

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов

ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ФУНГИЦИДОМ ТИРАМ И АНТИОКСИДАНТНОЙ КОРРЕКЦИИ

В.А. Королев, Е.В. Фелькер, Л.А. Ячменева, Л.А. Бабкина, Ю.Э. Азарова, М.И. Чурилин, А.И. Милова*

Курский государственный медицинский университет,
305041, Курск, ул. К. Маркса, 3; *эл. почта: L-Babkina@yandex.ru

Тирам — производное дитиокарбамата, используется как фунгицид для протравливания семян и опрыскивания в период вегетации растений, а также в качестве активного ускорителя вулканизации при производстве резинотехнических изделий на основе каучука. В работе определено содержание активных форм кислорода (АФК) и состояние системы глутатиона в ротовой жидкости и тканях десны взрослых самцов крыс линии Wistar при поступлении тирама в дозе $1/50 LD_{50}$ в течение 28 дней в составе корма. Тирам индуцирует образование АФК в полости рта; при этом отмечается нарушение баланса в соотношении восстановленной и окисленной форм глутатиона за счёт снижения глутатиона и увеличения его окисленной формы по сравнению с контролем. Установлено повышение активности глутатионзависимых ферментов (глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, глутатионредуктазы) при поступлении тирама; при этом отмечена вариабельность в сроках активации ферментов в тканях десны и ротовой жидкости в зависимости от времени экспозиции пестицидом. В ротовой жидкости крыс при пероральном поступлении тирама нарушения антиоксидантной глутатионовой системы проявляются в более ранний период времени. Стандартный корм не позволяет в полной мере восстановить глутатионовый пул до физиологических показателей после прекращения поступления тирама. Использование экзогенных антиоксидантов ресвератрола и экстракта эхинацеи пурпурной приводит к восстановлению редокс-гомеостаза в полости рта.

Ключевые слова: фунгицид тирам; дитиокарбаматы; ротовая полость; окислительный стресс, глутатион и глутатионзависимые ферменты; антиоксиданты

DOI: 10.18097/PBMC20247002073

ВВЕДЕНИЕ

Пестициды являются наиболее эффективным средством борьбы с вредителями растениеводческой продукции. Циркуляция остаточных количеств пестицидов и их метаболитов в компонентах окружающей среды, миграция по цепям питания приводит к их постоянному поступлению в организм человека в малых дозах, хронической интоксикации и потенциальному риску развития многочисленных заболеваний [1].

Тирам (диметилкарбамотиоилсульфанил *N,N*-диметилкарбамодитиоат) — многофункциональное соединение из группы диметилдитиокарбаматов, применяемое преимущественно в качестве фунгицида с инсектицидным и бактерицидным действием в сельском хозяйстве. В почве тирам подвергается деградации с образованием токсичных диметилкарбамосульфиновой и диметиламинотиоксометансульфиновой кислот [2, 3]. Присутствие серы в молекуле тирама обуславливает его использование в качестве ускорителя вулканизации при производстве изделий на основе каучука, при этом в дальнейшем добавки обнаруживаются в городской пыли и могут оказывать негативное воздействие на человека [4, 5]. В организм человека тирам может попадать через кожу, дыхательные пути и перорально. Население может подвергаться воздействию тирама и продуктов его разложения опосредованно через воздух, воду, пищевые продукты [1, 6]. При пероральном поступлении

тирам активно всасывается и в течение двух часов распределяется по всему организму. В организме животных тирам метаболизируется с образованием диметилдитиокарбамата и тетраметилтиомочевины в печени и селезёнке, в лёгких образуется также сероуглерод. Метаболиты выводятся с калом, мочой и через лёгкие [4].

В организме животных пестициды в зависимости от физико-химических свойств могут накапливаться в разных тканях и органах, вызывая физиологические и биохимические эффекты на различных уровнях организации живого. Общее действие пестицидов в организме животных связано с индукцией окислительного стресса, что сопровождается повреждением биомолекул и дисфункцией клеток и тканей [6, 7].

Важную роль в антиоксидантной защите играет система глутатиона, изменение функционирования которой выступает в качестве биохимического маркера окислительного стресса при воздействии пестицидов. Восстановленный глутатион (GSH) обеспечивает клеточный редокс-гомеостаз, поглощая тиоловой группой гидроксильные радикалы и синглетный кислород, выступая в качестве косубстрата для глутатионпероксидазы и глутатион-S-трансферазы, восстанавливая активные формы антиоксидантных витаминов С и Е, регулируя экспрессию генов эндогенной антиоксидантной системы. Глутатионпероксидазы GPx (КФ 1.11.1.9) и глутатион-S-трансферазы GST (КФ 2.5.1.18) катализируют

процесс детоксикации гидроперекисей липидов, пероксида водорода и электрофилов, эффективность которых зависит от уровня глутатиона как донора водорода. Глутатионредуктаза GR (КФ 1.8.1.7) является ключевым ферментом в регенерации GSH из GSSG за счёт использования в качестве восстановителя NAD(P)H, снижая при этом потребность в синтезе GSH *de novo* [8, 9].

Механизм развития окислительного стресса и антиоксидантной защиты варьируебен в зависимости от действующего вещества и дозы пестицида, способа поступления и длительности воздействия препарата, биологической системы, клеток-мишеней [10–13].

В основе токсического действия дитиокарбаматов лежит их высокое сродство к тиоловым группам глутатиона и глутатионовых ферментов. Дитиокарбаматы индуцируют выработку активных форм кислорода (АФК), ингибируя при этом глутатионовую систему за счёт окисления тиоловых групп дисульфидного мостика пестицида или непосредственного связывания [3, 14]. В исследованиях изучено воздействие тирама на клетки различных органов. Отмечается в различных экспериментальных моделях, клетках человека дозозависимость и специфичность молекулярных клеточных повреждений и биохимических дефектов глутатионзависимых ферментов [2, 15, 16].

Для корректировки повышенного уровня окислительного стресса и предотвращения истощения эндогенной антиоксидантной системы исследуются потенциальные возможности защитного действия экзогенных антиоксидантов [17]. Доказанными антиоксидантными действиями обладает ресвератрол (*транс*-3,4,5-тригидроксистерильбен) — полифенол растительного происхождения [18]. Антиоксидантная активность ресвератрола обусловлена наличием в его структуре двух фенольных колец с гидроксильными группами, что обеспечивает возможность делокализации электронов и хелатирования металлов. Ингибирование продукции АФК ресвератролом также обусловлено увеличением экспрессии различных антиоксидантных ферментов. Ресвератрол способствует увеличению GSH за счёт активации Nrf2 и усиления регуляции γ -глутамилцистеинсинтетазы [19]. Ресвератрол и его метаболиты аккумулируются в тканях; при этом некоторые метаболиты способны обратимо превращаться в ресвератрол [20].

Экстракт эхинацеи пурпурной *Echinacea purpurea* (L.) представляет собой комплекс веществ, часть которых обладает доказанными антиоксидантными свойствами [21]. Антиоксидантный потенциал эхинацеи *E. purpurea* обусловлен улавливанием свободных радикалов, преимущественно производными кофейной кислоты [22], а также мобилизацией антиоксидантных резервов за счёт более интенсивного использования организмом витаминов А и Е [23].

При пероральном поступлении пестицидов первой мишенью и барьером становится ротовая полость. В полости рта пестициды связываются с липопротеинами или альбуминами, что облегчает

их распределение по организму. Карбаматные пестициды легко образуют комплексы с биомолекулами и трудно метаболизируются, что может препятствовать их выведению из организма. Воздействие серосодержащих пестицидов, в том числе и тирама, может приводить к изменению структуры кератина эпителиоцитов за счёт образования дисульфидных мостиков. Отмечено, что пестициды нарушают связь эпителиального слоя слизистой оболочки ротовой полости с нижерасположенной плотной пластинкой [24]. В свою очередь, плотная пластинка располагается на слое жировой ткани, выступающей мишенью для аккумуляции жирорастворимых пестицидов. Пестициды приводят к изменениям эпителиальных клеток, микробиома ротовой полости, что повышает риск развития кариеса, заболеваний пародонта, одонтогенных инфекций [24]. Исследованиями установлено, что окислительный стресс органов и биологических жидкостей полости рта лежит в основе токсического действия ксенобиотиков и патологических процессов заболеваний [25–28]. Сведений о воздействии тирама на антиоксидантную систему ротовой жидкости и тканей десны при субхроническом пероральном поступлении в малых дозах и возможностях коррекции экзогенными антиоксидантами недостаточно.

Цель исследования заключалась в изучении динамики содержания АФК и особенностей функционирования глутатионовой антиоксидантной системы в полости рта при пероральной субхронической интоксикации тирамом и коррекции растительными антиоксидантами.

МЕТОДИКА

Исследования были проведены на самцах белых лабораторных крыс линии Wistar на базе экспериментально-биологической клиники Курского государственного медицинского университета в осенне-зимний период. На начало эксперимента возраст животных составил 8 недель, масса тела — 200–220 г. Животных содержали в индивидуальных клетках при стандартных условиях со свободным доступом к корму и чистой питьевой воде.

Крысы случайным образом были разделены на группы по 10 особей в каждой. Контрольные группы (K_7 , K_{14} , K_{21} , K_{28} , K_{56}) составили здоровые интактные крысы, которые получали стандартный корм. В группах “Тирам” (T_7 , T_{14} , T_{21} , T_{28} , T_{56} , T_p) крысы получали тирам (тетраметилтиурамдисульфид 97%, CAS-Номер 137-26-8, “Sigma-Aldrich”, США) в дозе $1/50 LD_{50}$ (1,6 мг) [29] 1 раз/день на протяжении 28 дней в утренние часы в составе кормовых гранул, затем в течение суток животные имели неограниченный доступ к чистому корму. Данный способ введения пестицида соответствует поступлению токсиканта в естественных условиях и исключает физиологический стресс животного.

Для изучения способности организма к восстановлению редокс-гомеостаза под действием эндогенных и экзогенных антиоксидантов после прекращения поступления тирама в последующие 28 дней крысы подгруппы “Стандарт” (T_{56}) ($n=10$)

получали обычный стандартный корм, крысам подгруппы “Эхинацея” (T_3) ($n=10$) с пищей вводили экстракт эхинацеи пурпурной *E. purpurea* (Эхинацея, таблетки по 0,2 г, “Вифитех”, Россия) в дозе 3,43 мг/день, крысам подгруппы “Ресвератрол” (T_p) ($n=10$) — препарат ресвератрола в дозе 1,71 мг/день (Ресвератрол в капс., 100 мг, “SOLGAR”, США) [25]. Для изучения динамики состояния глутатионовой системы образцы ротовой жидкости и тканей десны получали на 7, 14, 21 и 28 день интоксикации в группах K_7 , K_{14} , K_{21} , K_{28} , T_7 , T_{14} , T_{21} , T_{28} , а также на 56 день с момента начала эксперимента в группах K_{56} , $T_{ст}$, T_3 , T_p . Нестимулированную ротовую жидкость в объёме 50 мкл собирали у живых крыс с помощью дозатора пипеточного JoanLab (“Лендипет Thermo Scientific”, Россия) и центрифугировали в течение 20 мин при 1500 об/мин (ротатор F-45-12-11 MiniSpin, “Eppendorf”, Германия). Для получения тканей десны опытных животных подвергали декапитации под эфирным наркозом. Ткань промывали холодным физиологическим раствором, взвешивали, измельчали и гомогенизировали (гомогенизатор Поттера, “Sartorius”, Германия) в 0,1 М калий-фосфатном буфере ($pH=7,4$, $t=0^\circ C$) в соотношении “ткань-буфер” 1:6 (в пересчёте на вес сырой ткани). Полученный гомогенат и ротовую жидкость использовали для определения количества АФК, содержания GSH и GSSG, активности глутатионовых ферментов GPx, GST, GR.

Общее количество АФК по отношению к стандарту H_2O_2 определяли с помощью набора OxiSelect™ In Vitro ROS/RNS Assay Kit (Green Fluorescence) (STA-347, 96 тестов, “Cell Biolabs”, США) при длине волны возбуждения 480 нм и длине волны эмиссии 530 нм. Концентрацию восстановленной и окисленной форм глутатиона оценивали иммуноферментным методом при помощи наборов Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Glutathione (GSH) (CEA294Ge, “Cloud-Clone Corp.”, США) и Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Oxidized Glutathione (GSSG) (CEK518Ge, “Cloud-Clone Corp.”). Активность GPx определяли с использованием набора Glutathione Peroxidase Activity Colorimetric Assay Kit (K762, “BioVision”, США). Активность GST — с использованием наборов Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Glutathione S Transferase Alpha1 (GSTa1) (SEA609Ra96, “Cloud-Clone Corp.”). Для оценки активности GR применяли набор OxiSelect™ Glutathione Reductase Assay Kit (STA-812, “Cell Biolabs”). Все измерения проводили на микропланшетном ридере Varioscan Flash (“Thermo Fisher Scientific”, США), следуя рекомендациям производителей наборов.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы STATISTICA 13.0. Проверку гипотезы о нормальном распределении количественных показателей осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Поскольку большинство данных не подчинялось нормальному распределению, количественные показатели представлены в виде медианы и значений

нижнего и верхнего квартилей (Me [Q1–Q3]). Для сравнения двух независимых выборок использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Различия показателей двух групп считали статистически значимыми при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поступление тирама в дозе $1/50 LD_{50}$ в составе естественного корма в течение 28 дней приводит к статистически значимому повышению продукции АФК в тканях десны (табл. 1) и в ротовой жидкости (табл. 2) по сравнению с контрольной группой крыс, достигая максимального значения на 28 день. Индукция выработки АФК может быть обусловлена как непосредственным действием пестицида в полости рта, так и опосредованно транспортом тирама и его метаболитов системой крови в ткани десны и слюнные железы.

В тканях десны и ротовой жидкости в группах контроля (K_7 – K_{28}) содержание АФК варьировало незначительно (интерквартильный размах $IQR_{десна}=45,85–49,22$, интерквартильный размах $IQR_{рж}=13,79–14,39$), что свидетельствует о поддержании окислительного гомеостаза на оптимальном уровне антиоксидантными системами. Поступление тирама приводит к увеличению интерквартильного размаха количества АФК в тканях десны (интерквартильный размах $IQR_{десна}=42,87–89,05$) (табл. 1) и ротовой жидкости (интерквартильный размах $IQR_{рж}=25,43–37,21$) (табл. 2), достигая наибольшего варьирования на 28 день интоксикации.

Наличие дисульфидной группы в структуре тирама определяет систему глутатиона как ключевую мишень воздействия. При экспериментальном поступлении тирама в тканях десны отмечено статистически значимое снижение содержания GSH по сравнению с контрольными группами крыс, начиная с 14 дня интоксикации (табл. 1). В ротовой жидкости крыс групп T_7 – T_{28} уменьшение количества GSH по сравнению с интактными крысами было уже на 7 день поступления пестицида (табл. 2). Снижение содержания восстановленной формы глутатиона в ротовой жидкости и тканях десны основано на способности тирама окислять SH-группу глутатиона или непосредственно связываться с ним, образуя конъюгаты, тем самым предотвращая повреждение важных SH-групп белков и кофакторов [9, 10]. Окисление глутатиона тирамом приводило к статистически значимому возрастанию содержания окисленной формы GSSG в тканях десны и в ротовой жидкости крыс уже на 7 день интоксикации по сравнению с интактными животными (табл. 1, 2).

Важным показателем клеточного редокс-гомеостаза является тиол-дисульфидное соотношение, которое в физиологических условиях составляет 100:1 [3]. В тканях десны и в ротовой жидкости крыс вне действия пестицида данный показатель варьировал в пределах 117,82–195,66 и 144,80–159,78 соответственно (табл. 1, 2). Поступление тирама с пищей приводило к статистически значимому

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТИРАМА

Таблица 1. Показатели окислительного стресса в тканях десны крыс контрольной группы и при интоксикации тирамом в течение 28 дней

Продолжительность эксперимента							
7 день		14 день		21 день		28 день	
K ₇	T ₇	K ₁₄	T ₁₄	K ₂₁	T ₂₁	K ₂₈	T ₂₈
Количество АФК, мкмоль/л							
103,50 [83,02–132,24]	151,32 [110,82–176,76]	101,48 [85,04–130,89]	151,14 [130,45–173,32]	105,16 [84,12–133,21]	148,05 [129,55–182,10]	105,30 [84,38–132,64]	161,65 [111,92–200,97]
p=0,04326		p=0,02881		p=0,02323		p=0,03546	
Количество GSH, мкг/мл							
566,63 [374,35–632,65]	349,52 [289,49–386,19]	520,27 [368,11–557,38]	291,72 [251,19–401,68]	522,97 [310,25–564,88]	272,61 [176,38–312,83]	517,11 [365,71–573,28]	196,21 [128,27–296,19]
p=0,07526		p=0,03546		p=0,00684		p=0,00048	
Количество GSSG, мкг/мл							
3,08 [2,14–4,13]	5,92 [4,34–6,73]	2,95 [2,16–3,91]	8,83 [6,45–9,68]	3,15 [2,42–3,98]	8,06 [5,55–9,39]	2,98 [2,44–4,13]	7,54 [5,61–10,48]
p=0,00684		p=0,00049		p=0,00033		p=0,00001	
GSH/GSSG							
195,66 [94,68–234,34]	59,84 [45,40–74,14]	117,82 [123,24–275,95]	39,63 [28,76–45,91]	161,85 [109,26–230,70]	36,09 [17,33–52,78]	176,77 [99,42–228,74]	31,76 [13,33–39,78]
p=0,00893		p=0,00013		p=0,00021		p=0,00004	
Активность GPx, мЕд/мл							
35,08 [29,09–45,49]	55,31 [38,29–78,38]	32,30 [27,95–43,28]	63,00 [36,48–78,34]	34,16 [31,24–46,12]	50,55 [36,31–58,33]	36,61 [32,41–46,73]	49,76 [37,73–66,19]
p=0,01854		p=0,01150		p=0,14314		p=0,05243	
Активность GST, мЕд/мл							
0,16 [0,12–0,17]	0,29 [0,19–0,32]	0,16 [0,14–0,19]	0,35 [0,23–0,42]	0,17 [0,13–0,19]	0,37 [0,28–0,41]	0,17 [0,15–0,19]	0,41 [0,29–0,48]
p=0,00151		p=0,00008		p=0,0004		p=0,00105	
Активность GR, мЕд/мл							
6,76 [6,48–8,89]	8,08 [6,63–10,17]	6,88 [5,79–7,71]	9,18 [7,06–11,22]	7,24 [6,95–7,81]	9,84 [8,13–12,64]	7,31 [6,15–7,54]	10,20 [7,74–14,52]
p=0,43587		p=0,24745		p=0,03546		p=0,00893	

Примечание. K₇–K₂₈ – контрольная группа, T₇–T₂₈ – интоксикация тирамом. Здесь и далее в таблицах p – уровень статистической значимости критерия Манна-Уитни между соответствующими группами сравнения.

уменьшению соотношения GSH/GSSG по сравнению с контролем в течение всего периода экспериментального воздействия; снижение данного показателя ниже физиологического уровня достигало минимума на 28 день экспериментальной интоксикации — 31,76 в тканях десны и 34,56 в ротовой жидкости (табл. 1, 2).

В тканях десны крыс, подвергшихся интоксикации тирамом, статистически значимое повышение активности фермента GR по сравнению с контролем отмечено на 21 и 28 дни интоксикации (табл. 1), а в ротовой жидкости возрастание активности в 1,92 раза обнаружено уже на 14 день поступления тирама (табл. 2). Повышение активности GR можно рассматривать как компенсаторный механизм в поддержании редокс-гомеостаза клетки.

В большинстве тканей скорость восстановления GSSG выше по сравнению с синтезом восстановленного глутатиона. Снижение количества глутатиона за счёт его непосредственного окисления тирамом и участия в механизмах детоксикации АФК, избыточно индуцированных тирамом, при сохранении активности GR на уровне контрольной группы крыс приводит к преобладанию скорости окисления GSH над скоростью его регенерации и, как следствие, падению соотношения GSH/GSSG. Невозможность синтеза GSH *de novo* и снижение экспорта из цитоплазмы клеток при увеличении потребности внутриклеточного пула GSH для детоксикации тирама, возможно, обуславливают снижение содержания GSH и повышение активности GR в ротовой жидкости на более ранних сроках по сравнению с тканями десны.

Таблица 2. Показатели окислительного стресса в ротовой жидкости крыс контрольной группы и при интоксикации тирамом в течение 28 дней

Продолжительность эксперимента							
7 день		14 день		21 день		28 день	
K ₇	T ₇	K ₁₄	T ₁₄	K ₂₁	T ₂₁	K ₂₈	T ₂₈
Количество АФК, мкмоль/л							
26,65 [20,17–34,56]	45,10 [34,69–60,12]	29,17 [20,89–35,17]	53,02 [37,73–63,87]	29,55 [21,42–35,21]	54,40 [36,95–69,46]	29,96 [21,36–35,42]	56,36 [34,07–71,28]
p=0,00520		p=0,00288		p=0,00105		p=0,00389	
Количество GSH, мкг/мл							
249,26 [199,87–310,76]	165,80 [107,33–185,12]	244,87 [204,87–315,10]	132,35 [126,25–165,70]	246,04 [208,10–310,84]	139,94 [87,39–154,57]	247,50 [205,95–311,95]	99,81 [87,32–133,21]
p=0,00520		p=0,00288		p=0,00033		p=0,00008	
Количество GSSG, мкг/мл							
1,53 [1,04–1,81]	2,92 [1,97–3,13]	1,50 [1,27–1,83]	2,67 [2,35–3,45]	1,58 [1,24–1,82]	3,55 [2,70–4,86]	1,63 [1,27–1,97]	4,02 [2,74–4,31]
p=0,00033		p=0,00001		p=0,00001		p=0,00013	
GSH/GSSG							
150,11 [141,13–266,54]	59,00 [47,71–82,61]	159,78 [116,72–224,08]	44,29 [39,71–58,76]	152,35 [133,65–247,85]	37,89 [24,31–48,68]	144,80 [109,33–235,37]	34,56 [16,55–37,64]
p=0,00001		p=0,00002		p=0,00001		p=0,00001	
Активность GPx, мЕд/мл							
21,56 [17,15–31,34]	41,58 [25,38–46,82]	21,13 [18,53–32,10]	49,18 [34,62–38,59]	24,80 [21,42–34,62]	54,99 [27,97–58,69]	24,28 [22,74–33,65]	46,28 [36,15–70,84]
p=0,00389		p=0,00151		p=0,00520		p=0,00073	
Активность GST, мЕд/мл							
0,29 [0,21–0,36]	0,38 [0,32–0,39]	0,31 [0,24–0,33]	0,37 [0,29–0,46]	0,32 [0,28–0,37]	0,39 [0,28–0,47]	0,30 [0,26–0,38]	0,56 [0,45–0,69]
p=0,07526		p=0,05243		p=0,19032		p=0,00001	
Активность GR, мЕд/мл							
3,27 [2,45–3,96]	4,08 [3,92–5,06]	3,40 [2,39–4,02]	6,53 [4,19–7,41]	3,42 [2,51–3,87]	6,23 [4,56–8,10]	3,46 [2,40–3,85]	6,01 [5,41–9,28]
p=0,05243		p=0,00389		p=0,00021		p=0,00001	

Примечание. K₇–K₂₈ – контрольная группа, T₇–T₂₈ – интоксикация тирамом.

При субхроническом поступлении тирама в составе корма статистически значимое повышение активности GPx и GST в тканях десны и GPx в ротовой жидкости по сравнению с контрольными группами крыс отмечено с 7 дня интоксикации. Значительное повышение активности GST в ротовой жидкости при поступлении тирама происходило только на 28 день (табл. 1, 2). GPx и GST уменьшают последствия окислительного стресса за счёт восстановления свободных радикалов, используя GSH как субстрат, тем самым снижая запасы GSH и нарушая тиол/дисульфидный баланс. Другой механизм участия GST в обезвреживании АФК осуществляется за счёт связывания глутатиона с субстратом или нуклеофильного замещения с образованием конъюгатов глутатиона GSR, при этом регенерация глутатиона становится невозможной [4]. Повышение

активности GST в ротовой жидкости крыс только на 28 день интоксикации по сравнению с тканями десны можно рассматривать как своеобразный способ защиты от чрезмерного истощения глутатиона в биологических жидкостях. Снижение количества GSH и повышение активности GST также может быть связано с их участием в S-глутатионилировании белков для защиты цистеиновых остатков от необратимого окисления тирамом [3].

Нами было изучено состояние глутатионового статуса в клетках тканей десны и ротовой жидкости крыс при переходе крыс на стандартный корм после прекращения поступления тирама в течение последующих 28 дней (группа T_{сг}) (табл. 3). В тканях десны и ротовой жидкости крыс группы T_{сг} содержание АФК было в 1,35 и 1,79 раз соответственно выше по сравнению с интактными

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС В РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТИРАМА

Таблица 3. Показатели окислительного стресса в тканях десны и ротовой жидкости крыс контрольной группы и после интоксикации тирамом при стандартном корме через 28 дней

Ткани десны			Ротовая жидкость		
T ₂₈	K ₅₆	T _{ст}	T ₂₈	K ₅₆	T _{ст}
Количество АФК, мкмоль/л					
161,65 [111,92–200,97]	105,80 [85,26–133,82]	142,95 [119,27–178,43]	56,36 [34,07–71,28]	27,43 [20,35–34,52]	48,97 [37,54–68,32]
—	—	p=0,68421 [#]	—	—	p=0,85342 [#]
		p=0,04328*			p=0,00105*
Количество GSH, мкг/мл					
196,21 [128,27–296,19]	521,58 [370,82–570,73]	291,13 [152,45–307,76]	99,81 [87,32–133,21]	249,88 [190,87–308,98]	135,15 [92,29–152,55]
—	—	p=0,19032 [#]	—	—	p=0,48125 [#]
		p=0,00389*			p=0,00073*
Количество GSSG, мкг/мл					
7,54 [5,61–10,48]	3,11 [2,37–4,15]	7,32 [5,08–8,63]	4,02 [2,74–4,31]	1,59 [1,21–1,95]	2,64 [2,37–2,99]
—	—	p=0,48125 [#]	—	—	p=0,07526 [#]
		p=0,00008*			p=0,00209*
GSH/GSSG					
31,76 [13,33–39,78]	184,91 [99,16–25,63]	32,49 [2,59–51,06]	34,56 [16,55–37,64]	148,52 [107,63–19,95]	51,20 [38,90–60,72]
—	—	p=0,39305 [#]	—	—	p=0,01854 [#]
		p=0,00021*			p=0,00130*
Активность GPx, мЕд/мл					
49,76 [37,73–66,19]	36,55 [31,69–44,27]	38,92 [35,28–53,26]	46,28 [36,15–70,84]	24,63 [21,69–35,13]	40,19 [31,54–47,64]
—	—	p=0,35268 [#]	—	—	p=0,31500 [#]
		p=0,27986*			p=0,00684*
Активность GST, мЕд/мл					
0,41 [0,29–0,49]	0,17 [0,15–0,19]	0,26 [0,20–0,27]	0,56 [0,45–0,69]	0,33 [0,29–0,37]	0,39 [0,34–0,44]
—	—	p=0,01854 [#]	—	—	p=0,00520 [#]
		p=0,00288*			p=0,07526*
Активность GR, мЕд/мл					
10,20 [7,74–14,52]	7,11 [6,58–8,76]	9,91 [8,25–12,39]	6,01 [5,41–9,28]	3,40 [2,56–4,08]	6,49 [5,01–9,14]
—	—	p=0,57874 [#]	—	—	p=0,585343 [#]
		p=0,02881*			p=0,00008*

Примечание: К – контрольная группа, Т – интоксикация тирамом. p: # – по сравнению с показателями 28 дня интоксикации T₂₈ (p<0,05); * – по сравнению с контролем K₅₆ (p<0,05).

крысами (K₅₆). При этом не обнаружено статистически значимых различий АФК по сравнению с группой крыс, получавших тирам, на 28 день опыта (T₂₈). Количество GSH и GSSG в тканях десны и ротовой жидкости после прекращения поступления тирама также не достигало значений контрольной группы, а содержание восстановленной и окисленной форм глутатиона оставалось сопоставимым с их количеством на 28 день интоксикации.

Антиоксидантная система тканей десны не способна также восстановить тиол-дисульфидное соотношение в клетках после прекращения поступления тирама (в 5,69 раз ниже по сравнению с контролем). В ротовой жидкости отмечено статистически значимое увеличение в 1,48 раз GSH/GSSG по сравнению с 28 днем интоксикации, но при этом данный показатель не достигает уровня в контрольной группе крыс. Активность GR в клетках

Таблица 4. Показатели окислительного стресса в тканях десны и ротовой жидкости крыс контрольной группы и после интоксикации тирамом при приёме экзогенных антиоксидантов через 28 дней

Ткани десны				Ротовая жидкость			
T ₂₈	K ₅₆	T ₉	T _p	T ₂₈	K ₅₆	T ₉	T _p
Количество АФК, мкмоль/л							
161,65 [111,92–200,97]	105,80 [85,26–133,82]	106,69 [87,34–125,87]	85,51 [64,58–118,56]	56,36 [34,07–71,28]	27,43 [20,35–34,52]	30,60 [26,97–43,24]	26,51 [15,27–29,81]
—	—	p=0,03546 [#]	p=0,00684 [#]	—	—	p=0,00209 [#]	p=0,00001 [#]
		p=0,97051*	p=0,31500*			p=0,24745*	p=0,35268*
Количество GSH, мкг/мл							
196,21 [128,27–296,19]	521,58 [370,82–570,73]	324,79 [268,54–395,43]	355,42 [310,32–382,34]	99,81 [87,32–133,21]	249,88 [190,87–308,98]	209,99 [171,28–312,55]	240,66 [201,94–332,26]
—	—	p=0,00520 [#]	p=0,00049 [#]	—	—	p=0,00001 [#]	p=0,00033 [#]
		p=0,07526*	p=0,07526*			p=0,73936*	p=0,63053*
Количество GSSG, мкг/мл							
7,54 [5,61–0,48]	3,11 [2,37–4,15]	4,63 [2,99–6,03]	3,81 [3,01–4,21]	4,02 [2,74–4,31]	1,59 [1,21–1,95]	1,55 [1,30–2,25]	1,41 [1,26–1,56]
—	—	p=0,00389 [#]	p=0,00002 [#]	—	—	p=0,00004 [#]	p=0,00004 [#]
		p=0,04328*	p=0,39305*			p=0,91180*	p=0,39305*
GSH/GSSG							
31,76 [13,33–39,78]	184,91 [99,16–225,63]	62,32 [54,33–89,81]	81,54 [73,04–127,02]	34,56 [16,55–37,64]	148,52 [107,63–219,95]	163,05 [120,10–193,69]	140,39 [121,17–245,66]
—	—	p=0,00021 [#]	p=0,00002 [#]	—	—	p=0,00001 [#]	p=0,00001 [#]
		p=0,02323*	p=0,07526*			p=0,91180*	p=0,97051*
Активность GPx, мЕд/мл							
49,76 [37,73–66,19]	36,55 [31,69–44,27]	36,37 [29,57–47,96]	36,15 [21,98–43,29]	46,28 [36,15–70,84]	24,63 [21,69–35,13]	23,51 [21,26–26,01]	24,57 [21,13–27,14]
—	—	p=0,16549 [#]	p=0,05243 [#]	—	—	p=0,00001 [#]	p=0,00001 [#]
		p=0,97051*	p=0,52885*			p=0,24745*	p=0,31500*
Активность GST, мЕд/мл							
0,41 [0,29–0,49]	0,17 [0,15–0,19]	0,19 [0,16–0,21]	0,16 [0,14–0,22]	0,56 [0,45–0,69]	0,33 [0,29–0,37]	0,34 [0,31–0,38]	0,29 [0,20–0,34]
—	—	p=0,00209 [#]	p=0,00151 [#]	—	—	p=0,00001 [#]	p=0,00001 [#]
		p=0,48125*	p=0,68421*			p=0,63053*	p=0,27986*
Активность GR, мЕд/мл							
10,20 [7,74–4,52]	7,11 [6,58–8,76]	8,75 [5,95–0,43]	5,83 [4,65–8,39]	6,01 [5,41–9,28]	3,40 [2,56–4,08]	4,15 [3,38–5,17]	3,16 [2,52–4,37]
—	—	p=0,123001 [#]	p=0,00288 [#]	—	—	p=0,00288 [#]	p=0,00008 [#]
		p=0,58874*	p=0,10512*			p=0,10512*	p=0,91180*

Примечание: К – контрольная группа, Т – интоксикация тирамом. p: # – по сравнению с показателями 28 дня интоксикации T₂₈ (p<0,05); * – по сравнению с контролем K₅₆ (p<0,05).

тканей десны крыс и ротовой жидкости после прекращения поступления тирама в течение 28 дней сохраняется на повышенном уровне по сравнению с контрольной группой (K₅₆); при этом уровень активности GR не отличается от такового в группе крыс на 28 день интоксикации (T₂₈). Активность GPx в тканях десны после прекращения поступления тирама в группе T_{ст} соответствует активности фермента в группе интактных крыс. В ротовой

жидкости в группе T_{ст} статистически значимо выше (в 1,63 раза) по сравнению с группой контроля для данного возраста крыс и остаётся на уровне 28 дня интоксикации. Активность GST в тканях десны крыс в течение 28 дней при приёме стандартного корма снижается в 1,58 раза по сравнению с 28 днём интоксикации тирамом (группа T₂₈), но при этом не достигает уровня активности фермента интактных крыс (K₅₆).

В ротовой жидкости крыс после прекращения поступления тирама происходит более выраженное снижение активности GST по сравнению с 28 днём интоксикации (T_{28}), достигая при этом значений активности фермента контрольной группы животных (K_{56}).

Для восстановления состояния системы глутатиона после действия тирама изучали корректирующее действие экзогенных антиоксидантов — ресвератрола и препарата экстракта эхинацеи *E. purpurea* (табл. 4).

Добавление к стандартному корму ресвератрола в течение 28 дней после экспериментального воздействия тирама приводило к статистически значимому снижению в клетках тканей десны количества АФК и GSSG (в 1,89 и 1,98 раз соответственно), повышению содержания GSH (в 1,81 раз) и увеличению отношения GSH/GSSG (в 2,57 раз). Активность GST и GR снижалась в 2,56 и 1,75 раз соответственно, достигая соответствующих значений в контрольной группе крыс K_{56} (табл. 4). Препарат эхинацеи *E. purpurea* снижал в тканях десны крыс количество АФК (в 1,52 раза), активность GST (в 2,16 раза). При этом отмечено увеличение в 1,66 раза внутриклеточного пула GSH по сравнению с аналогичными показателями на 28 день интоксикации; на 56 день эксперимента этот показатель достигал значений интактных крыс. Выявленного воздействия на количество GSSG и баланс GSH/GSSG, активность GR в тканях десны крыс, получавших эхинацею, не выявлено; значения данных показателей остаются на уровне 28 дня интоксикации тирамом. Введение с кормом в рацион крыс ресвератрола и эхинацеи не оказывало выраженного влияния на активность GPx в тканях десны по сравнению с 28 днём интоксикации тирамом (группа T_{28}) (табл. 4).

Наиболее выраженное влияние при введении в корм после интоксикации тирамом ресвератрол и эхинацея оказывали на содержание АФК и систему глутатиона в ротовой жидкости крыс (табл. 4). Все исследуемые показатели (количество АФК, содержание GSH, GSSG, их соотношение, активность GPx, GST, GR достигали значений интактных крыс на 56 день эксперимента (группа K_{56}).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведённых исследований установлено, что поступление тирама в дозе 1/50 LD₅₀ в течение 28 дней вызывает окислительный стресс в тканях десны и ротовой жидкости крыс, индуцируя выработку АФК и нарушая баланс в системе глутатиона, который сопровождается компенсаторным повышением активности глутатионзависимых ферментов. В ротовой жидкости нарушение баланса глутатиона и повышение активности GPx и GST проявляется в более ранние сроки, чем в тканях десны. После прекращения поступления тирама использование стандартного корма не позволяет нормализовать исследуемые показатели глутатионовой антиоксидантной системы. Добавление в рацион экзогенных антиоксидантов ресвератрола и экстракта *E. purpurea* приводит

к нормализации показателей системы глутатиона и глутатионзависимых ферментов, достигающих контрольных значений. Наиболее выраженным антиоксидантным действием обладает ресвератрол, который приводит к состоянию физиологического баланса тиол-дисульфидное соотношение GSH/GSSG за счёт увеличения количества глутатиона, снижения содержания АФК, окисленного глутатиона и активности глутатионзависимых ферментов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена за счёт средств Курского государственного медицинского университета.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование одобрено региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета (протокол №7 от 30 ноября 2018 г.), выполнено согласно этическим принципам работы с животными в научных целях Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes и национальным стандартам. Настоящая статья не содержит результатов исследований с участием людей в качестве объектов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kalyabina V.P., Esimbekova E.N., Kopylova K.V., Kratasyuk V.A. (2021) Pesticides: Formulants, distribution pathways and effects on human health — a review. *Toxicol. Rep.*, **8**, 1179-1192. DOI: 10.1016/j.toxrep.2021.06.004
2. Liu K., Li Y., Iqbal M., Tang Z., Zhang H. (2022) Thiram exposure in environment: A critical review on cytotoxicity. *Chemosphere*, **295**, 133928. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.133928
3. Salam S., Arif A., Mahmood R. (2020) Thiram-induced cytotoxicity and oxidative stress in human erythrocytes: An *in vitro* study. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **164**, 14-25. DOI: 10.1016/j.pestbp.2019.12.003
4. Shefel V.O. (2000) *Indirect Food Additives and Polymers: Migration and Toxicology*, CRC Press, FL., 1320 p. DOI: 10.1201/9781482293821
5. Ge J., Hou X., Liu L., Deng Q., Du B., Zeng L. (2024) Comprehensive identification and ubiquitous occurrence of eight classes of rubber-derived vulcanization accelerators in urban dusts. *Environ. Sci. Technol.*, **58**(11), 5117-5128. DOI: 10.1021/acs.est.3c09920
6. Sule R.O., Condon L., Gomes A.V. (2022) A common feature of pesticides: Oxidative stress — the role of oxidative stress in pesticide-induced toxicity. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2022**, 5563759. DOI: 10.1155/2022/5563759
7. Королев В.А., Медведева О.А., Ряднова В.А., Шевченко А.В., Шеховцова О.В., Королев И.В., Королев Е.В. (2023) Оценка состояния пристеночной микробиоты толстой кишки и антиоксидантных свойств колоноцитов крыс

- в условиях экологического дисбиоза и монокоррекции витамином Е и облепиховым маслом. Научные результаты биомедицинских исследований, **9**(1), 71-85. [Korolev V.A., Medvedeva O.A., Riadnova V.A., Shevchenko A.V., Shekhovtsova O.V., Korolev I.V., Korolev E.V. (2023) State of colon parietal microbiota and antioxidant properties of colonocytes in rats with ecological dysbiosis treated with sea vitamin E and buckthorn oil. Research Results in Biomedicine, **9**(1), 71-85.] DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-1-0-5
8. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. (2014) Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. Успехи биологической химии, **54**, 299-348. [Kalinina E.V., Chernov N.N., Novichkova M.D. (2014) Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. Biochemistry (Moscow), **79**(13), 1562-1583.] DOI: 10.1134/S0006297914130082
9. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. (2009) Система глутатиона. I. Синтез, транспорт, глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы. Биомедицинская химия, **55**(3), 255-277. [Kulinsky V.I., Kolesnichenko L.S. (2009) The glutathione system. I. Synthesis, transport, glutathione transferases, glutathione peroxidases. Biomeditsinskaya Khimiya, **55**(3), 255-277.]
10. Abdollahi M., Ranjbar A., Shadnia S., Nikfar S., Rezaie A. (2004) Pesticides and oxidative stress: A review. Med. Sci. Monit., **10**(6), 141-147.
11. Fountoucidou P., Veskoukis A.S., Kerasioti E., Docea A.O., Taitzoglou I.A., Liesivuori J., Tsatsakis A., Kouretas D. (2019) A mixture of routinely encountered xenobiotics induces both redox adaptations and perturbations in blood and tissues of rats after a long-term low-dose exposure regimen: The time and dose issue. Toxicol. Lett., **317**, 24-44. DOI: 10.1016/j.toxlet.2019.09.015
12. Yang J., Cao J., Sun X., Feng Z., Hao D., Zhao X., Sun C. (2012) Effects of long-term exposure to low levels of organophosphorous pesticides and their mixture on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. Cell. Biochem. Funct., **30**(2), 122-128. DOI: 10.1002/cbf.1825
13. Глушков С.И. (2006) Нарушения системы глутатиона и их роль в патогенезе острых интоксикаций ксенобиотиками с различными механизмами токсического действия. Автореф. дисс. канд. наук, Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург. [Glushkov S.I. (2006) Narusheniya sistemy glutatiiona i ix rol' v patogeneze ostryx intoksikacij ksenobiotikami s razlichnyimi mexanizmami toksicheskogo dejstviya. Avtoref. diss. kand. nauk, Voenno-medicinskaya akademiya imeni S.M. Kirova, Sankt Peterburg.]
14. Cereser C., Boget S., Parvaz P., Revol A. (2001) Thiram-induced cytotoxicity is accompanied by a rapid and drastic oxidation of reduced glutathione with consecutive lipid peroxidation and cell death. Toxicology, **163**(2-3), 153-162. DOI: 10.1016/S0300-483X(01)00401-2
15. Grosicka-Maciag E., Kurpios D., Czebot H., Szumilo M., Skrzycki M., Suchocki P., Rahden-Staroń I. (2008) Changes in antioxidant defense systems induced by thiram in V79 chinese hamster fibroblasts. Toxicol. In Vitro, **22**(1), 28-35. DOI: 10.1016/j.tiv.2007.07.006
16. Mo Q., Kulyar M.F., Ding Y., Zhang Y., Pan H., Li J. (2022) Thiram induces myocardial oxidative damage and apoptosis in broilers via interfering their cardiac metabolism. Ecotoxicol. Environ. Saf., **247**, 114225. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2022.114225
17. Poljšak B., Fink R. (2014) The protective role of antioxidants in the defence against ROS/RNS-mediated environmental pollution. Oxid. Med. Cell. Longev., **2014**, 671539. DOI: 10.1155/2014/671539
18. Гуманова Н.Г., Артюшкова Е.Б., Мешельская В.А., Кочкаров В.И., Покровская Т.Г., Даниленко Л.М., Корнеев М.М., Покровский М.В., Пашин Е.Н. (2007) Влияние антиоксидантов pQ510 и ресвератрола на регуляторную функцию эндотелия крыс с моделированной артериальной гипертензией. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, **143**(6), 678-681. [Gumanova N.G., Artyushkova E.B., Metel'skaya V.A., Kochkarov V.I., Pokrovskaya T.G., Danilenko L.M., Korneev M.M., Pokrovskii M.V., Pashin E.N. (2007) Effect of antioxidants pQ510 and resveratrol on regulatory function of the endothelium in rats with modeled arterial hypertension. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, **143**(6), 678-681.] DOI: 10.1007/s10517-007-0212-x
19. Bukowska B., Duchnowicz P. (2022) Molecular mechanisms of action of selected substances involved in the reduction of benzo[a]pyrene-induced oxidative stress. Molecules, **27**(4), 1379. DOI: 10.3390/molecules27041379
20. Xia N., Daiber A., Förstermann U., Li H. (2017) Antioxidant effects of resveratrol in the cardiovascular system. Br. J. Pharmacol., **174**(12), 1633-1646. DOI: 10.1111/bph.13492
21. Burlou-Nagy C., Banica F., Jurca T., Vicas L.G., Marian E., Muresan M.E., Bacskay I., Kiss R., Feher P., Pallag A. (2022) *Echinacea purpurea* (L.) Moench: Biological and pharmacological properties. A review. Plants, **11**, 1244. DOI: 10.3390/plants11091244
22. Thygesen L., Thulin J., Mortensen A., Skibsted L., Per M. (2007) Antioxidant activity of cichoric acid and alkamides from *Echinacea purpurea*, alone and in combination. Food Chem., **101**(1), 74-81. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.11.048
23. Бизунок Н.А. (2006) Эхинацея: ботаника, история, химия, фармакология. Медицинские новости, **4**, 19-26. [Bizunok N.A. (2006) E'xinaceya: botanika, istoriya, ximiya, farmakologiya. Medicinskie novosti, **4**, 19-26.]
24. Salazar-Flores J., Lomeli-Martínez S.M., Ceja-Gálvez H.R., Torres-Jasso J.H., Torres-Reyes L.A., Torres-Sánchez E.D. (2022) Impacts of pesticides on oral cavity health and ecosystems: A review. Int. J. Environ. Res. Public. Health, **19**(18), 11257. DOI: 10.3390/ijerph191811257
25. Tothova L., Kamodyova N., Cervenka T., Celec P. (2015) Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. Front. Cell. Infect. Microbiol., **5**, 73. DOI: 10.3389/fcimb.2015.00073
26. Wang J., Schipper H.M., Velly A.M., Mohit S., Gornitsky M. (2015) Salivary biomarkers of oxidative stress: A critical review. Free Radic. Biol. Med., **85**, 95-104. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.04.005
27. Zukowski P., Maciejczyk M., Waszkiel D. (2018) Sources of free radicals and oxidative stress in the oral cavity. Arch. Oral. Biol., **92**, 8-17. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2018.04.018
28. Хабриев Р.У. (ред.) (2005) Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Медицина, Москва, 832 с. [Khabriev R.U. (ed.) (2005) Rukovodstvo po e'ksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novy'x farmakologicheskix veshhestv. Medicina, 832 p.]

Поступила в редакцию: 24. 01. 2024.
После доработки: 07. 04. 2024.
Принята к печати: 19. 04. 2024.

DYNAMICS OF THE CONTENT OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND THE STATE OF THE GLUTATHIONE SYSTEM IN THE ORAL CAVITY DURING SUBCHRONIC INTOXICATION WITH THE FUNGICIDE THIRAM AND ITS ANTIOXIDANT CORRECTION

V.A. Korolev, E.V. Felker, L.A. Yachmeneva, L.A. Babkina, Yu.A. Azarova, M.I. Churilin, A.I. Milova*

Kursk State Medical University,
3 Karl Marx str., Kursk, 305041 Russia; *e-mail: L-Babkina@yandex.ru

Thiram is a dithiocarbamate derivative, which is used as a fungicide for seed dressing and spraying during the vegetation period of plants, and also as an active vulcanization accelerator in the production of rubber-based rubber products. In this study the content of reactive oxygen species (ROS) and the state of the glutathione system have been investigated in the oral fluid and gum tissues of adult male Wistar rats treated with thiram for 28 days during its administration with food at a dose of 1/50 LD₅₀. Thiram induced formation of ROS in the oral cavity; this was accompanied by an imbalance in the ratio of reduced and oxidized forms of glutathione due to a decrease in glutathione and an increase in its oxidized form as compared to the control. Thiram administration caused an increase in the activity of glutathione-dependent enzymes (glutathione peroxidase, glutathione transferase, and glutathione reductase). However, the time-course of enzyme activation in the gum tissues and oral fluid varied in dependence on the time of exposure to thiram. In the oral fluid of thiram-treated rats changes in the antioxidant glutathione system appeared earlier. The standard diet did not allow the glutathione pool to be fully restored to physiological levels after cessation of thiram intake. The use of exogenous antioxidants resveratrol and an *Echinacea purpurea* extract led to the restoration of redox homeostasis in the oral cavity.

The whole English version is available at <http://pbmc.ibmc.msk.ru>.

Key words: fungicide thiram; dithiocarbamates; oral cavity; oxidative stress, glutathione and glutathione-dependent enzymes; antioxidants

Funding. The study work was carried out at the expense of the Kursk State Medical University.

Received: 24.01.2024; revised: 07.04.2024; accepted: 19.04.2024.