

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

МАДОНОВА ПАВЛА ГЕННАДЬЕВИЧА

на диссертационную работу 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 темы выполненной работы

ВИЧ-инфекция по-прежнему остаётся одной из самых серьёзных проблем, с которыми сталкивается мировое здравоохранение. К концу 2025 года в мире насчитывалось более 40 миллионов людей, живущих с ВИЧ. Несмотря на усилия по профилактике и лечению, смертность и количество новых случаев заражения остаются высокими. В некоторых регионах мира наблюдается тенденция к увеличению числа новых случаев инфицирования. В ряде стран, включая Россию, ВИЧ-инфекция занимает одно из лидирующих мест среди инфекционных причин смертности населения. Изучение ВИЧ-инфекции и создание новых антиретровирусных препаратов по-прежнему имеют большое значение из-за её значительного влияния на общественное здоровье, экономику и демографию.

В диссертационном исследовании Л.Г. Готфрид справедливо отмечается, что существенный прогресс в разработке и клиническом применении препаратов антиретровирусной терапии позволяет добиться эффективного подавления репродукции вируса до неопределяемого уровня, что радикально увеличило продолжительность и качество жизни пациентов. Вместе с тем автор обоснованно указывает на обратную сторону этой проблемы: высокая генетическая изменчивость вируса в сочетании с факторами низкой приверженности пациентов к лечению создают серьёзные предпосылки для селекции и последующего распространения лекарственно-

устойчивых вариантов ВИЧ, что подчеркивает несомненную актуальность исследования.

Также весомым достоинством работы является проведение исследования антиретровирусной активности на суб-субтипе А6 ВИЧ-1, так как он является доминирующим на территории России. Проверка потенциальных препаратов на живой модели этого конкретного штамма имеет большое научное и практическое значение.

Степень обоснованности и достоверность выносимых на защиту положений, научных выводов и заключений, сформулированных в диссертации

Положения, выносимые на защиту, выводы и заключение в представленной диссертационной работе получены с помощью классических вирусологических и молекулярно-биологических методов и обоснованы с применением статистических методов обработки.

В исследовании Людмилы Геннадьевны детально изучена противовирусная активность олигонуклеотидов. Автор наглядно показала, как их эффективность зависит от химической модификации, выбранной мишени в геноме ВИЧ-1, а также от того, применяются они поодиночке или в комбинациях. Кроме того, в работе подробно описано, как именно различные модификации влияют на способность олигонуклеотидов проникать в лимфоидные клетки человека. Важным практическим результатом стало обнаружение новых соединений (среди производных пиримидина и арилпирролкарбоновой кислоты), которые успешно подавляют размножение ВИЧ-1 в экспериментах *in vitro*. Надежность и достоверность всех выводов не вызывают сомнений: эксперименты поставлены методически грамотно, а все данные прошли корректную статистическую обработку.

По результатам диссертации опубликовано 16 публикаций, 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: Международной конференции «2022 International Conference on Biotechnology and Bioengineering (12th ICBV)», в онлайн-формате (г.Позцуоли, Италия, сентябрь, 2022); Конгресс с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность - 2023» (Москва, апрель, 2023); X Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания»-2023 (Сочи, ноябрь, 2023); XI Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Социально-значимые и особо опасные инфекционные заболевания»-2024 (Сочи, ноябрь, 2024).

Структура и общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Готфрид Людмилы Геннадьевны имеет традиционную структуру и включает «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Заключение», «Список используемых сокращений», «Список использованных источников» и «Приложения 1». Изложена на 156 страницах, содержит 56 рисунков и 13 таблиц. Список использованных источников состоит из 187 публикаций, из которых 13 — на русском языке, а 164 — на иностранном языке.

В главе «Введение» Людмилой Геннадьевной обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, указаны положения, выносимые на защиту, раскрыта теоретическая и практическая значимости, степень достоверности и апробация результатов.

Обзор литературы включает две главы. Первый раздел содержит хорошо структурированные материалы о ВИЧ (структура вирусной частицы, геном вируса, жизненный цикл и современная антиретровирусная терапия). Второй раздел посвящен потенциальным ингибиторам ВИЧ и современному подходу в генотерапии инфекционных заболеваний. Описаны современные

научные источники, посвященные применению модифицированных олигонуклеотидов и их химические модификации, используемые на сегодняшний день для лечения различных заболеваний.

В разделе «Материалы и методы» достаточно подробно описаны использованные в работе вирус, линии клеток и методы. Исследование проведено на высоком методическом уровне с использованием современных подходов: вирусологических, молекулярно-биологических, микроскопических и статистических. Методы выбраны адекватно и соответствуют поставленным задачам.

Глава «Результаты собственных исследований» содержит данные о противовирусной активности олигонуклеотидов, подвергаемых последовательным химическим модификациям с учетом оценки их способности ингибировать репликацию ВИЧ-1. Автором были выявлены различия в показателях 50%-й ингибирующей ВИЧ концентрации олигонуклеотидов в зависимости от выбранной мишени в геноме ВИЧ-1 и химической модификации их остова. Важно отметить, что оценка противовирусной активности комбинаций олигонуклеотидов, направленных на разные участки генома ВИЧ-1, показала усиление подавления репродукции вируса. Полученные данные свидетельствуют о возможности комбинированного применения олигонуклеотидов, что важно для клинической практики, учитывая мутационную изменчивость ВИЧ при АРТ.

Для наиболее перспективных модификаций олигонуклеотидов была изучена их интернализация с помощью современных методов иммуноферментного анализа, конфокальной микроскопии и проточной цитометрии с визуализацией. Использование автором комплексного методического подхода позволило получить новые знания о клеточной интернализации олигонуклеотидов, несущих различные химические модификации. Полученные Людмилой Геннадьевной данные по способности модифицированных олигонуклеотидов проникать в клетки человека

открывают новые горизонты для разработки инновационных подходов к лечению не только вирусных, но и генетических заболеваний человека.

Полученные результаты противовирусной активности и цитотоксичности новых химически синтезированных соединений позволило выявить молекулы, способные эффективно блокировать репродукцию ВИЧ-1. Одно из соединений относится к новой группе ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы, что делает крайне актуальным развитие исследований по созданию на его основе нового российского препарата для лечения ВИЧ-инфекции.

В разделе «Обсуждение результатов» и «Заключение» автор аргументировано и глубоко описывает полученные результаты проведенного исследования, сравнивая его с известными литературными данными.

Работа написана лаконично, грамотно и охватывает широкий пласт знаний по исследуемой теме. 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 диссертации Л.Г. Готфрид вносят весомый вклад в экспериментальную и молекулярную вирусологию, а также в разработку новых лекарств против ВИЧ. С научной точки зрения очень важно, что автор смогла правильно выбрать наиболее консервативные участки генома вируса в качестве мишеней для воздействия. Работа убедительно показывает: эффективность молекулы зависит не только от точного попадания в цель, но и от химической структуры.

Выполненное исследование представляет собой фундаментальную работу, которая позволила получить новые данные не только о анти-ВИЧ активности различных соединений, но и содержит полученные результаты по интернализации, что открывает новые горизонты для разработки

инновационных подходов к лечению не только вирусных, но и генетических заболеваний человека.

Важным практическим результатом работы стало обнаружение активности соединения ВВ 0284050 (производного 2,4,5-тризамещенного пиримидина) и ингибитора проникновения ВВ 0274001 (производного 5-арилпирролкарбоновой кислоты). Автором получен индекс селективности данных соединений и полученный результат позволяет рассматривать вещества как основу для создания новых противовирусных препаратов.

Автором проведен скрининг 98 природных соединений и протестировала ряд модифицированных вариантов цис-аннелированного пирролидина, однако ожидаемого противовирусного эффекта у них обнаружено не было. Этот результат также ценен, поскольку позволяет сразу отсеять неэффективные химические структуры. Полученные результаты могут быть учтены другими исследователями при дальнейшем поиске связи между структурой молекулы и её противовирусной активностью.

Важно отметить, что современный международный опыт клинического применения антиретровирусной терапии доказывает, что существует специфика лечения ВИЧ-инфекции, вызванной отдельными геновариантами вируса. В частности, показано, что российский геновариант А6 ВИЧ-1 менее чувствителен к новым препаратам пролонгированного действия, которые только начинают использоваться в мире. Это подчёркивает необходимость изучения противовирусной активности новых разрабатываемых препаратов именно на российских штаммах ВИЧ, что и было сделано в настоящей работе.

Замечания

В тексте диссертации встречаются единичные опечатки. Принципиальные замечания отсутствуют, тем не менее, возникло 2 вопроса и 1 замечание, которые следует обсудить на защите диссертации:

1. Вопрос: применение методов микроскопии и проточной цитометрии с визуализацией позволило Вам убедительно доказать равномерное

распределение LNA-олигонуклеотидов в цитоплазме клеток. А проводилась ли время-зависимая оценка стабильности этих модифицированных молекул внутри клетки, долго они сохраняются в цитоплазме в недеградированном (активном) состоянии после проникновения?

2. Вопрос: Вы установили, что использование тиофосфатных модификаций и додецил-содержащих производных в одной транспортной конструкции (FAM-ON/DON) позволяет олигонуклеотидам проникать не только в ядро клетки, но и в ядрышко. Будет ли данная композиция потенциально негативно влиять на пролиферацию клеток, на эмбриональную токсичность, канцерогенность?
3. Замечание: в сущности, выполненная работа отражает первичные фармакодинамические свойства изучаемых соединений. Вам следовало соединения-лидеры позиционировать, как прототипы лекарственных препаратов с краткой характеристикой их физико-химических свойств.

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 завершённую научно-квалификационную работу, в которой поставлена актуальная задача по поиску и исследованию новых потенциальных ингибиторов репродукции ВИЧ-1.

Диссертация и автореферат полностью соответствуют критериям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 №

650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Готфрид Людмила Геннадьевны, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 - Вирусология.

Заведующий кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины (фармацевтический факультет) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор

Павел Геннадьевич Мадонов

«24» сентября 2026 г.

Подпись Мадонова Павла Геннадьевича заверяю:

Ученый секретарь Ученого совета ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор

Марина Федоровна Осипенко

«25» сентября 2026 г.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 630091, Сибирский федеральный округ, Новосибирская обл., г. Новосибирск, Красный проспект, дом 52, E-mail: kaffarm@yandex.ru; тел:+7(383) 236-09-02