

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 212.166.21,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
АВТОНОМНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМ. Н.И.
ЛОБАЧЕВСКОГО» МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 16.05.2019 г. № 3

О присуждении Воловецкому Артуру Борисовичу, гражданину РФ,
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Комплексный анализ биораспределения борсодержащих конъюгатов аминоксидных производных хлорина еб в качестве агентов для бор-нейтронозахватной терапии» по специальности **03.01.02 – биофизика** принята к защите 19.02.2019, протокол № 1, диссертационным советом Д 212.166.21, созданным на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, приказ Минобрнауки РФ от № 1256/нк от 14.10.2016).

Соискатель, Воловецкий Артур Борисович, 1991 года рождения. Воловецкий Артур Борисович в 2013 г. окончил кафедру биофизики биологического факультета ФГБОУ ВПО «Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского». Воловецкий Артур Борисович с 2013 по 2017 гг. освоил программу подготовки научно-педагогических кадров в очной аспирантуре ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» по специальности «Биофизика» (год окончания — 2017). В настоящее время Воловецкий А.Б. занимает должность младшего научного сотрудника лаборатории оптической тераностики Центра биофизики Института биологии и биомедицины ННГУ им. Н.И. Лобачевского.

Диссертация выполнена на кафедре биофизики Института биологии и биомедицины федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».

Научный руководитель: Масленникова Анна Владимировна, доктор медицинских наук, профессор кафедры биофизики Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», профессор кафедры онкологии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России.

Официальные оппоненты:

Шарапов Марс Галиевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов рецепции Института биофизики клетки Российской академии наук – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

Романко Юрий Сергеевич, доктор медицинских наук, заведующий научно-организационным отделом, профессор отдела последипломного образования Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России

дали положительные отзывы на диссертацию.

В положительном отзыве официального оппонента к.б.н. Шарапова Марса Галиевича отмечено, что диссертационная работа Воловецкого Артура Борисовича «Комплексный анализ биораспределения борсодержащих конъюгатов аминоксидных производных хлорина еб в качестве агентов для бор-нейтронозахватной терапии» представляет собой актуальное, тщательно выполненное научное исследование, имеющее важное значение для биофизики. Работа отвечает требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842, а её автор Воловецкий Артур Борисович заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 — биофизика.

В качестве замечаний отмечено следующее:

1. В некоторых таблицах и рисунках (таблица 4, Рис.3, Рис.5а, Рис.6а, Рис.7б) химические структуры соединений представлены небрежно. Желательно было использовать программы для создания графического изображения химических структур, например, таких как ChemSketch, ChemDraw или другие аналоги.
2. В обзоре литературы (Глава 1, раздел 4) по смыслу не хватает сравнительного резюме по всем существующим подходам и методикам доставки бора в опухоль, особенно на каком этапе продвижения в клинику находятся те или иные группы.
3. В работе недостаточно данных о статистическом анализе. В некоторых подписях к рисункам отсутствуют данные о количестве использованных экспериментальных животных.
4. В материалах и методах, в разделе «2.3 Животные и опухолевая модель» следовало указать нормативно-правовые акты, регламентирующие вопросы содержания и использования лабораторных животных.

5. В работе присутствует незначительное количество опечаток и стилистических ошибок.

В положительном отзыве официального оппонента д.м.н. Романко Юрия Сергеевича отмечено, что диссертационная работа Воловецкого Артура Борисовича «Комплексный анализ биораспределения борсодержащих конъюгатов аминоксидных производных хлорина еб в качестве агентов для бор-нейтронозахватной терапии» является законченным исследованием, представляет решение актуальных задач бор-нейтронозахватной терапии. Тема диссертационной работы Воловецкого А.Б. соответствует паспорту специальности 03.01.02 – биофизика. Актуальность работы, научная новизна, объём полученных данных и уровень исследований, фундаментальная и практическая значимость результатов соответствует требованиям п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842, а ее автор Воловецкий Артур Борисович заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

В качестве замечаний отмечено следующее:

1. Представленные препараты образуют концентрацию бора до 1,5 мкг на грамм ткани в опухолевой ткани. Рекомендуемая терапевтическая доза бора-10 должна составлять ~ 30 мкг/гр опухоли, чтобы создавать достаточную в опухоли поглощенную дозу необходимую для гибели клеток за один сеанс облучения (это порядка 30-50 Гр-экв).
2. На рис.1 «Схема ядерной реакции в результате захвата нейтрона ядром ^{10}B » гамма-квант должен испускаться из ядра ^{10}B в результате его распада и выделение энергии связи ядра, а изотоп ^7Li является стабильным.
3. В приведенной на 15-ой стр. таблице говорится, что у ряда изотопов ^{113}Cd , ^{135}Xe , ^{149}Sm , ^{151}Eu , ^{155}Gd , ^{157}Gd , ^{147}Hf , гипотетически пригодных для НЗТ, сечение захвата нейтронов выше, чем у бора, но поглощение

нейтрона такими элементами приводит к образованию гамма-кванта. Однако на той же странице в табл. 2 сечение захватов нейтрона у ^{147}Nf меньше, чем у бора (561 против 3835 барн). Также следует отметить, что в 94% случаев (возможно, это и имелось в виду на 17-ой стр.) при поглощении ^{10}B нейтрона испускается гамма-квант.

4. Желательно было бы расписать реакции поглощения нейтронов ^{10}B и ^{11}B и привести данные о величине поглощения нейтронов отдельными изотопами бора. Если вышеприведённые изотопы отличаются величиной сечения поглощения нейтронов, то действительно ли то, что применение 100%-ой концентрации одного изотопа бора приведёт к повышению эффективности БНЗТ или к снижению необходимой терапевтической дозы $\text{Chl}(6)\text{B}$? (стр. 40-41).
5. На стр. 51. отмечается полное отсутствие накопления в коже борсодержащих конъюгатов производных хлорина еб различных концентраций. Это не соответствует рис. 16 (более подробно в следующем пункте).
6. Нигде не придаётся значения накоплению препаратов $\text{Chl}(2)\text{B}$, $\text{Chl}(6)\text{B}$ и $\text{Chl}(8)$ в коже. Как мы знаем, препараты хлоринового ряда накапливаются в эпителиальных клетках, содержание которых больше всего в коже. Тем более что, на рис. 16 видно, что при введении препарата в концентрации 10 мг/кг уровень флуоресценции в коже выше, чем в мышцах. Это означает, что соединения бора также будут накапливаться в эпителиальных оболочках органов и приводить к нежелательным последствиям в облучаемых нейтронами зонах. Дополнительно в рис. 16 необходимо добавить время, когда проводили флуориметрию, и при возможности желательно было бы привести таблицу, содержащую накопление препарата в различных органах по отношению ко времени (стр. 54).
7. На рис. 19 легенда и название рисунка не соответствуют друг другу (разные временные интервалы) (стр. 56).

8. На рис. 24 и 28, где указано время измерения флуоресценции (после 1, 3, 6 и 24 часов), показано, что накопление препарата Chl(6)В в дозе 10 мг/кг происходит в печени больше, чем в опухоли. В рис 16, где не указано время измерения флуоресценции, референсные значения накопления того же препарата и в той же концентрации больше в опухоли, чем в печени.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», г. Саратов, в своем положительном отзыве, подписанном Тучиным Валерием Викторовичем, профессором, заслуженным деятелем науки РФ, доктором физико-математических наук, заведующим кафедрой оптики и биофотоники, указала, что диссертационная работа Воловецкого А.Б. на тему: «Комплексный анализ биораспределения борсодержащих конъюгатов аминоксидных производных хлорина е6 в качестве агентов для бор-нейтронозахватной терапии», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 — биофизика, является законченной научно-квалификационной работой. Научные и практические положения работы можно квалифицировать как решение актуальной задачи в области фундаментальной и клинической онкологии. Методологический подход, научный уровень и объем проведенных исследований соответствуют современным требованиям к диссертационным работам на соискание степени кандидата биологических наук. Научные работы, опубликованные по теме диссертации, и автореферат полностью соответствуют основным положениям диссертационной работы. Таким образом, по актуальности, объему, уровню проведенных исследований и значимости полученных результатов, диссертация полностью соответствуют требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013

года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а сам автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика.

В качестве замечаний отмечено:

1. Следует отметить плохое качество рисунка 21, затрудняющее анализ структуры изученных образцов биологических тканей
2. В работе присутствует некоторое количество опечаток и стилистических погрешностей, затрудняющих ее чтение.
3. В диссертации отсутствует список опубликованных работ по теме диссертации.
4. На странице 52 отсутствует подпись рисунка 14 (она представлена только на следующей странице). Формат рисунков 14 и 30 является неоптимальным и затрудняет понимание.

Соискатель имеет 11 опубликованных работ по теме диссертации, из них 4 – статьи в рецензируемых научных изданиях (Web of Science, Scopus), рекомендованных ВАК, и 7 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях. Опубликованные работы посвящены комплексному анализу новых борированных соединений хлоринового ряда для задач бор-нейтронозахватной терапии. Общий объем научных изданий по теме диссертации составляет 37 страниц, а авторский вклад соискателя составляет более 70%. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные результаты диссертации, в диссертации Воловецкого А.Б. отсутствуют.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Skalyga V., Izotov I., Golubev S., Razin S., Sidorov A., Maslennikova A., **Volovecky A.**, Kalvas T., Koivisto H., Tarvainen O. Neutron generator for BNCT based on high current ECR ion source with gyrotron plasma heating. Appl Radiat Isot. 2015. V.106. P. 29–33.
2. **Воловецкий А.Б.**, Шилягина Н.Ю., Дуденкова В.В., Пасынкова С.О., Игнатова А.А., Миронов А.Ф., Грин М.А., Брегадзе В.И., Феофанов А.В.,

Балалаева И.В., Масленникова А.В. Изучение тканевого распределения потенциальных агентов для бор-нейтронозахватной терапии на основе конъюгатов аминоксидных производных хлорина е6 с наночастицами бора. Биофизика. 2016. Т.61. №1. С. 158–164.

3. **Воловецкий А.Б.**, Шилягина Н.Ю., Дуденкова В.В., Пасынкова С.О., Грин М.А., Миронов А.Ф., Феофанов А.В., Балалаева И.В., Масленникова А.В. Исследование биораспределения конъюгата аминоксидного производного хлорина е6 с наночастицей бора для задач бор-нейтронозахватной терапии. Современные Технологии в Медицине. 2016. Т.8. №2. С. 34–40.

4. **Volovetsky A.B.**, Sukhov V.S., Balalaeva I.V., Dudenkova V.V., Shilyagina N.Y., Feofanov A.V., Efremenko A.V., Grin M.A., Mironov A.F., Sivaev I.B., Bregadze V.I., Maslennikova A.V. Pharmacokinetics of Chlorin e6-Cobalt Bis(Dicarbollide) Conjugate in Balb/c Mice with Engrafted Carcinoma. Int J Mol Sci. 2017. V.18. №12. pii: E2556.

Указанные публикации входят в перечень ВАК и международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus.

На диссертацию и автореферат поступило 4 отзыва, все положительные, в 3-х содержатся замечания. В отзывах указывается, что представляемая работа представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, выполнена на высоком теоретическом и экспериментальном уровне, обладает несомненной научной новизной и практической значимостью, полностью соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии. Отзывы получены из:

1. ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук», за подписью кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории биофотоники Орловой Анны Геннадьевны, без замечаний.
2. ФГБУН «Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева Российской академии наук», за подписью кандидата химических наук,

заведующего сектором хромофорных соединений для медицины Отдела функциональных материалов Клапшиной Ларисы Григорьевны, в качестве замечаний было отмечено:

1) в подписи к рисунку 1 отсутствует пояснение и расшифровки структур в борном кластере (черные, белые и серые шарики).

3. ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова», за подписью доктора медицинских наук, заведующего радиотерапевтическим отделением Сокуренок Валентины Петровны, в качестве замечаний было отмечено:

1) В тексте автореферата отсутствует краткое описание литературного обзора диссертации. Однако основные моменты необходимые для понимания проблематики данного исследования присутствуют во введении и непосредственно в тексте автореферата.

2) Присутствует умеренное количество опечаток и стилистических неточностей.

4. ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, за подписью кандидата медицинских наук, старшего научного сотрудника научно-исследовательского отдела инновационных технологий радиотерапии и химиолучевого лечения злокачественных новообразований Слобиной Елены Леонидовны, в качестве замечаний было отмечено:

1) На странице 18 приводится такая формулировка: «Визуальный анализ микроскопических изображений нормальных органов и тканей животных показал значительную избирательность накопления исследуемых соединений, похожую для всех трех соединений. Такое распределение соответствует данным фармакокинетики, полученным для препаратов хлоринового ряда». Однако далее оказывается, что соединение с двумя CH_2 -группами в линкере практически не накапливается в опухолевой

ткани. Автор нечетко сформулировал мысль, хотя далее конечный смысл становится понятен.

- 2) Опечатка в подписи рисунка 9. Вместо «демонстрирующее» необходимо «демонстрирующие».
- 3) В тексте встречаются пунктуационные неточности, что нарушает ритм чтения.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их соответствием критериям требований, изложенных в пп. 22 и 24 «Положения о присуждении ученых степеней» (утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842): их компетентностью по заявленной в диссертации специальности, наличием профильных публикаций по проблеме диссертационного исследования и способностью объективно оценивать актуальность темы диссертации, а также достоверность, теоретическую значимость и научно-практическую ценность полученных в работе результатов (сведения о них размещены на официальном сайте «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (<https://diss.unn.ru/889>)).

Диссертационный совет отмечает, что в результате выполненных соискателем исследований:

- **выявлены** особенности биораспределения и фармакокинетики конъюгатов бис(дикарболлид)а кобальта и производных хлорина еб с длиной аминоалкиламидного линкера $n=2,6,8$; для соединения с длиной линкера $n=6$ выявлена зависимость выхода препарата в ткани от времени и рассчитан период полувыведения из крови (около 45 минут);
- **показано** соответствие данных относительно содержания борированного соединения (Chl(6)B) в тканях, полученных на основе количественного анализа флуоресценции соединения, и данных, полученных прямым методом определения концентрации бора, что может быть в дальнейшем использовано в предклинических и клинических исследованиях по БНЗТ;

- **впервые построена и решена** простая многокамерная модель, которая описывает фармакокинетику соединения $\text{Chl}(6)\text{B}$ в течение 30 часов в крови, мышцах, опухоли и печени, определены константы процессов обмена препарата между этими тканями; показано хорошее соответствие модели экспериментальным данным.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **результативно использованы** разработанные в ходе работы методики по изучению биораспределения новых борсодержащих агентов, определены оптимальные условия визуализации флуоресцентного сигнала для микроскопического исследования биораспределения борсодержащих соединений;

- **представлены** данные, существенно дополняющие современные знания о биораспределении новых борсодержащих агентов на основе хлорина еб;

- **обосновано** использование конъюгатов бис(дикарболлид)а кобальта и производных хлорина еб в качестве «тераностических» агентов, несущих как диагностический (хлориновая часть), так и терапевтический (борная часть) модуль;

- **продемонстрировано** влияние длины аминоклиламидного линкера на биораспределение борсодержащих соединений.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- разработанная математическая модель **позволяет предсказывать** динамику биораспределения исследуемого соединения при изменении дозы препарата, что открывает перспективы расчета концентрации соединения в органе-мишени по концентрации соединения в плазме. Модель может быть применена и для других соединений данного класса;

- **разработаны и апробированы** методики изучения биораспределения новых борсодержащих производных хлоринов в организме, которые могут быть в дальнейшем использованы для разработки и апробации препаратов данного класса для задач БНЗТ;

- **определены перспективы** использования результатов работы, которые могут быть применены для доклинических испытаний препаратов для борнейтронозахватной терапии; основные результаты работы могут быть включены в соответствующие разделы спецкурсов и лекций общего курса по биофизике, биомедицине и физиологии человека и животных.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- **в экспериментальной работе** использованы современные, широко апробированные надежные методы, данные получены с использованием сертифицированного оборудования в ходе корректно поставленных *in vivo* и *ex vivo* экспериментов и обработаны с помощью лицензионного программного обеспечения; результаты работы воспроизводимы, опыты проведены с использованием 41 мыши линии Balb/c, выводы сделаны на основе большого объема экспериментального материала;
- **теория** опирается на общие биофизические принципы и закономерности и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;
- **идея** работы базируется на анализе и обобщении теоретических и практических предпосылок о механизмах и закономерностях распределения в организме препаратов хлоринового ряда;
- использованы стандартные базовые методы сбора и статистического анализа полученных результатов;
- **установлено**, что результаты работы не противоречат современным знаниям в области радиационной биофизики и в области флуоресцентного биоимиджинга, согласуются с данными других авторов, дополняют и расширяют их.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в проведении экспериментов на всех этапах работы, включая планирование и литературный анализ, подготовку и выполнение прижизненных и *ex vivo* опытов, освоение новых методов исследования с использованием современного оборудования, сбор и количественную обработку полученных

