

Պաշտոնական ընդդիմախոսի

ԿԱՐԾԻՔ

Գ.00.04 – «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի աստիճանի հայցման ներկայացված Աննա Արթուրի Զաքոյանի «Կատիոնային պորֆիրինների հետ ցերուլոպլազմինի և տրանսֆերինի կոմպլեքսների ստացումը ֆոտոդինամիկ թերապիայի համար» ատենախոսության վերաբերյալ

Աննա Զաքոյանի թեկնածուական ատենախոսական աշխատանքը նվիրված է կատիոնային և մետաղային պորֆիրինների ցիտոտոքսիկ և ֆոտոտոքսիկ բնութագրերի ուսումնասիրմանը, ցերուլոպլազմինի և տրանսֆերինի հետ կատիոնային և մետաղային պորֆիրինների կոմպլեքսների ստացմանը և ֆոտոդինամիկ թերապիայի առումով այդ կոմպլեքսների ֆոտոզգայունացուցիչ բնութագրերի ուսումնասիրմանը:

Ֆոտոդինամիկ թերապիան (ՖԴԹ) այնպիսի թերապիայի ձև է, որը ներառում է լույս և լուսազգայուն քիմիական նյութ (ֆոտոզգայունացուցիչ), որոնց համադրմամբ նպատակային բջիջներում մոլեկուլային թթվածնի ակտիվ ձևեր են ստեղծվում, որոնց ազդեցությամբ բջիջները մահանում են: Այն կլինիկականում օգտագործվում է մի շարք հիվանդությունների բուժման համար, ներառյալ պսորիազը, աթերոսկլերոզը: Մեթոդը որոշակի արդյունավետություն է ցուցաբերել հակավիրուսային բուժումների ընթացքում, ներառյալ հերպեսը: ՖԴԹ-ն նաև կիրառվում է չարորակ քաղցկեղների բուժումներում, այդ թվում՝ գլխի և պարանոցի, թոքերի, միզապարկի և մաշկի: Տեխնոլոգիան փորձարկվել է նաև շագանակագեղձի քաղցկեղի բուժման համար, ինչպես շան մոդելում, այնպես էլ մարդկանց դեպքում:

ՖԴԹ-ում կիրառվող ֆոտոզգայունացուցիչները բաժանվում են երեք խմբերի՝ պորֆիրինների, քլորների և ներկանյութերի: Աննա Զաքոյանի ատենախոսական աշխատանքը վերաբերվում է կատիոնային պորֆիրինների և մետաղային պորֆիրինների ցիտոտոքսիկությանը և ֆոտոտոքսիկությանը *in vitro* և *in vivo* պայմաններում; ցերուլոպլազմին և տրանսֆերին սպիտակուցների հետ կատիոնային պորֆիրինների և մետաղ-պորֆիրինների կայուն կոմպլեքսների առաջացմանը և ցերուլոպլազմինի կատիոնային պորֆիրինների հետ առաջացրած կոմպլեքսների ֆոտոդինամիկ ակտիվություններին:

Ասվածից հետևում է, որ Աննա Զաքոյանի «Կատիոնային պորֆիրինների հետ ցերուլոպլազմինի և տրանսֆերինի կոմպլեքսների ստացումը ֆոտոդինամիկ թերապիայի համար» ատենախոսությունը կենսաբանության զարգացման ժամանակակից միտումներին համահունչ ակնհայտորեն կարևոր և արդիական աշխատանք է:

Աննա Զաքոյանի ատենախոսական աշխատանքի նյութը շարադրված է տպագիր տեքստի 126 էջի վրա և ներառում է 42 նկար ու 8 աղյուսակ: Ատենախոսությունը կազմված է հետևյալ մասերից՝ «Կիրառված հապավումներ և նշանակումներ», «Ներածություն», «Գրական ակնարկ», «Հետազոտության նյութերը և մեթոդները», «Հետազոտության արդյունքներ և դրանց քննարկումը», «Եզրահանգում» «Եզրակացություններ», «Գրականության ցանկ», որը ներառում է 192 գիտական հղում:

«Ատենախոսության գրական ակնարկ» գլուխը բաղկացած է ութ բաժիններից, նվիրված ֆոտոզգայունացուցիչների ընդհանուր բնութագրմանը; 1-ին, 2-րդ, 3-րդ և 4-րդ սերնդի ֆոտոզգայունացուցիչների տարբերակմանը; ՖԴԹ-ի զարգացման

պատմությանը; ՖԴԹ-ի գործողության մեխանիզմին; պորֆիրինների և կատիոնային պորֆիրինների կառուցվածքին; ՖԴԹ-ում կիրառվող լույսի աղբյուրներին և լույսը տեղ հասցնող հարմարանքներին; ՖԴԹ-ում ֆոտոզգայունացուցիչ նյութերը նպատակակետ հասցնող համակարգերին և առանձնահատուկ ֆոտոզգայունացուցիչ նյութերը նպատակակետ հասցնող սպիտակուցային համակարգերին:

Գրական ակնարկում ատենախոսը մանրագին վերլուծել է ՖԴԹ-ի էությունը, մեխանիզմները, առավելություններն ու թերությունները: Ժամանակակից մակարդակով ներկայացվել է ինչպես մեթոդում կիրառվող ֆոտոզգայունացուցիչ նյութերի տեսակները, դրանց նպատակակետ հասցնելու տեխնոլոգիաները, այնպես էլ մեթոդում կիրառվող լույսի աղբյուրներն ու լույսը նպատակակետ հասցնելու տեխնոլոգիաները, հատկապես երբ թիրախը օրգանիզմի արտաքին մակերեսից ներս է գտնվում:

Ատենախոսությունում դրված խնդիրների լուծման համար կիրառվել են ժամանակակից մեթոդներ և սարքավորումներ (Գլուխ 2), որոնք ներկայացված են 13 բաժիններում: «Աշխատանքային պայմաններ, հետազոտական օբյեկտներ» առաջին բաժնում ներկայացված են աշխատանքի կատարման վայրը, աշխատանքի օբյեկտները և պայմանները: Հաջորդ «Կատիոնային պորֆիրիններ և մետաղապորֆիրիններ» բաժնում ներկայացված են աշխատանքում կիրառված ֆոտոզգայունացուցիչների կառուցվածքային բանաձևերը: Երրորդ «Սպիտակուցներ տրանսֆերինի և ցերուլոպլազմինի անջատում և մաքրում» բաժնում մանրամասնորեն ներկայացված են հեղինակի կողմից մշակված տրանսֆերինի և ցերուլոպլազմինի անջատման ու մաքրման բարձրորակ ընթացակարգերը: «Բակտերիալ շտամներ» բաժնում ներկայացված են աշխատանքում կիրառված բակտերիալ շտամները, դրանց պահպանման և աճեցման պայմանները, ինչպես նաև փորձին նախապատրաստման ընթացակարգերը: Հինգերորդ «Բջջային կուլտուրաներ» բաժնում ներկայացված են աշխատանքում կիրառված երկու քաղցկեղային բջջային կուլտուրաները, դրանց պահպանման և աճեցման պայմանները: «Սպեկտրալ հետազոտություններ» բաժնում ներկայացված են արտորբցիոն և ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի փորձերում կիրառված ժամանակակից սարքավորումները՝ իրենց տեխնիկական բնութագրերով և հնարավորություններով: Ութերորդ «Ցերուլոպլազմինի և Zn-պորֆիրինների հետ նրա կոմպլեքսների օքսիդազային ակտիվության գնահատումը» բաժնում ներկայացված է ցերուլոպլազմինի և նրա կոմպլեքսների օքսիդազային ակտիվության չափման մեթոդը: «Ցերուլոպլազմինի և Zn-պորֆիրինների հետ դրա կոմպլեքսների պոլիակրիլամիդային գելում էլեկտրոֆորեզ» բաժնում ներկայացված են սպիտակուցի և դրա կոմպլեքսների նատիվ էլեկտրոֆորեզի պայմանները: «Կատիոնային պորֆիրինների և մետաղապորֆիրինների ցիտոտոքսիկ և ֆոտոտոքսիկ ակտիվության գնահատում Գրամ-դրական և Գրամ-բացասական բակտերիաների նկատմամբ» բաժնում ներկայացված է բակտերիաների հետ փորձերի կատարման պայմանները և արդյունքների գնահատման մեթոդաբանությունը: «Պորֆիրինների և մետաղապորֆիրինների ու ցերուլոպլազմինի հետ դրանց կոմպլեքսների ցիտոտոքսիկ և ֆոտոտոքսիկ ակտիվության գնահատում *in vitro*» բաժնում ներկայացված է նշված նպատակներով բջջային կուլտուրաների հետ փորձերի կատարման պայմանները և արդյունքների գնահատման մեթոդաբանությունը: «Պորֆիրինների և մետաղապորֆիրինների ցիտոտոքսիկ և ֆոտոտոքսիկ հակաուռուցքային ակտիվության *in vivo* գնահատում» բաժնում ներկայացված է S-180 սարկոմայով պինդ ուռուցքի մկնային մոդելի վրա փորձերի կատարման պայմանները և արդյունքների գնահատման

մեթոդաբանությունը: Եվ, վերջապես, 13-րդ «Վիճակագրական վերլուծություն» բաժնում ներկայացված է ստացված տվյալների վիճակագրական վերլուծության մեթոդաբանությունը:

Աննա Զաքոյանի ատենախոսության «Հետազոտության արդյունքներ և դրանց քննարկումը» գլուխը բաղկացած է 9 բաժիններից:

Առաջին «TOEt4PyP պորֆիրինի *in vitro* ցիտոտոքսիկ ակտիվությունը HeLa և HepG2 բջիջների նկատմամբ» բաժնում ուսումնասիրվել է TOEt4PyP պորֆիրինի տարբեր կոնցենտրացիաների ազդեցությունը HeLa և HepG2 բջիջների կենսունակության վրա: Ցույց է տրվել, որ, եթե կիրառված կոնցենտրացիաներում պորֆիրինը գրեթե չի ազդում HepG2 բջիջների կենսունակության վրա, ապա պորֆիրինի 100 մկգ/մլ կոնցենտրացիայի դեպքում գրեթե 50 %-ով ճնշվում է HeLa բջիջների աճը:

«TOEt4PyP պորֆիրինի և Zn-TOE4PyP մետաղապորֆիրինի *in vivo* ցիտոտոքսիկ և ֆոտոտոքսիկ ակտիվությունը» բաժնում ներկայացված է S-180 սարկոմայով պինդ ուռուցքի մկնային մոդելի դեպքում TOEt4PyP պորֆիրինի և Zn-TOE4PyP մետաղապորֆիրինի *in vivo* ցիտոտոքսիկ և ֆոտոտոքսիկ ակտիվության գնահատման հետազոտությունների արդյունքները:

«Կատիոնային պորֆիրինների և մետաղապորֆիրինների հակաբակտերիալ ակտիվությունը *in vitro*» բաժնում ուսումնասիրվել է TOE4PyP, Zn-TOE4PyP, Zn-TBut4PyP և Zn-TBut3PyP կատիոնային պորֆիրինի և մետաղապորֆիրինների հակաբակտերիալ ակտիվությունը *in vitro* պայմաններում Գրամ-դրական և Գրամ-բացասական բակտերիաների նկատմամբ և բացահայտվել են դրանց ցիտոտոքսիկ կոնցենտրացիաները: Այնուհետև, այդ նյութերի ոչ ցիտոտոքսիկ կոնցենտրացիաներում (100 մկգ/մլ և 1000 մկգ/մլ) հետազոտվել են այդ նույն նյութերի ֆոտոտոքսիկ բնութագրերը: Ցույց է տրվել, որ բոլոր հետազոտված նյութերը նշված կոնցենտրացիաներում ցուցաբերում են շատ ուժեղ ֆոտոտոքսիկ հատկություններ:

Աշխատանքի «Տրանսֆերինի և ցերուլոպլազմինի հետ ֆոտոզգայունացուցիչների կոմպլեքսների ստացում» բաժնում (4-րդ բաժին) հեղինակը նկարագրում է սպիտակուցների հետ պորֆիրինների կոմպլեքսների ստացման և հետազայում գել-ֆիլտրմամբ համապատասխան կոմպլեքսների մաքրման մեթոդիկան:

«Տրանսֆերինի և ցերուլոպլազմինի հետ կատիոնային պորֆիրինների և մետաղապորֆիրինների կոմպլեքսների ուսումնասիրություն կլանման և ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի միջոցով» բաժնում ուսումնասիրվել է TOEt4PyP, Zn-TOEt4PyP պորֆիրինների հետ սպիտակուցների կազմած կոմպլեքսների կլանման և ֆլուորեսցենտային սպեկտրերը: Ցույց է տրվել, որ տրանսֆերինի դեպքում կոմպլեքսառաջացման արդյունքում տեղի է ունենում կլանման սպեկտրերի պիկերի շեղում դեպի երկար ալիքների կողմը և ֆլուորեսցենտային սպեկտրերի տրանսֆորմացիաներ, ինչը ակնհայտորեն վկայում է սպիտակուցի հետ հետազոտվող նյութի կոմպլեքսի առաջացման մասին: Նման պատկեր է դիտվել նաև ցերուլոպլազմինի հետ TOEt4PyP, TBut4PyP, Zn-TOEt4PyP, Zn-TBut4PyP, քլորին-e6 և Al-ֆտալոցիանաատ նյութերի կոմպլեքսների առաջացման դեպքում: փաստելով կոմպլեքսների առաջացումը:

Վեցերորդ «Միջավայրի pH-ի և NaCl-ի ազդեցությունը ցերուլոպլազմինի հետ պորֆիրինների և մետաղապորֆիրինների կոմպլեքսների բնութագրերի վրա» բաժնում հեղինակը ցույց է տալիս միջավայրի pH-ից և NaCl-ի կոնցենտրացիայից կախված

ցերուլոպլազմինի հետ հետազոտվող պորֆիրինների կոմպլեքսների կլանման և ֆլուորեսցենտային սպեկտրերի, ինչպես նաև կոմպլեքսների մակերեսին ազատ պորֆիրինների կոնցենտրացիայի փոփոխություններ, ինչի հիման վրա ենթադրություն է արվում ցերուլոպլազմինի պորֆիրին տեղափոխող դերի վերաբերյալ:

«Կատիոնային պորֆիրինների, մետաղապորֆիրինների և ցերուլոպլազմինի հետ դրանց կոմպլեքսների ֆոտոգունազրկում» բաժնում ցույց է տրվել, որ լույսի ազդեցությամբ որոշ պորֆիրիններ գունազրկվում են: Լույսի ազդեցությամբ ցերուլոպլազմին-պորֆիրին կոմպլեքսներում տեղի է ունենում կլանման սպեկտրերի շեղումներ պայմանավորված կոնֆորմացիոն փոփոխություններով: Ուսումնասիրվել է նաև սպիտակուցա-պորֆիրինային կոմպլեքսների լույսի ազդեցությամբ գունազրկման արդյունքում էլեկտրաշարժունակության փոփոխությունները, բայց էական փոփոխություններ չեն գրանցվել:

«Կատիոնային Zn-պորֆիրիններով կոմպլեքսների ձևավորման ժամանակ ցերուլոպլազմինի օքսիդազային ակտիվությունը» բաժնում ցույց է տրվել, որ տարբեր պորֆիրիններով կոմպլեքսների առաջացման արդյունքում ցերուլոպլազմինի օքսիդազային ակտիվությունը էական փոփոխության չի ենթարկվում:

Եվ վերջապես 9-րդ «Ցերուլոպլազմինի և Zn-պորֆիրինների հետ նրա կոմպլեքսների HeLa բջիջների նկատմամբ *in vitro* ցիտոտոքսիկ և ֆոտոտոքսիկ ակտիվությունները» բաժնում ցույց է տրվել, որ ցերուլոպլազմինի հետ մետաղապորֆիրինների հետ կազմած կոմպլեքսներից առավել բարձր ցիտոտոքսիկ ակտիվություն է ցուցաբերում Ցերուլոպլազմին - Zn-TBut4PyP կոմպլեքսը: Ցույց է տրվել նաև, որ եթե *in vitro* պայմաններում HeLa բջիջների նկատմամբ ցերուլոպլազմինը ցիտոտոքսիկ չէ, ապա Zn-TBut4PyP-ը ցուցաբերում է որոշակի ցիտոտոքսիկություն, ինչը ավելի ցայտուն է դառնում ցերուլոպլազմինի հետ այդ մետաղապորֆիրինի կոմպլեքսի դեպքում:

Աշխատանքի «Եզրահանգում» մասը ներկայացված է 5 էջով, որտեղ հանգամանորեն քննարկվում և ի մի են բերվում ստացված արդյունքները և Լզրակացվում, որ հետազոտված պորֆիրիններն ու մետաղապորֆիրինները կարող են կիրառվել ֆոտոդինամիկ և հակաբակտերիալ ֆոտոդինամիկ թերապիաներում, իսկ ցերուլոպլազմինի հետ այդ պորֆիրինների ու մետաղապորֆիրինների կոմպլեքսները խորհուրդ է տրվում կիրառել քաղցկեղների ֆոտոդինամիկ թերապիայում:

Աշխատանքի եզրակացություններում սեղմ կերպով 5 կետում ամփոփված են ստացված արժեքավոր, հարուստ, խիստ այժմեական գիտական տվյալները:

Աննա Զաքոյանի ատենախոսությունը արդիական է, ստացված արդյունքները կարևոր գիտական և պրակտիկ հետաքրքրություն են ներկայացնում, ինչի մասին են վկայում տպագրված 13 գիտական հրապարակումները, որոնցից 6-ը հոդվածներ են, հրապարակված հանրապետական և միջազգային գիտական հանդեսներում:

Չնայած տեղ գտած որոշ տեխնիկական թերություններին և վրիպակներին, ատենախոսությունն ընդհանուր առմամբ լավ տպավորություն է թողնում: Այն գրված է կուռ տրամաբանությամբ, ստացված արդյունքների մեկնաբանությունները համոզիչ են: Այնուհանդերձ, պետք է նշել, որ այն գերծ չէ որոշ թերություններից, որոնք ամեննին էլ չեն նսեմացնում աշխատանքի գիտական և գործնական մեծ արժեքը: Մասնավորապես.

1. Ատենախոսությունում առկա են տառասխալներ և տեխնիկական սխալներ (103 էջ, վերևից 10 և 11 տողեր, 17-18 տողեր և 103 էջ, ներքևից 1-2 տողեր) :

2. Արդյունքների քննարկման 3.3.2 բաժնում նկ. 15-ում քննարկվում է լույսի էքսպոզիցիայի ժամանակից կախված ֆոտոզգայունացուցիչի հակաբակտերիալ ֆոտոդինամիկ ակտիվությունը Գրամ-դրական և Գրամ-բացասական բակտերիաների նկատմամբ, սակայն չի նշվում ֆոտոզգայունացուցիչի տեսակը:
3. Տրանսֆերին սպիտակուցի դեպքում ցույց է տրվել պորֆիրինների և մետաղապորֆիրինների հետ սպիտակուցի կայուն կոմպլեքսներ առաջացնելու ունակությունը, սակայն ֆոտոդինամիկ թերապիայի կամ հակաբակտերիալ ֆոտոդինամիկ թերապիայի առումով այդ կոմպլեքսները հետազայում ոչ մի ուշադրության չեն արժանացել: Ի՞նչն է պատճառը:

Չնայած նշված թերություններին, կարելի է հավաստել, որ կատարվել է կարևոր և կիրառական մեծ նշանակություն ունեցող աշխատանք, որն աչքի է ընկնում հարցերի համակարգային քննարկմամբ, արդյունքների վիճակագրական մշակմամբ, ստացված եզրահանգումների հիմնավորությամբ և մեր խորին համոզմամբ արժանի է բարձր գնահատականի:

Աննա Արթուրի Զաքոյանի ատենախոսությունն իր արդիականությամբ, դրույթների ճշտությամբ, ստացված տվյալների գիտա-պրակտիկ արժեքով համապատասխանում է ՀՀ ԲՈԿ-ի կողմից թեկնածուական ատենախոսություններին առաջադրվող պահանջներին, իսկ հայցորդը արժանի է Գ.00.04 «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի շնորհմանը:

Գրախոս՝ ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի
 Սպիտակուցային տեխնոլոգիաների
 լաբորատորիայի վարիչ, կ.գ.թ.



Ա.Ա. Համբարձումյան

Ա. Համբարձումյանի ստորագրությունը վավերացնում եմ՝
 ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի
 գիտական քարտուղար, կ.գ.թ.




Հ.Օ. Քոչոյան

12.07.2022