



“Հաստատում եմ”
ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան
կենսաքիմիայի ինստիտուտի տնօրեն, կ.գ.թ.
Ա.Ա. Անտոնյան
<<21>> ապրիլի 2022 թ.:

**ԱՌԱՋԱՏԱՐ ԿԱԶՄԱԿԵՐՊՈՒԹՅՈՒՆ
ԿԱՐԾԻՔ**

Սեդա Վիկտորի Մարությանի «Նյութափոխանակային փոփոխությունները և ԴՆԹ-ի կառուցվածքային վնասվածքները ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված *C.guilliermondii* NP-4 խմորասնկերում «Գ.00.04-կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների դոկտորի զիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության վերաբերյալ

Աշխատանքը քննարկվել և տրվել է կարծիք ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի զիտաբոտանիկայի 2022թ. ապրիլի 21-ի թիվ 6 նիստում: Նիստին մասնակցում էին կ.գ.դ., պրոֆեսոր Մ.Ա. Սիմոնյանը, կ.գ.դ. Ս.Ս. Մարդանյանը, կ.գ.դ. Ս.Ս. Աբրահամյանը, կ.գ.թ., դոցենտ Հ.Լ. Հայրապետյանը, կ.գ.թ. Գ. Գ. Գյուլխանդանյանը, կ.գ.թ. Վ.Կ. Գասպարյանը, կ.գ.թ. Թ.Ե. Սեֆերյանը, կ.գ.թ. Ն.Խ. Ալչուջյանը, կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյանը, կ.գ.թ. Ֆ.Պ. Սարուխանյանը, կ.գ.թ. Ջ.Խ. Պարոնյանը, կ.գ.թ. Վ.Հ. Քնարյանը, կ.գ.թ. Ն.Վ. Քոչարյանը, կ.գ.թ. Ք.Է. Դանիելյանը, կ.գ.թ. Ա.Ա. Աղաբաբովան, կ.գ.թ., դոցենտ Լ.Ն. Առաքելյանը, կ.գ.թ. Ի.Կ.Սահակյանը:

Քննարկման ընթացքում տրվեցին հարցեր, որոնց ատենախոսը տվեց մանրամասն պատասխաններ: Ելույթ ունեցան կ.գ.դ. Ս.Ս. Մարդանյանը, կ.գ.դ., պրոֆ. Մ. Ա. Սիմոնյանը, կ.գ.թ. Գ. Գյուլխանդանյանը, որոնք ընդգծեցին աշխատանքի հիմնական արժանիքները՝ նորությը և զիտագործնական նշանակությունը:

Ատենախոսության թեմայի արդիականությունը: Ներկայումս շրջապատող միջավայրի տեխնոստիկ ադապտացիայի մեծացման հետ միասին շատանում են նաև կենդանի օրգանիզմների ինդացնող ճառագայթման ենթարկվելու հնարավորությունները: Ուստի ճառագայթման տարբեր տեսակներից, մասնավորապես ինդացնող ճառագայթման ազդեցությունից պաշտպանվելու միջոցների մշակումը խիստ արդիական է: Օրգանիզմների կենսունակության, հետճառագայթային վերականգնման և բազմաթիվ այլ հարցերի ուղղությամբ մեծ թվով հետազոտություններ են կատարվել, սակայն այս տեսակետից դեռևս շատ հարցեր մնում են չպարզաբանված:

Մեծ կարևորություն ունի խմորասնկերի ռադիոզգայունության ուսումնասիրությունը, որոնք օժտված են ավելի բարձր կայունությամբ արտաքին

գործոնների նկատմամբ, քան կաթնասունները: Նրանց ցածր ռադիոզայնության պատճառների իմացությունը ուղիներ է հարթում ճառագայթահարման նկատմամբ խիստ զգայուն օրգանիզմների, այդ թվում՝ մարդու ռադիոկայնության բարձրացման միջոցներ մշակելու համար, ինչը խիստ կարևոր է զուտ գործնական տեսանկյունից, քանի որ մարդու գործունեության տարբեր ոլորտներում լայնորեն ներդրվում են ճառագայթային տարբեր տեխնոլոգիաներ, նորանոր բժշկական սարքավորումներ և այլն, որոնք օգտագործում են էլեկտրամագնիսական ճառագայթման տարբեր տեսակներ:

ԴՆԹ-ի վերականգնման (ռեպարացման) համակարգի բաղադրիչների ճառագայթային վնասումը կարող է հանգեցնել բջջում ԴՆԹ-ի վնասվածքների վերականգնման հնարավորության կորստի կամ սխալ ռեպարացման, սակայն այս ուղղությամբ ստացված տվյալները դեռևս անբավարար են որոշակի եզրակացությունների համար և պահանջվում է բջջի ռեպարացիոն համակարգի խորացված ուսումնասիրություն՝ ծայրահեղ պայմաններում օրգանիզմների վերապրման ունակության բարձրացման միջոցների մշակման համար:

Դեռևս անբավարար են ուսումնասիրված օրգանիզմների վրա տարբեր ծայրահեղ ազդեցությունների պայմաններում սպիտակուցների ֆրակցիաների փոփոխության հարցերը, որոնք կարող են հանգեցնել նուկլեոտիդների փոխանակության և փրկության ուղիների ֆերմենտների փոփոխության:

Անբավարար են ուսումնասիրված նաև իոնացնող ճառագայթման ազդեցությամբ բջիջների էներգիական փոխանակության մեխանիզմների խախտման և հետճառագայթային աճի շրջանում նրանց վերականգնման հարցերը: Մանրէների, որոշ ստորակարգ էուկարիոտ օրգանիզմների բջիջներում, այդ թվում՝ նաև խմորասնկերում, հայտնաբերվել են պոլիֆոսֆատային կամ աջիդոկալցիտոսային գրանուլներ՝ վոլյուտինի հատիկներ, որոնք լինելով մակրոէրգիկ միացություններ՝ ունեն էներգիա պահեստող նշանակություն և կարևոր դեր բջիջների օսմոկարգավորման գործընթացներում:

Ներկայացված ատենախոսության մեջ որպես հետազոտության մոդել ընտրվել են *Candida guilliermondii* NP-4 խմորասնկերը, և իրականացվել է նրանց նյութափոխանակային որոշ գործընթացների փոփոխությունը ռենտգենյան

ճառագայթահարման և խմորասնկերի հետճառագայթային 24-ժամյա աճեցումից հետո բջիջների վերականգնմանը նպաստող պայմաններում:

Ուսումնասիրվել է ռենտգենյան ճառագայթման ազդեցությամբ *C.guilliermondii* NP-4 խմորասնկերի կենսունակության, նրանցում նյութափոխանակային որոշ գործընթացների խախտումները, մորֆոֆունկցիոնալ փոփոխությունները, ինչպես նաև ԴՆԹ-ի ֆիզիկաքիմիական հատկությունների փոփոխությունը ինչպես ճառագայթահարման, այնպես էլ հետճառագայթային վերականգնողական գործընթացից հետո:

Ատենախոսության գիտական նորույթը: Ներկայացված աշխատանքում ցույց է տրվել, որ *C. guilliermondii* NP-4 խմորասնկերի ռենտգենյան ճառագայթահարումից հետո բջիջների հետճառագայթային աճի ընթացքում դիտվում է կենսական ցիկլի բոլոր փուլերի 2-ժամյա ուշացում չճառագայթահարված խմորասնկերի համեմատությամբ՝ պայմանավորված G₂-բլոկով կամ միտոզի ուշացումով: Ռենտգենյան ճառագայթահարման ազդեցությամբ նվազում է *C. guilliermondii* NP-4 խմորասնկերի գաղութառաջացման ունակությունը, նրանցում չի դրսևորվում ֆերմենտացիայի ունակություն, որը խմորասնկերի հետճառագայթային վերականգնման ընթացքում մասամբ վերականգնվում է, սակայն զգալիորեն ցածր է մնում չճառագայթահարված խմորասնկերին բնորոշ ելակետային արժեքից: Ռենտգենյան ճառագայթման ազդեցությամբ *C.guilliermondii* NP-4 խմորասնկային բջիջների ԴՆԹ-ում առաջանում են կառուցվածքային փոփոխություններ, որոնք հետճառագայթային վերականգնման փուլում ավելի են խորանում: Վնասվածքների թիվը մեծանում է բջիջները 0°C ջերմաստիճանում ճառագայթահարելիս, երբ ճնշվում է ռեպարացիոն ֆերմենտների ակտիվությունը: Միևնույն ժամանակ, ռեպարացված խմորասնկերի ԴՆԹ-ում ի հայտ են գալիս լրացուցիչ ցածրամոլեկուլային ֆրակցիաներ, ինչը կարող է բացատրվել “սխալ ռեպարացման” հետևանքով տեղի ունեցող ֆերմենտային վերավնասումով, ինչպես նաև ռեկոմբինացիոն ռեպարացման շնորհիվ ԴՆԹ-ի նոր մոլեկուլային ձևերի առաջացումով: Ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված *C. guilliermondii* NP-4 խմորասնկային ԴՆԹ-ի հալման ջերմաստիճանը, հակառակ սպասելիքներին, բարձրանում է, իսկ հալման միջակայքը փոքրանում, ինչը կարող է պայմանավորված լինել ԴՆԹ-ԴՆԹ և ԴՆԹ-սպիտակուց տիպի կարերի առաջացումով: *C. guilliermondii* NP-4 խմորասնկային բջիջներում պուրինային և պիրիմիդինային ազոտային հիմքերը,

նուկլեոզիդները և նուկլեոտիդները դեզամինացնող ֆերմենտների ակտիվությունները ենթարկվում են փոփոխությունների ռենտգենյան ճառագայթահարման և վերականգնման պայմաններում՝ ապահովելով նրանց մասնակցությունը ռեպարացմանը և նուկլեոտիդների փրկության ուղիներին: Ռենտգենյան ճառագայթման հետևանքով *C. guilliermondii* NP-4 խմորասնկային բջիջների պոպուլյացիայում առաջանում են գիզանոթ բջիջներ և թելանման ձևեր: Ռենտգենյան ճառագայթահարումից հետո խմորասնկերի ցիտոպլազմայում ի հայտ են գալիս վոլյուտինի հատիկներ, որոնք չճառագայթահարված խմորասնկերի բջիջներում գտնվում են վակուոլների մեջ, նրանք դուրս են բերվում ցիտոպլազմա, իսկ հետճառագայթային վերականգնման ընթացքում մանրանում և տարածվում ամբողջ բջջապլազմում: Խմորասնկային բջիջների հետճառագայթային վերականգնման ընթացքում, հակառակ սպասումներին, տեղի է ունենում ԴՆԹ-ի ճառագայթային վնասվածքների խորացում՝ ԴՆԹ-ի լրացուցիչ միաշղթա և երկշղթա խզումների, ԴՆԹ-ԴՆԹ և ԴՆԹ-սպիտակուց տիպի կաթերի առաջացում և այլն: Մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում այն, որ ռեպարացիոն գործընթացները բերում են գենոմի նոր, խորը փոփոխությունների: Ստացված արդյունքները կարող են օգտակար լինել ինչպես ճառագայթումից պաշտպանական միջոցների, այնպես էլ՝ բուժական եղանակների մշակման նպատակով:

Ատենախոսության բովանդակությունը և ձևավորման գնահատականը:

Մեղա Վիկտորի Մարությանի ատենախոսական աշխատանքը կազմված է ներածություն, գրական ակնարկ, փորձարարական մաս, ստացված արդյունքների քննարկում, ամփոփում բաժիններից, եզրակացություններից, օգտագործված գրականության և հապավումների ցանկերից:

Ներածական բաժնում հայցորդի կողմից հիմնավորված են աշխատանքի արդիականությունը, գիտական նորույթը, աշխատանքի նպատակն ու խնդիրները, ստացված արդյունքների գործնականում կիրառելու հնարավորությունները:

Գրական ակնարկում հեղինակի կողմից կատարված է խմորասնկերի կառուցվածքի և բազմացման առանձնահատկությունների, իոնացնող ճառագայթման ազդեցության պայմաններում նրանց բազմացման, վերապրման առանձնահատկությունների, ինչպես նաև՝ ճառագայթման ազդեցությամբ ԴՆԹ-ի կառուցվածքային փոփոխությունների մասին գիտական տվյալների բազմակողմանի

վերլուծություն: Քննարկված են նաև պուրինային և պիրիմիդինային նուկլեոզիդների և նուկլեոտիդների սինթեզի և կատարոլիզի մեխանիզմները, նուկլեոտիդների փրկության ուղիները: Հետազոտության առարկան և մեթոդները բաժնում մանրամասն նկարագրված են ատենախոսի կողմից կիրառված հետազոտության կենսաքիմիական ժամանակակից մեթոդները:

Արդյունքների նկարագրման և քննարկման բաժիններում ներկայացված են կատարած ծավալուն փորձարարական աշխատանքի հիման վրա ստացված տվյալները և դրանց քննարկումը:

Ներկայացված աշխատանքում առաջին անգամ իրականացվել է *Candida guilliermondii* NP-4 խմորասնկերի կենսազործունեության բուզմակոդմանի ուսումնասիրություն ռենտգենյան ճառագայթման ազդեցության և հետճառագայթային վերականգնման պայմաններում: Ցույց է տրվել, որ ռենտգենյան ճառագայթման ազդեցությամբ հետազոտված խմորասնկերի պոպուլյացիայում ի հայտ են գալիս թելանման և հսկա ձևեր, զադութառաջացման ունակությունը 2.8 անգամ նվազում է չճառագայթահարված խմորասնկերի համեմատությամբ: Ռենտգենյան ճառագայթահարումից հետո տեղի է ունենում վոյտսիինի դուրս բերում վակուոլներից դեպի ցիտոպլազմա խոշոր կոնզոլմերատների տեսքով, որոնք հետճառագայթային վերականգնման ընթացքում մանրանում են և տարածվում ամբողջ ցիտոպլազմայում՝ վերականգնման էներգատար գործընթացներում որպես էներգիայի լրացուցիչ աղբյուր օգտագործվելու համար:

Ատենախոսության շրջանակներում ցույց է տրվել, որ ճառագայթահարված խմորասնկերի ԴՆԹ-ում առաջանում են երկրորդային կառուցվածքի վնասվածքներ՝ միաշղթա խզումներ, միջմոլեկուլային կարեր, որոնց մի մասը հետճառագայթային վերականգնման գործընթացում վերածվում են երկշղթա խզումների: Այդ վնասվածքների արդյունքում ԴՆԹ-ի էլեկտրոֆորեզրասմում դրսևորվում են ցածրամոլեկուլային լրացուցիչ ֆրակցիաներ և ԴՆԹ-ի բեկորներ: Միևնույն ժամանակ, ԴՆԹ-ում լայնական կապերի, սպիտակուց-ԴՆԹ և ԴՆԹ-ԴՆԹ կարերի առաջացման հետևանքով բարձրանում է ԴՆԹ-ի հալման ջերմաստիճանը, իսկ հալման միջակայքը՝ նվազում, որը վկայում է, հակառակ սպասվածին, ճառագայթահարված և ռեպարացված ԴՆԹ-ի կառուցվածքի ներքին կոշտության մեծացման մասին:

Ցույց է տրվել, որ պուրինային ազոտային հիմքերի և նուկլեոզիդների դեզամինացումը խմորասնկերում ընթանում է ցածր ինտենսիվությամբ, և նրանք մինչև վերջ կատարովի չեն ենթարկվում, այլ ներգրավվում են նուկլեոտիդների փրկության ուղիներում: Պուրինային նուկլեոտիդների շարքում դեզամինացման ամենացածր ուժգնություն ինչպես չճառագայթահարված, այնպես էլ ճառագայթահարված և ռեպարացված խմորասնկերում դրսևորվում է ԱԵՖ-ի համար, այսինքն՝ այն կատարովի թիչ է ենթարկվում, այլ ուժեղանում է նրա հիդրոլիզը՝ էներգիա ապահովելով վերականգնողական գործընթացների համար: ԱԵՖ-ագային ակտիվության աճն առավել արտահայտված է խմորասնկերի միտոքոնդրիումներում՝ բջիջների կենսական ցիկլի լոգարիթմական փուլում: Ցույց է տրվել նաև, որ ճառագայթահարման ենթարկված խմորասնկերում բարձրանում է մյուս պոլիֆոսֆատ-նուկլեոտիդների՝ ԱԿՖ, ԳԿՖ և ԳԵՖ, հիդրոլիզի ուժգնությունը, որոնք նույնպես էներգիայի լրացուցիչ աղբյուրներ են:

Ատենախոսության եզրահանգումները տրամաբանորեն հետևում են փորձերի արդյունքներից և բազմակողմանի հիմնավորված են:

Ատենախոսության գործնական արժեքը:

Նկատի ունենալով ստորակարգ էուկարիոտ խմորասնկերի և բարձրակարգ էուկարիոտ օրգանիզմների ժառանգական նյութի կառուցվածքային, ֆունկցիոնալ, տրանսկրիպցիոն առանձնահատկությունների ընդհանրությունը՝ ատենախոսության արդյունքների հիման վրա կարելի է եզրակացնել ռենտգենյան ճառագայթման ազդեցությամբ և հետճառագայթային վերականգնողական գործընթացների արդյունքում բարձրակարգ էուկարիոտների ԴՆԹ-ի հնարավոր կառուցվածքային փոփոխությունների մասին: Մասնավորապես, հետաքրքրություն է ներկայացնում այն, որ ռեպարացիոն գործընթացները բերում են գենոմի նոր, խորը փոփոխությունների: Ստացված արդյունքները կարող են օգտակար լինել ինչպես ճառագայթումից աստմակայանների, ռազմական արդյունաբերության մեջ ընգրկված մարդկանց, բժիշկ-ռադիոլոգների պաշտպանական միջոցների, այնպես էլ բուժական եղանակների մշակման նպատակով:

Ստացված տվյալները կարող են օգտագործվել կենդանի օրգանիզմների վրա իրնացնող ճառագայթման ազդեցության կանխման, հետճառագայթային վերականգնողական գործընթացների արդյունավետության բարձրացման,

կենսաքիմիական պաշտպանիչ միջոցների մշակման նպատակով: Դրանք հաշվի կառնվեն սթրեսային գործոնների նկատմամբ բջիջների կայունության բարձրացման արդյունավետ միջոցների մշակման ժամանակ: Հատկապես հեռանկարային է բջիջների ռեպարացիոն համակարգի վրա ազդեցության միջոցների մշակումը, որն օրգանիզմի ռադիոկայունության բարձրացման մեծ հնարավորություններ է պարունակում և կարևոր է՝ հատկապես բջջի ռեպարացիոն համակարգի խթանման հնարավորությունների տեսակետից, ինչպես նաև՝ ամբողջ համակարգը ճառագայթահարումից պաշտպանվելու ունակությունը խթանելու տեսակետից:

Տարբեր հիվանդությունների զարգացման ընթացքում դրսևորվում են խոր կենսաքիմիական տեղաշարժեր պուրինային ազոտային հիմքերի և նուկլեոդիդների նյութափոխանակության գործընթացում: Ուստի պուրինային և պիրիմիդինային միացությունների դեզամինացման ուժգնության փոփոխությունների վերաբերյալ տվյալները կարող են օգտագործվել ախտորոշիչ նպատակով՝ կլինիկայում դեռևս սաղմնային մակարդակում մարդկանց ժառանգական խանգարումներն ախտորոշելու համար: Պուրինային և պիրիմիդինային միացությունների սինթեզի և քայքայման վերաբերյալ տվյալները կարող են օգտակար լինել նաև միջավայրում SH-պարունակող միացությունների քանակության մեծացման գնահատման համար, որը կարող է դրսևորվել մասնավորապես քաղցկեղային հիվանդությունների ճառագայթային թերապիայի ընթացքում:

Խմորասնկային բջիջների կառուցվածքային կազմակերպման մեջ վոլյուտինի փոփոխությունների էլեկտրոնամանրադիտակային նույնականացման տվյալները կարող են ծառայել որպես հարմար մեթոդ՝ իոնացնող ճառագայթահարման ազդեցությամբ բջիջների վնասման և վնասվածքների վերականգնման, ինչպես նաև՝ նրանցում ընթացող կոմպենսատոր գործընթացների գնահատման համար: Վոլյուտինի ացիդոկալցիստոմային մասնիկները կարող են դիտարկվել որպես համապատասխան մարկերներ՝ բջիջների վրա սթրեսային գործոնների, այդ թվում՝ իոնացնող ճառագայթման ազդեցության ուժը գնահատելու համար:

Մեղմագրի համապատասխանությունը ատենախոսության հիմնական դրույթներին:

Հեղինակի կողմից ստացված արդյունքները տպագրվել են ազդեցության գործակցով միջազգային գիտական ամսագրերում և միջազգային գիտաժողովների թեզիսներում: Մեղմագիրը համապատասխանում է ատենախոսության բովանդակությանը:

Այս ամենով հանդերձ աշխատանքը գերծ չէ որոշ թերություններից, այսպես՝

- Ճառագայթելուց առաջ և /կամ հետո խմորասնկերները չեն ենթարկվել հակաճառագայթային մշակման: Հասկանալի չէ, ինչպես կարելի է կանխարգելել կամ վերականգնել ռեպարացիոն շրջանում ճառագայթման վնասակար ազդեցությունը ԴՆԹ-ի կառուցվածքային փոփոխությունների և ներբջջային կենսական նշանակություն ունեցող գործընթացների վրա:
- Դեամինացման վերաբերյալ փորձերի արդյունքները անհրաժեշտ էր վերահաստատել գոնե որոշ ֆերմենտների հետ օպտիմալ պայմաններում:
- ԴՆԹ-ի կառուցվածքի փոփոխությունները էլեկտրաֆորեզից բացի գնահատել նաև ԴՆԹ-Կոմետ մեթոդով:
- ԴՆԹ-ի ստրուկտուրայի վիճակը գնահատել էլեկտրաֆորեզից բացի, նաև ԴՆԹ-ԿոմետS մեթոդով:

Եզրակացություն: Հաշվի առնելով վերը նշվածը, կարելի է եզրակացնել, որ Սեդա Վիկտորի Մարությանի կողմից ներկայացված «Նյութափոխանակային փոփոխությունները և ԴՆԹ-ի կառուցվածքային վնասվածքները ռենտգենյան ճառագայթահարման ենթարկված *C.guilliermondii* NP-4 խմորասնկերում» թեմայով դոկտորականատենախոսական աշխատանքը ավարտուն գիտագործնական ուսումնասիրություն է: Այն բավարարում է ՀՀ-ում գիտական աստիճանաշնորհման կանոնակարգի 8-րդ կետով դոկտորականատենախոսություններին ներկայացվող պահանջներին, իսկ հեղինակն արժանի է Գ.00.04 - «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների դոկտորի գիտական աստիճանի շնորհմանը:

Կարծիքը քննարկվել և հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Շ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտխորհրդի նիստում (արձանագրություն թիվ 6, 21 ապրիլի 2022թ.):

Նիստի նախագահ, կ.գ.թ., դոցենտ

Ալեքսեյ

Ա.Ա.Անտոնյան

Նիստի քարտուղար,
գիտական խորհրդի քարտուղար.
կ.գ.թ., դոցենտ

Զելա

Շ.Է. Հայրապետյան

