

НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ РЕКОМБИНАНТНОГО ЭРИТРОПОЭТИНА ЧЕЛОВЕКА, СОРБИРОВАННОГО НА ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦАХ, НА МОДЕЛИ ИНТРАЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ ГЕМАТОМЫ (МОДЕЛЬ ГЕМОРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА)

В. Ю. Балабаньян, И. Н. Солев, О. С. Елизарова, Т. Л. Гарибова,
С. А. Литвинова, Т. А. Воронина¹

В опытах на крысах линии Вистар исследована нейропротекторная активность рекомбинантного эритропоэтина человека (РЭЧ), сорбированного на поли(бутил)цианоакрилатных (ПБЦА) наночастицах, покрытых полисорбатом-80, и полилактидгликолидных (ПЛГА) наночастицах на состояние и поведение крыс с интрацеребральной посттравматической гематомой модели геморрагического инсульта (ИПГ ГИ) в сравнении с нативным РЭЧ. Установлено, что РЭЧ, сорбированный на ПБЦА, оказывал защитный эффект у крыс с ИПГ ГИ, уменьшая количество животных с неврологическими нарушениями, улучшал координацию движений в тесте вращающегося стержня, сокращал количество погибших от инсульта животных, уменьшал потерю массы у оставшихся в живых крыс. Эритропоэтин, сорбированный на ПБЦА наночастицах, оптимизировал ориентировочно-исследовательское поведение крыс с ИПГ ГИ в “открытом поле” и предупреждал амнезию условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ), вызванную ИПГ ГИ. Эти эффекты вещества регистрировались в течение 2-недельного времени наблюдения. Сходным, но значительно менее выраженным действием на основные нарушения, вызванные ИПГ ГИ, обладал РЭЧ сорбированный на ПЛГА наночастицах. Эффективность нативного РЭЧ, как нейропротектора, была незначительна и выражалась только в виде уменьшения количества погибших после ИПГ ГИ животных.

Ключевые слова: эритропоэтин, поли(бутил)цианоакрилатные (ПБЦА) наночастицы, полилактидгликолидные (ПЛГА) наночастицы, интрацеребральная посттравматическая гематома, модель геморрагического инсульта, нейропротекция

ВВЕДЕНИЕ

Эритропоэтин (ЭПО) является гликопротеиновым гормоном, регулятором эритропоэза, стимулирующим образование эритроцитов человека. В медицинской практике используется рекомбинантный ЭПО человека (РЭЧ). Эффективность препарата проявляется при дефиците эндогенного ЭПО, обусловленном различными формами анемии [9]. В конце девяностых годов появились сведения о нейропротекторных свойствах РЭЧ, способности вещества предотвращать глутаматную гибель нейронов *in vitro* [15], гибель нейронов, вызванную ишемией головного мозга в опытах *in vivo* [18]. Позднее эти сведения получили подтверждение в клинической практике при патологических состояниях, сопровождающихся нейродегенерацией [10]. Вместе с тем в связи с плохой проницаемостью ЭПО через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) эти свойства препарата выявляются только в высоких дозах, в 20–100 раз превышающих терапевтические, что часто приводит к развитию побочных эффектов [10, 13, 20].

¹ Лаборатория психофармакологии (рук. — проф. Т. А. Воронина) НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

В последнее время все большее внимание уделяется исследованиям, направленным на разработку транспортных систем для адресной, “таргетной” доставки лекарственных препаратов в различные органы и ткани. Одним из таких способов является включение веществ в нанотранспортные системы [1, 3, 8], в частности, использование поли(бутил)цианоакрилатных наночастиц (ПБЦА) и наночастиц на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (ПЛГА) [11, 12].

Целью исследования явилось изучение нейропротекторного действия РЭЧ, сорбированного на полимерных ПБЦА наночастицах, покрытых полисорбатом-80, и РЭЧ, сорбированного на ПЛГА наночастицах, в сравнении с нативным РЭЧ на состояние и поведение крыс с интрацеребральной посттравматической гематомой модели геморрагического инсульта (ИПГ ГИ).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использовали субстанцию РЭЧ (ОАО “Сотекс”), мономер бутилцианоакрилат (фирма “Sichel-Werke”, Германия). Синтез ПБЦА наночастиц с эритропоэтином проводили методом кислотной полимеризации по стандартной методике [14]. Получение сополимера молочной и гликолевой кислот

(ПЛГА) наночастиц с РЭЧ проводили по модифицированной методике Santos-Magalhães [19].

Изучение противоинсультных, нейропротекторных свойств соединений проводили на модели локального кровоизлияния в головном мозге — ИПГ модели ГИ [2, 4]. В исследовании были использованы крысы самцы линии Вистар массой 200 – 220 г, в начале эксперимента, содержащиеся в специальной экспериментальной комнате при свободном доступе к пище и воде и обычном световом режиме. Моделирование ИПГ ГИ проводили в области внутренней капсулы правого полушария согласно методике А. Н. Макаренко и соавт. [4]. Крысам, наркотизированным хлоралгидратом (200 мг/кг, внутривенно) при помощи специального устройства (мандрен-нож) в стереотаксисе осуществляли деструкцию мозговой ткани в области *capsula interna*, (координаты $H = 4$ мм, $L = 3,0$ мм, $A = 1,5$ мм от брегмы по атласу G. Paxinos) с последующим (через 2 – 3 мин) введением в место повреждения крови, взятой из-под языка оперируемого животного (0,02 – 0,03 мл). Морфологические исследования показали, что таким способом достигается локальный аутогеморрагический билатеральный инсульт в области внутренней капсулы (диаметр — 2 мм, глубина — 3 мм) без существенных повреждений расположенных выше образований мозга. Ложнооперированным (ЛО) животным проводили скальпирование и трепанацию черепа. РЭЧ и его наночастицы вводили внутривенно в дозе 0,05 мг/кг. Первое введение веществ осуществляли через 3 – 3,5 ч после операции и пробуждения животного от наркоза. Повторное ежедневное применение веществ проводили на второй и третий дни после операции. ЛО животным и контрольным крысам с ИПГ ГИ вводили физиологический раствор по той же схеме. Динамику развития ИПГ ГИ исследовали в течение 14 дней с регистрацией гибели крыс, показателей поведения и состояния животных в 1-е, 7-е и 14-е сутки после операции, используя комплекс традиционных для экспериментальной нейropsychofarmacology методов [2, 5]. Неврологический статус крыс определяли с использованием шкалы Stroke-index McGrow по балльной системе. При наличии у животных нескольких симптомов неврологического дефицита тяжесть состояния определяли как сумму соответствующих баллов. Отмечали количество крыс с легкой (от 0,5 до 2,5 Stroke-index) и тяжелой (от 3 до 10 Stroke-index) неврологической симптоматикой. Для определения нарушений координации движений у крыс использовали тест вращающегося стержня фирмы Ugo Basile (Италия). Ориентировочно-исследовательское поведение и двигательную активность исследовали в “открытом поле”, обучение и память изучали в условиях методики условного рефлексивного избегания (УРПИ) на установке Passive avoidance фирмы Lafayette Instrument Co (США) [6].

Статистическую обработку результатов проводили по программе Biostatistics III с использованием параметрических и непараметрических методов Стьюдента, Вилкоксона, Манна — Уитни, Фишера, χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение неврологического статуса животных показало, что в группе ЛО крыс количество животных с легкими неврологическими нарушениями (вялость движений, слабость конечностей, односторонний полуптоз, тремор) составляло от 5 до 15 % в течение всего времени наблюдения. В группе крыс с ИПГ ГИ подобные нарушения наблюдали у 33 – 54 % животных. Нативный РЭЧ и сорбированный на ПЛГА наночастицах РЭЧ практически не оказывали влияния на легкие неврологические нарушения у крыс с ИПГ ГИ. Эритропоэтин, сорбированный на ПБЦА, оказывал значительное протекторное действие, уменьшая количество крыс с легкими неврологическими нарушениями в 2 раза (табл. 1).

При регистрации тяжелых неврологических нарушений установлено, что у ЛО животных эти проявления не наблюдались. В группе крыс с ИПГ ГИ парезы, маневные движения, параличи развивались в течение 14 дней у 25 – 83 % крыс (табл. 1). Нативный РЭЧ и эритропоэтин, сорбированный на ПЛГА, не оказывали существенного влияния на проявления неврологического дефицита у крыс после ИПГ ГИ, хотя и наблюдалась тенденция ослабления этих нарушений (табл. 1). Эритропоэтин, сорбированный на ПБЦА наночастицах, в значительной степени ослаблял тяжелые проявления неврологических нарушений у крыс с ИПГ ГИ, статистически достоверно уменьшая количество животных с тяжелыми нарушениями при регистрации на 7 и 14-е сутки после операции (табл. 1).

Таким образом, рекомбинантный эритропоэтин человека, сорбированный на ПБЦА, оказывал защитный эффект при регистрации неврологических дефицитов у крыс после геморрагического инсульта, уменьшая количество животных как с легкими, так и с тяжелыми нарушениями. Нативный РЭЧ и РЭЧ, сорбированный на ПЛГА наночастицах, не оказывали существенного влияния на проявления неврологического дефицита у крыс после ИПГ ГИ, лишь незначительно ослабляя их.

Изучение координации движений крыс с ИПГ ГИ показало, что у контрольной группы животных с ИПГ ГИ в сравнении с ЛО животными наблюдалось значительное ухудшение координации движений. Это характеризовалось статистически достоверным увеличением количества падений крыс с вращающегося стержня при регистрации в течение 2-х минут (рис. 1). На фоне повторного введения РЭЧ, сорбированного на ПБЦА, у крыс отмечалось статистически достоверное (7-е сутки) уменьшение количества падений, особенно на 14-й день наблюдения. Нативный РЭЧ и РЭЧ, сорбированный на ПЛГА наночастицах, оказывали слабый позитивный эффект, лишь незначительно умень-

шая количество падений крыс с ИПГ ГИ с вращающегося стержня (рис. 1).

Изучение динамики выживания крыс показало, что к 14-му дню наблюдения все ЛО крысы выжили (табл. 1), а в группе крыс с ИПГ ГИ выжило только 30 % животных (табл. 1). На фоне повторного 3-дневного введения эритропоэтина, сорбированного на ПБЦА, к концу эксперимента выжило 75 % крыс, что на 45 % больше, чем в контрольной группе с ИПГ ГИ (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о протекторном действии соединения. Сходным, но менее выраженным действием обладал нативный РЭЧ. На его фоне к 14-м суткам выжило 64 % крыс. РЭЧ, сорбированный на ПЛГА наночастицах, практически не влиял на выживаемость крыс с ИПГ ГИ (табл. 1).

Таким образом, наиболее эффективным средством, предупреждающим гибель крыс, был эритропоэтин, сорбированный на ПБЦА наночастицах. По степени выраженности эффекта соединения располагались в следующем порядке: РЭЧ сорбированный на ПБЦА > РЭЧ, сорбированный на ПЛГА > нативный РЭЧ.

Исследование ориентировочно-исследовательского поведения и двигательной активности животных с ИПГ ГИ в условиях методики “открытого поля” показало, что у крыс с ИПГ ГИ в сравнении с ЛО животными в первый день после операции наблюдалось статистически достоверное снижение всех показателей поведения в “открытом поле”: горизонтальной и вертикальной активности, числа обследований отверстий и,

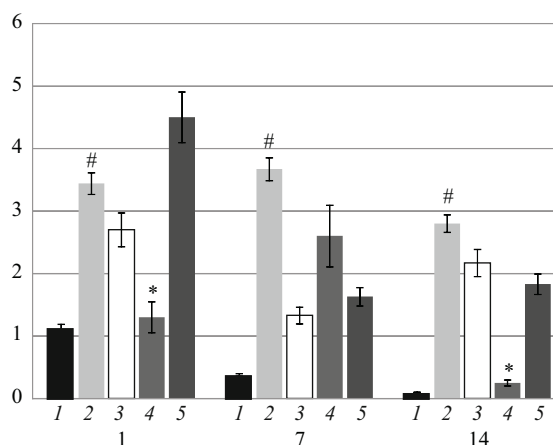


Рис. 1. Влияние веществ на координацию движений крыс с ИПГ модели ГИ в тесте вращающегося стержня.

По оси ординат — число падений крыс за 2 мин; по оси абсцисс — время, сут. # — достоверность отличий от ЛО, при $p \leq 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Здесь и на рис. 2 и 3: 1 — ЛО, 2 — животные с ИПГ ГИ, 3 — ИПГ ГИ + РЭЧ (0,05 мг/кг/3 дня), 4 — ИПГ ГИ + РЭЧ, сорбированный на ПБЦА наночастицах (0,05 мг/кг/3 дня), 5 — ИПГ ГИ + РЭЧ, сорбированный на ПЛГА наночастицах (0,05 мг/кг/3 дня).

* — достоверность отличий от группы крыс с ИПГ ГИ, при $p \leq 0,05$ (χ^2).

особенно, снижение суммарных показателей двигательной активности (табл. 2). РЭЧ, сорбированный на ПБЦА полностью нормализовал поведение крыс с ИПГ ГИ, увеличивая все показатели поведения до уровня величин ЛО животных (табл. 2). На 14-е сутки

Таблица 1. Влияние веществ на неврологический статус и выживаемость крыс с интрацеребральной посттравматической гематомой модели геморрагического инсульта

Группа крыс	время после операции, сутки					
	1-е		7-е		14-е	
	абс. пок.	отн. пок., %	абс. пок.	отн. пок., %	абс. пок.	отн. пок., %
<i>Количество животных с легкими нарушениями</i>						
ЛО	1/20	5	3/20	15	2/20	10
ГИ	10/20	50	5/13	39	1/6	17
ГИ + РЭЧ	4/10	40	5/9	55	3/7	43
ГИ + РЭЧ + ПБЦА	3/11	27	3/10	30	1/9	11
ГИ + РЭЧ + ПЛГА	6/10	60	3/8	37,5	3/6	50
<i>Количество животных с тяжелыми нарушениями</i>						
ЛО	0/20	0	0/20	0	0/20	0
ГИ	5/20	25	8/13	62 [#]	5/6	83 [#]
ГИ + РЭЧ	1/10	10	2/9	22	3/7	43
ГИ + РЭЧ + ПБЦА	1/11	9	1/10	10*	2/9	22*
ГИ + РЭЧ + ПЛГА	2/10	20	2/8	25	2/6	33
<i>Выживаемость</i>						
ЛО	20/20	100	20/20	100	20/20	100
ГИ	16/20	80	13/20	65	6/20	30 [#]
ГИ + РЭЧ	10/11	91	9/11	82	7/11	64
ГИ + РЭЧ + ПБЦА	11/12	92	10/12	83	9/12	75*
ГИ + РЭЧ + ПЛГА	10/12	83	8/12	67	6/12	50

Примечание. Отличия достоверны (критерий Фишера): [#] — от ЛО при $p < 0,01$, * — от группы крыс с ГИ, при $p < 0,01$. Здесь и в табл. 2: ЛО — ложнооперированные животные, ГИ — крысы с интрацеребральной посттравматической гематомой модели геморрагического инсульта.

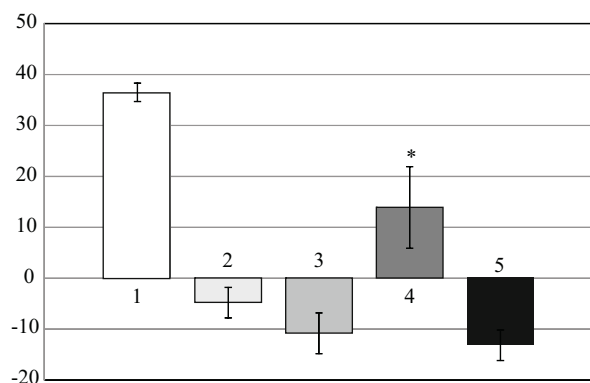


Рис. 2. Влияние веществ на изменение массы крыс ИПГ модели ГИ (14-й день).

По оси ординат — изменение массы животных. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

наблюдения у ЛО крыс наблюдалась естественная для этого теста адаптация к условиям эксперимента, так называемое негативное обучение, и регистрировалось снижение ориентировочно-исследовательского поведения и двигательной активности в сравнении с первой посадкой (1-е сутки). Иные закономерности наблюдались в группе крыс с ИПГ ГИ: снижение всех показателей активности в первый день регистрации, значительная активация на 7-е сутки и нормализация поведения в открытом поле к 14-м суткам наблюдения (табл. 2). РЭЧ, сорбированный на ПБЦА, корректировал поведение крыс с ИПГ ГИ в “открытом поле” в 1-е и 7-е сутки после операции до уровня показателей ЛО животных. Нативный РЭЧ и РЭЧ, сорбированный на

ПЛГА наночастицах, практически не оказывали влияния на поведение крыс с ИПГ ГИ в “открытом поле” на протяжении всего времени наблюдения.

Таким образом, в отличие от нативного РЭЧ и РЭЧ, сорбированного на ПЛГА наночастицах, эритропоэтин, сорбированный на ПБЦА, обладал способностью оптимизировать поведение крыс с ИПГ ГИ в условиях методики “открытого поля”.

С целью изучения динамики массы тела животных взвешивание крыс проводили до эксперимента и на 14-е сутки после операции. Показано, что ЛО животные к 14-му дню эксперимента прибавили 36 г, а крысы с ИПГ ГИ потеряли 4,8 г (рис. 2). Нативный РЭЧ и РЭЧ, сорбированный на ПЛГА наночастицах, не оказывали влияния на динамику массы крыс с ИПГ ГИ, а РЭЧ, сорбированный на ПБЦА, в значительной степени уменьшал потерю массы животных с ИПГ ГИ (рис. 2).

Изучение влияния веществ на обучение УРПИ показало, что животные во всех пяти группах обучились условному рефлексу, т.к. при его воспроизведении через 6 ч после обучения 100 % животных “помнили” об ударе током в темной камере и не заходили туда в течение всего времени наблюдения (рис. 3). При воспроизведении УРПИ через 7 дней после обучения в группе ЛО животных все 100 % крыс “помнили” о ситуации и не заходили в темную камеру, где получили обучающий удар током, а в контрольной группе крыс с ИПГ ГИ только 50 % животных осуществляли рефлекс пассивного избегания. Сходные результаты были получены на 14-е сутки: в группе ЛО животных 87% крыс

Таблица 2. Влияние веществ на поведение крыс с интрацеребральной посттравматической гематомой модели геморрагического инсульта в условиях методики открытого поля

Группа животных	Горизонтальн. двигат. акт.	Вертик. двиг. активность	Обследование отверстий	Гор. + верт. двиг. активность
<i>1-е сутки</i>				
ЛО	38,00 ± 5,87	8,63 ± 1,83	8,63 ± 1,42	46,63 ± 7,03
ГИ	20,33 ± 5,24 [#]	3,11 ± 0,53 [#]	3,33 ± 0,77 [#]	23,44 ± 4,58 [#]
ГИ+РЭЧ	20,10 ± 5,02	4,00 ± 1,33	5,20 ± 1,20	24,10 ± 4,36
ГИ + РЭЧ + ПБЦА	35,00 ± 3,68 *	7,73 ± 1,46 *	7,64 ± 1,32 *	42,73 ± 4,53 *
ГИ + РЭЧ + ПЛГА	20,80 ± 3,84	3,00 ± 0,68	4,10 ± 0,79	21,64 ± 4,18
<i>7-е сутки</i>				
ЛО	15,63 ± 3,28	2,00 ± 0,82	2,75 ± 0,49	17,63 ± 3,60
ГИ	29,33 ± 9,41	2,78 ± 1,05	3,44 ± 0,93	32,11 ± 9,27
ГИ + РЭЧ	42,00 ± 16,01	2,00 ± 0,67	3,33 ± 0,63	39,60 ± 14,97
ГИ + РЭЧ + ПБЦА	20,70 ± 4,23	2,80 ± 0,95	4,20 ± 1,14	23,50 ± 4,91
ГИ + РЭЧ + ПЛГА	19,88 ± 7,76	3,88 ± 1,20	2,25 ± 0,95	23,75 ± 8,85
<i>14-е сутки</i>				
ЛО	13,50 ± 2,90	1,13 ± 0,42	2,00 ± 0,60	14,63 ± 3,03
ГИ	15,40 ± 5,27	1,20 ± 0,60	3,60 ± 1,76	16,60 ± 4,96
ГИ + РЭЧ	24,86 ± 6,59	2,43 ± 0,82	3,00 ± 1,51	26,00 ± 7,75
ГИ + РЭЧ + ПБЦА	27,13 ± 3,68	6,63 ± 0,96 *	6,25 ± 0,66	33,75 ± 3,99 *
ГИ + РЭЧ + ПЛГА	10,33 ± 4,11	0,50 ± 0,46	1,50 ± 0,94	10,83 ± 4,07

Примечание. Отличия достоверны (критерий Стьюдента):[#] — от ЛО, при $p < 0,05$; * — от группы крыс с ГИ, при $p < 0,05$.

осуществляли рефлекс и только 40 % — в группе животных с ИПГ ГИ (рис. 3). Полученные результаты свидетельствуют о развитии у крыс с ИПГ ГИ нарушений памяти. РЭЧ, сорбированный на ПБЦА, и особенно РЭЧ, сорбированный на ПЛГА наночастицах, предупреждали развитие амнезии УРПИ у крыс с ИПГ ГИ, увеличивая количество животных, осуществляющих рефлекс до 70 и 100 % соответственно. Нативный РЭЧ не обладал защитным эффектом.

Таким образом, у крыс с ИПГ ГИ, обученных УРПИ, при его воспроизведении на 7-е и 14-е сутки после обучения наблюдалось ослабление памятного следа, у 50 – 60 % животных развивалась амнезия рефлекса. РЭЧ, сорбированный на ПБЦА, и особенно ПЛГА наночастицах, в значительной степени ослабляли нарушения памяти, вызванные ИПГ ГИ, существенно увеличивая количество животных, осуществляющих УРПИ.

В результате проведенных исследований установлено, что РЭЧ, сорбированный на ПБЦА, оказывал защитный эффект при регистрации неврологических дефицитов у крыс после геморрагического инсульта, уменьшая количество животных с легкими и особенно с тяжелыми неврологическими нарушениями, такими как манежные движения, парезы и параличи задних конечностей, улучшал координацию движений в тесте вращающегося стержня, сокращал количество погибших от инсульта животных и уменьшал потерю массы тела у оставшихся в живых крыс. РЭЧ, сорбированный на ПБЦА наночастицах, оптимизировал ориентировочно-исследовательское поведение и двигательную активность крыс с ИПГ ГИ в “открытом поле”. Кроме того, эритропоэтин, сорбированный на ПБЦА, обладал способностью предупреждать амнезию УРПИ, развивающуюся у животных после инсульта.

Сходным, но менее выраженным действием на основные нарушения, вызванные геморрагическим инсультом, обладал РЭЧ, сорбированный на ПЛГА наночастицах. Особенно ярко эффективность этого соединения проявлялась по устранению нарушений памяти в тесте воспроизведения УРПИ у крыс с геморрагическим инсультом. Эффективность нативного РЭЧ у крыс с ИПГ модели ГИ была незначительна и выражалась только в виде уменьшения количества погибших после инсульта животных.

Как отмечалось выше, РЭЧ плохо проникает через ГЭБ и эффективен на моделях инсульта только в высоких дозах [10]. В настоящем исследовании слабая эффективность нативного РЭЧ на модели ИПГ ГИ определяется его использованием в дозе, не обеспечивающей достаточную концентрацию вещества в мозге для проявления противоинсультного эффекта. Этим же, по-видимому, обусловлена малая активность РЭЧ, сорбированного на ПЛГА наночастицах [21]. Высокая эффективность РЭЧ, сорбированного на ПБЦА наночастицах, обусловлена механизмом рецептор-зависимого эндоцитоза, который и обеспечивает проникнове-

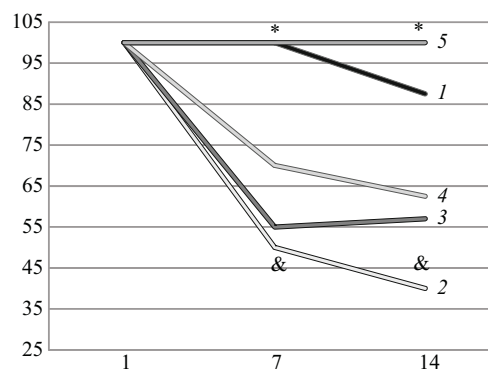


Рис. 3. Влияние веществ на обучение УРПИ крыс с ИПГ модели ГИ.

По оси ординат — количество животных не зашедших в темную камеру при воспроизведении рефлекса; по оси абсцисс — время, сут. & — достоверность отличий от ЛО при $p \leq 0,05$, (χ^2). Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

ние РЭЧ через ГЭБ. В головном мозге нейропротекторный эффект РЭЧ, сорбированного на ПБЦА, по-видимому, определяется его взаимодействием с рецепторами ЭПО, через которые РЭЧ стимулирует экспрессию нейротрофических факторов NGF и BDNF, а также активирует транскрипцию антиапоптотических генов [7, 17, 22].

ВЫВОДЫ

1. Эритропоэтин, сорбированный на ПБЦА, уменьшает неврологический дефицит и количество погибших животных, восстанавливает нарушения ориентировочно-исследовательского поведения и памяти у крыс с интрацеребральной посттравматической гематомой модели геморрагического инсульта.

2. Рекомбинантный эритропоэтин человека (0,05 мг/кг/3 дня) предупреждает гибель животных, а эритропоэтин, сорбированный на ПЛГА, в той же дозе ослабляет нарушения памяти у крыс с интрацеребральной посттравматической гематомой модели геморрагического инсульта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р. Н. Аляутдин, *Рос. мед. журн.*, 3 – 7 (2001).
2. Т. А. Воронина, Р. У. Островская, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Медицина, Москва (2005), сс. 253 – 263.
3. Т. А. Воронина, С. С. Трофимов, Р. Н. Аляутдин и др., *Мол. мед.*, № 5, 19 – 24 (2008).
4. А. Н. Макаренко, Н. С. Косицин, С. В. Карпенко, В. А. Мишина, Авт. св. № 1767518 от 03.11.1990.
5. Т. Л. Гарибова, И. П. Галаева, Т. А. Воронина и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, 66(3), 13 – 16 (2008).
6. R. Ader, W. Weijnen, P. Moleman, *Psychon. Sci.*, № 26, 125 – 128 (1972).
7. M. Brines, A. Cerami, *Nat Rev Neurosci*, 6, 484 – 494 (2005).
8. D. Das, S. Lin, *J. Pharm. Sci.*, 94(6), 1343 – 1353 (2005).
9. H. Donato, V. Bacciedoni, C. Garcia, et al., *Arch Argent Pediatr.*, 107(2), 19 – 25 (2009).

10. H. Ehrenreich, K. Weissenborn, H. Prange, et al., *Stroke*, **40**(12), 647 – 56 (2009).
11. H. R. Kim, K. Andrieux, S. Gil, M. Taverna, et al., *Biomacromolecules*, **8**, 793 – 799 (2007).
12. H. R. Kim, S. Gil, K. Andrieux, et al., *Cell Mol Life Sci*, **64**, 356 – 364 (2007).
13. R. Krapf, H. N. Hulter, *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, **4**(2), 470 – 480 (2009).
14. J. Kreuter, P. Ramge, V. Petrov, et al., *Pharm. Res.*, **20**, 409 – 416 (2003).
15. E. Morishida, S. Masuda, M. Nagao, et al., *Neuroscience*, **76**, 105 – 116 (1997).
16. J. Nadam, F. Navarro, P. Sanchez, et al., *Neurobiol Dis.*, **25**, 412 – 426 (2007).
17. A. Pillai, K. M. Dhandapani, B. A. Pillai, et al., *Neuropsychopharmacology*, **33**(8), 1942 – 51 (2008).
18. M. Sakanaka, T. C. Wen, S. Matsuda, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **95**, 4635 – 4640 (1998).
19. N. S. Santos-Magalhaes, A. Pontes, V. M. Pereira, et al., *Int. J. Pharm.*, **208**, 71 – 80 (2000).
20. N. D. Vaziri, *Curr Opin Nephrol Hypertens*, **10**(5), 633 – 7 (2001).
21. Z. Wang, W. K. Chui, P. C. Ho, *Pharm Res.*, **28**(3), 585 – 96 (2010).
22. Z. S. Yin, H. Zhang, W. Bo, et al., *AJNR Am. J. Neuroradiol.*, **31**(3), 509 – 15 (2010).

Поступила 19.04.11

NEUROPROTECTOR EFFECT OF HUMAN RECOMBINANT ERYTHROPOIETIN SORBED ON POLYMER NANOPARTICLES STUDIED ON MODEL OF INTRACEREBRAL POST-TRAUMATIC HEMATOMA (HEMORRHAGIC STROKE)

V. Yu. Balaban'yan, I. N. Solev, O. S. Elizarova, T. L. Garibova, S. A. Litvinova, and T. A. Voronina

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315, Russia

The neuroprotective activity of recombinant human erythropoietin (r-HuEpo) sorbed on poly(butyl)cyanoacrylate nanoparticles (EPO-PBCA) and on polylactic-co-glycolic acid nanoparticles (EPO-PLGA) has been studied on Wistar rats with intracerebral post-traumatic hematoma (model of hemorrhagic stroke) (IPH-HS) in comparison to native r-HuEpo. It is established that EPO-PBCA produced a protective effect in rats after IPH-HS that was manifested by a decrease in the number of animals with neurological disorders such as circus movement, paresis, and paralysis of hind limbs; the drug also improved coordination (rotating rod test), reduced the number of lost animals, and decreased the loss weight among survived rats. In addition, EPO-PBCA optimized the research behavior of rats with IPH-HS in the open field test and prevented amnesia of passive avoidance reflex (PAR), which was caused by the IPH-HS. These effects were manifested during a two-week observation period. EPO-PLGA has a similar but much less pronounced effect on the major disorders caused by IPH-HS. The efficiency of native r-HuEpo as a neuroprotective agent was insignificant and only manifested by decrease in the number of lost animals with IPH-HS.

Key words: Erythropoietin, poly(butyl)cyanoacrylate nanoparticles, polylactic-co-glycolic acid nanoparticles, model of intracerebral post-traumatic hematoma, hemorrhagic stroke, neuroprotection