

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.230.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
ИНСТИТУТА ЦИТОЛОГИИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ПО ДИССЕРТАЦИИ **ШИЛИНОЙ МАРИИ АЛЕКСАНДРОВНЫ**
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 9 июня 2017 года № 223/401

О присуждении **ШИЛИНОЙ МАРИИ АЛЕКСАНДРОВНЕ** (Россия) ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация «**ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В КУЛЬТУРЕ**»

По специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология»

Принята к защите 31.03.2017, протокол № 220/399 Диссертационным советом Д 002.230.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук (ИНЦ РАН), адрес: 194064, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр. д.4. Утвержден приказом Минобрнауки РФ № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Шилина Мария Александровна, 1990 года рождения, в 2013 году окончила факультет медицинской физики и биоинженерии (нынешний Институт физики и нанотехнологий) Санкт-Петербургского государственного политехнического университета с присуждением степени магистра прикладной математики и физики. С **23.08.2013** по **20 .08.2016** проходила очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук. Диссертация выполнена в порядке прохождения аспирантуры.

Работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте цитологии Российской академии наук с 2013 года в Группе генетических механизмов дифференцировки и малигнизации клеток, с сентября 2013 года и по настоящее время Мария Александровна является младшим научным сотрудником.

Диссертация выполнена в Группе генетических механизмов дифференцировки и малигнизации клеток, Отдела внутриклеточной сигнализации и транспорта Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук.

Научный руководитель – Никольский Николай Николаевич, академик, доктор биологических наук, научный руководитель ИНЦ РАН, заведующий Отделом внутриклеточной сигнализации и транспорта Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института цитологии Российской академии наук.

Официальные оппоненты:

1. **Самойлович Марина Платоновна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории гибридной технологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Российского научного центра радиологии и хирургических технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург
2. **Филатов Михаил Валентинович**, кандидат биологических наук, заведующий Лабораторией клеточной биологии Отделения молекулярной и радиационной биофизики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» Федерального государственного бюджетного учреждения Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова, Гатчина

Дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» в своем отзыве (заключение составлено заведующим лабораторией пренатальной диагностики врожденных и наследственных болезней, доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом РАН, заслуженным деятелем науки РФ Владиславом Сергеевичем Барановым и утверждено директором Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научно-исследовательского института акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта академиком РАН, д.м.н., профессором Э.К. Айламазян) указала, что диссертационная работа является законченной научно-квалификационной работой, содержит новый подход к решению актуальной научной задачи – исследованию биологии стволовых клеток человека. По актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа соответствует всем требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения научных степеней» (утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология, и

дала положительный отзыв на диссертацию.

Соискатель имеет **20** опубликованных работ по теме диссертации, из них 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для размещения материалов кандидатских диссертаций, и 15 тезисов докладов.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. Гринчук Т.М., **Шилина М.А.**, Алексеенко Л.Л. 2014. Нарушение стабильности структуры кариотипа фибробластов китайского хомячка линии CHL V-79 RJK в процессе длительного культивирования при повышенной температуре. Цитология. 56(11): 841–849.

В рамках данной статьи было проанализировано влияние температурного шока на клетки млекопитающих. Показано, что длительное культивирование фибробластов китайского хомячка линии CHL V-79 RJK при повышенной температуре сопровождается отбором вариантов с генетическими изменениями на уровне кариотипа. С первых ступеней селекции на устойчивость к температуре 40 °С в анализируемой популяции выявляются варианты с разнотипными кариотипическими изменениями (возрастает частота встречаемости полиплоидов и появляются генетически дефектные клетки с перестройками — делециями, инверсиями, транслокациями, ДМ-хромосомами в некоторых клетках). В процессе культивирования отбирали варианты с прицентромерными полонками и наличием ДОО/ГОО на хромосомах в виде специфических маркеров. Неспецифическая дестабилизация кариотипа на первых этапах селекции была сопряжена с повышением экспрессии генов *hsc70* (конститутивной изоформы белка теплового шока семейства HSP70) и *pgp1*, продуктом которого является мембранный транспортер р-гликопротеин. После длительного культивирования клеток при повышенной температуре экспрессия исследуемых генов возвращалась к исходному уровню.

2. Домнина А.П., Новикова П.В., Фридлянская И.И., **Шилина М.А.**, Зенин В.В., Никольский Н.Н. 2015. Индукция децидуальной дифференцировки в эндометриальных мезенхимных стволовых клетках. Цитология 57(12):880-884.

В рамках данной работы была исследована способность мезенхимных стволовых клеток человека, выделенных из менструальной крови (эМСК), дифференцироваться *in vitro* в децидуальные клетки. По этому показателю эМСК сравнивали с мезенхимными стволовыми клетками (МСК) другого происхождения. Было показано, что в процессе дифференцировки секреция пролактина и IGFBP-1, основных маркеров децидуальной дифференцировки, возрастает в эМСК, несколько увеличивается в МСК костного мозга (МСК-КМ) и не меняется в МСК жировой ткани (МСК-ЖТ). Таким образом, способность

к децидуальной дифференцировке эМСК значительно выше, чем у МСК-КМ или МСК-ЖТ. Это делает их более перспективным субстратом для клеточной терапии бесплодия, вызванного дистрофическими заболеваниями эндометрия.

3. **Шилина М.А.**, Домнина А.П., Кожухарова И.В., Зенин В.В., Анисимов С.В., Никольский Н.Н., Гринчук Т.М. 2015. Характеристика культуры эндометриальных мезенхимных стволовых клеток, полученных от пациентки с аденомиозом. Цитология . 57(11):771-779.

В рамках данной статьи были исследованы эндометриальные мезенхимные стволовые клетки (эМСК) от больной аденомиозом. Задача работы состояла в получении клеточной линии эМСК от донора с аденомиозом и ее характеристике по сравнению с эМСК от здорового донора. Анализ полученной линии эМСК от донора с аденомиозом показал, что по фибробластоподобной морфологии, дифференцировке в адипогенном направлении, экспрессии маркеров мезенхимного ряда и отсутствию экспрессии маркеров гемопозитического ряда эти клетки не отличались от эМСК, полученных от здорового донора. Цитогенетический анализ эМСК (6-7-го пассажа), окрашенных дифференциально на G-диски метафазных хромосом, показал, что эМСК от здорового донора преимущественно имели нормальный неперестроенный кариотип. В популяции эМСК от пациентки с диагнозом аденомиоз доминировало число клеток с нарушениями структуры кариотипа. Выявленные изменения были связаны с анеуплоидизацией клеточной популяции и наличием неслучайных хромосомных поломок, чаще всего маркирующих хромосомы 7 и 11. Анализ полученных данных позволяет заключить, что аденомиозные клетки на фоне физиологической стабильности характеризуются повышенной нестабильностью структуры кариотипа с неслучайным вовлечением в перестройки определенных хромосом набора. Но, несмотря на то что в клетках от донора с аденомиозом присутствуют признаки дестабилизации генома, типичные при клеточной трансформации, аденомиозные клетки к 26-му пассажу перестают делиться и входят в фазу репликативного старения. Это позволяет сделать вывод о том, что обнаруженные нами кариотипические изменения аденомиозных клеток не приводят к их трансформации и иммортализации в условиях *in vitro*.

4. **Шилина М.А.**, Гринчук Т.М., Никольский Н.Н. 2016. Оценка генетической стабильности эндометриальных мезенхимных стволовых клеток человека методами морфологического и молекулярного кариотипирования. Цитология. 58(11): 825-831.

В этой статье выполнена оценка генетической стабильности методом дифференциальной окраски хромосом на G-диски и методом молекулярного кариотипирования на примере одной линии эМСК и проведен сравнительный анализ

разрешающей способности каждого метода для исследования стабильности генетического аппарата ЭМСК. Анализ метафазных платинок (пассажи 6 и 15) методом G-бэндинга показал, что на обоих этапах культивирования преимущество (более 80 %) имели клетки со стандартным набором хромосом. В кариотипически «дефектных» клетках хромосомные изменения (анеуплоидия, изохромосомы, хромосомы с поломками, межхромосомные ассоциации с возникновением псевдодвуплечих хромосом) носили случайный характер. Молекулярное кариотипирование, проведенное на этих же пассажах, показало стабильность генетического материала каждой хромосомы. Исключение составили хромосомы 7 и 14, в которых были выявлены микродупликации в локусах 7q36.3 (62 кб) и 14q11.2 (165кб). Предполагается, что данные изменения обусловлены генетическими особенностями донора данных клеток. Сопоставление результатов морфологического и молекулярного кариотипирования позволяет считать, что использованные в работе методы дополняют друг друга в определении генетической стабильности клеток.

5. **Mariia Shilina**, Nikolay Nikolsky, Larisa Alekseenko and Tatiana Grinchuk. 2016. Genetic Stability and Aging. *Journal of Gerontology & Geriatric Research* 5:6.

В данной работе обсуждаются различные аспекты клеточного старения, и поднимается вопрос выбора параметров, корректных для оценки этого процесса. До недавнего времени крайне мало уделялось внимания применению хромосомного анализ для оценки клеточного старения. В настоящее время считается, что кариотипирование может быть очень информативным параметром для оценки стареющих клеток. В результате работы было показано, что старение *in vitro* сопровождается генетической нестабильностью. Эти результаты, очевидно, могут пролить свет на события, которые имеют место в стволовых клетках в стареющем человеческом организме.

6. **Шилина М.А.**, Алексеенко Л.Л., Гринчук Т.М. 2014. Кариологический анализ эндометриальных мезенхимных стволовых клеток человека в условиях сублетального термостресса. «IV Конференция молодых ученых Института цитологии РАН по биологии клетки в культуре». *Цитология* 56 (5): 388-389.

В рамках данной работы была проанализирована структура кариотипа эндометриальных мезенхимных стволовых клеток человека (ЭМСК после сублетального термостресса, вызванного кратковременным повышением температуры (45°C, 30 мин.) в процессе культивирования. В качестве объектов исследования были использованы ЭМСК человека двух независимых линий, полученных сотрудниками группы ГМДиМК Института цитологии РАН из десквимирированного эндометрия менструальной крови. Температурное воздействие (45°C, вместо 37°C в норме) проводили на 6-10-ом пассаже (для линии 1 и 2, соответственно), затем клетки культивировали 5-6 пассажей в

стандартных условиях (37°C), после чего они были кариотипированы, с использованием метода окраски метафазных хромосом дифференциально на G-диски. Анализируемые ЭМСК характеризовались экспрессией поверхностных маркеров мультипотентности. В условиях сублетального термостресса (45°C, 30 мин.) наряду с клетками, имеющими нормальный кариотип, была выявлена популяция клеток с изменениями в кариотипе, такие клетки составляли большую часть проанализированных популяций. В обеих линиях были выявлены изменения двух типов: нарушение копийности (моносомия, трисомия), структурные изменения – поломки хромосомного материала. Чаще всего моносомия встречалась по хромосомам 3 и 4 (для 1 линии), и 12, 16 (для 2 линии), трисомия по хромосомам 1, 6 (для 1 линии), 3, 13 (для 2 линии). Поломки хромосом 1, 2, 3, 4 (для 1 линии), и 7, 10, 11, 12 (для 2 линии) выявлялись неоднократно. Общих закономерностей связанных с участием конкретных хромосом кариотипического набора в дестабилизации его структуры между линиями выявлено не было. В качестве контроля были использованы ЭМСК 1 и 2 линии на 12 и 15 пассажах соответственно, культивируемые при стандартных условиях (37°C). В контроле аналогичные отклонения от нормы так же встречались, но низкая частота встречаемости «дефектных» клеток и отсутствие повторяющихся изменений позволяет отнести их к ряду случайных, ассоциированных с переводом клеток из системы *in vivo* в систему *in vitro*. Наряду с этим, неоднократно встречаемые, изменения в кариотипе ЭМСК после термостресса трактуются, как неслучайные (закономерные). Таким образом, установили, что непродолжительное (30 минут) культивирование ЭМСК в условиях повышенной (на 8°C) температуры приводит анеуплоидизации популяции и изменениям в структуре хромосом, связанным с повышенной их ломкостью. Полученные в настоящей работе данные позволяют рассматривать сублетальный термостресс, как один из экзогенных факторов, нарушающих стабильность кариотипа ЭМСК.

7. Vinogradov A.E., **Shilina M.A.**, Anatskaya O.V., Alekseenko L.L., Grinchuk T.M., Nikolsky N.N. 2016. Next generation sequencing shows long-term transcriptome activation in human endometrial mesenchymal stem cells after sublethal heat shock. «1st International Conference Cell technologies at the edge: research & practice. Recent achievements in stem cells research». Материалы конференции: 117.

В рамках данной работы была исследована транскриптомная активность эндометриальных мезенхимальных стволовых клеток человека после сублетального теплового шока (ТШ) в течение 30 мин при 45°C с последующим культивированием в течение 6 пассажей в стандартных условиях культивирования. С помощью биоинформатического анализа транскриптома была показана разница между контрольными клетками и клетками после ТШ. Было обнаружено, что ТШ активирует

жизненно важные биологические процессы -модули генов, связанные с энергетическим и белковым метаболизмом, транскрипцией, клеточным циклом, стрессовым ответом и репарацией ДНК. Чтобы выяснить, приобрели ли клетки, выжившие после ТШ, потенцию к трансформации, в данной работе была проанализирована экспрессия генов, содержащих термин «онкоген» в их названиях, а также экспрессия генов, известных как онко - маркеры. По полученным в данной работе данным ТШ не активировал эти гены. Подробный анализ кариотипа клеток после ТШ выявил вспышку кариотипической нестабильности. В результате был сделан вывод, что даже по прошествии 6 пассажей после ТШ наблюдается активация метаболического и стрессового ответа.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. Научного сотрудника кафедры генетики и биотехнологии биологического факультета ФГБОУ высшего образования «Санкт-Петербургского государственного университета», кандидата биологических наук, **Светланы Анатольевны Галкиной**. Отзыв положительный, без замечаний.

2. Ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярных и клеточных основ гистогенеза, ФГБУН Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, доктора биологических наук, **Ольги Федоровны Гордеевой**. Отзыв положительный, без замечаний.

3. Заведующей группой биологии раковой клетки, Latvian Biomedical Research and Study Centre, доктора медицинских наук, **Екатерины Эренпрейсы**. Отзыв положительный, имеются критические замечания и вопросы:

«...В данной работе показана кариотипическая нестабильность некоторых линий мезенхимных стволовых клеток человека (МСК). Я бы не называла эту нестабильность случайной. Скорее всего, это проявление адаптации к плоской культуре клеток (2Д) с изначально пластичным геномом, с последующей клональной селекцией.

Идея применения теплового шока для определения степени стабильности генома является удачной, хорошо реализованной в рамках данной диссертационной работы. По моему мнению, сама идея применения теплового шока заслуживает широкого использования, как для оценки стабильности генома стволовых клеток, так и для оценки генетического риска, например, у бесплодных пар, где оба супруга субфертильны.

Интересны и результаты транскрипционного анализа показавшие, что усиленная защита от трансформации ЭМСК (несмотря на усиление генетической нестабильности, вызванной тепловым шоком) обеспечивается, скорее всего, за счет отсутствия экспрессии

онкогена МИК и сильной индукции плеяды с-Мус антагонистов, включая p53, p16 и p21 гены и регулируемые ими пути.

В тоже время, исследование транскриптома было проведено на ЭМСК, переживших тепловое воздействие всего 6 поколений назад, что не слишком отдалено от теплового шока. Поэтому не исключено, что полученные данные отражают лишь остаточное старение культуры.

Судить о туморигенности по транскриптому трудно – это значит вступать в спор с мутационной теорией рака. Можно, спорить, конечно. Наличие трансформации и туморигенности определяется двумя методами – образованием колоний в полужидком агаре и возникновением опухолей при подсадке клеток Nude мышам. Также существуют тесты на инвазивность через мембрану. Интересно было бы посмотреть на результаты работы, если бы клетки культивировали в условиях 3Д, близких к *in vivo*...».

4. Заведующего Лабораторией эпигенетики Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, доктора биологических наук, профессора, **Сергея Львовича Киселева**. Отзыв положительный, без замечаний.

5. Директора курса медицинской гистологии, associate professor of anatomy and cell biology, IUSM-NW, кандидата биологических наук, **Татьяны Юрьевны Костроминовой**. Отзыв положительный, без замечаний.

6. Заведующей лабораторией клеточной биологии ФГБУ «Федерального научно-клинического центра физико – химической медицины Федерального медико-биологического агентства», члена кор.РАН, доктора биологических наук, **Марии Андреевны Лагарьковой**. Отзыв положительный, без замечаний.

7. Заведующего лабораторией Генно-клеточной терапии Института регенеративной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова, кандидата медицинских наук, **Павла Игоревича Макаревича** и директора Института регенеративной медицины декана Факультета фундаментальной медицины МГУ им. М.В. Ломоносова Академика РАН, доктора биологических наук, **Всеволода Арсеньевича Ткачука**. Отзыв положительный, без замечаний.

8. Старшего научного сотрудника, Санкт-Петербургского Филиала ФГБУН Института общей генетики им. Н.И.Вавилова Российской академии наук, доктора биологических наук, доцента **Елены Игоревны Михайловой**. Отзыв положительный, имеются критические замечания:

«...В автореферате рецензентом не выявлено серьезных недостатков, однако есть замечания к оформлению рисунков и подписей к ним. Общим недостатком является использование микроскопического шрифта для обозначения вариантов

опытов, например, на рисунках 19 и 22, а также недостаточность информации в подписях. Например, в подписи к Рис.7 автором не указано какому из белков мишеней соответствует свечение определенного цвета. Судя по разделу "Материал и методы", бета-III-тубулину должен был соответствовать красный сигнал, а не зеленой, как показано на рисунке 7б, поскольку для иммуноцитохимической локализации белка в клетках были использованы вторичные антитела, конъюгированные с флуорохромом СуЗ, который характеризуется эмиссией в красной области спектра.

В целом, полученные в диссертации результаты достоверны, имеют теоретическое и практическое значение, отражены в достаточном числе публикаций и прошли апробацию на научных конференциях. Высказанные замечания не затрагивают сути работы...».

9. Заведующего лаборатории микробиологии и молекулярной генетики, профессора Кафедры медицины, медицинского колледжа Висконсина Милуоки, Висконсин, США, кандидата биологических наук, **Андрея Борисовича Сорокина**. Отзыв положительный, без замечаний.

В дискуссии принимали участие:

1. к.б.н Т.М.Гринчук, вед.н.с. ИНЦ РАН;
2. д.б.н., профессор, Е.С.Корнилова, член Диссертационного совета;
3. д.б.н., профессор В.А. Поспелов, член Диссертационного совета;
4. к.б.н. О.В. Анацкая, с.н.с. ИНЦ РАН.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается высокой квалификацией выбранных специалистов в области клеточной биологии, в частности, в области изучения биологии стволовых клеток и оценки трансформационного потенциала клеток, для более объективной оценки результатов, представленных в диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Разработана система физиологической и генетической характеристики линий мезенхимных стволовых клеток эндометрия человека;

предложен новый подход к комплексному анализу генетического состояния клеток, основанного на комбинации морфологического и молекулярного методов анализа;

доказано, что 1. эМСК, полученные из десквамированного эндометрия менструальной крови здоровых доноров, донора с заболеванием репродуктивной системы (аденомиозом) и потомков клеток, переживших сублетальный температурный стресс, по физиологическим параметрам (адгезивности к пластику, пролиферации в системе *in vitro*,

экспрессии поверхностных маркеров, мультипотентному статусу) не различаются. 2. Перевод ЭМСК из системы *in vivo* в систему *in vitro* может сопровождаться появлением клеточных вариантов с кариотипическими изменениями – анеуплоидией и структурными хромосомными перестройками. Частота встречаемости генетически дефектных клеток индивидуальна для каждой линии. Кариотипические изменения, возникающие в процессе культивирования, не приводят к иммортализации и трансформации клеток. 3. В ЭМСК от донора с аденомиозом наблюдается повышенная нестабильность структуры кариотипа с преимущественным вовлечением в перестройки (поломки) определенных хромосом набора (хромосом 7 и 11). Наблюдаемые цитогенетические изменения не приводят к иммортализации/клеточной трансформации. 4. Потомки ЭМСК, пережившие сублетальный ТШ, характеризуются вспышкой кариотипической нестабильности. Результаты транскриптомного анализа показали, что изменения, возникшие в результате термостресса, не направлены в сторону онкогенной клеточной трансформации.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказаны положения, расширяющие современные представления о биологии эндометриальных мезенхимных стволовых клеток человека;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных цитологических, микроскопических, биохимических методов, включающий получение клеточных линий эндометриальных мезенхимных стволовых клеток человека (ЭМСК), культивирование ЭМСК, иммунофенотипирование клеток, оценку пролиферативной активности клеток с помощью построения кривых клеточного роста и методов проточной цитофлуориметрии, направленной дифференцировки в адипогенном, остеогенном и децидуальном направлении, методы иммунофлуоресценции, кариотипирования G-бэндрованных хромосом, молекулярного кариотипирования, транскриптомного анализа, методы биоинформационного анализа, конфокальную микроскопию, методы анализа и обработки иммунофлуоресцентных изображений и методы статистической обработки данных.

Изложены новые данные о характеристике линии ЭМСК от донора с аденомиозом и проведен их анализ в сравнении с клетками от здоровых доноров.

раскрыто соответствие основных физиологических характеристик между клетками от разных доноров и после стрессового воздействия на клетки.

Изучены физиологические и генетические характеристики ЭМСК от разных доноров и после температурного шока.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

Изучены возможности спонтанной трансформации ЭМСК в процессе длительного культивирования;

показано, что анализируемые клетки спонтанно не трансформируются в культуре.

По результатам можно считать, что ЭМСК могут стать подходящим клеточным материалом при разработке подходов к лечению различных заболеваний и травм методами, основанными на принципах клеточной терапии. Полученные клетки могут служить объектом таких фундаментальных исследований в биологии, как исследования механизмов пролиферации, дифференцировки и межклеточных взаимодействий СК взрослого организма.

определены перспективы возможного практического применения результатов исследования для целей регенеративной медицины с использованием эндометриальных мезенхимных стволовых клеток человека;

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты, представленные в диссертации, получены на сертифицированном оборудовании, выбор использованных методов обоснован спецификой работы и соответствует поставленным в работе задачам, достоверность экспериментальных результатов оценена с помощью адекватных методов статистической обработки данных;

теория построена на известных, проверяемых данных, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

идея базируется на анализе данных современной литературы, на полученных ранее в Группе генетических механизмов дифференцировки и малигнизации клеток ФГБУН Института цитологии РАН данных, а также на обобщении и анализе собственного экспериментального материала;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике;

установлено, что авторские результаты согласуются с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда такое сравнение было обосновано;

использованы современные экспериментальные подходы (световая и флуоресцентная микроскопия, проточная цитофлуориметрия, метод кариотипирования G-бэндируемых хромосом, молекулярное кариотипирование на чипах, транскриптомный анализ) и адекватные методы статистической обработки результатов.

Личный вклад соискателя состоит в: непосредственном планировании и проведении экспериментов, получении, обработке, анализе и интерпретации полученных результатов.

Соискатель принимала непосредственное участие в апробации результатов исследований на отечественных и международных конференциях, в подготовке и написании научных статей и тезисов по теме диссертации.

Диссертация посвящена исследованию физиологических и генетических характеристик эндометриальных мезенхимных стволовых клеток человека (ЭМСК) в культуре и возможности их спонтанной трансформации в условиях *in vitro*, является законченным (в рамках поставленных задач) научно-квалификационным исследованием в области клеточной биологии, которое содержит решение научной задачи, имеющей большое значение как для понимания биологии стволовых клеток в целом, так и для целей регенеративной медицины с использованием стволовых клеток в частности. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных М.А. Шилиной работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. Диссертационная работа полностью отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года) по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология».

На заседании 9 июня 2017 года Диссертационный совет принял решение присудить **Шилиной Марии Александровне** ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – «Клеточная биология, цитология, гистология».

При проведении тайного голосования Диссертационный совет в количестве **19 человек**, из них **10 докторов по специальности рассматриваемой диссертации**, участвующих в заседании, из 24 человек, входящих в состав Совета, проголосовали:

«ЗА» - 19, «ПРОТИВ» - нет, недействительных бюллетеней нет.

Заместитель председателя
Диссертационного совета Д 002.230.01
на базе ИНЦ РАН,
доктор биологических наук, профессор

С.Н. Борхсениус

Ученый секретарь
Диссертационного совета Д 002.230.01
на базе ИНЦ РАН,
кандидат биологических наук

Е.В. Каминская

«13» июня 2017 г.

