

ОПТИМИЗИРОВАННАЯ СТРАТЕГИЯ БИОИНФОРМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДАННЫХ КЛИНИЧЕСКОГО ПРОТЕОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ТКАНИ ЭНДОМЕТРИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ

DOI: 10.17691/stm2019.11.2.07

УДК 618.14-002:543.4

Поступила 23.01.2019 г.



М.Р. Гайнуллин, к.м.н., старший научный сотрудник отдела молекулярно-клеточных технологий Института фундаментальной медицины¹; научный сотрудник^{2, 3};

А.Б. Языкова, к.б.н., ассистент кафедры биохимии им. Г.Я. Городисской¹;

Т.М. Мотовилова, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии¹;

Х.М. Клементе Апумайта, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии №1⁴;

Т.Г. Ходосова, врач акушер-гинеколог⁵;

Ю.А. Гагаева, студентка¹;

Е.С. Коломина, студентка¹;

М.М. Ковалева, студентка¹;

А.А. Милицкая, студентка¹;

А.Н. Щерина, студентка¹;

Е.Л. Бойко, д.м.н., старший научный сотрудник отдела акушерства и гинекологии⁶;

В.Г. Згода, д.б.н., зав. отделом протеомных исследований и масс-спектрометрии⁷;

Г.О. Гречканев, д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии¹

¹Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

²Norwegian PSC Research Center, Department of Transplantation Medicine, Division of Surgery, Inflammatory Diseases and Transplantation, Oslo University Hospital Rikshospitalet, P.O. Box 4950, Nydalen, Oslo, 0424, Norway;

³Institute of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, University of Oslo, P.O. Box 1171, Blindern, Oslo, 0318, Norway;

⁴Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), ул. Малая Трубецкая, 8/2, Москва, 119991;

⁵Региональный перинатальный центр, Каштановая аллея, 145, Калининград, 236023;

⁶Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова Минздрава России, ул. Победы, 20, Иваново, 153045;

⁷Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, ул. Погодинская, 10, стр. 8, Москва, 119121

Цель исследования — изучение совокупности белков (протеома) ткани эндометрия и поиск специфических белков-маркеров процессов канцерогенеза.

Материалы и методы. Образцы ткани были получены с помощью пайпель-биопсии эндометрия у женщин с хроническим эндометритом. Данные образцы гомогенизировали и проводили электрофорез белков в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия по методу Лэмли. Выделенные фракции белков различной молекулярной массы подвергали трипсинолизу по стандартной методике с использованием модифицированного трипсина. Затем полученные триптические пептиды разделяли и идентифицировали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с тандемной масс-спектрометрией.

Для анализа тканеспецифической экспрессии применяли базы данных Human Protein Atlas и Tissue-Specific Gene Expression and Regulation.

Функциональное аннотирование белков и анализ методом концентрирования множеств генов выполняли с использованием биоинформатического ресурса The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery.

Результаты. Из полученных образцов ткани эндометрия методом тандемной масс-спектрометрии идентифицированы 103 белка. Анализ тканеспецифичности показал, что 83 белка экспрессируются в тканях женской репродуктивной системы. Функциональное аннотирование с последующей кластеризацией выявило, что 51 белок (49,5% от идентифицированных) ко-

Для контактов: Языкова Анна Борисовна, e-mail: poet509@yandex.ru

дируется генами, дифференциально экспрессирующимися в культурах клеток женской репродуктивной системы. При этом выявлено 4 группы белков, характерных как для различных типов опухолевых клеток (серозная аденокарцинома яичника, цистаденома яичника иммортализованная, карцинома яичника), так и для иммортализованного нормального поверхностного эпителия яичника.

Заключение. Проведена идентификация белков ткани эндометрия с применением клинического протеомного исследования. Биоинформатический подход позволил выделить функциональные группы белков исходя из их потенциальной вовлеченности в процессы канцерогенеза. Полученные данные могут служить отправной точкой дальнейших углубленных исследований эндометрия с использованием протеомного подхода, а также других OMICS-технологий. Последующее применение биоинформатических методов анализа позволит выявить молекулярные механизмы взаимосвязи воспалительного процесса и возникновения малигнизации клеток тканей эндометрия.

Ключевые слова: хронический эндометрит; тандемная масс-спектрометрия; функциональный кластеринг; тканеспецифичная экспрессия.

Как цитировать: Gainullin M.R., Yazykova A.B., Motovilova T.M., Klemente Apumaita H.M., Khodosova T.G., Gagaeva Y.A., Kolomina E.S., Kovaleva M.M., Militskaya A.A., Shcherina A.V., Boyko E.L., Zgoda V.G., Grechkanov G.O. Optimized bioinformatic strategy for the analysis of clinical proteomic data of the endometrium in chronic endometritis. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2019; 11(2): 50–56, <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.2.07>

English

Optimized Bioinformatic Strategy for the Analysis of Clinical Proteomic Data of the Endometrium in Chronic Endometritis

M.R. Gainullin, MD, PhD, Senior Researcher, Department of Molecular Cell Technology, Institute of Fundamental Medicine¹; Researcher^{2, 3};

A.B. Yazykova, PhD, Assistant, Department of Biochemistry named after G.Ya. Gorodisskaya¹;

T.M. Motovilova, MD, PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology¹;

H.M. Klemente Apumaita, MD, DSc, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology No.14¹;

T.G. Khodosova, Obstetrician-Gynecologist⁵;

Y.A. Gagaeva, Student¹;

E.S. Kolomina, Student¹;

M.M. Kovaleva, Student¹;

A.A. Militskaya, Student¹;

A.N. Shcherina, Student¹;

E.L. Boyko, MD, DSc, Senior Researcher, Department of Obstetrics and Gynecology⁶;

V.G. Zgoda, DSc, Head of the Department of Proteomic Research and Mass Spectrometry⁷;

G.O. Grechkanov, MD, DSc, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology¹

¹Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

²Norwegian PSC Research Center, Department of Transplantation Medicine, Division of Surgery, Inflammatory Diseases and Transplantation, Oslo University Hospital Rikshospitalet, P.O. Box 4950, Nydalen, Oslo, 0424, Norway;

³Institute of Clinical Medicine, Faculty of Medicine, University of Oslo, P.O. Box 1171, Blindern, Oslo, 0318, Norway;

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8/2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia;

⁵Regional Perinatal Center, 145 Kashtanovaya alleya, Kaliningrad, 236023, Russia;

⁶Ivanovo Research Institute of Motherhood and Childhood named after V.N. Gorodkov, 20 Pobeda St., Ivanovo, 153045, Russia;

⁷V.N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry, Bldg 8, 10 Pogodinskaya St., Moscow, 119121, Russia

The aim of the study is to analyze the entire set of proteins (proteome) expressed in the endometrial tissue and to identify protein markers specific for carcinogenesis.

Materials and Methods. Tissue samples were obtained using endometrial pipelle biopsy in women with chronic endometritis. After homogenization the samples were subjected to protein electrophoresis in polyacrylamide gel in the presence of sodium dodecyl sulfate according to the Lamley method. The proteins separated according to their molecular weights were digested by modified trypsin using the

standard method. Obtained tryptic peptides were analyzed and identified by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry.

The Human Protein Atlas and Tissue-Specific Gene Expression and Regulation databases were used to analyze the tissue-specific protein expression.

Functional protein annotation and gene set enrichment analysis were performed using the Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery bioinformatics resource.

Results. In the obtained endometrial tissue samples, 103 proteins were identified by tandem mass spectrometry. Analysis of tissue specificity showed that 83 proteins were expressed in the tissues of the female reproductive system. Functional annotation followed by clustering revealed that 51 proteins (49.5% of the identified ones) were encoded by the genes differentially expressed in cell cultures of the female reproductive organs. Along with that, 4 groups of proteins were expressed both in tumors (serous ovarian adenocarcinoma, immortalized ovarian cystadenoma, ovarian carcinoma) and in the immortalized normal ovarian surface epithelium.

Conclusion. Endometrial tissue proteins were identified using a clinical proteomic analysis. The bioinformatic approach allowed us to annotate the functional clusters of the identified proteins based on their potential involvement in carcinogenesis. The obtained data can serve as the starting point for further in-depth studies of the endometrium using the proteomic approach, as well as other OMICS technologies. Subsequent application of bioinformatic tools will allow revealing of molecular mechanisms of relationship between inflammation and endometrium tissue malignant transformation.

Key words: chronic endometritis; tandem mass spectrometry; functional clustering; tissue-specific expression.

Введение

Нарушение фертильности женщин, включая привычное невынашивание и бесплодие, а также неудачные попытки экстракорпорального оплодотворения и эмбриотрансфера часто являются следствием хронических воспалительных процессов в матке (хронического эндометрита — частой патологии женщин репродуктивного возраста). Это заболевание протекает скрыто, не имеет специфических симптомов, что не позволяет использовать классические диагностические методы для его обнаружения [1–4]. Гистероскопия и морфологическое исследование ткани являются «золотым стандартом» в оценке структуры полости матки и эндометрия, однако их возможности в диагностике начальных признаков заболевания ограничены тканевым разрешением. Например, гистероскопия, основанная на макроскопической оценке, позволяет обнаружить хронический эндометрит только в 35–40% случаев. В связи с этим клиницисты нуждаются в альтернативных, информативных и безопасных диагностических методах исследования такой чувствительной к внешним воздействиям ткани, как эндометрий [5, 6].

В настоящее время доказана вероятность участия хронического эндометрита в патогенезе рака эндометрия путем метилирования генов-супрессоров опухолевого роста, а также за счет модификации местного иммунного и системного воспалительного ответа, хотя величина этой вероятности в настоящее время точно не определена [7]. Молекулярные и патогенетические механизмы возникновения этой взаимосвязи освещаются в мировой литературе крайне скудно, в основном показан возможный механизм малигнизации за счет формирования очаговой или диффузной пролиферации эпителия и возникновения гиперплазии, которая характеризуется высокой частотой рецидивирования и возможностью малигнизации [8].

Все это обуславливает актуальность изучения различных аспектов патогенеза предрака эндометрия, в том числе и на молекулярном уровне, с целью поиска специфических молекулярных биомаркеров, а также маркеров неоплазии и пролиферации. Это может сыграть важную роль в разработке раннего скринингового исследования тканей эндометрия для выявления первичных признаков малигнизации.

Известно, что воспаление является неотъемлемым сопутствующим признаком рака, способствующим развитию и прогрессированию злокачественных новообразований. В последние годы в литературе встречается все больше доказательств роли местного иммунного ответа и системного воспаления в прогрессировании опухолей и выживании онкологических больных [9, 10]. Становится очевидным, что установление молекулярных взаимосвязей воспалительного процесса и канцерогенеза не только поможет в профилактике и диагностике онкологических заболеваний, но и расширит возможности использования новой таргетной терапии, вовлекающей иммунную систему больного.

Протеомный подход, который основан на идентификации белков методом тандемной масс-спектрометрии, совмещенной с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ–МС/МС), отвечает большинству критериев, предъявляемых к «поисковому» анализу клинических образцов. ВЭЖХ–МС/МС используется для широкомасштабной качественной идентификации белков в биологических образцах и характеризуется мультиплексностью в пределах сотен индивидуальных белков в одном образце, чувствительностью на уровне пико- и фемтомолей отдельного белка и динамическим диапазоном 4–6-го порядков, что примерно соответствует концентрационному диапазону белков в тканях человека. В настоящее время протеомный подход к исследованию эндометрия используется в клинической медицине

при изучении не только эндометриоза [11], но и рака эндометрия [12], бесплодия [13] и изменений, индуцированных беременностью [14].

OMICS-технологии отличаются от других молекулярно-биологических методов количественными и качественными особенностями получаемых данных. Как правило, это глобальные (как в случае геномных и транскриптомных исследований) или локальные (типичные для протеомики) совокупности биомолекул одной природы (ДНК, мРНК или белков соответственно). Для описания подобного «молекулярного фенотипа» геномные и постгеномные технологии используют компьютерный анализ полученных результатов.

В основе системной оценки OMICS-данных лежит концепция, согласно которой: а) в наборе идентифицированных генов или их продуктов (мРНК, белков) заключена существенная биологическая информация; б) каждый из элементов живой системы выполняет свою функцию во взаимосвязи со специфическим набором других элементов. Соответственно, целью большинства методов интерпретации OMICS-данных является аннотация (т.е. присвоение функциональной характеристики) отдельных биомолекул с последующей реконструкцией значимых взаимодействий между ними. Вычислительный инструментальный геномных и постгеномных технологий использует все многообразие имеющейся биологической информации, полученной экспериментальными методами и депонированной в систематизированных публичных базах данных. Следует отметить, что практически всегда интерпретация OMICS-данных носит предсказательный характер и базируется на специально разработанных методах статистического анализа.

Самым распространенным вычислительным подходом в данной области является метод, именуемый концентрированием множеств генов (gene set enrichment analysis, GSEA) [15]. Принцип кластерного анализа совокупностей биомолекул, лежащий в основе GSEA, дает возможность адаптировать данный метод к особенностям конкретных OMICS-технологий.

Следует, тем не менее, подчеркнуть, что именно стадия обобщения и анализа данных является на сегодня «узким местом», существенно ограничивающим научную и практическую ценность транскриптомных и протеомных исследований. Вследствие этого оптимизация методов системного анализа и интерпретации данных OMICS-исследований — одна из актуальных задач.

Данная работа является пилотным исследованием, направленным на разведывательный поиск возможных белков-маркеров малигнизации в тканях у женщин с клинически подтвержденным хроническим эндометритом с применением масс-спектрометрической идентификации белков в образцах эндометрия и дальнейшим биоинформатическим анализом. С этой целью использовали различные подходы к оценке тканеспецифичности выявленных белков, а также кластерный анализ

с выбором оптимального параметра для метода концентрирования множеств генов.

Материалы и методы

Исследование включало пациенток репродуктивного возраста с гистологически подтвержденным диагнозом «хронический эндометрит». Все они дали свое предварительное информированное согласие. Работа была проведена в соответствии с Хельсинкской декларацией (2013) и одобрена Этическим комитетом Приволжского исследовательского медицинского университета.

Всем пациенткам была выполнена пайпель-биопсия эндометрия с последующим помещением тканей в буферный раствор. Образцы ткани гомогенизировали, после чего проводили электрофорез белков в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия по методу Лэмли. После электрофоретического разделения полоса геля разрезалась, полученные фракции белков различной молекулярной массы подвергались трипсинолизу в геле по стандартной методике с использованием модифицированного трипсина (Promega, США). Полученные триптические пептиды разделяли и идентифицировали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с тандемной масс-спектрометрией на аппарате Orbitrap Velos Pro (Thermo Scientific, США). Анализ полученных масс-спектров выполняли с помощью программы Mascot (Matrix Science, США). Для идентификации белков использовали базу данных Uniprot (release 2014).

Тканеспецифическую экспрессию анализировали с помощью баз данных Human protein atlas [16] и Tissue-specific gene expression and regulation (TiGER) [17].

Функциональное аннотирование белков и анализ методом концентрирования множеств генов проводили с использованием биоинформатического ресурса The database for annotation, visualization and integrated discovery (DAVID v. 6.8) [18, 19].

Результаты

При исследовании гомогенатов тканей эндометрия после электрофоретического разделения фракции белков различной молекулярной массы подвергались трипсинолизу. Исследование триптических фрагментов методом ВЭЖХ–МС/МС и последующий анализ полученных масс-спектров позволили идентифицировать в общей сложности 103 различных белка.

В соответствии с задачами работы для этих белков проведена мануальная оценка их представленности в различных тканях. Согласно информации в базах данных Human protein atlas и TiGER, 83 белка детектируются в тканях женской репродуктивной системы. В числе идентифицированных также представлены белки плазмы крови. Такой результат был ожидаем, поскольку

ку материал биопсии эндометрия неизбежно содержит контаминацию кровью.

Следует, однако, подчеркнуть, что мануальный анализ тканеспецифичности с использованием баз данных не может рассматриваться как оптимальный метод интерпретации результатов клинического протеомного исследования. Ключевым недостатком является невозможность статистической оценки наблюдений. С учетом того, что подавляющее большинство белков представлено в разных тканях в различной концентрации, практическая значимость данного подхода крайне невелика.

На следующем этапе исследования для функционального аннотирования белков, идентифицированных в образцах эндометрия, были использованы возможности биоинформатического ресурса DAVID (v. 6.8). Список белков был проанализирован методом концентрирования множеств генов (GSEA) со стандартными параметрами кластеризации. Полученные результаты, к сожалению, оказались малоинформативными, поскольку белки были объединены в группы с низкой функциональной специфичностью: микрочастицы крови (GO:0072562), белки межклеточного пространства (GO:0005615),

Результаты функциональной кластеризации белков, идентифицированных в образцах эндометрия

Признак кластеризации	Идентификатор SAGE	Количество белков (генов) в кластере	P-value/ Benjamini	Фактор обогащения кластера	Аббревиатура гена, кодирующего белок*
Серозная аденокарцинома яичника	SAGE_Ovary_ adenocarcinoma_ B_OVT-7	26	1,4·10 ⁻⁶ / 3,5·10 ⁻⁵	5.82	ATP5B; CNDP2; RAB13; ALDOA; ANXA11; ANXA2; CLIC1; C3; C4A; GSTP1; HMGB1P1; IGHG1; IGHG2; IGHG3; IGHG4; IGHM; IGKC; IGLC2; PRDX6; PYGB; P4HB; SERPINF1; TXNDC5; TALDO1; TGM2; UBA1
Цистаденома яичника иммуноализованная	SAGE_Ovary_ cystadenoma_ CL_ML10-10	30	2,9·10 ⁻⁶ / 6,3·10 ⁻⁵		ATP5B; GNAI2; IQGAP1; RAB13; SET; ALDOA; ANXA11; ANXA2; ANXA5; CLIC1; CFL1; FLNA; GSTP1; GAPDH; HNRNPD; HMGB1P1; HYOU1; LDHA; LDHB; MYH9; PYGB; PFN1; P4HB; PDIA4; PDIA6; SERPING1; TXNDC5; TPI1; TPP1; UBA1
Карцинома яичника	SAGE_Ovary_ carcinoma_ CL_ A2780	28	5,0·10 ⁻⁴ / 2,5·10 ⁻³	4.55	ATP5B; CNDP2; RAB13; SET; ALDOA; ANXA2; CLIC1; CFL1; ENO1; GSTP1; HBB; HNRNPD; HMGB1P1; HYOU1; LDHA; LDHB; NEFH; PPIB; PRDX6; PFN1; P4HB; PDIA4; PPA1; SERPINF1; SERPING1; TXNDC5; TPI1; UBA1
Нормальный поверхностный эпителий яичника иммуноализованный	SAGE_Ovary_ normal_ CL_IO_ SE29EC-11	21	1,3·10 ⁻² / 3,4·10 ⁻²		ATP5B; IQGAP1; RAB13; SET; ALDOA; ANXA2; CP; FLNA; GPI; GSTP1; GAPDH; HMGB1P1; LDHA; MYH9; PGK1; P4HB; SERPING1; TKT; TPI1; TPP1; UBA1

*Расшифровка аббревиатур генов в соответствии с общепринятым наименованием белков (для 51 белка, представленного в таблице):

ALDOA — альдолаза, фруктозо-бисфосфат А; ANXA11 — аннексин А11; ANXA2 — аннексин А2; ANXA5 — аннексин А5; ATP5B — АТФ-синтаза (H⁺-транспортный митохондриальный комплекс F1, бета-полипептид); CP — церулоплазмин; CLIC1 — хлоридный внутриклеточный канал; CNDP2 — CNDP-дипептидаза 2, семейство металлопептидаз M20; CFL1 — кофилин 1; C3 — компонент системы комплемента C3; C4A — компонент системы комплемента C4A (Rodgers blood group); ENO1 — енолаза 1; FLNA — филамин А; GNAI2 — альфа-2-субъединица G-белка; GPI — глюкозо-6-фосфат изомераза; GSTP1 — глутатион-S-трансфераза P1; GAPDH — глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа; HBB — гемоглобин, бета-субъединица; HNRNPD — гетерогенный ядерный рибонуклеопротеин D; HMGB1P1 — амфотерин; HYOU1 — белок, активируемый гипоксией 1 (hypoxia up-regulated 1); IGHG2 — константная область тяжелой цепи гамма-глобулина 2 (G2m marker); IGHG3 — константная область тяжелой цепи гамма-глобулина 3 (G3m marker); IGHG4 — константная область тяжелой цепи гамма-глобулина 4 (G4m marker); IGHM — константная область тяжелой цепи гамма-глобулина μ; IGHG1 — константная область тяжелой цепи гамма-глобулина 1 (G1m marker); IGKC — константная область легкой каппа-цепи иммуноглобулина; IGLC2 — константная область легкой каппа-цепи иммуноглобулина 2; IQGAP1 — белок семейства активаторов гуанозинтрифосфатаз, содержащих IQ-мотивы 1; LDHA — лактат дегидрогеназа А; LDHB — лактат дегидрогеназа В; MYH9 — тяжелая цепь миозина; NEFH — тяжелый полипептидный нейрофиламент; PPIB — пептидилпролил изомераза В; PRDX6 — пероксиредоксин 6; PGK1 — фосфоглицерат киназа 1; PYGB — гликоген фосфорилаза; мозговая фракция; PFN1 — профилин ; P4HB — пролил-4-гидроксилаза, бета-субъединица; PDIA4 — протеиндисульфидизомераза, семейство А, номер 4; PPA1 — пиррофосфатаза (неорганическая) 1; RAB13 — белок RAB13 онкогенного семейства белков RAS; SERPINF1 — белок серпин 1 семейства белков F; SET — ядерный протоонкоген SET; TXNDC5 — тиоредоксин-содержащий домен 5; TALDO1 — трансальдолаза 1; TGM2 — транслугутиназа 2; TKT — транскетолаза; TPI1 — триозо-фосфат изомераза 1; TPP1 — трипептидил пептидаза 1; UBA1 — активирующий фермент 1 убиквитин-подобного модификатора.

сигнальные пептиды. Нам представляется, что такой результат связан с высокой универсальностью ресурса DAVID. Как известно, наиболее широко метод GSEA применяется при исследовании дифференциально экспрессирующихся генов (т.е. в транскриптомном анализе), что нашло отражение в наборе параметров, предлагаемых «по умолчанию». Однако следует учитывать, что транскриптомные и протеомные данные принципиально отличаются, как количественно, так и качественно.

Вследствие этого при изменении параметров кластеризации, оптимальных для анализа результатов масс-спектрометрической идентификации белков (выбор параметра CGAP_SAGE_QUARTILE (The cancer genome anatomy project / serial analysis of gene expression)) (см. таблицу), основным группирующим фактором была выбрана взаимосвязь экспрессии белков с патогенезом онкологических заболеваний женской репродуктивной системы.

Установлено, что 51 белок (49,5% от исходного списка) кодируется генами, дифференциально экспрессирующимися в культурах клеток женской репродуктивной системы. При этом выявлено 4 группы белков, характерных для различных типов опухолевых клеток (серозная аденокарцинома яичника, цистаденома яичника иммортализованная, карцинома яичника) и для иммортализованного нормального поверхностного эпителия яичника.

Эти результаты демонстрируют возможную значимость перечисленных белков в развитии физиологических и патологических процессов в клетках женской репродуктивной системы. Будучи пилотным проектом, проведенная работа является серьезной основой дальнейших исследований в данном направлении (например, для оценки клинической релевантности выявленной группы белков).

Заключение

При реализации пилотного проекта клинического протеомного исследования образцов ткани эндометрия проведена идентификация белков этой ткани. Последующее использование биоинформатических методов позволило выделить функциональные группы белков исходя из их потенциальной вовлеченности в процессы канцерогенеза.

Полученные данные могут служить отправной точкой дальнейших углубленных исследований эндометрия с использованием протеомного подхода, а также других OMICS-технологий. Применение биоинформатических методов анализа позволит выявить молекулярные механизмы взаимосвязи воспалительного процесса в эндометрии и возникновения гипер- и неоплазии слизистой оболочки полости матки.

Финансирование исследования. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллек-

тивного пользования «Протеом человека» (НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича).

Конфликт интересов. Авторы не заявляли о конфликте интересов.

Литература/References

1. Cicinelli E., Matteo M., Tinelli R., Lepera A., Alfonso R., Indraccolo U., Marrocchella S., Greco P., Resta L. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod* 2015; 30(2): 323–330, <https://doi.org/10.1093/humrep/deu292>.
2. Kitaya K., Matsubayashi H., Yamaguchi K., Nishiyama R., Takaya Y., Ishikawa T., Yasuo T., Yamada H. Chronic endometritis: potential cause of infertility and obstetric and neonatal complications. *Am J Reprod Immunol* 2016; 75(1): 13–22, <https://doi.org/10.1111/aji.12438>.
3. Kasius J.C., Fatemi H.M., Bourgain C., Sie-Go D.M., Eijkemans R.J., Fauser B.C., Devroey P., Broekmans F.J. The impact of chronic endometritis on reproductive outcome. *Fertil Steril* 2011; 96(6): 1451–1456, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.09.039>.
4. Tortorella C., Piazzolla G., Matteo M., Pinto V., Tinelli R., Sabbà C., Fanelli M., Cicinelli E. Interleukin-6, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor in menstrual effluents as biomarkers of chronic endometritis. *Fertil Steril* 2014; 101(1): 242–247, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.09.041>.
5. Viana G.A., Cela V., Ruggiero M., Pluchino N., Genazzani A.R., Tantini C. Endometritis in infertile couples: the role of hysteroscopy and bacterial endotoxin. *JBRA Assist Reprod* 2015; 19(1): 21–23, <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20150006>.
6. Arlas T.R., Wolf C.A., Petrucci B.P., Estanislau J.F., Gregory R.M., Jobim M.I., Mattos R.C. Proteomics of endometrial fluid after dexamethasone treatment in mares susceptible to endometritis. *Theriogenology* 2015; 84: 617–623, <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.04.019>.
7. Diakos C.I., Charles K.A., McMillan D.C., Clarke S.J. Cancer-related inflammation and treatment effectiveness. *Lancet Oncol* 2014; 15(11): 493–503, [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(14\)70263-3](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(14)70263-3).
8. Lax S.F. Pathology of endometrial carcinoma. *Adv Exp Med Biol* 2017; 943: 75–96, https://doi.org/10.1007/978-3-319-43139-0_3.
9. Nakamura K., Smyth M.J. Targeting cancer-related inflammation in the era of immunotherapy. *Immunol Cell Biol* 2017; 95(4): 325–332, <https://doi.org/10.1038/icb.2016.126>.
10. Zhang X., Meng X., Chen Y., Leng S.X., Zhang H. The biology of aging and cancer: frailty, inflammation, and immunity. *Cancer J* 2017; 23(4): 201–205, <https://doi.org/10.1097/00130404-201707000-00002>.
11. Adamyan L.V., Starodubtseva N., Borisova A., Stepanian A.A., Chagovets V., Salimova D., Wang Z., Kononikhin A., Popov I., Bugrova A., Chingin K., Kozachenko A., Chen H., Frankevich V. Direct mass spectrometry differentiation of ectopic and eutopic endometrium in patients with endometriosis. *J Minim Invasive Gynecol* 2017; 25(3): 426–433, <https://doi.org/10.1016/j.jmig.2017.08.658>.
12. Martinez-Garcia E., Lesur A., Devis L., Cabrera S., Matias-Guiu X., Hirschfeld M., Asberger J., van Oostrum J.,

Casares de Cal M.L.Á., Gómez-Tato A., Reventos J., Domon B., Colas E., Gil-Moreno A. Targeted proteomics identifies proteomic signatures in liquid biopsies of the endometrium to diagnose endometrial cancer and assist in the prediction of the optimal surgical treatment. *Clin Cancer Res* 2017; 23(21): 6458–6467, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-17-0474>.

13. Kosteria I., Anagnostopoulos A.K., Kanaka-Gantenbein C., Chrousos G.P., Tsangaris G.T. The use of proteomics in assisted reproduction. *In Vivo* 2017; 31(3): 267–283, <https://doi.org/10.21873/invivo.11056>.

14. Moza Jalali B., Likso P., Skarzynski D.J. Proteomic and network analysis of pregnancy-induced changes in the porcine endometrium on day 12 of gestation. *Mol Reprod Dev* 2016; 83: 827–841, <https://doi.org/10.1002/mrd.22733>.

15. Subramanian A., Tamayo P., Mootha V.K.,

Mukherjee S., Ebert B.L., Gillette M.A., Paulovich A., Pomeroy S.L., Golub T.R., Lander E.S., Mesirov J.P. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(43): 15545–15550, <https://doi.org/10.1073/pnas.0506580102>.

16. *The human protein atlas*. URL: <https://www.proteinatlas.org/>.

17. *Tissue-specific gene expression and regulation (TiGER)*. URL: <http://bioinfo.wilmer.jhu.edu/tiger/>.

18. *DAVID 6.8*. URL: <https://david.ncifcrf.gov/>.

19. Huang da W., Sherman B.T., Lempicki R.A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc* 2009; 4(1): 44–57, <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.211>.