромбоза и уменьшению объема очага ишемии [13]. Таким образом, выявлена ноотропная и нейропротективная активности данных карбамилированных гликопептидных производных ЕРО.

Представляло интерес сравнить эффекты этих гибридных белков при внутрибрюшинном и интраназальном способах введения на модели двустороннего очагового ишемического повреждения префронтальной коры мозга крыс.

Важной особенностью интраназального введения лекарственных препаратов является возможность их проникновения непосредственно в ЦНС. Предполагается, что транспорт лекарственных средств из полости носа в ЦНС осуществляется без участия слизистой, экстрацеллюлярным путем по ходу тройничного и обонятельного нервов. Уже через 10—15 минут химические агенты, введенные интраназально, обнаруживаются в мозге. Данный факт привлекает всеобщее внимание, поскольку обеспечивает новые возможности в лечении заболеваний ЦНС. Теоретически лекарственные препараты проникают в головной мозг только из обонятельной об-

ласти, где существует возможность экстра- и интрацеллюлярного проникновения препаратов через эпителиальный барьер и попадания их не в кровотоки, а непосредственно к оболочкам мозга [14].

Оценку функционального состояния ЦНС проводили по показателям ЛП УРПИ до и после ишемического повреждения коры головного мозга крыс. До фототромбоза у всех обученных экспериментальных животных этот показатель составлял 300 с. Проверку сохранения выработанных до ишемии УРПИ проводили на 4-е сутки после операции.

Так, при внутрибрюшинном введении указанных производных эритропоэтина, ЛП УРПИ составлял на 4-е сутки после ишемии при введении ЕРО-TR — 258 с, ЕРО-Fc — 227 с, ЕРО — 243 с. При интраназальном введении этот показатель составил при введении ЕРО-Fc — 248 с, ЕРО-TR — 182 с и ЕРО — 169 с.

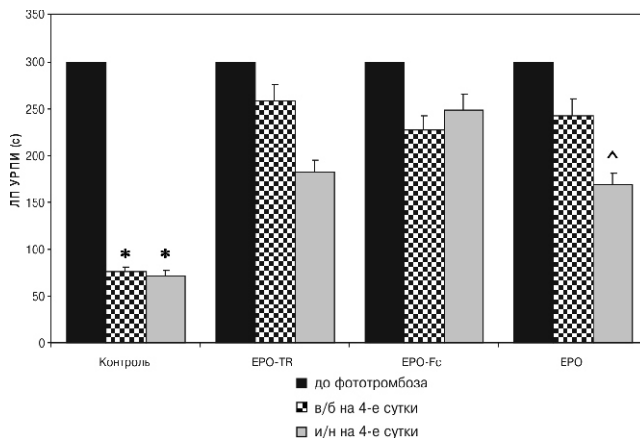
Таким образом, антиамнестический эффект ЕРО-TR был более выражен при внутрибрюшинном введении, тогда как при интраназальном введении был более эффективен ЕРО-Fc (рисунок).

Для морфометрического измерения объема ишемического очага использовали мозг тех же экспериментальных животных, фиксированный на 4-е сутки после окончания исследования. При внутрибрюшинном введении коэффициент защитного эффекта (КЭЗ), вычисленный по формуле (см. методику), был достоверен только для пролонгированного препарата ЕРО-TR и составил 34% [13].

При интраназальном введении производных эритропоэтина объем ишемического повреждения достоверно ($P < 0,05$) снижался по отношению к нелеченым крысам с фототромбозом префронтальной коры ($28,9 \pm 2,2$) как при введении ЕРО-TR ($15,0 \pm 1,8$), так и при введении ЕРО-Fc ($14,3 \pm 2,5$).

При интраназальном способе введения, самый высокий защитный эффект выявлен у ЕРО-Fc — 47,02%, чуть меньше у ЕРО-TR в той же серии опытов — 45,13%, КЭЗ ЕРО составил 24,6%.

Таким образом, можно заключить, что при интраназальном введении ЕРО-Fc и ЕРО-TR после дву-



Влияние внутрибрюшинного (50 мкг/кг) и интраназального (25 мкг/кг) введения карбамилированных форм белков ЕРО, ЕРО-TR, ЕРО-Fc на сохранение УРПИ у крыс с двусторонним фототромбозом префронтальной коры;

* $p < 0,001$ по сравнению с ЛП до фототромбоза; ^ $p < 0,05$ по сравнению с ЛП до фототромбоза.

стороннего фотохимического повреждения префронтальной коры крыс получены данные, свидетельствующие об антиамнестическом и нейропротективном действии данных карбамилированных гликопептидных производных ЕРО. Причем при сравнении этих показателей с нейропротективным эффектом лекарственного препарата Семакс [15], полученным в эксперименте на той же модели [6], его КЭЗ (27%) был практически вдвое ниже, чем у производных ЕРО.

Наши данные хорошо согласуются с данными других авторов, которые продемонстрировали, что при интраназальном введении, эритропоэтин эффективно преодолевает гемато-энцефалический барьер и обладает нейропротекторными свойствами даже при уменьшении дозы введения. что было показано на модели фокальной церебральной ишемии [16, 17].

Интересно, что при интраназальном введении препараты ЕРО-TR и ЕРО-Fc показали, значительно большую эффективность, чем ЕРО. Этот феномен, по-видимому, может быть объяснен пролонгированностью данных гибридов эритропоэтина. Необходимо отметить, что наибольшая нейропротекторная и ноот-

Таблица

Морфометрическое измерение среднего и суммарного (на крысу) объема очага ишемического повреждения по группам

Группы животных	0,9% раствор NaCl, 0,5 мл	ЕРО	ЕРО-TR	ЕРО-Fc
Суммарный объем (мм ³) повреждения мозга на крысу при интраназальном введении	$28,9 \pm 2,2$	$21,8 \pm 1,9$	$15,0 \pm 1,8^*$	$14,3 \pm 2,5^*$
Суммарный объем (мм ³) повреждения мозга на крысу при внутрибрюшинном введении	$24,22 \pm 4,7$	$28,8 \pm 7,5$	$15,8 \pm 5,4^*$	$23,5 \pm 4,0$

Примечание. $p < 0,05$ по сравнению с группой с введением раствора NaCl 0,9%

ропная активность была достигнута при интраназальном введении ЕРО-Fc. Учитывая присутствие неонатального Fc α 1 рецептора на клетках эпителия сосудов мозга, можно предположить, что взаимодействие этого белка с рецептором помогает более эффективному проникновению ЕРО-Fc в мозг и как следствие более эффективному цитопротекторному действию.

Работа поддержана субсидией Президиума РАН по программе «Фундаментальные исследования для разработки биомедицинских технологий» на 2014 г.

Список литературы

- Mohr J.P. et al. *Stroke: Pathophysiology, Diagnosis, and Management* / под ред. J.P. Mohr. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011. Вып. 5th.
- Шахнович В.А. *Ишемический инсульт. Нейросонология*. Москва: «АСТ», Научно-методическая литература, 2006.
- Schlachetzki F, Zhu C, Pardridge W.M., Expression of the neonatal Fc receptor (FcRn) at the blood \pm brain barrier. *Journal of Neurochemistry*. 2002, 81, 203-6.
- Гаврилова Н.А., Черемных А.М., Бобренева Р.А., Аскерова В.А., Калинина Т.И., Булушова Н.В., Честухина Г.Г., Юрин В.Л. Гемопоэтическая активность и фармакокинетика ЕРО-Fc, ЕРО-Fcneo и Alb-EPO гибридных белков — производных эритропоэтина человека. *Биотехнология*. 2012; 5: 38-49.
- Калинина Т.И., Юрин В.Л. *Гибридный белок на основе рекомбинантного эритропоэтина человека, обладающий пролонгированным действием (варианты), и способ его получения*. Изобретение МПК: C07K14/505, C12N15/62.
- Романова Г.А., Силачев Д.Н., Шакова Ф.М., Викторова И.В., Шрам С.И., Мясоедов Н.Ф. Нейропротективное и антиамнестическое действие пептида семакса при экспериментальном ишемическом инфаркте коры головного мозга. *Бюлл. exper. биол. и мед.* 2006; 142(12): 618-21.
- Силачев Д.Н., Шрам С.И., Шакова Ф.М., Романова Г.А., Мясоедов Отдаленные эффекты синтетического аналога АКГ(4-10) на формирование пространственной памяти у крыс с ишемическим повреждением префронтальной коры головного мозга. *Журнал Высшей нервной деятельности им И.П. Павлова*. 2008; 45(4): 458-66.
- Гудашева Т.А., Романова Г.А., Шакова, И.В. Барсков, Е.В. Стельмашук Нейропротекторное и антиамнестическое действие дипептидного миметика фактора роста нервовГК-2Н при экспериментальном ишемическом инфаркте мозга крыс. *Журнал экспериментальной и клинической фармакологии*. 2012; 10: 50-4.
- Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П. *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*. М.; Высш. школа, 1991.
- Paxinos G., Watson S. *Atlas of anatomy of rat brain. The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic Press. 1986.
- Watson B.D., Dietrich W.D., Busto R. et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Ann. Neurol.* 1985; 17(5): 497-504.
- Романова Г.А., Барсков И.В., Викторова И.В. Поведенческие и морфологические нарушения, вызванные двусторонним фотоиндуцированным тромбозом мозговых сосудов лобной коры мозга крыс. *Патол. физиол. и эксперим. терапия*. 1998; 2: 8-10.
- Романова Г.А., Шакова Ф.М., Барсков И.В., Стельмашук Е.В., Генрихс Е.Е., Черемных А.М., Калинина Т.И., Юрин В.Л. Нейропротективное и антиамнестическое действие производных эритропоэтина при экспериментальном ишемическом повреждении коры головного мозга. *Бюлл. exper. биол. и мед.* 2014; 158(9): 299-308.
- Привалова А.М., Гуляева Н.В., Букреева Т.В. Интраназальное введение — перспективный способ доставки лекарственных веществ в мозг. *Нейрохимия*. 2012; 29(2): 93-105.
- Шевченко К.В., Нагаев И.Ю., Алфеева Л.Ю., Андреева Л.А., Каменский А.А., Левицкая Н.Г., Шевченко В.П., Гривенников И.А., Мясоедов Н.Ф. Кинетика проникновения семакса в мозг и кровь крыс при интраназальном введении. *Биоорганическая химия*. 2006; 32(1): 64-70.
- Yue-Ping Yu, Qiu-Qin Xua, Qi Zhang, Wei-Ping Zhang, Li-Hui Zhang, Er-Qing Wei Intranasal recombinant human erythropoietin protects rats against focal cerebral ischemia. *Neuroscience Letters*. 2005; 387: 5-10.
- Yamila Rodriguez Cruz, Yuneidis Mengana Tamos, Adriana Munoz Cernuda, Nelvis Subiros Martinez, Alina Gonzalez-Quevedo4, Iliana Sosa Teste, and Julio Cesar Garcia Rodriguez. Treatment with Nasal Neuro-EPO Improves the Neurological, Cognitive, and Histological State in a Gerbil Model of Focal Ischemia. *The Scientific World Journal*. 2010; 10: 2288-300.

Поступила 29.06.15

References

- Mohr J.P. et al. *Stroke: Pathophysiology, Diagnosis, and Management* / под ред. J.P. Mohr. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2011. Vyp. 5th.
- Shahnovich V.A. *Ischemic insult. Neurosonologiya*. Scientific and methodological literature. Moscow: «АСТ», Scientific-methodologic literature; 2006.
- Schlachetzki F, Zhu C, Pardridge W.M., Expression of the neonatal Fc receptor (FcRn) at the blood \pm brain barrier. *Journal of Neurochemistry*. 2002; 81: 203-6.
- Gavrilova N.A., Cheremnych A.M., Bobreneva R.A., Askerova V.A., Kalinina T.I., Bulushova N.B., Chestuhina G.G., Urin V.L. Haemopoetic activity and pharmacokinetics of EPO-Fc, EPO-Fcneo and Alb-EPO of hybrid proteins — derivatives of an eritropoetin of the person. *Biotechnology*. 2012; 5: 38-49.
- Kalinina T.I., Yurin V. L. *The hybrid protein on the basis of a recombinant eritropoetin of the person possessing the prolonged action (options), and a way of its receiving*. Invention of MPK: C07K14/505, C12N15/62.
- Romanova G.A., Silachev D.N., Shakova F.M., Victorova I.V., Shram S.I., Myasoyedov N.F. Neuroprotective and anti-amnestic action neuropeptide Semax with experimental ischemic insult of rat brain cortex. *Bull. exper. biol. i med.* 2006; 142(12): 618-21.

7. Silachev D. N., S. I., Shakova F.M. Shram S.I., Romanova G. A., Myasoyedov N.F. The remote effects of synthetic analog of AKTG(4-10) on formation of spatial memory at rats with ischemic damage of prefrontal cortex of brain. *Zurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti im. I.P. Pavlova*. 2008; 45(4): 458-66.
8. Gudasheva T.A., Romanova G. A., Shakova F.M., Barskov I.V., Stelmashuk E.V. Neuroprotective and anti-amnesic action of a dipeptidny mimetik of a factor of growth nervovgk-2H at an experimental ischemic heart attack of a rat brain. *Zurnal experimentlnoy i klinicheskoy farmacologii*. 2012; 10: 50-4.
9. Buresh Ya., Bureshova O., Huston Dzh. P. *Techniques and main experiments on studying of a brain and behavior*. M.: Vyssh. School; 1991.
10. Paxinos G., Watson S. *Atlas of anatomy of rat brain. The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic Press; 1986.
11. Watson B.D., Dietrich W.D., Busto R. et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Ann. Neurol.* 1985; 17(5): 497-504.
12. Romanova G.A., Barskov I.V., Victorov I.V. The behavioural and morphological disturbances caused by the bilateral photoinduced thrombosis of brain vessels of the frontal cortex of a rat brain. *Pathol. Fisiol. i experim. Terapiya*. 1998; 2: 8-10.
13. Romanova G.A., Shakova F.M., Barskov I.V., Stelmashuk E.V., Genrikhs E.E., Cheremnykh A.M. Kalinina T.I., Yurin V.L. Neuroprotective and anti-amnesic action of derivatives of an eritropoetin at experimental ischemic damage of brain cortex. *Bull. Eksp. biol. i med.* 2014; 158(9): 299-308.
14. Privalova A. M., Gulyaeva N. V., Bukreeva T. V. Intranasal introduction — a perspective way of delivery of medicine substances in a brain. *Neurochemistry*. 2012; 29(2): 93-105.
15. Shevchenko K.V., Nagayev I.Yu., Alfeeva L.Yu., Andreyeva L.A., Kamensky A.A., Levitskaya N. G., Shevchenko V.P., Grivennikov I.A., Myasoyedov N. F. Kinetik of penetration of a semaks into a brain and blood of rats at intranasal introduction. *Bioorgan. himiya*. 2006; 32(1): 64-70.
16. Yue-Ping Yu, Qiu-Qin Xua, Qi Zhang, Wei-Ping Zhang, Li-Hui Zhang, Er-Qing Wei Intranasal recombinant human erythropoietin protects rats against focal cerebral ischemia. *Neuroscience Letters*. 2005, 387: 5-10.
17. Yamila Rodriguez Cruz, Yuneidys Mengana Tamos, Adriana Munoz Cernuda, Nelvis Subiros Martines, Alina Gonzalez-Quevedo4, Iliana Sosa Teste, and Julio Cesar Garcia Rodriguez. Treatment with Nasal Neuro-EPO Improves the neurological, cognitive, and histological state in a Gerbil Model of focal Ischemia. *The Scientific World Journal*. 2010; 10: 2288-300.

Received 29.06.15

Сведения об авторах:

Калинина Т.И., канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ФГУП государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов

Барсков И.В., канд. мед. наук, ст. науч. сотр., ФГБНУ Центр неврологии

Стельмашук Е.В. доктор мед. наук, вед. науч. сотр., ФГБНУ Центр неврологии

Генрихс Е.Е. канд. биол. наук, ст. науч. сотр. ФГБНУ Центр неврологии

Юрин В.Л., канд. мед. наук, зав. лаб. ФГУП государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов

Романова Г.А., доктор биол. наук, гл. науч. сотр. ФГБНУ НИИ ОПП лаб. общей патологии нервной системы