

СУДАЛГАА

№9 ЧИХРИЙН ШИЖИН ХЭВ ШИНЖ 2 ӨВЧНИЙГ НӨХЦӨЛДҮҮЛЭГЧ TCF7L2 ГЕНИЙГ ИЛРҮҮЛЭХ НЬ

Г. Бүрэнтөгс¹, Д. Оюунчимэг¹, Э. Занабазар²
¹Этүгэн Их Сургууль, ЭМС, Био-Анагаахын тэнхим
²Занаспекс
Цахим шуудан: burentugs.g@etugen.edu.mn
Умач: 88770015

Үндэслэл: Чихрийн шижин нь цусан дахь глюкоз ихэссэнээр тодорхойлогддог архаг явцтай, бодисын солилцооны өвчин юм. Манай улсад сүүлийн 20 жилд чихрийн шижингийн тархалт асар хурдацтай нэмэгдэж байна. Монголд чихрийн шижин өвчний тархалт бүс нутагтаа хамгийн өндөр биш ч 20-79 насны насанд хүрэгчдийн дунд тархалтын түвшингээр Азийн бүс нутаг хүн ам, тэр дундаа Өмнөд Солонгос (6.8%), Япон (6.6%) зэрэг улсуудтай харьцуулахад харьцангуй ойр байна.¹ ЧШХШ2 хүмүүсийн тоо нэмэгдэж байгаа нь нийгэм эдийн засаг, хүн ам зүй, хүрээлэн буй орчин, удамшлын хүчин зүйлсийн цогц харилцан үйлчлэлээс үүдэлтэй байна.² Насанд хүрсэн 11 хүн тутмын 1 нь чихрийн шижингээр өвдөх эрсдэлтэй бөгөөд чихрийн шижинтэй 2 хүн тутмын 1 нь оношлогддоггүй, чихрийн шижинтэй 3 хүн тутмын 1 нь макро судас (зүрх судасны өвчин) болон бичил судасны (чихрийн шижингийн нефропати, ретинопати, нейропати) ноцтой хүндрэлүүд нь нас баралт, харалган байдал, бөөрний дутагдалд хүргэдэг.^{3,4} Чихрийн шижин хэвшинж 2 нь удамшлын хүчин зүйлсийг сүүлийн жилүүдэд эрчимтэй судалж байна.⁵ ЧШХШ 2-той холбоотой олон ген байгаагаас TCF7L2 генийг илүүтэй судалж байна. TCF7L2 ген нь 10-р хромосомын богино q25.2-25.3-р локуст байрладаг бөгөөд 619 амин хүчил агуулдаг, 19 экзонуос

тогтох ба Transcription Factor-7-Like-2 (TCF7L2) уургийг кодлодог.⁶ TCF7L2 ген транскрипцын хүчин зүйл тул β эсийн үйл ажиллагаа, инсулины ялгаралт, эсийн түвшний инсулины үйл ажиллагаа, инсулины рецептор, эс доторх биохимийн олон үе шатыг зохицуулдаг.⁷ Манай улсад энэхүү генийг ЧШХШ2-той холбон судалсан тохиолдол ховор байгаа тул бидний судалгаа хийх үнэдэслэл боллоо.

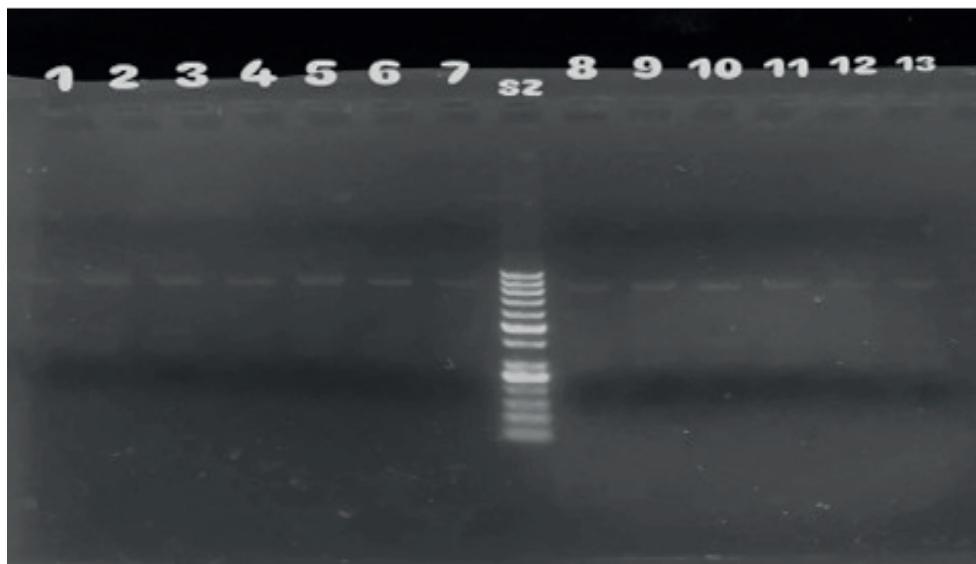
Судалгааны ажлын зорилго: Чихрийн шижин хэв шинж 2-р оношлодсон (E11) хүмүүсийн цуснаас нийт ДНХ ялгаж TCF7L2 генийн бай хэсгийг олшруулж илрүүлэх

Судалгааны ажлын материал, аргазүй: Судалгааг туршилт судалгааны загварын ашиглан зорилтот түүврийн аргаар чихрийн шижингийн хэв шинж 2 (ICD-10: E11) оношлогдсон 30 үйлчлүүлэгчийг хамруулсан. Этүгэн Их Сургууль Ёс зүйн хяналтын хорооны хурлын 2024 оны 06 сарын 12-ны өдөр дугаар №240606 шийдвэрээр хийж гүйцэтгэсэн. Судалгаанд хамрагдсан үйлчлүүлэгчдээс 5 мл цусны дээжийг EDTA агуулсан вакуум хуруу шилэнд авч, цуглуулсан дээжийг 2 цагийн дотор лабораторид хүргэн шинжилсэн. Үйлчлүүлэгчээс цуглуулсан 30 дээжийг ДНХ ялгахдаа “Занааспекс” ХХК-ийн цомгийг ашигласан. ДНХ-ийн гарцыг нанодроп (NanoDrop One^{^c}

ашиглан тодорхойлсон. Гарц бүхий бүтээгдэхүүнийг ашиглан ЧШХШ2-г нөхцөлдүүлэгч *TCF7L2* генийг 888 х.н. урттай дараах праймерын дарааллаар F: 5'TCATAGGGGTCTGGCTTGGA 3' R: 5'TGATGAACGGGGACTTGCTC 3' полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-г явуулсан.⁸ ПГУ-н нийт бүтээгдэхүүний эзэлхүүнийг 30 мкл байхаар тооцоолсон. Үүнд: 2х мастер холимог (Занааспекс ХХК)– 15 мкл, шууд праймер (10мкМ)– 1 мкл, урвуу праймер (10мкМ)– 1 мкл, гДНХ– 2 мкл, нэрмэл ус– 11 мкл багтаасан. ПГУ-р олшруулсан

бүтээгдэхүүнийг 2%-ийн агарозын гель ашигласнаар 100 вольтод 30 минут гүйлгэж үр дүнг трансиллюминатораар баталгаажуулсан.

Судалгааны үр дүн: Судалгааг 2024 оны 9 дүгээр сараас 2025 оны 1 дүгээр сарын хооронд чихрийн шижингийн 2-р хэлбэр (ICD-10: E11) оношлогдсон 30 өвчтөнөөс цусны дээж авч, халдвар хамгаалал, аюулгүй ажиллагаа, хог хаягдлын менежмент болон хувь хүний мэдээллийн нууцлалыг чанд баримтлан гүйцэтгэлээ.



ДНХ-ийн цэвэршилтийн гель электрофорезийн үр дүн

ДНХ ялгаруулалтын чанарыг анхан шатанд агароз гель электрофорезын аргаар үнэлэхэд ихэнх сорьцод тод, нэгэн жигд зурвас үүссэн нь ДНХ-ийн гарц сайн, бохирдол багатай байгааг илтгэж байв.

Цуснаас ялгасан нийт 30 сорьцын ДНХ-ийн концентраци болон цэвэршилтийг Nanodrop 2000 спектрофотометрийн тусламжтайгаар үнэлэв. Үр дүнг хүснэгт 1-д үзүүлэв.

Хүснэгт 1. Нанодропын хэмжилтээр ДНХ-ийн концентраци, цэвэршилтийг үнэлсэн байдал

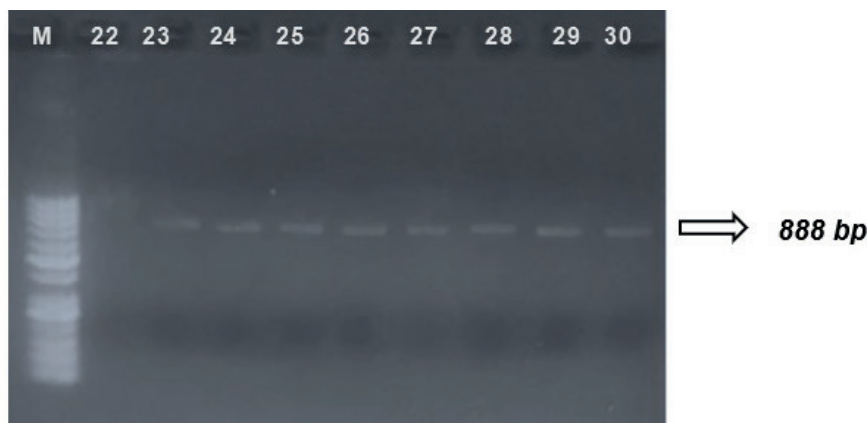
№	Үзүүлэлт	Хэвийн	Дундаж хэлбэлзэл	CI	
				Min	Max
1	Концентраци ng/μl	10-100 ng/μl	25.2±12.3	11.2	54.3
2	Нормал хэмжээ A/260 A/280	1.8-2.0	1.9±0.1	1.7	2.1

ДНХ-ийн концентраци нь 12.1–54.3 ng/μl-ийн хооронд хэлбэлзэж, дундаж утга 25.4 ng/μl байв. A260/A280 шингээлтийн харьцаа нь 1.73–2.14-ийн хооронд, дундаж утга 1.9 байв. Эдгээр нь ПГУ (PCR) шинжилгээ хийхэд шаардлагатай минимал концентраци болон цэвэршилтийн түвшинг хангаж байгааг харуулж байна. A260/A280 харьцаа нь

1.8–2.0-ийн хооронд байвал ДНХ нь уургийн бохирдолгүй байна.

***TCF7L2* генийг илрүүлсэн үр дүн**

Судалгаанд хамрагдсан 30 үйлчлүүлэгчийн цуснаас ялгасан гДНХ-г ашиглан *TCF7L2* гений 888х.н. (bp) урттай бүтээгдэхүүнийг ПГУ-р олшруулан тодорхойлсон.



Зураг 2. *TCF7L2* гений ПГУ-р илрүүлсэн зураглал

Судалгаанд *TCF7L2* генийг олшруулах зориулалттай праймер ашиглан 30 сорьцод ПГУ шинжилгээ хийсэн. ПГУ-ийн бүтээгдэхүүн нь 888 хос нуклеотид (bp) урттай бөгөөд үүнийг гель электрофорезоор баталгаажуулав (Зураг 2). Нийт 30 сорьцын 8 (26.7%) сорьцод 888 bp зурвас тод, жигд илэрсэн нь *TCF7L2* ген амжилттай олшруулсаныг илтгэж байна. Үлдсэн 22 (73.3%) сорьцод тухайн зурвас илрээгүй бөгөөд энэ нь тухайн сорьцуудаас ялгасан ДНХ-ийн концентраци ба цэвэршилтийн ялгаатай байдалтай холбоотой байж болох юм.

Дүгнэлт: ЧШХШ2-оор оношлогдсон 30 хүний цусны дээжнээс ПГУ тавих ерөнхий шаардлага хангасан цэвэршилт 1.73-2.1 хооронд хэлбэлзэж байгаа нь хангалттай хэмжээний ДНХ ялгарсан. Нанодроп аппаратаар концентраци 12.7-54.3 ng/μl хооронд хэлбэлзэж байгаа нь ДНХ дээжүүдийг ПГУ явуулах ерөнхий шаардлагыг хангаж байна. ЧШХШ2 өвчнийг нөхцөлдүүлэгч *TCF7L2* ген нийт сорьцны 26%-д нь илэрсэн.

Хэлцэмж: Чихрийн шижин нь инсулин дааврын шүүрэл буурах болон түүний үйл ажиллагааны алдагдлын улмаас цусан дахь глюкозын хэмжээ нэмэгдэж, бодисын солилцооны хямрал үүсгэдэг архаг эмгэг юм. Чихрийн шижингийн нийт тохиолдлын 90 орчим хувийг ЧШХШ2 эзэлдэг.² Олон улсад ЧШХШ2 өвчин эрс нэмэгдэж байгаатай холбогдуулан судлаачид чихрийн шижинг нөхцөлдүүлж буй маш олон генийг судалж байгаа бөгөөд тэдгээрийн нэг нь *TCF7L2* ген байна.

2023 онд Biopendix сэтгүүлд нийтлэгдсэн Auliantika.D нарын ПГУ-ын аргыг ашиглан ЧШХШ2-той өвчтөнүүдийн цусны дээжинд концентраци, цэвэршилтийг үзэхэд A260 нь ихэнх дээжинд 0.1–0.3 орчим утгатай байгаа нь гэрлийн шингээлт бага зэрэг сул байгааг илтгэж байна. A280 ихэнхдээ 0.08–0.2 орчимд хэлбэлзэж байгаа нь уургийн үлдэгдэл харьцангуй бага буюу ойролцоогоор хэвийн түвшинд байна.

Auliantik.D нарын судалгааны зарим дээжинд харьцангуй өндөр (700 орчим) концентраци гарсан нь тухайн дээжийг бүрдүүлэгч эс эдэд агуулагдах ДНХ-ийн хэмжээтэй холбоотой.

Эдгээр үзүүлэлтийг дээжийн A260/A280 ойролцоогоор 1.73–2.0 орчимд хэлбэлзэж буй тул ерөнхийдөө “харьцангуй цэвэр” ДНХ ялгасан гэж дүгнэх боломжтой. Бидний хийсэн судалгаанд A260 нь 0.3–0.8 эсвэл түүнээс ч өндөр утгатай байна. Энэ нь бусад судалгаатай харьцуулахад ойролцоо байна.

Бидний дээжинд A260/A280 харьцаа 1.6, 1.7, 1.8, 2.0 байгаа нь цэвэршилтийн зэрэглэл харьцангуй өндөр байгааг харуулж байна.

2 судалгааг харьцуулан үзвэл бидний ялгасан дээжийн цэвэршилтийн зэрэглэл арай байгаа ч (жишээ нь, A260/A280 <1.6) болон их (>2.0) дээжийн цэвэршилт ПГУ хийхэд хангалттай гэж үзэж байна. Зарим дээжид харьцангуй тогтвортой 1.8 орчим утга гарсан бол тэр нь цэвэршилт сайтай дээжийг илэрхийлж байна.

A260/A280-ийн хэлбэлзэл: Манай дээжинд ихэнхдээ 1.73–2.0 орчим, тогтвортой харагдаж байгаа бол нөгөө судалгаанд бага (<1.6) болон өндөр (>2.0) утгууд ажиглагдсан нь дээжийн ялгалт, эсвэл хэмжилтийн нөхцөлд ялгаа байгааг харуулж байна.

2023 онд Biopendix сэтгүүлд нийтлэгдсэн Auliantika.D нарын судалгааны үр дүн бидний судалгааны үр дүнтэй ихэнхи тохиолдолд тохирч байна. Гэхдээ зарим нэг дээжинд ДНХ-ийн гэрлийн шингээлтийн үзүүлэлт, концентраци, цэвэршилтийн харьцуулалт нь ерөнхийдөө аль аль талдаа олон төрлийн дээжээс ДНХ ялгахад тохиромжтой арга хэрэглэсэн ч дээжийн чанарт тодорхой хэмжээний ялгаа гарч байна. Энэ бол судалгааг хийсэн судлаачийн туршилга, сорьцын чанараас хамааран зарим ялгаа

гарч буйг харуулж байна. Гэсэн хэдий ч 2 судалгааны ихэнхи дээжүүд тогтвортой, харьцангуй өндөр концентраци бүхий, A260/A280 1.8–2.0 орчимтой дээжүүд түлхүү ажиглагдсан нь цэвэршилт хангалттай байгааг харуулж байна.

Судалгаанд ашигласан ДНХ-ийн 260/280 гэрлийн шингээлтийн харьцаа 1.7–1.9 хооронд байж, агароз гель электрофорезоор задрал багатай зурвас илэрсэн нь лабораторийн түвшинд чанартай, ПГУ-д тохирох ДНХ гаргаж авсныг харуулж байна. Энэ нь манай судалгааны нэг чухал давуу тал боллоо. Молекул биологийн судалгаанд ДНХ-ийн бохирдол өндөр, уураг, химийн бодисуудын үлдэгдэлтэй байвал ПГУ болон секвенсийн алдаа гарах эрсдэлтэй байдаг. Харин уг судалгаанд энэ төрлийн хүндрэл ажиглагдаагүй нь гарсан үр дүнг баталгаажуулах нөхцөл бүрдүүлжээ.

Бидний судалгаагаар чихрийн шижин хэв шинж 2 (ЧШХШ2)-той хүмүүст *TCF7L2* генийг илрүүлэх зорилгоор полимерадын гинжин урвал (ПГУ) хийж, үр дүнг үнэлэн хэлэлцсэн. Судалгааны үр дүнд ЧШХШ2-тэй оролцогчдын 26%-д нь *TCF7L2* генийн тодорхой хувилбар илэрсэн нь энэхүү ген чихрийн шижин үүсэхэд онцгой ач холбогдолтой байж болохыг харуулж байна. Түүнчлэн ялгасан ДНХ-ийн гарц, чанар хангалттай байсан нь молекул биологийн түвшинд илүү нарийн судалгаа хийх, эмнэлзүйн практикт нэвтрүүлэх бололцоог нээж өглөө. Зарим судалгаанд *TCF7L2* гений илрүүлэлт популяцийн хэмжээ, өвчний төрлөөс хамаарч 20%-25% орчим илэрч байгааг харуулсан байдаг. Жишээ нь, Европын болон Азийн популяцын судалгаанууд (Flannick нарын судалгаа 2014) нь генийн илрүүлэлт болон полиморфизмын түвшинг ялгаж үзсэн. ЧШХШ2-тэй холбон судалсан бусад ажлуудын, тухайлбал 2023 онд Biopendix сэтгүүлд нийтлэгдсэн Auliantika, D нарын

ПГУ-ын аргыг ашиглан ЧШХШ2-той өвчтөнүүдийн цусны дээжээс *TCF7L2* генийг илрүүлэх судалгааны дүнтэй нийцэж байгааг анхаарах нь зүйтэй. Тус судалгаанд мөн адил *TCF7L2* ген нь промотор хэсэгт гарсан өөрчлөлт β эсийн инсулин ялгаруулах чадвар болон глюкозын солилцоонд сөргөөр нөлөөлж болохыг дурдсан байдаг.

Довчинжамц (2019), болон Мягмарцэрэн (2009) судалгаанууд нь Монгол улсын төвийн бүсэд чихрийн шижингийн тархалтыг судалсан байна. Эдгээр судалгаа нь Монгол хүн амын чихрийн шижингийн тархалтыг судласан бөгөөд бидний судалгааны генетик хүчин зүйлсийг манай оронд чихрийн шижингийн тархалтыг тодорхойлох нь чухал ач холбогдолтой байна³

Талархал: Судалгааны ажлаа хийж гүйцэтгэхэд гүн туслалцаа үзүүлсэн Альтирнатив эмнэлэг болон Био-Анагаахын тэнхимийн багш нартаа гүн талархал илэрхийлье.

Ном зүй

1. Kumar A, Gangwar R, Ahmad Zargar A, Kumar R, Sharma A. Prevalence of Diabetes in India: A Review of IDF Diabetes Atlas 10th Edition. *CDR*. 2024;20(1):e130423215752. doi:10.2174/1573399819666230413094200
2. Tingting Geng, Tao Huang. Gene-environment interactions and type 2 diabetes. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 2020;29(2). doi:10.6133/apjcn.202007_29(2).0002
3. Ц.Лхагвасүрэн, Х.Алтайсайхан ДМ. Чихрийн шижин өвчний эрсдэлт хүчин зүйлсийн тархалтын судалгаа 2009.
4. Чихрийн шижин хэв шинж 2-ын эмнэлзүйн удирдамж 2021.
5. Henderson BJ, Maguire BT. Three lay mental models of disease inheritance. *Social Science & Medicine*. 2000;50(2):293-301. doi:10.1016/S0277-9536(99)00286-5
6. NgMCY, TamCHT, LamVKL, SoWY, MaRCW, Chan JCN. Replication and Identification of Novel Variants at *TCF7L2* Associated with Type 2 Diabetes in Hong Kong Chinese. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007;92(9):3733-3737. doi:10.1210/jc.2007-0849
7. Del Bosque-Plata L, Martínez-Martínez E, Espinoza-Camacho MÁ, Gragnoli C. The Role of *TCF7L2* in Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2021;70(6):1220-1228. doi:10.2337/db20-0573
8. Kareem Queen B, Abdullah Al-Janabi A. Sequence Analysis of Transcription Factor 7-like 2 Protein (*TCF7L2*) in Iraqi Patients with Diabetic Mellitus Type 2 Using Bioinformatics Methods. *Archives of Razi Institute*. 2021;76(4). doi:10.22092/ari.2021.355851.1729
9. Imamura M, Takahashi A, Yamauchi T, et al. Genome-wide association studies in the Japanese population identify seven novel loci for type 2 diabetes. *Nat Commun*. 2016;7(1):10531. doi:10.1038/ncomms10531
10. Khan liA, Jahan P, Hasan Q, Rao P. Validation of the association of *TCF7L2* and *SLC30A8* gene polymorphisms with post-transplant diabetes mellitus in Asian Indian population. *IRDR*. 2015;4(2):87-92. doi:10.5582/irdr.2015.01008
11. Hameed T, Khan Z, Imran M, et al. Associations of transcription factor 7-Like 2 (*TCF7L2*) gene polymorphism in patients of type 2 diabetes mellitus from Khyber Pakhtunkhwa population of Pakistan. *Afr H Sci*. 2021;21(1):15-22. doi:10.4314/ahs.v21i1.4
12. Cunningham AT, Gentsch AT, Doty AMB, et al. "I had no other choice but to catch it too": the roles of family history and experiences with diabetes in illness representations. *BMC Endocr Disord*. 2020;20(1):95. doi:10.1186/s12902-020-00580-x
13. Kwak SH, Park KS. Recent progress in genetic and epigenetic research on type 2 diabetes. *Exp Mol Med*. 2016;48(3):e220-e220. doi:10.1038/emmm.2016.7

ABSTRACT

DETECTION OF THE TCF7L2 GENE ASSOCIATED
WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS*Burentugs G¹, Oyunchimeg D¹, Zanaabazar E²**¹Etugen university, School of health, Department of Bio-medicine**²Zanaaspex**e-mail: burentugs.g@etugen.edu.mn**Phone: 88770015*

Introduction: Diabetes mellitus is a chronic metabolic disorder characterized by elevated blood glucose levels. Over the past two decades, the prevalence of diabetes has been increasing rapidly in Mongolia. Although the national prevalence is not the highest in the region, it is relatively comparable to that of other Asian countries such as South Korea (6.8%) and Japan (6.6%) among adults aged 20 to 79. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is known to be strongly influenced by genetic factors, and in recent years, significant research has focused on identifying associated genetic variants. Among the numerous genes linked to T2DM, the *TCF7L2* gene has been extensively studied. *TCF7L2* (Transcription Factor 7-Like 2) is located on the short arm of chromosome 10 at locus q25.2–25.3. It consists of 19 exons and encodes a protein comprising 619 amino acids. As a transcription factor, *TCF7L2* plays a critical regulatory role in various processes, including pancreatic β -cell function, insulin secretion, insulin receptor activity, and multiple intracellular biochemical signaling pathways.

Objectives of the study: Genomic DNA was extracted from the blood samples of individuals diagnosed with type 2 diabetes mellitus (ICD-10 code: E11), and a specific region of the *TCF7L2* gene was amplified and detected using PCR

Research materials and methods:

This study employed an experimental research design and used purposive sampling to recruit 30 participants who had been diagnosed with type 2 diabetes mellitus (ICD-10: E11). A total of 5–10 mL of peripheral blood was collected from each participant in EDTA-containing tubes. Genomic DNA (gDNA) was extracted from 30 samples, and the DNA yield was quantified using a NanoDrop spectrophotometer. The extracted gDNA was then used as a template for the amplification of an 888 base pair (bp) fragment of the *TCF7L2* gene using polymerase chain reaction (PCR). The PCR products were verified by gel electrophoresis, confirming the presence of the expected 888 bp amplicon.

Conclusion: Blood samples from 30 individuals diagnosed with type 2 diabetes mellitus (T2DM) were analyzed. The extracted DNA showed a purity range of 1.73 to 2.1 (A260/A280), indicating that the samples met the general quality requirements for PCR. DNA concentrations measured using a NanoDrop spectrophotometer ranged from 12.7 to 54.3 ng/ μ l, which is sufficient for downstream PCR analysis. The *TCF7L2* gene, known to be associated with the development of T2DM, was detected in 26% of the total samples.