

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Арбатского Михаила Спартаковича на тему: «Выяснение механизмов развития гетерогенного ответа мезенхимных стромальных клеток на профибротические стимулы с использованием анализа транскриптома единичных клеток», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.8 Математическая биология, биоинформатика

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Арбатского М.С. “Выяснение механизмов развития гетерогенного ответа мезенхимных стромальных клеток на профибротические стимулы с использованием анализа транскриптома единичных клеток” посвящена изучению гетерогенности стромальных клеток с использованием клеточных моделей и методов РНК секвенирования единичных клеток (scRNA-seq). В последние годы внедрением методов scRNA-seq позволило существенно расширить наши знания о составе стромы различных органов, а также о взаимоотношениях между различными типами клеток как в норме, так и при развитии различных патологических процессов. Однако сложность темы и, вероятно, ограничения существующих методов не позволяют еще нарисовать полную картину клеточного состава стромы, что является очевидным препятствием для развития более прикладных направлений. Таким образом, эта тема является важной, причем как с чисто научной, так и с прикладной точки зрения, т.е. актуальность представленного исследования несомненна.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту, научных выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Диссертационная работа Арбатского М.С. характеризуется достаточной степенью обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Некоторые положения и выводы, как будет подробно описано ниже, кажутся спорными, однако эти противоречия не выходят за рамки научной дискуссии. Полученные результаты опираются на продуманный дизайн исследования и применение комплекса современных экспериментальных экспериментальных и биоинформационных методов. Представленные в диссертации выводы являются логически последовательными, экспериментально обоснованными и соответствуют цели и задачам исследования. Достоверность результатов, полученных в диссертационном исследовании Арбатского М.С., обеспечивается применением современных методов исследований. Полученные результаты прошли солидную апробацию на отечественных и международных конференциях, данные опубликованы в международных научных журналах.

Характеристика структуры и содержания диссертации

Диссертационная работа построена по традиционной схеме и состоит из следующих разделов: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Заключение, Выводы и Список использованной литературы. Диссертация изложена на 223 страницах машинописного текста, содержит 49 рисунков и 26 таблиц.

Введение содержит обоснование актуальности темы исследования, сформулированные цели и задачи исследования, характеристику научной новизны, теоретической и практической значимости исследования, а также положения, выносимые на защиту. Кроме того, во введении обоснован личный вклад автора, приведены сведения о публикациях по теме исследования, а также описаны структура и объем диссертации.

Раздел Обзор литературы состоит из двух частей. В первой части автор достаточно кратко описывает ключевые признаки мезенхимальных

стромальных клеток (МСК), их роль в развитии фиброза и некоторые данные о гетерогенности этой группы клеток. Данная часть раздела написана сжато и с упором на необходимые для обсуждения собственных результатов опубликованные работы. При этом практически игнорируются последние данные, полученные при анализе клеточного состава различных органов. Большая часть Обзора литературы посвящена последовательной и подробной характеристике этапов биоинформационной обработки данных экспериментов scRNA-seq. Такая организация отражает интересы автора исследования.

Раздел Материалы и методы содержит описание методов, используемых в работе. В исследовании были использованы современные методы, относящиеся к математической биологии и биоинформатике.

Раздел Результаты последовательно описывает использованную в работе клеточную модель, гетерогенность клеточного состава МСК, культивируемых в профибротических условиях, а также гетерогенность ответа МСК на TGF β . Этот раздел исследования содержит как экспериментальную, так и биоинформатическую часть. Следующие разделы исследования обсуждают и исследуют методы типирования МСК, направления развития МСК в профибротических условиях, а также выявление некодирующих РНК. Предпоследний раздел посвящен выявлению мембранных белков с целью выбора маркера для разделения субпопуляций МСК, по-разному отвечающих на профибротические сигналы. Последний раздел этого раздела (Экспресс scRNA-seq для определения предрасположенности к развитию фиброза) носит декларативный характер и не содержит никаких новых данных (также обращает внимание, что этот раздел опущен в автореферате).

В разделе Обсуждение автор очень четко выделяется наблюдения, которые ему представляются научно значимыми, а также описывает возможные практические приложения своей работы.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.8 Математическая биология, биоинформатика (по биологическим наукам), а именно следующим ее направлениям: компьютерная системная биология (геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика, другие омиксные исследования); идентификация потенциальных биомаркеров с целью диагностики заболеваний и перспективных молекулярных мишеней новых лекарств; разработка и применение новых вычислительных алгоритмов для анализа экспериментальных данных в биологии и медицине.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат аккуратно оформлен, его текст отражает содержание диссертации, а также основные положения и выводы диссертационного исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Основным достоинством работы является ее целостность. Работа содержит как экспериментальную, так и биоинформатическую часть, что большая редкость по нынешним временам.

У меня нет никаких принципиальных замечаний по диссертации, однако хотелось бы отметить ряд частных проблем этой работы и текста диссертации.

1. Текст диссертации написан стилистически неоднородно, присутствует лабораторный сленг и многочисленные орфографические ошибки. Во многих случаях имеются признаки прямого перевода с английского с полным игнорированием правил русского языка. После прочтения диссертации сложилось впечатление, что текст не был вычитан.

2. В разделе Обсуждение автор достаточно активно сравнивает собственные данные с данными других работ. При этом в этом разделе нет ни

одной ссылки на опубликованные данные (в представленном на оппонирование тексте диссертации).

3. Выводы работы больше напоминают перечень полученных результатов. Особенно расстраивает то, что в разделе Обсуждение автор предпринял попытку обобщить полученные результаты и выделить наиболее важные итоги исследования, но отказался от этого подхода при написании результатов.

Также по результатам чтения работы возникает некоторое количество вопросов.

1. При описании фенотипов клеток автор приводит в форме таблиц дифференциально экспрессируемые гены с очень небольшими $\log_2\text{FG}$. При этом высокоэкспрессируемыми называются гены даже с $\text{avg_log}_2\text{FG}$ 0.291 (таблица 5). Являются ли эти изменения биологически значимыми?

2. В разделе Обсуждение автор очень четко выделяет ключевой результат работы следующим образом: “Было показано, что в популяции МСК присутствуют субпопуляции, по-разному отвечающие на профибротические сигналы... Критически важным открытием стало, то, что только часть МСК дифференцировалась в миофибробласты, что определялось по экспрессии специфического маркера α -гладкомышечного актина, в то время как остальные клетки обладали транскриптомным профилем, отличным от характерного для миофибробластов. Это наблюдение фундаментально противоречит традиционному представлению о том, что все МСК в профибротическом микроокружении дифференцируются в миофибробласты”. Тут возникает сразу несколько вопросов. Во-первых, корректно ли сравнение с чужими данными, которые могли быть получены в совсем других условиях? Не может ли это быть спецификой использованной авторами модели? Не надо ли было поставить контроль в условиях, в которых получены данные, лежащие в основании “традиционных представлений”? Во-вторых, можно ли думать, что данные автора ближе к действительности, чем традиционные представления? Еще раз

отмечу, в предоставленной мне версии диссертации раздел Обсуждение не содержит ссылок на литературные источники.

3. Вызывает вопрос данные о PDGFRa в качестве маркера α -SMA-субпопуляций МСК. PDGFRa является широко известным маркером некоторых субпопуляций фибробластов, в частности, субпопуляций, которые могут дифференцироваться в миофибробласты при заживлении ран и фиброзе. Также известно, что PDGFRa вовлечен в регуляцию перехода фибробласта в миофибробласт. Автор же утверждает (основное положение, выносимое на защиту): “Субпопуляция МСК, не дифференцирующаяся в миофибробласты под действием профибротических стимулов, характеризуется повышенной экспрессией групп генов, отвечающих за организацию и ремоделирование ВКМ, регуляцию метаболических процессов и ангиогенеза, и может быть отделена от других субпопуляций по экспрессии PDGFRa”. Не может ли быть так, что клетки этих субпопуляций не дифференцировались в использованных условиях, но потенциально могут дифференцироваться?

4. Не очень понятно, какие данные диссертационного исследования были опубликованы в следующих двух статьях:

Basalova N., Arbatskiy M., Popov V., Grigorieva O., Vigovskiyy M., Zaytsev I., Novoseletskaya E., Sagaradze G., Danilova N., Malkov P., Cherniaev A., Samsonova M., Karagyaur M., Tolstoluzhinskaya A., Dyachkova U., Akopyan Z., Tkachuk V., Kalinina N., Efimenko A. Mesenchymal stromal cells facilitate resolution of pulmonary fibrosis by miR-29c and miR-129 intercellular transfer // *Experimental and Molecular Medicine*. – 2023. – Vol. 55. – № 7. – pp. 1399–1412. EDN: KSCMMI. Импакт-фактор 12,9 (JIF). (0,78/0,1).

Автор следующим образом описывает эту статью: “В исследовании N. Basalova et al. 2023 им был проведен биоинформатический анализ данных секвенирования внеклеточных везикул МСК и выявлены ключевые микроРНК (miR-29c и miR-129), участвующие в регуляции фиброза”. Однако в

диссертации не содержится описание анализ данных секвенирования РНК внеклеточных везикул МСК.

Аналогичная ситуация со статьей Basalova N., Sagaradze G., Arbatskiy M., Evtushenko E., Kulebyakin K., Grigorieva O., Akopyan Z., Kalinina N., Efimenko A. Secretome of Mesenchymal Stromal Cells Prevents Myofibroblasts Differentiation by Transferring Fibrosis-Associated microRNAs within Extracellular Vesicles // Cells. – 2020. – Vol. 9. – №5. – P. 1272, EDN: ESMODC. Импакт-фактор 5,2 (JIF). (0,84/0,2).

Ее значение для диссертации описано следующим образом: “В работе Basalova et al. 2020 автор провел биоинформатический анализ данных bulkRNA-seq и секвенирования внеклеточных везикул для выявления молекулярных механизмов антифибротического действия МСК.” Эти данные в тексте диссертации также не обнаруживаются.

Тем не менее, диссертационное исследование выполнено на хорошем методическом уровне, все высказанные соображения имеют частный характер, не влияющий на общую оценку работы, принципиальных замечаний по содержанию и оформлению работы не имеется.

Заключение

Диссертационная работа Арбатского Михаила Спартаковича на тему «Выяснение механизмов развития гетерогенного ответа мезенхимных стромальных клеток на профибротические стимулы с использованием анализа транскриптома единичных клеток», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является целостным и значимым научным исследованием, а полученные результаты имеют существенное значение для развития математической биологии и биоинформатики. 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 также критериям, определенным пп. 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, на соискание ученой степени доктора 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.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, заведующий лабораторией ультраструктуры клеточного ядра Научно-исследовательского института физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Шеваль Евгений Валерьевич

Контактные данные:

тел.: +7 (495) 939-53-59, e-mail: fxb@genebee.msu.

Специальность, по которой официальным оппонентом
03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология

Адрес места работы:

119234, г. Москва, тер. Ленинские горы, д. 1, стр.

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Тел.: +7 (495) 939-53-59; e-mail: fxb@belozerskv.msu.su

ПОДПИСЬ
УДОЛ.
ЗАВ. КАБ.
ИИ СЛ
16.02.2026