

# NGHIÊN CỨU PHÂN TÍCH TRÌNH TỰ XÁC ĐỊNH ĐỘ BIẾN VÀ MỨC ĐỘ BIỂU HIỆN CỦA GEN NUCB2 VÀ SLC2A2 LIÊN QUAN ĐẾN NỒNG ĐỘ NESFATIN-1 TRÊN BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TÍP 2

Nguyễn Thị Minh<sup>1</sup>, Hoàng Trung Vinh<sup>2</sup>, Cần Văn Mão<sup>2</sup>

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Xác định mức độ biểu hiện gen và phân tích trình tự xác định đột biến trên một số vùng gen liên quan đến nồng độ nesfatin-1 trên bệnh nhân đái tháo đường típ 2. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu được thực hiện 139 bệnh nhân đái tháo đường típ 2 thuộc nhóm bệnh và 75 đối tượng thuộc nhóm chứng tại Bệnh viện 198; được định lượng nồng độ nesfatin-1. Các phương pháp được thực hiện trong nghiên cứu bao gồm nghiên cứu mức độ biểu hiện gen bằng phương pháp Realtime-PCR và giải trình tự gen Sanger. **Kết quả:** Mức độ biểu hiện của 2 gen NUCB2 và SLC2A2 là có sự thay đổi rõ rệt và có ý nghĩa khi so sánh giữa nhóm mắc bệnh đái tháo đường típ 2 với nhóm chứng ( $p < 0.05$ ): Gen NUCB2, thì mức độ biểu hiện giảm khoảng 18-22% so với mức độ biểu hiện ở nhóm đối chứng khỏe mạnh. Gen SLC2A2, thay đổi mức độ biểu hiện theo hướng tăng mạnh khi so sánh với nhóm đối chứng (121%). Trên trình tự gen NUCB2 phát hiện được 06 điểm đột biến trên 6 mẫu trong tổng số 10 mẫu được giải trình tự (rs1941384932 G/A; rs1941406012 G/A; rs945974367 C/A; rs1239838466 G/C; Rs1941390294 G/C và Rs1476160930 GG/G). Trong đó, đột biến trong vùng intron gồm rs1941384932 G/A; rs1941390294 G/C và Rs1476160930 GG/G. 3 điểm xuất hiện SNPs thuộc vùng exon là: rs1941406012 G/A; rs945974367 C/T và rs1239838466 G/C. Vùng gen SLC2a2 ghi nhận 06 SNPs ở 2 nhóm bệnh nhân mới được chẩn đoán và đang được điều trị (rs756099063 T/A; rs2108232309 A/G; rs121909745 C/A; rs201322542 G/A; rs754406000 T/C và rs370761728 A/T), với 3 điểm thuộc vùng exons và 3 điểm nằm trong vùng introns. **Kết luận:** Nghiên cứu đã cung cấp cơ sở dữ liệu ban đầu quan trọng về sự hiện diện của các SNPs và mức độ biểu hiện của gen NUCB2 và SLC2A2 ở bệnh nhân đái tháo đường típ 2, liên quan đến nồng độ nesfatin-1 trên bệnh nhân ĐTĐ2. Tuy nhiên, để xác định chính xác mối liên hệ tương quan trên 2 vùng gen này cần có các nghiên cứu mở rộng và phân tích chuyên sâu hơn. **Từ khóa:** nesfatin-1; Đái tháo đường típ 2; NUCB2 gen; SLC2A2 gen; mới được chẩn đoán; đã điều trị.

## SUMMARY

### STUDY ON SEQUENCE ANALYSIS TO DETERMINE MUTATIONS AND EXPRESSION

<sup>1</sup>Bệnh viện 19-8

<sup>2</sup>Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Minh

Email: minhch25@gmail.com

Ngày nhận bài: 4.12.2024

Ngày phản biện khoa học: 14.01.2025

Ngày duyệt bài: 13.2.2025

## LEVELS OF NUCB2 AND SLC2A2 GENES RELATED TO NESFATIN-1 CONCENTRATION IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

**Objective:** To determine the gene expression levels and analyze sequencing to identify mutations in certain genes associated with nesfatin-1 levels in patients with type 2 diabetes. **Subjects and Methods:** The study was conducted with 139 patients with type 2 diabetes in the patient group and 75 subjects in the control group at 198 Hospital; where nesfatin-1 levels were quantified. The methods employed in the study included gene expression analysis using Real-time PCR and Sanger sequencing. **Results:** The expression levels of the NUCB2 and SLC2a2 genes showed significant changes when comparing the type 2 diabetes patient group with the control group ( $p < 0.05$ ): The NUCB2 gene expression level decreased by about 18-22% compared to the healthy control group. The SLC2A2 gene expression level increased by 121% when compared to the control group. Six mutations were identified in the NUCB2 gene sequence across 6 samples out of the total 10 samples sequenced (rs1941384932 G/A; rs1941406012 G/A; rs945974367 C/A; rs1239838466 G/C; Rs1941390294 G/C; and Rs1476160930 GG/G). Among these, mutations in the intronic region included rs1941384932 G/A, rs1941390294 G/C, and Rs1476160930 GG/G. Three SNP points in the exon region were: rs1941406012 G/A, rs945974367 C/T, and rs1239838466 G/C. In the SLC2a2 gene region, 06 SNPs were recorded in two groups of patients: newly diagnosed and currently treated (rs756099063 T/A; rs2108232309 A/G; rs121909745 C/A; rs201322542 G/A; rs754406000 T/C; and rs370761728 A/T), with 3 points in the exons and 3 points in the introns. **Conclusion:** This study provides important initial data regarding the presence of SNPs and gene expression levels of NUCB2 and SLC2A2 in patients with type 2 diabetes, related to nesfatin-1 levels in these patients. However, to determine the exact correlation between these two gene regions, further expanded and in-depth studies are needed.

**Keywords:** nesfatin-1; Type 2 diabetes; NUCB2 gene; SLC2A2 gene; newly diagnosed; treated.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường được coi là "đại dịch" của thế kỷ 21, ảnh hưởng đến hàng triệu người trên toàn thế giới. Theo thống kê của Liên đoàn Đái tháo đường Quốc tế 2018, thế giới có khoảng 425 triệu người mắc bệnh đái tháo đường. Trong đó, hơn 90% mắc bệnh đái tháo đường típ 2 và xu hướng này đang gia tăng. Trong 10 năm qua, tỷ lệ mắc bệnh đái tháo đường ở Việt Nam tăng 211%, cao gấp 3 lần so với thế giới (70%). Việt

Nam cũng nằm trong nhóm 10 nước có tỷ lệ tăng bệnh nhân đái tháo đường cao nhất thế giới với tốc độ tăng 5,5%/năm (Tran và cs., 2016). Theo ước tính, hiện nay Việt Nam có 3,53 triệu người "sống chung" với bệnh đái tháo đường và mỗi ngày có ít nhất 80 người tử vong do các biến chứng liên quan. Số người mắc bệnh sẽ đạt 6,3 triệu người vào năm 2045 tại Việt Nam.

Nesfatin-1 là APC tách ra từ polypeptide nucleobindin2 (NUCB2). NUCB2 là đoạn DNA và protein gắn với canxi được coi là gen của nesfatin-1. Nesfatin-1 được phát hiện năm 2006 có nhiều tác động đối với sự xuất hiện, tiến triển và kết cục của ĐTĐT2, trong đó đa số là tác dụng bảo vệ (có lợi). Bên cạnh đó, nesfatin-1 cũng có một số tác dụng tấn công (không có lợi) chủ yếu đối với huyết áp và bệnh động kinh. Nesfatin-1 được coi là APC có tác động lưỡng tính, tùy thuộc giai đoạn và biến chứng của bệnh. Chính vì vậy mà nồng độ nesfatin-1 có thể giảm, bình thường hoặc tăng. Khảo sát nồng độ nesfatin-1 là sự nhận biết vai trò của một trong các APC quan trọng trong CCBS của ĐTĐT2, là cơ sở và tiềm năng áp dụng để điều trị bệnh có hiệu quả. Với sự ra đời của khoa học sinh học phân tử đã giúp cho quan niệm về bản chất của ĐTĐT2 đầy đủ hơn.

Gen NUCB2 liên quan đến béo phì ở nam giới. Phân tích cho thấy có 3 SNP gen của nesfatin-1 liên quan rõ rệt đến béo phì gồm rs1330; rs214101 và rs757081. Biến thể c.1012C > G (rs757081) của gen NUCB2 trong đó kiểu gen CG, GG và alen G có nồng độ thấp hơn nhóm chứng khỏe mạnh. Đa hình kiểu gen C - 1012 C>G liên quan đến giảm nguy cơ gây đái tháo đường típ 2 trong đó kiểu gen GG liên quan có ý nghĩa với biểu hiện giảm BMI và glucose. Đây được coi là dấu ấn độc lập đối với nguy cơ gây bệnh (Guo và cs., 2013). NUCB2/nesfatin-1 tác động lên nhu cầu ăn uống ở đối tượng béo phì gây ăn nhiều. Qua đó nhận thấy đây là dấu ấn hóa sinh mới mang tính cố định của các bệnh liên quan đến ăn nhiều thuộc các đối tượng dư cân, béo phì.

Gen SLC2A2 (solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 2) mã hóa cho protein GLUT2, một chất vận chuyển glucose thuộc họ protein GLUT. GLUT2 đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa hấp thụ và chuyển hóa glucose trong cơ thể, đặc biệt ở các cơ quan như gan, tuyến tụy, ruột non và thận (Laukkanen và cs., 2005). Một số đột biến sai khác (single nucleotide polymorphisms - SNPs) trong gen SLC2A2 đã được xác định làm thay đổi chức năng của protein GLUT2, dẫn đến rối loạn trong cảm nhận glucose hoặc giảm khả năng vận

chuyển glucose. Các biến thể phổ biến như rs5400 và rs8192675 có liên quan đến khả năng tăng nguy cơ mắc bệnh.

Tại Việt Nam, cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào được tiến hành về mức độ biểu hiện và trình tự của các gen liên quan nồng độ Nesfatin-1 trên bệnh nhân đái tháo đường típ 2. Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm đánh giá mức độ biểu hiện mRNA và trình tự của 02 gen NUCB2 và SLC2a2. Việc nghiên cứu mức độ biểu hiện và các điểm đột biến SNPs trên gen NUCB2 và SLC2A2 ở bệnh nhân không chỉ giúp hiểu rõ hơn về cơ chế bệnh sinh của đái tháo đường típ 2 mà còn mở ra cơ hội cho việc phát triển các phương pháp điều trị và chẩn đoán mới.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**2.1. Đối tượng nghiên cứu.** Mẫu được chia hai nhóm: 139 Bệnh nhân đái tháo đường típ 2 thuộc nhóm nghiên cứu lấy theo mẫu thuận tiện, 75 đối tượng tiền sử khỏe mạnh không tăng glucose máu thuộc nhóm chứng (nhóm tham chiếu). Hai nhóm đối tượng bệnh, nhóm chứng được thu thập tại BV 198-Bộ công an; định lượng nồng độ nesfatin-1 tại khoa sinh lí bệnh học viện quân y.

**Phương pháp nghiên cứu.** Tách chiết và tinh sạch DNA tổng số và RNA tổng số: Máu được lấy từ tĩnh mạch của bệnh nhân và người khỏe mạnh làm đối chứng, và được xử lý chống đông bằng EDTA. RNA tổng số và DNA tổng số được tách chiết và tinh sạch từ tế bào bạch cầu (Tan và Yiap, 2009).

Xác định nồng độ và độ tinh sạch mẫu DNA tổng số và RNA tổng số bằng phổ hấp thụ: dựa vào sự hấp thụ ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 260nm của các base purin và pyrimidin. Giá trị mật độ quang ở bước sóng 260nm cho phép xác định nồng độ acid nucleic trong mẫu đo. Đọc kết quả trên màn hiển thị hàm lượng DNA và RNA tính bằng ng/ $\mu$ L và tỷ số A260/280.

Tổng hợp cDNA: Các mẫu RNA tổng số đạt nồng độ tối ưu và đáp ứng độ tinh sạch trong khoảng 1,8-2,0 được sử dụng để tổng hợp cDNA. Kiểm tra chất lượng cDNA được tổng hợp bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu với GAPDH. Kết quả được kiểm tra trên gel Agarose 1,5%.

Thiết kế mỗi nghiên cứu trình tự một số vùng gen và phân tích mức độ biểu hiện gen: Căn cứ kết quả so sánh giống cột và xác định vùng biến dị SNP/InDel của từng bộ dữ liệu, vùng mã vạch DNA rút gọn được sàng lọc và chọn lựa dựa trên tiêu chí như các biến dị trình

tự SNP/InDel có thể xuất hiện; Vùng trình tự xung quanh biến dị SNP/InDel có chiều dài khoảng 50-100 bp, mức độ bảo thủ ở tối thiểu 80% tổng số trình tự của bộ dữ liệu. Cặp mỗi được xác định cho đoạn gen housekeeping gen (gen đối chứng) là GAPDH, 02 cặp mỗi thuộc các đoạn gen có liên quan với nồng độ nesfatin là NUCB2 và SLC2A2.

Xác định mức độ biểu hiện gen bằng phương pháp Realtime-PCR: Định lượng PCR phiên mã ngược thời gian thực (Realtime-PCR) được tiến hành trên hệ thống 7300 Real-time PCR (Applied Biosystems, USA) với mỗi. Tất cả các lần khuếch đại được lặp lại hai lần.

Giải trình tự gen Sanger: các sản phẩm PCR được chuyển tới công ty 1st Base, Singapore để giải trình tự.

**Phân tích và xử lý số liệu.** Mức độ biểu hiện gen được xác định và so sánh phân tích tương quan Pearson, với giá trị có ý nghĩa  $p < 0,05$ . Các sản phẩm PCR trình tự được phân tích bởi Mutation Surveyor v3.2 (SoftGenetics, State College, PA, USA) (Minton và cs., 2011). Trình tự sắp xếp được thực hiện bằng công cụ Clustal-W và kết quả này được sử dụng để xác định đột biến nucleotide và axit amin. Công cụ tin sinh học BioEdit được sử dụng cho các trình tự axit nucleic của hai nhóm (bệnh nhân và nhóm chứng) để dịch mã và lấy chuỗi trình tự protein. Phần mềm cơ sở dữ liệu Ensemble đã hỗ trợ tất cả các trình tự exon và protein. Các dữ liệu về chỉ số Ct (Crossing Point), đường cong nóng chảy (Melting Curves) và đỉnh nóng chảy (Melting

Peak) của mẫu được xác định và xử lý bằng phần mềm ABI PRISM 7300 (phiên bản 1.3.1).

**Đạo đức y học trong nghiên cứu:** Các nội dung nghiên cứu không vi phạm đạo đức y học.

**III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN**

**Kết quả tách chiết, tinh sạch RNA tổng số và tổng hợp cDNA.** Kết quả cho thấy điện di trên gel Agarose cho thấy toàn bộ 214 mẫu RNA tổng số sau tách chiết có chất lượng tốt, không bị đứt gãy và không bị nhiễm DNA hay các tạp chất khác (như protein hoặc các chất hữu cơ). Băng xuất hiện trên gel điện di gồm 2 băng sáng rõ là RNA ribosom 28S rRNA và 18S rRNA. Chỉ số OD A260/A280 và A260/A230 của các mẫu RNA tổng số dao động trong khoảng 1.8 – 2.1 và 1.9 – 2.2 được xác định là đạt đủ chất lượng tiêu chuẩn về độ sạch của RNA sau tách chiết. Nồng độ RNA tổng số của tất cả các mẫu sau tách chiết và tinh sạch thu được dao động trong khoảng 245.21 – 825.84 ng/uL, đủ tiêu chuẩn về nồng độ cho quá trình tổng hợp cDNA tiếp theo.

Các mẫu cDNA sau tổng hợp có nồng độ dao động từ 15.68 đến 261.23 ng/uL, đảm bảo chất lượng cho các phản ứng PCR phân tích mức độ biểu hiện các gen liên quan đến nồng độ nesfatin-1 theo mục tiêu của nghiên cứu.

**Kết quả thiết kế các cặp mỗi phân tích mức độ biểu hiện gen và trình tự gen.** Trong nghiên cứu này, nhóm đã thiết kế thành công các cặp mỗi cho vùng gen quan trọng là NUCB2 và SLC2A2, là 2 gen có vai trò tiềm năng trong cơ chế phát triển bệnh đái tháo đường típ 2, mỗi gen tham gia vào các quá trình khác nhau.

**Bảng 1. Trình tự các cặp mỗi cho các vùng gen nghiên cứu được thiết kế**

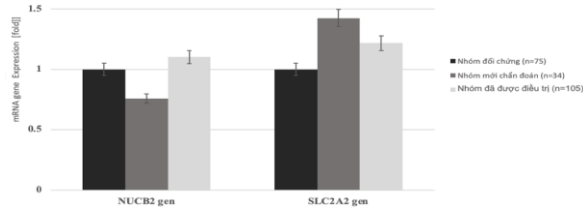
STT	Gen	Mỗi	Trình tự (5' -> 3')	Tm(°C)	GC%
<b>Realtime-PCR</b>					
1	NUCB2 (a)	NUBC2-F	CCCTGTGGAAAGTGCGAAGA	60.25	55
		NUBC2-R	TGATCTTTGCTTCCTGGGTGAT	59.3	49
2	SLC2A2 (a)	SLC2A2-F	TTATCTACTTCCGTGTACCCG	59.47	52
		SLC2A2-R	GCACCATCTTCCACAATTATC	59.97	53
<b>Sanger sequencing</b>					
1	NUCB2 (b)	NUBC2-F	AGATTAGGGGTGGGGGAG	55.58	655
		NUBC2-R	AGACCGGAGAAGAGCAGG	56.21	
2	SLC2A2 (b)	SLC2A2-F	TTTCTGTTTCATGTCAATAA	58.33	580
		SLC2A2-R	CTGAGATCATTTGGCTGCT	59.45	

Trong nghiên cứu này, 02 cặp mỗi đặc hiệu đã được thiết kế thành công để phục vụ cho việc khuếch đại và giải trình tự Sanger của các vùng gen NUCB2 và SLC2A2. Quy trình thiết kế dựa trên các dữ liệu trình tự gen đã được công bố, đảm bảo độ chính xác và tính đặc hiệu cao. Hai cặp mỗi đáp ứng đầy đủ các tiêu chuẩn thiết kế mỗi dùng trong PCR và giải trình tự.

**Kết quả mức độ biểu hiện gen bằng**

**phương pháp Realtime-PCR.** Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen NUCB2 chỉ tiết ở 34 bệnh nhân mới được chẩn đoán thấp hơn đáng kể so với nhóm đối chứng tiền sử khoẻ mạnh. Ngược lại, với số lượng bệnh nhân là 105 mẫu được đánh giá đã mắc bệnh lâu năm và trải qua nhiều đợt điều trị, mức độ biểu hiện gen NUCB2 được đánh giá khá cân bằng với nhóm đối chứng ( $p < 0,05$ ) (Hình 2.). Với trường hợp

mức độ biểu hiện đối với gen SLC2A2, có sự tăng lên đáng kể ở nhóm 34 bệnh nhân mới được chẩn đoán và ghi nhận sự sụt giảm trong nhóm 105 bệnh nhân đã có tiền sử mắc đái tháo đường típ 2 lâu năm và đã được điều trị bằng một số loại thuốc kê đơn phổ biến hiện nay.



**Hình 1. Mức độ biểu hiện của gen NUCB2 và SLC2A2**

Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra sự biểu hiện gen NUCB2 trong các mô ngoại vi bao gồm tim, tủy sống, tuyến tụy, dạ dày, cơ và mô mỡ (Goebel-Stengel và Wang, 2013). Chúng có vai trò sinh lý quan trọng đối với trọng lượng cơ thể và góp phần vào sinh lý bệnh của kháng insulin và các vấn đề chuyển hóa liên quan trong bệnh béo phì và đái tháo đường. Guo nhận thấy rằng NUCB2 và mức protein của cơ và mô mỡ đã tăng lên đáng kể ở bệnh nhân đái tháo đường típ 2 (Guo và cs., 2013). Sự biểu hiện của gen NUCB2 được thiết lập trong niêm mạc dạ dày cao hơn 10 lần so với trong não, cho thấy rằng dạ dày là cơ sở chính của nesfatin-1 lưu hành (Goebel-Stengel và Stengel, 2016).

Ngoài ra, mức độ biểu hiện đối với gen SLC2A2 đã tăng lên đáng kể ở bệnh nhân chưa điều trị. Các nghiên cứu trước đây cho thấy những thay đổi trong biểu hiện SLC2A2 góp phần một phần vào việc điều hòa glucose bởi SLC2A2 là chất vận chuyển glucose không phụ thuộc vào insulin, liên kết màng, chủ yếu biểu hiện ở gan. Protein được mã hóa bởi SLC2A2 (GLUT-2) được đánh giá là một chất góp phần chính trong việc cân bằng nội môi glucose và fructose trong gan (Holman, 2020). GLUT-2 là chất vận chuyển fructose chính trong tế bào gan, nơi phần lớn lượng fructose ăn vào được chuyển hóa. Nó đóng một vai trò quan trọng trong các rối loạn chuyển hóa liên quan đến tiêu thụ fructose (Leturque và cs., 2009).

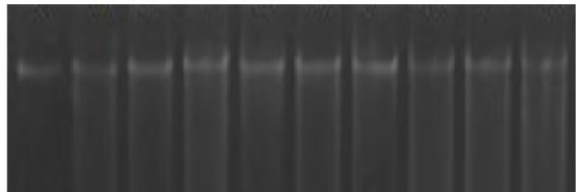
**Kết quả tách chiết và tinh sạch DNA tổng số.** Luận án đã tiến hành tách chiết DNA tổng số từ 10 mẫu bệnh phẩm thuộc nhóm 139 bệnh nhân mắc bệnh đái tháo đường típ 2 có mức độ biểu hiện khác biệt rõ rệt ở 2 vùng gen được nghiên cứu (NUCB2 và SLC2A2) và nồng độ Nesfatin-1 trong huyết thanh. Danh sách các

mẫu được nghiên cứu trình tự gen được trình bày tại Bảng 2. Sau khi tách chiết, các mẫu DNA tổng số được tiến hành đo nồng độ dựa trên chỉ số OD260/280 và OD260/230 bằng máy đo quang phổ hấp thụ NanoDrop. Bên cạnh đó, điện di trên gel Agarose 0,8% cũng được tiến hành song song để xác định độ tinh sạch của các mẫu DNA tổng số sau tách chiết (Hình 3.).

**Bảng 2. Danh sách các mẫu bệnh phẩm được tiến hành tách chiết DNA tổng số**

TT	Mã số	Nhóm bệnh	Mức độ biểu hiện gen NUCB2	Mức độ biểu hiện gen SLC2A2
1	214427	Mới mắc bệnh	1.82	0.59
2	918577	Mới mắc bệnh	1.32	0.61
3	211217	Mới mắc bệnh	1.02	0.54
4	202458	Đang điều trị	0.12	1.32
5	212424	Đang điều trị	0.27	1.68
6	1801	Đang điều trị	0.39	1.24
7	214189	Mới mắc bệnh	0.79	0.45
8	1269	Đang điều trị	0.12	1.82
9	211459	Mới mắc bệnh	0.51	0.66
10	1194	Đang điều trị	0.23	1.65

214427 918577 211217 202458 212424 1801 214189 1269 211459 1194



**Hình 2. Ảnh phổ điện di trên gel Agarose các mẫu DNA tổng số**

Kết quả cho thấy điện di trên gel Agarose cho thấy 10 mẫu DNA tổng số sau tách chiết có chất lượng tốt, không bị đứt gãy và không bị nhiễm RNA hay các tạp chất khác (như protein hoặc các chất hữu cơ). Băng vạch sắc nét, không bị nhòe hoặc xuất hiện nhiều băng phụ. DNA lớn (>10 kb), xuất hiện gần phía đầu giếng. Băng rõ ràng, đồng nhất, không quá mờ hoặc vượt bão hòa. Chỉ số OD A260/A280 và A260/A230 của các mẫu DNA tổng số sau tách chiết dao động trong khoảng 1.8 – 2.0 và 2.0 – 2.2 được xác định là đạt đủ chất lượng tiêu chuẩn về độ sạch của DNA sau tách chiết. Nồng độ DNA tổng số của tất cả các mẫu sau tách chiết và tinh sạch thu được dao động trong khoảng 441.65 – 621.94 ng/uL, đủ tiêu chuẩn về nồng độ cho các thí nghiệm và phản ứng trong các nghiên cứu tiếp theo.

**Kết quả giải trình tự Sanger và so sánh các vùng gen nghiên cứu.** Kết quả phân tích trình tự gen cho thấy, gen NUCB2 phát hiện được tổng số 06 điểm đột biến trên 6 mẫu trong

tổng số 10 mẫu được giải trình tự. Trong đó, số điểm đột biến được ghi nhận xuất hiện trong các vùng intron (không mã hoá protein) là 03 điểm (rs1941384932 G/A; rs1941390294 G/C và Rs1476160930 GG/G) và 03 điểm thuộc vùng exon (rs1941406012 G/A; rs945974367 C/T và rs1239838466 G/C). Đặc biệt, mẫu với ký hiệu 214427 thuộc nhóm bệnh nhân mắc bệnh lâu năm được xác định có số điểm đột biến cao nhất (4 điểm), đây cũng là bệnh nhân được xác định có nồng độ nesfatin-1 cao (6.598 ng/mL). 04 mẫu với mã số 211217, 1194, 212424 và 1801 không ghi nhận có điểm đột biến trên vùng gen NUCB2 trong nghiên cứu này. Bên cạnh đó, trên vùng gen SLC2A2, các đột biến đã được ghi nhận với số lượng 06 SNPs ở cả 2 nhóm bệnh nhân mới được chẩn đoán và đang được điều trị. 4 mẫu với mã số ký hiệu 214427, 918577, 211217 và 1194 được xác định có 3 SNPs. Với 03 SNPs xảy ra trong vùng exon, có khả năng tạo ra thay đổi các acid amin kèm theo. 02 mã mẫu là 214189 và 212424 không ghi nhận SNPs trên vùng gen SLC2A2.

**Bảng 3. Vị trí các đột biến trên 02 vùng gen nghiên cứu**

STT	Code	SNPs of NUCB2 gen	SNPs of SLC2a2 gen
1	2144 27	Rs1941384932 G/A Rs1941406012 G/A Rs945974367 C/A Rs1239838466 G/C	Rs756099063 T/A Rs2108232309 A/G Rs121909745 C/A
2	9185 77	Rs1941390294 G/C Rs1941406012 G/A Rs945974367 C/T	Rs2108232309 A/G Rs201322542 G/A Rs754406000 T/C
3	2112 17	NA	Rs201322542 G/A Rs370761728 A/T Rs121909745 C/A
4	2141 89	Rs1941384932 G/A Rs1941390294 G/C Rs1941406012 G/A Rs1476160930 GG/G	NA
5	2114 59	Rs1941390294 G/C	Rs756099063 T/G Rs121909745 C/T
6	1194	NA	Rs756099063 T/A Rs370761728 A/T Rs121909745 C/A
7	2024 58	Rs945974367 C/T Rs1941384932 G/A	Rs201322542 G/A
8	2124 24	NA	NA
9	1801	NA	Rs121909745 C/T Rs754406000 T/C
10	1269	Rs1941406012 G/A Rs1476160930 GG/G	Rs370761728 A/T Rs754406000 T/C

Đột biến gen SLC2A2 dẫn đến thay thế axit amin trong quá trình dịch mã protein cũng đã

được chỉ ra trong nghiên cứu của Sansbury và cộng sự trên bệnh nhân đái tháo đường (Sansbury và cs., 2012). Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng đột biến bất hoạt gen lặn đồng hợp tử ở người dẫn đến bệnh đái tháo đường ít thường xuyên hơn và ít nghiêm trọng hơn so với việc bất hoạt SLC2A. Điều này phù hợp với việc GLUT2 được sản xuất với số lượng thấp hơn và có vai trò ít quan trọng hơn trong việc tiết insulin do glucose kích thích ở người so với động vật gặm. Ngoài ra, kết quả cũng phát hiện ra một vị trí sai sót trong gen SLC2A2, tuy nhiên, không có lỗi trong quá trình dịch mã axit amin. Người ta đã đề xuất rằng GLUT2 có thể có vai trò như một phân tử tín hiệu cũng như một chất vận chuyển đơn giản (Mueckler và Thorens, 2013). GLUT2 hỗ trợ bài tiết insulin khi mức độ biểu hiện được điều chỉnh để đảm bảo lượng glucose tương tự. SNP phổ biến gần với SLC2A2 cho thấy ảnh hưởng đến đường huyết lúc đói (Ye và cs., 2022), nhưng các nghiên cứu sâu hơn không thể phát hiện ra khiếm khuyết trong chức năng gan. Đa số các bệnh nhân mang đột biến trên thuộc nhóm điều trị dài hạn bằng một số loại thuốc kê đơn, do đó khó có thể xác định được ảnh hưởng của đột biến này đối với sự biểu hiện quá mức của gen SLC2A2 và các chỉ số sinh hóa khác.

#### IV. KẾT LUẬN

##### **Biến đổi gen NUCB2 của nesfatin-1 và một số gen liên quan với đái tháo đường tip 2**

+ Trong 5 gen được khảo sát nhận thấy 2 gen NUCB2, SLC2A2 biến đổi có ý nghĩa so với nhóm tham chiếu ( $p < 0,05$ ). Gen NUCB2 giảm khoảng 18-22%; gen SLC2A2 tăng khoảng 121% so với giá trị của nhóm tham chiếu. 3 gen GADD45a, SDF4 và CAMK1D khác biệt không có ý nghĩa.

+ Trình tự đoạn gen và một số đặc điểm SNPs trên 2 vùng gen NUCB2 và SLC2A2.

- Đã giải trình tự 10 mẫu có nồng độ nesfatin-1 khác nhau nhận thấy có sự thay đổi rõ rệt, đoạn gen NUCB2 với độ dài 655bp và SLC2a2 là 580 bp.

- Trên trình tự gen NUCB2 phát hiện được 06 điểm đột biến trên 6 mẫu trong tổng số 10 mẫu ngẫu nhiên được giải trình tự, trong đó 3 điểm đột biến trong vùng introns gồm rs1941384932 G/A; rs1941390294 G/C; rs1476160930 GG/G, 3 điểm đột biến trong vùng exon là: rs1941406012 G/A; rs945974367 C/T và rs1239838466 G/C.

- Trên trình tự gen SLC2a2 ghi nhận 06 điểm đột biến trong đó có 3 vùng introns và 3 vùng exon gồm: rs756099063 T/A; rs2108232309 A/G; rs121909745 C/A; rs201322542 G/A; rs754406000 T/C và rs370761728 A/T.

+ Mỗi liên quan giữa mức độ biểu hiện gen với nồng độ nesfatin-1

- Mức độ biểu hiện mRNA của gen NUCB2 tương quan thuận có ý nghĩa với nesfatin-1 ( $r=0,216$ ;  $p<0,05$ )

- Mức độ biểu hiện mRNA của gen SLC2a2 tương quan nghịch có ý nghĩa với nesfatin-1 ( $r=-0,312$ ;  $p<0,05$ )

## V. LỜI CẢM ƠN

Xin trân trọng cảm ơn Khoa Nội tiết – Bệnh viện 19-8, Bộ môn Khớp & Nội tiết - Bệnh viện 103 và Khoa Sinh lý bệnh học - Viện Quân y, Hệ gen viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt nam trong việc hỗ trợ thực hiện nghiên cứu.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Wang H, Li N, Chivese T, Werfalli M, Sun H, Yuen L, Hoeqfeldt CA, Powe CE, Immanuel J, Karuranga S, Divakar H. IDF Diabetes Atlas: Estimation of Global and Regional Gestational Diabetes Mellitus Prevalence for 2021 by International Association of Diabetes in Pregnancy Study Group's Criteria. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2022;183: 109050.
2. Tran HD, Tran TN. Diabetes Recommendations: Epidemiology, classification, and diagnosis. *J Vietnam Diabet Endocrinol Soc* 2016;5-12.
3. Guo, Y., Liao, Y., Fang, G., Dong, J. and Li, Z., 2013. Increased nucleobindin-2 (NUCB2) transcriptional activity links the regulation of insulin sensitivity in Type 2 diabetes mellitus. *Journal of endocrinological investigation*. 36.883-888.
4. Laukkanen, O., Lindstrom, J., Eriksson, J., Valle, T.T., Hamalainen, H., Ilanne-Parikka, P.,

- Keinanen-Kiukaanniemi, S., Tuomilehto, J., Uusitupa, M. and Laakso, M., 2005. Polymorphisms in the SLC2A2 (GLUT2) gene are associated with the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes*. 54(7).2256-2260.
5. Sansbury, F.H., Flanagan, S.E., Houghton, J.A.L., Shuixian Shen, F.L., Al-Senani, A.M.S., Habeb, A.M., Abdullah, M., Kariminejad, A., Ellard, S. and Hatterslev, A.T., 2012. SLC2A2 mutations can cause neonatal diabetes, suggesting GLUT2 may have a role in human insulin secretion. *Diabetologia*. 55. 2381-2385.
  6. Sakalar, E. and Abasivanik, M.F., 2012. The development of duplex real-time PCR based on SYBR Green fluorescence for rapid identification of ruminant and poultry origins in foodstuff. *Food Chemistry*. 130(4). 1050-1054.
  7. Minton, J.A., Flanagan, S.E. and Ellard, S., 2011. Mutation survevor: software for DNA sequence analysis. *PCR Mutation Detection Protocols*, 143-153.
  8. Goebel-Stenael, M. and Wang, L., 2013. Central and peripheral expression and distribution of NUCB2/nesfatin-1. *Current pharmaceutical design*. 19(39). 6935-6940.
  9. Holman, G.D., 2020. Structure, function and regulation of mammalian glucose transporters of the SLC2 family. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 472(9).1155-1175.
  10. Norton, L., Shannon, C.E., Fourcaudot, M., Hu, C., Wang, N., Ren, W., Song, J., Abdul-Ghani, M., DeFronzo, R.A., Ren, J. and Jia, W., 2017. Sodium-glucose co-transporter (SGLT) and glucose transporter (GLUT) expression in the kidney of type 2 diabetic subjects. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 19(9),1322-1326.

# KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ BIẾN ĐỔI TẾ BÀO NỘI MÔ GIÁC MẠC SAU PHẪU THUẬT PHACO TRÊN GLÔCÔM GÓC ĐÓNG NGUYÊN PHÁT SỬ DỤNG CHẤT NHẢY KẾT HỢP

Nguyễn Thị Cẩm Vân<sup>1</sup>, Bùi Thị Vân Anh<sup>2</sup>,  
Nguyễn Thị Thanh Hương<sup>3</sup>, Đỗ Tấn<sup>3</sup>

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Đánh giá bước đầu về sự biến đổi tế bào nội mô giác mạc sau phẫu thuật Phaco có phối hợp mở góc tiền phòng hoặc không trên bệnh nhân Glôcôm góc đóng nguyên phát có sử dụng chất nhảy

kết dính kết hợp với chất nhảy phân tán tại khoa Glôcôm Bệnh viện Mắt Trung Ương. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Bệnh nhân Glôcôm góc đóng nguyên phát kèm đục TTT độ II trở nên có chỉ định phẫu thuật phaco có thể phối hợp mở góc tiền phòng hoặc không. Phương pháp nghiên cứu là tiền cứu có can thiệp lâm sàng. Nghiên cứu được thực hiện tại khoa Glôcôm từ tháng 8 đến tháng 12 năm 2024 - Bệnh viện Mắt Trung Ương. **Kết quả:** Nghiên cứu được thực hiện trên 30 mắt của 30 bệnh nhân. Đặc điểm nhóm tuổi là 70% nhóm tuổi > 65 (21 BN); 26,7% (8 BN) bệnh nhân ở nhóm tuổi 50-65 và 3,3% (1 BN) ở nhóm tuổi < 50. Thị lực trung bình (TLTB) trước phẫu thuật theo logMAR là 1,48±0,46, sau mổ 2 tháng TLTB là 0,76±0,53. Nhãn áp trung bình (NATB) trước PT là 23,67±8,52 mmHg và sau mổ 2 tháng NATB

<sup>1</sup>Bệnh Viện Đa Khoa Phú Thọ

<sup>2</sup>Bệnh Viện Đa Khoa Tâm Anh

<sup>3</sup>Bệnh Viện Mắt Trung Ương

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Tấn

Email: dotan20042005@yahoo.com

Ngày nhận bài: 4.12.2024

Ngày phản biện khoa học: 15.01.2025

Ngày duyệt bài: 13.2.2025