

© Team of authors, 2024 / © Коллектив авторов, 2024
3.3.3. Pathological physiology / 3.3.3. Патологическая физиология

Changes in the structure of genomic DNA of human mononuclear blood cells in the acute period of ischemic stroke

A.V. Trofimov, V.A. Trofimov, D.A. Kadimaliev, M.A. Spirina, T.I. Vlasova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education National Research Mordovia State University, Saransk, Russia
Contacts: Vlasova Tatyana Ivanovna – e-mail: v.t.i@bk.ru

Изменения структуры геномной ДНК мононуклеарных клеток крови человека в острейшем периоде ишемического инсульта

А.В. Трофимов, В.А. Трофимов, Д.А. Кадималиев, М.А. Спирина, Т.И. Власова

ФГБОУ ВО Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, Россия
Контакты: Власова Татьяна Ивановна – e-mail: v.t.i@bk.ru

急性缺血性中风期间人类血液单核细胞基因组DNA结构的变化

A.V. Trofimov, V.A. Trofimov, D.A. Kadimaliev, M.A. Spirina, T.I. Vlasova

俄罗斯萨兰斯克, 国立研究型莫尔多瓦国立大学(N.P. Ogarev命名), 联邦国家预算教育高等院校
联系方式: Vlasova Tatyana Ivanovna – 电子邮件: v.t.i@bk.ru

Objective. Evaluation of changes in the spectral analysis of the genomic DNA of mononuclear cells in patients with varying degrees of severity of central nervous system disorders in ischemic stroke.

Material and methods. The object of the study was peripheral venous blood of healthy people and patients with ischemic stroke. We took the blood samples on the first day of the disease with patients' informed consents and evaluated the degree of central nervous system dysfunction according to the NIHSS scale criteria (National Institutes of Health Stroke Scale – NIH Stroke Scale) with a comparison of the acute cerebral ischemia focus size recorded by multispiral computed tomography (MSCT). Mononuclear cells isolation from fresh peripheral blood. They were the source for DNA sample. We recorded Fourier IR spectra of DNA samples with the IRPrestige-21 SHIMADZU spectrometer (Japan) in the range of 400–4000 cm^{-1} .

Results. We used the Fourier method of IR spectroscopy. It showed that patients with ischemic stroke have changes in the IR spectra of genomic DNA at frequencies caused by valence fluctuations of primary amines (3400 cm^{-1}), secondary amines and involved in hydrogen bond hydroxyls (3100 cm^{-1}), CH_2 groups of sugar-phosphates (2900 cm^{-1}), fluctuations of vibrational bonds between nitrogenous bases and sugars (1400 cm^{-1}). In severe ischemic stroke, the detected changes in the IR spectra of DNA were maximum.

Conclusion. In patients with ischemic stroke, the IR spectra of genomic DNA include significant changes, which indicate damage to genomic DNA as a possible mechanism of changes in the activity of genetic processes, in particular transcription, which determines the formation of a pathological phenotype of cells. The nature and intensity of these changes depend on the severity of the disease, which determines the possibility of using them as additional biomarkers of the severity and prognosis of ischemic stroke.

Key words: ischemic stroke, oxidative stress, genomic DNA, mononuclear cells, IR spectroscopy

Conflicts of interest. The authors have no conflicts of interest to declare.

Funding. There was no funding for this study

For citation: Trofimov A.V., Trofimov V.A., Kadimaliev D.A., Spirina M.A., Vlasova T.I. Changes in the structure of genomic DNA of human mononuclear blood cells in the acute period of ischemic stroke. Head and neck. Russian Journal. 2024;12(3):70–75

Doi: 10.25792/HN.2024.12.3.70-75

The authors are responsible for the originality of the data presented and the possibility of publishing illustrative material – tables, drawings, photographs of patients.

Цель исследования. Оценка изменения спектрального анализа геномной ДНК мононуклеарных клеток у пациентов с нарушениями функций центральной нервной системы (ЦНС) разной степени выраженности при ишемическом инсульте (ИИ).

Материал и методы. Объектом исследования выступила периферическая венозная кровь здоровых людей и пациентов с ИИ в первые сутки заболевания, полученная при наличии информированного согласия. Степень нарушений функций ЦНС оценивались по критериям шкалы NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale – NIH Stroke Scale) с сопоставлением размера очага острой ишемии головного мозга, который регистрировался с помощью мультиспиральной компьютерной томографии. Мононуклеарные клетки получали из свежей периферической крови, из которых выделяли тотальную ДНК. Фурье ИК-спектры препаратов ДНК регистрировали на спектрометре IRPrestige-21 SHIMADZU (Япония) в диапазоне 400–4000 см⁻¹.

Результаты. С помощью метода Фурье ИК-спектроскопии показано, что у больных ИИ наблюдаются изменения в ИК-спектрах геномных ДНК при частотах, обусловленных валентными колебаниями первичных аминов (3400 см⁻¹), вторичных аминов и гидроксильных, вовлеченных в водородную связь (3100 см⁻¹), СН₂-групп сахаро-фосфатов (2900 см⁻¹), колебаниями вибрационных связей между азотистыми основаниями и сахарами (1400 см⁻¹). При тяжелом ИИ выраженность выявленных изменений ИК-спектров ДНК была максимальной.

Заключение. У больных ИИ наблюдаются значительные изменения в ИК-спектрах геномных ДНК, которые свидетельствуют о повреждении геномных ДНК, в частности транскрипционной, определяющей формирование патологического фенотипа клеток, как вероятного механизма изменения активности генетических процессов. Характер и интенсивность этих изменений зависят от тяжести заболевания, что определяет возможность использования их в качестве дополнительных биомаркеров тяжести и прогноза ИИ.

Ключевые слова: ишемический инсульт, окислительный стресс, геномная ДНК, мононуклеарные клетки, ИК-спектроскопия

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Трофимов А.В., Трофимов В.А., Кадималиев Д.А., Спирина М.А., Власова Т.И. Изменения структуры геномной ДНК мононуклеарных клеток крови человека в острейшем периоде ишемического инсульта. *Head and neck. Голова и шея. Российский журнал.* 2024;12(3):70–75

Doi: 10.25792/HN.2024.12.3.70-75

Авторы несут ответственность за оригинальность представленных данных и возможность публикации иллюстративного материала – таблиц, рисунков, фотографий пациентов.

研究目标: 评估在不同程度中枢神经系统 (CNS) 功能障碍的缺血性中风 (IS) 患者中, 单核细胞基因组DNA的光谱分析变化。

材料与方法: 研究对象为健康人群和IS患者在发病首日的外周静脉血, 经获取知情同意后采集。CNS功能障碍程度依据NIHSS (美国国立卫生研究院中风量表) 标准进行评估, 并与通过多层螺旋计算机断层扫描确定的急性脑缺血病灶大小相对比。从新鲜外周血中分离出单核细胞, 并提取其总DNA。使用日本岛津公司生产的IRPrestige-21光谱仪, 在400–4000 cm⁻¹范围内记录DNA样品的傅里叶红外 (IR) 光谱。

结果: 采用傅里叶红外光谱法显示, 在IS患者的基因组DNA的IR光谱中观察到频率变化, 这些变化与伯胺的伸缩振动 (3400 cm⁻¹), 次胺和参与氢键的羟基 (3100 cm⁻¹), 糖磷酸的CH₂基团 (2900 cm⁻¹), 以及碱基与糖之间的振动键 (1400 cm⁻¹) 相关。在严重IS情况下, 观察到的DNA IR光谱变化最为显著。

结论: IS患者的基因组DNA的IR光谱出现显著变化, 提示基因组DNA受损, 尤其是转录方面的改变, 可能影响细胞病理表型的形成, 作为基因过程活性变化的潜在机制。这些变化的特征和强度与疾病的严重程度有关, 表明其有可能作为IS严重性和预后评估的补充生物标志物。

关键词: 缺血性中风, 氧化应激, 基因组DNA, 单核细胞, 红外光谱分析

利益冲突: 作者声明不存在利益冲突。

资金支持: 本研究未接受任何资助。

引用格式: Trofimov A.V., Trofimov V.A., Kadimaliev D.A., Spirina M.A., Vlasova T.I. Changes in the structure of genomic DNA of human mononuclear blood cells in the acute period of ischemic stroke. *Head and neck. Russian Journal.* 2024;12(3):70–75

Doi: 10.25792/HN.2024.12.3.70-75

作者对所提供数据的原创性以及插图材料 (包括表格、图形和患者照片) 的出版权限承担责任。

Введение

Важнейшим патогенетическим механизмом ишемического инсульта (ИИ), особенно в острейший период (первые 5 суток после начала заболевания), выступает окислительный стресс [1], последствия которого определяются способностью клеток и тканей организма устранять интермедиаты свободнорадикальных реакций и восстанавливать вызванные повреждения биомолекул, включая липиды, белки и нуклеиновые кислоты [2–4]. Цитотоксические эффекты окислительного стресса опосредованы развивающимися мембранодеструктивными процессами, повреждениями ДНК, запускающими механизмы гибели клеток и формирующими тканевые и органые дисфункции, обуславливающие тяжесть заболевания [5].

Окислительные повреждения в ДНК включают в себя депуринизацию/дипиримидизацию, однопочечные и реже дву-почечные разрывы сахаро-фосфатного остова ДНК, сшивки ДНК-ДНК, ДНК-белок, образование циклических ДНК-аддуктов и некоторые другие, устраняемые при участии 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы и других ферментов эксцизионной репарации оснований и нуклеотидов [6]. Неустраненные до последующей репликации повреждения приводят к появлению мутаций и геномному мозаицизму соматических клеток [7, 8], частота возникновения которых зависит структурных особенностей ДНК [9, 10].

Накопление повреждений ведет к изменению пространственной структуры и функциональной активности геномной ДНК, что может влиять на запуск компенсаторно-приспособительных реакций в ответ на патологические процессы, протекающие в острейшем периоде ИИ, и иметь отдаленные последствия для нервных клеток головного мозга.

В связи с этим исследования модификаций геномных ДНК клеток крови у больных ИИ представляют научный и практический интерес.

Цель исследования. Оценка изменения спектрального анализа геномной ДНК мононуклеарных клеток у пациентов с нарушениями функций центральной нервной системы (ЦНС) различной степени выраженности при ишемическом инсульте (ИИ). В работе применен метод Фурье ИК-спектрометрии, перспективный метод исследования структурных изменений нуклеиновых кислот (образование и разрыв водородных и других связей, изменения конформации и конфигурации).

Материал и методы

Клиническое исследование проведено на базе ГБУЗ РМ «Мордовской республиканской центральной клинической больницы» (Саранск). Все пациенты с ИИ при поступлении были обследованы согласно действующим стандартам оказания медицинской помощи пациентам с острыми нарушениями мозгового кровообращения. Протокол клинического исследования составлен в соответствии с действующими этическими стандартами и одобрен локальным этическим комитетом медицинского института ФГБОУ ВО МГУ им. Н.П. Огарева. Объектом исследования выступила периферическая венозная кровь здоровых людей и пациентов с ИИ, полученная в первые сутки заболевания при наличии информированного согласия.

Степень нарушений функций ЦНС оценивали по критериям шкалы NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale – NIH Stroke Scale) с сопоставлением размера очага острой ишемии головного мозга, который регистрировали с помощью мультиспиральной компьютерной томографии [11].

Обследуемые были разделены на группы: I – контрольная (n=20), включены здоровые пациенты и без факторов риска по ИИ, II – пациенты с легкой степенью нарушений функций ЦНС по шкале NIHSS от 1 до 4 баллов (n=20), III – пациенты со среднетяжелой степенью нарушений функций ЦНС, очаговый неврологический дефицит соответствовал по шкале NIHSS 5–14 баллам, IV – пациенты с тяжелой степенью нарушений функции ЦНС, неврологический дефицит составлял по шкале NIHSS 15–20 баллов.

Мононуклеарные клетки выделяли из свежей периферической крови, стабилизированной К 3 ЭДТА с использованием фиколла плотностью 1,077 г/см³, из которых выделяли тотальную ДНК по известной методике [12]. Клетки лизировали 10% раствором додецилсульфата натрия (SDS) в присутствии протеиназы К в конечной концентрации 0,1 мг/мл и инкубировали при 55 °С в течение 2 часов. Для высаливания белков применяли 5,3 М раствор NaCl. ДНК осаждали изопропанолом на холоде. Препарат ДНК промывали 70% этанолом, добиваясь высокой степени очистки ($A_{260}/A_{280} \geq 1,8$).

Препарат ДНК получали с помощью лиофильной сушки FreeZonePlus, перемешивали с KBr и формировали таблетки. Фурье ИК-спектры препаратов ДНК регистрировали на спектрометре IRPrestige-21 SHIMADZU (Япония) в диапазоне 400–4000 см⁻¹. Изменение интенсивности поглощения характерных полос рассчитывали по отношению к поглощению при частоте 4000 см⁻¹.

Данные статистически обрабатывали методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента для несвязанных совокупностей. Для корректного использования t-критерия Стьюдента проводили проверку второго ограничения (равенства дисперсий тестом Левена).

Результаты

Патологический фенотип больных ИИ характеризовался в зависимости от тяжести заболевания повышенным риском свертываемости крови (снижение активированного частичного тромбопластинового времени – АЧТВ), нарушением кислород-транспортной способности крови, гиперхолестеринемией и нарушением обмена триацилглицеролов, липопротеидов низкой плотности. Концентрации перекисей в плазме крови больных ИИ были выше относительно контроля в 1,5 и 1,66 раза (p<0,05) при легком (II группа) и тяжелом (IV группа) течении соответственно. Приведенные выше данные свидетельствуют о наличии в организме больных ИИ предпосылок для модификации и повреждения геномных ДНК.

В спектрах поглощения контрольных и опытных образцов ДНК присутствуют полосы в диапазоне частот 2900–3400 см⁻¹, 2960–2850 см⁻¹, 1500–1250 см⁻¹ и 1150–750 см⁻¹ (рис 1).

Данные полосы обусловлены колебаниями связей в NH₂-, NH-, OH-, CH₂-группах, а также связей между азотистыми основаниями и сахарами (область колебаний функциональных групп в составе сахарофосфатного остова ДНК) и симметричными колебаниями связей в фосфатных группах -PO₂ соответственно [13]. В то же время ИК-спектры геномных ДНК контрольных и опытных образцов отличаются интенсивностью поглощения некоторых полос.

Как видно из ИК-спектров наиболее заметные изменения наблюдаются в диапазоне частот 2900–3600 см⁻¹, 2960–2850 и 1500–1250 см⁻¹. Известно, что у большинства биоорганических веществ (единичная цепь спирали ДНК, белков и т.д.) в области 2900–3600 см⁻¹ находятся полосы валентных колебаний гидроксил (-OH), первичных и вторичных аминогрупп (-NH₂, -NH-).

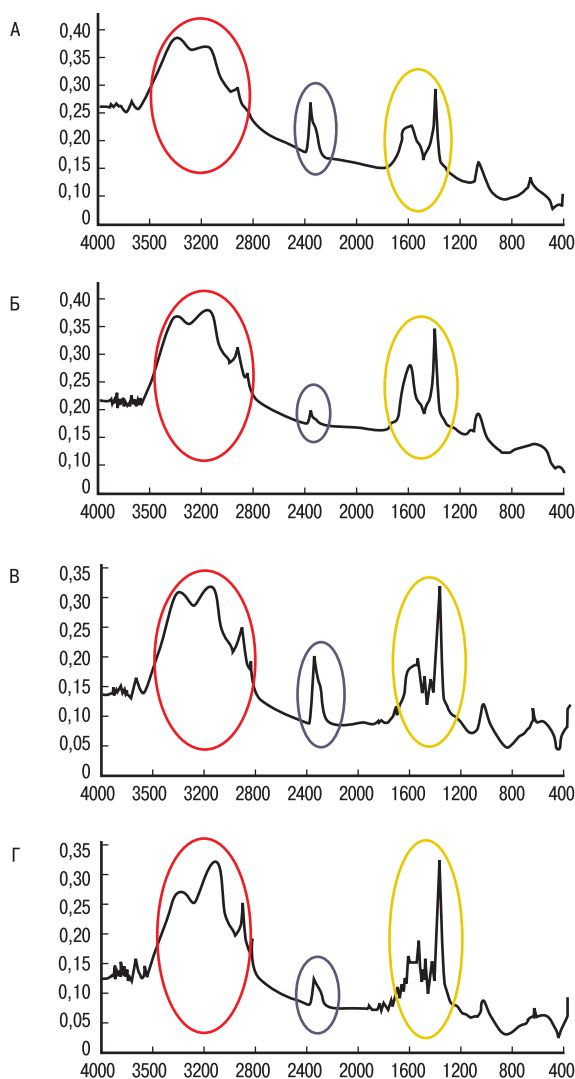


Рис. 1. ИК-спектры ДНК в диапазоне частот 400–4000 cm^{-1} из крови доноров (А) и больных ИИ с различной степенью выраженности нарушений функций ЦНС (Б – легкой, В – среднетяжелой, Г – тяжелой); красный овал – полосы валентных колебаний гидроксила (-OH), первичных и вторичных аминогрупп (-NH₂, -NH-); синий овал – полосы колебаний тройных связей; желтый овал – полосы колебаний связей между азотистыми основаниями и сахарами.

Fig. 1. IR spectra of DNA in the frequency range 400–4000 cm^{-1} from the blood of donors (A) and patients with ischemic stroke with varying severity of the central nervous system disorders (Б – mild, В – moderate, Г – severe); red oval – bands of stretching vibrations of hydroxyl (-OH), primary and secondary amino groups (-NH₂, -NH-); blue oval – vibration bands of triple bonds; yellow oval – bands of vibrations of bonds between nitrogenous bases and sugars.

Исходя из вышеизложенного следует, что в ИК-спектрах исследованных образцов ДНК полоса с максимумом 3400 cm^{-1} обусловлена валентными колебаниями первичных аминов, а 3100 cm^{-1} обусловлена колебаниями вторичных аминов и гидроксильных, вовлеченных в водородную связь между комплементарными парами азотистых оснований.

Была выявлена закономерность максимального повышения интенсивности поглощения ряда характерных полос при

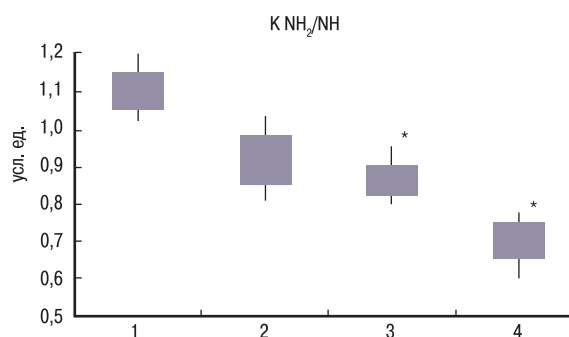


Рис. 2. Изменения величины показателя KNH_2/NH , характеризующего интенсивность поглощения первичных и вторичных аминов в зависимости от степени выраженности нарушений функций ЦНС при ИИ (2 – легкой, 3 – среднетяжелой, 4 – тяжелой) по сравнению с контролем (1). * – статистическая значимость отличий от группы контроля при $p < 0,05$.

Fig. 2. A – Changes in the values of the indicator KNH_2/NH characterizing the primary and secondary amines absorption intensity depending on the severity of central nervous system disorders in IS (2 – mild, 3 – moderate, 4 – severe) compared with the control group (1). * – statistical significance of differences from the control group at $p < 0.05$.

тяжелой степени выраженности патологического процесса. Особенно резкое повышение интенсивности полос поглощения наблюдалась при частотах 3400 cm^{-1} , обусловленных валентными колебаниями первичных аминов; 3100 cm^{-1} , характерных для вторичных аминов и гидроксильных, вовлеченных в водородную связь; 2900 cm^{-1} , характерных для CH_2 -групп сахаро-фосфатов, и 1400 cm^{-1} , обусловленных колебаниями вибрационных связей между азотистыми основаниями и сахарами.

Величины отношения интенсивности поглощения первичных и вторичных аминов KNH_2/NH представлены на рис. 2.

Известно, что вклад первичных и вторичных аминов азотистых оснований в образование водородных связей и их количество различаются: аденин-тимин связаны между собой двумя водородными связями, гуанин-цитозин – тремя водородными связями, соответственно, водородные связи с участием первичных аминов (N-H ... N) между гуанином и цитозином намного сильнее по сравнению с N-H ... N связью между тимином и аденином [14]. У пациентов с легкой степенью отмечается незначительное уменьшение величины данного коэффициента, а при тяжелой – значение коэффициента снижается в среднем в 1,5 раза. Снижение величины коэффициента (К) ниже 1 указывает на ослабление водородных связей с участием первичных аминов и нарушении структуры ДНК. Снижение коэффициента в 1,4 раза и ниже указывает на выраженные структурные перестройки в ДНК (ослабление водородных связей между азотистыми основаниями, снижение стабильности или пространственной устойчивости) связей сахаров и оснований, что характерно для тяжелого ИИ.

Особого внимания заслуживают изменения в ИК-спектре ДНК больных в областях, свидетельствующих о перестройках в сахарофосфатном остове ДНК (рис. 3), связанных, в частности с изменением эффективности ионных взаимодействий между функциональными группами отдельных фрагментов молекулы, за счет которых поддерживается определенная конформация ДНК. Известно, что структурные изменения геномной ДНК,

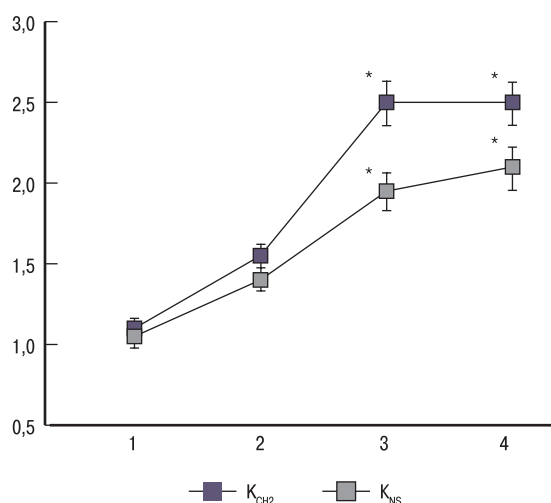


Рис. 3. Изменения величины показателей K_{CH_2} (2500 см⁻¹/4000 см⁻¹), характеризующего интенсивность поглощения -CH₂ групп сахарофосфатов, и K_{NS} (1400 см⁻¹/4000 см⁻¹), обусловленных колебаниями вибрационных связей между азотистыми основаниями и сахарами в зависимости от степени выраженности нарушений функций ЦНС при ИИ (2 – легкой, 3 – среднетяжелой, 4 – тяжелой) по сравнению с контролем (1). * – статистическая значимость отличий от группы контроля при $p < 0,05$.

Fig. 3. Changes in the values of the indicators K_{CH_2} (2500 cm⁻¹/4000 cm⁻¹) characterizing the sugar phosphates' -CH₂ groups' and K_{NS} (1400 cm⁻¹/4000 cm⁻¹), due to fluctuations in the vibrational bonds between nitrogenous bases and sugars depending on the severity of central nervous system disorders in IS (2 – mild, 3 – moderate, 4 – severe) compared with the control group (1). * – statistical significance of differences from the control group at $p < 0.05$.

сопряженные с перестройками наружного каркаса «скелета», могут приводить к снижению стабильности связей сахар-основание ДНК, их «разбалтыванию» [15]. В нашем исследовании выявлено резкое увеличение интенсивности поглощения в участке ИК-спектров, ответственных за колебания связей между азотистыми основаниями и дезоксирибозой. Такие изменения в спектре указывают на смещение взаимной ориентации фосфатных групп ДНК, что является следствием локального раскручивания двойной спирали, перераспределения водородных связей между азотистыми основаниями, появления в ней изгибов, приводящих в совокупности к изменению пространственной структуры ДНК.

Выявленные изменениями в ИК-спектрах геномных ДНК при ИИ свидетельствуют также об ослаблении играющих важную роль в стабилизации вторичной структуры ДНК стэкинг-взаимодействий, стабильность которых в значительной степени зависит от связей между основаниями и сахарами. Вследствие этого обеспечивается доступ воды и других низкомолекулярных водорастворимых молекул, включая угольную кислоту, внутрь двойной спирали, где они конкурируют с полярными группами оснований за образование водородных связей, приводя к нарушению водородных связей между комплементарными парами оснований с участием первичных и вторичных аминов, уменьшению эффективности стэкинг-взаимодействия между азотистыми основаниями, дестабилизации двойной спирали и облегчению расхождения цепей ДНК.

Подобный эффект плавления двуспиральной ДНК выявлен нами в клетках крови у пациентов со среднетяжелой и тяжелой степенью выраженности поражения ЦНС при ИИ. Окончательно неясным остается влияние данного эффекта на фенотип клеток и связь этого с нарушением генной экспрессии определенного пула клеток. Данные вопросы представляют перспективу развития темы.

На данном этапе, можно констатировать, что в анализируемых изолированных препаратах геномной ДНК клеток при ИИ выявлены следующие эффекты: ослабление водородных связей между комплементарными парами азотистых оснований двуспиральной ДНК, а также стабильности (пространственной устойчивости) связей сахаров и оснований. Также однозначно нельзя сделать заключения о том, какой процесс является первичным.

Заключение

У больных ИИ наблюдаются значительные изменения в ИК-спектрах геномных ДНК, которые свидетельствуют о повреждении геномных ДНК, приводящих, в частности, к изменению транскрипционной активности, определяющей формирование патологического фенотипа клеток, как вероятного механизма изменения активности генетических процессов. Характер и интенсивность этих изменений зависят от тяжести заболевания, что определяет возможность использования их в качестве дополнительных биомаркеров тяжести и прогноза ИИ.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. She R., Liu D., Liao J., et al. Mitochondrial dysfunctions induce PANoptosis and ferroptosis in cerebral ischemia/reperfusion injury: from pathology to therapeutic potential. *Front. Cell. Neurosci.* 2023;17:1191629. Doi: 10.3389/fncel.2023.1191629.
2. Шлапакова Т.И., Костин Р.К., Тягунова Е.Е. Активные формы кислорода: участие в клеточных процессах и развитии патологии. *Биоорганическая химия.* 2020;46(5):466–85. Doi: 10.31857/S013234232005022X. [Shlapakova T.I., Kostin R.K., Tyagunova E.E. Reactive oxygen species: participation in cellular processes and progression of pathology. *Rus. J. Bioorg. Chemistry.* 2020;46(5):657–74 (In Russ.).]
3. Kamiya H. Mutagenicity of oxidized DNA precursors in living cells: Roles of nucleotide pool sanitization and DNA repair enzymes, and translesion synthesis DNA polymerases *Mutat. Res.* 2010;703(1):32–6. Doi: 10.1016/j.mrgentox.2010.06.003.
4. Трофимов А.В., Карасев А.А., Власова Т.И. Изменение кислородтранспортной способности гемоглобина больных с ишемическим инсультом. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2023;22(4):50–5. Doi: 10.24884/1682-6655-2023-22-4-50-55. [Trofimov A.V., Karasev A.A., Vlasova T.I. The changes in the oxygen transport capability of erythrocyte hemoglobin in patients with ischemic stroke. *Region. Blood Circulat. Microcirculat.* 2023;22(4):50–5 (In Russ.).]
5. Кастыро И.В., Хамидулин Г.В., Дьяченко Ю.Е. и др. Исследование экспрессии белка p53 и образования темных нейронов в гиппокампе у крыс при моделировании септопластики. *Рос. ринология.* 2023;31(1):27–36. Doi: 10.17116/rostrino.20233101127. [Kastyro I.V., Khamidulin G.V., Dyachenko Yu.E., et al. Analysis of p53 protein expression and formation of dark neurons in the hippocampus of rats during septoplasty modeling. *Rus. Rhinol.* 2023;31(1):27–36 (In Russ.).]
6. Kalam M.A., Haraguchi K., Chandani S., et al. Genetic effects of oxidative DNA damages: comparative mutagenesis of the imidazole ring-opened

- formamidopyrimidines (Fapy lesions) and 8-oxo-purines in simian kidney cells. *Nucleic Acids Res.* 2006;34(8):2305–15. Doi: 10.1093/nar/gkl099.
7. Blokzijl F., de Ligt J., Jager M., et al. Tissue-specific mutation accumulation in human adult stem cells during life. *Nature.* 2016;538(7624):260–4. Doi: 10.1038/nature19768.
 8. McConnell M.J., Moran J.V., Abyzov A., et al. Brain Somatic Mosaicism Network. Intersection of diverse neuronal genomes and neuropsychiatric disease: The Brain Somatic Mosaicism Network. *Science.* 2017;356(6336):eaal1641. Doi: 10.1126/science.aal1641.
 9. An J., Yin M., Yin J., et al. Genome-wide analysis of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine at single-nucleotide resolution unveils reduced occurrence of oxidative damage at G-quadruplex sites. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(21):12252–67.
 10. Fleming A.M., Burrows C.J. Oxidative stress-mediated epigenetic regulation by G-quadruplexes. *NAR. Cancer.* 2021;3(3):zcab038. Doi: 10.1093/narcan/zcab038.
 11. Aoki J., Kimura K., Koga M., et al. NIHSS-time score easily predicts outcomes in rt-PA patients: the SAMURAI rt-PA registry. *J. Neurol. Sci.* 2013;327(1–2):6–11. Doi: 10.1016/j.jns.2013.01.029.
 12. Boodram L.L. Extraction of genomic DNA from whole blood. *Your Lab's Reference Book – online database of research protocols in a variety of life science fields [Electronic resource]* 1999–2006. URL: <http://www.protocol-online.org/prot/Protocols/Extraction-of-genomic-DNA-from-whole-blood-3171.html>.
 13. Stuart B.H. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications.* Book Series: Analytical Techniques in the Sciences. John Wiley & Sons, Ltd. 2004. 248 p.
 14. Трофимов В.А., Трофимов А.В., Кадималиев Д.А. Способ диагностики степени тяжести ишемического инсульта. Патент на изобретение RU 2767929 C1, 22.03.2022. [Trofimov V.A., Trofimov A.V., Kadimaliev D.A.; inventors. A method for diagnosing the severity of ischemic stroke. Russian patent RU 2767929 C1, 2022 March 22 (In Russ.)].
 15. Zhang F., Huang Q. Characterization of Z-DNA by Infrared Spectroscopy. *Method. Mol. Biol.* 2023;2651:53–8. Doi: 10.1007/978-1-0716-3084-6_3.

Поступила 20.04.2024

Получены положительные рецензии 02.07.24

Принята в печать 20.08.24

Received 20.04.2024

Positive reviews received 02.07.24

Accepted 20.08.2024

Вклад авторов: Все авторы внесли эквивалентный вклад в написание статьи.
Contribution of the authors: All the authors have made an equivalent contribution to the writing of the article.

Информация об авторах:

Трофимов Александр Владимирович – ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО МГУ им. Н.П. Огарева. Адрес: 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68. ORCID: 0009-0008-4989-8989.

Трофимов Владимир Александрович – д.б.н., профессор, заведующий кафедрой генетики и геномной инженерии ФГБОУ ВО МГУ им. Н.П. Огарева. Адрес: 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68. ORCID: 0000-0003-1294-1417.

Кадималиев Давуд Али-Оглы – д.б.н., профессор кафедры биотехнологии, биохимии и биоинженерии ФГБОУ ВО МГУ им. Н.П. Огарева. Адрес: 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68. ORCID: 0000-0001-5408-1692.

Спирина Мария Александровна – к.м.н., доцент кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО МГУ им. Н.П. Огарева. Адрес: 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68. ORCID: 0000-0001-9974-1981.

Власова Татьяна Ивановна – д.м.н., доцент, заведующая кафедрой нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВО МГУ им. Н.П. Огарева. Адрес: 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68. e-mail: v.t.i@bk.ru. ORCID: 0000-0002-2624-6450

Information about the authors:

Trofimov Alexander V. – assistant of the department of normal and pathological physiology of the National Research Mordovia State University. Address: 430005, Republic of Mordovia, Saransk, Bolshevistskaya str., 68. ORCID: 0009-0008-4989-8989.

Trofimov Vladimir A. – DB, professor, head of the department of genetics and genetic engineering, National Research Mordovia State University. Address: 430005, Republic of Mordovia, Saransk, Bolshevistskaya str., 68. ORCID: 0000-0003-1294-1417

Kadimaliev Davud A. – DB, professor, professor of the department of genetics and genetic engineering, National Research Mordovia State University. Address: 430005, Republic of Mordovia, Saransk, Bolshevistskaya str., 68. ORCID: 0000-0001-5408-1692.

Spirina Marya A. – PhD, associate professor of the department of normal and pathological physiology of the National Research Mordovia State University. Address: 430005, Republic of Mordovia, Saransk, Bolshevistskaya str., 68. ORCID: 0000-0001-9974-1981.

Vlasova Tatyana I. – DM, professor, head of the department of normal and pathological physiology of the National Research Mordovia State University. Address: 430005, Republic of Mordovia, Saransk, Bolshevistskaya str., 68. e-mail: v.t.i@bk.ru. ORCID: 0000-0002-2624-6450.