

УДК [599.323.4+577.2]:612.084

DOI: 10.37482/2687-1491-Z071

ПОВРЕЖДЕНИЕ ДНК В ТКАНЯХ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ДЫМА ЛЕСНЫХ ПОЖАРОВ

Е.А. Капустина* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2803-4048>

В.А. Вокина* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8165-8052>

Е.С. Андреева* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3709-8676>

*Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований
(Иркутская обл., г. Ангарск)

Дым лесных пожаров воздействует на здоровье населения всей планеты, и с каждым годом ситуация ухудшается. Дым пожаров обладает мутагенными, канцерогенными и другими отдаленными эффектами. Целью работы являлось изучение генотоксического воздействия дыма лесных пожаров на белых крыс-самцов и трансгенерационного эффекта дыма лесных пожаров на их потомство. Исследование проводилось на 40 белых крысах-самцах. Моделирование воздействия дыма осуществлялось в 200-литровых затравочных камерах, по 4 ч в день 5 дней в неделю в течение 4 недель, горючим субстратом служили лесная подстилка, ветки, опавшая кора и верхний срез почвы. От самцов, участвующих в эксперименте, и интактных самок было получено потомство обоего пола. Анализировались фрагментация и полногеномное метилирование ДНК в тканях гонад и клетках крови взрослых животных (сразу после окончания воздействия) и полногеномное метилирование ДНК в клетках крови потомства при достижении ими половозрелого возраста. Исследование осуществлялось методом ДНК-комет в модификации для изучения полногеномного метилирования, с использованием рестриктаз MspI и с HpaII. У животных, подвергавшихся воздействию дыма, обнаружен повышенный уровень полногеномного метилирования в клетках крови. У потомства мужского пола отмечено снижение уровня полногеномного метилирования в клетках крови по сравнению с контролем; у особей женского пола не выявлено отличий от контроля. Установленные факты изменения полногеномного метилирования после воздействия дыма лесных пожаров требуют более углубленного исследования, т. к. механизм развития данного явления до конца не ясен.

Ключевые слова: дым лесных пожаров, генотоксическое действие дыма, трансгенерационный эффект дыма, фрагментирование ДНК, полногеномное метилирование ДНК, метод ДНК-комет, белые крысы.

Ответственный за переписку: Капустина Екатерина Александровна, адрес: 665827, Иркутская обл., г. Ангарск, мкр. 12А, д. 3; e-mail: kapustinkaе@yandex.ru

Для цитирования: Капустина Е.А., Вокина В.А., Андреева Е.С. Повреждение ДНК в тканях белых крыс при воздействии дыма лесных пожаров // Журн. мед.-биол. исследований. 2021. Т. 9, № 3. С. 335–342. DOI: 10.37482/2687-1491-Z071

Дым лесных пожаров в современном мире служит одним из факторов, имеющих неблагоприятное воздействие на здоровье населения всей планеты. Ежегодно пожары охватывают до 550 млн га, и с каждым годом прогнозируется ухудшение ситуации [1]. Дым лесных пожаров – это многокомпонентная смесь из газов и взвешенных частиц различного диаметра, мелкие размеры которых (до 2,5 мкм) позволяют им глубоко проникать в легкие и оседать в альвеолах, оказывая спектр эффектов, включая отдаленные [2, 3]. В научной литературе описаны мутагенные и канцерогенные последствия влияния данного фактора на организмы. Так, в исследованиях J. Lewtas et al. и Y.H. Kim et al. выявлен мутагенный эффект компонентов дыма, образующегося при горении сосны и торфа, а также дыма дровяных печей и каминов, в тестах с *Salmonella typhimurium* [4, 5].

Ранее нами был показан трансгенерационный эффект дыма лесных пожаров у потомства крыс-самцов, подвергавшихся воздействию в течение 7 дней [6]. Самки характеризовались повышением двигательной активности и снижением ориентировочно-исследовательского поведения. Особи мужского пола, полученные от экспонированных животных, напротив, демонстрировали снижение двигательной активности. Результаты приведенных исследований ставят новые задачи по исследованию влияния дыма лесных пожаров на живой организм, одной из которых является изучение механизма передачи воздействия фактора на последующее поколение, а также возможных генетических изменений у потомства.

Цель работы – изучение влияния дыма лесных пожаров на фрагментацию ДНК в половых клетках и клетках крови крыс-самцов и на уровень полногеномного метилирования в клетках крови потомства экспонированных животных.

Материалы и методы. Моделирование воздействия дыма лесных пожаров производили на 40 белых беспородных крысах-самцах в 200-литровых затравочных камерах. Горючим субстратом служили лесная подстилка, ветки, опавшая кора и верхний срез почвы. Условия

горения и состав воздуха были аналогичны модели, описанной ранее [6]. Крыс опытной группы ($n = 20$) подвергали воздействию дыма по 4 ч в день 5 дней в неделю в течение 4 недель, животных контрольной группы ($n = 20$) на то же время помещали в затравочные камеры, куда подавали чистый воздух. После окончания экспозиции особей обеих групп подсаживали к интактным самкам для получения потомства. Самцов, участвующих в эксперименте, обследовали сразу после окончания экспозиции, потомство (по 10 особей обоего пола в каждой группе) – после достижения половозрелого возраста.

Исследование фрагментации проводили методом ДНК-комет [7]. Уровень полногеномного метилирования также оценивали методом ДНК-комет в модификациях с использованием рестриктаз MspI и с HpaII («СибЭнзим», Россия) [8]. Материал (кровь или семенники) забирали после декапитации экспериментальных животных под эфирным наркозом.

Регистрацию окрашенных (красителем SYBRGreen I) препаратов производили на микроскопе OLYMPUS BX-52, совмещенном с цифровой камерой OLYMPUS RX-420, при увеличении $\times 100$. Изображения ДНК-комет (по 100 клеток от каждого животного) анализировали с помощью программы CASP 1.2.2. В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание фрагментов ДНК в хвосте комет. Для каждого слайда анализировали 100 ядер. Уровень полногеномного метилирования высчитывали по формуле: $100 - (HpaII \cdot 100 / MspI)$, где HpaII и MspI – доля ДНК (%) в хвосте кометы в 100 ядрах на препаратах, обработанных HpaII и MspI соответственно.

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft). Для сравнения групп применяли U -критерий Манна-Уитни. Нулевые гипотезы об отсутствии различий между группами отвергали при достигнутом уровне значимости соответствующего статистического критерия $p \leq 0,05$.

Результаты представляли в виде медианы и интерквартильного размаха – $Me (Q_{25}-Q_{75})$.

Все экспериментальные животные получены путем собственного воспроизводства в виварии ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» и содержались на стандартном рационе. Работа выполнена с соблюдением правил гуманного отношения к животным в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (ВОЗ, Женева, 1985) и «Правилами лабораторной практики» (приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 года № 708н).

Результаты. Исследование фрагментации ДНК в клетках крови и семенниках самцов белых крыс не выявило значимых отличий в контрольной и опытной группах (см. *таблицу*).

Анализ полногеномного метилирования показал, что его уровень в клетках крови у опытных особей был статистически значимо выше, чем в контроле (см. *таблицу*). Сравнение образцов гонад не обнаружило различий в экспериментальных группах по данному показателю.

Изучение уровня полногеномного метилирования в клетках крови потомства выявило

статистически значимое снижение показателя у потомства мужского пола опытной группы по сравнению с контролем; у самок соответствующие показатели не отличались.

Обсуждение. Проведенное исследование показало, что дым лесных пожаров может оказывать генотоксическое и трансгенерационное действие.

Несмотря на наличие в составе дыма лесных пожаров веществ с мутагенной и канцерогенной активностью [9, 10], изучение фрагментации ДНК у опытных животных сразу после окончания воздействия дыма не выявило отличий от контрольной группы. Отсутствие изменений может быть связано с недостаточными для развития ответа организма уровнем и сроком воздействия токсикантов дыма, использованными в данной модели.

Наличие изменений уровня полногеномного метилирования в крови у животных и отсутствие их в половой системе, по нашему мнению, может быть обусловлено защитными свойствами гематотестикулярного барьера в семенниках [11], тогда как кровь, омывая альвеолы с загрязненным воздухом, непосредственно контактирует с ксенобиотиками, подвергая клетки их токсическому воздействию [12].

ФРАГМЕНТАЦИЯ И ПОЛНОГЕНОМНОЕ МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК

В ТКАНЯХ КРЫС, $Me (Q_{25}-Q_{75})$, %

DNA FRAGMENTATION AND GLOBAL DNA METHYLATION

IN RAT TISSUES, $Me (Q_{25}-Q_{75})$, %

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа	<i>p</i>
Фрагментация ДНК у взрослых крыс-самцов:			
кровь	2,2 (0,97–3,04)	2,01 (1,03–3,23)	0,12
гонады	0,05 (0,03–0,32)	0,03 (0,02–0,21)	0,09
Метилирование ДНК у взрослых крыс-самцов:			
кровь	43,5 (32,9–54,9)	63,8 (60,2–79,1)	0,04
гонады	48,8 (34,7–54,4)	60,0 (45,2–71,0)	0,09
Метилирование ДНК в крови потомства:			
самцы	34,4 (29,8–40,6)	28,1 (17,8–32,9)	0,02
самки	43,0 (26,5–47,8)	40,2 (23,6–56,4)	0,08

Метилирование ДНК считается одним из важных механизмов в эпигенетике, влияющих на экспрессию генов, «включая» или «выключая» их [13]. Изменения уровня метилирования отмечены при преждевременном старении организма, геномной нестабильности, влияют на пролиферацию и дифференцировку клеток. Например, глобальное гиперметилирование выявлено в головном мозге и клетках крови при болезни Паркинсона, при этом оно сочетается с гипометилированием определенных промоторов [14]. Во многих тканях с возрастом наблюдается глобальное гипометилирование, в то же время тканеспецифический набор промоторов генов становится гиперметилированным [15].

Несмотря на отсутствие нарушений последовательности ДНК при метилировании, признаки, полученные родителями при воздействии различных факторов, могут передаваться потомкам эпигенетически. Проведенное исследование выявило, что при отсутствии фрагментации ДНК в половых клетках крыс-самцов, подвергавшихся воздействию дыма, у их потомства мужского пола наблюдается снижение уровня полногеномного метилирования в крови по сравнению с контролем.

Недавние сообщения показали, что у людей отцовское ожирение и старение могут эпигенетически перепрограммировать гаметы, вызывая изменения у потомков. L. Krejčova et al. проанализировали влияние индекса массы тела (ИМТ) мужчин на эпигеном сперматозоидов и его связь с метилированием ДНК пуповинной крови их детей. У мужчин с повышенным ИМТ выявлено гиперметилирование отдельных генов (*MEG3-IG DMR*, *HIF3A*). Подобный эффект наблюдался и у их сыновей, у дочерей же в данных областях выявлено гипометилирование участков ДНК [13]. Также показано, что потеря веса после бариатрической операции ремоделирует паттерны метилирования ДНК сперматозоидов, особенно в генах, которые играют важную роль в контроле аппетита. Авторы признают, что еще предстоит выяснить, могут ли эти изменения повлиять на риск развития ожирения у потомков в зрелом

возрасте, для чего требуются более длительные и детальные наблюдения [16]. R. Potabattula et al. выявили, что курение отцов связано с повышенным риском астмы и ожирения у их детей. Авторы объяснили это явление метилированием в половых клетках родителей [17].

Экспериментальные исследования на мышах также установили, что различные факторы влияют на метилирование ДНК сперматозоидов, тем самым передавая эффекты потомству. A.J. Watkins et al. показали, что низкобелковая диета самцов мышей способствовала развитию у потомства ожирения, непереносимости глюкозы, изменений экспрессии генов в печени, появлению признаков неалкогольного жирового гепатоза [18]. Снижение уровня полногеномного метилирования у потомства выявлено при остром воздействии рентгеновского излучения в дозе 2,5 Гр в эксперименте на мышах. Изменения в тимусе были обнаружены у животных, полученных от облученных самцов или обоих облученных родителей [19].

Следует подчеркнуть, что изменения уровня метилирования нами выявлены только у потомства мужского пола, у самок показатели не отличались от контрольных. В научной литературе представлены сведения, показывающие, что трансгенерационные проявления метилирования могут зависеть от пола потомства. Так, J.C. Chan et al. выявили, что самцы мышей, подвергшиеся раннему пренатальному стрессу, демонстрируют измененное поведение при реакции на стресс и передают этот фенотип только своим потомкам-самцам, но не самкам в следующем поколении [20].

Половые различия в изменениях уровня метилирования как у подвергавшегося токсическому воздействию животного, так и у его потомков выявлены G. Elmhiri et al. Обнаружено, что в гонадах крыс Sprague Dawley, получавших от рождения до 9-месячного возраста питьевую воду с природным ураном (UO_2 , 40 мг/л), присутствует гипометилирование ДНК в яичниках и гиперметилирование ДНК в семенниках. Более того, аналогичные изменения обнаружены у их потомства как в первом, так

и во втором поколениях. Авторы делают вывод о влиянии половых гормонов при развитии изменений в метилировании ДНК [21].

Таким образом, нами показано, что воздействие дыма лесных пожаров в модельных условиях на белых крыс-самцов способно изменять метилирование ДНК клеток их крови и оказывать трансгенерационное воздействие на потомков наряду с отсутствием структурных нарушений в молекуле ДНК половых клеток

родителей. Выявлено, что трансгенерационный эффект зависит от пола потомства и заключается в уменьшении уровня полногеномного метилирования в клетках крови только у самцов. Отсутствие данных о механизмах метилирования при воздействии дыма лесных пожаров ставит задачу по более углубленному исследованию выявленных фактов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Cascio W.E. Wildland Fire Smoke and Human Health // *Sci. Total Environ.* 2018. Vol. 15, № 624. P. 586–595. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2017.12.086](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.086)
2. Liu J.C., Wilson A., Mickley L.J., Ebisu K., Sulprizio M.P., Wang Y., Peng R.D., Yue X., Dominici F., Bell M.L. Who Among the Elderly Is Most Vulnerable to Exposure to and Health Risks of Fine Particulate Matter from Wildfire Smoke? // *Am. J. Epidemiol.* 2017. Vol. 186, № 6. P. 730–735. DOI: [10.1093/aje/kwx141](https://doi.org/10.1093/aje/kwx141)
3. Reid C.E., Considine E.M., Watson G.L., Telesca D., Pfister G.G., Jerrett M. Associations Between Respiratory Health and Ozone and Fine Particulate Matter During a Wildfire Event // *Environ. Int.* 2019. Vol. 129. P. 291–298. DOI: [10.1016/j.envint.2019.04.033](https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.033)
4. Lewtas J., Claxton L., Mumford J., Lofroth G. Bioassay of Complex Mixtures of Indoor Air Pollutants // *IARC Sci. Publ.* 1993. Vol. 109. P. 85–95.
5. Kim Y.H., Warren S.H., Krantz Q.T., King C., Jaskot R., Preston W.T., George B.J., Hays M.D., Landis M.S., Higuchi M., DeMarini D.M., Gilmour M.I. Mutagenicity and Lung Toxicity of Smoldering vs. Flaming Emissions from Various Biomass Fuels: Implications for Health Effects from Wildland Fires // *Environ. Health Perspect.* 2018. Vol. 126, № 1. Art. № 017011. DOI: [10.1289/EHP2200](https://doi.org/10.1289/EHP2200)
6. Вокина В.А., Новиков М.А., Алексеенко А.Н., Соседова Л.М., Капустина Е.А., Богомолова Е.С., Елфимова Т.А. Экспериментальная оценка влияния дыма лесных пожаров на репродуктивную функцию мелких млекопитающих и их потомство // *Изв. Иркут. гос. ун-та. Сер.: Биология. Экология.* 2019. Т. 29. С. 88–98. DOI: [10.26516/2073-3372.2019.29.88](https://doi.org/10.26516/2073-3372.2019.29.88)
7. Zhanataev A.K., Anisina E.A., Chayka Z.V., Miroshkina I.A., Durnev A.D. The Phenomenon of Atypical DNA Comets // *Cell Tissue Biol.* 2017. Vol. 11, № 4. P. 286–292. DOI: [10.1134/S1990519X17040113](https://doi.org/10.1134/S1990519X17040113)
8. Wentzel J.F., Gouws C., Huysamen C., van Dyk E., Koekemoer G., Pretorius P.J. Assessing the DNA Methylation Status of Single Cells with the Comet Assay // *Anal. Biochem.* 2010. Vol. 400, № 2. P. 190–194. DOI: [10.1016/j.ab.2010.02.008](https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.02.008)
9. Ewa B., Danuta M.Š. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and PAH-Related DNA Adducts // *J. Appl. Genet.* 2017. Vol. 58, № 3. P. 321–330. DOI: [10.1007/s13353-016-0380-3](https://doi.org/10.1007/s13353-016-0380-3)
10. Muthusamy S., Peng C., Ng J.C. Genotoxicity Evaluation of Multi-Component Mixtures of Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs), Arsenic, Cadmium, and Lead Using Flow Cytometry Based Micronucleus Test in HepG2 Cells // *Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 2018. Vol. 827. P. 9–18. DOI: [10.1016/j.mrgentox.2018.01.002](https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.01.002)
11. Miller S.R., Cherrington N.J. Transepithelial Transport Across the Blood-Testis Barrier // *Reproduction.* 2018. Vol. 156, № 6. P. 187–194. DOI: [10.1530/REP-18-0338](https://doi.org/10.1530/REP-18-0338)
12. DeFlorio-Barker S., Crooks J., Reyes J., Rappold A.G. Cardiopulmonary Effects of Fine Particulate Matter Exposure Among Older Adults, During Wildfire and Non-Wildfire Periods, in the United States 2008–2010 // *Environ. Health Perspect.* 2019. Vol. 127, № 3. Art. № 37006. DOI: [10.1289/EHP3860](https://doi.org/10.1289/EHP3860)
13. Krejčová L., Richtera L., Hýnek D., Labuda J., Adam V. Current Trends in Electrochemical Sensing and Biosensing of DNA Methylation // *Biosens. Bioelectron.* 2017. Vol. 97. P. 384–399. DOI: [10.1016/j.bios.2017.06.004](https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.06.004)

14. Fernández-Santiago R., Merkel A., Castellano G., Heath S., Raya A., Tolosa E., Martí M.-J., Consiglio A., Ezquerro M. Whole-Genome DNA Hyper-Methylation in iPSC-Derived Dopaminergic Neurons from Parkinson's Disease Patients // *Clin. Epigenet.* 2019. Vol. 11, № 1. Art. № 108. DOI: [10.1186/s13148-019-0701-6](https://doi.org/10.1186/s13148-019-0701-6)
15. Thalheim T., Herberg M., Galle J. Linking DNA Damage and Age-Related Promoter DNA Hyper-Methylation in the Intestine // *Genes.* 2018. Vol. 9, № 1. Art. № 17. DOI: [10.3390/genes9010017](https://doi.org/10.3390/genes9010017)
16. Taleat Z., Mathwig K., Sudhölter E.J.R., Rassaei L. Detection Strategies for Methylated and Hypermethylated DNA // *TrAC Trends Anal. Chem.* 2015. Vol. 66. P. 80–89. DOI: [10.1016/j.trac.2014.11.013](https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.11.013)
17. Potabattula R., Dittrich M., Schorsch M., Hahn T., Haaf T., El Hajj N. Male Obesity Effects on Sperm and Next-Generation Cord Blood DNA Methylation // *PLoS One.* 2019. Vol. 14, № 6. Art. № e0218615. DOI: [10.1371/journal.pone.0218615](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218615)
18. Watkins A.J., Dias I., Tsuru H., Allen D., Emes R.D., Moreton J., Wilson R., Ingram R.J.M., Sinclair K.D. Paternal Diet Programs Offspring Health Through Sperm- and Seminal Plasma-Specific Pathways in Mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018. Vol. 115, № 40. P. 10064–10069. DOI: [10.1073/pnas.1806333115](https://doi.org/10.1073/pnas.1806333115)
19. Pogribny I., Koturbash I., Tryndyak V., Hudson D., Stevenson S.M.L., Sedelnikova O., Bonner W., Kovalchuk O. Fractionated Low-Dose Radiation Exposure Leads to Accumulation of DNA Damage and Profound Alterations in DNA and Histone Methylation in the Murine Thymus // *Mol. Cancer Res.* 2005. Vol. 3, № 10. P. 553–561. DOI: [10.1158/1541-7786.MCR-05-0074](https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-05-0074)
20. Chan J.C., Nugent B.M., Bale T.L. Parental Advisory: Maternal and Paternal Stress Can Impact Offspring Neurodevelopment // *Biol. Psychiatry.* 2018. Vol. 83, № 10. P. 886–894. DOI: [10.1016/j.biopsych.2017.10.005](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.10.005)
21. Elmhiri G., Gloaguen C., Grison S., Kereselidze D., Elie C., Tack K., Benderitter M., Lestaevael P., Legendre A., Souidi M. DNA Methylation and Potential Multigenerational Epigenetic Effects Linked to Uranium Chronic Low-Dose Exposure in Gonads of Males and Females Rats // *Toxicol. Lett.* 2018. Vol. 282. P. 64–70. DOI: [10.1016/j.toxlet](https://doi.org/10.1016/j.toxlet)

References

1. Cascio W.E. Wildland Fire Smoke and Human Health. *Sci. Total Environ.*, 2018, vol. 15, no. 624, pp. 586–595. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2017.12.086](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.086)
2. Liu J.C., Wilson A., Mickley L.J., Ebisu K., Sulprizio M.P., Wang Y., Peng R.D., Yue X., Dominici F., Bell M.L. Who Among the Elderly Is Most Vulnerable to Exposure to and Health Risks of Fine Particulate Matter from Wildfire Smoke? *Am. J. Epidemiol.*, 2017, vol. 186, no. 6, pp. 730–735. DOI: [10.1093/aje/kwx141](https://doi.org/10.1093/aje/kwx141)
3. Reid C.E., Considine E.M., Watson G.L., Telesca D., Pfister G.G., Jerrett M. Associations Between Respiratory Health and Ozone and Fine Particulate Matter During a Wildfire Event. *Environ. Int.*, 2019, vol. 129, pp. 291–298. DOI: [10.1016/j.envint.2019.04.033](https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.033)
4. Lewtas J., Claxton L., Mumford J., Lofroth G. Bioassay of Complex Mixtures of Indoor Air Pollutants. *IARC Sci. Publ.*, 1993, vol. 109, pp. 85–95.
5. Kim Y.H., Warren S.H., Krantz Q.T., King C., Jaskot R., Preston W.T., George B.J., Hays M.D., Landis M.S., Higuchi M., DeMarini D. M., Gilmour M.I. Mutagenicity and Lung Toxicity of Smoldering vs. Flaming Emissions from Various Biomass Fuels: Implications for Health Effects from Wildland Fires. *Environ. Health Perspect.*, 2018, vol. 126, no. 1. Art. no. 017011. DOI: [10.1289/EHP2200](https://doi.org/10.1289/EHP2200)
6. Vokina V.A., Novikov M.A., Alekseenko A.N., Sosedova L.M., Kapustina E.A., Bogomolova E.S., Elfimova T.A. Experimental Evaluation of Effect of Wildfire Smoke Exposure on Reproductive Function of Small Mammals and Their Offspring. *Bull. Irkutsk State Univ. Ser. Biol. Ecol.*, 2019, vol. 29, pp. 88–98. DOI: [10.26516/2073-3372.2019.29.88](https://doi.org/10.26516/2073-3372.2019.29.88) (in Russ.).
7. Zhanataev A.K., Anisina E.A., Chayka Z.V., Miroshkina I.A., Durnev A.D. The Phenomenon of Atypical DNA Comets. *Cell Tissue Biol.*, 2017, vol. 11, no. 4, pp. 286–292. DOI: [10.1134/S1990519X17040113](https://doi.org/10.1134/S1990519X17040113)
8. Wentzel J.F., Gouws C., Huysamen C., van Dyk E., Koekemoer G., Pretorius P.J. Assessing the DNA Methylation Status of Single Cells with the Comet Assay. *Anal. Biochem.*, 2010, vol. 400, no. 2, pp. 190–194. DOI: [10.1016/j.ab.2010.02.008](https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.02.008)
9. Ewa B., Danuta M.Š. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and PAH-Related DNA Adducts. *J. Appl. Genet.*, 2017, vol. 58, no. 3, pp. 321–330. DOI: [10.1007/s13353-016-0380-3](https://doi.org/10.1007/s13353-016-0380-3)

10. Muthusamy S., Peng C., Ng J.C. Genotoxicity Evaluation of Multi-Component Mixtures of Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs), Arsenic, Cadmium, and Lead Using Flow Cytometry Based Micronucleus Test in HepG2 Cells. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 2018, vol. 827, pp. 9–18. DOI: [10.1016/j.mrgentox.2018.01.002](https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.01.002)
11. Miller S.R., Cherrington N.J. Transepithelial Transport Across the Blood-Testis Barrier. *Reproduction*, 2018, vol. 156, no. 6, pp. 187–194. DOI: [10.1530/REP-18-0338](https://doi.org/10.1530/REP-18-0338)
12. DeFlorio-Barker S., Crooks J., Reyes J., Rappold A.G. Cardiopulmonary Effects of Fine Particulate Matter Exposure Among Older Adults, During Wildfire and Non-Wildfire Periods, in the United States 2008–2010. *Environ. Health Perspect.*, 2019, vol. 127, no. 3. Art. no. 37006. DOI: [10.1289/EHP3860](https://doi.org/10.1289/EHP3860)
13. Krejčova L., Richtera L., Hynek D., Labuda J., Adam V. Current Trends in Electrochemical Sensing and Biosensing of DNA Methylation. *Biosens. Bioelectron.*, 2017, vol. 97, pp. 384–399. DOI: [10.1016/j.bios.2017.06.004](https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.06.004)
14. Fernández-Santiago R., Merkel A., Castellano G., Heath S., Raya A., Tolosa E., Martí M.-J., Consiglio A., Ezquerro M. Whole-Genome DNA Hyper-Methylation in iPSC-Derived Dopaminergic Neurons from Parkinson's Disease Patients. *Clin. Epigenetics*, 2019, vol. 11, no. 1. Art. no. 108. DOI: [10.1186/s13148-019-0701-6](https://doi.org/10.1186/s13148-019-0701-6)
15. Thalheim T., Herberg M., Galle J. Linking DNA Damage and Age-Related Promoter DNA Hyper-Methylation in the Intestine. *Genes (Basel)*, 2018, vol. 9, no. 1. Art. no. 17. DOI: [10.3390/genes9010017](https://doi.org/10.3390/genes9010017)
16. Taleat Z., Mathwig K., Sudhölter E.J.R., Rassaei L. Detection Strategies for Methylated and Hypermethylated DNA. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2015, vol. 66, pp. 80–89. DOI: [10.1016/j.trac.2014.11.013](https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.11.013)
17. Potabattula R., Dittrich M., Schorsch M., Hahn T., Haaf T., El Hajj N. Male Obesity Effects on Sperm and Next-Generation Cord Blood DNA Methylation. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 6. Art. no. e0218615. DOI: [10.1371/journal.pone.0218615](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218615)
18. Watkins A.J., Dias I., Tsuro H., Allen D., Emes R.D., Moreton J., Wilson R., Ingram R.J.M., Sinclair K.D. Paternal Diet Programs Offspring Health Through Sperm- and Seminal Plasma-Specific Pathways in Mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2018, vol. 115, no. 40, pp. 10064–10069. DOI: [10.1073/pnas.1806333115](https://doi.org/10.1073/pnas.1806333115)
19. Pogribny I., Koturbash I., Tryndyak V., Hudson D., Stevenson S.M.L., Sedelnikova O., Bonner W., Kovalchuk O. Fractionated Low-Dose Radiation Exposure Leads to Accumulation of DNA Damage and Profound Alterations in DNA and Histone Methylation in the Murine Thymus. *Mol. Cancer Res.*, 2005, vol. 3, no. 10, pp. 553–561. DOI: [10.1158/1541-7786.MCR-05-0074](https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-05-0074)
20. Chan J.C., Nugent B.M., Bale T.L. Parental Advisory: Maternal and Paternal Stress Can Impact Offspring Neurodevelopment. *Biol. Psychiatry*, 2018, vol. 83, no. 10, pp. 886–894. DOI: [10.1016/j.biopsych.2017.10.005](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.10.005)
21. Elmhiri G., Gloaguen C., Grison S., Kereselidze D., Elie C., Tack K., Benderitter M., Lestaevél P., Legendre A., Souidi M. DNA Methylation and Potential Multigenerational Epigenetic Effects Linked to Uranium Chronic Low-Dose Exposure in Gonads of Males and Females Rats. *Toxicol. Lett.*, 2018, vol. 282, pp. 64–70. DOI: [10.1016/j.toxlet.2017.10.004](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.10.004)

DOI: 10.37482/2687-1491-Z071

Ekaterina A. Kapustina* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2803-4048>

Vera A. Vokina* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8165-8052>

Elizaveta S. Andreeva* ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3709-8676>

*East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research
(Angarsk, Irkutsk Region, Russian Federation)

DNA DAMAGE IN THE TISSUES OF WHITE RATS EXPOSED TO WILDFIRE SMOKE

Wildfire smoke affects the health of the population of the entire planet and each year the situation is getting worse. Fire smoke has mutagenic, carcinogenic and other long-term effects. The aim of this paper was to study the genotoxic effect of wildfire smoke on male white rats and the transgenerational effect of wildfire smoke on their offspring. Smoke exposure simulation was performed on 40 male white

rats in 200-litre exposure chambers. Forest litter, branches, fallen bark, and the upper layer of soil served as a combustible substrate. The exposure was carried out for 4 hours 5 days a week in the course of 4 weeks. Offspring of both sexes were obtained from the exposed animals and intact females. We analysed DNA fragmentation and global DNA methylation in the gonadal tissue and blood cells of the exposed animals immediately after the exposure and global DNA methylation in the blood cells of the offspring upon reaching sexual maturity. The research was performed using the comet assay with modifications to study global DNA methylation with MspI and HpaII restriction enzymes. The exposed animals showed an increased level of global DNA methylation in their blood cells. In male offspring, a decrease in the level of global DNA methylation in the blood cells was revealed, compared with the controls, while females showed no differences from the controls. The established facts of changes in global DNA methylation after exposure to wildfire smoke require further in-depth research, since the mechanism of the development of this phenomenon remains rather unclear.

Keywords: *wildfire smoke, genotoxic effect of smoke, transgenerational effect of smoke, DNA fragmentation, global DNA methylation, comet assay, white rats.*

Поступила 07.12.2020

Принята 16.06.2021

Received 7 December 2020

Accepted 16 June 2021

Corresponding author: Ekaterina Kapustina, address: mkr. 12A, 3, Angarsk, 664003, Irkutskaya obl., Russian Federation; e-mail: kapustinkae@yandex.ru

For citation: Kapustina E.A., Vokina V.A., Andreeva E.S. DNA Damage in the Tissues of White Rats Exposed to Wildfire Smoke. *Journal of Medical and Biological Research*, 2021, vol. 9, no. 3, pp. 335–342. DOI: 10.37482/2687-1491-Z071