

Серия «Биология. Экология» 2019. Т. 29. С. 88–98 Онлайн-доступ к журналу: http://izvestiabio.isu.ru/ru ИЗВЕСТИЯ Иркутского государственного университета

УДК: 615.9:57.044:502.08

DOI https://doi.org/10.26516/2073-3372.2019.29.88

Экспериментальная оценка влияния дыма лесных пожаров на репродуктивную функцию мелких млекопитающих и их потомство

В. А. Вокина, М. А. Новиков, А. Н. Алексеенко, Л. М. Соседова, Е. А. Капустина, Е. С. Богомолова, Т. А. Елфимова

Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований, г. Ангарск, Россия E-mail: vokina.vera@gmail.com

Аннотация. Разработана экспериментальная модель воздействия продуктов горения лесного горючего материала на мелких лабораторных животных. Выполнен анализ химического состава выделяющихся при горении газов. Исследованы изменения репродуктивной функции подвергавшихся воздействию дыма белых крыс обоего пола, а также функционального состояния ЦНС их половозрелого потомства. Проанализированы изменения морфологической картины ткани яичников и семенников и показателей сперматогенеза у экспонированных крыс и динамика смертности их потомства сразу после родов и в первую неделю жизни. Выявлен трансгенерационный эффект экспозиции продуктами горения, проявлявшийся в виде стойких изменений структуры поведения у потомства.

Ключевые слова: природные пожары, крысы, токсичность, репродуктивная система, потомство, IIHC.

Для цитирования: Экспериментальная оценка влияния дыма лесных пожаров на репродуктивную функцию мелких млекопитающих и их потомство / В. А. Вокина, М. А. Новиков, А. Н. Алексеенко, Л. М. Соседова, Е. А. Капустина, Е. С. Богомолова, Т. А. Елфимова // Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология. 2019. Т. 29. С. 88–98. https://doi.org/10.26516/2073-3372.2019.29.88

Введение

В настоящее время проблема загрязнения окружающей среды в результате задымления от природных пожаров приобрела регулярный характер и имеет мировое значение. Известно, что дым от пожаров наиболее опасен для маленьких детей, лиц, страдающих заболеваниями дыхательных путей и сердечно-сосудистой системы, а также беременных женщин [Estimated global ..., 2012; Critical review..., 2016]. Большинство исследований последствий воздействия на здоровье продуктов горения, выделяющихся при лесных пожарах, основаны на изучении состояния здоровья экспонированного населения и пожарных. Лишь незначительная их часть посвящена изучению токсичности твёрдых частиц или некоторых газов в контролируемых лабораторных условиях, которые позволяют в модельных экспериментах оценить важные параметры экспозиции продуктами горения и её влияние на орга-

низм, в том числе отдалённые эффекты. В то же время вследствие ряда методических сложностей на сегодняшний день не существует адекватной экспериментальной модели природных пожаров, которая позволила бы изучать, моделировать, прогнозировать токсические эффекты при воздействии всей совокупности выделяющихся поллютантов, учитывая, что при природных пожарах происходит горение не только непосредственно древесины, но и лесного горючего материала, представляющего собой живой надпочвенный покров и растительные остатки различной степени разложения.

Постоянное возрастание масштабов природных пожаров, продолжительные периоды задымления обширных территорий и увеличение численности экспонированной популяции населения диктуют необходимость изучения отдалённых последствий воздействия продуктов горения, проявляющихся в последующих поколениях. Значительный интерес представляет изучение проблемы трансгенерационной передачи эпигенетических маркеров, которые, однажды установившись, могут быть переданы потомству.

Целью настоящего исследования являлось экспериментальное изучение репродуктивной функции белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма от лесных пожаров, и функционального состояния ЦНС их половозрелого потомства.

Материалы и методы

Экспериментальным исследованиям подвергались 150 беспородных белых крыс массой 180-240 г. Экспериментальная установка для воспроизведения условий воздействия продуктов горения, выделяющихся при ландшафтном пожаре, включала в себя экспозиционную камеру объёмом 200 л, предназначенную для помещения экспериментальных животных и оснащённую приборами контроля воздушной среды (температура, влажность), а также соединённую с ней камеру, в которой происходил процесс тления субстрата. В качестве горючего субстрата использовалась биомасса, полностью выгорающая в условиях реального низового пожара и представляющая собой лесную подстилку, ветки, куски коры и верхний горизонт почвы. Животных опытных групп подвергали ежедневному ингаляционному воздействию дыма в течение 7 дней по 4 ч в день. Крысам контрольных групп в камеры подавался чистый воздух. Для контроля состава газовоздушной среды в экспозиционной камере проводили анализ проб на содержание СО, NO, формальдегида, фурфурола и ацетальдегида по стандартным методикам ГРуководство по контролю..., 1991; Определение концентраций ..., 1997; Дмитриев, Казнина, Пинигина, 1989]. После окончания экспозиции проводилось обследование экспонированных животных, включавшее в себя оценку функционального состояния репродуктивной системы - действие на эстральный цикл, морфологию спермиев и сперматогенез, гистологические срезы семенников и яичников. Ритмичность функционирования яичников животных изучалась путём оценки влагалищных мазков [Papanicolaou, 1942]. Гистологическое исследование гонад осуществляли по стандартным методикам с окрашиванием парафиновых срезов гематоксилином и эозином. При морфологическом исследовании микропрепаратов яичников подсчитывали количество фолликулов с одним, двумя и более слоями гранулёзных клеток, атретических тел и граафовых пузырьков. По гистологическим препаратам семенников определяли индекс сперматогенеза (сумму всех подсчитанных в 100 срезах стадий клеток сперматогенеза), количество канальцев со слущенным эпителием, количество нормальных сперматогоний. В тканях семенников и яичников определяли уровень полногеномного метилирования ДНК с использованием метода ДНК-комет с применением рестриктаз HpaII и MspI («СибЭнзим», Россия) [Оценка генотоксических ..., 2010; Assessing the DNA ..., 2010].

Для получения потомства F1 сразу после окончания экспозиции проводили спаривание опытных особей обоего пола с интактными особямипартнерами. Регистрировали количество животных с благополучным исходом родов и долю потомства, погибшего в первую неделю жизни. В возрасте трёх месяцев у полученного потомства оценивали показатели двигательной и ориентировочной активности, эмоционального состояния и когнитивных способностей с использованием следующих тестов: «открытое поле», водный лабиринт Морриса, условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ).

Установка «открытое поле» представляла собой круглую арену белого цвета диаметром 97 см с высотой стенок 42 см, диаметром отверстий в полу – 2 см. В течение 3 мин регистрировали горизонтальную и вертикальную двигательную активность, обнюхивание отверстий, дефекацию, эпизоды груминга и фризинга (замирания). Водный лабиринт Морриса представлял собой круглый бассейн 1,5 м в диаметре высотой 60 см, до высоты 25 см наполненный водой с температурой около 25 °C, замутнённой путём добавления мела. Верхняя поверхность скрытой платформы составляла 14 см в диаметре и находилась на 1,5 см ниже поверхности воды. Проводили четырёхкратное (с интервалом 60 с) тестирование животных, помещая их последовательно в различные секторы бассейна, при этом местоположение скрытой под водой платформы оставалось постоянным. Время пребывания на платформе составляло 60 с. Регистрировали время поиска платформы. Обучение животных УРПИ проводилось с использованием аппаратнопрограммного комплекса «Шелтер» («Нейроботикс», Москва). Эксперимент состоял из 3 стадий: 1) исследования норкового рефлекса - крыса помещалась в светлый отсек, в эксперимент отбирали особей, время пребывания которых в светлой камере не превышало 20 с; 2) обучения – при переходе в тёмный отсек животное получало болевое электрокожное раздражение (1 мА однократно в течение 3 с); 3) воспроизведения – через 24 ч после обучения крысу помещали в светлый отсек и в течение 2 мин регистрировали латентный период первого захода в тёмный отсек.

Все экспериментальные животные получены путём собственного воспроизводства в виварии ВСИМЭИ и содержались на стандартном рационе. Работа выполнена с соблюдением правил гуманного отношения к животным в соответствии с требованиями «Международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных»

(ВОЗ, Женева, 1985) и «Правилами лабораторной практики» (Приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н).

Статистический анализ результатов исследования проводился с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft) (лиц. № АХХR004E642326FA). Для сравнения групп применяли *U*-критерий Манна – Уитни. Нулевые гипотезы об отсутствии различий между группами отвергали при достигнутом уровне значимости соответствующего статистического критерия $p \le 0.05$.

Результаты и обсуждение

Характеристика воздушной среды в экспозиционной камере. Экспериментальная модель лесного пожара позволила воспроизвести условия задымлённости, соответствующие реальным замерам концентраций СО в населённых пунктах в период пожаров и составляющие в среднем 3.6-30 мг/м³ [Загрязнение воздуха ..., 2011; Комплексный подход ..., 2018]. Coстав воздушной среды в экспозиционной камере представлен в табл. 1. Климатические условия в экспозиционной камере были стабильными, во время проведения затравки температура воздуха составляла 24-25 °C, относительная влажность – 40-50 %. Концентрации оксида углерода в камере варьировали в течение экспозиции в диапазоне 13,5–49,7 мг/м³. Самые высокие концентрации СО в камере определялись через 2–3 ч после начала затравки, в этот период содержание CO составляло 30-49 мг/м³, что может быть связано с более интенсивным процессом тления вследствие снижения исходной влажности субстрата. Кроме того, выявлены высокие концентрации ацетальдегида (50–70 ПДКм.р.); фурфурола (2–6 ПДКм.р.) и формальдегида (0,6-0,9 ПДКм.р.).

Таблица 1 Показатели содержания основных продуктов горения лесного горючего материала в воздухе экспозиционной камеры

Соединение	Концентрация, мг/м ³
Монооксид углерода	13,5–49,7
Оксид азота	0,37–0,7
Диоксид азота	0,18–1,1
Формальдегид	0,018±0,002
Фурфурол	0,18±0,06
Ацетальдегид	0,65±0,12

Оценка репродуктивной функции родительского поколения. Результаты проведённого исследования показали, что при воздействии продуктов горения лесного горючего материала наблюдалось изменение показателей эстрального цикла крыс родительского поколения в виде незначительного увеличения продолжительности фазы диэструса, во время которой происходит рост и созревание фолликулов и уменьшение длительности фазы эструса. Длительность эстрального цикла у самок не изменялась после окончания воздействия и составляла в среднем 4-5 дней, как и у особей контрольной группы. В семенных канальцах самцов преобладали первичные сперматоциты в состоянии мейоза, количество поздних сперматид и сперматозоидов соответствовало показателям контрольной группы. Для более детального анализа состояния гонад проведено морфометрическое исследование семенников и яичников, однако статистически значимых различий при сравнении с контролем выявлено не было.

Анализ постнатальной смертности показал, что среди крысят от контрольных особей случаи мертворождения и гибели после родов не наблюдались, тогда как среди потомства экспонированных самок и самцов этот показатель составил 20 и 26 %. Кроме того, у потомства самок в эксперименте наблюдалось значительное повышение частоты случаев летальных исходов в первую неделю жизни (22,2 % против 3,5 % в контрольной группе). Смертность потомства самцов в эксперименте в первую неделю жизни составила 13,8 %.

Результаты исследования уровня полногеномного метилирования ДНК в тканях гонад белых крыс, подвергавшихся воздействию продуктов горения, показали, что после окончания экспозиции наблюдалась тенденция к повышению уровня метилирования ДНК в клетках семенников самцов опытной группы (p=0.086). У самок белых крыс, подвергавшихся воздействию продуктов горения, статистически значимых изменений уровня метилирования ДНК гонад не выявлено.

Оценка функционального состояния ЦНС половозрелого потомства. Результаты тестирования половозрелого потомства в «открытом поле» показали, что у потомства, полученного от самцов и самок белых крыс, подвергавшихся воздействию дыма, наблюдались разнонаправленные изменения показателей поведения. Так, поведение в «открытом поле» самок белых крыс, полученных от самцов и самок, участвовавших в эксперименте, характеризовалось повышением двигательной активности и снижением ориентировочно-исследовательского поведения. Об этом свидетельствовало статистически значимое повышение длительности акта «локомоции» и снижение длительности акта «обнюхивание» у животных данных групп по сравнению с контролем. Кроме того у самок, полученных от самок из эксперимента, наблюдалось повышение количества вертикальных стоек (p = 0.025). Поведение самок от самцов из эксперимента наряду с повышением двигательной активности характеризовалось проявлением негативного эмоционального состояния, о чем свидетельствовало повышение количества актов «фризинг» (p = 0.02, табл. 2).

Особи мужского пола, полученные от экспонировавшихся животных, напротив, демонстрировали снижение двигательной активности. Так, в поведении самцов, полученных от самок из эксперимента, на фоне повышенной тревожности (о чём свидетельствовало повышение числа актов «груминг» (p=0,004)) наблюдалось статистически значимое повышение длительности акта «сидит» по сравнению с контролем (p=0,004, табл. 3). Самцы, полученные от самцов из эксперимента, при тестировании в «открытом поле» не проявляли признаков повышенной тревожности, однако их двигательная активность была значительно снижена относительно показателей контрольной группы, о чем свидетельствовало снижение длительности актов «локомоции» (p=0,002, см. табл. 3).

Таблииа 2 Результаты тестирования самок белых крыс в «открытом поле», водном лабиринте Морриса и УРПИ, Me(LQ;UQ)

	Варианты исследования					
Показатели	Контроль	Потомство самок, участвовавших в эксперименте	Потомство самцов, участвовавших в эксперименте			
	«Открытое поле»					
Количество вертикальных стоек	3(3; 7)	7(6; 9)*	6(4; 10)			
Количество актов «груминг»	1(0; 2)	3(2; 3)	3(1; 6)			
Количество актов «фризинг»	1(0; 1)	1(1; 2)	3(1; 3)*			
Количество актов «обследование отверстий»	1(0; 2)	0(0; 1)	0(0; 1)			
Количество дефекаций	0(0; 1)	0(0; 0)	0(0; 3)			
Общее число пересечённых квадратов	35(30; 43)	50(42; 56)*	46(22; 54)			
Длительность актов «обнюхивание», с	92,6(88,6; 96,6)	57,2(40,7; 62,0)**	57,0(44,7; 66,8)**			
Длительность актов «локомоции», с	47,9(24,7; 71,0)	99,3(88,9; 100,9)**	88,3(72,5; 102,5)**			
Длительность актов «сидит», с	36,0(25,4; 46,6)	23,0(13,5; 37,3)	24,9(13,6; 67,2)			
Водный лабиринт Морриса						
Латентный период поиска скрытой платформы, с	29,0(25,1; 32,9)	29,1(20,8; 39,3)	30,2(26,7; 33,0)			
УРПИ						
Латентный период перехода в тёмную камеру, с	121,7(114,1; 171,5)	134,1(121,6; 166,8)	128,1(138,3; 151,5)			

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при p < 0.05, ** – при $p \le 0.01$.

Таблица 3 Результаты тестирования самцов белых крыс в «открытом поле», водном лабиринте Морриса и УРПИ, Me(LQ;UQ)

	Варианты исследования			
Показатели	Контроль	Потомство самок, участвовавших в эксперименте	Потомство самцов, участвовавших в эксперименте	
«Открытое поле»				
Количество вертикальных стоек	4(4;6)	4(3;5)	5(4;6)	
Количество актов «груминг»	1(0;2)	3(3;4)**	2(0;3)	
Количество актов «фризинг»	1(0;1)	1(0;1)	1(0;3)	
Количество актов «обследование отверстий»	0(0;1)	0(0;1)	0(0;1)	
Количество дефекаций	0(0;1)	0(0;1)	1(0;2)	
Общее число пересечённых квадратов	38(31;40)	35(28;36)	26(19;27)	
Длительность актов «обнюхивание», с	69,3(68,3; 70,2)	48,2(40,5; 63,1)	55,6(46,5; 65,0)**	
Длительность актов «локомоции», с	101,7(93,4; 109,9)	80,3(76,7; 97,6)	65,8(63,3; 72,9)**	
Длительность актов «сидит», с	3,9(3,8;3,9)	27,2(24,4;35,5)**	36,2(16,2;38,6)**	

Окончание табл. 3

	Варианты исследования			
Показатели	Контроль	Потомство самок,	Потомство самцов,	
		участвовавших в	участвовавших в	
		эксперименте	эксперименте	
Водный лабиринт Морриса				
Латентный период поиска скрытой платформы, с	38,7(29,6;45,0)	33,0(21,5;37,3)	28,5(22,7;41,0)	
УРПИ				
Латентный период перехода в тёмную камеру, с	138,5(124,1; 161,2)	141,1(131,5; 176,2)	158,3(121,4; 161,4)	

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при p < 0.05, ** – при $p \le 0.01$.

При оценке когнитивных способностей у потомства при тестировании в водном лабиринте Морриса и воспроизведении УРПИ статистически значимых изменений при сравнении с контролем выявлено не было (см. табл. 2–3).

Заключение

Использование разработанной экспериментальной модели ландшафтного пожара позволило оценить отдалённые последствия подострого воздействия продуктов горения у белых крыс. В результате проведённых экспериментальных исследований выявлен трансгенерационный эффект экспозиции продуктами горения у животных первого поколения, проявлявшийся в виде стойких изменений структуры поведения у потомства. При этом выраженность наблюдаемых изменений не имела зависимости от пола экспонированных родительских особей. Обследование животных родительского поколения сразу после окончания экспозиции показало, что воздействие продуктов горения в течение семи дней не оказало выраженного негативного влияния на морфологическую картину ткани яичников и семенников и показатели сперматогенеза у крыс. Однако показатели постнатальной смертности свидетельствуют о том, что экспозиция дымом запускает процесс формирования дефектов развития эмбриона, в котором ключевую роль, вероятно, играет целостность генома и эпигенома половых клеток. Хотя наличие базовых мутаций в ДНК может объяснить некоторую передачу фенотипической дисперсии, они не могут объяснить всю её полноту. Общепринятая величина базовой частоты мутаций у людей, равная 2,3×10⁻⁸ на нуклеотид на поколение, слишком низка для объяснения всех паттернов трансгенерационного наследования [Nachman, Crowell, 2000; Arnheim, Calabrese, 2009]. В данном случае можно предположить, что нарушения поведения, наблюдаемые в первом поколении потомства экспонированных дымом животных, могут быть опосредованы эпигенетическими изменениями. Анализ уровня полногеномного метилирования в тканях гонад крыс родительского поколения не выявил значительных изменений. Эти результаты позволяют предположить, что связь между воздействием продуктов горения на самцов и самок до зачатия и проявлением поведенческих эффектов у потомства может быть опосредована эпигенетическим программированием в сенсомоторной коре, стриатуме и гиппокампе у особей из числа потомков обоего пола. Однако биологические механизмы этой модуляции остаются неясными. В то же время в литературе имеются данные о том, что физическая нагрузка самцов белых крыс до спаривания оказывает влияние на память и обучение, нейропластичность и уровни метилирования ДНК в гиппокампе у потомства мужского пола при отсутствии значительных изменений глобального метилирования ДНК сперматозоидов [Paternal physical ..., 2019].

Таким образом, экспериментально выявленное для млекопитающих значительное влияние задымления воздуха при лесных пожарах на здоровье последующего поколения обосновывает необходимость проведения углублённых исследований, направленных на понимание эпигенетической роли отцовских и материнских факторов, а также роли комбинированных эффектов обоих родителей в обеспечении выживания и адаптивного развития их потомства.

Исследование выполнено при финансовой поддержке проекта РФФИ № 18-315-00237.

Список литературы

Дмитриев М. Т., Казнина Н. И., Пинигина И. А. Санитарно-химический анализ загрязняющих веществ в окружающей среде. М.: Химия, 1989. С. 130–132.

Загрязнение воздуха на европейской части России и Украине в условиях жаркого лета 2010 г. / А. М. Звягинцев, О. Б. Блюм, А. А. Глазкова, С. Н. Котельников, И. Н. Кузнецова, В. А. Лапченко, Е. А. Лезина, Е. А. Миллер, В. А. Миллев, А. П. Попиков, Е. Г. Семутникова, О. А. Тарасова, И. Ю. Шалыгина // Изв. Рос. акад. наук. Физика атмосферы и океана. 2011. Т. 47, № 6. С. 757-766.

Комплексный подход в оценке эмиссии углеродсодержащих газов от лесных пожаров в Сибири / А. В. Панов, А. С. Прокушкин, А. В. Брюханов, М. А. Корец, Е. И. Пономарев, Н. В. Сиденко, Г. К. Зражевская, А. В. Тимохина, М. О. Андреа // Метеорология и гидрология. 2018. № 5. С. 30–39.

Определение концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе: Сб. метод. указаний. М.: ИИЦ Минздрава России, 1997. 454 с.

Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет in vitro MP 4.2.0014-10 / А. Д. Дурнев, А. К. Жанатаев, Н. П. Сирота, В. П. Тихонов, Т. В. Шевченко, И. А. Родина, К. Л. Плигина // Методические рекомендации. М.: Федер, центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. 15 с.

Руководство по контролю загрязнения атмосферы. РД 52.04.186-89 [Электронный pecypc]. M., 1991. URL: http://docs.cntd.ru/document/1200036406

Arnheim N., Calabrese P. Understanding what determines the frequency and pattern of human germline mutations // Nat. Rev. Genet. 2009. Vol. 10. P. 478–488. https://doi.org/10.1038/nrg2529

Assessing the DNA methylation status of single cells with the comet assay/ J. F. Wentzel, C. Gouws, C. Huysamen, Ev. Dyk, G. Koekemoer, P. J. Pretorius // Anal Biochem. 2010. Vol. 400, N 2. P. 190–194. https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.02.008

Critical review of health impacts of wildfire smoke exposure / C. E. Reid, M. Brauer, F. H. Johnston, M. Jerrett, J. R. Balmes, C. T. Elliott // Environ. Health. Perspect. 2016. Vol. 24. P. 1334–1343. https://doi.org/10.1289/ehp.1409277

Estimated global mortality attributable to smoke from landscape fires / F. H. Johnston, S. B. Henderson, Y. Chen, J. T. Randerson, M. Marlier, R. S. DeFries, P. Kinney, D. M. Bowman, Environ. 2012. Brauer // Health. Perspect. Vol. 120. https://doi.org/10.1289/ehp.1104422

Nachman M. W., Crowell S. L. Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans // Genetics. 2000. Vol. 156. P. 297-304.

Papanicolaou G. N. A new procedure for staining vaginal smears. Science, 1942. Vol. 95. Is. 2469. P. 438–439 https://doi.org/10.1126/science.95.2469.438

Paternal physical exercise modulates global DNA methylation status in the hippocampus of male rat offspring / C. Spindler, E. Segabinazi, A. L. Ferreira de Meireles, F. V. Piazza, F. Mega, G. S. Salvalaggio, M. Achaval, V. R. Elsner, S. Marcuzzo // Neural. Regen. Res. 2019. Vol. 14, N 3. P. 491–500. https://doi.org/10.4103/1673-5374.245473

Experimental Evaluation of Effect of Wildfire Smoke Exposure on Reproductive Function of Small Mammals and their Offspring

V. A. Vokina, M. A. Novikov, A. N. Alekseenko, L. M. Sosedova, E. A. Kapustina, E. S. Bogomolova, T. A. Elfimova

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

Abstract. At present, the problem of environmental pollution caused by smoke from natural fires has acquired a regular character, and the problem itself has received scientific development. The long annual smoke from extensive areas dictates the need to study the long-term effects of the combustion products manifested in subsequent generations. The study is aimed at assessing the impact of forest landscape fires burning products in model experiment that are as close to natural conditions as possible on rats of different sex with the aim of establishing the character of transmission of epigenetic changes to the offspring. An experimental model has been developed for the effects of wildfire smoke exposure on small laboratory animals with characteristic of chemical composition of gases emitted. As fuel substrate used by the biomass, which is wood litter (moss, lichen, wood litter), twigs, pieces of bark and the top soil horizon (litter plants in various stages of degradation – from fresh to almost decomposed) completely burnable in real wildfire. In the exposition chamber, once every hour, samples air were analyzed for the content of CO, NO, formaldehyde, furfural and acetaldehyde. Concentrations of carbon monoxide in chamber during exposure was varied in the range of 13,5-49,7 mg/m³. Also revealed high concentration of acetaldehyde, furfural and formaldehyde. The reproductive function of rats exposed to smoke for 7 days was studied, as well as the functional state of CNS in adult offspring. Studies have shown that wildfire smoke exposure did not induce any significant changes in morphological picture of gonads and rat spermatogenesis, but their offspring showed a significant increase in deaths immediately after birth and mortality in the first week of life. After wildfire smoke exposure showed a tendency to increase the level of DNA methylation in cells of the testes. At the same time, the transgenerational effect of exposure to combustion products was revealed, which manifested in persistent changes in behavior of offspring. Testing results of open field showed that adult offspring from exposed rats showed multidirectional changes in behavior indicators. Thus, the behavior of adult female from offspring was characterized by significant activation of locomotor activity and decrease of exploratory behavior, while males obtained from experimental animals, on the contrary, showed decrease in locomotor activity. In assessing the cognitive abilities of the offspring statistically significant change when compared with the control was not found. The significant effect of smoke smoke during forest fires on the health of the next generation justifies the need for indepth studies. Particular interest is understanding the role of epigenetic paternal and maternal factors, as well as the combined effects of both parents in ensuring the survival and adaptive development of their offspring.

Keywords: wildfire, rats, toxicity, reproductive system, offspring, central nervous system.

For citation: 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. *The Bulletin of Irkutsk State University. Series Biology. Ecology*, 2019, vol. 29, pp. 88-98. https://doi.org/10.26516/2073-3372.2019.29.88 (in Russian)

References

Dmitriev M.G., Kaznina N.I., Pinigina I.A. Sanitarno-himicheskij analiz zagryaznyayushchih veshchestv v okruzhavushchej srede [Sanitary-chemical analysis of pollutants in the environment]. Moscow, Himiya Publ., 1989, pp. 130-132. (in Russian)

Zvyagintsev A.M., Miller E.A., Blum O.B., Glazkova A.A., Kuznetsova I.N., Shalygina I.Y., Kotel'nikov S.N., Milyaev V.A., Lapchenko V.A., Lezina E.A., Popikov A.P., Semutnikova E.G., Tarasova O.A. Zagryaznenie vozdukha na evropeiskoi chasti Rossii i Ukraine v usloviyakh zharkogo leta 2010 g. [Air pollution over European Russia and Ukraine under the hot summer conditions of 2010]. Izvestiva. Atmospheric and Oceanic Physics, 2011, vol. 47, no. 6, pp. 699-707. (in Russian)

Panov A.V., Prokushkin A.S., Bryukhanov A.V., Korets M.A., Ponomarev E.I., Sidenko N.V., Zrazhevskaya G. K., Timokhina A. V., Andrea M. O. Kompleksnyi podkhod v otsenke emissii uglerodsoderzhashchikh gazov ot lesnykh pozharov v Sibiri [A Complex Approach for the Estimation of Carbonaceous Emissions from Wildfires in Siberia]. Rus. Meteorol. Hydrol., 2018, vol. 43, no. 5, pp. 295-301. (in Russian)

Opredelenie kontsentratsii zagryaznyayushchikh veshchestv v atmosfernom vozdukhe: Sbornik metodicheskikh ukazanii [Determining the concentration of pollutants in the ambient air: Guidelines]. Moscow, Minzdray of Russian Federation Publ., 1997, 454 p. (in Russian)

Durnev A.D., Zhanataev A.K., Sirota N.P., Tikhonov V.P., Shevchenko T.V., Rodina I.A., Pligina K.L. MR 4.2.0014-10. Otsenka genotoksicheskikh svoistv metodom DNK-komet [An Assessment of Genotoxic Effects by Comet Assay Analysis in vitro. Guidelines]. Moscow, Fed. Cent. Hygiene Epidem. Publ., 2010; 15 p. (in Russian)

Rukovodstvo po kontrolju zagrjaznenija atmosfery. RD 52.04.186-89 [Manual control of air pollution]. Moscow, 1991. Available at: http://docs.cntd.ru/document/1200036406 (date of access: 30.10.2019) (in Russian)

Arnheim N., Calabrese P. Understanding what determines the frequency and pattern of human germline mutations. Nat. Rev. Genet., 2009, vol. 10, pp. 478-488. https://doi.org/10.1038/nrg2529

Wentzel J.F., Gouws C., Huysamen C., Dyk Ev., 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. https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.02.008

Reid C.E., Brauer M., Johnston F.H., Jerrett M., Balmes J.R., Elliott C.T. Critical review of health impacts of wildfire smoke exposure. Environ. Health. Perspect., 2016, vol. 24, pp. 1334-1343. https://doi.org/10.1289/ehp.1409277

Johnston F.H., Henderson S.B., Chen Y., Randerson J.T., Marlier M., DeFries R.S., Kinnev P., Bowman D.M., Brauer M. Estimated global mortality attributable to smoke from land-Environ. Health. Perspect., 2012. vol. 120, pp. 695-701. https://doi.org/10.1289/ehp.1104422

Nachman M.W., Crowell S.L. Estimate of the mutation rate per nucleotide in humans. Genetics, 2000, vol. 156, pp. 297-304.

Papanicolaou G.N. A new procedure for staining vaginal smears. Science, 1942, vol. 95, is. 2469, pp. 438-439 https://doi.org/10.1126/science.95.2469.438

Spindler C., Segabinazi E., Ferreira de Meireles A.L., Piazza F.V., Mega F., Salvalaggio G.S., Achaval M., Elsner V.R., Marcuzzo S. Paternal physical exercise modulates global DNA methylation status in the hippocampus of male rat offspring. Neural. Regen. Res., 2019, vol. 14, no. 3, pp. 491-500. https://doi.org/10.4103/1673-5374.245473

Вокина Вера Александровна кандидат биологических наук, научный сотрудник Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований Россия, 665827, г. Ангарск, 12А микрорайон, 3 e-mail: vokina.vera@gmail.com

Vokina Vera Aleksandrovna Candidate of Science (Biology), Research Scientist East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research 12A microdistrict, 3, Angarsk, 664003, Russian Federation e-mail: vokina.vera@gmail.com

Новиков Михаил Александрович кандидат биологических наук, научный сотрудник Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований Россия, 665827, г. Ангарск, 12A микрорайон, 3 e-mail: novik-imt@mail.ru

Алексеенко Антон Николаевич кандидат химических наук, старший научный сотрудник Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований Россия, 665827, г. Ангарск, 12A микрорайон, 3 e-mail: alexeenko85@mail.ru

Соседова Лариса Михайловна доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований Россия, 665827, г. Ангарск, 12A микрорайон, 3 e-mail: sosedlar@mail.ru

кандидат медицинских наук, научный сотрудник Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований Россия, 665827, г. Ангарск, 12А микрорайон, 3 e-mail: kapustinkae@yandex.ru

Капустина Екатерина Александровна

Богомолова Елизавета Сергеевна младший научный сотрудник Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований Россия, 665827, г. Ангарск, 12A микрорайон, 3 e-mail: liza.2995@mail.ru

Елфимова Татьяна Александровна кандидат биологических наук, научный сотрудник Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований Россия, 665827, г. Ангарск,

12A микрорайон, 3 e-mail: borey1986@mail.ru

Дата поступления: 15.02.2019 **Received:** February, 15, 2019

Novikov Mikhail Aleksandrovich Candidate of Science (Biology), Research Scientist East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research 12A microdistrict, 3, Angarsk, 664003, Russian Federation e-mail: novik-imt@mail.ru

Alekseenko Anton Nikolaevich Candidate of Science (Chemistry), Senior Research Scientist East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research 12A microdistrict, 3, Angarsk, 664003, Russian Federation e-mail: alexeenko85@mail.ru

Sosedova Larisa Mikhailovna
Doctor of Science, Professor,
Head of laboratory
East-Siberian Institute of Medical
and Ecological Research
12A microdistrict, 3, Angarsk, 664003,
Russian Federation
e-mail: sosedlar@mail.ru

Kapustina Ekaterina Aleksandrovna
Candidate of Science (Medicine), Research
Scientist
East-Siberian Institute of Medical
and Ecological Research
12A microdistrict, 3, Angarsk, 664003,
Russian Federation
e-mail:kapustinkae@yandex.ru

Bogomolova Elizaveta Sergeevna Junior Research Scientist East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research 12A microdistrict, 3, Angarsk, 664003, Russian Federation e-mail: liza.2995@mail.ru

Elfimova Tatyana Aleksandrovna Candidate of Science (Biology), Research Scientist East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research 12A microdistrict, 3, Angarsk, 664003, Russian Federation e-mail: borey1986@mail.ru

Известия Иркутского государственного университета Серия «Биология. Экология». 2019. Т. 29. С. 88–98