

ОБЗОР

УДК 577.27

©Коллектив авторов

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПРОТЕОМА ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА

Н.А. Пахарукова^{1}, Л.Х. Пастушкова¹, С.А. Мошковский², И.М. Ларина¹*

¹Учреждение Российской академии наук Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Хорошевское шоссе, 76-а, 123007 Москва; тел.: (499) 195-65-20; эл. почта: npakharukova@gmail.com

²Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН

Целью данного обзора является анализ работ, посвященных характеристике степени вариабельности белков и разнообразию их посттрансляционных модификаций у здорового человека. Многочисленными исследованиями продемонстрировано, что протеомный профиль выявляет значительную групповую и индивидуальную вариабельность, причем нередко естественная ("нормальная") вариабельность уровня некоторых белков может быть соотносимой или даже большей, чем уровни, присущие патологии. Результаты, полученные нашей группой, показали высокую вариабельность низкомолекулярного субпротеома сыворотки крови (коэффициент вариации (CV) 42,6%) у здоровых лиц, отобранных специальной медицинской комиссией. Белки, характеризующиеся высоким разбросом концентраций в норме (например, гаптоглобин – 0-40 мг/мл; лизоцим – 0,01-0,1 мг/мл; С-реактивный белок – 0,01-0,3 мг/мл), не следует рассматривать как возможные биомаркеры заболеваний. Напротив, резкое изменение уровня белков и пептидов, обладающих незначительной дисперсией в популяции здоровых лиц и стабильных во времени (такие как альбумин – CV 9%; трансферрин – CV 14%; комплемент С3с – CV 17%, кислый α -1-гликопротеин – CV 21%, α_2 -макроглобулин – CV 20%; фрагменты транстиретина – CV 28,3% и β -цепи α 2-HS-гликопротеина – CV 29,7%), может дать важную информацию о состоянии здоровья. Таким образом, знание пределов пластичности протеомного профиля здорового человека поможет скорректировать существующие границы физиологической нормы, принятые в клинической протеомике.

Ключевые слова: вариабельность, протеомный профиль, здоровый человек.

ВВЕДЕНИЕ. В настоящее время протеомные технологические платформы, основанные, преимущественно, на методах масс-спектрометрии, используются для решения прикладных медицинских проблем, таких как тестирование эффективности лекарственных средств, выявление клеточных мишеней новых фармакологических агентов, обнаружение белковых биомаркеров различных заболеваний. Использование технологии прямого масс-спектрометрического профилирования (главным образом, чипов SELDI-TOF) позволило выявить группы пиков, по которым можно отличить масс-спектр здорового человека от больного с достаточно высокой чувствительностью и специфичностью [1-12].

* - адресат для переписки

Однако более детальная оценка этих результатов вызвала сомнения относительно воспроизводимости данных и идентичности белков протеомных паттернов [13-19]. Главная проблема заключалась в несоответствии дискриминаторных пиков, обнаруженных разными исследовательскими группами даже при использовании одних и тех же методической платформы и биоматериала [20-25]. Подобные расхождения могут быть объяснены плохо стандартизованным аналитическим протоколом, так как условия хранения проб, повторное размораживание и другие факторы могут существенно влиять на параметры контроля качества исследования. Вместе с тем, в клинической протеомике, как и в других медицинских исследованиях, остро стоит проблема естественной вариабельности контрольного биоматериала. Действительно, обследуемые, которые служат в качестве контроля в клинических испытаниях, обычно не являются практически здоровыми людьми, так как последние, как правило, недоступны в условиях обычной клинической работы. Поэтому достоверные источники для оценки вариабельности содержания тех или иных белков в норме малочисленны, и такие исследования представляют особую ценность. При обнаружении в крови белков, потенциальных биомаркеров, необходимо знать, какой степени изменчивости обладает концентрация данных белков в норме, а также - могут ли существующие протеомные технологии выявить у больных людей белки, не обнаруживаемые в крови здоровых доноров.

Очевидно, что протеом здорового человека в состоянии сохранения организмом его функциональных резервов чрезвычайно пластичен [26, 27]. Текущее состояние различных систем организма, тканей, клеток после экспрессии определенных генов зависит от широких вариаций сплайсинга, посттрансляционных модификаций, особенностей белковой композиции сложных белковых комплексов и характера белок-белковых взаимодействий [26, 28, 29]. Кроме того, помимо значительных различий протеомного профиля у разных индивидуумов и естественных колебаний индивидуального протеома во времени, существуют вариации количественного содержания и качественного состава белков, связанные с адаптивным ответом на изменение внешних условий. Границы физиологической нормы у большинства белков и пептидов к настоящему времени неизвестны, несмотря на то, что изучение данной проблемы имеет большое значение как для фундаментальной, так и прикладной протеомики.

Поэтому целью данного обзора является анализ исследований, посвященных характеристике степени вариабельности белков и разнообразию их посттрансляционных модификаций у здорового человека.

1. ПОПУЛЯЦИОННАЯ ПРОТЕОМИКА. ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗНООБРАЗИЯ БЕЛКОВ И ИХ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ ВНУТРИ ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ.

Разнообразие белков в человеческой популяции, уровень их экспрессии, типы посттрансляционных модификаций и их возможную связь с патологией изучает популяционная протеомика. Предположительно, 40-60% генов человека, кодирующих белки, образуют различные изоформы протеинов, полученные в результате альтернативного сплайсинга, который сопровождается соединением экзонов гена в разных комбинациях с образованием различных зрелых молекул мРНК [28]. В результате один ген может кодировать не одну, а множество форм белка. Кроме того, большинство белков подвергаются посттрансляционным модификациям, точный тип и положение которых в молекуле белка невозможно предсказать, основываясь лишь на генетической информации. В настоящее время известно более 200 видов посттрансляционных модификаций (PTMs) [27]. При комбинации вариантов альтернативного сплайсинга и PTMs количество различных белковых молекул в организме одного индивидуума может достигать одного миллиона, то есть около 50 различных форм на один ген. Считается, что для белка в 500 аминокислотных остатков (а.о.), общее количество модификаций может составлять приблизительно одну модификацию на 10 а.о. [28].

Необходимо отметить, что в настоящее время отсутствуют данные о распределении внутри популяции специфических посттрансляционных модификаций даже высокопредставленных белков. Дегликозилирование, фосфолирование, сульфонирование и другие модификации известны для многих белков, однако неизвестна частота их встречаемости в популяции. В настоящее время существует только несколько работ, касающихся этого вопроса [29-33]. Возможно, недостаточность литературных данных о многообразии посттрансляционных модификаций белков отчасти объясняется тем, что отдельные их типы не только обратимы, но и короткоживущие, что методически крайне затрудняет их выявление [34-36].

В работе Nedelkov [31] с помощью масс-спектрометрического иммуноанализа были исследованы различные генетические варианты, мутации и посттрансляционные модификации 25 высокопредставленных белков плазмы крови у 96 обследуемых и показана частота их встречаемости в данной группе людей. В группу исследованных белков входили транспортные (ретинол-связывающий белок, трансферрин, транстиретин, аполипопротеины), ростовые факторы (инсулино-подобный фактор роста), ингибиторы ферментов (цистатин С), белки острой фазы (С-реактивный белок и сывороточный амилоид А1). Было обнаружено 76 структурных вариантов внутри исследуемой группы. Оказалось, что наиболее часто встречающимися модификациями являются укорочение аминокислотной последовательности белка с С- или N-конца, дегликозилирование и ряд других. Точечные мутации были детектированы в 4 из 20 белков (аполипопротеин Е, цистатин С, сывороточный амилоид А, транстиретин), причем наиболее высокая частота встречаемости таких мутаций обнаружена у транстиретина и аполипопротеина Е, что согласуется с геномными исследованиями, подтверждающими высокую степень полиморфизма данных белков [37, 38]. В последующем исследовании этого автора число образцов достигло 1000, что позволило выявить редкие модификации белков [32]. Некоторые варианты, такие как окисление и укорочение белка с концевых аминокислот наблюдались у большинства индивидуумов, когда как точечные мутации были детектированы только у некоторых людей. Из 27 выявленных модификаций 20 представляли собой посттрансляционные модификации и 7 – точечные мутации.

Несомненно, что знание многообразия белков внутри человеческой популяции может оказать существенное влияние на клиническую протеомику. Те модификации белков, которые имеют высокую частоту встречаемости в популяции, следует исключить как диагностические маркеры или более тщательно исследовать на уникальные варианты, специфичные для какого-либо заболевания [29, 33]. Кроме того, популяционная протеомика является средством для последующего филогенетического анализа, установления эволюционных взаимосвязей между группами организмов и объяснения механизмов их адаптации к условиям существования [39].

2. ИССЛЕДОВАНИЕ ГРУППОВОЙ И ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ ПРОТЕОМНОГО ПРОФИЛЯ.

Важной задачей популяционной протеомики также является определение границ варибельности всех белков организма внутри и между популяциями. К настоящему времени описана варибельность белков тканей различных организмов. Например, коэффициент вариации белкового состава растительных тканей составил 24% (при ошибке метода 16%) [40], а животных (грызунов, свиней) – от 40 до 60% (при ошибке метода 15-23%) [41, 42]. По данным Molloy с соавт., для клеточных линий бактерий и млекопитающих варибельность равна 24-47% [43]. Ряд работ посвящен изучению варибельности белков в тканях человека (табл. 1). Так, Zhang с соавт. [44] анализировали индивидуальные различия протеома печени у добровольцев, которым была назначена операция по удалению гемангиомы. Доноры, имеющие различные заболевания печени

(цирроз, гепатит и др.), были исключены. Для оценки степени биологических вариаций применяли технологию двумерного гель-электрофореза в сочетании с MALDI-TOF масс-спектрометрией. Благодаря способности разделять тысячи генных продуктов (белковых пятен) на одном геле, определять изоформы, полиморфизм и посттрансляционные модификации (фосфорилирование, гликозилирование, ацетилирование, метилирование), вызванные различными факторами, двумерный электрофорез является широко распространенным методом популяционной протеомики [39]. В работе Zhang с соавторами только 12 белковых пятен (около 3% от общего числа) имели коэффициент вариации больше 50%, что свидетельствовало об относительной стабильности протеома печени внутри обследованной группы. Так, значительной групповой вариабельностью характеризовались супероксиддисмутаза (CV=101%), пероксиредоксин 6 (CV 101%), 4-аминобутират аминотрансфераза (CV 57,4%), предшественник гаптоглобина (CV 105,3%) и др. (табл. 1). Наиболее высокий коэффициент вариации имел TCPC (translationally controlled tumor protein) – 108,5%. Ранее сообщалось, что экспрессия данного белка происходит при росте опухоли, однако он может синтезироваться и в здоровых клетках [45].

Ни и соавторы проанализировали 12 образцов спинномозговой жидкости (СМЖ) от 6 индивидуумов [46]. От каждого добровольца было получено по 2 образца СМЖ, собранных с двухнедельным интервалом. После удаления мажорных белков проводили двумерный электрофорез, затем трипсинолиз, масс-спектрометрию и идентификацию белков по базам данных. Статистический анализ показал, что 2 образца, полученные в разное время у одного индивидуума, имеют большее сходство, чем протеомные профили разных людей. Тем не менее, определенная степень индивидуальной вариабельности протеома СМЖ была обнаружена в течение двухнедельного периода (табл. 1). Наиболее вариабельными белками СМЖ оказались транстиретин, хромогранины А и В, компоненты комплемента С4а и С3, β -предшественник фибриногена, α_2 -макроглобулин и убиквитин; однако, однонаправленных изменений этих белков у 6 обследованных обнаружено не было. Данный факт свидетельствует о том, что индивидуальные отличия протеома СМЖ отражают его стабильное динамическое состояние, а вариабельность конкретных белков за короткий период времени связана, по-видимому, с особенностями их метаболизма. Тем не менее, наличие индивидуальной вариабельности протеома является фактором, существенно осложняющим поиск биомаркеров, и длительное измерение уровня потенциального биомаркера у разных индивидуумов может быть решающим при демонстрации его клинической значимости.

В работе по изучению вариабельности протеома тромбоцитов, выполненной Winkler с соавт., было также продемонстрировано, что отличия между индивидуумами значительно выше изменчивости, наблюдаемой при анализе нескольких образцов одного и того же испытуемого, полученных в разное время [47].

Оценка стабильности протеомного профиля плазмы крови была проведена в работе Nelsestuen с соавторами [26]. В данном исследовании проанализировали более 400 образцов плазмы и сыворотки крови. Было установлено, что отличия протеома между индивидуумами намного более выражены, чем у одного индивидуума в течение длительного времени (спустя 4 месяца, 3 года), что согласуется с данными выше проведенных исследований. Таким образом, каждый индивидуум отображает уникальный протеомный профиль, который, в основном, незначительно меняется во времени. По мнению авторов, стабильный протеомный профиль является показателем здоровья индивидуума, а резкие изменения протеома могут свидетельствовать о развитии заболевания, даже если они находятся в диапазоне нормы для здоровой популяции. Уникальность протеомного профиля, таким образом, может сформировать основу для развития персонализированной медицины.

Таблица 1. Результаты вариабельности некоторых белков здорового человека.

Статья	Материал исследования	Количество образцов	Срок обследования	Метод	Вариабельность между индивидуумами	Вариабельность индивидуума к образцу
Zhang et al., 2006	Ткань печени	10	-	Двумерный гель-электрофорез в сочетании с MALDI-TOF/TOF масс-спектрометрией	супероксиддисмутаза (CV=101%)	не анализировали
					пероксирадикасин 6 (CV=101%)	
					аппениноген (CV=60,8%)	
					4-алкилбутират эстераза (CV=57,4%)	
					гаптоглобин, предшественник (CV=105,3%)	
					опухолевый белок (transferrinly controlled tumor protein) (CV=108,3%)	
Hu et al., 2005	Сывороточная жидкость	6	2 недели	Двумерный гель-электрофорез в сочетании с MALDI-TOF/TOF масс-спектрометрией	10-формилтрансформилдегидрогеназа (CV=71,9%)	Трансферин (1,92±0,46)** Хромографин А (1,79±0,09) С4а-кимпламент (1,73±0,31) Тгалипексин, предшественник (1,63±0,09) Остеонектин А (1,50±0,11)
					C1-лептитрансформилдегидрогеназа (CV=58,7%)	
					не анализировали	
					Пектин (CV=49%)	
					Аппениноген А-1 (CV=113%)	
					Ванкулин (CV=36%)	
Winkle et al., 2006	Тромбоциты	20	-	Двумерный гель-электрофорез в сочетании с MALDI-TOF/TOF масс-спектрометрией	Коагуляционный фактор XIII-a (CV=37%)	не анализировали

Примечание. * - CV - коэффициент вариации; стандартное отклонение/среднее; ** - кратное изменение интенсивности белкового пятна между гелем-электрофореграммами (среднее±стандартное отклонение).

Таблица 1. Результаты варибельности некоторых белков здорового человека (продолжение).

Пахарукина с соавт., 2010	Сыворотка крови	56	-	Обработка матрицы частичами, MALDI-TOF масс-спектрометрия	не анализировали	Интер- α -трипсиновый ингибитор, фрагменты (CV=62%)	
						C3 комплемент, фрагменты (CV=70%)	
						C4a комплемент, фрагменты (CV=48%)	
						Вискозиметрический кининген, фрагменты (CV=76%)	
						Фибриноген, α -цепь, фрагменты (CM=48%)	
						Антириовин III (CM=55%)	
						Инулин (CV=51%)	
						Аппендицитозин АII, фрагмент (CV=41%)	
						Аппендицитозин CI (CV=79%)	
						Аппендицитозин CIII (CV=39%)	
						β 2-микроглобулин (CV=53%)	
						Цистатин C (CV=78%)	
						транспирин, фрагмент (CV=28%)	
						β -цепь α 2-HS-гликопротеина, фрагмент (CV=30%)	
Тунен M.K. et al., 1999	Плзма крови	31	1 год	ELISA		CA125 (cancer antigen 125) (CV=71%)	CA125 (cancer antigen 125) (CV=36%)
						CEA (carcinoembryonic antigen) (CV=58%)	CEA (carcinoembryonic antigen) (CV=14%)
						TPA (tissue polypeptide antigen) (CV=63%)	TPA (tissue polypeptide antigen) (CV=31%)
Erden G. et al., 2008	Плзма крови	49	2 недели	Имунохимический методический анализ		CA19-9 (carbohydrate antigen 19-9 or sialylated Lewis (a) antigen) (CV=64%)	CA19-9 (carbohydrate antigen 19-9 or sialylated Lewis (a) antigen) (CV=27%)
						CEA (carcinoembryonic antigen) (CV=37%)	CEA (carcinoembryonic antigen) (CV=31%)
						AFP (alfa-fetoprotein) (CV=44%)	AFP (alfa-fetoprotein) (CV=27%)

Таблица 1. Результаты вариабельности некоторых белков здорового человека (продолжение).

Масу et al., 1997	Пикета крика	28	8 недель	ELISA	С-реактивный белок (CV=93%)	С-реактивный белок (CV=42%)
Huydt Petersen P. et al., 1981	Сыворотка крика	10	2 суток, 3 месяца	ELISA	не анализировали	Альбумин (CV=3,8% за 2 сутки, CV=2,2% за 3 месяца)
						α -1-антитрипси (CV=2,5% за 2 суток, CV=8,2% за 3 месяца)
						α -2-макроглобулин (CV=3,4% за 2 суток, CV=2,9% за 3 месяца)
Anesi A. et al., 2000	Сыворотка крика	18 пожилых обследованных и 14 молодых	6 недель	Использование биометрических наборов для определения на полуавтоматическом анализаторе	Миниглобин (CV=33% для пожилых испытателей, 16% для молодых)	Миниглобин (CV=11% для пожилых испытателей, 11% для молодых).
					Панкреатический альфа-амилаза (CV=30%)	Панкреатический альфа-амилаза (CV=8%)
Hinguet J. et al., 1991	Сыворотка крика	42	13 месяцев	Использование биометрических наборов для определения на полуавтоматическом анализаторе	Трансферин-амилаза (CV=38%)	Трансферин-амилаза (CV=39%)

Примечание. * - CV - коэффициент вариации: стандартное отклонение/среднее; ** - кратное изменение интенсивности белкового пятна между гель-электрограммами (среднее±стандартное отклонение).

Показатели как групповой, так и индивидуальной вариабельности, безусловно зависят от примененной технологической платформы. В работе Corzett с соавт. был проведен анализ вариабельности протеома плазмы с помощью технологии двумерного гель-электрофореза. Пробы крови от 11 испытуемых были получены трижды за двухнедельных период. В данной работе было показано, что наиболее существенными являются отличия белков между индивидуумами (групповая вариабельность), тогда как вариабельность протеомного профиля во времени была сопоставима с ошибкой метода [48]. Так, вариабельными компонентами были кластерин, плазминоген, предшественник комплемента C3, комплемент C4a, трансферрин и ряд других, однако, авторы не указывают конкретные значения коэффициентов вариации для данных белков.

По данным обзора Anderson [27], групповая вариабельность белков плазмы крови между индивидуумами составляет 45%, а индивидуальная – 23%. Результаты, полученные нашей группой, показали, что вариабельность низкомолекулярного субпротеома сыворотки крови между здоровыми индивидуумами (56 человек в возрасте от 20 до 50 лет) составляет 42,6%, что согласуется с вышеупомянутыми исследованиями [49]. По данным Winkler с соавт., коэффициенты вариации 10 мажорных белков плазмы крови находятся в диапазоне от 9 до 41%. Так, коэффициент вариации альбумина составляет 9%, иммуноглобулина G – 20%, трансферрина – 14%, гаптоглобина – 41%, комплемента C3с – 17%, α -1 кислого гликопротеина – 21%, α_2 -макроглобулина – 20% [47]. Анализ низкомолекулярного субпротеома здоровых лиц также позволил выявить компоненты, характеризующиеся высокой и низкой индивидуальной вариабельностью. Интенсивность пиков фрагментов транстиретина и β -цепи α_2 -HS-гликопротеина незначительно отличалась в спектрах сыворотки крови внутри обследуемой группы – коэффициенты вариации пиков составляли 28% и 30% соответственно. Фрагменты высокомолекулярного кининогена (CV 76%), интер- α -трипсинового ингибитора (CV 62%), C3 и C4a фрагменты комплемента (CV 70% и 48% соответственно), аполипопротеин CI (CV 79%) и β_2 -микроглобулин (CV 53%) и ряд других характеризовались значительными индивидуальными отличиями [49] (табл. 1). Несомненно, что в случае регуляторных белков и пептидов групповая вариабельность белков плазмы от организма к организму может быть значительно выше, что может существенно затруднять интерпретацию данных в попытках открытия потенциальных биомаркеров.

Значимость измерения уровня какого-либо белка в медицинской практике главным образом определяется тем, находится ли он внутри так называемого “нормального диапазона”. В традиционной клинической биохимии определение нормального диапазона основано на оценке распределения результатов измерений, полученных благодаря анализу большого количества образцов от индивидуумов, которые удовлетворяют установленному критерию здоровья относительно тестируемого показателя. Согласно Уставу Всемирной Организации Здравоохранения [50], критерием здоровья является полное физическое, психическое и социальное благополучие, а не просто отсутствие болезней или физических дефектов. Разработка понятия нормы является весьма важной как для фундаментальной, так и для прикладной медицины. Традиционно интервал нормы рассматривают как диапазон (около 2 стандартных отклонений выше и ниже среднего значения), внутри которого лежат 95% полученных результатов. Однако, по мнению Уильямса, представление о норме как о некоторой средней величине является неприемлемым, поскольку вариации отдельных показателей от индивида к индивиду могут достигать 800% и более [51]. Определение Королькова А.А., характеризующее норму как диапазон вариаций различных показателей, при котором сохраняется оптимальность функциональных проявлений [52], таким образом, является более корректным. При этом необходимо учитывать, что норма может зависеть от возрастных, половых, конституциональных, психофизиологических, сезонных и других факторов.

Различают статистическую, клиническую, идеальную и физиологическую нормы [53]. Статистическая норма описывается определенными пределами отклонения от среднего значения. Клиническая норма характеризует значения показателей у лиц без проявлений заболевания. Идеальная норма отражает состояние людей, которые находятся в наиболее благоприятных условиях. Физиологическая норма указывает на сохранение достаточного уровня функциональных возможностей организма.

Понятие нормы включает в себя способность адаптироваться к определенным воздействиям факторов окружающей среды. В связи с этим выделяют также адаптивную норму, являющуюся результатом приспособления организма к различным экологическим уровням [54]. Способность организма адекватно изменять свои функциональные параметры и сохранять оптимальность в различных условиях является наиболее характерным показателем здоровья [53].

Таким образом, проблема нормы сложна и неоднозначна, поскольку генетические, возрастные, половые отличия, а также адаптационная пластичность среди здоровых людей расширяют распределение значений в популяции, при этом интервал клинической нормы может давать как ложно-положительные, так и ложно-отрицательные результаты, т.е. приводить к ошибочной классификации здоровых людей как больных и пропускать многие аномальные значения, когда заболевание сдвигает “выброс” в нормальный диапазон популяции [48]. Этот факт находит свое подтверждение в статье Voshol с соавт. [55]. Белок, идентифицированный как GFAP (glial fibrillary acidic protein), имел большой разброс концентраций как среди больных, так и среди здоровых лиц, и авторы пришли к выводу, что этот белок не может расцениваться как биомаркер. С другой стороны, имеет значение не только “выброс” значения показателя за диапазон нормальных значений, но и продолжительность нахождения показателя за границами нормы. Изучение вариабельности CA125 (cancer antigen 125), TPA (tissue polypeptide antigen), CEA (carcinoembryonic antigen) у 31 здоровой женщины в течение 12 месяцев показало, что индивидуальная динамика уровня данных белков должна учитываться при мониторинге пациентов с различными типами рака [56]. Анализ динамики CEA (carcinoembryonic antigen), CA19-9 (carbohydrate antigen 19-9 or sialylated Lewis (a) antigen) и AFP (alfa-fetoprotein) у 49 здоровых обследуемых в течение двух недель также свидетельствует о необходимости включения данных о нормальной вариабельности этих биомаркеров в диагностические тесты [57].

Описанные выше исследования указывают на необходимость оценки общей изменчивости протеомного профиля перед проведением сравнительных протеомных экспериментов. Такой анализ позволит отличить изменения, характерные для какого-либо заболевания, от естественной пластичности протеома. Очевидно, что белки, коэффициент вариации которых внутри нормальной популяции превышает 50%, нельзя рассматривать в качестве потенциальных биомаркеров, либо необходимо проводить дополнительные эксперименты для подтверждения полученных результатов.

Богатый опыт клинических исследований в области биохимии крови накоплен лишь в отношении немногих исторически хорошо исследованных белков; так недавно были опубликованы референсные значения концентрации в плазме 150 высокопредставленных белков, собранные из литературных источников [58]. Согласно этим данным, концентрации большинства описанных белков у здоровых людей могут различаться в 2-5 раз. Однако некоторые белки могут варьировать более значительно. Например, содержание гаптоглобина в плазме может находиться в интервале от 0 до 40 мкмоль/л, С-реактивного белка - от 0,01 до 0,3 мкмоль/л (табл. 2). Другими авторами также подтверждается высокая вариабельность С-реактивного белка и в связи с этим невозможность использования его как биомаркера сердечно-сосудистых заболеваний в клинических исследованиях [59]. Так, для этого белка были определены

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ПРОТЕОМА ЗДОРОВОГО ЧЕЛОВЕКА

значения внутри- и межиндивидуальной вариабельности, составившие 42% и 93% соответственно [60]. При этом коэффициент вариации метода составил от 3 до 6%. Также была обнаружена высокая изменчивость α -1-кислого гликопротеина, гаптоглобина и α -1-химотрипсина у 19 здоровых людей в течение 20 недель [61]. Исследование вариабельности панкреатической α -амилазы и триацилглицерол-липазы в сыворотке 42 здоровых добровольцев в течение 13 месяцев показало высокую вариабельность данных белков (табл. 1) [62].

Таблица 2. Диапазон концентраций некоторых белков в плазме крови (модифицировано по [58]).

Название белка	M_r , кДа	Концентрация, ммоль/л
Иммуноглобулин α1, тяжелая цепь	57	8-50
Гаптоглобин, β-цепь	35	6-40
Гаптоглобин, α1-цепь	9,2	0-40
Гаптоглобин, α2-цепь	15,9	0-40
Иммуноглобулин γ3, тяжелая цепь	50	2-16
Иммуноглобулин γ4, тяжелая цепь	50	0,3-13
Иммуноглобулин α2, тяжелая цепь	55	1-7
Иммуноглобулин J-цепь	16	0,5-4
Гемоглобин, α-цепь	15,1	0,3-4
Гемоглобин, β-цепь	15,9	0,3-4
Лизоцим	14,7	0,01-1
Фиксин-2, субъединица	35	0,03-0,4
C-реактивный белок	23	0,01-0,3

Индивидуальная вариабельность α -1-антитрипсина, α ₂-макроглобулина и альбумина, напротив, была невысока – средние значения коэффициентов вариации у 6 здоровых мужчин за 2 суток составили 2,5, 3,4 и 3,8% соответственно. Изменение содержания данных белков у 5 здоровых мужчин и 5 женщин за 3 месяца также было незначительным (табл. 1) [63].

В работе Anesi с соавторами была проанализирована групповая и индивидуальная вариабельность миоглобина сыворотки в двух возрастных группах: от 74 до 90 лет (9 мужчин и 9 женщин) и от 25 до 31 года (7 мужчин и 7 женщин). Для определения индивидуальной вариабельности пробы крови отбирали дважды за шестинедельный период. Было показано, что индивидуальная вариабельность уровня миоглобина в крови не зависит от возраста, тогда как групповая, напротив, с возрастом увеличивается (табл. 1). Кроме того, групповая вариабельность данного белка у мужчин была выше, чем у женщин [64]. Широкомасштабное исследование с участием 811 здоровых индивидуумов в возрасте от младенчества до 92 лет выявило достоверное изменение содержания IgG, IgA и IgM с возрастом. Так, концентрация иммуноглобулина M

уменьшалась к 60-ти годам [65]. Содержание альбумина, церулоплазмينا, α -1-антитрипсина, α -1-кислого гликопротеина и трансферрина также значительно отличается у людей различного возраста и пола [66]. Таким образом, для определения интервала физиологической нормы белков и пептидов нужно принимать во внимание возраст и пол индивидуумов.

Не вызывает сомнения, что на протеом биологических жидкостей могут оказать влияние различные факторы: питание (содержание в пище жиров и белков), курение, а также уровень двигательной активности - занятия спортом или, напротив, длительный постельный режим [27]. Так, Poortmans и Naralambie [67] анализировали концентрацию белков в крови до и после шоссейного марафона у 11 спортсменов. Было показано, что после соревнования концентрация гаптоглобина снизилась на 40%. Известно также, что белковый состав крови несколько отличается у человека в положении сидя или лёжа [68].

К настоящему моменту многими исследованиями подтверждена сезонная и суточная динамика белкового состава плазмы крови [27]. Например, известно, что время суток влияет на секрецию пролактина [69], гормона роста [70], мелатонина [71, 72], серотонина и АКТГ [70], паратиреоидного гормона и кальцитонина [73]. Кроме того, обнаружено наличие циркадианных ритмов в отношении концентрации преальбумина, α -1-антитрипсина, оросомукоида, церулоплазмينا и трансферрина [74].

Wiedermann с соавторами анализировали изменения 17 белков сыворотки крови у 46 женщин через 30 и 54 недели после введения внутриматочной спирали [75]. Оказалось, что через 30 недель после введения контрацептивного средства повысилась концентрация α -2-HS-гликопротеина, β -2-гликопротеина I и α -1-антитрипсина, что, вероятно, вызвано увеличением протеазной активности. Кроме того, обнаружено увеличение содержания трансферрина и уменьшение гаптоглобина через 30 недель после введения внутриматочной спирали и уменьшение альбумина и гемопексина через 54 недели, что может объясняться обильными кровотечениями при менструации, вызвавшими железодефицит.

В работе Aldred с соавторами [76] было исследовано влияние приёма витамина Е (альфа-токоферола) на протеомный профиль плазмы у 32 здоровых индивидуумов (11 мужчин и 21 женщины). После удаления альбумина из анализируемых проб был проведен двумерный гель-электрофорез с последующим трипсинолизом и идентификацией белковых пятен посредством масс-спектрометрического анализа пептидных фрагментов. Исследователи выявили, что приём витамина Е приводит к более чем двукратному увеличению проаполипопротеина A1, что было также подтверждено иммунологическими методами. Прием рыбьего жира приводил к модуляции липидного обмена (уменьшение аполипопротеинов А, L и предшественника сывороточного амилоида Р) и снижению концентрации белков острой фазы (интер- α -трипсинового ингибитора, гаптоглобина) [77].

В некоторых работах исследовали реакцию протеомного профиля плазмы на воздействие различных химических веществ на организм, так как изучение влияния вредных соединений на белковую композицию плазмы/сыворотки является важным для мониторинга состояния здоровья рабочих и прогноза возможного риска развития заболеваний. Так, были проанализированы изменения экспрессии белков плазмы у мужчин, работающих на предприятиях по сжиганию и утилизации мусора [78]. Наличие в уничтожаемом мусоре повсеместно распространённого поливинилхлорида и других полимеров способствует образованию в дымовых газах диоксинов, которые вызывают снижение иммунитета, образование злокачественных опухолей и негативно влияют на репродуктивную систему. Так, у рабочих мусороперерабатывающих предприятий наблюдали увеличение экспрессии адреномедулин-связывающего белка и α -фетопропротеина [78]. Joо с соавт. продемонстрировали увеличение β -цепи рецептора Т-клеток, FK506-связывающего белка и матриксной

металлопротеиназы-13 в плазме при экспозиции бензолом у 50 работников типографии [79]. Vermeulen с соавт. также анализировали изменения протеома при экспозиции бензолом [80]. Так, у 40 рабочих обувной фабрики выявлено уменьшение экспрессии тромбоцитарного фактора IV и СТАР (connective tissue activating peptide). Авторы предполагают, что уменьшение данных белков может играть важную роль в снижении иммунитета, вызванного бензолом [80]. Длительная работа с полициклическими ароматическими углеводородами, к которым относятся пирен и бензапирен, вызывала увеличение β -цепи рецептора Т-клеток у 48 рабочих станции мониторинга выхлопных газов автомобилей [81].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Таким образом, композиция протеома сыворотки/плазмы крови является чрезвычайно пластичной, изменяющейся под воздействием различных факторов среды, и эти изменения могут затрагивать как экспрессию определенных генов и, впоследствии, синтез белков, так и модификации существующих белков и перестройку белок-белковых взаимодействий. Поэтому, а также в силу наличия индивидуальных генетических различий, протеомный профиль выявляет значительную групповую и индивидуальную вариабельность, причем нередко естественная ("нормальная") вариабельность уровня белков в плазме крови может быть соотносимой или даже большей, чем уровни, присущие патологии [56, 59, 66, 77, 80, 81]. Действительно, сравнение относительного изменения уровня белков в группах больной/контроль с диапазоном концентраций ряда мажорных белков в норме показало [82], что они соизмеримы. При этом границы вариабельности описаны лишь для небольшого количества белков. Таким образом, приведенные выше исследования указывают на необходимость оценки общей изменчивости протеомного профиля перед проведением сравнительных протеомных экспериментов. Такой анализ позволит отличить изменения, связанные с развитием какого-либо заболевания, от естественной динамики протеома. Белки, характеризующиеся высокой вариабельностью, нельзя рассматривать в качестве потенциальных биомаркеров, либо необходимо проводить дополнительные эксперименты для подтверждения полученных результатов (в том числе – с целью исключить возможность кратковременного изменения). Белки и пептиды, обладающие незначительной дисперсией в популяции здоровых лиц и имеющие стабильную во времени концентрацию, напротив, могут представить важную информацию о состоянии здоровья при резком изменении их уровня. Кроме того, большое значение имеет определение адаптационных перестроек белковой композиции при воздействии различных факторов внешней среды. Знание пределов нормальной пластичности протеомного профиля здорового человека поможет скорректировать существующие границы физиологической нормы, принятые в клинической протеомике.

Выполнение данного исследования было поддержано Договором №09-05-249 в рамках государственного контракта № 02.512.12.2048 Федерального агентства по науке и инновациям, программой ОБН РАН и грантом РФФИ № 08-04-01533-а.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Diamandis E.P.* (2002) *Lancet*, **360**, 170-171.
2. *Petricoin E.F., Ardekani A.M., Hitt B.A.* (2002) *Lancet*, **359**, 572-577.
3. *Moshkovskii S.A., Serebryakova M.V., Kuteykin-Tepliyakov K.B., Tikhonova O.V., Goufman E.I., Zgoda V.G., Taranets I.N., Makarov O.V., Archakov A.I.* (2006) *Proteomics*, **5**, 3790-3797.
4. *Diamandis E.P.* (2003) *J. Natl. Cancer Inst.*, **95**, 489-490.
5. *Vlahou A., Gregory B., Wright J., Gregory B., Fournier K., McGaughey D., Perry R.R., Wright G.L. Jr., Semmes O.J.* (2003) *Clin. breast cancer*, **4**, 203-209.

6. Koopmann J., Zhang Z., White N., Rosenzweig J., Fedarko N., Jagannath S., Canto M.I., Yeo C.J., Chan D.W., Goggins M. (2004) Clin. Cancer Res., **10**, 860-868.
7. Engwegen J.Y., Helgason H.H., Cats A., Harris N., Bonfrer J.M., Schellens J.H., Beijnen J.H. (2006) World J. Gastroenterol., **12**, 1536-1544.
8. Engwegen J.Y., Depla A.C., Smith M.E., Cats A., Tuynman H., van Heukelem H.A., Snel P., Meuleman W., Wessels L.F., Schellens J.H., Beijnen J.H. (2008) Biomarker Insights, **2**, 375-385.
9. Miguet L., Bogumil R., Decloquement P., Herbrecht R., Potier N., Mauvieux L., Van Dorsselaer A. (2006) J. Proteome Res., **5**, 2258-2269.
10. Zheng P.P., Luider T.M., Pieters R., Avezaat C.J., van den Bent M.J., Sillevs Smitt P.A., Kros J.M. (2003) J. Neuropathol. Exp. Neurol., **62**, 855-862.
11. Carrette O., Demalte I., Scherl A., Yalkinoglu O., Corthals G., Burkhard P., Hochstrasser D.F., Sanchez J.C. (2003) Proteomics, **3**, 1486-1494.
12. Guillaume E., Zimmerman C., Burkhard P.R., Hochstrasser D.F., Sanchez J.C. (2003) Proteomics, **3**, 1495-1499.
13. Sorace J.M., Zhan M. (2003) BMC Bioinformatics, **9**, 4-24.
14. Baggerly K.A., Morris J.S., Edmonson S.R., Coombes K.R. (2005) J. Natl. Cancer Inst., **97**, 307-309.
15. Rai A.J., Stemmer P.M., Zhang Z., Adam B.L., Morgan W.T., Caffrey R.E., Podust V.N., Patel M., Lim L.Y., Shipulina N.V., Chan D.W., Semmes O.J., Leung H.C. (2005) Proteomics, **5**, 3467-3474.
16. Semmes O.J., Feng Z., Adam B.L., Banez L.L., Bigbee W.L., Campos D., Cazares L.H., Chan D.W., Grizzle W.E., Izbicka E., Kagan J., Malik G., McLerran D., Moul J.W., Partin A., Prasanna P., Rosenzweig J., Sokoll L.J., Srivastava S., Thompson I., Welsh M.J., White N., Winget M., Yasui Y., Zhang Z., Zhu L. (2005) Clin. Chem., **51**, 102-112.
17. Whiteaker J.R., Zhang H., Eng J.K., Fang R., Piening B.D., Feng L.C., Lorentzen T.D., Schoenherr R.M., Keane J.F., Holzman T., Fitzgibbon M., Lin C., Zhang H., Cooke K., Liu T., Camp D.G. 2nd, Anderson L., Watts J., Smith R.D., McIntosh M.W., Paulovich A.G. (2007) J. Proteome Res., **6**, 828-836.
18. Baumann S., Ceglarek U., Fiedler J.M., Lembecke J., Leichtle A., Thiery J. (2005) Clin. Chem., **51**, 973-980.
19. Tiss A., Smith C., Camuzeaux S., Kabir M., Gayther S., Menon U., Waterfield M., Timms J., Jacobs I., Cramer R. (2007) Practical proteomics, **7** Suppl 1, 77-89.
20. Ransohoff D.F. (2005) J. Natl. Cancer Inst., **97**, 315-319.
21. Diamandis E.P. (2003) Clin. Chem., **49**, 1272-1275.
22. Diamandis E.P. (2004) J. Natl. Cancer Inst., **96**, 353-356.
23. Diamandis E.P. (2004) Mol. Cell. Proteomics, **3**, 367-378.
24. Coombes K.R., Morris J.S., Hu J., Edmonson S.R., Baggerly K.A. (2005) Nat. Biotechnol., **23**, 291-292.
25. Diamandis E.P. (2004) Expert Rev. Mol. Diagn., **4**, 575-577.
26. Nelsestuen G.L., Zhang Y., Martinez M.B., Key N.S., Jilma B., Verneris M., Sinaiko A., Kasthuri R.S. (2005) Proteomics, **5**, 4012-4024.
27. Anderson N.L., Anderson N.G. (2002) Mol. Cell. Proteomics, **1**, 845-867.
28. Nielsen M.L., Savitski M.M., Zubarev R.A. (2006) Mol. Cell. Proteomics, **5**, 2384-2391.
29. Nedelkov D. (2006) Expert Rev. Proteomics, **3**, 631-640.
30. Nedelkov D., Tubbs K.A., Niederkofler E.E., Kiernan U.A., Nelson R.W. (2004) Anal. Chem., **76**, 1733-1737.
31. Nedelkov D. (2005) Expert Rev. Proteomics, **2**, 315-324.
32. Nedelkov D., Phillips D.A., Tubbs K.A., Nelson R.W. (2007) Mol. Cell. Proteomics, **6**, 1183-1187.
33. Nedelkov D. (2008) Proteomics, **8**, 779-786.
34. Mirza S.P., Olivier M. (2008) Physiol. Genomics, **33**(1) 3-11. Epub 2007 Dec 27.

35. Farley A.R., Link A.J. (2009) *Methods Enzymol.*, **463**, 725-763.
36. Blackburn K., Goshe M.B. (2009) *Brief. Funct. Genomics*, **8**(2), 90-103. Epub 2008 Dec 24.
37. Connors L.H., Lim A., Prokaeva T., Roskens V.A., Costello C.E. (2003) *Amyloid*, **10**, 160-184.
38. Mahley R.W., Huang Y. (1999) *Curr. Opin. Lipidol.*, **10**, 207-217.
39. Biron D.G., Loxdale H.D., Ponton F., Moura H., Marché L., Brugidou C., Thomas F. (2006) *Proteomics*, **6**, 1712-1715.
40. Asirvatham, V.S., Watson, B.S., Sumner, L.W. (2002) *Proteomics*, **2**, 960-968.
41. Jorge I., Navarro R.M., Lenz C., Ariza D., Porras C., Jorin J. (2005) *Proteomics*, **5**, 222-234.
42. Ramirez-Boo M., Garrido J.J., Ogueta S., Calvete J.J., Gomez-Diaz C., Moreno A. (2006) *Proteomics*, **6**, S215-S225.
43. Molloy M.P., Brzezinski E.E., Hang J., McDowell M.T., VanBogelen R.A. (2003) *Proteomics*, **3**, 1912-1919.
44. Zhang X., Guo Y., Song Y., Sun W., Yu C., Zhao X., Wang H., Jiang H., Li Y., Qian X., Jiang Y., He F. (2006) *Proteomics*, **6**, 5260-5268.
45. Sanchez J.C., Schaller D., Ravier F., Golaz O., Jaccoud S., Belet M., Wilkins M.R., James R., Deshusses J., Hochstrasser D. (1997) *Electrophoresis*, **18**, 150-155.
46. Hu Y., Malone J.P., Fagan A.M., Townsend R.R., Holtzman D.M. (2005) *Mol. Cell. Proteomics*, **4**, 2000-2009. Epub 2005 Sep 30.
47. Winkler W., Zellner M., Diestinger M., Babeluk R., Marchetti M., Goll A., Zehetmayer S., Bauer P., Rappold E., Miller I., Roth E., Allmaier G., Oehler R. (2008). *Mol. Cell. Proteomics*, **7**, 193-203.
48. Corzett T.H., Fodor I.K., Choi M.W., Walsworth V.L., Turteltaub K.W., McCutchen-Maloney S.L., Chromy B.A. (2010) *J. Biomed. Biotechnol.*, doi: 10.1155/2010/258494, Epub 2010 Jan 14.
49. Пахарукова Н.А., Пастушкова Л.Х., Трифонова О.П., Мошковский С.А., Ларина И.М. (2011) *Физиология человека*, **37**(2), 1-9.
50. Устав Всемирной Организации Здравоохранения <http://apps.who.int/gb/bd/PDF/bd47/RU/constitution-ru.pdf>
51. Уильямс Р. (1960) Биохимическая индивидуальность: Основы генетотрофной концепции. (пер. с англ.), М.: Иностранная литература. - 296 с.
52. Корольков А.А. (1979) Диалектика и теоретическая медицина. М.: Медицина, 1979. - 235 с.
53. Григорьев А.И., Баевский Р.М. (2001) Концепция здоровья и проблема нормы в космической медицине. М.: Слово, 96 с.
54. Шмальгаузен И.И. (1975) *Вестник АМН СССР*, **10**, 5-16.
55. Voshol H., Glucksman M.J., van Oostrum J. (2003) *Curr. Mol. Med.*, **3**, 447-458.
56. Tuxen M.K., Sölétormos G., Petersen P.H., Schioler V., Dombernowsky P. (1999) *Gynecol. Oncol.*, **74**(1), 12-22.
57. Erden G., Barazi A.O., Tezcan G., Yildirimkaya M.M. (2008) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **68**, 212-218.
58. Hortin G.L., Sviridov D., Anderson N.L. (2008) *Clin. Chem.*, **54**, 1608-1616. Epub 2008 Aug 7.
59. Campbell B., Badrick T., Flatman R., Kanowski D. (2002). *Ann. Clin. Biochem.*, **39**(Pt 2), 85-88.
60. Macy E.M., Hayes T.E., Tracy R.P. (1997) *Clin. Chem.*, **43**, 52-58.
61. Clark G.H., Fraser C.G. (1993) *Ann. Clin. Biochem.*, **39**, 373-376.
62. Huguet J., Fuentes-Arderiu X. (1991) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **51**, 735-738.
63. Hyltoft Petersen P., Feldt-Rasmussen U., Hörder M., Blaabjerg O., Thygesen K. (1981) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **41**, 143-150.
64. Anesi A., Rondanelli M., Trotti R., Melzi d'Eril G.V. (2000) *Aging (Milano)*, **12**, 168-172.
65. Buckley C.E., Dorsey III F.C. (1970) *J. Immunol.*, **105**, 964-972.

66. Denko C.W., Gabriel P. (1981) *Ann. Clin. Lab. Sci.*, **11**, 63-68.
67. Poortmans J.R., Haralambie G. (1979) *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.*, **40**, 245-254.
68. Hyltoft Petersen P., Felding P., Hurder M., Tryding N. (1980) *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **40**, 623-628.
69. Linkowski P., Spiegel K., Kerkhofs M., L'Hermite-Balériaux M., Van Onderbergen A., Leproult R., Mendlewicz J., Van Cauter E. (1998) *Am. J. Physiol.*, **274**, 909-919.
70. Балаболкин М.И. (1998) *Эндокринология*. М.: Универсум паблишинг, 416 с.
71. Левин Я.И. (2007) *Русский медицинский журнал*. Неврология и психиатрия, **15**, 1851-1855.
72. Blumenthal G.M., Kohn M.C., Portier C.J. (1997) *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **147**(1), 83-92.
73. Ларина И.М., Моруков Б.В., Григорьев А.И. (1999) *Физиология человека*, **25**(6), 89-95.
74. Bruguerolle B., Bouvenot G., Arnaud C., Lévy F., Mechkouri M., Bartolin R., Peronne R. (1986) *Rev. Rhum. Mal. Osteoartic.*, **53**, 313-316.
75. Wiedermann D., Kriz J., Cidl K. (1980) *Czech. Med.*, **3**, 239-247.
76. Aldred S., Sozzi T., Mudway I., Grant M.M., Neubert H., Kelly F.J., Griffiths H.R. (2006) *Proteomics*, **6**, 1695-1703.
77. de Roos B., Geelen A., Ross K., Rucklidge G., Reid M., Duncan G., Caslake M., Horgan G., Brouwer I.A. (2008) *Proteomics*, **8**, 1965-1974.
78. Kang M.J., Lee D.Y., Joo W.A., Kim C.W. (2005) *J. Proteome Res.*, **4**, 1248-1255.
79. Joo W.A., Sul D., Lee D.Y., Kim C.W. (2004) *Mutat. Res.*, **558**(1-2), 35-44.
80. Vermeulen R., Lan Q., Zhang L., Gunn L., McCarthy D., Woodbury R.L., McGuire M., Podust V.N., Li G., Chatterjee N., Mu R., Yin S., Rothman N., Smith M.T. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 1704-1716.
81. Kap-Soon N., Do-Youn L., Hak C.J., Joo W.A., Lee E, Chan-Wha K. (2004) *Proteomics*, **4**, 3505-3513.
82. Trifonova O., Larina I., Grigoriev A., Lisitsa A., Moshkovskii S., Archakov A. (2010) *Expert Rev. Proteomics*. **7**, 431-438.

Поступила: 02. 11. 2010.

VARIABILITY OF HEALTHY HUMAN PROTEOME

N.A. Pakharukova¹, L.Kh. Pastushkova¹, S.A. Moshkovskii², I.M. Larina¹

¹State Scientific Centre – Institute For Biomedical Problems RAS, Khoroshevskoye sh., 76-a, Moscow, 123007 Russia; tel/fax: +7(499)195-65-20/ +7(499)195-63-20; e-mail: npakharukova@gmail.com

²Institute of Biomedical Chemistry RAMS

The purpose of this review is to analyze investigations devoted to characteristic of protein variability and diversity of their posttranslational modifications in healthy humans. The numerous researches have demonstrated that proteomic profile has a considerable both intra- and inter-individual variability, and quite often normal variability of some proteins can be comparable to changes observed in pathological processes. Results obtained by our research group have confirmed high intra-individual variability of serum low-molecular subproteome of healthy volunteers, certified by a special medial committee. Proteins characterized by high variability in normal conditions (e.g. haptoglobin - 0-40 mg/ml; lysozyme - 0,01-0,1 mg/ml; C-reactive protein - 0,01-0,3 mg/ml) should be excluded from the list of potential biomarkers. On the contrary, proteins and peptides characterized by insignificant dispersion in healthy population (such as albumin – coefficient of variation (CV) 9%; transferrin– CV 14%; C3c complement – CV 17%, α -1 acid glycoprotein - CV 21%, α_2 -macroglobulin – CV 20%; transthyretin fragment – CV 28,3% and β -chain α_2 -HS-glycoprotein – CV 29,7%) can provide us with important information about state of health. Thus investigations of plasticity in proteomic profiles of healthy humans will help to correct reference intervals used in clinical proteomics.

Key words: variability, proteomic profile, healthy human.