

## Оценка редокс-потенциала и окислительного повреждения ДНК (8-OHdG) при субхронической интоксикации тирамом

© 2025. В. А. Королев, д. б. н., заведующий кафедрой,  
А. В. Седых, ассистент, Е. В. Фелькер, к. м. н., заведующая кафедрой,  
И. В. Королев, студент, В. А. Ряднова, ассистент, Е. В. Королев, студент,  
ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России,  
305029, Россия, г. Курск, ул. Карла-Маркса, д. 3,  
e-mail: medecol1@yandex.ru

В настоящем исследовании проведено изучение влияния окислительного стресса, вызванного субхронической интоксикацией фунгицидом тирам на систему антиоксидантной защиты организма крыс и разработаны способы коррекции антиоксидантного статуса. В результате поступления пестицидного препарата было отмечено значительное увеличение количества активных форм кислорода (ROS) (~3,26 раза по отношению к контролю), снижение восстановленного глутатиона (GSH) (~2,63 раза) и общей антиоксидантной активности (ОАА) (~1,64 раза) в плазме крови. Уровень 8-оксо-2'-дезоксигуанозина (8-OHdG) оказался значительно выше ( $p < 0,05$ ) в группах интоксикации по сравнению с контрольными значениями. После проведения экспериментальной субхронической интоксикации были использованы антиоксиданты – витамин Е в дозе 8,58 мг/кг и экстракт расторопши в дозе 13,74 мг/кг. Их применение в течение 30 суток значительно восстановило показатель редокс-потенциала клеток организма лабораторных животных. Наиболее высокие антиоксидантные свойства в нашем исследовании были отмечены при применении витамина Е, что позволяет рекомендовать его в качестве средства коррекции последствий, вызванных действием на организм окислительного стресса. На основании проведенного исследования можно предположить, что 8-OHdG является биомаркером для оценки рисков, связанных с чрезмерным образованием свободных радикалов при окислительном стрессе.

**Ключевые слова:** тирам, глутатион восстановленный, 8-оксо-2'-дезоксигуанозин, общая антиоксидантная активность, активные формы кислорода (ROS).

## Assessment of the redox potential and DNA oxidative damage (8-OHdG) in subchronic thiram intoxication

© 2025. V. A. Korolev ORCID: 0000-0002-4376-4284, A. V. Sedykh ORCID: 0000-0002-6117-0666,  
E. V. Felker ORCID: 0000-0002-7948-7290, I. V. Korolev ORCID: 0000-0002-6335-4311,  
V. A. Ryadnova ORCID: 0000-0001-6957-7869, E. V. Korolev ORCID: 0000-0003-3324-8689,  
Kursk State Medical University,  
3, Karl Marx St., Kursk, Russia, 305029,  
e-mail: medecol1@yandex.ru

Thiram is a contact fungicide, considered a seed dressing for many agricultural crops. This preparation has high cumulative, toxic properties and can be preserved in agricultural processing products for up to one and a half years. In the present study, we studied the effect of oxidative stress caused by subchronic thiram intoxication on the antioxidant defense system of the rat organism and developed methods for correcting the antioxidant status. Pesticide ingestion resulted in a significant increase in the amount of reactive oxygen species (ROS) (~3.26 times compared to control), a decrease in reduced glutathione (GSH) (~2.63 times) and total antioxidant activity (TAA) (~1.64 times) in blood plasma. The level of 8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in the intoxicated groups compared to the control values. After experimental subchronic intoxication, antioxidants were used – vitamin E at a dose of 8.58 mg/kg and milk thistle extract at a dose of 13.74 mg/kg. Their application within 30 days significantly restored the redox potential of the body cells of laboratory animals. The highest antioxidant properties in our study were noted with vitamin E, which allows us to recommend it as a means of correcting the effects caused by the action of oxidative stress in the body. Based on this study, it can be assumed that 8-OHdG is a biomarker for assessing the risks associated with excessive formation of free radicals during oxidative stress. The results of this study can be used in the development of antioxidant therapy to alleviate the effects associated with oxidative stress.

**Keywords:** thiram, reduced glutathione, 8-oxo-2'-deoxyguanosine, total antioxidant activity, reactive oxygen species (ROS).

Тирам (тетраметилтиурамдисульфид, ТМДТ) – фунгицид контактного действия, относящийся к классу дитиокарбаматов II класса опасности, используемый как протравитель семян для многих сельскохозяйственных культур [1]. Препарат может подавлять окислительно-восстановительные процессы в организме вследствие угнетения работы антиоксидантной системы защиты организма. Несмотря на высокую экономическую эффективность применения, данный препарат имеет высокие кумулятивные, токсические свойства и способен сохраняться в продуктах переработки агрокультур до полутора лет, в связи с чем представляет экологическую опасность [2].

Токсическое действие тирама напрямую влияет на содержание восстановленного глутатиона (GSH) [3]. Его основной функцией является участие в защите клеток от продуктов окислительного стресса [4–7].

Продукты метаболизма пестицидных препаратов в организме вызывают окислительный стресс, который приводит к образованию свободных радикалов (СР), в том числе в виде реактивных форм кислорода (ROS) [8]. Возникновение окислительного стресса происходит, когда скорость образования активных форм кислорода превышает способности клетки к детоксикации [9]. Также накопление активных форм кислорода (АФК) приводит к повреждению ядерной ДНК. Ключевой формой свободнорадикального повреждения ДНК служит 8-оксо-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG) [10].

Общая антиоксидантная активность (ОАА) – это интегральный показатель антиоксидантной системы, отражающий её способность противодействовать развитию свободнорадикальных реакций в какой-либо модельной системе за счёт чрезмерного образования активных форм кислорода, в первую очередь перекиси водорода [11, 12].

Для восстановления редокс-потенциала клеток применяются препараты растительного происхождения. Выраженные антиоксидательные свойства отмечены у витамина Е и расторопши [13, 14].

Целью исследования являлось изучение состояния редокс-гомеостаза организма при субхронической интоксикации фунгицидом тирам и коррекции растительными антиоксидантами. С учётом высокого удельного веса экотопологий в структуре общей заболеваемости необходима разработка методов коррекции антиоксидантного статуса с помощью антиоксидантной терапии. Для торможения

процессов окислительного стресса и нейтрализации свободных радикалов перспективным является применение витамина Е (токоферола ацетат) и экстракта расторопши.

### Материалы и методы исследования

Для определения активности антиоксидантных ферментов использовали следующие коммерческие наборы: набор реагентов для определения антиоксидантов в микропланшетном формате, 709001, 96 тестов «Cayman Chemical» (USA); OxiSelect™ In Vitro ROS/RNS Assay Kit (Green Fluorescence), STA-347, 96 assays «Cell Biolabs» (USA); CEA294Ge ELISA Kit for Glutathione (GSH) «Cloud-Clone Corp.» (USA) и CEA660Ge ELISA Kit for 8-Hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) «Cloud-Clone Corp.» (USA). Остальные общие лабораторные материалы были получены от компании «Helicon» (Москва). Для проведения интоксикации использовали тирам (137-26-8) чистотой 97% «Sigma-Aldrich» (USA). Для проведения коррекции использовали витамин Е (токоферола ацетат) (Химфармпродукт, Россия) и экстракт семян расторопши пятнистой (медицинский препарат Грин Сайд, Россия).

Эксперимент был проведён на 240 крысах – самцах линии Вистар возрастом 2 месяца, с массой тела 200–220 г, которые содержались в условиях вивария в осенне-зимний период и получали стандартный пищевой рацион. Для решения поставленных задач животные были разделены на 8 групп, по 30 животных в каждой. Первая группа – здоровые, интактные крысы, которые служили биологическим контролем. Во второй–пятой группах моделировалась субхроническая интоксикация. Животные получали пестицид тирам вместе с гранулированным кормом 1 раз в день утром в дозе  $1/50 LD_{50}$  на протяжении 4 недель. Забор образцов крови производился на 7, 14, 21 и 28 сут, соответственно. Животные шестой группы получали пестицид тирам вместе с пищей 1 раз в день в дозе  $1/50 LD_{50}$  (8 мг/кг) на протяжении 28 дней, после чего животные были переведены на стандартный пищевой рацион. В седьмой группе моделировалась интоксикация на протяжении 28 сут, с последующим применением растительного антиоксиданта – витамина Е в дозе 8,58 мг/кг, а в 8 группе использовался антиоксидант расторопша в дозе 13,74 мг/кг в течение 4 недель. Дозировку витамина Е и расторопши рассчитывали для крыс массой тела 200 г [15].

Расчёт дозы препарата тирам выполнялся, исходя из токсикологических данных: LD<sub>50</sub> для крыс составляет 400 мг/кг. В связи с тем, что в эксперименте использовались дозы 1/50 LD<sub>50</sub>, то после расчёта доза для экспериментальных крыс-самцов составила 8 мг/кг [15].

Материалом настоящего исследования послужила плазма крови экспериментального животного. Исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986). Забой осуществляли декапитацией животных под лёгким эфирным наркозом.

Метод определения общей антиоксидантной активности (ОАА) основан на способности антиоксидантов ингибировать окисление 2,2'-азино-бис-[3-этилбензтиазолина сульфоната] (ABTS) до ABTS\*\*+ метмиоглобином, с последующим анализом на микропланшетном ридере Varioscan Flash «Thermo Fisher Scientific» (USA) при длине волны 450 нм.

Для определения реактивных форм кислорода (ROS) использовали флюориметрический метод с введением флюоресцентной метки DCF и последующим анализом на микропланшетном ридере Varioscan Flash «Thermo Fisher Scientific» (USA) при длине волны 480 нм.

Определение количественного содержания GSH и 8-OHdG основано на конкурентном методе иммуноферментного анализа (ИФА). Конкурентная реакция происходит с меченым биотином и сорбированными антителами. Затем авидин, конъюгированный с пероксидазой хрена (HRP), добавляли в каждую лунку планшета и проводили инкубацию с помощью микропланшетного ридера Varioscan Flash «Thermo Fisher Scientific» (USA) при длине волны 450 нм.

**Статистический анализ.** Использовали методы стандартной статистики: среднее значение, стандартная ошибка, стандартное отклонение, дисперсия. Для проверки статистических гипотез использовали критерий Стьюдента (*t*). Пороговый уровень статистической значимости принимали равным 0,05.

### Результаты и обсуждение

В приведённой ниже таблице представлены результаты, в которых отражены значения GSH, 8-OHdG, ROS, ОАА (табл.).

Применение ТМТД привело к снижению показателя GSH на протяжении всего периода

субхронической интоксикации. Максимальные изменения были отмечены на 28 сут интоксикации тирамом – активность восстановленного глутатиона снизилась на 62,0% по сравнению с контролем. Переход животных к стандартному рациону, а также применение расторопши привело к изменению исследуемого показателя в сторону контрольных цифр. Таким образом, произошло увеличение на 37,6 и на 58,8%, соответственно, по отношению к группе 5. Однако контрольные значения GSH достигнуты не были. Применение витамина Е восстанавливало GSH до контрольных значений.

Противоположные результаты отмечали при исследовании 8-OHdG. На протяжении всего периода моделирования субхронической интоксикации содержание 8-OHdG увеличивалось на 8,7; 19,7; 25,6% и достигло максимальных значений на 28 сут субхронической интоксикации, что выше контрольных значений на 28,7%. При переходе на стандартный рацион наблюдалось незначительное восстановление показателя. С другой стороны, применение растительного антиоксиданта – витамина Е, а также применение расторопши привело к полному восстановлению уровня 8-OHdG.

Максимальное значение свободных радикалов отмечалось на 28 сут субхронической интоксикации и составило 0,85±0,08 мкмоль/л. Переход к стандартному пищевому рациону после проведения субхронической пестицидной интоксикации привело к незначительному снижению показателя по отношению к контрольным значениям. Использование витамина Е и расторопши изменило значения показателя на 203,6 и на 183,3%, соответственно, по отношению к группе интоксикации на 28 сут. Однако контрольные значения при применении в качестве антиоксидантных препаратов, расторопши и витамина Е, достигнуты не были.

Показатель ОАА крови снижался на протяжении всего периода интоксикации и значительно отличался от контрольных цифр. Во всех группах интоксикации отмечалось снижение на 9,2; 18,9; 30,4 и 39,3%, соответственно по сравнению с контролем. Переход на стандартный рацион привёл к незначительному увеличению ОАА по сравнению с контрольным значением. Применение расторопши привело к значительному восстановлению ОАА (*p*<0,05), однако восстановления до уровня контрольных значений достигнуто не было. Применение витамина Е

Таблица / Table

Влияние тирама на значения показателей глутатиона восстановленного (GSH), 8-оксо-2'-дезоксигуанозин (8-OHdG), реактивных форм кислорода (ROS) и общей антиоксидантной активности (ОАА) / The effect of thiram on reduced glutathione (GSH), 8-oxo-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), reactive oxygen species (ROS) and total antioxidant activity (TAA) values

Группа / Groups	GSH, мкг/мл µg/mL	8-OHdG, мкг/мл µg/mL	ROS, мкмоль/л µmol/L	ОАА ТАА, ммоль/л mmol/L
1. Контроль 1. Control	148±14	180±19	0,30±0,02	66±8
2. Интоксикация 7 сут. 2. Intoxication 7 days	90±9 <sup>c</sup>	196±21	0,5±0,1 <sup>c</sup>	60±6
3. Интоксикация 14 сут. 3. Intoxication 14 days	82±8 <sup>c</sup>	216±22	0,6±0,1 <sup>c</sup>	54±7
4. Интоксикация 21 сут. 4. Intoxication 21 days	61±6 <sup>c</sup>	226±25	0,7±0,1 <sup>c</sup>	46±5 <sup>a</sup>
5. Интоксикация 28 сут. 5. Intoxication 28 days	56±7 <sup>c</sup>	232±23	0,9±0,1 <sup>c</sup>	40±4 <sup>b</sup>
6. Интоксикация+обычная еда 6. Intoxication+regular food	90±9 <sup>c,d</sup>	216±22	0,6±0,1 <sup>c,f</sup>	48±5
7. Интоксикация+витамин Е 7. Intoxication+vitamin E	153±15 <sup>c,f</sup>	115±12 <sup>c,f</sup>	0,30±0,02 <sup>c,f</sup>	66±7 <sup>a,d</sup>
8. Интоксикация+расторопша 8. Intoxication+milk thistle	137±14 <sup>b,f</sup>	175±18	0,30±0,03 <sup>c,f</sup>	64±7 <sup>d</sup>

Примечание: достоверность различий: a – p<0,05 по сравнению с группой 1; b – p<0,01 по сравнению с группой 1; c – p<0,001 по сравнению с группой 1; d – p<0,01 по сравнению с группой 5; f – p<0,001 по сравнению с группой 5.

Note: reliability of differences: a – p<0.05 compared with the group 1; b – p<0.01 compared with the group 1; c – p<0.001 compared with the group 1; d – p<0.01 compared with the group 5; f – p<0.001 compared with the group 5.

способствовало полному восстановлению исследуемого показателя.

В настоящее время доказано, что дисбаланс прооксидантов и антиоксидантов является следствием развития окислительного стресса в организме [13–18]. Нами показано, что поступление фунгицидного препарата тирам на протяжении 28 сут приводит к увеличению содержания уровня ROS и снижению GSH, а также к угнетению ОАА (p<0,05). Реактивные формы кислорода инициируют усиление эффектов оксидативного стресса за счёт повреждения ДНК [19]. В подтверждение этого, нами было отмечено увеличение уровня 8-OHdG во время моделирования субхронической интоксикации ТМДТ. Группой учёных из Китая было также показано, что экспрессия 8-OHdG заметно увеличилась после интоксикации паракватом. Это подтверждает, что чрезмерное производство ROS, в особенности ОН-радикала, приводит к окислительному повреждению ДНК и при использовании других пестицидных препаратов [20]. Другая группа учёных в своём исследовании также отметила, что действие формальдегида отразилось на уровне 8-OHdG и привело к его увеличению [21].

Активные формы кислорода являются побочным продуктом внутриклеточного метаболического пути [9]. Окислительный стресс считается одним из важнейших механизмов, лежащих в основе угнетения синтеза GSH [22]. Полученные нами результаты схожи с результатом работы [23], в которой исследованы метаболические эффекты действия метанола и формальдегида на организм крыс, а также работы, в которой изучено действие тирама в дозе 150 µM на фибробласты китайских хомячков [24, 25].

### Заключение

В исследовании нами показано, что увеличение количества активных форм кислорода приводит к нарушению окислительно-восстановительного баланса клетки и, как следствие, снижению уровня ОАА. Нами была выдвинута гипотеза, что изменение окислительного статуса клетки под действием пестицида тирам можно восстановить с помощью перехода на стандартный пищевой рацион, а также используя витамин Е и расторопшу в качестве растительного антиоксиданта. Однако переход к обычной еде незначительно

изменил биохимический дисбаланс, в отличие от коррекции с применением витамина Е, что подтверждает его высокие антиоксидантные свойства. Применение расторопши также способствовало восстановлению изучаемых показателей, но контрольные значения в данной группе коррекции достигнуты не были. Результаты настоящего исследования могут быть использованы при составлении антиоксидантной терапии для купирования последствий, связанных с окислительным стрессом.

### Литература

1. Thiram // Occupational exposures in insecticide application, and some pesticides. V. 53. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1991. P. 403–422.
2. Grosicka E., Sadurska B., Szumiło M., Grzela T., Łazarczyk P., Niderla-Bielińska J., Rahden-Staroń I. Effect of glutathione depletion on apoptosis induced by thiram in Chinese hamster fibroblasts // *Int. Immunopharmacol.* 2005. V. 5. No. 13–14. P. 1945–1956. doi: 10.1016/j.intimp.2005.06.017
3. Cereser C., Boget S., Parvaz P., Revol A. Thiram-induced cytotoxicity is accompanied by a rapid and drastic oxidation of reduced glutathione with consecutive lipid peroxidation and cell death // *Toxicology.* 2001. V. 163. No. 2–3. P. 153–162. doi: 10.1016/s0300-483x(01)00401-2
4. Pastore A., Federici G., Bertini E., Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification // *Clin. Chim. Acta.* 2003. V. 333. No. 1. P. 19–39. doi: 10.1016/s0009-8981(03)00200-6
5. Королев В.А., Ляшев Ю.Д., Грибач И.В., Кирищева Н.Е. Изменение прооксидантно-антиоксидантного баланса при хронической интоксикации банколом и эффективность профилактических мероприятий с применением мексидола // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2014. № 2. С. 19–22.
6. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. V. 1830. No. 5. P. 3217–3266. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.09.018
7. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатиотрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов // *Успехи биологической химии.* 2014. Т. 54. С. 299–348.
8. Невредимова Т.С., Мармий Н.В., Есипов Д.С., Есипова О.В., Швец В.И. 8-оксо-2'-дезоксигуанозин – биомаркер окислительного стресса // *Тонкие химические технологии.* 2014. Т. 9. № 5. С. 3–10.
9. Klaunig J.E., Kamendulis L.M., Hocevar B.A. Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis // *Toxicol. Pathol.* 2010. V. 38. No. 1. P. 96–109. doi: 10.1177/0192623309356453
10. Wu L.L., Chiou C.C., Chang P.Y., Wu J.T. Urinary 8-OHdG: A marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics // *Clin. Chim. Acta.* 2004. V. 339. No. 1–2. P. 1–9. doi: 10.1016/j.cccn.2003.09.010
11. Клебанов Г.И., Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В., Любичкий О.Б., Владимиров Ю.А. Антиоксидантная активность сыворотки крови // *Вестн. РАМН.* 1999. Т. 99. № 2. С. 15–22.
12. Долгарева С.А., Сиделева Е.Н., Бушмина О.Н. Фармакологическая коррекция нарушений, вызванных развитием оксидантного стресса в условиях экспериментального острого деструктивного панкреатита на фоне хронической алкогольной интоксикации // *Innova.* 2017. № 4 (9). С. 27–29. doi: 10.21626/innova/2017.4/05
13. Zhang J., Perry G., Smith M.A., Robertson D., Olson S.J., Graham D.G., Montine T.J. Parkinson's disease is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons // *Am. J. Pathol.* 1999. V. 154. No. 5. P. 1423–1429. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65396-5
14. Battisti V., Maders L.D., Bagatini M.D., Reetz L.G., Chiesa J., Battisti I.E., Gonçalves J.F., Duarte M.M., Schetinger M.R., Morsch V.M. Oxidative stress and antioxidant status in prostate cancer patients: relation to Gleason score, treatment and bone metastasis // *Biomed. Pharmacother.* 2011. V. 65. No. 7. P. 516–524. doi: 10.1016/j.biopha.2011.06.003
15. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. П.У. Хабриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.
16. Arioiz D.T., Camuzcuoglu H., Toy H., Kurt S., Celik H., Aksoy N. Serum prolidase activity and oxidative status in patients with stage I endometrial cancer // *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2009. V. 19. No. 7. P. 1244–1247. doi: 10.1111/IGC.0b013e3181af711e
17. Patel J.B., Shah F.D., Shukla S.N., Shah P.M., Patel P.S. Role of nitric oxide and antioxidant enzymes in the pathogenesis of oral cancer // *J. Cancer Res. Ther.* 2009. V. 5. No. 4. P. 247–253. doi: 10.4103/0973-1482.59898
18. Bhagat S.S., Ghone R.A., Suryakar A.N., Hundekar P.S. Lipid peroxidation and antioxidant vitamin status in colorectal cancer patients // *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 2011. V. 55. No. 1. P. 72–76.
19. Beevi S.S., Rasheed A.M., Geetha A. Evaluation of oxidative stress and nitric oxide levels in patients with oral cavity cancer // *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2004. V. 34. No. 7. P. 379–385. doi: 10.1093/jjco/hyh058
20. Zhang H.L., Liu Y.F., Luo X.R., Tan W.H., Huang L. Saturated hydrogen saline protects rats from acute lung injury induced by paraquat // *World J. Emerg. Med.* 2011. V. 2. No. 2. P. 149–153. doi: 10.5847/wjem.j.1920-8642.2011.02.013
21. Ciftci G., Aksoy A., Cenesiz S., Sogut M.U., Yarim G.F., Nisbet C., Guvenc D., Ertekin A. Therapeutic role of curcumin in oxidative DNA damage caused by formaldehyde // *Microsc. Res. Tech.* 2015. V. 78. No. 5. P. 391–395. doi: 10.1002/jemt.22485

22. Michiels C., Raes M., Toussaint O., Remacle J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* 1994. V. 17. No. 3. P. 235–248. doi: 10.1016/0891-5849(94)90079-5

23. MacAllister S.L., Choi J., Dedina L., O'Brien P.J. Metabolic mechanisms of methanol/formaldehyde in isolated rat hepatocytes: carbonyl-metabolizing enzymes versus oxidative stress // *Chem. Biol. Interact.* 2011. V. 191. No. 1–3. P. 308–314. doi: 10.1016/j.cbi.2011.01.017

24. Тутельян А.В., Клебанов Г.И., Ильина С.Е., Любичский О.Б. Сравнительная оценка антиоксидантных свойств иммунорегуляторных препаратов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2003. Т. 136. № 8. С. 179–183.

25. Ibuki F.K., Bergamaschi C.T., da Silva Pedrosa M., Nogueira F.N. Effect of vitamin C and E on oxidative stress and antioxidant system in the salivary glands of STZ-induced diabetic rats // *Arch. Oral Biol.* 2020. V. 116. Article No. 104765. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104765

## References

1. Thiram // *Occupational exposures in insecticide application, and some pesticides.* V. 53. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1991. P. 403–422.

2. Grosicka E., Sadurska B., Szumiło M., Grzela T., Łazarczyk P., Niderla-Bielińska J., Rahden-Staroń I. Effect of glutathione depletion on apoptosis induced by thiram in Chinese hamster fibroblasts // *Int. Immunopharmacol.* 2005. V. 5. No. 13–14. P. 1945–1956. doi: 10.1016/j.intimp.2005.06.017

3. Cereser C., Boget S., Parvaz P., Revol A. Thiram-induced cytotoxicity is accompanied by a rapid and drastic oxidation of reduced glutathione with consecutive lipid peroxidation and cell death // *Toxicology.* 2001. V. 163. No. 2–3. P. 153–162. doi: 10.1016/s0300-483x(01)00401-2

4. Pastore A., Federici G., Bertini E., Piemonte F. Analysis of glutathione: Implication in redox and detoxification // *Clin. Chim. Acta.* 2003. V. 333. No. 1. P. 19–39. doi: 10.1016/s0009-8981(03)00200-6

5. Korolev V.A., Lyashev Yu.D., Gribach I.V., Kirishcheva N.E. Changing prooxidant-antioxidant balance in chronic intoxication with bankcol and the effectiveness of preventive measures with the use of Mexidol // *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorov'e"*. 2014. No. 2. P. 19–22 (in Russian).

6. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. V. 1830. No. 5. P. 3217–3266. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.09.018

7. Kalinina E.V., Chernov N.N., Novichkova M.D. Role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in the regulation of redox-dependent processes // *Uspekhi biologicheskoy khimii.* 2014. No. 54. P. 299–348 (in Russian).

8. Nevredimova T.S., Marmiy N.V., Esipov D.S., Esipova O.V., Shvets V.I. 8-oxo-2'-deoxyguanosine – biomarker of the oxidative stress // *Fine Chemical Technologies.* 2014. V. 9. No. 5. P. 3–10 (in Russian).

9. Klaunig J.E., Kamendulis L.M., Hocevar B.A. Oxidative stress and oxidative damage in carcinogenesis // *Toxicol. Pathol.* 2010. V. 38. No. 1. P. 96–109. doi: 10.1177/0192623309356453

10. Wu L.L., Chiou C.C., Chang P.Y., Wu J.T. Urinary 8-OHdG: A marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics // *Clin. Chim. Acta.* 2004. V. 339. No. 1–2. P. 1–9. doi: 10.1016/j.cccn.2003.09.010

11. Klebanov G.I., Teselkin Yu.O., Babenkova I.V., Lyubitskiy O.B., Vladimirov Yu.A. Serum antioxidant activity // *Vestnik RAMN.* 1999. V. 99. No. 2. P. 15–22 (in Russian).

12. Dolgareva S.A., Sideleva E.N., Bushmina O.N. Pharmacological correction of violations, caused by the development of oxidant stress in the conditions of experimental acute destructive pancreatitis on the background chronic alcohol intoxication // *Innova.* 2017. No. 4 (9). P. 27–29 (in Russian). doi: 10.21626/innova/2017.4/05

13. Zhang J., Perry G., Smith M.A., Robertson D., Olson S.J., Graham D.G., Montine T.J. Parkinson's disease is associated with oxidative damage to cytoplasmic DNA and RNA in substantia nigra neurons // *Am. J. Pathol.* 1999. V. 154. No. 5. P. 1423–1429. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65396-5

14. Battisti V., Maders L.D., Bagatini M.D., Reetz L.G., Chiesa J., Battisti I.E., Gonçalves J.F., Duarte M.M., Schetinger M.R., Morsch V.M. Oxidative stress and antioxidant status in prostate cancer patients: relation to Gleason score, treatment and bone metastasis // *Biomed. Pharmacother.* 2011. V. 65. No. 7. P. 516–524. doi: 10.1016/j.biopha.2011.06.003

15. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / Ed. R.U. Khabriev. Moskva: Meditsina, 2005. 832 p. (in Russian).

16. Arioz D.T., Camuzcuoglu H., Toy H., Kurt S., Celik H., Aksoy N. Serum prolidase activity and oxidative status in patients with stage I endometrial cancer // *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2009. V. 19. No. 7. P. 1244–1247. doi: 10.1111/IGC.0b013e3181af711e

17. Patel J.B., Shah F.D., Shukla S.N., Shah P.M., Patel P.S. Role of nitric oxide and antioxidant enzymes in the pathogenesis of oral cancer // *J. Cancer Res. Ther.* 2009. V. 5. No. 4. P. 247–253. doi: 10.4103/0973-1482.59898

18. Bhagat S.S., Ghone R.A., Suryakar A.N., Hundekar P.S. Lipid peroxidation and antioxidant vitamin status in colorectal cancer patients // *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 2011. V. 55. No. 1. P. 72–76.

19. Beevi S.S., Rasheed A.M., Geetha A. Evaluation of oxidative stress and nitric oxide levels in patients with oral cavity cancer // *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2004. V. 34. No. 7. P. 379–385. doi: 10.1093/jjco/hyh058

20. Zhang H.L., Liu Y.F., Luo X.R., Tan W.H., Huang L. Saturated hydrogen saline protects rats from acute lung injury induced by paraquat // *World J. Emerg. Med.* 2011. V. 2. No. 2. P. 149–153. doi: 10.5847/wjem.j.1920-8642.2011.02.013
21. Ciftci G., Aksoy A., Cenesiz S., Sogut M.U., Yarim G.F., Nisbet C., Guvenc D., Ertekin A. Therapeutic role of curcumin in oxidative DNA damage caused by formaldehyde // *Microsc. Res. Tech.* 2015. V. 78. No. 5. P. 391–395. doi: 10.1002/jemt.22485
22. Michiels C., Raes M., Toussaint O., Remacle J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.* 1994. V. 17. No. 3. P. 235–248. doi: 10.1016/0891-5849(94)90079-5
23. MacAllister S.L., Choi J., Dedina L., O'Brien P.J. Metabolic mechanisms of methanol/formaldehyde in isolated rat hepatocytes: carbonyl-metabolizing enzymes versus oxidative stress // *Chem. Biol. Interact.* 2011. V. 191. No. 1–3. P. 308–314. doi: 10.1016/j.cbi.2011.01.017
24. Tutel'yan A.V., Klebanov G.I., Il'ina S.E., Lyubitskii O.B. Comparative study of antioxidant properties of immunoregulatory peptides // *Bulletin of experimental biology and medicine.* 2003. V. 136. No. 8. P. 179–183 (in Russian).
25. Ibuki F.K., Bergamaschi C.T., da Silva Pedrosa M., Nogueira F.N. Effect of vitamin C and E on oxidative stress and antioxidant system in the salivary glands of STZ-induced diabetic rats // *Arch. Oral Biol.* 2020. V. 116. Article No. 104765. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104765