

Уровень апоптоза в клетках неокортекса и гиппокампа белых крыс после легкой черепно-мозговой травмы при введении глипролина

М.Ю. Флейшман, А.А. Сальников, А.А. Колесникова, Ю.Б. Малофей

Дальневосточный государственный медицинский университет Минздрава России
680000, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, 35

Резюме

Глипролины обладают широким спектром фармакологических эффектов, в том числе антиоксидантной активностью. Это может быть использовано при коррекции функциональных и морфологических нарушений головного мозга после черепно-мозговой травмы (ЧМТ) за счет ингибирования вторичных повреждений, профилактика которых является главным способом улучшения исходов ЧМТ. Цель исследования – изучить уровень апоптоза в клетках собственно теменной доли (СТД) и поля СА1 гиппокампа половозрелых самцов крыс Вистар после легкой ЧМТ и курсового введения глипролина RPGP (Arg-Pro-Gly-Pro). **Материал и методы.** В эксперименте использовали ткани мозга крыс ($n = 38$). Легкую ЧМТ моделировали путем свободного падения груза. После травмы животные получали внутрибрюшинно пептид RPGP в дозе 0,1 мг/кг, растворенный в 0,9%-м растворе NaCl, или 0,9%-й раствор NaCl. Уровень апоптоза в тканях мозга оценивали по экспрессии антигена p53 методом иммуногистохимии. **Результаты.** На 22-й день после ЧМТ повышается количество клеток глии, вступивших в апоптоз во II слое СТД головного мозга крыс Вистар. У животных, подвергнутых моделированной ЧМТ и 21 день получавших внутрибрюшинно RPGP дозе 0,1 мг/кг, уровень апоптоза не повышался. **Заключение.** Установлено, что после курсового введения RPGP на фоне ЧМТ уровень апоптоза в клетках нейроглии снижается.

Ключевые слова: глипролины, регуляторные пептиды, апоптоз, неокортекс, черепно-мозговая травма.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № 124022900081-9.

Благодарность. Авторы выражают благодарность руководителю лаборатории молекулярной фармакологии пептидов ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт» академику РАН Н.Ф. Мясоедову.

Автор для переписки: Флейшман М.Ю., e-mail: marfl@yandex.ru

Для цитирования: Флейшман М.Ю., Сальников А.А., Колесникова А.А., Малофей Ю.Б. Уровень апоптоза в клетках неокортекса и гиппокампа белых крыс после легкой черепно-мозговой травмы при введении глипролина. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):179–185. doi: 10.18699/SSMJ20240618

The level of apoptosis in the cells of the neocortex and hippocampus of white rats after mild traumatic brain injury with the introduction of glyproline

M.Yu. Fleishman, A.A. Salnikov, A.A. Kolesnikova, Yu.B. Malofey

Far Eastern State Medical University of Minzdrav of Russia
680000, Khabarovsk, Murav'yeva-Amurskogo st., 35

Abstract

Glyprolines have a wide range of pharmacological effects, including antioxidant effects. This can be used to correct functional and morphological disorders of the brain after traumatic brain injury (TBI) by inhibiting secondary damage, the prevention of which is the main way to improve TBI outcomes. The aim of the study was to investigate the level of apoptosis in the cells of the proper parietal lobe (PPL) and the CA1 field of the hippocampus of mature male Wistar rats after mild TBI and a course of glyproline RPGP (Arg-Pro-Gly-Pro). **Material and methods.** Rat brain tissues ($n = 38$) were used in the experiment. Mild TBI was modeled by free fall of a load. After the injury, the animals received

intraperitoneal RPGP peptide at a dose of 0.1 mg/kg, dissolved in 0.9% NaCl solution or NaCl solution. The level of apoptosis in brain tissues was assessed by the expression of p53 antigen using immunohistochemistry. **Results.** On the 22st day after TBI, the number of glial cells that entered into apoptosis in layer II of the proper parietal lobe (PPL) of the Wistar rat brain increases. In animals subjected to simulated TBI and receiving RPGP intraperitoneally at a dose of 0.1 mg/kg for 21 days, the level of apoptosis did not increase. **Conclusion.** It was found that after a course of RPGP administration against the background of TBI, the level of apoptosis in neuroglial cells decreases.

Key words: glyprolines, regulatory peptides, apoptosis, neocortex, traumatic brain injury.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The work was carried out within the framework of state assignment No. 124022900081-9.

Acknowledgment. The authors express their gratitude to the head of the laboratory of molecular pharmacology of peptides of the Federal State Budgetary Institution National Research Center “Kurchatov Institute”, academician of the Russian Academy of Sciences N.F. Myasoedov.

Correspondence author: Fleishman M.Yu., e-mail: marfl@yandex.ru

Citation: Fleishman M.Yu., Salnikov A.A., Kolesnikova A.A., Malofey Yu.B. The level of apoptosis in the cells of the neocortex and hippocampus of white rats after mild traumatic brain injury with the introduction of glyproline. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2024;44(6):179–185. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240618

Введение

Внимание ряда исследователей сосредоточено на пептидных препаратах, что обусловлено широким спектром их фармакологических эффектов [1]. Стабилизатором искусственных регуляторных пептидов (РП) в тканях и жидких средах организма служит трипептид Pro-Gly-Pro (PGP). РП нестабильны в тканях и жидких средах организма ввиду множества экзо- и эндопептидаз, которые значительно снижают их биодоступность. Одним из способов решения проблемы нестабильности РП стало их обогащение остатками пролина. Это объясняется тем, что широко распространенные низкоспецифичные пептидазы не расщепляют связи любой аминокислоты, связанной с пролином, в то время как специфичных к пролину пептидаз мало, и сосредоточены они в отдельных тканях. В конце XX в. к фрагменту адренокортикотропного гормона МЕНФ (Met-Glu-His-Phe) присоединили последовательность PGP (Pro-Gly-Pro), что значительно повысило его биодоступность и решило проблему реализации терапевтического потенциала. В результате был создан препарат МЕНФРРРР (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro, «Семакс») [2].

РП циркулируют в организме, некоторые проникают через гематоэнцефалический барьер. Имея мало побочных эффектов, они эффективны в низких концентрациях (10^{-9} М и менее). Возможность комбинирования аминокислот расширяет перспективы дизайна новых активных молекул [2]. В настоящее время доказана нейрометаболическая, ангиопротективная, нейротрофическая, антигипоксическая, стрессопротекторная, гипогликемическая, гиполипидемическая,

иммунотропная активность РП. В ходе экспериментальных исследований на крысах, находящихся в состоянии стресса, подтверждено наличие антиоксидантных свойств у пролинсодержащих соединений [3]. Показано, что глипролины подавляют генерацию активных форм кислорода и восстанавливают показатели ферментного звена антиоксидантной защиты миокарда белых крыс в условиях экспериментального гипертиреоза [4]. Продолжается изучение влияния РП на регенеративные свойства и гомеостаз тканей организма. Актуальной остается тема защиты нервной ткани, особо чувствительной к свободнорадикальному окислению из-за высокого содержания липидов. Мозговая ткань имеет низкий регенеративный потенциал, высокую интенсивность метаболизма, крайне чувствительна к гипоксии и ишемии. Коррекция нарушений работы мозга является одним из важных направлений в фармакологии. Профилактические мероприятия, направленные на снижение интенсивности вторичных повреждений, улучшают исход ЧМТ. А такие вторичные механизмы, как нарушение антиоксидантной защиты и увеличение интенсивности свободнорадикального окисления, выступают одними из ведущих в гибели клеток после черепно-мозговой травмы (ЧМТ).

Наличие нейромодулирующей активности у соединения ТКРРРРР (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, «Селанк») позволило предположить подобные свойства у его аналога. Согласно данным литературы, RPGP обладает антитромботическим, антиагрегационным, противовирусным и иммуномодулирующим действием [5]. Одним из путей проникновения РП в клетку и реализации их

эффектов может быть процесс нерецепторной интернализации. Этим свойством обладают короткие пептиды, имеющие в своем составе не более 30 аминокислот (cell-penetrating peptides, CPPs). Благодаря структурным особенностям пептиды интегрируются в состав плазмалеммы («заякориваются»), затем пенетрируют ее и проходят в цитоплазму. Для этого нужны высокое содержание основных аминокислот с приданием пептиду положительного заряда и вторичная структура в виде альфа-спирали (для большинства пептидов этой группы). Также для таких пептидов характерна амфифильность – содержание в составе полярных (заряженных) и неполярных (гидрофобных) аминокислот (аланин, глицин, пролин и др.). Основная и положительно заряженная аминокислота аргинин обеспечивает «заякоривание» пептида с отрицательно заряженными компонентами плазматической мембраны (например, протеогликанами), а RGP как гидрофобный компонент способен интегрироваться в мембрану, взаимодействуя с гидрофобными хвостами. Присутствие остатка аргинина в последовательности RPGR приводит к стабилизации структуры нуклеиновой кислоты путем образования двух связей с атомами кислорода соседних фосфодиэфирных групп [6, 7]. Наличие аргинина в составе CPPs облегчает их интернализацию [8]. Исследуемый нами RPGR относится к олигопептидам, имеющим в своем составе глицин и пролин. Согласно исследованиям [9], такие соединения корректируют постстрессорные нарушения у животных, возможно, из-за присутствия глицина, который участвует в синтезе глутатиона, способствующего защите клеток при окислительном стрессе.

Цель исследования – изучить уровень апоптоза в клетках собственно теменной доли (СТД) неокортекса и поля CA1 гиппокампа половозрелых самцов Вистар после легкой ЧМТ и введения глипролина RPGR.

Материал и методы

Исследовали головной мозг 38 половозрелых самцов Вистар в возрасте 2,5–3,5 месяца. Животные приучались к рукам экспериментаторов, содержались при температуре 17–22 °C со свободным доступом к пище и воде. Выполненный эксперимент соответствует Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых для научных целей, и Федеральному закону «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» № 498-ФЗ от 27.12.2018. Протокол исследования

утвержден на заседании этического комитета при ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 2 от 05.02.2019).

В первый день животным трех групп наносили легкую ЧМТ путем свободного падения груза [10]. Было сформировано четыре группы: «Интakтные» ($n = 8$) – интактные животные; «ЧМТ» ($n = 10$) – крысы, подвергнутые моделированной ЧМТ легкой степени тяжести; «ЧМТ + NaCl» ($n = 10$) – крысы, после травмы получавшие в течение 21 дня внутрибрюшинно 0,9%-й раствора NaCl; «ЧМТ + RPGR» ($n = 10$) – животные, подвергнутые ЧМТ и 21 день получавшие внутрибрюшинно RPGR, растворенный в 0,9%-м растворе NaCl, в дозе 0,1 мг/кг. Животных выводили из эксперимента на 22-е сутки путем быстрой депаритации под ингаляционным наркозом парами хлороформа. Правое полушарие мозга фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде, подвергали стандартной гистологической обработке, после чего изготавливали парафиновые срезы толщиной 3 мкм.

Иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание проводили с использованием набора Novolink TM Polymer Detection System (Leica Biosystems, США) в соответствии с протоколом производителя. После депарафинизации и тепловой демаскировки с цитратным буфером pH 6 в гистопротекторе HISTOS 5 (Milestone, Италия) в течение 5 мин эндогенную пероксидазу блокировали раствором Peroxidase Block. После последующей промывки в трис-буфере с Твин-20 (TBS) наносили на срезы Protein Block и инкубировали в течение 5 минут. Повторно промывали в растворе TBS 2 раза по 5 мин, наносили на срезы первичные моноклональные антитела к p53 (клон DO-7, Leica Biosystems) и инкубировали в течение 30 мин. Далее еще дважды промывали в TBS, наносили на срезы раствор вторичных антител Post Primary, инкубировали в течение 30 мин и еще 2 раза промывали в TBS по 5 минут. Потом наносили на срезы Novolink TM Polymer и инкубировали в течение 30 мин, промывали в TBS 2 раза по 5 минут. Далее на срезы капали по 100 мкл рабочего раствора 3,3'-диаминобензидина на 5 мин (хромоген перед использованием был разведен в соотношении 1/20 в буфере Novolink™ DAB Substrate Buffer). Все реактивы, использованные при ИГХ-окраске, кроме первичных антител, были из набора Novolink™ Polymer Detection System (Leica Biosystems, США). Докрашивали гематоксилином для определения локализации ядер клеток. В результате ИГХ-реакции иммунопозитивные ядра в области экспрессии маркеров апоптоза белка p53 приобретают светло-корич-

невый цвет, иммунонегативные ядра окрашены в оттенки синего цвета.

На световом микроскопе «Микмед-6» АО «ЛОМО», Россия ($\times 1000$) просматривали не менее 500 клеток в каждой локализации. Подсчитывали меченые ядра и определяли их долю среди немеченых. Морфометрию осуществляли в трех локализациях: II и V слои СТД коры больших полушарий, поле СА1 гиппокампа. Выбор локаций для оценки возможного проапоптотического влияния ЧМТ и коррекционных эффектов глипролина обусловлен тем, что RPGP тестируются как потенциальный ноотроп. Слой V СТД состоит из пирамидных клеток, аксоны которых составляют пирамидную систему, II слой СТД относится к ассоциативным путям коры, поле СА1 гиппокампа представляет собой отдел старой коры; взаимодействие этих областей мозга обеспечивает основные функции мозга.

Данные подвергали статистической обработке с использованием программного обеспечения STATISTICA 10.0. Поскольку, согласно критерию Шапиро – Уилка, распределение вариантов отличалось от нормального, рассчитывали медиану и межквартильный интервал (Me [Q1; Q3]) [11]. Значимость различий между группами оценивали по U-критерию Манна – Уитни и считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что на 22-й день после ЧМТ (группа «ЧМТ») существенно изменяется уровень апоптоза в клетках нейроглии СТД головного мозга крыс Вистар (таблица): наблюдали увеличение количества меток на белок p53 в клетках II и V слоя по сравнению с группой «ЧМТ + NaCl» и сопоставленные изменения по сравнению с

группой «Интактные», но только во II слое СТД. Между группами «ЧМТ + NaCl» и «Интактные» различий по уровню апоптоза не было. В группе «ЧМТ + RPGP» наблюдали снижение количества меток на белок p53 в клетках нейроглии II слоя СТД по сравнению с группой «ЧМТ», но не группой «Интактные». Во всех экспериментальных группах не выявлено статистически значимых изменений количества маркеров на антиген p53 в клетках нейроглии поля СА1 гиппокампа (см. таблицу).

Используя ИГХ-окрашивание, мы не зафиксировали изменений в уровне апоптоза в популяции нейронов головного мозга в исследованных локализациях во всех экспериментальных группах (см. таблицу). Это может быть связано с нормализацией осмотического давления, церебрального кровотока с восстановлением центрального венозного и артериального давления, увеличением количества пирувата и АТФ в ткани мозга, как при введении изотонического раствора NaCl после инсульта [12]. Назначение аргининсодержащих пептидов при ЧМТ в дозе 0,1 мг/кг положительно влияет на СТД головного мозга белых крыс Вистар. Количество глиоцитов, экспрессирующих p53 при введении RPGP после ЧМТ, не отличается от показателей в группе «Интактные». Это предполагает антиапоптотическую активность RPGP, которую можно считать комплексной (антиоксидантное воздействие, снижение уровня каспаз и провоспалительных цитокинов, повышение содержания нейротрофических факторов) [5]. В нашем исследовании у пептида RPGP в дозе 0,1 мг/кг показаны антиапоптотические свойства после ЧМТ в отношении II слоя СТД неокортекса крыс Вистар. Полученные данные согласуются с предположениями [13], что аргининсодержащие

Экспрессия антигена p53 в двух локализациях СТД неокортекса и в нервной ткани поля СА1 гиппокампа самцов крыс Вистар, %

Expression of p53 antigen in two localizations of the proper parietal lobe of the neocortex and in the nervous tissue of the CA1 field of the hippocampus of male Wistar rats, %

Объект морфометрии	Интактные	ЧМТ	ЧМТ + NaCl	ЧМТ + RPGP
II слой СТД				
Нейроны	0	0	0	0
Глиоциты	5,41 [1,31; 11,53]*	12,80 [7,37; 16,93]	5,44 [2,90; 10,39]*	5,43 [3,45; 8,89]*
V слой СТД				
Нейроны	0	0	0	0
Глиоциты	6,39 [0,00; 12,54]	9,11 [2,45; 19,40]	3,27 [0,00; 5,08]*	4,77 [0,00; 8,33]
Поле СА1 гиппокампа				
Нейроны	0	0	0	0
Глиоциты	2,38 [0,00; 7,94]	0,00 [0,00; 8,19]	0,00 [0,00; 4,00]	1,43 [0,00; 5,56]

Примечание. * – отличие от величины соответствующего показателя группы «ЧМТ» статистически значимо при $p < 0,05$.

пептиды имеют дозозависимый эффект. Это может быть связано с системой оксида азота: при физиологических концентрациях (0,1 мг/кг) оксид азота выступает в роли антиоксиданта, а уже при 1 мг/кг – как прооксидант [14, 15].

В отдаленных последствиях ЧМТ на 22-й день мы наблюдали в основном поражение клеток глии II слоя STD головного мозга, что, возможно, является следствием его непосредственной близости с местом приложения повреждающего агента, малой силы и придаваемого им ускорения мозга (которые сильно не повреждают V слой коры больших полушарий и слои гиппокампа). В дополнение это может свидетельствовать о роли в отдаленных последствиях ЧМТ гематоэнцефалического барьера с увеличением его проницаемости (разрыв плотных соединений и базальной мембраны) и о воздействии на астроциты белков плазмы (с инициацией нейровоспаления), приводящем к атипичному ответу, который характеризуется сниженной экспрессией гомеостатических белков (транспортер глутамата-1, калиевые каналы внутреннего выпрямления Kir4.1, кальций-связывающий белок β S100, глутаминсинтетаза, коннексин 43, компонент дистрофин-ассоциированного гликопротеинового комплекса β -дистрогликан, аквапорин-4), типичных для астроцитов, и отеком их концевых ножек. Показано, что многие клетки выживают после повреждения, однако могут наблюдаться длительные физиологические изменения или более поздняя гибель клеток отдельными волнами. Нарушение гематоэнцефалического барьера может сохраняться в течение многих лет и в значительной степени связано с долгосрочным неврологическим дефицитом у перенесших ЧМТ [16–18].

Через 21 день после моделированной ЧМТ мы не наблюдали апоптоз нейронов. Возможно, это обусловлено недостаточно сильным воздействием и/или уже свершившимся восстановлением популяции клеток к 22-му дню за счет активации нейропротективного фенотипа нейроглии (с выработкой противовоспалительных цитокинов и глутаматного транспортера для уменьшения эксайтотоксичности) [20].

Заключение

После 21-дневного внутрибрюшинного введения пептида RPPG в дозе 0,1 мг/кг на фоне ЧМТ уровень апоптоза в популяции нейроглии во II слое STD головного мозга белых крыс ниже, чем у животных, не получавших пептид после травмы. Протективный эффект глипролина, возможно, объясняется его антиоксидантной активностью.

Список литературы

1. Хавинсон В.Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее. *Клин. мед.* 2020;98(3):65–177. doi: 10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177
2. Жуйкова С.Е. Физиологические и клинические эффекты синтетического аналога АКТГ4-10 семакса и его механизмы действия. *Интегратив. физиол.* 2022;3(2):204–220. doi: 10.33910/2687-1270-2022-3-2-204-220
3. Shi Y., Liu L., Yu Y., Long Y., Zheng H. Acidic amino acids: A new-type of enzyme mimics with application to biosensing and evaluating of antioxidant behavior. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 2018;(201):367–375. doi: 10.1016/j.saa.2018.05.024
4. Цибизова А.А., Сергалиева М.У., Самотруева М.А. Оценка антиоксидантной активности глипролинов в условиях экспериментального гипертиреоза. *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия.* 2023;9(2):219–228. doi: 10.29039/2413-1725-2023-9-2-219-228
5. Закирова Э.Г., Зайнуллина Л.Ф., Вахитова Ю.В. Нейропротекторные свойства пептида Arg-Pro-Gly-Pro. *Инновации в науке.* 2017;(7-1):4–7.
6. Кулинич Т.М., Иванов А.В., Захаренко М.В., Джикия Е.Л., Шишкин А.М., Боженко В.К. Интернализуемые пептиды (cell-penetrating peptides, CPPs) и возможности их терапевтического применения. *Вестн. Рос. науч. центра рентгенодиагност.* 2020;(4):106–126.
7. Сазонова Е.Н., Самарина Е.Ю., Ильиных А.В., Сазонов О.А. Использование метода кислотных эритрограмм для выявления мембранотропного эффекта биологически активных пептидов. *Дальневост. мед. ж.* 2020;(4):64–68. doi: 10.35177/1994-5191-2020-4-65-69
8. de Martini L.B., Sulmona C., Brambilla L., Rossi D. Cell-penetrating peptides as valuable tools for nose-to-brain delivery of biological drugs. *Cells.* 2023;12(12):1643. doi: 10.3390/cells12121643
9. Григорьева М.Е., Ляпина Л.А. Роль пептидов глипролинового ряда в регуляции системы гемостаза при стрессогенных воздействиях. *Успехи соврем. биол.* 2020;140(1):19–25. doi: 10.31857/S0042132420010020
10. Белошицкий В.В. Принципы моделирования черепно-мозговой травмы в эксперименте. *Укр. нейрохирург. ж.* 2008(4):9–15.
11. Барвина А.Р. Современные правила применения параметрических и непараметрических критериев в статистическом анализе медико-биологических данных. *Мед. альм.* 2021;(1):64–73.
12. Семененко А.И. Оценка терапевтического эффекта 0,9 % раствора NaCl по показателям церебральной гемодинамики при ишемии-репер-

фузии головного мозга крыс. *Ж. Гродненск. гос. мед. ун-та*. 2014;(3):49–52.

13. Флейшман М.Ю., Толстенок И.В., Иннокентьев А.А. Влияние пептида «Селанк» на уровень окислительного стресса в головном мозге и тонкой кишке белых крыс на модели черепно-мозговой травмы. *Сиб. науч. мед. ж.* 2019;39(2):46–51. doi: 10.15372/SSMJ20190205

14. Соловьева А.Г., Кузнецова В.Л., Перетягин С.П., Диденко Н.В., Дударь А.И. Роль оксида азота в процессах свободнорадикального окисления. *Вестн. Рос. воен.-мед. акад.* 2016;(1):228–233.

15. Suschek C.V., Schnorrn O., Hemmrich K., Aust O., Klotz L.O., Sies H., Kolb-Bachofen V. Critical role of L-arginine in endothelial cell survival during oxidative stress. *Circulation*. 2003;107(20):2607–2614. doi: 10.1161/01.CIR.0000066909.13953.F1

16. Grovola M.R., Jinich A., Paleologos N., Arroyo E.J., Browne K.D., Swanson R.L., Duda J.E., Cullen D.K. Persistence of hyper-ramified microglia in porcine cortical gray matter after mild traumatic brain injury. *Biomedicines*. 2023;11(7):1960. doi: 10.3390/biomedicines11071960

17. George K.K., Heithoff B.P., Shandra O., Robel S. Mild traumatic brain injury/concussion initiates an atypical astrocyte response caused by blood-brain barrier dysfunction. *J. Neurotrauma*. 2022;39(1-2):211–226. doi: 10.1089/neu.2021.0204

18. Zhao Q., Zhang J., Li H., Li H., Xie F. Models of traumatic brain injury-highlights and drawbacks. *Front. Neurol.* 2023;(14):1151660. doi: 10.3389/fneur.2023.1151660

References

1. Khavinson V.Kh. Peptide medicines: past, present, future. *Klinicheskaya meditsina = Clinical Medicine*. 2020;98(3):165–177. [In Russian]. doi: 10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177

2. Zhuikova S.E. Physiological effects of Semax, a synthetic analogue of ACTH4–10: Experience and prospects for applications. *Integrativnaya fiziologiya = Integrative Physiology*. 2022;3(2):204–220. [In Russian]. doi: 10.33910/2687-1270-2022-3-2-204-220

3. Shi Y., Liu L., Yu Y., Long Y., Zheng H. Acidic amino acids: A new-type of enzyme mimics with application to biosensing and evaluating of antioxidant behavior. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 2018;(201):367–375. doi: 10.1016/j.saa.2018.05.024

4. Tsibizova A.A., Sergalieva M.U., Samotrueva M.A. Assessment of the antioxidant activity of glyprolins in experimental hyperthyroidism. *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni Vladimira Ivanovicha Vernadskogo. Biologiya. Khimiya = Scientific Notes of V.I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*. 2023;9(2):219–228. [In Russian]. doi: 10.29039/2413-1725-2023-9-2-219-228

5. Zakirova E.G., Zainullina L.F., Vakhitova Yu.V. Neuroprotective properties of the peptide Arg-Pro-Gly-Pro. *Innovatsii v nauke. = Innovation in Science*. 2017;7(1):4–7. [In Russian].

6. Kulinich T.M., Ivanov A.V., Zakharenko M.V., Dzhikiya E.L., Shishkin A.M., Bozhenko V.K. Cell-penetrating peptides (CPPs) and their therapeutic application. *Vestnik Rossiyskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii = Bulletin of the Russian Scientific Center of Roentgenology*. 2020;(4):106–126. [In Russian].

7. Sazonova E.N., Samarina E.Yu., Ilinykh A.V., Sazonov O.A. Implementation of the method of acidic erythrograms to reveal the membranotropic effect of biologically active peptides. *Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal = Far East Medical Journal*. 2020;(4):64–68. [In Russian]. doi: 10.35177/1994-5191-2020-4-65-69

8. de Martini L.B., Sulmona C., Brambilla L., Rossi D. Cell-penetrating peptides as valuable tools for nose-to-brain delivery of biological drugs. *Cells*. 2023;12(12):1643. doi: 10.3390/cells12121643

9. Grigoryeva M.E., Lyapina L.A. Role of glyproline peptides in the regulation of haemostasis system under stress conditions. *Uspekhi sovremennoy biologii = Biology Bulletin Reviews*. 2020;140(1):19–25. [In Russian]. doi: 10.31857/S0042132420010020

10. Biloshitskiy V.V. The principles of experimental traumatic brain injury modelling. *Ukrayins'kiy neyrokhirurhichniy zhurnal = Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2008(4):9–15. [In Russian].

11. Barvina A.R. Modern rules for the use of parametric and nonparametric tools in the statistical analysis of biomedical data. *Meditsinskiy al'manakh = Medical Almanac*. 2021;(1):64–73. [In Russian].

12. Semenenko A.I. Assessment of the therapeutic effect of 0.9% NaCl on indicators of cerebral hemodynamics in ischemia-reperfusion of rat brain. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of the Grodno State Medical University*. 2014;(3):49–52. [In Russian].

13. Fleishman M.Yu., Tolstенок I.V., Innokentyev A.A. Effects of peptide Selank on oxidative stress in the brain and thin intestine of white rats on experimental model of traumatic brain injury. *Sibirskiy nauchnyy medicinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019;39(2):46–51. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190205

14. Solovieva A.G., Kuznetsova V.L., Peretyagin S.P., Didenko N.V., Dudar A.I. Role of nitric oxide in processes of free radical oxidation. *Vestnik Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii = Bulletin of the Russian Military Medical Academy*. 2016;(1):228–233. [In Russian].

15. Suschek C.V., Schnorrn O., Hemmrich K., Aust O., Klotz L.O., Sies H., Kolb-Bachofen V. Critical role of L-arginine in endothelial cell survival during ox-

idative stress. *Circulation*. 2003;107(20):2607–2614. doi: 10.1161/01.CIR.0000066909.13953.F1

16. Grovola M.R., Jinich A., Paleologos N., Arroyo E.J., Browne K.D., Swanson R.L., Duda J.E., Cullen D.K. Persistence of hyper-ramified microglia in porcine cortical gray matter after mild traumatic brain injury. *Biomedicines*. 2023;11(7):1960. doi: 10.3390/biomedicines11071960

17. George K.K., Heithoff B.P., Shandra O., Robel S. Mild traumatic brain injury/concussion initiates

an atypical astrocyte response caused by blood-brain barrier dysfunction. *J. Neurotrauma*. 2022;39(1-2):211–226. doi: 10.1089/neu.2021.0204

18. Zhao Q., Zhang J., Li H., Li H., Xie F. Models of traumatic brain injury-highlights and drawbacks. *Front. Neurol.* 2023;(14):1151660. doi: 10.3389/fneur.2023.1151660

Сведения об авторах:

Флейшман Марина Юрьевна, д.м.н., ORCID: 0000-0002-9337-2801, e-mail: marfl@yandex.ru

Сальников Антон Александрович, e-mail: anton231100@mail.ru

Колесникова Анна Александровна, ORCID: 0000-0002-0773-9293, e-mail: anna-kostina-88@mail.ru

Малофей Юлия Борисовна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-5698-3665, e-mail: malofey2009@mail.ru

Information about the authors:

Marina Yu. Fleishman, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-9337-2801, e-mail: marfl@yandex.ru

Anton A. Salnikov, e-mail: anton231100@mail.ru

Anna A. Kolesnikova, ORCID: 0000-0002-0773-9293, e-mail: anna-kostina-88@mail.ru

Yliya B. Malofey, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-5698-3665, e-mail: malofey2009@mail.ru

Поступила в редакцию 26.07.2024

После доработки 31.08.2024

Принята к публикации 07.11.2024

Received 26.07.2024

Revision received 31.08.2024

Accepted 07.11.2024