

Читать  
онлайн  
Read  
online

Тютрина В.А., Соседова Л.М., Вокина В.А.

## Фрагментация ДНК как биоиндикатор воздействия дыма торфяных пожаров

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665826, Ангарск, Россия

**Введение.** Известно, что воздействие продуктов горения органических веществ на организм сопровождается накоплением поврежденных ДНК, что может привести к возникновению мутаций и патологических изменений клетки и всего организма. Распространённость и масштабность торфяных пожаров обусловили необходимость изучения последствий для подвергавшихся дымовой экспозиции организмов и их потомства.

**Материалы и методы.** С помощью экспериментального биомоделирования воспроизводили условия реального задымления торфяным дымом в течение 40 мин с концентрацией  $CO\ 99 \pm 2,5\ \text{мг/м}^3$ . Генотоксичность дыма торфяного пожара после воздействия на самцов белых крыс оценивали по возникновению ДНК-повреждений в клетках крови методом ДНК-комет в щелочном варианте. В первой части эксперимента животных подвергли непосредственному воздействию дыма торфяного пожара, во второй части исследовали их половозрелое потомство обоего пола для определения поврежденных ДНК в клетках крови.

**Результаты.** Установлено, что самцы родительского поколения и потомства оказались устойчивы к влиянию компонентов дыма, что подтверждено отсутствием статистической значимости по показателю «% ДНК в хвосте кометы» по сравнению с контролем. В то же время у самок полученного поколения выявлено статистически значимое повышение поврежденности ДНК клеток крови по сравнению с контрольной группой.

**Ограничения исследования.** Исследование ограничено изучением фрагментации ДНК после однократного 40-минутного воздействия торфяного дыма на самцов белых крыс и их интактное потомство.

**Заключение.** Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о том, что повреждения структуры ДНК у потомства крыс-самцов, экспонированных торфяным дымом, содержащим  $CO$  в концентрации  $99 \pm 2,5\ \text{мг/м}^3$ , можно рассматривать как биоиндикатор генотоксического воздействия, индуцируемого в последующем поколении.

**Ключевые слова:** торфяной дым; генотоксичность; ДНК-повреждения; метод ДНК-комет; белые крысы

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ ВСИМЭИ (протокол № 32/19 от 10.09.2019 г.), проведено в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS N 123), директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

**Для цитирования:** Тютрина В.А., Соседова Л.М., Вокина В.А. Фрагментация ДНК как биоиндикатор воздействия дыма торфяных пожаров. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(7): 653–657. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-7-653-657> <https://elibrary.ru/znogca>

**Для корреспонденции:** Тютрина Вера Александровна, канд. фарм. наук, науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665826, Ангарск. E-mail: tyutrina.v.a@yandex.ru

**Участие авторов:** Тютрина В.А. – поиск литературы, проведение эксперимента, написание, статистическая обработка, оформление статьи; Соседова Л.М. – концепция, написание, обсуждение актуальности и результатов; Вокина В.А. – концепция, проведение эксперимента, статистическая обработка, оформление статьи. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование.** Работа выполнена по плану НИР в рамках государственного задания, а также в рамках гранта № 075-15-2020-787 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на выполнение крупного научного проекта по приоритетным направлениям научно-технологического развития (проект «Фундаментальные основы, методы и технологии цифрового мониторинга и прогнозирования экологической обстановки Байкальской природной территории»).

Поступила: 10.05.2023 / Принята к печати: 07.06.2023 / Опубликована: 30.08.2023

Vera A. Tyutrina, Larisa M. Sosedova, Vera A. Vokina

## DNA fragmentation as a bioindicator of peat fires' smoke exposure

East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation

**Introduction.** The impact of combustion products of organic substances on the body is known to be accompanied by the accumulation of DNA damage, which can lead to mutations and pathological changes in the cell and the whole organism. The prevalence and scale of this phenomenon poses an important task for studying the consequences that occur in smoke-exposed organisms and their offspring.

**Materials and methods.** The conditions of real peat smoke were reproduced for 40 minutes with a  $CO$  concentration of  $99 \pm 2.5\ \text{mg/m}^3$  with using of experimental bio modelling. The genotoxicity of peat fire smoke after exposure to male white rats was assessed by the occurrence of DNA damage in blood cells using the DNA comet method in the alkaline version. In the first part of the experiment, males were directly exposed to the smoke of a peat fire; in the second part – their sexually mature offspring of both sexes were examined for the occurrence of DNA damage in blood cells.

**Results.** The males of the parental generation and offspring were found to be resistant to the effects of smoke components, which was confirmed by the absence of statistical significance in terms of «% DNA in the comet tail» compared with the control. At the same time, females of the received generation showed a statistically significant increase in blood cell DNA damage compared to the control group.

**Limitations.** The study was limited to the study of DNA fragmentation after a single 40-minute exposure to peat smoke in male white rats and their intact offspring.

**Conclusion.** The data obtained in this investigation indicate that damage to the DNA structure in the offspring of male rats exposed to peat smoke containing  $CO$  at a concentration of  $99 \pm 2.5\ \text{mg/m}^3$  can be considered as a bioindicator of genotoxic effects induced in the next generation.

**Keywords:** peat smoke; genotoxicity; DNA damages; DNA comet assay; white rats

**Compliance with ethical standards.** The study was approved by the local Ethics Committee of the East Siberian Institute of Medical and Environmental Research (Protocol of the LC of the FSBI VSIMEI No. 32/19 of 09/10/2019), conducted in accordance with the European Convention for the Protection of

*Vertebrates Used for Experiments or Other Scientific Purposes (ETS N 123), directive of the European Parliament and the Council Of the European Union 2010/63/EC of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes.*

**For citation:** Tyutrina V.A., Sosedova L.M., Vokina V.A. DNA fragmentation as a bioindicator of peat fires' smoke exposure. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(7): 653–657. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-7-653-657> <https://elibrary.ru/znogca> (In Russ.)

**For correspondence:** Vera A. Tyutrina, MD, PhD, researcher at the laboratory of biomodeling and translational medicine of the East Siberian Institute of Medical and Environmental Research, Angarsk, 665826, Russian Federation. E-mail: tyutrina.v.a@yandex.ru

**Information about the authors:**

Tyutrina V.A., <https://orcid.org/0000-0002-9406-5424> Sosedova L.M., <https://orcid.org/0000-0003-1052-4601> Vokina V.A., <https://orcid.org/0000-0002-8165-8052>

**Contribution:** Tyutrina V.A. – literature search, experiment, writing, statistical processing, article design; Sosedova L.M. – concept, writing, discussion of relevance and results, responsibility for the integrity of all parts of the article; Vokina V.A. – concept, experiment, statistical processing, article design. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

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

**Acknowledgment.** The work was carried out according to the research plan within the framework of the state task and supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, the grant No. 075-15-2020-787 for implementation of Major scientific projects on priority areas of scientific and technological development (the project «Fundamentals, methods and technologies for digital monitoring and forecasting of the environmental situation on the Baikal natural territory»).

Received: May 10, 2023 / Accepted: June 7, 2023 / Published: August 30, 2023

## Введение

Лесные и торфяные пожары являются масштабным экологическим бедствием и сопровождаются распространяющимся на огромные расстояния задымлением, длительно воздействующим на здоровье человека и окружающую среду. Образующаяся в процессе горения сложная смесь газов (монооксид углерода (CO), оксид азота (NO), диоксид азота (NO<sub>2</sub>), окислы серы и др.), формальдегида, фурфурола, ацетальдегида, полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) и др., твёрдых ультрадисперсных частиц (PM) и летучих органических соединений обладает канцерогенными и мутагенными свойствами [1–7], что обуславливает необходимость исследования генотоксических эффектов дыма ландшафтных пожаров. Работ, рассматривающих более продолжительное влияние дыма ландшафтных пожаров по сравнению с характеризуемым ВОЗ как безопасное по уровню краткосрочного воздействия одного из опаснейших компонентов (CO = 100 мг/м<sup>3</sup> в течение 15 мин) [8], в литературе практически нет. Следует отметить, что влияние дыма может быть как в момент воздействия, так и отсроченным и сопровождаться накоплением структурных повреждений ДНК, в том числе и у последующих поколений. Однако исследований отдалённых генотоксических проявлений и последствий воздействия дыма торфяных пожаров в доступной литературе представлено недостаточно.

Образование одно- и двунитевых разрывов ДНК при воздействии токсиантов является важным событием, приводящим к возможному развитию в организме патологических процессов. Это означает, что явление повреждения ДНК при экспозиции торфяным дымом можно рассматривать как биоиндикатор, подтверждающий наличие в его составе компонентов, оказывающих на организм генотоксическое воздействие. Особую актуальность имеет детекция повреждений в структуре ДНК на ранних этапах, когда патологические процессы в организме ещё не запущены и соответственно не могут быть диагностированы [9]. Важной задачей при этом является выявление генотоксических изменений не только у организмов, непосредственно подвергавшихся дымовому воздействию, но и отдалённых последствий у будущих поколений. Получить результаты в соответствии с принципами и подходами доказательной медицины возможно при экспериментальном биомоделировании.

**Цель исследования** – оценка ДНК-повреждений в ядродержащих клетках крови (лейкоцитах) белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма торфяного пожара, а также их потомства.

Для достижения поставленной цели решены две задачи.

1. Определён уровень ДНК-повреждений у крыс-самцов, подвергавшихся однократному воздействию дыма торфяного пожара с концентрацией CO = 99 ± 2,5 мг/м<sup>3</sup>, PM<sub>2,5</sub> = 0,72 ± 0,3 мг/м<sup>3</sup> в течение 40 мин.

2. Определён уровень ДНК-повреждений у потомства обоего пола, полученного от экспонированных самцов.

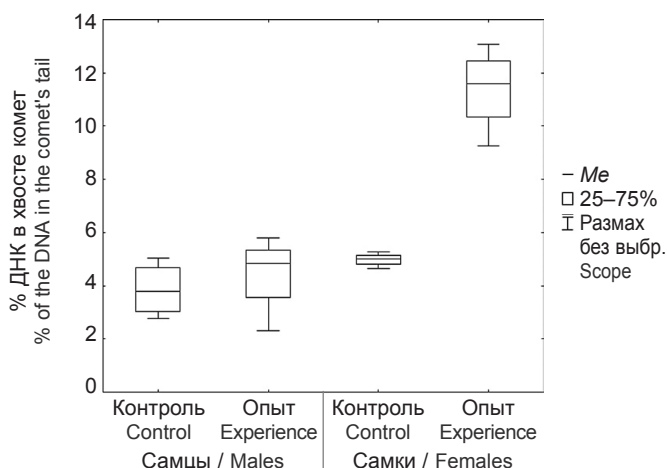
## Материалы и методы

Экспериментальные исследования выполнены на 20 беспородных белых крысах-самцах и 40 самках массой 200–210 г. Все экспериментальные животные получены в виварии ФГБНУ ВСИМЭИ путём собственного воспроизводства и содержались на стандартном рационе. Моделирование дымовой интоксикации проводили в затравочной камере объёмом 200 л, оснащённой приборами регистрации концентрации CO и PM<sub>2,5</sub>, а также соединённым с ней дымогенератором, горючим субстратом в котором служил торф. Крысам контрольной группы в камеру подавался чистый воздух.

На первом этапе исследования самцов ( $n = 10$ ) подвергали воздействию дыма с концентрацией CO = 99 ± 2,5 мг/м<sup>3</sup>, PM<sub>2,5</sub> = 0,72 ± 0,3 мг/м<sup>3</sup> однократно в течение 40 мин. Достаточно высокий уровень основных компонентов торфяного дыма и продолжительность воздействия были выбраны целенаправленно для предполагаемого формирования процесса индукции повреждённости ДНК в клетках крови. Через 24 ч после экспозиции проводили исследование фрагментации ДНК методом ДНК-комет. На втором этапе исследования было получено потомство (F1) от экспонированных на первом этапе самцов, которых спаривали сразу после окончания экспозиции с интактными самками. Затем животных поколения F1 рандомизировали на группы обоего пола: Опыт, Контроль.

После окончания экспозиции оценку генотоксического эффекта дыма проводили в лейкоцитах методом ДНК-комет в щелочной версии в соответствии с рекомендациями [10, 11]. Выбор щелочной модификации метода позволил существенно увеличить информативность и чувствительность теста, поскольку для большинства генотоксикантов преобладают эффекты одиночных разрывов ДНК [12], а щелочной анализ комет способен выявлять как двунитевые, так и однонитевые разрывы. Для этого в стеклянной пробирке смешивали 50 мкл крови с 500 мкл охлажденного до температуры плюс 4 °С фосфатно-солевого буфера (рН = 7,4) и ресуспендировали. Суспензию клеток в объёме 60 мкл вносили в микроцентрифужные пробирки с 240 мкл 0,9%-м гелем легкоплавкой агарозы в фосфатно-солевом буфере, подогретым до температуры плюс 42 °С в микротермостате («Термит», Россия), и ресуспендировали. Затем 60 мкл раствора агарозы с клетками наносили на предварительно покрытые 1%-й универсальной агарозой предметные стёкла, покрывали покровным стеклом и помещали на лёд до образования плотного геля. Покровные стёкла аккуратно удаляли, полученные агарозные слайды помещали в стеклянную кювету (тип Шиффендекер), заливали предварительно охлаждённым до температуры плюс 4 °С лизирующим буфером (10 мМ Tris-HCl, 2,5 М NaCl, 100 мМ EDTA-Na<sub>2</sub>, 1% Triton X-100, 10% ДМСО в процентах от конечного объёма; рН = 10,0) и инкубировали не менее 1 ч при плюс 4 °С.

Original article



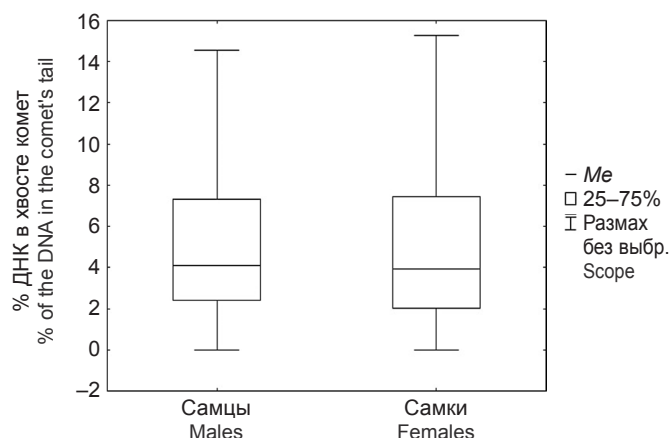
**Рис. 1.** Содержание ДНК в «хвосте комет» в клетках крови самцов белых крыс через 24 ч после экспозиции дымом торфяного пожара с концентрацией  $CO = 99 \pm 2,5$  мг/м<sup>3</sup>,  $PM_{2,5} = 0,72 \pm 0,3$  мг/м<sup>3</sup>.

**Fig. 1.** DNA content in the «comets tail» in the blood cells of white rat males one day after exposure to peat fire smoke with a concentration of  $CO = 99 \pm 2.5$  mg/m<sup>3</sup>,  $PM_{2,5} = 0.72 \pm 0.3$  mg/m<sup>3</sup>.

После окончания лизиса микропрепараты переносили в камеру для электрофореза (SubCell, Bio-Rad), заливали раствором для электрофореза (300 мМ NaOH, 1 мМ EDTA-Na<sub>2</sub>, pH > 13,0) и инкубировали без включения аппарата в течение 20 мин для раскручивания нитей ДНК и реализации щелочно-лабильных сайтов в одно- и дунитевые разрывы. Далее проводили электрофорез в течение 20 мин при напряжённости поля 1 V/cm и силе тока 300 мА. По окончании электрофореза предметные стёкла, содержащие лизат клеток, переносили в стеклянную кювету и фиксировали в 70%-м растворе этилового спирта в течение 10 мин. После фиксации микропрепараты высушивали и хранили до анализа при комнатной температуре. Для окраски использовали флуоресцирующий краситель SYBR Green I (Invitrogen). Визуализацию проводили на микроскопе Olympus BX-51, совмещённом с цифровой камерой высокого разрешения Olympus RX-420, при увеличении  $\times 100$ . Изображения ДНК-комет анализировали с использованием программного обеспечения CASP 1.2.2 в количестве 100 ядер для каждого стекла. В качестве показателя повреждённости ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте ДНК-комет (% ДНК в хвосте комет), учитывая, что чем больше эта величина, тем более повреждённой является клетка. Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 6.1. (StatSoft, Inc.). Вид распределения признаков оценивали с помощью *W*-критерия Шапиро – Уилка. Так как распределение признаков являлось ненормальным, для сравнения количественных показателей использовали непараметрический метод *U*-критерия Манна – Уитни ( $p \leq 0,05$ ). Результаты исследования представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона *Me* ( $Q_{25}$ – $Q_{75}$ ).

## Результаты

**Эффект воздействия дыма торфяного пожара на самцов родительского поколения.** Определение степени повреждения ДНК в клетках крови самцов, подвергавшихся воздействию дыма, содержащего концентрации  $CO = 99 \pm 2,5$  мг/м<sup>3</sup>,  $PM_{2,5} = 0,72 \pm 0,3$  мг/м<sup>3</sup>, через 24 ч после окончания экспозиции не выявило статистически значимых различий по сравнению с показателями контрольной группы 3,93 (2,02–7,46;  $p = 0,59$ ) и 4,08 (2,41–7,33) соответственно (рис. 1). В образцах крови животных опытной группы наблюдали сходное с контролем распределение клеток с разной степенью повреждений ДНК. Так, в 86% клеток крови крыс как опытной, так



**Рис. 2.** Содержание ДНК в «хвосте комет» в клетках крови самцов и самок белых крыс потомства F1.

**Fig. 2.** The DNA content in the «tail of a comets» in the blood cells of male and female white rats of the offspring of F1.

и контрольной групп выявлен низкий уровень повреждений ДНК (от 0 до 10% ДНК в хвосте комет).

**ДНК-повреждённость клеток крови у потомства F1.** Определение степени повреждённости ДНК у потомства F1 показало различные результаты в зависимости от пола. В крови самцов опытной группы % ДНК в хвосте комет не имел статистически значимых отличий по сравнению с соответствующей группой контроля 4,84 (3,56–5,33) и 3,8 (3,04–4,66) соответственно (рис. 2). В то же время у потомства женского пола выявлено статистически значимое повышение повреждённости ДНК в клетках крови по сравнению с контрольной группой ( $p = 0,03$ ). Уровень ДНК-повреждений в опытной группе возрос в 2,5 раза. Показатель повреждённости ДНК в хвосте комет лейкоцитов крыс контрольной группы не превышал 4,12 (2,36–6,37), тогда как у самок из группы Опыт данный показатель составил 10,24 (6,32–14,62). При этом существовало значительное количество клеток (51,01% в опытной группе относительно 10,69% в контрольной), имеющих умеренный уровень повреждённости ДНК (10–30% ДНК в хвосте комет). Сравнение между собой значений степени повреждения ДНК в лейкоцитах самцов и самок групп Опыт поколения F1 показал наличие статистической значимости ( $p = 0,03$ ).

## Обсуждение

В современных условиях человек, особенно городской житель, постоянно сталкивается с химическими и физическими факторами производственной и бытовой среды. Известно, что дым пожаров оказывает комплексное вредное воздействие на весь организм. Так, Matas R. установил, что уже одночасовое воздействие дыма от горения древесины способно вызвать угнетение механизмов местной иммунной защиты [13]. В работе Dubick M.A. и соавт. определено, что ингаляции дыма индуцируют у крыс оксидативный стресс не менее чем на 48 ч [14]. В эксперименте на крысах Tesfaigzi Y. и соавт. провели ещё более длительную экспозицию дымом от горящей древесины (до 12 нед) и обнаружили в дыхательных путях воспалительные изменения в сочетании с увеличением содержания бокаловидных клеток, гиперплазию альвеолярных макрофагов и другие признаки морфологических изменений лёгочной ткани [15]. Исследование Thompson L.C. и соавт. показывает, что воздействие торфяного дыма на дыхательные пути может вызвать транзиторное тахипноэ в течение нескольких минут после воздействия, а



также изменить регуляцию объёма левого желудочка сердца и гемодинамику лёгочной артерии через 24 ч [16]. Ранее нами было установлено, что дым ландшафтных пожаров после воздействия в течение четырёх недель способен вызвать у экспонированных крыс нарушение показателей сперматогенеза, а также повышение степени полногеномного метилирования ДНК в крови [17].

Многочисленными исследованиями доказано, что компоненты дыма торфяных пожаров (диоксид серы  $SO_2$ , углекислый газ, ПАУ [2], твёрдые микро- и наночастицы размером от 10 мкм до 100 нм [7]) способны проявлять генотоксическую активность в отношении организма. Исследования Aguilera и соавт. [3] и Franzi и соавт. [4] показали, что химический состав твёрдых частиц  $PM_{2,5}$  в дыме лесных пожаров более токсичен, чем  $PM_{2,5}$  городской окружающей среды. Результаты клинического эксперимента Wu W. и соавт. говорят о том, что воздействие  $PM_{2,5}$  не уменьшает количества вырабатываемой спермы, но влияет на её функциональность, что может снизить способность к оплодотворению яйцеклетки [5]. Работа Kinney P. подтверждает, что  $PM_{2,5}$  также воздействует на дыхательную систему, вызывая иммунный ответ и повреждение тканей [6]. Горбатова Д.М. и соавт. показали, что экспозиция торфяным дымом приводит к индукции повреждений ДНК в клетках плаценты и эмбрионов крыс [7]. Neßelbach K. и соавт. определили, что большинство изменений метилирования ДНК в клетках эпителия бронхов человека BEAS-2B, подвергавшихся воздействию образованных в результате сжигания биомассы  $PM_{2,5}$ , связаны с его гипометилированием ДНК [18]. В исследовании Schuller A. и соавт. описана связь развития болезни Альцгеймера с метилированием ДНК, вызванным воздействием древесного дыма [19]. В работе [20] авторами продемонстрировано, что 40-дневное воздействие дыма ландшафтного пожара вызывает изменения метилирования ДНК сперматозоидов у мышей: почти 80% метилированных областей были гиперметилированы. Koehler C. и соавт. провели исследование генотоксического эффекта  $NO_2$  и выяснили, что необратимое повреждение ДНК эпителиальных клеток слизистой оболочки носа может произойти уже при трёхчасовом воздействии 200 мг/м<sup>3</sup>  $NO_2$  [21], что соответствует концентрации  $NO_2$ , установленной ВОЗ для предельного безопасного значения воздействия в течение одного часа [22]. Görtsdorf S. и соавт. анализировали способность  $NO$  и  $NO_2$  индуцировать одноцепочечные разрывы ДНК в клетках китайского хомячка (клетки V79). Самая низкая концентрация  $NO_2$ , которая статистически отличалась от контрольных значений, составляла 20 мг/м<sup>3</sup> при воздействии в течение 20 мин [23]. Nihal U. и соавт. определяли генотоксичность  $SO_2$  на лимфоцитах человека и выяснили, что  $SO_2$  вызывал значительное увеличение частоты сестринского хроматидного обмена, а также индуцировал задержку митоза и снижал митотический индекс и индекс репарации ДНК при концентрации 1,3 мг/м<sup>3</sup>. Данное исследование подтверждает, что  $SO_2$  обладает сильным мутагенным действием и может вызывать генетические повреждения, приводящие к злокачественным новообразованиям [24]. Следует отметить, что описанные эффекты были вызваны изолированным действием  $NO$ ,  $NO_2$ ,  $SO_2$ ,  $PM_{2,5}$ , в то время как торфяные пожары сопровождаются выбросом в атмосферу многокомпонентной смеси вредных продуктов горения, следовательно, их действие может потенцироваться и оказывать на организм всестороннее негативное влияние.

Патогенетическое значение повреждённости ДНК в соматических клетках до конца не изучено. Известно, что повреждение ДНК может индуцировать преждевременное старение, снижать жизнеспособность особи и приводить к онкопатологии. Основная часть нарушений структуры ДНК подвергается репарации. Однако даже краткосрочные проходящие нарушения структуры ДНК оказывают неблагоприятное воздействие на функциональное состояние клетки. И чем дольше сохраняется повреждённость ДНК, тем

к более тяжёлым последствиям она приводит, запуская патологические реакции и механизмы нарушения клеточного гомеостаза.

Моделируемая нами экспозиция дыма, образующегося при горении торфа, с содержанием  $CO = 99 \pm 2,5$  мг/м<sup>3</sup>,  $PM_{2,5} = 0,72 \pm 0,3$  мг/м<sup>3</sup>, в течение 40 мин на крыс не имеет отношения к реальному загрязнению окружающей среды при торфяном задымлении, однако с учётом процессов материальной и функциональной кумуляции в организме она может достигать высоких уровней, достаточных для инициации процессов повреждённости ДНК в клетках. Вместе с тем воздействие дыма на крыс-самцов в указанных концентрациях по основным составляющим смеси не вызвало повреждённости ДНК в клетках крови. Другими словами, однократное воздействие  $CO$  при концентрации  $CO = 99 \pm 2,5$  мг/м<sup>3</sup>,  $PM_{2,5} = 0,72 \pm 0,3$  мг/м<sup>3</sup> в течение 40 мин было безопасным. Отсутствовала повреждённость ДНК в клетках крови и у самцов потомства F1, полученного от экспонированного дымом родительского поколения, в то время как у самок поколения F1 выявлена индукция повреждённости ДНК в клетках крови. Причём у каждой второй особи женского пола отмечен умеренный уровень повреждённости ДНК (10–30% ДНК в хвосте комет). Появление среди клеток крови такой фракции свидетельствует о тенденции к развитию апоптотического процесса и может являться важным биоиндикатором экспозиции торфяным дымом. Данный факт представляет определённый интерес для дальнейшего исследования и анализа.

По нашему мнению, вероятным механизмом такого выборочного наследования повреждённости ДНК в зависимости от пола является крисс-кросс наследование, в результате которого признаки отцов проявляются у дочерей, а признаки матерей — у сыновей [25]. По всей видимости, именно такой механизм наследования чувствительности к токсичным компонентам дыма пожаров выявлен в нашем исследовании. Вероятно также, что различия в результатах между самками и самцами могут быть обусловлены таким феноменом, как половой диморфизм, определяющий вариабельность индивидуальной химической чувствительности, связанной с различиями в регуляции активности ферментов, в том числе участвующих в процессах детоксикации, и адаптационных возможностей организма.

Генотоксические эффекты продуктов горения торфа обусловлены активацией свободнорадикального окисления [16, 17, 18]. И этим можно было бы объяснить повреждённость ДНК в клетках крови непосредственно экспонированных животных. Однако мы наблюдали ДНК-повреждения у потомства крыс, которые не подвергались воздействию дыма. В данном случае представляет интерес исследование генотоксических нарушений или процессов метилирования ДНК в мужских гаметях. Гематотестикулярный барьер обладает функцией избирательной проницаемости для повреждающих биологических и химических факторов. Исследуя фрагментацию ДНК сперматозоидов, можно сделать вывод о токсичности исследуемого вещества и косвенно оценить функциональное состояние гематотестикулярного барьера. Поэтому представляет интерес дальнейшее исследование влияния компонентов дыма не только на соматические, но и на половые клетки.

## Заключение

Полученные в настоящем исследовании данные свидетельствуют о том, что однократное воздействие в течение 40 мин дыма природных пожаров с уровнем  $CO = 99 \pm 2,5$  мг/м<sup>3</sup>,  $PM_{2,5} = 0,72 \pm 0,3$  мг/м<sup>3</sup> не вызывает существенных повреждений ДНК как у экспонированных дымом самцов, так и у их потомства F1 мужского пола. У самок из полученного потомства выявлены значимые изменения повреждённости ДНК в клетках крови. Вышеизложенные результаты оставляют много нерешённых вопросов и определяют перспективность дальнейших исследований.



## Литература

(п.п. 1–6, 8, 14–16, 18–21, 23, 24 см. References)

7. Горбатова Д.М., Жанатаев А.К., Немова Е.П., Дурнев А.Д. Повреждения ДНК в клетках плацент и эмбрионов крыс, Подвергнутых воздействию торфяного дыма; антигенотоксический эффект афобазола. *Экологическая генетика*. 2016; 14(2): 50–6. <https://doi.org/10.17816/ecogen14250-56> <https://elibrary.ru/wfrwdp>
9. Филиппов Э.В. Использование метода «ДНК-комет» для детекции и оценки степени повреждений ДНК клеток организмов растений, животных и человека, вызванных факторами окружающей среды (обзор). *Наука и образование*. 2014; (2): 72–8. <https://elibrary.ru/sufctf>
10. Дурнев А.Д., Жанатаев А.К., Анисина Е.А., Сиднева Е.С., Никитина В.А., Оганесянц Л.А. и др. *Применение метода щелочного гелелектрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений: Методические рекомендации*. М.; 2006. <https://elibrary.ru/sevvtq>
11. Дурнев А.Д., Меркулов В.А., Жанатаев А.К., Никитина В.А., Воронина Е.С., Середенин С.Б. Методические рекомендации по оценке ДНК-повреждений методом щелочного гелелектрофореза отдельных клеток в фармакологических исследованиях. В кн.: *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть 1. М.: ГрифиК; 2012: 115–28. <https://elibrary.ru/wxwgpv>
12. Ларионов А.В., Волобаев В.П., Сердюкова Е.С. Изучение показателей ДНК-комет у здоровых доноров в условиях различных радиационных параметров жилых помещений. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; (6): 261. <https://elibrary.ru/ynxzhz>
13. Добрых В.А., Захарычева Т.А. *Дым лесных пожаров и здоровье*. Хабаровск; 2009.
17. Вокина В.А., Капустина Е.А., Новиков М.А., Андреева Е.С. Нарушение репродуктивного потенциала самцов белых крыс при воздействии дыма природного пожара. *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. 2021; (1): 70–6. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2021-1-70-76> <https://elibrary.ru/zwdrgg>
22. ВОЗ. Рекомендации ВОЗ по качеству воздуха, касающиеся твердых частиц, озона, двуокиси азота и двуокиси серы: глобальные обновленные данные 2005: краткое изложение оценки риска; 2006. Доступно: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/87502>
25. Инге-Вечтомов С.Г. *Генетика с основами селекции*. М.: Высшая школа; 1989.

## References

1. Karahalil B., Karakaya A.E., Burgaz S. The micronucleus assay in exfoliated buccal cells: application to occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutat. Res.* 1999; 442(1): 29–35. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(99\)00055-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(99)00055-8)
2. Bojakowska I., Sokołowska G. Polycyclic aromatic hydrocarbons in materials of burned peatlands. *Pol. J. Environ. Stud.* 2003; 12(4): 401–8.
3. Aguilera R., Corringham T., Gershunov A., Benmarhnia T. Wildfire smoke impacts respiratory health more than fine particles from other sources: observational evidence from Southern California. *Nat. Commun.* 2021; 12(1): 1493. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21708-0>
4. Franzl L.M., Bratt J.M., Williams K.M., Last J.A. Why is particulate matter produced by wildfires toxic to lung macrophages? *Toxicol. Applied Pharm.* 2011; 257(2): 182–8. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.09.003>
5. Wu W., Chen Y., Cheng Y., Tang Q., Pan F., Tang N., et al. Association between ambient particulate matter exposure and semen quality in fertile men. *Environ. Health.* 2022; 21(1): 16. <https://doi.org/10.1186/s12940-022-00831-5>
6. Kinney P. Climate change, air quality, and human health. *Am. J. Prev. Med.* 2008; 35(5): 459–67. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2008.08.025>
7. Gorbatova D.M., Zhanataev A.K., Nemova E.P., Durnev A.D. DNA damage in placenta and embryos of rats exposed to peat smoke: Antigenotoxic effects of afobazole. *Ekologicheskaya genetika*. 2016; 7(6): 712–6. <https://doi.org/10.1134/S2079059717060053> <https://elibrary.ru/xnotbo> (in Russian)
8. WHO. WHO global air quality guidelines: particulate matter (PM<sub>2.5</sub> and PM<sub>10</sub>), ozone, nitrogen dioxide, sulfur dioxide and carbon monoxide; 2021. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/345329>
9. Filippov E.V. Using DNA comet assay for detecting and estimating the degree of DNA damage to cells in plant, animal and human organisms caused by environmental factors. *Nauka i obrazovanie*. 2014; (2): 72–8. <https://elibrary.ru/sufctf> (in Russian)
10. Durnev A.D., Zhanataev A.K., Anisina E.A., Sidneva E.S., Nikitina V.A., Oganesyants L.A., et al. *The use of the method of alkaline gel-electrophoresis of isolated cells to assess the genotoxic properties of natural and synthetic compounds. [Primenenie metoda shchelochного gel'-elektroforeza izolirovannykh kletoк dlya otsenki genotoksicheskikh svoystv prirodnykh i sinteticheskikh soedinenii: metod. rekomendatsii: uv. Moscow; 2006. https://elibrary.ru/sevvtq (In Russian)*
11. Durnev A.D., Merkulov V.A., Zhanataev A.K., Nikitina V.A., Voronina E.S., Seredenin S.B. Metodicheskie rekomendatsii po otsenke DNK-povrezhdenii metodom shchelochного gel'-elektroforeza otdel'nykh kletok v farmakologicheskikh issledovaniyakh. *Guidance on Preclinical Evaluation of Medicines. Part 1. M.: Grif i K; 2012: 115–128. https://elibrary.ru/wxwgpv (In Russian)*
12. Larionov A.V., Volobaev V.P., Serdyukova E.S. The study of the parameters of DNA comets in healthy donors under different residential radiation parameters. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; (6): 261. <https://elibrary.ru/ynxzhz> (in Russian)
13. Dobrykh V.A., Zakharycheva T.A. *Wildfire Smoke and Health [Dym lesnykh pozharov i zdorov'e]*. Khabarovsk; 2009. (in Russian)
14. Dubick M.A., Carden S.C., Jordan B.S., Langlinais P.C., Mozingo D.W. Indices of antioxidant status in rats subjected to wood smoke inhalation and for thermal injury. *Toxicology*. 2002; 176(1–2): 145–57. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00132-4](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00132-4)
15. Tesfaigzi Y., Singh S.P., Foster J.E., Kubutko J., Barr E.B., Fine P.M., et al. Health effects of subchronic exposure to low levels of wood smoke in rats. *Toxicol. Sci.* 2002; 65(1): 115–25. <https://doi.org/10.1093/toxsci/65.1.115>
16. Thompson L.C., Kim Y.H., Martin B.L., Ledbetter A.D., Dye J.A., Hazari M.S., et al. Pulmonary exposure to peat smoke extracts in rats decreases expiratory time and increases left heart end systolic volume. *Inhal. Toxicol.* 2018; 30(11–12): 439–47. <https://doi.org/10.1080/08958378.2018.1551443>
17. Vokina V.A., Kapustina E.A., Novikov M.A., Andreeva E.S. Reproductive potential of male rats in the experimental model of wildfire. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya*. 2021; (1): 70–6. <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2021-1-70-76> <https://elibrary.ru/zwdrgg> (in Russian)
18. HeBelbach K., Kim G.J., Flemming S., Häupl T., Bonin M., Dornhof R., et al. Epigenetics. Disease relevant modifications of the methylome and transcriptome by particulate matter (PM<sub>2.5</sub>) from biomass combustion. *Epigenetics*. 2017; 12(9): 779–92. <https://doi.org/10.1080/15592294.2017.1356555>
19. Schuller A., Montrose L. Influence of woodsmoke exposure on molecular mechanisms underlying Alzheimer's disease: existing literature and gaps in our understanding. *Epigenet. Insights*. 2020; 13: 1–10. <https://doi.org/10.1177/2516865720954873>
20. Schuller A., Bellini C., Jenkins T.G., Eden M., Matz J., Oakes J., et al. Simulated wildfire smoke significantly alters sperm DNA methylation patterns in a murine model. *Toxics*. 2021; 9(9): 199. <https://doi.org/10.3390/toxics9090199>
21. Koehler C., Ginzkey C., Friehs G., Hackenberg S., Froelich K., Scherzed A., et al. *Ex vivo* toxicity of nitrogen dioxide in human nasal epithelium at the WHO defined 1-h limit value. *Toxicol. Letters*. 2011; 207(1): 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.08.004>
22. WHO. WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide: global update 2005: summary of risk assessment; 2006. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69477>
23. Görsdorf S., Appel K.E., Engeholm C., Obe G. Nitrogen dioxide induces DNA single-strand breaks in cultured Chinese hamster cells. *Carcinogenesis*. 1990; 11(1): 37–41. <https://doi.org/10.1093/carcin/11.1.37>
24. Uren N., Yuksel S., Önal Y. Genotoxic effects of sulfur dioxide in human lymphocytes. *Toxicol. Ind. Health*. 2012; 30(4): 311–5. <https://doi.org/10.1177/0748233712457441>
25. Inge-Vechtomov S.G. *Genetics with the Basics of Selection [Genetika s osnovami selektsii]*. Moscow: Vysshaya shkola; 1989. (in Russian)