

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.¹, Щастный А.Т.¹, Бабенко А.С.²

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

¹ Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

² 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 — тиоацетамид (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 Сq (quantitation cycle).

Для гена *Prl3d1* диапазоны Сq были чрезвычайно высокими (Сq 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 ПРЦ-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 Сq для гена *Hes1* не превышал 2, что говорит в пользу более высокого потенциала гена для использования в качестве референсного. Уровень мРНК со средним значением Сq 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 Сq порядка 27 цикла для обоих генов) наблюдается значительный разброс значений Сq 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 Сq 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 Сq генов-мишеней будет составлять примерно 29 циклов (как у *Hes1*). С осторожностью стоит использовать *Hes1* при работе в диапазонах Сq 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 Сq равное 27. В то же время допустима работа с диапазоном Сq 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

