

уровня ИЛ-17А отмечены достоверно более высокие, индексы CDAI и SDAI, а также концентрация IgM РФ, чем в сравниваемой группе ( $p < 0,05$ ). При повышении уровня ИЛ-17А отмечены достоверно более высокие индексы CDAI и SDAI, а также концентрация IgM РФ, чем в группе больных, у которых ИЛ-17А в пределах нормы ( $p < 0,05$ ). У пациентов с гиперпродукцией ИЛ-17F выявлено преобладание значений СОЭ и СРБ по сравнению с нормальными значениями этого показателя ( $p < 0,05$ ). При этом концентрация ИЛ-17А коррелировала со значениями индекса SDAI ( $r = 0,17$ ,  $p < 0,05$ ) и IgM РФ ( $r = 0,19$ ,  $p < 0,05$ ), а уровень ИЛ-17F — с СОЭ ( $r = 0,23$ ,  $p < 0,05$ ). При высоких значениях ИЛ-23 достоверно ниже было ЧПС 28 ( $p < 0,05$ ), по другим показателям активности заболевания, IgM РФ и АЦЦП группы не различались. Не выявлено отличий по клиническим и лабораторным показателям активности РА между больными с одновременным повышением одного, двух или трех цитокинов и группами пациентов с нормальной их концентрацией. Высокие значения ИЛ-17А коррелировали с наличием у больных РА инфаркта миокарда в анамнезе ( $r = 0,17$ ,  $p < 0,05$ ).

**Заключение.** У больных РА в развернутую стадию болезни, гиперпродукция ИЛ-17F, преобладает над частотой повышения ИЛ-17А. Концентрация ИЛ-23 в сыворотке крови значимо выше у пациентов с РА по сравнению с группой контроля, а его высокие значения встречаются более чем у 40% пациентов. Совместная гиперпродукция ИЛ-17А и ИЛ-17F; ИЛ-17А, ИЛ-17F и ИЛ-23 не приводит к увеличению провоспалительного потенциала каждого отдельного цитокина.

*Лебедева Е.И.<sup>1</sup>, Щастный А.Т.<sup>1</sup>, Бабенко А.С.<sup>2</sup>*

## **ВЛИЯНИЕ ВЫБОРА РЕФЕРЕНСНОГО ГЕНА НА РЕЗУЛЬТАТ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ МРНК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОГЕНЕЗЕ ПЕЧЕНИ**

<sup>1</sup> Витебский государственный ордена Дружбы народов  
медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

<sup>2</sup> Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск,  
Республика Беларусь

*Lebedeva E.I., Shchastny A.T., Babenko A.S.*

## **INFLUENCE OF REFERENCE GENE CHOICE ON THE RESULT OF ASSESSING THE LEVEL OF MRNA EXPRESSION IN EXPERIMENTAL LIVER FIBROGENESIS**

При оценке уровня экспрессии генов значительную роль играет выбор правильной стратегии нормализации данных, в частности выбор адекватных референсных генов. Практически во всех случаях авторы

предлагают использовать для выбора оптимальных референсных генов специализированные алгоритмы, например — Bestkeeper, NormFinder, geNorm (qBase) и достаточно стандартные панели из числа генов домашнего хозяйства. При этом некоторые авторы указывают на невозможность введения единого критерия нормализации для различных тканей и экспериментальных условий.

**Цель:** изучить динамику и уровни мРНК генов *Sdha* (NCBI Gene ID: 157074), *Hprt* (NCBI Gene ID: 24465), *Prl3d1* (NCBI Gene ID: 53950) и *Hes1* (NCBI Gene ID: 29577) с точки зрения возможности их использования в качестве референсных генов для нормализации данных полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) при экспериментальном фиброзе печени.

В качестве процесса был выбран фиброгенез печени с последующим переходом в цирроз, в качестве индуктора — тиацетамид (ТАА). Модельный организм — крысы линии *Wistar*, как наиболее часто используемые лабораторные животные.

Данные ПЦР-РВ были получены для 216 образцов кДНК. Все образцы были разделены на 6 групп в соответствии с временем воздействия ТАА (m0 — интактные образцы, без воздействия ТАА; m1 — длительность воздействия ТАА 3 нед., m2 — 5 нед., m3 — 7 нед., m4 — 9 нед., m5 — 11 нед.). Каждая группа состояла из 12 кДНК, полученных в триплетах, суммарно 36. Для всех генов на всех экспериментальных и контрольной точках определили показатели диапазона Cq (quantitation cycle).

Для гена *Prl3d1* диапазоны Cq были чрезвычайно высокими (Cq выше 30 цикла, среднее 34,9 цикла), что в свою очередь говорит о низком уровне мРНК этого гена. Снижается ценность *Prl3d1* в качестве потенциального референсного гена для нормализации данных ПЦР-РВ. Также становится сложнее определить реальные колебания уровня мРНК в ответ на экспериментальное воздействие. Стоит отметить и колебания уровня мРНК гена *Prl3d1* в ходе эксперимента в разных группах практически на порядок (3–3,3 цикла).

Диапазон Cq для гена *Hes1* не превышал 2, что говорит в пользу более высокого потенциала гена для использования в качестве референсного. Уровень мРНК со средним значением Cq 29,3 расширяет возможности использования при анализе экспрессии генов по сравнению с *Prl3d1*. Этот ген не является идеальным референсным геном, однако может быть рассмотрен как ген-кандидат в отличие от *Prl3d1*.

Анализ уровня мРНК, часто используемых в качестве референсных генов *Sdha1* и *Hprt1*, показал, что при умеренной экспрессии (в среднем Cq порядка 27 цикла для обоих генов) наблюдается значительный разброс значений Cq от группы к группе.

В точке m1 при начальных изменениях паренхимы печени уровень мРНК всех генов возрос. Тем не менее *Hes1* и *Sdha* не показали заметного роста или падения в дальнейшем. В то время как *Hprt1* от-

реагировал не только в точке m1, но и далее в точке m2 (снижение) в рамках прогрессирования фиброза.

Наименьший показатель стандартного отклонения Cq для всех образцов в сумме показал ген *Hes1*. Геном-кандидатом, который способен составить пару *Hes1* для расчета среднего геометрического значения и повышения качества анализа, является *Sdha*. Такой же результат был предоставлен алгоритмами BestKeeper и NormFinder — пара *Hes1/Sdha*. Однако алгоритм geNorm счел оптимальной парой референсных генов для модели индуцированного химическим фактором фиброза — *Hprt/Sdha*.

**Заключение.** При рассмотрении процесса фиброгенеза от интактной печени до перехода фиброза в цирроз оптимальными референсными генами являются *Hes1* и *Sdha*. Однако при акцентах на конкретных этапах фиброза стоит выбирать пару генов в зависимости от показателей стабильности. На начальных стадиях фиброгенеза можно использовать *Sdha* и *Hprt*. Ген *Hes1* наилучшим образом подойдет на роль референсного в том случае, когда среднее значение Cq генов-мишеней будет составлять примерно 29 циклов (как у *Hes1*). С осторожностью стоит использовать *Hes1* при работе в диапазонах Cq генов-мишеней 26–29 и более 30, поскольку ошибка в таком случае будет нарастать. В отношении гена *Sdha*, придерживаясь того же принципа, отметим, как оптимум значение Cq равное 27. В то же время допустима работа с диапазоном Cq 24–27, в диапазонах свыше 28 использование *Sdha* может быть сопряжено с повышением ошибок расчетов.

# ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалы  
XXIX Всероссийской  
научно-практической конференции  
с международным участием

Москва, ЦМТ, 1–3 апреля 2024 г.

*Под редакцией*  
профессора **В. В. Долгова**



• ПРОСПЕКТ •

Москва  
2024