

Mutation Identification of rs7903146 gene of Transcription Factor 7 Like 2 (TCF7L2) in Type II Diabetes Patients in Sidoarjo Region

[Identifikasi Mutasi rs7903146 gen Transcription Factor 7 Like 2 (TCF7L2) Pada Penderita Diabetes tipe II di Wilayah Sidoarjo]

Wa Ode Asma'ul Husna Huesein¹⁾, Miftahul Mushlih^{*.2)}

¹⁾Program Studi Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

²⁾Program Studi Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis Korespondensi: mif.mushlih@umsida.ac.id

Abstract. *Type II Diabetes Mellitus (T2DM) is an endocrine system disorder influenced by genetic factors and lifestyle. The TCF7L2 gene is a strong locus of basic transcription factors that form the Wnt signaling pathway, consisting of a complex network of proteins with mutations in rs7903146 that are closely related to T2DM by disrupting insulin secretion. This study aims to identify TCF7L2 gene mutations in the T2DM population in the Sidoarjo Region. There were 7 samples used in this study with DNA isolation, PCR, and sequencing methods. The samples were amplified to target the TCF7L2 gene along a 318bp stretch. The results of this study did not find the C to T transition mutation at rs7903146.*

Keywords – Type II diabetes mellitus (T2DM); TCF7L2 gene; mutation

Abstrak. *Diabetes mellitus Tipe II (DT2) merupakan penyakit kelainan sistem endokrin yang dipengaruhi oleh faktor genetik dan gaya hidup. Gen TCF7L2 merupakan lokus kuat dari faktor transkripsi dasar yang membentuk jalur pensinyalan wnt yang terdiri dari jaringan kompleks protein dengan mutasi di rs7903146 memiliki hubungan erat dengan DT2 dengan cara mengganggu sekresi insulin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mutasi gen TCF7L2 pada populasi DT2 di Wilayah Sidoarjo. Terdapat 7 sampel yang digunakan dalam penelitian ini dengan metode isolasi DNA, PCR, dan sequencing. Sampel di Amplifikasi menargetkan gen TCF7L2 sepanjang 318bp. Hasil pada penelitian ini tidak menemukan titik mutasi transisi C ke T pada rs7903146.*

Kata Kunci – Diabetes Mellitus Tipe II (DT2); gen TCF7L2; mutasi

I. PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus merupakan dari penyakit sistem endokrin. Indonesia berada diposisi ke lima dunia, menurut Data International Diabetes Federation, tahun 2021 sebanyak 537 juta orang dewasa hidup dengan diabetes diperkirakan akan meningkat pada tahun 2030 sebanyak 643 juta dan tahun 2045 menjadi 783 juta. Sebanyak 541 juta orang dewasa memiliki toleransi glukosa terganggu (IGT) yang berpotensi mengalami peningkatan risiko DT2, dan 240 juta orang dewasa hidup dengan diabetes yang tidak terdiagnosis [1].

DT2 dapat meningkatkan risiko penyakit jantung, hipertensi, dislipidemia dan dapat menyebabkan penyakit kompleks dibandingkan orang tanpa diabetes karena adanya resistensi insulin. Resistensi insulin di sebabkan karena produksi insulin dalam tubuh terganggu. DT2 dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Secara genetik penderita DT2 dipengaruhi oleh beberapa gen yang mengatur metabolisme energi di dalam tubuh, dan dipengaruhi oleh pewarisan genetik sekitar 45% [2]. Salah satu gen yang paling berkaitan dengan DT2 adalah TCF7L2[3], [4].

Gen TCF7L2 mempengaruhi reseptor insulin dan protein substrat reseptor insulin (IRS) serta memiliki keterkaitan dengan visceral obesitas dan meningkatkan resistensi insulin [5]. Penyebab dalam peningkatan resistensi insulin terdapat beberapa gen yang ikut terlibat seperti TCF7L2, KNL1, (mutasi yang menyebabkan diabetes deonatul pada saat lahir, CAPN10 (mutasi yang memiliki keterkaitan hubungan dengan DT2 dengan fungsi yang tidak diketahui dalam metabolisme glukosa), dan gen PPARG (gen pertama yang mengkode protein dalam mengatur ekspresi gen dalam faktor transkripsi)[6], [7].

Terdapat 3 titik polimorfisme pada gen TCF7L2 yang berkaitan dengan DT2 rs34872471, rs7901695 dan rs35198068 [8]. Mutasi rs7903146 menunjukkan bahwa gen TCF7L2 dapat mengganggu fungsi lambung, metabolisme lipid hati, fungsi pankreas, konversi prinsulin & sintesis dan sekresi insulin [9]. Dengan itu Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mutasi gen Transcription Factor 7 Like 2 (TCF7L2) pada populasi DT2 di Wilayah Sidoarjo.

II. METODE

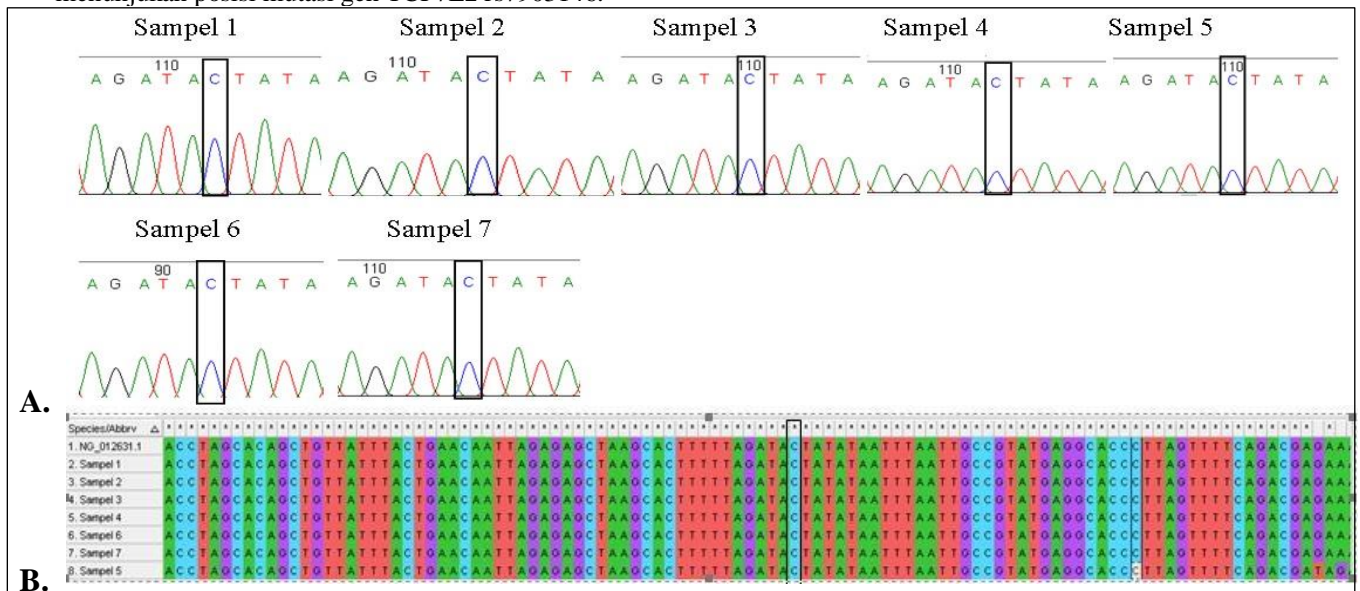
Jenis Penelitian yang digunakan merupakan deskriptif dengan pendekatan purposive sampling. *Ethical Clearance* disetujui oleh STIKES Ngudia Husada Madura dengan nomor sertifikat 1809/KEPK/STIKES/NHM/EC/VII/2023. Kriteria meliputi sampel pemeriksaan gula darah puasa dengan kadar lebih dari 126 mg/dl selama 8 jam tanpa asupan kalori, dan pemeriksaan gula darah puasa dengan kadar lebih dari 200 mg/dl selama 2 jam setelah pemeriksaan TTGO (tes toleransi glukosa oral) dengan sampel terdiagnosis DT2 di rumah luka wilayah Sidoarjo. Penelitian dilakukan pada bulan Juni di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Sidoarjo untuk tahap isolasi DNA sedangkan tahap *sequencing* di kirim ke kota Tangerang *genetika science*. Penelitian ini mengidentifikasi gen SNP rs7903146 TCF7L2 sebagai penanda genetik DT2. Sampel yang didapatkan melalui pembuluh darah vena sebanyak 7 sampel sebanyak 3cc. Sampel disimpan di suhu 4°C hingga digunakan. Setiap sampel di isolasi DNA dengan menggunakan kit genomic TIANGEN dengan memodifikasi sentrifugasi [10].

Primer yang digunakan adalah forward 5'GGTAATGCAGATGTGATGAGATCT3' dan reverse 5'AGATGAAATGTAGCAGTGAAGTGC3' [11] dengan target sekuens sepanjang 318bp menggunakan Biorad T100 sebanyak 32 siklus, meliputi pra-denaturasi 94°C, 3', denaturasi 94°C, 1', annealing 58°C, 1', extension 72°C, 1' dan post extension 72°C, 5'. Data penelitian polimorfisme SNP rs7903146 TCF7L2 didapatkan dengan menggunakan metode *sequencing* dibandingkan dengan sekuens (NG_012631.1) dari NCBI. Analisis *Basic Local Alligment Search Tool* (BLAST) digunakan untuk mengetahui keabsahan hasil pengurutan subjek sampel penelitian dengan menggunakan program BLAST NCBI semua sampel. Basa dari sekuens (NG_012631.1) digunakan sebagai pembandingan *alignment*. *Alignment* dilakukan untuk menganalisis polimorfisme gen TCF7L2 rs7903146 menggunakan Mega 6.0.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Polimorfisme SNP (*single nucleotida polymorphisme*) adalah rs7903146 TCF7L2 yang dideteksi dengan metode *direct DNA sequencing*. Hasil *sequencing* Sampel SNP rs7903146 di analisis bioinformatika untuk merapikan data hasil *sequencing* contig menggunakan program Mega 6.0. Hasil dengan BLAST menggunakan program di NCBI. Hasil BLAST rs7903146 TCF7L2 dengan *accessions* NG_012631.1 menunjukkan urutan *sequencing* yang memiliki nilai kesamaan (*homologi*) 100% yang ditandai dengan terdapat adanya garis penghubung antara sekuens isolat sampel (*query*) dengan sekuens referensi (*subject*). Sekuens yang ditandai dengan tanda kotak pada gambar 1A dan B menunjukkan posisi mutasi gen TCF7L2 rs7903146.



B. Gambar 1(A) Hasil peak ke 7 sampel tidak terlihat adanya mutasi pada titik. (B) Hasil *alignment* semua sampel dan NG_012631.1

C. Pembahasan

Gen TCF7L2 terletak pada kromosom 10q25.-q25.3 yang terkait pada DT2 dan berinteraksi dengan β catenin melalui jalur pensinyalan Wnt yang mengatur morfologi sel, proliferasi, motilitas, onkogenesis dan penekanan tumor,

rs7903146 memiliki keterkaitan dengan diabetes bahwa SNP mempengaruhi diabetogenik dengan merusak sekresi insulin [11]. Gen TCF7L2 terutama pada mutasi rs7903146 memiliki hubungan dengan DT2 yang diduga mengatur proglucagon gen (GCG) yang menghasilkan produk posttranslational, *glucagon-like peptide 1* (GLP-1). GLP-1 berpengaruh pada β -sel pankreas sehingga terjadi anomali sekresi insulin. Ekspresi dari gen TCF7L2 lebih tinggi pada DT2 dibanding pada non-DT2 [12]. SNP pada gen TCF7L2 mempengaruhi respon insulin yang menunjukkan adanya hubungan pada resistensi insulin hepatic, dan pembentukan insulin pada genotipe obesitas, serta dapat mempengaruhi penyakit lebih kompleks. Dengan adanya hal tersebut menunjukkan bahwa polimorfisme TCF7L2 rs7903146 memiliki keterkaitan secara signifikan dengan DT2[11].

Hasil studi dalam penelitian ini pada Gambar 1A menunjukkan peak atau gambar hasil teknik *sequencing* dengan tujuan untuk mengetahui urutan basa nitrogen suatu sampel. Pada Gambar 1B hasil urutan basa sequencing yang sudah disejajarkan kemudian dibandingkan dengan sekuen (NG_012631.1) dari NCBI untuk melihat kemiripan setiap daerah sekuens dan posisi target menggunakan program Mega 6.0.

Varian TCF7L2 berada dalam ekson 1, 10 dan 11 pada masing-masing domain. Dan alel T rs7903146 berada pada urutan ekson 18, dan menunjukkan bahwa gen TCF7L2 memiliki hubungan erat dengan hiperinsulinemia [4].

Hasil studi pada populasi myanmar menemukan hubungan yang signifikan terhadap varian rs7903146 dari gen TCF7L2, DT2 secara presentasi lebih tinggi untuk genotipe homozigot (TT) dibandingkan dengan genotipe heterozigot (CT), resiko variant TT meningkat tujuh kali lipat lebih tinggi seorang terkena DT2 dibandingkan dengan pembawa alel CT pada kelompok kaukasia (Asia Timur, Asia Selatan, dan lainnya). Pada populasi cina tidak ditemukan hubungan mutasi gen TCF7L2 rs7903146 dengan kejadian DT2. [13],[14],[15].

Pada populasi arab, iran, afrika dan eropa tidak menemukan korelasi pada rs7903146 T-alel [16],[17],[18],[19]. Hasil studi pada beberapa populasi menunjukkan mutasi, dipengaruhi dari kerusakan DNA yang disebabkan oleh faktor eksogen maupun endogen dengan terjadi perubahan pada satu basa nitrogen sehingga DNA akan merespon dan mengaktifkan *DNA Damage Response* (DDR) melalui jalur *Base Excision Repair* (BER) yang fungsinya untuk memperbaiki *single strands Break* (SSBs) [20].

Pada populasi yang ada di sidoarjo tidak bermutasi karena karena adanya respon sel yang mengenali dan memperbaiki kerusakan dengan menghentikan siklus sel, hasil ini juga menunjukkan kemungkinan keterkaitan gen lain yang lebih erat. Hal ini di dukung dengan analisa TCF7L2 pada populasi yang sama dan tidak ditemukannya mutasi pada 103950 dan gen ND1[21], [22]. Indikasi lain adalah adanya keterkaitan gen lain yang lebih kuat atau faktor dominan yang mempengaruhi DT2 bukan dari genetik melainkan gaya hidup yang kurang sehat [23].

VII. SIMPULAN

Hasil penelitian dari semua sampel yang digunakan tidak di temukan adanya mutasi pada titik rs7903146 sebagai varian risiko DT2 sehingga tidak terdeteksi mutasi transisi C menjadi T pada sampel sehingga perlu dilakukan analisa lebih lanjut dengan sampel yang lebih banyak

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada pihak riset MU Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yang telah membantu dana pada penelitian ini, dosen pembimbing dan bapak ibu dosen yang telah membantu berjalanya penelitian ini dan Lab Biologi Molekuler UMSIDA yang telah memberi fasilitas dalam penelitian ini.

REFERENSI

- [1] Dianna J Magliano, *et al.*, *IDF Diabetes Atlas*, 10th ed. International Diabetic Federation Atlas, 2021.
- [2] J. Tremblay and P. Hamet, "Environmental and genetic contributions to diabetes," *Metabolism.*, vol. 100, pp. 1–6, 2019, doi: 10.1016/j.metabol.2019.153952.
- [3] M. L. Valeriya Lyseenko, "Genetic Screening for the Risk of Type 2 Diabetes," *Diabetes Pathophysiol.*, vol. 36, no. 2, pp. 5120–5126, 2013, doi: 10.2337/dcS13-2009.
- [4] L. Del Bosque-Plata, E. Martínez-Martínez, M. Á. Espinoza-Camacho, and C. Gagnoli, "The Role of TCF7L2 in Type 2 Diabetes," *Diabetes*, vol. 70, no. 6, pp. 1220–1228, 2021, doi: 10.2337/db20-0573.
- [5] M. A. Sari, "Faktor Risiko Kejadian Diabetes Melitus tipe 2 pada Masyarakat Urban Kota Semarang (Studi Kasus di RSUD Tugurejo Semarang).Skripsi," Universitas Negeri Semarang, 2016.
- [6] Syamsurizal, "Type-2 Diabetes Mellitus of Degenerative Disease," *Bioscience*, vol. 2, no. 1, pp. 34–39, 2018, doi: 10.24036/02018219980-0-00.
- [7] L. G. Rahmi B. Prasad, "Genetics of Type 2 Diabetes—Pitfalls and Possibilities," *Genes (Basel).*, vol. 6, pp. 87–123, 2015, doi: 10.3390/genes6010087.

- [8] S. Hengki Saputra, Dwi Hilda Putri, Elsa Nadriyya, "Primers Designed For Amplifying TCF7L2 Gene," *Biota*, vol. 6, no. 2, pp. 63–70, 2020.
- [9] D. S. Mathiesen *et al.*, "No detectable effect of a type 2 diabetes-associated TCF7L2 genotype on the incretin effect," *Endocr. Connect.*, vol. 9, pp. 1221–1232, 2020.
- [10] A. C. Wardana and M. Mushlih, "Comparison the quality of template DNA isolated by column method with and without centrifugation," *Indones. J. Innov. Stud.*, vol. 15, pp. 10–21070, 2021.
- [11] R. G. Kumaravel Velayutham, Balaji Ramanathan, Jeyasudha Murugan, Arulvani Murugan, Vishali Thavamani, "Carriers of the TCF7L2 rs7903146 , rs12255372 Risk Alleles in the South Tamil Nadu T2DM Patients Present with Early Incidence and Insulin Dependence," *Endocrinology Metab.*, vol. 23, no. 5, pp. 563–569, 2019, doi: 10.4103/ijem.IJEM.
- [12] S. F. A. Grant, "The TCF7L2 locus: A genetic window into the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes," *Diabetes Care*, vol. 42, no. 9, pp. 1624–1629, 2019, doi: 10.2337/dci19-0001.
- [13] S. Phu, A. Thida, K. K. Maung, and T. T. Chit, "Single Nucleotide Polymorphism at rs7903146 of Transcription Factor 7-like 2 gene Among Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus in Myanmar," *ASEAN Fed. Endocr. Soc.*, vol. 38, no. 1, pp. 41–47, 2021, [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37234929>
- [14] W. Ding and L. Xu, "Meta-analysis hubungan antara Polimorfisme TCF7L2 rs7903146 dan diabetes melitus tipe 2," *BMC Med. Genet.*, vol. 0, pp. 1–12, 2018.
- [15] X. Zheng, W. Ren, S. Zhang, and P. Á. P. Á. Snps, "Association of type 2 diabetes susceptibility genes (TCF7L2 , SLC30A8 , PCSK1 and PCSK2) and proinsulin conversion in a Chinese population," *Mol Biol Rep*, vol. 39, pp. 17–23, 2012, doi: 10.1007/s11033-011-0705-6.
- [16] O. Alsmadi *et al.*, "Weak or no association of TCF7L2 variants with Type 2 diabetes risk in an Arab population," *BMC Med. Genet.*, vol. 72, no. 9, pp. 1–7, 2008, doi: 10.1186/1471-2350-9-72.
- [17] M. Pourahmadi, S. Erfanian, M. Moradzadeh, and A. S. Jahromi, "Non-Association between rs7903146 and rs12255372 Polymorphisms in Transcription Factor 7-Like 2 Gene and Type 2 Diabetes Mellitus in Jahrom City , Iran," *Diabetes Metab. J.*, vol. 39, pp. 512–517, 2015.
- [18] M. Guewo-fokeng *et al.*, "Contribution of the TCF7L2 rs7903146 (C / T) gene polymorphism to the susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Cameroon," *Diabetes Metab. Disord.*, vol. 14, no. 26, pp. 1–5, 2015, doi: 10.1186/s40200-015-0148-z.
- [19] S. C. Elbein, W. S. Chu, and S. K. Das, "Transcription factor 7-like 2 polymorphisms and type 2 diabetes , glucose homeostasis traits and gene expression in US participants of European and African descent," *Diabetologia*, vol. 50, pp. 1621–1630, 2007, doi: 10.1007/s00125-007-0717-x.
- [20] Sz Afifah, "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanolik Akar Kelor (*Moringa oleifera*, Lam) Terhadap Ekspresi Insulin Jaringan Pankreas: Tikus Putih(*Rattus nonvegicus*) Model Sindroma Metabolik dengan Induksi Streptozotocin-Nicotinamidedan Diet Tinggi lemak. Skripsi.," Universitas Sebelas Maret, 2013.
- [21] M. Mushlih, S. A. Iknan, H. S. Amin, S. Cholifah, and B. Segara, "Analisi gen TCF7L2 (Trancription Factor 7 Like 2) pada keluarga penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 Kecamatan Tanggulangin, Kabupaten Sidoarjo," *J. Muhammadiyah Med. Lab. Technol.*, vol. 3, no. 2, p. 78, 2020, doi: 10.30651/jmlt.v3i2.6065.
- [22] M. M. Hindah Sabrina Amin, "Identification of the ND1 Mitochondrial Genes Carriers of Type 2 Diabetes Mellitus with Blood Sample Sifat Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan Sampel," *Medicra (Journal Med. Lab. Sci. Technol.*, vol. 3, no. 2, pp. 48–53, 2020, doi: 10.21070/medicra.v3i2.873.
- [23] D. Eva, *Diabetes Mellitus Tipe 2*, Ke-1. Padang: Pusat Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, 2019. [Online]. Available: [http://repo.unand.ac.id/21867/1/Buku Diabetes Mellitus %28Lengkap%29.pdf](http://repo.unand.ac.id/21867/1/Buku%20Diabetes%20Mellitus%20Lengkap%29.pdf)

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.