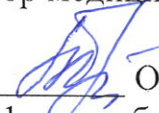




«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН Хабаровский
НИИ эпидемиологии и
микробиологии
Роспотребнадзора,
доктор медицинских наук

 О.Е. Троценко
«11» сентября 2026 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
на диссертацию Готфрид Людмилы Геннадьевны «Перспективные
ингибиторы репродукции ВИЧ на основе модифицированных
олигонуклеотидов и химически синтезированных соединений»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 1.5.10 – Вирусология

Актуальность темы исследования

ВИЧ-инфекция продолжает оставаться одной из наиболее социально-значимых инфекционных болезней человека в большом количестве стран мира. Существенный прогресс в разработке, применении и увеличении охвата антиретровирусной терапией позволил эффективно подавлять репродукцию вируса до неопределяемого значения, значительно увеличивать продолжительность и качество жизни пациентов. Но высокая генетическая изменчивость вируса и случаи низкой приверженности пациентов к антиретровирусной терапии создают предпосылки для возникновения и распространения лекарственно-устойчивых вариантов ВИЧ. Накопленные данные о вирусологических неудачах терапии, а также о генетически обусловленных различиях в чувствительности отдельных вариантов ВИЧ-1 к антиретровирусным препаратам свидетельствует о сохраняющейся необходимости поиска соединений с новыми механизмами противовирусного действия.

Данная проблема имеет особое значение для Российской Федерации, так как особенности распространения ВИЧ-1 и рост регистрации инфекций, вызванных первично резистентными вирусами, делает актуальным поиск новых препаратов, эффективных в отношении специфических российских штаммов ВИЧ-1. На территории РФ доминирующим генетическим вариантом ВИЧ-1

является суб-субтип А6, в связи с чем исследование потенциальных ингибиторов репродукции на модели инфекционного ВИЧ-1 суб-субтипа А6 имеет научное и практическое значение.

Одним из перспективных направлений поиска новых средств борьбы с ВИЧ-инфекцией может являться использование терапевтических олигонуклеотидов. Поиск оптимального сочетания вирусной мишени, нуклеотидной последовательности и химической модификации остова является важной самостоятельной задачей современной молекулярной вирусологии.

Не менее актуальным направлением является исследование новых низкомолекулярных химически синтезированных соединений, способных воздействовать на различные этапы репродуктивного цикла ВИЧ-1. Систематический экспериментальный скрининг таких веществ на модели инфекционного вируса позволяет как выявлять перспективные структуры, так и исключать соединения, для которых теоретически прогнозируемая активность не подтверждается уже на этапе *in vitro* исследований.

Диссертационная работа Л.Г. Готфрид объединяет указанные направления. Автором проведен последовательный поиск ген-направленных модифицированных олигонуклеотидов, исследованы их противовирусная активность, цитотоксичность и внутриклеточная интернализация, изучено действие комбинаций олигонуклеотидов, а также выполнен скрининг природных и химически синтезированных соединений.

Существенно, что оценка антиретровирусного действия выполнена с использованием высокопродуктивного штамма ВИЧ-1 суб-субтипа А6, выделенного от российского пациента.

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 работе Людмилы Геннадьевны показаны различия антиретровирусной активности олигонуклеотидов в зависимости от химической модификации остова, мишени в геноме ВИЧ-1 и при использовании олигонуклеотидов в виде комбинаций или моно-соединения. Глубоко изучены и описаны различия в

способности олигонуклеотидов проникать и распределяться в лимфоидных клетках человека в зависимости от их модификации. Выявлены соединения в группах пиримидина и арилпирролкарбоновой кислоты, способные подавлять репродукцию ВИЧ-1 на модели *in vitro*. Достоверность полученных в диссертационной работе данных подтверждена корректной постановкой всех экспериментов и статистической обработкой полученных результатов.

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. Поццуоли, 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 Л.Г. Готфрид построена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение результатов», заключения, выводов, списка используемых сокращений и списка литературы.

Работа изложена на 156 страницах машинописного текста, иллюстрирована 56 рисунками и содержит 13 таблиц. Библиографический список включает 187 источников.

Во «Введении» Людмилой Геннадьевной обоснована актуальность исследования, охарактеризована степень разработанности проблемы, сформулированы цель и задачи работы, представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, сведения о достоверности и апробации результатов и личном вкладе автора.

Цель диссертационной работы состоит в изучении способности модифицированных ген-направленных олигонуклеотидов и химически синтезированных соединений блокировать репродукцию ВИЧ-1 и исследовании интернализации перспективных ингибиторов вируса. Поставленные задачи соответствуют цели и последовательно охватывают выбор мишеней, экспериментальный отбор химических модификаций, изучение внутриклеточного проникновения наиболее перспективных конструкций и скрининг низкомолекулярных соединений.

В главе «Обзор литературы» рассмотрены строение и организация генома ВИЧ-1, основные этапы жизненного цикла вируса, приводится информация о современной антиретровирусной терапии и ее молекулярных мишенях. Значительное внимание уделено препаратам на основе модифицированных олигонуклеотидов, механизмам антисмыслового воздействия и влиянию различных химических модификаций на стабильность, доставку и взаимодействие с мишенью в геноме вируса. Отдельно рассмотрены природные соединения и их химически синтезированные производные как источники потенциальных противовирусных средств. Обзор литературы логически связан с экспериментальной частью работы и обосновывает выбор основных направлений исследования.

В главе «Материалы и методы» приведена характеристика используемой лимфоидной клеточной культуры МТ-4 и высокопродуктивного штамма ВИЧ-1 суб-субтипа А6. Описаны методы, использованные в диссертационной работе (изоляция мононуклеаров периферической крови из цельной крови, постановка ИФА для определения концентрации белка р24 ВИЧ, МТТ-тесты для оценки цитотоксичности и противовирусного действия, конфокальная микроскопия, проточная цитометрия с визуализацией), и методы статистической обработки. Представленное описание позволяет в целом оценить дизайн и воспроизводимость основных этапов исследования.

В главе «Результаты собственных исследований» материал изложен последовательно в соответствии с поставленными задачами. В начале раздела описан выбор мишеней в геноме ВИЧ-1. Затем представлены результаты исследования различных способов доставки и химических модификаций олигонуклеотидов, оценки их противовирусной активности и цитотоксичности для лимфоидных клеток человека, а также результаты применения комбинаций олигонуклеотидов, направленных на различные участки вирусного генома. Значительная часть главы посвящена изучению клеточной интернализации с

использованием конфокальной микроскопии и проточной цитометрии с визуализацией. Автор не ограничивается демонстрацией факта проникновения флуоресцентно меченных молекул, а анализирует динамику клеточного поглощения, внутриклеточную локализацию и характер распределения сигнала (энтропию).

Далее в работе представлены результаты скрининга 98 природных соединений и их производных, а также результаты исследования ряда препаратов, для которых выполнен направленный синтез на основе их теоретического моделирования возможных ингибиторов ВИЧ. Выявлена антиретровирусная активность для нового типа диарилпиримидинов и продемонстрирована активность соединения цис-аннелированного пирролидина, относящегося к классу ингибиторов проникновения.

Глава «Обсуждение результатов» содержит сопоставление полученных данных с результатами отечественных и зарубежных исследований. Людмила Геннадьевна рассматривает влияние химических модификаций на антиретровирусную активность и проникновение олигонуклеотидов в клетку, обсуждает преимущества PS-модификации, результаты исследования LNA-конструкций и комбинированного применения олигонуклеотидов, а также анализирует результаты скрининга низкомолекулярных соединений.

В выводах суммированы основные результаты работы. В целом они соответствуют поставленным задачам и отражают ключевые экспериментальные результаты исследования. 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 вносят свой вклад в развитие экспериментальной вирусологии, молекулярной вирусологии и разработку новых антиретровирусных препаратов.

С фундаментальной точки зрения значимым является проведенный отбор функционально важных консервативных участков генома ВИЧ-1 в качестве мишеней для ген-направленных олигонуклеотидов. Продemonстрировано, что антиретровирусная эффективность определяется не только комплементарной нуклеотидной последовательностью и соответствующей ей вирусной мишенью, но и типом химической модификации остова. Полученные результаты убедительно доказывают методологическую необходимость комплексного

многофакторного дизайна лекарственных молекул при конструировании противовирусных нуклеотидных конструкций.

Особого внимания заслуживают данные о преимуществе PS-модифицированных олигонуклеотидов. Для них продемонстрировано сочетание высокой антиретровирусной активности с эффективным проникновением в лимфоидные клетки, которые и являются мишенью ВИЧ *in vivo*. Полученные с помощью конфокальной микроскопии и проточной цитометрии с визуализацией результаты дополняют информацию о связи химического строения олигонуклеотида с его клеточным поглощением и внутриклеточным распределением.

Существенным результатом является экспериментальное исследование комбинаций олигонуклеотидов, нацеленных на различные функциональные области вирусного генома. Для ВИЧ-1, характеризующегося высокой частотой мутаций и способностью к быстрому формированию лекарственной устойчивости, разработка подходов, предусматривающих одновременное воздействие на несколько мишеней, представляет значительный научный интерес.

Важным достоинством является использование в исследовании антиретровирусной активности не модельных псевдовирусных конструкций, а инфекционного штамма ВИЧ-1 суб-субтипа А6 российского происхождения. Учитывая эпидемиологическую значимость данного генетического варианта для Российской Федерации, полученные результаты имеют дополнительную ценность для отечественной вирусологии и дальнейшего изучения субтип-специфических особенностей чувствительности ВИЧ-1 к новым потенциальным ингибиторам.

Отрицательные результаты скрининга 98 природных соединений и отсутствие ожидаемого противовирусного действия у ряда направленно модифицированных производных цис-аннелированного пирролидина также имеют научное значение. Они позволяют исключить неэффективные структурные варианты и могут быть учтены при последующем планировании исследований взаимосвязи химической структуры и противовирусной активности.

Практически значимым результатом является выявление выраженной активности соединения ВВ 0284050, относящегося к производным 2,4,5-тризамещенного пиримидина. Полученное значение индекса селективности позволяет рассматривать данную молекулу как перспективную исходную

структуру для углубленного исследования ее механизма действия и дальнейшей разработки на её основе нового антиретровирусного препарата.

В совокупности результаты диссертационной работы расширяют экспериментальную основу для поиска новых антиретровирусных молекул и разработки подходов к подавлению репродукции ВИЧ-1, основанных как на ген-направленном воздействии, так и на применении новых низкомолекулярных соединений.

Рекомендации по использованию результатов и выводов, приведенных в диссертации

Полученные результаты могут быть использованы в научно-исследовательских организациях вирусологического, молекулярно-биологического и медико-биологического профиля при разработке новых средств ингибирования репродукции ВИЧ-1 и других вирусов.

Выбранные в работе консервативные участки генома ВИЧ-1, а также полученные данные о влиянии PS-, LNA-, фосфорилгуанидиновых и других модификаций на противовирусную активность могут быть использованы при дальнейшем конструировании антисмысловых олигонуклеотидов. Перспективным является расширение исследования наиболее активных конструкций на панели клинических изолятов ВИЧ-1, включающей различные генетические варианты и варианты с лекарственной устойчивостью, а также на первичных клеточных моделях.

Полученные результаты по комбинациям олигонуклеотидов целесообразно развивать с использованием специальных математических моделей оценки межлекарственного взаимодействия и экспериментального определения синергизма или аддитивности, а также с изучением устойчивости противовирусного эффекта при последовательном пассировании вируса.

Соединение ВВ 0284050 представляет интерес для дальнейшего исследования как потенциальная исходная структура нового ННИОТ. Необходимыми последующими этапами являются подтверждение предполагаемого молекулярного механизма действия, изучение спектра активности в отношении генетически различных штаммов ВИЧ-1, в том числе, содержащих мутации лекарственной устойчивости, оценка барьера резистентности и дальнейшая оптимизация структуры соединения.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Л.Г. Готфрид представляет собой завершенное экспериментальное исследование, характеризующееся значительным объемом фактического материала и последовательным решением поставленных задач. Результаты представлены наглядно, сопровождаются статистической обработкой и логически связаны с основными положениями и выводами работы.

К достоинствам диссертации следует отнести поэтапный экспериментальный дизайн — от выбора мишени и первоначального способа доставки до сравнительной оценки химических модификаций, цитотоксичности и внутриклеточной интернализации. Существенным преимуществом является использование репликационно-компетентного российского штамма ВИЧ-1 субтипа А6 с высокими репродуктивными характеристиками. Положительной оценки заслуживает сочетание классических вирусологических методов с современными методами клеточной визуализации и количественного анализа.

Следует также отметить наличие в работе как положительных, так и отрицательных результатов. Автором показана не только высокая активность отдельных модифицированных олигонуклеотидов и соединений, но и отсутствие ожидаемого улучшения при введении ряда модификаций, отсутствие активности у исследованных природных соединений и ряда производных пирролидина. Такое представление данных дает более полную характеристику проведенного поиска и повышает его научную информативность.

Замечания и предложения

1. Термин «синергетическое усиление», использованный при характеристике действия комбинаций олигонуклеотидов, представляется несколько более определенным, чем позволяют утверждать приведенные данные. В работе убедительно продемонстрировано повышение противовирусной эффективности комбинаций по сравнению с моно-олигонуклеотидами, однако специальный анализ лекарственного взаимодействия с расчетом индекса комбинации или других подходов не представлен. В связи с этим имеющиеся результаты говорят об усилении противовирусного эффекта, а наличие собственно синергизма требует дополнительного подтверждения;

2. Небольшие грамматические и синтаксические ошибки.

Высказанные замечания не затрагивают принципиальных положений диссертационной работы, не снижают научной значимости полученных результатов и могут рассматриваться как направления дальнейшего развития выполненного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Готфрид Людмилы Геннадьевны «Перспективные ингибиторы репродукции ВИЧ на основе модифицированных олигонуклеотидов и химически синтезированных соединений» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, в которой решена актуальная научная задача поиска и экспериментальной характеристики новых потенциальных ингибиторов репродукции ВИЧ-1.

В работе определены функционально значимые консервативные участки генома ВИЧ-1, перспективные для ген-направленного воздействия, проведена последовательная оценка химических модификаций олигонуклеотидов, показаны преимущества PS-модифицированных конструкций, исследована эффективность комбинаций олигонуклеотидов и получены новые данные об их внутриклеточном проникновении и распределении.

С использованием современных методов конфокальной микроскопии и проточной цитометрии с визуализацией проведена детальная оценка интернализации модифицированных олигонуклеотидов. Результаты дополняют представления о взаимосвязи химической структуры, клеточного поглощения и противовирусной активности таких молекул.

Проведен значительный по объёму скрининг природных и химически синтезированных соединений. Выявлена антиретровирусная активность производного 2,4,5-тризамещенного пиримидина ВВ 0284050, которое представляет интерес для дальнейшего изучения в качестве потенциального ненуклеозидного ингибитора обратной транскриптазы ВИЧ-1.

Важным достоинством исследования является использование репликационно-компетентного штамма ВИЧ-1 суб-субтипа А6 российского происхождения, что повышает значимость полученных результатов для отечественной вирусологии и дальнейшего исследования новых антиретровирусных препаратов применительно к генетическим вариантам вируса, имеющим эпидемиологическое значение для Российской Федерации.

Полученные результаты обладают достаточной степенью обоснованности и достоверности, имеют научную и практическую значимость. Содержание диссертации соответствует научной специальности 1.5.10. Вирусология (биологические науки).

По актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов

диссертационная работа Готфрид Людмила Геннадьевны «Перспективные ингибиторы репродукции ВИЧ на основе модифицированных олигонуклеотидов и химически синтезированных соединений» соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Готфрид Людмила Геннадьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Отзыв на диссертацию был рассмотрен на расширенном заседании Ученого совета ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора с участием специалистов лаборатории эпидемиологии и профилактики ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов (протокол № 8 от 11 сентября 2026 г.).

Отзыв составил:

к.м.н., руководитель Дальневосточного
регионального научно-методического
центра по изучению энтеровирусных
инфекций, ученый секретарь
ФБУН Хабаровский НИИ
эпидемиологии и микробиологии
Роспотребнадзора

Подпись Е.Ю. Сапега заверяю:
специалист по кадровому делопроизводству
ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский
институт эпидемиологии и микробиологии»
Роспотребнадзора

«11» сентября 2026 г.

Сведения о ведущей организации:

Федеральное бюджетное учреждение науки «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
Адрес: 680000, Хабаровск, ул. Шевченко, д. 26
Телефон: (4212) 32-52-28; e-mail: adm@hniiem.ru; сайт: hniiem.rospotrebnadzor.ru.



Е.Ю. Сапега



О.С. Ехалова

