

ОТЗЫВ

**На автореферат диссертационной работы
Арбатского Михаила Спартаковича**

**На тему: «Выяснение механизмов развития гетерогенного ответа
мезенхимных стромальных клеток на профибротические стимулы с
использованием анализа транскриптома единичных клеток»
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических
наук**

по специальности 1.5.8 «Математическая биология, биоинформатика»

Рецензируемая диссертационная работа посвящена изучению механизмов гетерогенности ответа мезенхимных стромальных клеток (МСК) на профибротические стимулы с помощью современных методов биоинформатического анализа данных секвенирования РНК единичных клеток (scRNA-seq). Работа выполнена на стыке биоинформатики, клеточной биологии и регенеративной медицины, что определяет её междисциплинарный характер и практическую значимость.

Актуальность темы исследования

Актуальность темы диссертации не вызывает сомнений. Фибротические заболевания затрагивают различные органы и системы (легкие, печень, почки, сердце, кожу) и являются одной из ведущих причин заболеваемости и смертности. По разным оценкам, фиброз тех или иных органов присутствует в патогенезе до 45% всех смертей в развитых странах. При этом эффективные методы терапии фиброза практически отсутствуют, что делает поиск новых терапевтических мишеней чрезвычайно актуальным.

МСК рассматриваются как перспективный инструмент регенеративной медицины благодаря их способности модулировать иммунный ответ и процессы регенерации. Однако их роль в развитии фиброза остается предметом дискуссий: с одной стороны, они могут способствовать регенерации тканей, с другой – дифференцироваться в миофибробласты, поддерживающие фиброз. Понимание механизмов, определяющих направление дифференцировки МСК, критически важно для их безопасного и эффективного клинического применения.

Научная новизна и значимость результатов

Работа характеризуется высокой степенью научной новизны. Впервые с помощью метода scRNA-seq проведен комплексный анализ гетерогенности популяции МСК человека в условиях профибротического микроокружения. Принципиально новым является выявление субпопуляции МСК, устойчивой к дифференцировке в миофибробласты под действием профибротических стимулов, и её детальная характеристика.

Особую ценность представляет интегративный подход, использованный автором: сочетание кластеризации, анализа дифференциальной экспрессии

генов, реконструкции регуляторных сетей (SCENIC), построения траекторий развития клеток (RNA velocity, псевдовремя) и анализа некодирующих РНК. Такой многоуровневый анализ позволил не только выявить субпопуляции, но и предложить гипотезы о молекулярных механизмах, определяющих их функциональные свойства.

Идентификация длинной некодирующей РНК LINC01705 и набора микроРНК (включая miR-29c, miR-129 и др.), специфично представленных в субпопуляции МСК, устойчивой к профибротическим сигналам, представляет значительный интерес для фундаментальной науки и открывает новые направления для разработки РНК-терапевтических подходов.

Методология исследования

Методологическая часть работы выполнена на высоком уровне. Автор демонстрирует глубокое понимание как биологических основ изучаемых процессов, так и вычислительных методов их анализа. Использование современного стандартизированного пайплайна обработки данных scRNA-seq (CellRanger, Seurat) в сочетании со специализированными методами (SCENIC для анализа регулонов, scVelo и Velocity для построения траекторий, SingleR для автоматического типирования клеток) свидетельствует о компетентности автора в области биоинформатики.

Заслуживает одобрения критический подход автора к автоматическому типированию клеток и разработка комбинированной стратегии, сочетающей автоматизированные методы с ручной аннотацией на основе анализа биологических процессов. Это особенно важно для клеток мезенхимального происхождения, для которых часто отсутствуют однозначные специфические маркеры.

Практическая значимость

Практическая значимость работы подтверждается несколькими аспектами: Получен патент РФ на средство для лечения фиброза на основе компонентов секрета МСК, что свидетельствует о прикладной ценности исследования.

Идентифицированы поверхностные маркеры (PDGFR α , LIMS2, CRIM1, CDH2), позволяющие выделить различные субпопуляции МСК методом клеточного сортирования для дальнейших функциональных исследований.

Выявлены некодирующие РНК, потенциально вовлеченные в регуляцию ответа МСК на профибротические стимулы, которые могут рассматриваться как терапевтические мишени или компоненты клеточных препаратов с антифибротическими свойствами.

Результаты работы внедрены в учебный процесс магистерской программы «Регенеративная биомедицина», что способствует подготовке специалистов в этой области.

Публикации и апробация

Результаты исследования опубликованы в 6 статьях в высокорейтинговых международных журналах, индексируемых в базах Web of Science, Scopus и РИНЦ. Публикации в журналах первого квартиля (Experimental and Molecular Medicine, IF=12.9) и второго квартиля (Biomedicines, Cells) свидетельствуют о высоком качестве исследования и его признании международным научным сообществом.

Широкая апробация материалов диссертации на 19 российских и международных конференциях, включая престижные форумы (TERMIS-EU, ISEV, FEBS Congress, ESHG), подтверждает актуальность и востребованность результатов работы.

Замечания и вопросы

1. В работе использована *in vitro* модель профибротического микроокружения на основе децеллюляризованного внеклеточного матрикса и TGF β -1. Насколько, по мнению автора, эта модель адекватно воспроизводит условия *in vivo*? Рассматривалась ли возможность валидации результатов на образцах фибротически измененных тканей?

2. Автор выявил субпопуляцию МСК, устойчивую к дифференцировке в миофибробласты. Какова судьба этих клеток в долгосрочной перспективе? Сохраняют ли они стабильный фенотип или могут дифференцироваться в других условиях?

3. Анализ регулонов с помощью SCENIC выявил активность различных транскрипционных факторов. Однако в работе не представлена валидация функциональной роли этих факторов. Планируются ли такие исследования?

4. Для LINC01705 проведен детальный биоинформатический анализ, предсказаны белки-партнеры и взаимодействующие микроРНК. Какие эксперименты необходимы для валидации этих предсказаний?

5. Работа выполнена на МСК подкожной жировой ткани. Характерна ли выявленная гетерогенность для МСК других тканевых источников (костный мозг, пуповина и т.д.)?

Незначительные замечания

В автореферате имеются отдельные стилистические неточности и опечатки, например, непоследовательное использование сокращений. Некоторые рисунки (особенно комбинированные UMAP-графики) сложны для восприятия и требуют более детальных подписей.

Заключение

Представленная диссертационная работа является завершенным научным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне с использованием современных биоинформатических подходов. Работа вносит существенный вклад в понимание механизмов гетерогенности ответа МСК на профибротические стимулы и имеет значительную теоретическую и практическую значимость. Указанные замечания носят уточняющий характер и не снижают общей высокой оценки диссертационного исследования.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.8 «Математическая биология, биоинформатика» (по биологическим наукам), а именно следующим её направлениям: «Компьютерная системная биология», «Разработка и применение новых вычислительных алгоритмов для анализа экспериментальных данных в биологии и медицине», «Разработка и применение методов машинного обучения и искусственного интеллекта для анализа и прогнозирования свойств биологических объектов на основе анализа больших биомедицинских данных», а также критериям, определенным п.2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Арбатский Михаил Спартакович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 «Математическая биология, биоинформатика».

Заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией биологии опухолевой прогрессии Научно-исследовательского института онкологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук" директор биологических наук

Денисов Евгений Владимирович

З. удостоверяю:

Учёный секретарь Научно-исследовательского института онкологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук"

Савина Елена Викторовна

Томск, пер. Кооперативный, д. 5, Научно-исследовательский институт онкологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук", тел.: +7 (3822) 282676, доб. 3375, email: d_evgeniy@oncology.tomsk.ru