

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию  
Готфрид Людмилы Геннадьевны  
«Перспективные ингибиторы репродукции ВИЧ на основе  
модифицированных олигонуклеотидов и химически синтезированных  
соединений» представленной на соискание  
ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.10 – Вирусология

### Актуальность диссертационного исследования

В настоящее время число людей, живущих с ВИЧ, превышает 40 миллионов человек, при этом антиретровирусную терапию получают лишь около 30 миллионов человек. Несмотря на значительные успехи в области антиретровирусной терапии, проблема лечения ВИЧ-инфекции сохраняет свою острую актуальность. Как справедливо отмечает автор во введении, современные схемы лечения, даже будучи высокоэффективными, не позволяют полностью элиминировать вирус из организма вследствие формирования латентных резервуаров, что требует пожизненного приема препаратов. Более того, высокая мутационная изменчивость ВИЧ-1 приводит к постоянному возникновению резистентных штаммов.

Современная ситуация с распространенным на территории России и стран Восточной Европы суб-субтипа А6 ВИЧ-1 вызывает тревогу. Данный генетический вариант, как показано в последних международных исследованиях, демонстрирует повышенный риск устойчивости к новым препаратам длительного действия. Таким образом, изучение противовирусной активности новых соединений на штамме суб-субтипа А6 является важным для разработки эффективных стратегий лечения в Российской Федерации.

Диссертационная работа Л. Г. Готфрид посвящена решению фундаментальной проблемы – необходимости расширения спектра антиретровирусных препаратов и направлена на комплексное изучение противовирусной активности модифицированных олигонуклеотидов и новых синтетических и природных соединений против ВИЧ-1 на модели *in vitro*. Научная актуальность диссертации заключается не только в изучении и сравнении способности различных молекул ингибировать репродукцию ВИЧ-1, но в глубоком исследовании клеточной интернализации исследуемых олигонуклеотидов в зависимости от химической модификации их остова. Разработка подобных инновационных терапевтических платформ прямого действия не только открывает новые перспективы в борьбе с ВИЧ-1, но и

закладывает научно-практический фундамент для развития таргетной терапии широкого спектра социально значимых заболеваний.

### **Научная новизна исследования и полученных результатов**

В ходе работы диссертационного исследования Л.Г. Готфрид существенно расширены фундаментальные представления о механизмах направленного подавления репликации ВИЧ-1 с помощью химически модифицированных антисмысловых олигонуклеотидов. Обоснован выбор и доказана возможность использования высоко консервативных участков генома ВИЧ-1 в качестве новых молекулярных мишеней для высокоспецифичного олигонуклеотид-направленного воздействия. Людмилой Геннадьевной осуществлено исследование антиретровирусных свойств LNA-олигонуклеотидов и экспериментально показана зависимость потенциала блокирования репликации ВИЧ-1 от пространственной локализации LNA-модификации (по 3'- или 5'-концу нуклеотидной последовательности). Кроме того, продемонстрирована способность олигонуклеотидов усиливать противовирусную эффективность при их использовании в виде комбинаций. Благодаря комплексному использованию методов конфокальной микроскопии и проточной цитометрии с визуализацией (Imaging Flow Cytometry) получены данные о высокой эффективности интернализации модифицированных LNA/тиофосфат-олигонуклеотидов. Показан факт их гомогенного распределения в цитоплазматическом пространстве целевых лимфоидных клеток, что снимает базовое технологическое ограничение для конструирования терапевтических средств на их основе.

В работе проведено исследование антиретровирусной активности производного 2,4,5-тризамещенного пиримидина и производных цис-аннелированного пирролидина с различными химическими модификациями. Для двух соединений выявлена антиретровирусная активность, что указывает на перспективность их дальнейшего исследования в качестве основы для новых анти-ВИЧ агентов.

По результатам диссертации опубликовано 16 работ: в том числе 5 статей в журналах, индексируемых в базах РИНЦ, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для защиты диссертаций, 11 тезисов докладов на всероссийских и международных конференциях. Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на 2 международных и 2 всероссийских конференциях различного уровня.

## **Структура и общая характеристика диссертационной работы**

Диссертация Л.Г. Готфрид построена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Текст диссертации изложен на 156 страницах, включает 56 иллюстраций и 13 таблиц. Список литературы включает 187 источников.

В разделе «Введение» определена актуальность темы исследования, обозначены степень разработанности темы исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, а также представлены цель и задачи исследования и положения, выносимые на защиту.

В Главе 1 «Обзор литературы» описан вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1): строение вириона и структура генома ВИЧ-1, цикл его репликации. Кратко описана история разработки препаратов антиретровирусной терапии, приведены все группы препаратов, применяющиеся на сегодняшний день и перспективные пути поиска новых подходов к лечению ВИЧ-инфекции.

В Главе 2 «Материалы и методы» описана культура клеток и вирусный материал, использованный в работе, а также все методы, применяемые в исследовании, в том числе статистическая обработка данных.

В Главе 3 «Результаты собственных исследований» детально отражены результаты, полученные в работе, и проведены их анализ и интерпретация. Глава 3 фактически состоит из трех блоков исследований. Первый блок посвящен исследованию модифицированных олигонуклеотидов. Описан выбор мишеней в геноме ВИЧ-1, последовательно изучены и описаны антиретровирусная активность и цитотоксичность исследованных препаратов и клеточная интернализация для олигонуклеотидов с различными химическими модификациями остова. Проведено исследование антиретровирусной активности комбинаций олигонуклеотидов. Во втором блоке описано скрининговое исследование природных соединений и показано отсутствие их антиретровирусной активности. В третьем блоке представлены результаты проведенного исследования антиретровирусной активности и цитотоксичности химических соединений, направленно синтезированных на основе теоретически рассчитанных структур. Показано наличие способности ингибировать репродукцию ВИЧ-1 для соединения 2,4,5-тризамещенного пиримидина и цис-аннелированного пирролидина.

В Главе 4 «Обсуждение результатов» автор подробно описывает полученные результаты, структура изложения информации выстроена логично, включает обсуждение данных по биоинформатическому отбору мишеней ВИЧ-1, анализ эффективности различных модификаций олигонуклеотидов и оценку их сочетанного воздействия. Высокий

методологический уровень подкрепляется детальным анализом внутриклеточной локализации и динамики проникновения агентов с использованием конфокальной микроскопии и проточной цитометрии.

Далее следуют Выводы и Заключение, в которых автор обобщает полученные результаты проделанной работы. Переход к выводам логически обоснован. Положения, выносимые на защиту, и выводы полностью соответствуют поставленным задачам и полученным данным.

Диссертация отвечает требованиям, предъявляемым к научной специальности 1.5.10 «Вирусология» (биологические науки). Её содержание соответствует пунктам 10 и 11 паспорта специальности.

### **Значение полученных соискателем результатов исследования для развития соответствующей отрасли науки**

Результаты диссертационной работы Л. Г. Готфрид имеют существенное научно-теоретическое значение и вносят фундаментальный вклад в развитие экспериментальной вирусологии, а также в методологию направленного дизайна противовирусных (антиретровирусных) препаратов нового поколения. К числу ключевых элементов, определяющих высокую фундаментальную ценность проведенного исследования, можно отнести развитие концепции ген-направленной терапии, а именно отбор функционально важных высоко консервативных участков генома ВИЧ-1. Это расширяет существующие теоретические представления о доступности структуры вирусных нуклеиновых кислот для олигонуклеотид-направленного воздействия. В работе обосновано и экспериментально показано, что антиретровирусная эффективность исследуемых агентов является многофакторной величиной. Она зависит не только от первичной комплементарной мишени нуклеотидной последовательности, но и от особенностей химической модификации остова молекулы. Полученные соискателем результаты убедительно подтверждают фундаментальную необходимость комплексного дизайна лекарственных молекул. Теоретические выводы диссертации существенно углубляют понимание процессов внутриклеточного транспорта модифицированных олигонуклеотидов и могут служить фундаментальной основой для моделирования аналогичных систем доставки нуклеиновых кислот при конструировании препаратов для лечения иных социально значимых вирусных заболеваний и генетических патологий.

Значимым прикладным итогом исследования является обнаружение способности производного 2,4,5-тризамещенного пиримидина ингибировать репродукцию ВИЧ-1, что позволяет рекомендовать его в качестве

перспективного базового соединения для разработки на его основе нового не нуклеозидного ингибитора ВИЧ-1.

### **Замечания**

Принципиальных замечаний по структуре и оформлению диссертации нет. В качестве замечаний можно отметить:

1. Несущественные опечатки и грамматические ошибки;
2. Весь объем исследований противовирусной активности выполнен на одном высокопродуктивном штамме ВИЧ-1 суб-субтипа А6 и преимущественно на клеточной линии МТ-4. Выбранная модель хорошо соответствует задачам диссертационной работы, однако распространение полученных выводов на генетическое разнообразие ВИЧ-1 требует дальнейшей проверки на дополнительных клинических изолятах и первичных клеточных культурах.

3. Возникает вопрос о механизме действия олигонуклеотидов. В работе показана высокая антиретровирусная активность PS-модифицированных олигонуклеотидов. Однако данная активность может быть связана не только с гибридизацией олигонуклеотидов с вирусной РНК, но и с неспецифическим связыванием олигонуклеотидов с белками вируса или клетки, либо с активацией противовирусных клеточных механизмов. Для полноты картины было бы полезно в будущем провести эксперименты, проясняющие этот вопрос.

Приведенные замечания носят дискуссионный характер и не уменьшают научную и практическую значимость диссертационной работы Л.Г. Готфрид.

### **Достоверность полученных результатов**

Достоверность результатов, представленных в диссертационной работе, не вызывает сомнений. Она обеспечена использованием современных и хорошо апробированных методик (ИФА, МТТ-тест, конфокальная и проточная цитометрия), большим объемом экспериментальных данных, многократным повторением экспериментов и корректной статистической обработкой с применением параметрических критериев для оценки значимости различий. Исследование выполнено на сертифицированных клеточных линиях и вирусном материале, депонированном в государственной коллекции.

Научные положения, выносимые на защиту, являются логичным следствием полученных экспериментальных данных. Выводы диссертации сформулированы четко, они обоснованы и соответствуют поставленным задачам. В частности, выводы о превосходстве фосфотиоатной модификации,

эффективности комбинаций олигонуклеотидов и перспективности соединения ВВ 0284050 напрямую следуют из представленных данных.

В целом, можно констатировать, что совокупность результатов исследования представляет собой существенное научное достижение. Автором не только выполнена масштабная работа по скринингу и отбору перспективных ингибиторов, но и проведено глубокое фундаментальное исследование механизмов их клеточной интернализации.

### Заключение

Диссертационная работа Готфрид Людмилы Геннадьевны «Перспективные ингибиторы репродукции ВИЧ на основе модифицированных олигонуклеотидов и химически синтезированных соединений», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология, представляет собой завершенную научно-квалификационную работу, в которой поставлена актуальная задача по поиску и исследованию новых потенциальных ингибиторов репродукции ВИЧ-1.

Актуальность темы, объем выполненных экспериментальных исследований, высокий уровень выполненных работ, методический уровень, научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов диссертационной работы полностью отвечают требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Готфрид Людмила Геннадьевна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 - Вирусология.

В.н.с лаборатории молекулярной микробиологии  
ИХБФМ СО РАН,

д.б.н. Игорь Викторович Бабкин  
e-mail: babkin@l1bio.ru Тел. +7 (383)363-51-57

06.10.2026

Подпись И.В. Бабкина заверяю  
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН к.б.н.



И.В. Бабкин



Е. Б. Логашенко

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), Новосибирск, 630090, пр-т академика Лаврентьева, д.8. Тел. +7(383)363-51-50; e-mail: niboch@l1bio.ru