



DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-1-0-6

УДК 616.311.2-085:615.9:632.95

# Морфологические изменения тканей десны при интоксикации тирамом с последующей коррекцией препаратами ресвератрол и облепиховое масло

В.А. Королев , Е.С. Мишина , Е.В. Фелькер , А.В. Шевченко 

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет», ул. Карла Маркса, д. 3, г. Курск, 305041, Российская Федерация  
Автор для переписки: А.В. Шевченко (alina7227@mail.ru)

## Резюме

**Актуальность:** Широкое применение пестицидов может приводить к нарушению экологического равновесия между внешней средой и организмом человека, провоцируя развитие окислительного стресса, что приводит к росту токсических форм поражений органов и систем макроорганизма. С целью подавления окислительного стресса, который развивается при многих патологических процессах целесообразно применять препараты антиоксидантного ряда, которые угнетают процессы образования свободных радикалов. **Цель исследования:** Изучить морфологические изменения тканей десны при интоксикации тирамом с последующей коррекцией препаратами ресвератрол и облепиховое масло. **Материалы и методы:** Эксперимент был выполнен на 50 крысах, которые получали фунгицид тирам в течение 28 дней, с последующей коррекцией ресвератролом или облепиховым маслом. Для оценки выраженности воспалительных изменений в гистологических препаратах анализировали морфофункциональные изменения эпителия слизистой и клеточный состав субэпителиального слоя. По кариологическим признакам дифференцировали клетки фибробластического дифферона, макрофаги, гранулоциты и лимфоциты, а также измеряли толщину эпителиального пласта, площадь, занимаемую волокнистым, сосудистым и клеточным компонентом. **Результаты:** В экспериментальных группах «тирам 28 суток» и «тирам+стандартный рацион» у всех крыс наблюдалось развитие воспалительной реакции тканей десны, проявляющейся в гиперкератозе и увеличении толщины эпителия до 173,438 мкм и 230,568 мкм соответственно, диффузной полиморфно-клеточной инфильтрацией субэпителиального слоя в основном за счет гранулоцитов до 21,40 и 21,92 соответственно, расширением просвета и кровенаполнением сосудов микроциркуляторного русла. После применения препаратов ресвератрол и облепиховое масло происходило восстановление толщины эпителиального слоя до 114,07 мкм и 190,03 мкм соответственно, уменьшение интерстициального отека и клеточной инфильтрации субэпителиального слоя. При этом за счет миграции и увеличения клеток фибробластического дифферона (28,96 и 29,44) наблюдались процессы неокollaгеногенеза и увеличение волокнистого компонента до 65,62 и 33,69 после применения ресвератрола и облепихового масла соответственно. **Заключение:** Доказана эффективность монотерапии ресвератролом и облепиховым маслом в нормализации морфологии тканей десны. При этом ресвератрол обладает как противовоспалительным эффектом, так и высоким регенеративным действием.

**Ключевые слова:** тирам; ресвератрол; облепиховое масло; регенерация

**Для цитирования:** Королев ВА, Мишина ЕС, Фелькер ЕВ, и др. Морфологические изменения тканей десны при интоксикации тирамом с последующей коррекцией препаратами ресвератрол и облепиховое масло. Научные результаты биомедицинских исследований. 2024;10(1):99-111. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-1-0-6

# Morphological changes in gum tissue during thiram intoxication followed by correction with resveratrol and sea buckthorn oil

Vladimir A. Korolev , Ekaterina S. Mishina , Elena V. Felker ,  
Alina V. Shevchenko 

Kursk State Medical University,  
3 Karl Marx St., Kursk, 305041, Russia

Corresponding author: Alina V. Shevchenko (alina7227@mail.ru)

## Abstract

**Background:** The widespread use of pesticides can lead to a violation of the ecological balance between the environment and the human body, provoking the development of oxidative stress, which leads to an increase in toxic forms of damage to organs and systems of the macroorganism. In order to suppress oxidative stress that develops in many pathological processes, it is advisable to use antioxidants that inhibit the formation of free radicals. **The aim of the study:** To study the morphological changes in gum tissues in case of thiram intoxication followed by correction with resveratrol and sea buckthorn oil. **Materials and methods:** The experiment was performed on 50 rats that received the fungicide thiram for 28 days, followed by correction with resveratrol or sea buckthorn oil. To assess the severity of inflammatory changes in histological preparations, morphofunctional changes in the mucosal epithelium and the cellular composition of the subepithelial layer were analysed. Fibroblastic differon cells, macrophages and inflammatory cells of granulocytes and lymphocytes were differentiated by karyological signs, and the thickness of the epithelial layer, the area occupied by the fibrous, vascular and cellular components were measured. **Results:** In the experimental groups “Thiram 28 days” and “Thiram+standard diet” in all rats, the development of an inflammatory reaction of the gum tissue was observed, manifested in hyperkeratosis and an increase in the thickness of the epithelium up to 173.438 microns and 230.568 microns, diffuse polymorphocellular infiltration of the subepithelial layer mainly due to granulocytes to 21.40 and 21.92, respectively, expansion of the lumen and blood filling of the vessels of the microvasculature. After the use of resveratrol and sea buckthorn oil, the thickness of the epithelial layer was restored to 114,07 and 190,03 microns, respectively, interstitial edema and cell infiltration of the subepithelial layer decreased. At the same time, due to migration and increase of fibroblastic differon cells (28.96 and 29.44), neocollagenogenesis processes and an increase in the fibrous component were observed up to 65.62 and 33.69 after application of resveratrol and sea buckthorn oil, respectively. **Conclusion:** The effectiveness of monotherapy with resveratrol and sea buckthorn oil in normalizing the morphology of gum tissue has been proven. At the same time, resveratrol has both an anti-inflammatory effect and a high regenerative effect.

**Keywords:** thiram; resveratrol; sea buckthorn oil; regeneration

**For citation:** Korolev VA, Mishina ES, Felker EV, et al. Morphological changes in gum tissue during thiram intoxication followed by correction with resveratrol and sea buckthorn oil. Research Results in Biomedicine. 2024;10(1):99-111. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2024-10-1-0-6

**Введение.** По мере развития различных отраслей промышленности и сельского хозяйства все актуальнее становится проблема воздействия экологических экзогенных факторов на организм человека. Интенсивное использование пестицидов может приводить к нарушению экологического равновесия между внешней средой и макроорганизмом [1, 2].

Одним из широко используемых пестицидов фунгицидного ряда, которые применяются для борьбы с заболеваниями растений, является тирам (ТМДТ). Тирам обладает средней токсичностью для теплокровных животных и человека [3, 4].

Известно, что пестициды являются неспецифическими структурными и метаболическими ядами, а также вызывают значительные перестройки в структуре и метаболизме клеток и тканей организма. Экзогенные ксенобиотики, в частности пестициды, оказывают негативное влияние на многоуровневую и многокомпонентную систему антиоксидантной защиты, что может привести к росту токсических форм поражений органов и систем макроорганизма [5]. Согласно современным литературным данным, тирам приводит к образованию свободных радикалов и обладает цитотоксическим действием [6].

При поступлении ксенобиотиков с пищей, ротовая полость является мишенью негативного воздействия экзогенных факторов, поступающих в организм [7, 8, 9]. При попадании ксенобиотиков в полость рта развивается окислительный стресс, который может привести к повреждению клеточных компонентов в пародонте. Важно отметить, что клиническую картину пародонтопатий определяет выраженность и характер изменений капиллярно-трофических процессов, а нарушение микроциркуляции играет ведущую роль в развитии патогенетических механизмов воспаления в тканях пародонта [10, 11, 12].

Заболевания полости рта начинаются с воспаления десен, которое проходит несколько фаз, в дальнейшем поражает другие отделы пародонта и, наконец, переходит в пародонтит. Изменения на уровне сосудов появляются как первые проявления воспаления десен (начальное поражение), отмечается расширение капилляров и усиление кровотока. На начальных этапах определяется выраженная миграция сегментоядерных нейтрофилов, которые способны фагоцитировать разрушенные участки коллагеновых волокон. Образованные пространства могут служить дополнительным «резервуаром» для клеток воспалительного ряда. В зависимости от защитных механизмов хозяина острая фаза воспаления может быть прекращена регрессивной тканью или может превратиться в хронические воспалительные поражения с вовлечением связочного аппарата и костной ткани [13, 14, 15].

С целью подавления окислительного стресса, который развивается при многих патологических процессах целесообразно применять препараты антиоксидантного ряда, которые угнетают процессы образования свободных радикалов. К препаратам-антиоксидантам относят ресвератрол и облепиховое масло. Ресвератрол содержится в винограде, чернике, клюкве, красном вине и обладает антиоксидантным, противораковым, противовоспалительным, антитромбоцитарным действием. Антиоксидант ресвератрол у человека и животных метаболизируется в печени. Поступление ресвератрола в клетки обусловлено его активным связыванием с альбумином и липопротеинами [16]. Облепиховое масло является антиоксидантом, обладающим свойствами, предотвращающими образование свободных радикалов. Биологически активные вещества, такие как фитостерины, полиненасыщенные жирные кислоты, некоторые незаменимые аминокислоты, кароти-

ноиды, витамины А, С, Е, К, фолиевая кислота, рибофлавин, органические кислоты: яблочная, щавелевая, содержатся в составе облепихового масла [17].

**Цель исследования.** Изучить морфофункциональные изменения тканей десны при интоксикации тирамом с последующей коррекцией препаратами ресвератрол и облепиховое масло.

**Материалы и методы исследования.** Эксперимент был проведен на 50 крысах – самцах линии Вистар возрастом 2 месяца с массой тела 200-220 грамм. Все манипуляции с животными выполняли на базе НИИ Экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета с соблюдением международных и отечественных норм гуманного обращения с лабораторными животными: Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, приказ Минздрава России № 199н от 01 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики. Экспериментальное исследование утверждено региональным этическим комитетом при ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 30 ноября 2017 г.).

Для решения поставленных задач животные были разделены на пять групп по 10 крыс в каждой группе.

Животные 1 группы – здоровые интактные крысы, которые являлись биологическим контролем. Группа содержалась на стандартном рационе в условиях вивария в осенне-зимний период (группа «контроль (интактные)»).

Животным 2 группы моделировалась субхроническая интоксикация пестицидом на протяжении 28 суток (группа «тирам 28 суток»). Ежедневно утром вместе с гранулированным кормом животные получали пестицид тирам в дозе 1/50 ЛД<sub>50</sub>. Дозу тирама рассчитывали исходя из токсикологических данных, где ЛД<sub>50</sub> для крыс составляет 400 мг/кг. Поэтому доза пестицида, который получали крысы один раз в день, со-

ставляла 1,6 мг [18]. Для приготовления кормовых гранул, содержащих пестицид тирам, гранулы стандартного корма измельчали, после чего добавляли взвешенную дозу пестицида, перемешивали с 2 мл дистиллированной воды, снова формировали гранулы и сушили на воздухе 12 часов. Данный способ введения пестицида животным служит моделью естественного поступления пестицида с пищей и, таким образом, исключается физиологический стресс, который может повлиять на результаты эксперимента.

Животным 3 группы моделировалась интоксикация тирамом на протяжении 28 суток, после чего животные были переведены на стандартный пищевой рацион на 30 дней (группа «тирам+стандартный рацион»). Данная группа крыс послужила контролем с целью оценки компенсаторных возможностей макроорганизма после интоксикации пестицидом тирамом.

В 4 группе моделировалась интоксикация на протяжении 28 суток, с последующим применением per os антиоксиданта ресвератрола (Ресвератрол 100 мг, Solgar Inc. (США)) в дозе 8,58 мг/кг в день в течение 30 дней, так как рекомендованная продолжительность приема препарата составляет 1 месяц (группа «ресвератрол» [18]).

В 5 группе моделировалась интоксикация на протяжении 28 суток, с последующим применением per os антиоксиданта облепихового масла (Облепихи масло, Вифитех ЗАО (Россия)) в дозе 0,78 мг/кг в течение 30 дней, так как рекомендованная продолжительность приема препарата составляет 1 месяц (группа «облепиховое масло») [18].

Расчет доз проводили следующим образом. Ресвератрол. В перерасчете на 1 кг массы тела человека необходимо 1,43 мг/кг препарата. Коэффициент пересчета дозы с отдельного животного на человека составляет 39,0. Для крысы массой 200 грамм коэффициент пересчета составляет 6,5. Следовательно, терапевтическая доза ресвератрола для крыс составляет:  $(1,43 \cdot 39) / 6,5 = 8,58$  мг/кг, для крысы массой 200 г – 1,72 мг

препарата. Содержимое капсулы ресвератрола (порошок) смешивали с 10 мл воды и вводили животным по 0,17 мл [18].

Облепиховое масло. В пересчете на 1 кг массы тела человека данного препарата необходимо 0,13 мг/кг. Коэффициент пересчета дозы с отдельного животного на человека составляет 39,0. Для крысы массой 200 грамм коэффициент пересчета составляет 6,5. Поэтому терапевтическая доза облепихового масла для крыс составляет:  $(0,13 \cdot 39) / 6,5 = 0,78$  мг/кг, для крысы массой 200 г – 0,156 мг препарата. Животным вводили по 0,17 мл облепихового масла [18].

Забой животных осуществлялся методом цервикальной дислокации после окончания эксперимента. Гистологическое исследование проводили в лаборатории морфологии и клеточных технологий НИИ Экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета. Материалом настоящего исследования послужил фрагмент десны экспериментального животного, включающий альвеолярную и маргинальную части общей площадью 0,25 см<sup>2</sup>. Для изготовления гистологических препаратов аутопсийный материал помещали в раствор забуференного формалина концентрацией 10%. Далее следовала стандартная проводка из спиртов и ксилолов, и заливка в парафиновые блоки. После микромирования срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные срезы были оценены на аппаратно-программном комплексе для биологических исследований Nikon Eclipse NI (Nikon, Япония). Документация изображений производилась цифровой камерой Nikon DS-Fi3 5,9 мп. Обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения NIS – Elements (Nikon, Япония).

Морфометрический подсчет клеточных элементов проводили в субэпителиальном слое десны. По гистологическим критериям определяли клетки фибробласты, фиброциты, макрофаги, гранулоциты и лимфоциты. Подсчет проводили на 100 клеток в 20 полях зрения, с последующим расчетом средних значений.

На полученных микрофотографиях проводили измерение толщины эпителиального пласта, площади, занимаемую волнообразным, сосудистым и клеточным компонентом. Каждый из параметров был измерен на 30 участках препарата в местах наиболее хорошо сохранившегося слоя. Затем было вычислено среднее значение для каждого животного.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программной среды Statistica 10 (производитель Dell Software Company, Round Rock, Texas, United States of America). Ввиду небольших размеров выборки в экспериментальных группах исследования при выполнении расчетов было принято решение в качестве основной методики определения уровня статистической значимости отличий использовать U-тест Манна-Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** По результатам экспериментального исследования было отмечено, что в контрольной группе животных десна покрыта слизистой, в состав которой входит многослойный плоский неороговевающий эпителий, покрывающий плотную соединительнотканную пластинку. Эпителий, обращенный к ротовой полости, составляет ротовой эпителий, в то время как часть, обращенная к зубу, представляет эпителий борозды, который продолжается соединительным эпителием. Собственная пластинка включает надальвеолярный волокнистый аппарат, кровеносные и лимфатические сосуды и нервы. Слизистая десны имеет свою архитектуру со следующими структурами – бороздчатый и соединительный эпителий с увеличенными межклеточными пространствами, в которых присутствует незначительное количество нейтрофилов и десневой жидкости, единичные макрофаги, лимфоциты и плазматические клетки.

При морфологическом исследовании гистологических препаратов, полученных от животных экспериментальной группы «тирам 28 суток», которые были подвергнуты интоксикации пестицидом в течение 28 дней, у всех крыс наблюдается развитие

воспалительной реакции тканей десны различной степени тяжести. В эпителиальном пласте слизистой свободной части десны отмечаются признаки выраженного гиперкератоза, проявляющегося расширением зернистого и шиповатого слоев. В некоторых случаях наблюдается появление баллонообразных клеток как проявление дистрофии эпителиоцитов. При этом в базальном слое количество эпителиоцитов, находящихся в стадии деления, не определяется. Субэпителиально отмечается отек сосочкового слоя и расширение межсосочкового пространства. Собственная пластинка слизистой состоит из тонких хаотично расположенных коллагеновых волокон с достаточно большим количеством аморфного вещества между ними. На более поздних сроках явление отека не отмечается, однако гистологическое строение десны имеет морфологию псевдоэпителиоматозной гиперплазии – расширение эпителиальных выростов, базальная мембрана четко не прослеживается. Субэпителиально отмечается расширение и полнокровие сосудов микроциркуляторного русла. В периваскулярной зоне очаговая выраженная лимфоцитарная инфильтрация (Рис. 1А).

Данные патоморфологические изменения сохраняются даже после прекращения поступления пестицида и перевода животных на стандартный пищевой рацион на 30 дней (группа «тирам+стандартный рацион»). На альвеолярных участках десна была покрыта резко утолщенным пластом эпителия с признаками пролиферации клеток базального слоя и очаговым дискератозом. В некоторых случаях отмечается десквамация эпителия. Очагово отмечаются участки изъязвления и десквамации поверхностного эпителия. В субэпителиальном слое определяется выраженная диффузная полиморфноклеточная инфильтрация с примесью сегментоядерных лейкоцитов. Коллагеновые волокна собственной пластинки слизистой сохраняют нормальную ориентацию, однако в глубоком слое подэпителиальной соединительной ткани коллагеновые волокна были более

плотными и более параллельными эпителию десны. В поверхностном слое соединительной ткани располагались удлинённые капилляры, а в глубоком слое – артериолы с ориентацией параллельно коллагеновым волокнам. Интересно отметить увеличение количества и размера глубоких коллагеновых волокон из-за значительной склеротизации и меньшей рыхлости поверхностных волокон. Кроме того, в склеротических участках присутствовало уменьшенное количество сосудов (Рис. 1Б).

С целью купирования окислительного стресса в эксперименте были использованы препараты-антиоксиданты с выраженными антиокислительными свойствами: ресвератрол и облепиховое масло.

Согласно литературным данным, ресвератрол препятствует перекисному окислению липидов в клетках, действуя как поглотитель радикалов (гидроксильных, супероксидных и др.), таким образом, предотвращает повреждение ДНК [19]. В экспериментальной группе животных, которым проводилась коррекция ресвератролом (группа «ресвератрол») в эпителиальном пласте определяются явления акантоза и гиперкератоза. При этом толщина эпителиального пласта достоверно снижается. Акантотические тяжи достаточно тонкие и глубокие и достигают сетчатого слоя собственной пластинки. Субэпителиально определяются незначительные склеротические изменения соединительной ткани. При этом коллагеновые волокна расположены упорядоченно, повторяя форму сосочковых углублений. Лимфоцитарная инфильтрация не выражена. Клеточный состав преимущественно представлен клетками фибробластического ряда с примесью круглоклеточной инфильтрации. Альвеолярная часть десны практически не изменена. Эпителиальный пласт ровный, не утолщен, с сохраненной стратификацией. В некоторых полях отмечается очаговый дискератоз. Субэпителиально небольшое количество горизонтально расположенных сосудов микроциркуляторного русла с расширенным просветом (Рис. 1В).

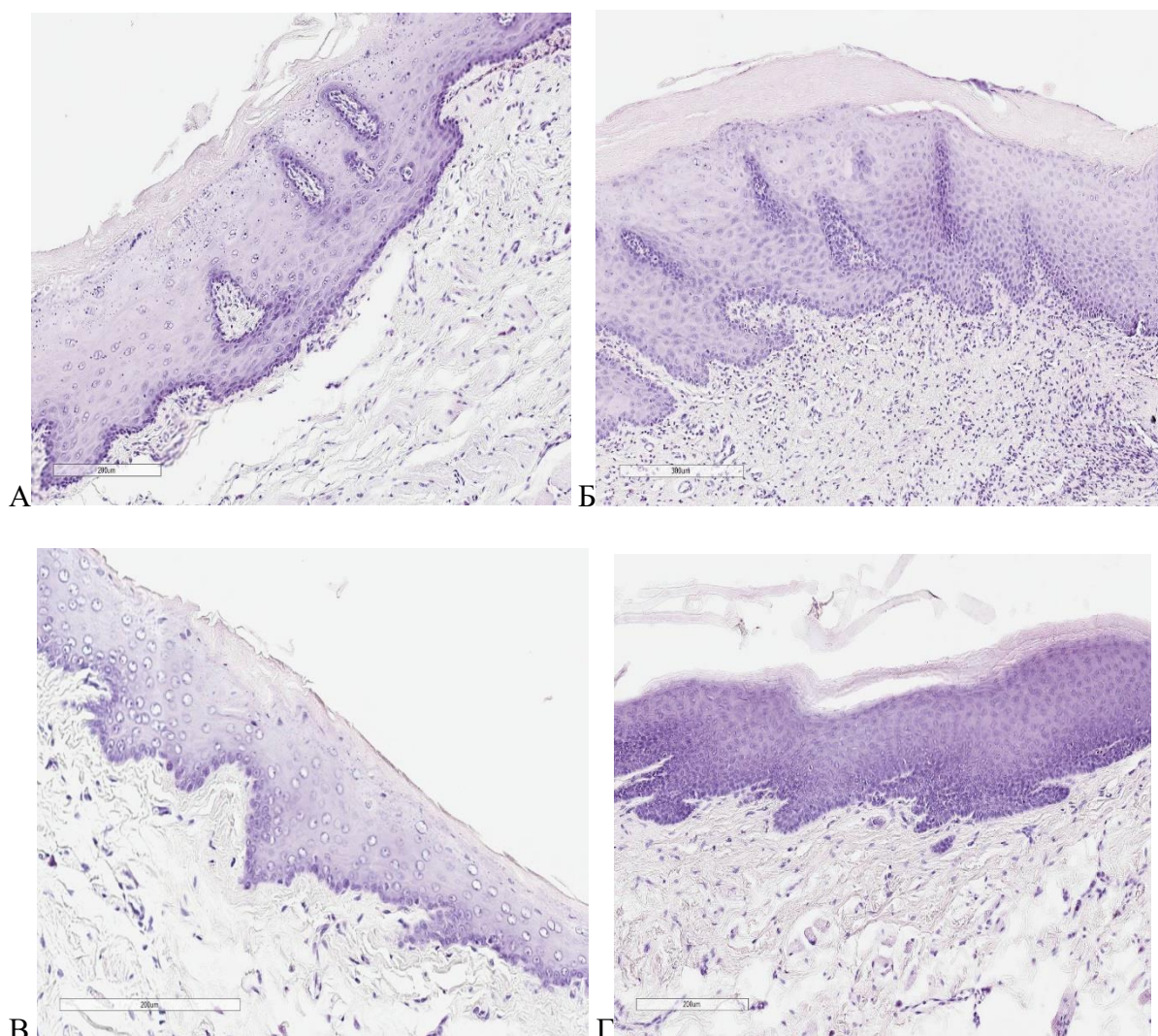


Рис. 1. Микрофотографии фрагмента пародонта после завершения эксперимента у животных. Окраска гематоксилином и эозином, х 200. А – модель интоксикации на протяжении 28 суток (группа «тирам 28 суток»). Б – модель интоксикации на протяжении 28 суток и последующего перевода на стандартный рацион на 30 дней (группа «тирам+стандартный рацион»). В – модель интоксикации на протяжении 28 суток с последующей коррекцией ресвератролом на 30 дней (группа ресвератрол»). Г – модель интоксикации на протяжении 28 суток с последующей коррекцией облепиховым маслом на 30 дней (группа «облепиховое масло»).

Fig. 1. Micrograph of a periodontal fragment after the completion of the experiment in animals. Stained with hematoxylin and eosin, x 200. A – model of intoxication for 28 days (group «thiram 28 days»). B – model of intoxication for 28 days and transfer to a standard diet for 30 days (group «thiram+standard diet»). C – model of intoxication for 28 days with resveratrol correction (group «resveratrol»). D – model of intoxication for 28 days with sea buckthorn oil correction (group «sea buckthorn oil»).

Облепиховое масло является источником витаминов А и Е, которые обладают антиоксидантными свойствами, что позволяет использовать облепиховое масло с целью коррекции нарушений, вызванных окислительным стрессом [20, 21].

В экспериментальной группе животных, которым проводилась коррекция облепиховым маслом (группа «облепиховое масло») свободная десна покрыта незначительно утолщенным пластом многослойного плоского эпителия. Субэпителиально

умеренно выраженный отек и диффузная полиморфноклеточная инфильтрация не определяется. Среди клеток преобладают фиброциты и фибробласты. В собственной пластинке слизистой в поле зрения единичные расширенные сосуды. Коллагеновые волокна толстые с достаточно плотным расположением. В альвеолярной части десны эпителиальный пласт значительно утолщен с признаками акантоза, паракератоза и па-

пилломатоза. Стратификация эпителиального слоя нарушена. Однако в базальном слое отмечается увеличение количества клеток, находящихся в стадии митотического деления (Рис. 1Г).

По результатам подсчета клеточного состава в субэпителиальном слое при моделировании субхронической интоксикации происходит увеличение клеток воспалительного ряда (Табл. 1).

Таблица 1

**Клеточный состав субэпителиального слоя десны**

Table 1

**Cellular composition of the subepithelial layer of the gum**

Клетки	Контроль (интактные)	Тирам 28 суток	Тирам+стандартный рацион	Ресвератрол	Облепиховое масло
Фибробласты/ фиброциты	30,48±0,44	25,75±1,78 <sup>YY</sup>	24,10±1,57 <sup>YYY</sup>	28,96±1,40*	29,44±1,72*
Гранулоциты	13,80±0,69	21,40±1,1 <sup>YYY</sup>	21,92±1,13 <sup>YYY</sup>	17,32±0,98 <sup>***XX</sup>	18,60±1,00*
Макрофаги	30,74±0,59	22,92±1,26 <sup>YYY</sup>	21,32±1,19 <sup>YYY</sup>	27,82±1,21 <sup>***XX</sup>	26,74±1,33 <sup>***X</sup>
Лимфоциты	23,84±1,20	18,30±1,10 <sup>YYY</sup>	21,16±1,09 <sup>Y</sup>	22,08±1,26 <sup>X</sup>	23,38±1,13 <sup>XXX</sup>

Примечание: <sup>Y</sup> – p<0,05 в сравнении с группой «контроль (интактные)», <sup>YY</sup> – p<0,01 в сравнении с группой «контроль (интактные)», <sup>YYY</sup> – p<0,001 в сравнении с группой «контроль (интактные)». \* – p<0,05 в сравнении с группой «тирам+стандартный рацион», \*\* – p<0,01 в сравнении с группой «тирам+стандартный рацион», \*\*\* – p<0,001 в сравнении с группой «тирам+стандартный рацион». <sup>X</sup> – p<0,05 в сравнении с группой «тирам 28 суток», <sup>XX</sup> – p<0,01 в сравнении с группой «тирам 28 суток», <sup>XXX</sup> – p<0,001 в сравнении с группой «тирам 28 суток».

Note: <sup>Y</sup> – p<0.05 compared to the group "control (intact)", <sup>YY</sup> – p<0.01 compared to the group "control (intact)", <sup>YYY</sup> – p<0.001 compared to the group "control (intact)". \* – p<0.05 compared to the group "thiram+standard diet", \*\* – p<0.01 compared to the group "thiram+standard diet", \*\*\* – p<0.001 compared to the group "thiram+standard diet". <sup>X</sup> – p<0.05 compared to the group "thiram 28 days", <sup>XX</sup> – p<0.01 compared to the group "thiram 28 days", <sup>XXX</sup> – p<0.001 compared to the group "thiram 28 days".

Так у крыс, которые были подвергнуты интоксикации пестицидом в течении 28 дней количество гранулоцитов достоверно увеличивается в 1,6 раз по сравнению с интактными животными. Количество лимфоцитов, напротив, достоверно снижается в 1,3 раза при сравнении тех же групп. Данная тенденция сохраняется после прекращения поступления пестицида и перевода животных на стандартный пищевой рацион на 30 дней. В группе «тирам+стандартный рацион» наблюдается достоверное увеличение количества гранулоцитов в 1,6 раз и уменьшение количества лимфоцитов в 1,1 раза по сравнению с интактными животными. Данные морфофункциональные изменения могут свидетельствовать о признаках острого воспаления и частичного угнетения местного иммунитета. При подсчете клеток фибробластического

дифферона происходит их достоверное снижение в группе «тирам 28 суток» в 1,2 раза и в 1,3 раза в группе «тирам+стандартный рацион» по сравнению с контрольной группой. При подсчете макрофагов также наблюдается тенденция к их снижению – в группе «тирам 28 суток» в 1,3 раза и в 1,4 раза в группе «тирам+стандартный рацион» по сравнению с интактными животными.

При коррекции ресвератролом происходит достоверное уменьшение количества гранулоцитов по сравнению с группой «тирам 28 суток» и группой «тирам+стандартный рацион» в 1,23 и в 1,26 раза соответственно. При применении облепихового масла происходит достоверное уменьшение количества гранулоцитов только по сравнению с группой «тирам+стандартный рацион» и их количество составило 18,60±1,00.



Количество лимфоцитов напротив увеличивается в 1,2 раза после применения ресвератрола и в 1,1 раза после применения облепихового масла.

Количество клеток фибробластического дифферона также увеличивается по сравнению с группой «тирам+стандартный рацион» и составило  $28,96 \pm 1,40$  при применении ресвератрола и  $29,44 \pm 1,72$  при применении облепихового масла соответственно.

Численность клеток моноцитарно-макрофагального ряда также изменяется в

сторону увеличения их количества как при применении ресвератрола, так и применении облепихового масла по сравнению с группой «тирам 28 суток» и «тирам+стандартный рацион».

Важными показателями в оценке морфофункционального состояния тканей десны является толщина эпителия. При коррекции ресвератролом происходит достоверное его уменьшение в 1,5 раза по сравнению с группой «тирам 28 суток» и в 2,2 раза по сравнению с группой «тирам+стандартный рацион» (Табл. 2).

Таблица 2

**Морфологические показатели состояния тканей десны**

Table 2

**Morphological indicators of the state of the gum tissue**

Показатель	Контроль (интактные)	Тирам 28 суток	Тирам+стандартный рацион	Ресвератрол	Облепиховое масло
Толщина эпителия	$50,628 \pm 3,07$	$173,438 \pm 10,42$ ууу	$230,568 \pm 11,42$ <sup>уу</sup> у xxx	$114,07 \pm 7,13$ <sup>***</sup> xxx	$190,03 \pm 13,31$ *
Соотношения сосудистого компонента субэпителиального слоя	$3,1 \pm 0,18$	$2,6 \pm 0,14$ <sup>у</sup>	$2,59 \pm 0,12$ <sup>у</sup>	$3,4 \pm 0,15$ <sup>***</sup> xxx	$5,02 \pm 0,25$ <sup>***</sup> xxx
Соотношения клеточного компонента субэпителиального слоя	$28,03 \pm 1,58$	$71,05 \pm 4,26$ <sup>ууу</sup>	$77,66 \pm 4,06$ <sup>ууу</sup>	$30,98 \pm 1,81$ <sup>***</sup> xxx	$61,28 \pm 3,18$ ***
Соотношения волокнистого компонента субэпителиального слоя	$68,8 \pm 3,45$	$26,38 \pm 1,87$ <sup>ууу</sup>	$19,73 \pm 1,01$ <sup>ууу</sup> xxx	$65,62 \pm 3,46$ <sup>***</sup> xxx	$33,69 \pm 1,76$ *** xx

Примечание: <sup>у</sup> –  $p < 0,05$  в сравнении с группой «контроль (интактные)», <sup>уу</sup> –  $p < 0,01$  в сравнении с группой «контроль (интактные)», <sup>ууу</sup> –  $p < 0,001$  в сравнении с группой «контроль (интактные)». \* –  $p < 0,05$  в сравнении с группой «тирам+стандартный рацион», \*\* –  $p < 0,01$  в сравнении с группой «тирам+стандартный рацион», \*\*\* –  $p < 0,001$  в сравнении с группой «тирам+стандартный рацион». <sup>х</sup> –  $p < 0,05$  в сравнении с группой «тирам 28 суток», <sup>xx</sup> –  $p < 0,01$  в сравнении с группой «тирам 28 суток», <sup>xxx</sup> –  $p < 0,001$  в сравнении с группой «тирам 28 суток».

Note: <sup>у</sup> –  $p < 0.05$  compared to the group "control (intact)", <sup>уу</sup> –  $p < 0.01$  compared to the group "control (intact)", <sup>ууу</sup> –  $p < 0.001$  compared to the group "control (intact)". \* –  $p < 0.05$  compared to the group "thiram+standard diet", \*\* –  $p < 0.01$  compared to the group "thiram+standard diet", \*\*\* –  $p < 0.001$  compared to the group "thiram+standard diet". <sup>х</sup> –  $p < 0.05$  compared to the group "thiram 28 days", <sup>xx</sup> –  $p < 0.01$  compared to the group "thiram 28 days", <sup>xxx</sup> –  $p < 0.001$  compared to the group "thiram 28 days".

При коррекции облепиховым маслом толщина эпителия уменьшилась только по сравнению с группой «тирам+стандартный рацион» и составила  $190,03 \pm 13,31$  мкм. Данные подсчета клеточного состава напрямую коррелирую с результатами морфометрии компонентов подслизистого слоя. Так, общее количество клеток на единицу площади

среза достоверно уменьшилось в 2,5 раза при применении ресвератрола и в 1,3 раза при использовании облепихового масла по сравнению с группой «тирам+стандартный рацион».

Анализируя соотношение волокнистого компонента и сопоставляя эти данные с количеством клеток фибробластического

дифферона, можно говорить и том, что его увеличение при коррекции ресвератролом и облепиховым маслом по сравнению с группой «тирам 28 суток» происходит за счет уменьшения интерстициального отека, а по сравнению с группой «тирам+стандартный рацион» – за счет миграции клеток резидентов соединительной ткани. Площадь волокнистого компонента при использовании ресвератрола увеличивается в 2,5 раза по сравнению с группой «тирам 28 суток» и в 3,3 раза по сравнению с группой «тирам+стандартный рацион». Площадь волокнистого компонента при использовании облепихового масла увеличивается незначительно – в 1,8 раза по сравнению с группой «тирам 28 суток» и в 1,7 раза по сравнению с группой «тирам+стандартный рацион».

Одним из клинических проявлений воспалительных изменений ротовой полости является кровоточивость десен. Морфологическим субстратом этого является большое количество сосудов микроциркуляторного русла, близко расположенных к поверхностному эпителию. При коррекции препаратами антиоксидантного ряда (ресвератрол и облепиховое масло) происходит достоверное снижение сосудистого компонента по сравнению как с группой «тирам 28 суток» так и с группой «тирам+стандартный рацион» в 1,3 и 1,9 раза соответственно.

**Заключение.** Таким образом, субхроническая интоксикация животных пестицидом тиразом вызывает воспалительные изменения десны, выражающиеся в резком утолщении поверхностного эпителия и полиморфноклеточной инфильтрацией. Данные патоморфологические изменения нарастают и приводят к появлению участков изъязвления даже после прекращения поступления пестицида и перевода животных на стандартный пищевой рацион в течение 30 дней. Применение препаратов ресвератрол и облепиховое масло приводит к уменьшению воспалительных изменений. При этом ресвератрол обладает как противовоспалительным эффектом, так и высоким

регенеративным действием. Однако следует отметить, что морфометрические показатели тканей десны не достигают контрольных значений.

### **Информация о финансировании**

*Работа выполнена за счет средств Курского государственного медицинского университета.*

### **Financial support**

*The study was carried out at the expenses of Kursk State Medical University.*

### **Конфликт интересов**

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

### **Conflict of interests**

*The authors have no conflict of interest to declare.*

### **Список литературы**

1. Бердиев УБ. Пестициды и генерация свободных радикалов в крови млекопитающих. Вестник науки и образования. 2020;17(95):8-12. DOI: <https://doi.org/10.24411/2312-8089-2020-11701>
2. Туйчиева Д, Мирхамидова П, Мирхамидова П, и др. Влияние пестицидов на активность некоторых ферментов печени крыс и пути их коррекции. Norwegian Journal of Development of the International Science. 2020;45:8-14.
3. Белов ДА. Химические методы и средства защиты растений в лесном хозяйстве и озеленении: учебное пособие для студентов. М.: МГУЛ; 2003.
4. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. М; 2022.
5. Van Dyke TE, Bartold PM, Reynolds EC. The nexus between periodontal inflammation and dysbiosis. Frontiers in Immunology. 2020;11:511. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00511>
6. Королев ИВ, Седых АВ, Королев ВА, и др. Влияние субхронической интоксикации тиразом на активность антиоксидантных ферментов и состояние процессов липопероксидации. Экология человека. 2022;29(2):109-118. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71342>
7. Киёк ОВ, Покровский ВМ. Изменение антиоксидантного статуса ротовой жидко-

сти обучающихся рабочим профессиям в процессе прохождения производственной практики. Ульяновский медико-биологический журнал. 2022;2:92-101. DOI: <https://doi.org/10.34014/2227-1848-2022-2-92-101>

8. Кутепов ИВ, Ляшев ЮД, Артюшкова ЕБ, и др. Влияние аналогов индолицидина на прооксидантно-антиоксидантный баланс крыс с острым пародонтитом. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2019;1:51-56. DOI: <https://doi.org/10.21626/vestnik/2019-1/06>

9. Ripamonti U. Developmental pathways of periodontal tissue regeneration: Developmental diversities of tooth morphogenesis do also map capacity of periodontal tissue regeneration? Journal of Periodontal Research. 2019;54(1):10-26. DOI: <https://doi.org/10.1111/jre.12596>

10. Королев ВА, Седых АВ, Азарова ЮЭ, и др. Состояние глутатионового звена антиоксидантной защиты организма при фунгицидной интоксикации и коррекции витамином А и расторопшей. Научные результаты биомедицинских исследований. 2022;8(2):207-220. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-2-0-6>

11. Кибкало АП, Саркисов АК, Полунина ЕА, и др. Уровень маркеров окислительного стресса при генерализованном пародонтите на фоне бронхоэктатической болезни. Кубанский научный медицинский вестник. 2019;26(5):42-51. DOI: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-5-42-51>

12. Степаненко ИГ, Лузин ВИ. Строение нижнего резца у белых крыс после 60-суточного применения бензоата натрия и воздействия ионизирующего излучения. Астраханский медицинский журнал. 2019;14(2):66-74. DOI: <https://doi.org/10.17021/2019.14.2.66.74>

13. Будаичев ГМ-А, Доменюк ДА. Ультроструктурные морфологические особенности строения эпителия десны крыс при индуцированном экспериментальном сахарном диабете. Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2019;4:144-150.

14. Chen M, Cai W, Zhao S, et al. Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. Journal of Clinical Periodontology. 2019;46(6):608-622. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13112>

15. Rusyantia Y, Widyaputrab S, Maskoenb AM. Periodontal tissue destruction in aggressive periodontitis: Determination of gene or environmental factors. Saudi Dental Journal. 2019;31(2):290-299. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2018.12.003>

16. Цейликман ВЭ, Лукин АА. Биологическая активность ресвератрола. Международный научно-исследовательский журнал. 2022;4(118):131-136. DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.118.4.095>

17. Сизова НВ. Определение биологической активности облепиховых масел и экстрактов методом микрокалориметрии по выходу липидных антиоксидантов. Химия растительного сырья. 2020;2:223-230. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.2020024650>

18. Хабриев РУ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: ОАО «Медицина»; 2005.

19. Кароматов ИД. Биологически активное вещество растительного происхождения ресвератрол – лечебные свойства (обзор литературы). Биология и интегративная медицина. 2018;3(20):178-198.

20. Сиднеев АА. Определение витаминов-антиоксидантов в растительных маслах. Вестник медицинского института «РЕАВИЗ: Реабилитация, Врач и Здоровье». 2022;2:389-390.

21. Медведева ОА, Королев ВА, Ряднова ВА, и др. Состояние мукозной микробиоты толстой кишки и антиоксидантных свойств колоноцитов крыс при коррекции экспериментального дисбиоза облепиховым маслом. В: Медведева ОА, Климова ЛГ, Ефремова НН, и др. редакторы. Актуальные вопросы экспериментальной микробиологии: теория, методология, практика, инноватика. Материалы Международной научно-практической конференции, посвящённой 85-летию основания кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и 100-летию со дня рождения профессора Людвиги Микртычевны Закарян; 19 мая 2022 г. Курск: ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России; 2022:126-131.

## References

1. Berdiev UB. Pesticides and the generation of free radicals in the blood of mammals. Bulletin of science and education. 2020;17(95):8-12. Russian. DOI: <https://doi.org/10.24411/2312-8089-2020-11701>

2. Tychieva D, Mirkhamidova P, Mirkhamidova P, et al. Influence of pesticides on the activity of some rat liver enzymes and ways of their correction. *Norwegian Journal of Development of the International Science*. 2020;45:8-14. Russian.
3. Belov DA. Chemical methods and means of plant protection in forestry and landscaping: a textbook for students. Moscow: MGUL; 2003. Russian.
4. State catalog of pesticides and agrochemicals permitted for use on the territory of the Russian Federation. Moscow; 2022. Russian.
5. Van Dyke TE, Bartold PM, Reynolds EC. The nexus between periodontal inflammation and dysbiosis. *Frontiers in Immunology*. 2020;11:511. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00511>
6. Korolev IV, Sedykh AV, Korolev VA, et al. Effect of subchronic intoxication with thiram on the activity of antioxidant enzymes and the state of lipoperoxidation processes. *Human Ecology*. Russian. 2022;29(2):109-118. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco71342>
7. Kiyok OV, Pokrovsky VM. Changes in the antioxidant status of the oral fluid of students in working professions in the process of passing industrial practice. *Ulyanovsk Biomedical Journal*. 2022;2:92-101. Russian. DOI: <https://doi.org/10.34014/2227-1848-2022-2-92-101>
8. Kutepov IV, Lyashev YuD, Artyushkova EB, et al. Influence of indolicidin analogues on the prooxidant-antioxidant balance in rats with acute periodontitis. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2019;1:51-56. Russian. DOI: <https://doi.org/10.21626/vestnik/2019-1/06>
9. Ripamonti U. Developmental pathways of periodontal tissue regeneration: Developmental diversities of tooth morphogenesis do also map capacity of periodontal tissue regeneration? *Journal of Periodontal Research*. 2019;54(1):10-26. DOI: <https://doi.org/10.1111/jre.12596>
10. Korolev VA, Sedykh AV, Azarova YuE, et al. Status of the glutathione antioxidant defense in fungicide intoxication and correction with vitamin A and milk thistle. *Research Results in Biomedicine*. 2022;8(2):207-220. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2022-8-2-0-6>
11. Kibkalo AP, Sarkisov AK, Polunina EA, et al. The Level of Oxidative Stress Markers in Generalised Periodontitis in the Setting of Bronchiectasis. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2019;26(5):42-51. Russian. DOI: <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-5-42-51>
12. Stepanenko IG, Luzin VI. Structure of lower incisor in rats after 60-day application of sodium benzoate and exposure to ionizing radiation. *Astrakhan medical journal*. 2019;14(2):66-74. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17021/2019.14.2.66.74>
13. Budaichiev GM-A, Domenyuk DA. Ultrastructural morphological features of the epithelia structure of the rat's gum under induced experimental diabetes. *Journal of new medical technologies, eEdition*. 2019;4:144-150. Russian.
14. Chen M, Cai W, Zhao S, et al. Oxidative stress-related biomarkers in saliva and gingival crevicular fluid associated with chronic periodontitis: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2019;46(6):608-622. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13112>
15. Rusyantia Y, Widyaputrab S, Maskoenb AM. Periodontal tissue destruction in aggressive periodontitis: Determination of gene or environmental factors. *Saudi Dental Journal*. 2019;31(2):290-299. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2018.12.003>
16. Tseylikman VE, Lukin AA. The biological activity of resveratrol. *International Research Journal*. 2022;4(118):131-136. Russian. DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.118.4.095>
17. Sizova NV. Determination of the biological activity of sea buckthorn oils and extracts by microcalorimetry by the yield of lipid antioxidants. *Khimija rastitel'nogo syr'ja*. 2020;2:223-230. Russian. DOI: <https://doi.org/10.14258/jcprm.2020024650>
18. Khabriev RU. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Moscow: PC "Medicine"; 2005. Russian.
19. Karomatov ID. Biologically active agent of the phytochemistry resveratrol - medicinal properties (the review of literature). *Biologiya i integrativnaya meditsina*. 2018;3(20):178-198. Russian.
20. Sydney AA. Determination of antioxidant vitamins in vegetable oils. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ" (REHABILITATION, DOCTOR AND HEALTH)*. 2022;2:389-390. Russian.
21. Medvedeva OA, Korolev VA, Ryadnova VA, et al. The state of the mucosal microbiota of the large intestine and the antioxidant properties of rat colonocytes in the correction of experimental

dysbiosis with sea buckthorn oil. In: Medvedeva OA, Klimova LG, Efremova NN, et al. editors. Topical issues of experimental microbiology: theory, methodology, practice, innovation. Materials of the International scientific-practical conference dedicated to the 85th anniversary of the founding of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and the 100th anniversary of the birth of Professor Ludwiga Mikrtychevna Zakaryan; May 19, 2022 Kursk: FGBOU VO KSMU of the Ministry of Health of Russia; 2022:126-131. Russian.

Статья поступила в редакцию 17 марта 2023 г.  
Поступила после доработки 7 мая 2023 г.  
Принята к печати 23 мая 2023 г.

Received 17 March 2023  
Revised 7 May 2023  
Accepted 23 May 2023

#### Информация об авторах

**Владимир Анатольевич Королев**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой биологии, медицинской генетики и экологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: medecol1@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4376-4284>.

**Екатерина Сергеевна Мишина**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, старший научный сотрудник НИИ экспериментальной медицины ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: katusha100390@list.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3835-0594>.

**Елена Викторовна Фелькер**, кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой

ортопедической стоматологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: felkerev@kursksmu.net, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7948-7290>.

**Алина Владимировна Шевченко**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация, E-mail: alina7227@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2261-1577>.

#### Information about the authors

**Vladimir A. Korolev**, Doct. Sci. (Biology), Professor, Head of the Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: medecol1@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4376-4284>.

**Ekaterina S. Mishina**, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Histology, Embryology, Cytology, Senior Researcher, Research Institute of Experimental Medicine, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: katusha100390@list.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3835-0594>.

**Elena V. Felker**, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Orthopedic Dentistry, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: felkerev@kursksmu.net, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7948-7290>.

**Alina V. Shevchenko**, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor at the Department of Microbiology, Virology, Immunology, Kursk State Medical University, Kursk, Russia, E-mail: alina7227@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2261-1577>.