

АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ПОЧКАХ И СОДЕРЖАНИЕ ЦИКЛООКСИГЕНАЗ В МОЧЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛИТИАЗА ТЕТРАПЕПТИДОМ Leu-Ile-Lys-Met

**Александр Юрьевич ЖАРИКОВ, Николай Николаевич ЯКУШЕВ,
Ганна Викторовна ЖАРИКОВА, Олеся Николаевна МАЗКО,
Олеся Геннадьевна МАКАРОВА, Валерий Михайлович БРЮХАНОВ,
Юрий Владимирович КОРЕНОВСКИЙ, Ольга Васильевна АЗАРОВА**

*Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России
6560038, г. Барнаул, просп. Ленина, 40*

Цель исследования – изучить влияние тетрапептида Leu-Ile-Lys-Met на активность процессов свободнорадикального окисления (СРО) и экспрессию циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1) и ЦОГ-2 в почках крыс при экспериментальном оксалатном нефролитиазе. **Материал и методы.** Эксперименты проведены на 30 самцах крыс сток Вистар, разделенных на три группы: группа сравнения (10 интактных крыс), контрольная группа (6 недель моделирования экспериментального оксалатного нефролитиаза, $n = 10$), подопытная группа (6 недель моделирования экспериментального оксалатного нефролитиаза + пероральное введение тетрапептида Leu-Ile-Lys-Met в дозе 12 мг/кг в период с 3-й по 6-ю недели, $n = 10$). Оксалатный нефролитиаз имитировали с использованием общепринятой этиленгликолевой модели. Концентрацию ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в моче крыс на исходном уровне и после 6 недель моделирования нефролитиаза измеряли методом иммуноферментного анализа с использованием набора для определения простагландин-эндопероксид-синтаз 1 и 2 (PTGS 1, 2) фирмы «Cloud-Clone Corp.». В гомогенате почек крыс определяли показатели активности процессов СРО по общепринятым методикам. **Результаты и их обсуждение.** На фоне применения тетрапептида Leu-Ile-Lys-Met ослаблялось свободнорадикальное повреждение почек, что проявилось в полном отсутствии морфологических признаков развития нефролитиаза, снижении концентрации продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, и общей прооксидантной активности по сравнению с контрольной группой; активность глутатионпероксидазы, напротив, увеличилась (в 1,5 раза).

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, тетрапептид, окислительный стресс.

Автор для переписки: Жариков А.Ю., e-mail: zharikov_a_y@mail.ru

Для цитирования: Жариков А.Ю., Якушев Н.Н., Жарикова Г.В., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Брюханов В.М., Кореновский Ю.В., Азарова О.В. Активность процессов свободнорадикального окисления в почках и содержание циклооксигеназ в моче крыс в условиях экспериментальной терапии оксалатного нефролитиаза тетрапептидом Leu-Ile-Lys-Met. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019; 39 (4): 78–84. doi: 10.15372/SSMJ20190410.

ACTIVITY OF FREE RADICAL OXIDATION AND CYCLOOXYGENASE EXPRESSION IN RATS KIDNEYS UNDER EXPERIMENTAL THERAPY OF OXALATE NEPHROLITHIASIS WITH TETRAPEPTIDE Leu-Ile-Lys-Met

**Aleksandr Yuryevich ZHARIKOV, Nikolay Nikolaevich YAKUSHEV,
Ganna Viktorovna ZHARIKOVA, Olesya Nikolaevna MAZKO,
Olesya Gennadyevna MAKAROVA, Valeriy Mikhaylovich BRYUKHANOV,
Yuriy Vladimirovich KORENOVSKIY, Olga Vasil'yevna AZAROVA**

*Altai State Medical University of Minzdrav of Russia
6560038, Barnaul, Lenin av., 40*

The aim of the study was to investigate the effect of Leu-Ile-Lys-Met tetrapeptide on the activity of free radical oxidation (FRO) and the level of cyclooxygenase-1 (COX-1) and COX-2 expression in rat kidney with experimental oxalate nephrolithiasis. **Material and methods.** The experiments were carried out on 30 male rats Wistar runoff, divided into 3 groups: the comparison group (10 intact rats), the control group (6 weeks of experimental oxalate nephrolithiasis

simulation, $n = 10$), the experimental group (6 weeks of experimental simulation oxalate nephrolithiasis + oral administration of Leu-Ile-Lys-Met tetrapeptide at a dose of 12 mg/kg from the 3rd to the 6th week, $n = 10$). The oxalate nephrolithiasis was simulated according to conventional ethylene glycol model. COX-1 and COX-2 concentration in rat urine at baseline and after 6 weeks of experimental nephrolithiasis was determined by enzyme immunoassay using the prostaglandin-endoperoxide synthase 1 and 2 (PTGS 1, 2) kit from «Cloud-Clone Corp.». In rat kidney homogenate, the activity indicators of FRO processes were determined by common methods. **Results and discussion.** At the background of the Leu-Ile-Lys-Met tetrapeptide, free radical kidney damage was weakened, which was manifested in the complete absence of morphological signs of nephrolithiasis, decrease of thiobarbituric acid-reactive product concentration and overall prooxidant activity as compared to the control group; glutathione peroxidase activity, on the contrary, increased by 1.5 times.

Key words: urolithiasis, tetrapeptide, oxidative stress.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Zharikov A.Yu., e-mail: lemen@centercem.ru

Citation: Zharikov A.Yu., Yakushev N.N., Zharikova G.V., Mazko O.N., Makarova O.G., Bryukhanov V.M., Korenovskiy Yu.V., Azarova O.V. Activity of free radical oxidation and cyclooxygenase expression in rats kidneys under experimental therapy of oxalate nephrolithiasis with tetrapeptide Leu-Ile-Lys-Met. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019; 39 (4): 78–84. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190410.

Разработка новых антилитогенных средств на основе так называемого протеомного подхода является современным и перспективным направлением поиска новых фармакологических подходов к лечению мочекаменной болезни [1]. Ранее в экспериментальных условиях нами продемонстрирована высокая антилитогенная активность нового трипептида Leu-Ile-Lys [5]. Это создало предпосылки для драг-дизайна на основе этой молекулы новых пептидов с потенциальной антилитогенной активностью. Одной из аминокислот, чья роль в развитии нефролитиаза давно и активно обсуждается, является метионин. В частности, существуют экспериментальные данные о том, что введение метионина крысам с нефролитиазом на фоне индуцированного дефицита витамина B₆ нивелирует окислительный стресс и подавляет камнеобразование [13]. Кроме того, хорошо известны антиоксидантные свойства метионина в организме [9]. При этом важная роль окислительного стресса и воспалительного повреждения нефроцитов в развитии нефролитиаза давно доказана и не вызывает сомнений [11].

Вышесказанное определило цель настоящего исследования – разработать тетрапептид Leu-Ile-Lys-Met и изучить его влияние на активность процессов свободнорадикального окисления (СРО) и экспрессию циклооксигеназы (ЦОГ) 1 и 2 типа в почках крыс при экспериментальном оксалатном нефролитиазе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 30 самцах крыс Вистар, выращенных в отделении генетики животных и человека ФИЦ Институт цитологии

и генетики СО РАН (г. Новосибирск), возрастом 2–3 мес. и весом 200–250 г. Исследования на животных проводили согласно Правилам надлежащей лабораторной практики (GLP), утвержденным Приказом Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016 № 199н, и требованиям Директивы 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях, от 22.09.2010.

Крысы были разделены на три группы, по 10 животных в каждой: 1) группа сравнения – интактные крысы, у которых определялись показатели активности СРО в почках в норме; 2) контрольная группа – 6 недель моделирования экспериментального оксалатного нефролитиаза; 3) подопытная группа – 6 недель моделирования экспериментального оксалатного нефролитиаза + ежедневное пероральное введение тетрапептида Leu-Ile-Lys-Met в дозе 12 мг/кг в период с 3-й по 6-ю недели. На всем протяжении эксперимента животные находились в индивидуальных метаболических клетках, приспособленных для сбора мочи, в условиях свободного доступа к питью и пище при естественном световом режиме. Оксалатный нефролитиаз имитировали с использованием общепринятой этиленгликолевой модели, суть которой заключается в том, что на протяжении 6 недель крысам предоставляется в качестве питья в свободном доступе 1%-й раствор этиленгликоля [3]. Пептид Leu-Ile-Lys-Met был синтезирован на предприятии Shanghai Apeptide Co., Ltd. (г. Шанхай, Китай) при посредничестве ЗАО «Эвалар» (г. Бийск, Россия). Чистота образца составила не менее 98 %.

У крыс контрольной и подопытной групп собирали суточную мочу до начала моделирования нефролитиаза и на 42-й день эксперимента. В моче

определяли концентрацию ферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2 методом иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы «Cloud-Clone Corp.» (США) по инструкции производителя. По истечении 6 недель эксперимента крыс всех трех групп подвергали эвтаназии под эфирным наркозом, извлекали обе почки, одну из которых использовали для определения активности процессов СРО в почечной ткани, а другую – для проведения морфологических исследований.

В гомогенате почек крыс определяли показатели активности процессов СРО [2]. Для оценки прооксидантного статуса измеряли концентрацию продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБРП), колориметрическим методом. Суммарный показатель концентрации всех прооксидантов и свободнорадикальных метаболитов – общую прооксидантную активность (ОПА) – оценивали по интенсивности окраски флуоресцентного комплекса, образующегося при взаимодействии продуктов окисления ТВИН-80 с тиобарбитуровой кислотой. Для оценки антиоксидантного статуса клеток определяли общую антиоксидантную активность (ОАА) и активность антиоксидантных ферментов глутатионпероксидазы (ГПО), каталазы и супероксиддисмутазы (СОД). ОАА, интегральный показатель активности всех ферментных и неферментных факторов нейтрализации свободных радикалов, оценивали по степени угнетения Fe^{2+} /аскорбатзависимого окисления ТВИН-80 гомогенатом почки. Активность каталазы определяли по подавлению окисления молибдата натрия перекисью водорода, активность СОД – по содержанию в пробе нитроформаза, окрашенного продукта восстановления нитротетразолия супероксидантными радикалами, активность ГПО – по содержанию восстановленного глутатиона в цветной реакции с реактивом Элмана.

Для проведения морфологических исследований почки фиксировали в 10%-м растворе формалина, обрабатывали по стандартной методике и изготавливали поперечный срез толщиной 6 мкм через почечный сосочек. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, метенамин-серебром. Кальциевые депозиты идентифицировали гистохимическим методом Косса, при помощи компьютерной программы на снимках подсчитывали количество кальциевых депозитов в поле зрения и определяли их размер. Морфометрические исследования проводили с использованием программных пакетов ImageJ 1.43 и AxioVision 3.1.

Нормальность распределения проверяли с использованием W-критерия Шапиро – Уилка. Результаты биохимических исследований пред-

ставлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me (25 %; 75 %)), результаты морфометрических исследований – в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Для выявления статистической значимости межгрупповых различий использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Разница считалась достоверной при значении $p \leq 0,05$ [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В почках крыс контрольной группы наблюдались характерные признаки развития окислительного стресса (табл. 1). Так, в сравнении с показателями интактных крыс в 1,2 раза увеличивалась концентрация ТБРП, в 3,5 раза снижалась ОАА и в 1,4 раза возрастала активность СОД. Не исключено, что активация СОД при нефролитиазе может носить компенсаторный характер в ответ на гиперпродукцию супероксидного анион-радикала. При этом в подопытной группе, где крысам 3 недели вводился пептид Leu-Ile-Lys-Met, наблюдалась совершенно иная картина. Оказалось, что концентрация ТБРП относительно контроля снижалась в 1,3 раза и не отличалась от уровня интактных крыс. ОПА снизилась в 9 раз относительно контрольной группы и была меньше показателей интактных крыс в 10,9 раза. ОАА в сравнении с контролем возросла в 3,8 раза и не отличалась от уровня интактных животных. Активность СОД и каталазы снижалась относительно показателей контрольной группы в 2,4 и 1,5 раза соответственно. Данное изменение тоже логично вписывается в общую картину уменьшения выраженности окислительного стресса на фоне применения пептида Leu-Ile-Lys-Met. Как известно, функция СОД тесно связана с работой каталазы, поскольку образующаяся в процессе дисмутации супероксида перекись водорода впоследствии инактивируется каталазой. Вероятно, в наших экспериментах, когда активность СОД снижалась вследствие подавления окислительного стресса, уменьшалась и стационарная концентрация субстрата каталазы. Активность ГПО, напротив, увеличилась в 1,5 раза относительно контроля.

На этом фоне концентрация ЦОГ-1 в моче крыс контрольной группы за 6 недель эксперимента возросла в 4,4 раза (табл. 2), содержание ЦОГ-2 достоверно увеличилась с нулевого уровня до 0,051 нг/мл. В подопытной группе концентрация ЦОГ-1 в целом не изменялась в сравнении с исходным уровнем, в результате чего к концу эксперимента уступала величине показателя крыс контрольной группы в 1,9 раза, а содержание ЦОГ-2 увеличилась в 46 раз.

Таблица 1

Показатели активности процессов СРО в почках крыс экспериментальных групп

Table 1

Indicators of free radical oxidation activity in the kidneys of rats of experimental groups

Показатель	Группа сравнения	Контрольная группа	Подопытная группа
Концентрация ТБРП, мкмоль/мг	6,1 (5,4; 6,9)	7,6 (7,2; 7,6) $p_{\text{инт}} = 0,004$	5,8 (4,5; 9,7) $p_{\text{к}} = 0,016$
ОПА, %	65,1 (63,4; 68,0)	54,0 (49,9; 56,8) $p_{\text{инт}} = 0,0002$	6,0 (1,0; 8,2) $p_{\text{инт}} = 0,0002$ $p_{\text{к}} = 0,0002$
ОАА, %	41,7 (40,2; 43,3)	12,0 (10,4; 13,2) $p_{\text{инт}} = 0,0002$	46,0 (42,0; 47,1) $p_{\text{к}} = 0,0002$
Активность ГПО, %	38,5 (25,2; 41,6)	42,2 (32,2; 47,9)	62,2 (61,0; 68,4) $p_{\text{инт}} = 0,000003$ $p_{\text{к}} = 0,00004$
Активность каталазы, %	14,4 (10,2; 15,6)	12,2 (9,0; 15,8)	8,2 (3,2; 11,8) $p_{\text{инт}} = 0,028$
Активность СОД, %	18,2 (13,0; 18,5)	25,1 (23,6; 32,1) $p_{\text{инт}} = 0,0002$	10,4 (8,7; 16,1) $p_{\text{инт}} = 0,017$ $p_{\text{к}} = 0,0002$

Примечание. $p_{\text{инт}}$ – уровень статистической значимости отличия от величины соответствующего показателя группы сравнения; $p_{\text{к}}$ – уровень статистической значимости отличия от величины соответствующего показателя контрольной группы.

Таблица 2

Концентрация ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в моче крыс экспериментальных групп, нг/мл

Table 2

Concentration of COX-1 and COX-2 in the urea of rats of experimental groups, ng/ml

Группа	Исходный уровень		6 недель нефролитиаза	
	ЦОГ-1	ЦОГ-2	ЦОГ-1	ЦОГ-2
Контрольная	0,98 (0,91; 1,85)	0,000 (0,000; 0,002)	4,32 (3,00; 4,87) $p_{\text{исх}} = 0,008$	0,051 (0,049; 0,065) $p_{\text{исх}} = 0,05$
Подопытная	1,51 (0,97; 2,70)	0,001 (0,000; 0,065)	2,27 (1,51; 2,63) $p_{\text{к}} = 0,006$	0,046 (0,024; 0,071)

Примечание. $p_{\text{исх}}$ – уровень статистической значимости отличия от исходной величины соответствующего показателя; $p_{\text{к}}$ – уровень статистической значимости отличия от величины соответствующего показателя контрольной группы.

Морфологическое исследование почек крыс контрольной группы показало, что при окраске гематоксилином и эозином на участках нефролитиаза эпителий канальцев находился в состоянии гиалиново-капельной дистрофии. Апикальный край клеток местами был разрушен, щеточная кайма видна не везде. Канальцы при этом выглядели кистозно-растянутыми. Клетки нефротелия, выстилающего канальцы, были разрушены либо уплощены или атрофичны. Вокруг канальцев определялась слабо или умеренно выраженная воспалительная лимфоплазмочитарная инфильтрация. Отмечались явления нефросклероза. Сосуды находились в состоянии выраженного пол-

нокровия. При гистохимическом окрашивании на кальций по методу Косса в канальцах почек крыс контрольной группы отмечали расплавленные поодиночке или группами кристаллы депозитов камней коричневатого-черного цвета различной формы и размера (рис. 1). Число депозитов в просветах канальцев варьировало от 6 до 19 и в среднем составляло $7,9 \pm 1,6$ в поле зрения при увеличении $\times 400$, при модальном значении 6. Компьютерная морфометрия показала, что площадь депозитов камней составляет от 48,8 до 789,9 $\mu\text{м}^2$, в среднем $298,8 \pm 34,2 \mu\text{м}^2$. На этом фоне морфологическое исследование почек крыс подопытной группы свидетельствовало об отсут-

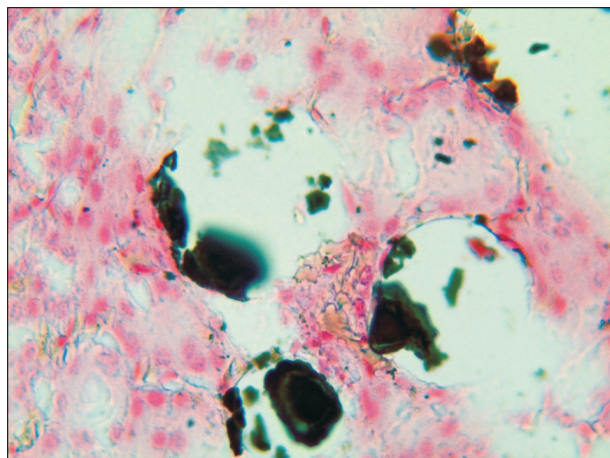


Рис. 1. Депозиты кальция в множестве канальцев почек животных контрольной группы. Окраска по фон Косса. Увеличение $\times 1000$

Fig. 1. Calcium deposits in a variety of kidney tubules of animals in the control group. Von Kossa staining, 1000 \times magnification

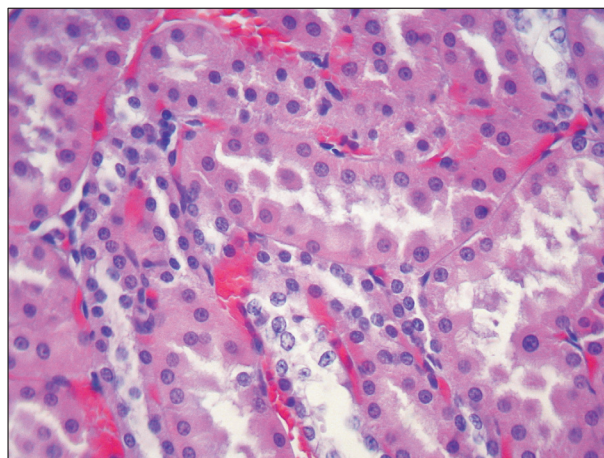


Рис. 2. Отсутствие признаков камнеобразования в почках крыс подопытной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 400$.

Fig. 2. The absence of stone formation signs in the kidneys of rats of the experimental group. Hematoxylin and eosin staining, 400 \times magnification

ствии явлений нефролитиаза (рис. 2). Ткани почки находились в состоянии нормы, ни инкрустации канальцев солями кальция, ни формирования крупных конкрементов не наблюдалось.

ОБСУЖДЕНИЕ

Обсуждая полученные результаты, отметим, что в условиях моделирования нефролитиаза в почечной ткани крыс ожидаемо произошло развитие окислительного стресса, важная патогенетическая роль которого в развитии литогенеза сегодня общепризнанна [4]. На этом фоне у крыс контрольной группы в моче после 6 недель моделирования нефролитиаза по сравнению с исходным уровнем значительно повысилась концентрация ЦОГ-1. Это было несколько неожиданно, поскольку хорошо известно, что ЦОГ-1 – конститутивная, а не индуцибельная изоформа. В данной ситуации можно предположить, что такое увеличение могло быть следствием массивного разрушения нефроцитов и выхода ЦОГ-1 в свободном виде в мочу на фоне развивающегося нефролитиаза. Кроме того, в контроле заболевания наблюдалось значительное увеличение концентрации в моче ЦОГ-2, что хорошо согласуется с общепринятыми представлениями о роли индуцибельной ЦОГ-2 в воспалительных процессах. Логично предположить, что зафиксированное изменение указывает на развитие воспалительных процессов в почках при экспериментальном нефролитиазе.

Сегодня существуют сведения о том, что свободнорадикальное окисление и воспалительные

процессы, в частности, регулирующие посредством циклооксигеназного пути, тесно сопряжены, в том числе при оксалатном нефролитиазе [7, 10, 12]. По всей видимости, в наших экспериментах при моделировании патологии происходила одновременно активация процессов СРО и воспаления. Это хорошо согласуется с общепринятой сегодня теорией литогенеза, гласящей, что камни в почках формируются из первичного очага литогенеза, в появлении которого ключевую роль играет повреждение нефроцитов [4]. Подтверждением формирования почечных конкрементов стали результаты морфологических исследований, показавших наличие крупных уролитов.

На этом фоне трехнедельное применение тетрапептида Leu-Ile-Lys-Met привело к значительному ослаблению свободнорадикального повреждения почек. Вероятно, этому способствовало наличие в структуре пептида концевой аминокислоты метионина, являющегося мощным антиоксидантом [9]. Примечательно, что у крыс, получавших лечение, концентрация ЦОГ-1 в моче не изменилась относительно исходного уровня и была статистически значимо меньше, чем в контроле. Это может свидетельствовать о сохранности целостности клеточных структур нефроцитов, что препятствовало выходу в мочу данного фермента. Любопытно также, что концентрация ЦОГ-2 в моче крыс подопытной группы увеличивалась, как и у животных контрольной группы, возможно, указывая на то, что повреждение клеток было значительно ослаблено, но воспалительные процессы продолжали развиваться.

Как бы то ни было, на фоне применения разработанного пептида наблюдалось полное отсутствие морфологических признаков развития нефролитиаза. Конкременты в почках не формировались. В совокупности, исходя из вышесказанного, можно полагать, что данный пептид подавляет свободнорадикальное повреждение почечных тканей, что нивелирует камнеобразование, не влияя при этом на воспалительные процессы в почках. Следует также отметить, что существует прецедент разработки антиоксидантного пептида на основе метионина; синтетический гексапептид His-Met-His-Met-His-Met существенно повышал устойчивость клеток к действию ионизирующей радиации [8]. Однако возможность коррекции нефролитиаза метионинсодержащим пептидом в настоящем исследовании показана впервые.

Таким образом, результаты исследования создают весомые предпосылки для дальнейшего изучения антилитогенного действия тетрапептида Leu-Ile-Lys-Met с целью разработки на его основе нового лекарственного средства для лечения мочекаменной болезни.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Брюханов В.М., Жарикова Г.В. Современные представления о методах лечения мочекаменной болезни. *Бюл. мед. науки.* 2018; (1): 42–54.
2. Bryukhanov V.M., Zharikova G.V. Modern ideas about the treatment of urolithiasis. *Byulleten' meditsinskoj nauki = Bulletin of Medical Science.* 2018; (1): 42–54. [In Russian].
3. Жариков А.Ю., Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. Современные методы моделирования оксалатного нефролитиаза. *Нефрология.* 2008; 12 (4): 28–35.
4. Zharikov A.Yu., Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V. Modern methods of modeling oxalate nephrolithiasis. *Nefrologiya = Nephrology.* 2008; 12 (4): 28–35. [In Russian].
5. Жариков А.Ю., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Лампатов В.В. Механизм формирования кристаллов при оксалатном нефролитиазе. *Нефрология.* 2009; 13 (4): 37–50.
6. Zharikov A.Yu., Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M., Lampatov V.V. The mechanism of crystal formation in oxalate nephrolithiasis. *Nefrologiya = Nephrology.* 2009; 13 (4): 37–50. [In Russian].
7. Жариков А.Ю., Якушев Н.Н., Жарикова Г.В. Фармакологическое средство для лечения мочекаменной болезни. Пат. 2679120 РФ; Опубл. 29.10.2018.
8. Zharikov A.Yu., Yakushev N.N., Zharikova G.V. Pharmacological agent for the treatment of urolithiasis. Patent 2679120 RF; Published 29.10.2018. [In Russian].
9. Хафазиянова Р.Х., Бурькин И.М., Алеева Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии. Казань: Медицина, 2006. 374 с.
10. Khafaziyanova R.Kh., Burykin I.M., Aleeva G.N. Mathematical statistics in experimental and clinical pharmacology. Kazan: Meditsina, 2006. 374 p. [In Russian].
11. Aslan Z., Aksoy L. Anti-inflammatory effects of royal jelly on ethylene glycol induced renal inflammation in rats. *Int. Braz. J. Urol.* 2015; 41 (5): 1008–1013. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.0470.
12. Berlett B.S., Levine R.L. Designing antioxidant peptides. *Redox Rep.* 2014; 19 (2): 80–86.
13. Bin P., Huang R., Zhou X. Oxidation resistance of the sulfur amino acids: Methionine and cysteine. *Biomed. Res. Int.* 2017; 2017: ID 9584932. doi: 10.1155/2017/9584932.
14. Hernanz R., Briones A.M., Salaces M., Alonso M.J. New roles for old pathways? A circuitous relationship between reactive oxygen species and cyclooxygenase in hypertension. *Clin. Sci. (Lond).* 2014; 126 (2): 111–121.
15. Khan S.R. Stress oxidative: nephrolithiasis and chronic kidney diseases. *Minerva Med.* 2013; 104 (1): 23–30.
16. Mittal A., Tandon S., Singla S.K., Tandon C. Mechanistic insights into the antilithiatic proteins from *Terminalia arjuna*: A proteomic approach in urolithiasis. *PLoS One.* 2016; 11 (9): 1–33.
17. Selvam R., Ravichandran V. Restoration of tissue antioxidants and prevention of renal stone deposition in vitamin B6 deficient rats fed with vitamin E or methionine. *Indian J. Exp. Biol.* 1993; 31 (11): 882–887.

Сведения об авторах:

Жариков А.Ю., д.б.н., e-mail: zharikov_a_y@mail.ru

Якушев Н.Н., к.м.н., e-mail: yakushevnn@mail.ru

Жарикова Г.В., e-mail: ganna1704@mail.ru

Мазко О.Н., к.б.н., e-mail: olesia.mazko@yandex.ru

Макарова О.Г., к.фарм.н., e-mail: olesia552@mail.ru

Брюханов В.М., д.м.н., e-mail: bvm@agmu.ru

Кореновский Ю.В., к.м.н., e-mail: timidin@gmail.com

Азарова О.В., д.б.н., e-mail: kunaza00@mail.ru

Information about authors:

Zharikov A.Yu., doctor of biological sciences, e-mail: zharikov_a_y@mail.ru

Yakushev N.N., candidate of medical sciences, e-mail: yakushevnn@mail.ru

Zharikova G.V., e-mail: ganna1704@mail.ru

Mazko O.N., candidate of biological sciences, e-mail: olesia.mazko@yandex.ru

Makarova O.G., candidate of pharmacological sciences, e-mail: olesia552@mail.ru

Bryukhanov V.M., doctor of medical sciences, e-mail: bvm@agmu.ru

Korenovskiy Yu.V., candidate of medical sciences, e-mail: timidin@gmail.com

Azarova O.V., doctor of biological sciences, e-mail: kunaza00@mail.ru