Элэгний эст өмөнгийн эдэд *TP53* генийн зарим мутацыг тодорхойлж p53 уургийн илрэлтэй харьцуулан судалсан үр дүн

Ш.Цогзолмаа[1,2], Э.Есүхэй[2], Д.Юндэндаш[2], Н.Ням-Эрдэнэ[2], Б.Батчимэг[2], Б.Мөнхцэцэг[2], Ө.Уранбилэг[2], Б.Нямжаргал[3], О.Сүрэн[3], Э.Баярмаа[3], Б.Батболд[1,2], С.Мөнхбаяр[2]

[1]АШУҮИС, Эрдмийн сургууль, Эрүүл мэндийн судалгааны тэнхим
[2]АШУҮИС, Анагаах Ухааны Хүрээлэн
[3]АШУҮИС, Монгол-Японы эмнэлэг, Эмгэг судлалын тасаг
Цахим шуудан: tsogzolmaa.ims@mnums.edu.mn, Утас: 95610269

Түлхүүр үг:

Аллель өвөрмөц ПГУ
Wild-аллель
Иммуногистохими
Экзон-7

Товч утга:

Үндэслэл: Монгол улс элэгний эст өмөнгийн тархалт болон нас баралтын тохиолдлоор олон улсын дунджаас 8 дахин өндөр ба ХСҮТ-ийн 2023 оны мэдээгээр нийт 7244 элэгний эст өмөнгийн тохиолдол бүртгэгдэж, 4556 хүн нас барсан байна. Элэгний эст өмөн үүсэхэд голлон нөлөөлөх эрсдэлт хүчин зүйлсэд хепатитын В, С вирусийн халдвар, архи, тамхины хэрэглээ, хорт бодисын хордлого зэрэг хүчин зүйлсүүд багтах бөгөөд ялангуяа Азийн орнуудад хепатитын В вирусийн халдвар, афлатоксины хордлого нь элэгний эст өмөн үүсэхэд нөлөөлж буй түгээмэл шалтгаануудын нэг болж байна. *TP53* (p53) ген нь 53 кД жинтэй p53 уургийг кодлох бөгөөд 17 дугаар хромосомын богино мөрөнд (17p13) байрладаг ба эсийн хуваагдлын циклийг зохицуулдаг транскрипцын хүчин зүйл тул хавдар дарангуйлах үйлдэлтэй ген гэж үздэг. **Зорилго:** Элэгний эст өмөнгийн эдэд *TP53* генийн зарим мутац болон p53 уургийг илрүүлж эмнэлзүй, лаборатори, эмгэг судлалын зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулан судлах. **Арга, аргачлал:** Элэгний хавдрын өөр өөр үе шатанд оношлогдож, мэс засал эмчилгээ хийлгэсэн нийт 50 оролцогчийн парафинд бэхжүүлсэн эдийн зүслэгээс геномын ДНХ-ийг ялгаж, аллель өвөрмөц ПГУ явуулж, *TP53* генийн экзон 7-ын 249 болон 258 дугаар кодон дээрх мутацыг тодорхойлов. Улмаар p53 уургийн илрэлийг иммуногистохимийн аргаар үнэлж, эмнэлзүй, лаборатори, эмгэг судлалын зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулан судаллаа. **Үр дүн:** Судалгаанд элэгний эст өмөн оношлогдож, мэс засал эмчилгээ хийлгэсэн 33-79 (дундаж нас 64.06±9.1 жил) насны 21 (42%) эрэгтэй, 29 (58%) эмэгтэй нийт 50 оролцогчийн эдээс геномын ДНХ ялган *TP53* генийн 249 болон 258-р кодоны мутацыг тодорхойлоход уг генийн 249-р кодонд мутант аллель илэрсэнгүй (0%). Харин 258-р кодоны мутант аллель 15 (30%) сорьцод илрэв. *TP53* генийн 7-р экзоны 258-р кодоны мутацыг эмнэлзүй, лаборатори, эмгэг судлалын зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулан үнэлэхэд нас (p=0.558), хүйс (p=0.851), хепатитын В вирусийн халдвар (p=0.288), хепатитын С вирусийн халдвар (p=0.902), элэгний хатуурал (p=0.736), сорвижилт (p=0.985), өөхжилт (p=0.368), ийлдсийн AFP-ий хэмжээ (p=0.662) хавдрын тоо (p=0.665), хавдрын хэмжээ (p=0.439), судасны нэвчилттэй (p=0.849) статистик ач холбогдол бүхий хамаарал ажиглагдаагүй. Түүнчлэн элэгний эст өмөнгийн өөр өөр үе шатанд оношлогдож, мэс засал эмчилгээ хийлгэсэн нийт 46 оролцогчийн парафинд бэхжүүлсэн элэгний эдийн зүслэгт p53 уургийн илрэлийг иммуногистохимийн аргаар тодорхойлоход 26 (57%) сорьцод p53 уургийн будагдалт эерэг байсан ба p53 уургийн илрэлийг эмнэлзүй, лаборатори, эмгэг судлалын зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулан судлахад p53 уургийн эерэг будагдалт *TP53* генийн 258-р кодоны мутац (p=0.004) болон хепатитын В вирусийн халдвартай (p=0.002) оролцогчдод өндөр байсан нь статистикийн хувьд ач холбогдол бүхий ялгаатай байлаа. **Дүгнэлт:** Бидний судалгаагаар элэгний эст өмөнгийн эдэд *TP53* генийн 258-р кодоны мутац зонхилон тодорхойлогдсон нь хепатитын вирусийн халдварын нөлөөгөөр өдөөгдсөн байж болох юм. Түүнчлэн 249-р кодоны мутац илрээгүй нь монголчуудын хувьд элэгний эст өмөнгийн үүсэлд афлатоксины нөлөө одоогоор бага байгааг илтгэх боломжтой гэж үзэж байна. Мөн *TP53* генийн мутацтай үед элэгний эдэд p53 уургийн илрэл их байгаа төдийгүй хепатитын В вирусийн халдвартай хамааралтай байна.

Үндэслэл: Манай улс элэгний эст өмөнгийн тархалт болон нас баралтын тохиолдлоор олон улсын дунджаас 8 дахин өндөр ба ХСҮТ-ийн 2023 оны мэдээгээр нийт 7244 элэгний эст өмөнгийн тохиолдол бүртгэгдэж, 4556 хүн нас барсан байна.[1] Элэгний эст өмөн үүсэхэд голлон нөлөөлөх эрсдэлт хүчин зүйлсэд хепатитын В, С вирусийн халдвар, архи, тамхины хэрэглээ, хорт бодисын хордлого зэрэг хүчин зүйлсүүд багтах бөгөөд ялангуяа Азийн орнуудад хепатитын В вирусийн халдвар, афлатоксины хордлого нь элэгний эст өмөн үүсэхэд нөлөөлж буй түгээмэл шалтгаануудын нэг болж байна.[2] Манай улсын хувьд элэгний эст өмөнгийн нийт тохиолдлын 92-95% нь хепатитын В, С вирусийн халдварын шалтгаантай гэж үздэг бөгөөд үүнээс 46% нь С вирусийн шалтгаант, 34% нь В вирусийн шалтгаантай байна гэж судалгаануудад дурдсан байна.[3] Ази, Африкийн зарим орнуудад элэгний эст өмөнгийн нийт тохиолдлын 4.6-28.2% нь афлатоксины шалтгаантай байж болох талаар цөөнгүй судлаачид дурджээ.[4-6]

Афлатоксин нь *Aspergillus flavus* болон *Aspergillus parasiticus* хөгц мөөгөнцрөөс үүсдэг хоёрдогч метаболит бөгөөд үр тариа, эрдэнэ шиш, будаа, улаан буудай, вандуй зэрэг хүнсний бүтээгдэхүүнүүд мөөгөнцрөөр бохирдоход ихээр үүсдэг ба ялангуяа азотын бордоогоор бордсон газрын хөрсөнд их байдаг.[7-9] Түүнчлэн хугацаа нь дууссан хүнсний бүтээгдэхүүн, савласан, утсан мах, хиам, жимс, помидор, бэлэн хоолонд ихээр агуулдагддаг байна. Байгальд 20 төрлийн афлатоксин байдаг ба эдгээрээс афлатоксин В1 хамгийн хоруу чанар ихтэй бөгөөд их тунгаар агуулсан хүнс хэрэглэх нь шууд үхэлд хүргэдэг болохыг судалгаагаар тогтоосон байдаг.[10] Харин афлатоксин В1-ийн хордлогод бага тунгаар удаан хугацаагаар өртөхөд элэгний хатуурал болон элэгний эст өмөн үүсэх эрсдэлтэй болох нь судалгаагаар нотлогдсон тул 1993 онд Олон улсын Хавдар Судлалын Нийгэмлэг афлатоксин В1-ийг элэгний эст өмөн үүсгэгч хүчин зүйлийн 1-р ангилалд оруулсан байна.[11-13]

Хавдар дарангуйлагч *TP53* генийн мутац нь элэгний хорт хавдрын хамгийн түгээмэл генетикийн өөрчлөлт бөгөөд афлатоксин В1 нь элэгний эсийн ДНХ-ийн нуклеотидтэй холбогдож, *TP53* генийн мутацыг үүсгэснээр элэгний эст өмөнг нөхцөлдүүлдэг байна. *TP53 (p53)* ген нь 53 кД жинтэй р53 уургийг кодлох бөгөөд 17 дугаар хромосомын богино мөрөнд (17p13) байрладаг ба эсийн хуваагдлын мөчлөгийг зохицуулдаг транскрипцын хүчин зүйл тул хавдар дарангуйлах үйлдэлтэй ген гэж үздэг. Энэхүү генийн гол үүрэг нь эсэд үйлчилж байгаа гадаад ба дотоод хүчин зүйлсийн улмаас (ДНХ гэмтэх, гипокси болох, хавдар үүсгэгч ген идэвхжих) ДНХ-ийг таньж засварлах, эсийг апоптозод оруулах, эсийн мөчлөгийг зохицуулах үйл ажиллагаанд оролцож, бие махбодын хамгаалах үйл ажиллагааг зохицуулах явдал юм.[14] *TP53* ген мутацад орсноор энэ үйл ажиллагаа алдагдаж, улмаар эсийн хяналтгүй хуваагдал бий болдог. *TP53* генийн мутац хөхний, бүдүүн гэдэс, уушги, элэг, түрүү булчирхай, давсаг зэрэг олон төрлийн эрхтний хорт хавдрын үед илэрдэг төдийгүй мутацлагдсан р53 уураг эдгээр эрхтний хавдрын үед эсийн бөөмд хуримтлагддаг. Ингэснээр хавдрын явц, өвчтөний тавиланд нөлөөлж буй талаар судлаачид онцлон тэмдэглэсэн байна.[15-16] Зарим судалгаанд элэгний эст өмөнтэй хүмүүст *TP53* генийн мутацын давтамж 50%-д тохиолддог талаар мэдээллэсэн.[17] Ялангуяа хепатитын В,С вирусийн халдвар, афлатоксины нөлөөгөөр р53 уургийн ДНХ-тэй холбогдох домейнийг кодолдог хэсэгт цэгэн мутац үүсдэг байна.[18]

Хепатитын В, С вирусийн халдвар, афлатоксин нь *TP53* генийн мутацыг өдөөх замаар элэгний хавдрын эмгэг жамд нөлөөлдөг төдийгүй ялангуяа ТР53 генийн экзон 7-ын 249 болон 258-р кодон дээр үүссэн мутац зонхилон тохиолдож буй талаар дурджээ.[19] Түүнчлэн элэгний эст өмөнгийн үед *TP53* генийн мутац болон р53 уургийн хуримтлал өмөнгийн эдэд их байх нь хавдрын явц төдийгүй өвчтөний тавиланд нөлөөлж буй талаар судлаачид онцолсон хэдий ч энэ талаар манай улсад хийгдсэн судалгааны ажил хомс байгаа нь бид уг судалгааг хийх үндэслэл болж байна.

Зорилго: Элэгний эст өмөнгийн эдэд *TP53* генийн зарим мутац болон р53 уургийг илрүүлж эмнэлзүй, лаборатори, эмгэг судлалын зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулан судлах.

Зорилт:

1. Элэгний эст өмөнгийн эдэд *TP53* генийн 7-р экзоны 249, 258-р кодоны мутацийг аллель өвөрмөц ПГУ-аар тодорхойлох.
2. Элэгний эст өмөнгийн эдэд р53 уургийн илрэлийг иммуногистохимийн аргаар үнэлж, эмнэлзүй, лаборатори, эмгэг судлалын зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулан судалах.

Арга, аргачлал: Энэхүү судалгааг АШУҮИС, АУХ-ийн Эрдэм шинжилгээний төв лаборатори, АШУҮИС, Монгол-Японы эмнэлэг, эмгэг судлалын тасаг, АШУҮИС-ийн БАХ-ийн Эмгэг судлалын лабораторийг тус тус АШУҮИС, Эрдмийн Сургууль, Эрүүл Мэндийн Судалгааны тэнхимийг тус тус түшиглэн хийж гүйцэтгэв. Судалгаанд АУХ-ийн 2022-2023 онд хэрэгжүүлсэн “Ийлдсийн Глипикан-3 биомаркерийг ашиглан элэгний хавдрыг эрт илрүүлэх нь” сэдэвт суурь судалгааны төслийн хүрээнд ёс зүйн зөвшөөрөл авч, таниулсан зөвшөөрлийн дагуу ХСҮТ-ийн Элэг цөс, нойр булчирхайн мэс заслын тасгаас цуглуулсан элэгний эст өмөн оношлогдсон оролцогчдын парафинд бэхжүүлсэн нийт 50 эдийн сорьцыг ашиглав.

TP53 генийн мутац илрүүлсэн аргачлал: Судалгаанд оролцогчдын парафинд бэхжүүлсэн нийт 50 эдээс тусгай протоколын дагуу геномын ДНХ-ийг ялгаж, TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version ПГУ-ын цомог (TaKaRa, Otsu, Japan) ашиглан аллель өвөрмөц ПГУ-аар генийг олшруулав. Улмаар ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг 4-5%-ийн агарозын гельд, 100 вольт хүчдэлд 30-45 минут гүйлгэн, үр дүнгийн зураг авч баталгаажуулсан. 249-р кодоны мутант болон wild аллель 121 х.н урттай, 258-р кодоны мутант болон wild аллель 96 х.н урттай

бүтээгдэхүүн үүсэх ба молекул маркер ашиглан үр дүнг үнэлсэн. Аллель өвөрмөц ПГУ-ыг 7-р экзоны 249 болон 258-р кодон дээр байрлах *TP53* генийн мутацад өвөрмөц дараах праймер хослолуудыг ашиглав.

- C249-Mutant: F-5'-TGGGCGGCATGAACCG-GAGT-3'
- C249-Wild: F-5'-TGGGCGGCATGAACCG-GAGG-3'
- C258-Mutant: F-5'-CCTCACCATCATCACACTG-GT-3'
- C258-Wild: 5'-CCTCACCATCATCACACTG-GA-3'
- R-5'-GGGTCAGCGGCAAGCAGAGG-3'

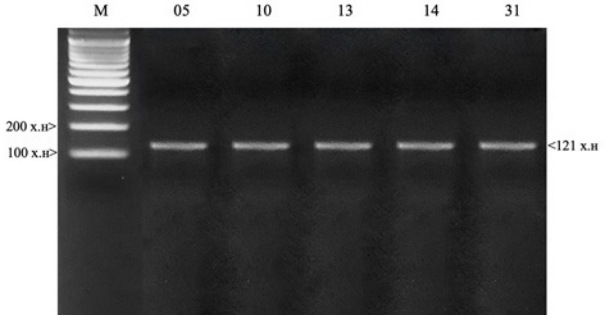
p53 уургийн илрэлийг үнэлсэн аргачлал: Элэгний эст өмөнгийн 46 эдийг парафинд бэхжүүлж, 1 блоконд бэлтгэсэн зүслэг дээр p53 анхдагч эсрэгбие (Biocare Medical, Cat. No: SKU42), Biocare Medical, MACH 1 Universal HRP-Polymer Detection kit ашиглан DAB (3,3'-diaminobenzidine) иммуногистохимийн шинжилгээ хийв. p53 уургийн илрэлийг үнэлэхдээ эсийн бөөм дотор бор өнгө өгсөн эсийн эзлэх хувь болон өнгөний эрчмээс хамааран сөрөг, дунд, хүчтэй эерэг гэж үнэлэв. Бор өнгө өгсөн эсийн эзлэх хувь <5% бол 0, 5-50% бол 1, >50% бол 2; өнгөний эрчим үзүүлээгүй бол 0, дунд бол 1, хүчтэй бол 2 оноо тус тус өгөв. Нэгдсэн үнэлгээг гаргахдаа будагдсан эсийн эзлэх хувийг өнгөний эрчмийн оноогоор үржүүлж, 0 оноотой бол сөрөг, 1-4 оноог сул эерэг, 5-7 дунд, >8 оноог хүчтэй эерэг гэж үнэллээ.

Үр дүн: Судалгаанд элэгний эст өмөн оношлогдож, мэс засал эмчилгээ хийлгэсэн 33-79 (дундаж нас 64.06±9.1 жил) насны 21 (42%) эрэгтэй, 29 (58%) эмэгтэй нийт 50 оролцогчийн эдээс геномын ДНХ ялган *TP53* генийн зарим мутацыг илрүүлэв. Судалгаанд хамрагдагсдын ерөнхий мэдээлэл, эмнэлзүй, эдийн шинжилгээний өөрчлөлтийг хүснэгт 1-т харуулав.

Хүснэгт 1. Судалгаанд хамрагдагсдын эмнэлзүй, эдийн шинжилгээний өөрчлөлтыг тодрхойлсон дүн

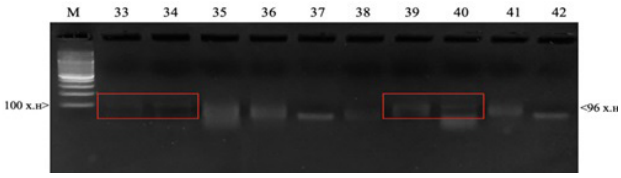
№	Үзүүлэлт	Ангилал	n (%)
1	Хепатит В вирус (HBV)	Тийм	21(42)
		Үгүй	29 (58)
2	Хепатит С вирус (HCV)	Тийм	26 (52)
		Үгүй	24 (58)
3	Хатуурал	Тийм	35 (70)
		Үгүй	15 (30)
4	Сорвижилт (ISHAK)	Ye шат 2	8 (16)
		Ye шат 3	11(22)
		Ye шат 4	20 (40)
		Ye шат 5	7 (14)
		Ye шат 6	4 (8)
5	Өөхжилт	Зэрэглэл 0	32 (64)
		Зэрэглэл 1	18 (36)
		Зэрэглэл 2	0 (0)
		Зэрэглэл 3	0 (0)
6	Гистологийн зэрэг	Бага зэрэглэл	23 (46)
		Өндөр зэрэглэл	27 (54)
7	Гистологийн хэв шинж	Classic	42 (84)
		Clear cell	8 (16)
8	Хавдрын ялгарал	Муу ялгарал	16 (32)
		Дунд ялгарал	30 (60)
		Сайн ялгарал	4 (8)
9	Эмгэг судлалын үе шат (pT)	T1	6 (12)
		T2	26 (52)
		T3	13 (26)
		T4	5 (10)
10	Хавдрын тоо	Дан	38 (76)
		Олон	12 (24)
11	Хавдрын хэмжээ	≤5 см	37 (74)
		>5 см	13 (26)
12	Судасны нэвчилт	Тийм	44 (88)
		Үгүй	6 (12)
13	Альфа-фетопротеин (AFP)	≤20 нг/мл	21 (42)
		>20 нг/мл	29 (58)

TP53 генийн зарим мутацыг тодорхойлсон үр дүн: Судалгаанд элэгний эст өмөн оношлогдож, мэс засал эмчилгээ хийлгэсэн 50 оролцогчийн эдээс геномын ДНХ ялган, *TP53* генийн 249 болон 258-р кодоны мутацыг тодорхойлоход уг генийн 249-р кодонд мутант аллель илэрсэнгүй (0%). Харин 258-р кодоны мутант аллель 15 (30%) сорьцод илрэв (Зураг 1, 2).



Зураг 1. Парафинд бэхжүүлсэн эдээс ялгасан ДНХ ашиглан p53 генийн 249-р кодонд wild-аллель илрүүлсэн ПГУ-ын үр дүн.

Тайлбар: М-Молекул маркер, 05, 10, 13, 14, 31-Дээжүүдийн дугаар.



Зураг 2. Парафинд бэхжүүлсэн эдээс ялгасан ДНХ ашиглан p53 генийн 258-р кодонд мутант аллель илрүүлсэн ПГУ-ын үр дүн.

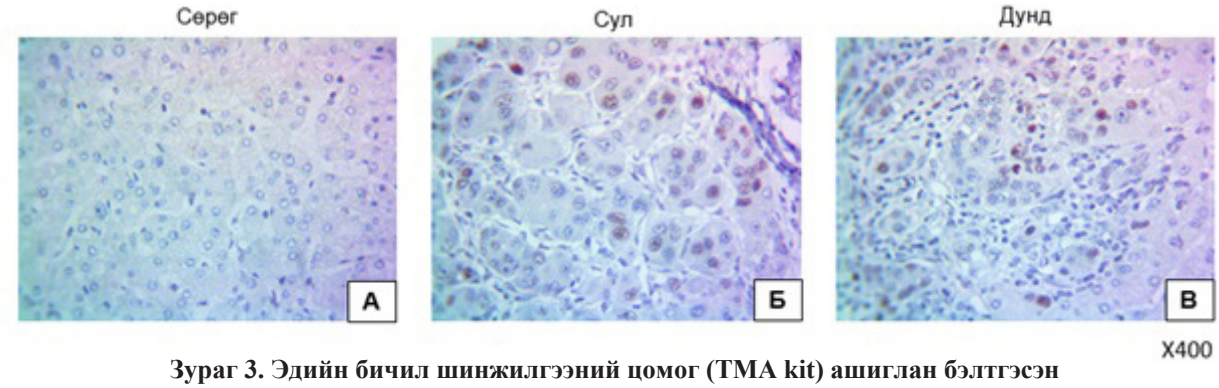
Тайлбар: М-Молекул маркер, 33-24- дээжүүдийн дугаарууд, М-молекул маркер

Улмаар *TP53* генийн 7-р экзоны 258-р кодоны мутацыг эмнэлзүй, лаборатори, эмгэг судлалын зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулан үнэлэхэд нас (p=0.558), хүйс (p=0.851), хепатитын В вирусийн халдвар (p=0.288), хепатитын С вирусийн халдвар (p=0.902), элэгний хатуурал (p=0.736), сорвижилт (p=0.985), өөхжилт (p=0.368), ийлдсийн AFP-ий хэмжээ (p=0.662) хавдрын тоо (p=0.665), хавдрын хэмжээ (p=0.439), судасны нэвчилттэй (p=0.849) статистик ач холбогдол бүхий хамаарал ажиглагдаагүй (p>0.05) (Хүснэгт 2).

Хүснэгт 2. *TP53* генийн 7-р экзоны 258-р кодоны мутацыг эмнэлзүй, эдийн шинжилгээний өөрчлөлттэй харьцуулсан дүн

№	Үзүүлэлт		258-р кодоны мутац		p-утга
			Илэрсэн	Илрээгүй	
1	Хепатит В вирус (HBV)	Тийм	8	13	0.288
		Үгүй	7	22	
2	Хепатит С вирус (HCV)	Тийм	8	18	0.902
		Үгүй	7	17	
3	Хатуурал	Тийм	10	25	0.736
		Үгүй	5	10	
4	Сорвижилт (ISHAK)	Үе шат 2	2	6	0.985
		Үе шат 3	4	7	
		Үе шат 4	6	14	
		Үе шат 5	2	5	
		Үе шат 6	1	3	
5	Өөхжилт	Зэрэглэл 0	11	21	0.368
		Зэрэглэл 1	4	14	
		Зэрэглэл 2	0	0	
		Зэрэглэл 3	0	0	
6	Гистологийн зэрэг	Бага зэрэглэл	6	17	0.577
		Өндөр зэрэглэл	9	18	
7	Гистологийн хэв шинж	Classic	13	29	0.736
		Clear cell	2	6	
8	Хавдрын ялгарал	Муу ялгарал	7	9	0.163
		Дунд ялгарал	6	24	
		Сайн ялгарал	2	2	
9	Эмгэг судлалын үе шат (pT)	T1	2	4	0.076
		T2	6	20	
		T3	3	10	
		T4	4	1	
10	Хавдрын тоо	Дан	12	26	0.665
		Олон	3	9	
11	Хавдрын хэмжээ	≤5 см	10	27	0.439
		>5 см	5	8	
12	Судасны нэвчилт	Тийм	13	31	0.849
		Үгүй	2	4	
13	Альфа-фетопротеин (AFP)	≤20 нг/мл	7	14	0.662
		>20 нг/мл	8	21	

p53 уургийн илрэлийг элэгний хавдрын эдэд тодорхойлсон дүн: Элэгний эст өмөнгийн өөр өөр үе шатанд оношлогдож, мэс засал эмчилгээ хийлгэсэн нийт 46 оролцогчийн парафинд бэхжүүлсэн элэгний эдийн зүслэгт p53 уургийн илрэлийг иммуногистохимийн аргаар тодорхойлоход 26 (57%) сорьцод p53 уургийн будагдалт эерэг байв. (Зураг 3)



Зураг 3. Эдийн бичил шинжилгээний цомог (TMA kit) ашиглан бэлтгэсэн элэгний эст өмөнгийн эдэд p53 уургийн илрэлийг тодорхойлсон дүн.

Тайлбар: А. p53 уураг элэгний эст өмөнгийн эдэд сөрөг будагдсан, Б. p53 уураг элэгний эст өмөнгийн эдэд сул будагдсан, В. p53 уураг элэгний эст өмөнгийн эдэд дунд будагдсан, Будалт: p53 иммуногистохими, өсгөлт х 400,

p53 уургийн илрэлийг эмнэлзүй, лаборатори, эмгэг судлалын зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулан судлахад нас (p=0.315), хүйс (p=0.627), хатуурал (p=0.447), сорвижилт (p=0.889), өөхжилт (p=0.250), гистологийн хэв шинж (p=0.916), эмгэг судлалын үе шат (p=0.661), хавдрын ялгарал (p=0.126), хавдрын тоо (p=0.302), хавдрын хэмжээ (p=0.447) судасны нэвчилт(p=0.286), ийлдсийн AFP-ий хэмжээ (p=0.066), хепатитын С вирусийн халдвар (p=0.902)-тай статистик ач холбогдол бүхий хамаарал ажиглагдаагүй. Харин p53 уургийн эерэг будагдалт TP53 генийн 258-р кодоны мутац (p=0.004) болон хепатитын В вирусийн халдвартай (p=0.002) оролцогчдод өндөр байсан нь статистикийн хувьд ач холбогдол бүхий ялгаатай байлаа. (Хүснэгт 3).

Хүснэгт 3. p53 уургийн будагдалт ба эмнэлзүй, эдийн шинжилгээний өөрчлөлт тодорхойлсон дүн

№	Үзүүлэлт		p53			*P-утга*
			Сөрөг	Сул	Дунд	
1	HBV	Тийм	9	4	6	0.002
		Үгүй	11	16	0	
2	HCV	Тийм	10	13	2	0.344
		Үгүй	10	7	4	
3	Хатуурал	Тийм	15	15	3	0.447
		Үгүй	5	5	3	
4	Соривжилт (ISHAK)	Үе шат 2	4	4	0	0.889
		Үе шат 3	5	3	1	
		Үе шат 4	8	8	3	
		Үе шат 5	2	4	1	
		Үе шат 6	1	1	1	
5	Өөхжилт	Зэрэглэл 0	12	16	3	0.250
		Зэрэглэл 1	8	4	3	
6	Гистологийн зэрэглэл	Бага зэрэглэл	9	10	3	0.945
		Өндөр зэрэглэл	11	10	3	
7	Гистологийн хэв шинж	Classic	16	17	5	0.916
		Clear cell	4	3	1	
8	Хавдрын ялгарал	Муу ялгарал	6	7	2	0.126
		Дунд ялгарал	14	11	2	
		Сайн ялгарал	0	2	2	
9	Эмгэг судлалын үе шат (pT)	T1	2	2	2	0.661
		T2	10	11	2	
		T3	6	4	2	
		T4	2	3	0	
10	Хавдрын тоо	Дан	17	13	5	0.302
		Олон	3	7	1	
11	Хавдрын хэмжээ	≤5 см	15	15	3	0.447
		>5 см	5	5	3	
12	Судасны нэвчилт	Тийм	18	18	4	0.286
		Үгүй	2	2	2	
13	AFP	≤20 нг/мл	12	6	1	0.066
		>20 нг/мл	8	14	5	
14	c258	Мутацгүй	19	10	3	0.004
		Мутацтай	1	10	3	

Хэлцэмж: Судлаач Lu-Nan Qi (2014 он) нар элэгний эст өмөнтэй хүмүүст *TP53* генийн 7-р экзон дахь 249-р кодон болон 258-р кодоны цэгчилсэн мутац зонхилон илэрсэн байгааг тодорхойлсон ба тус судалгаагаар нийт элэгний эст өмөнгийн эдийн 34%-д нь 7-р экзоны 249-р кодон дээр, 12,1% нь 258-р кодон дээр тус тус мутац илэрсэн гэж тогтоосон бол бидний судалгаагаар 249-р кодон дээр мутац илрээгүй нь дээрх судалгааны үр дүнтэй ялгаатай байна.[19] Мөн Augusto Villanueva (2011 он) нар нийт 409 элэгний эст өмөнтэй эдэд *TP53* генийн мутацийг тодорхойлоход 125 эдэд буюу 37,2% нь илэрсэн ба гол мутац нь 249-р кодон дээр илэрсэн болохыг тогтоосон байна.[20] Бидний таамаглаж байгаагаар 249-р кодон дээрх мутаци их байгаа нь афлатоксины тархалт өндөр оронд хийгдсэнтэй холбоотой байж болзошгүй гэж үзэж байна. Харин манай оронд элэгний эст өмөнгийн эдэд *TP53* генийн мутацыг илрүүлсэн судалгаа хомс байдаг хэдий ч судлаач Д.Булган (2006 он) нарын хийсэн “Элэгний анхдагч өмөнтэй хүмүүст эст өмөн дарангуйлах p53, Rb болон эсийн мөчлөгийн зохицуулгын зарим генийн экспрессийг судалсан нь” сэдэвт судалгаандаа *TP53* генийн 249-р кодоны мутац илрээгүй, харин 248-р кодоны мутацын нэг тохиолдолд илэрсэн болохыг тодорхойлсон нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байна.[21] Энэ нь манай оронд афлатоксин B1-ээр сэдээгдсэн генийн мутац давамгайлаагүй болохыг харуулж байна. Учир нь *TP53* генийн 249-р кодоны мутац, тухайн оронд хоол хүнсний зүйл нь *Aspergillus flavus*-аас хэр бохирдож байгаатай шууд холбоотой байдаг. Мөн бид *TP53* генийн 7-р экзоны 258-р кодоны мутацыг эмнэл зүй, лаборатори, эмгэг судлалын зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулахад статистик ач холбогдол бүхий ялгаа ажиглагдаагүй. Гэсэн хэдий ч энэ нь харьцангуй цөөн тооны сорьцод үндэслэсэн гэдгийг онцлох нь зүйтэй бөгөөд *TP53* генийн өөрчлөлт болон бусад үзүүлэлтүүдийн хоорондын хамаарлыг илүү олон оролцогчдыг хамруулсан томоохон судалгаануудаар баталгаажуулах шаардлагатай юм.

Jiangbo Liu (2016 он) нар мета-анализ судалгаандаа *TP53* генийн мутац эсвэл p53 уураг хэт их хэмжээгээр илэрсэн элэгний эст өмөнтэй оролцогчдыг

мутацад ороогүй болон уургийн хэмжээ багатай оролцогчидтой харьцуулахад нас барах, хавдрын дахилт үүсэх эрсдэл өндөр байгааг харуулсан бөгөөд энэ нь эмнэлзүйн шийдвэр гаргахад тусалдаг байна.[17] Бид энэхүү судалгааны хүрээнд p53 уургийн илрэлийг элэгний эст өмөнгийн 46 оролцогчийн парафинд бэхжүүлсэн эдэд иммуногистохимийн аргаар будаж, тодорхойлсон. Үүний үр дүнд нийт 46 эдээс 26 (57%) нь p53 уургийн будагдалт эерэг байсан ба үүнээс *TP53* генийн 258-р кодоны мутацтай 14 сорьцноос 13-д уургийн будагдалт эерэг байсан. George G Chen (2007 он) нарын судалгаанд *TP53* генийн мутацтай элэгний эст өмөнтэй өвчтөнүүдэд p53 уургийн эерэг хувь нь сөрөг хүмүүстэй харьцуулахад харьцангуй өндөр (p <0.01) буюу *TP53* генийн мутацтай 21 тохиолдлын 16-д нь p53 уургийн будагдалт эерэг байсан нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байна.[22] George G Chen (2007 он), Jiangbo Liu (2016 он) нарын мета-анализ судалгаагаар мөн адил p53 уургийн илрэл ба p53 генийн мутац хооронд хамааралтай болохыг харуулсан.[17,22]

Бид p53 уургийн илрэлийг *TP53* генийн 258-р кодоны мутацтай холбон судлахаас гадна нас, хүйс, хатуурал, сорвижилт, өөхжилт, гистологийн хэв шинж, эмгэг судлалын үе шат, хавдрын ялгарал, хавдрын тоо, хавдрын хэмжээ, судасны нэвчилт, ийлдсийн AFP-ий хэмжээ, хепатитын С вирусийн халдвартай холбон судлахад статистик ач холбогдол бүхий хамаарал ажиглагдаагүй боловч хепатитын В вирусийн халдвартай сорьцод p53 уургийн эерэг будагдалт өндөр байсан. Parisa Shahnazari (2014 он) нар элэгний хатуурлын үед хепатитын В вирусийн халдвартай хүмүүсийн ийлдсэнд p53 уургийн хэмжээ ихсэж байна гэж тодорхойлсон ба энэхүү судалгааны илрүүлсэн шинжилгээний арга болон сорьц нь ялгаатай хэдий ч бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байна.[23] Мөн Roghyeh Kordestani (2013 он) нарын хийсэн судалгааны үр дүнд HBx уураг (HBx protein-Хепатитын В вирусийн уураг) нь p53 уургийн үйл ажиллагааг дарангуйлан ДНХ-ийн гэмтлийг засах үйл явцыг алдагдуулснаар эс дотор p53 уураг хуримтлагдаж байна гэж дүгнэсэн.[24] Тиймээс элэгний эст өмөнгийн үед хепатитын В вирусийн халдвартай хүмүүст p53 уургийн будгийн эрчим өндөр гарсан нь эзэн эс HBx-тэй харилцан үйлчилсний дүнд p53 уургийн хагас задралын хугацаа нэмэгдэн эсэд хуримтлагдсантай холбоотой байж болох юм.

Бидний судалгаагаар элэгний эст өмөнгийн үед зонхилон тохиолдох *TP53* генийн 7-р экзоны 249, 258-р кодон дээрх мутац болон p53 уургийг тодорхойлсон боловч судалгаанд оролцогчдын тоо цөөн, эерэг хяналт байхгүй зэрэг нь бидний судалгааны хязгаарлагдмал тал болж байна. Цаашид бусад кодон дээрх мутацыг тодорхойлох, элэгний эст өмөнгийн эрсдэлт хүчин зүйлүүдийн нэг болох афлатоксин B1 болон *TP53* генийн мутац хоорондын хамаарлыг судлах зэрэг нь практикийн чухал ач холбогдолтой гэж үзэж байна.

Дүгнэлт:

1. Элэгний эст өмөнгийн эдэд *TP53* генийн 258-р кодоны мутац зонхилон тодорхойлогдсон нь хепатитын вирусийн халдварын нөлөөгөөр өдөгддөгтэй холбоотой төдийгүй 249-р кодоны мутац илрээгүй нь Монголчуудын хувьд элэгний эст өмөнгийн үүсэлд афлатоксины нөлөө одоогоор бага байгааг илтгэх боломжтой гэж үзэж байна.
2. TP53 генийн мутацтай үед элэгний эдэд p53 уургийн илрэл их байгаа төдийгүй хепатитын В вирусийн халдвартай хамааралтай байна.

Ном зүй:

1. *Статистикийн Мэдээллийн Нэгдсэн Сан. Хорт хавдраар нас барагчдын тоо, 1000 хүн амд ноогдохоор, хорт хавдрын төрлөөр, жил бүрийн эцэс (2023 он).*
2. *Wogan, G. N., Kensler, T. W., & Groopman, J. D. (2012). Present and future directions of translational research on aflatoxin and hepatocellular carcinoma. A review. Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment, 29(2), 249–257. https://doi.org/10.1080/19440049.2011.563370*
3. *Oidov Baatarkhuu, Tsagaantsooj Gerelchimeg, Dashchirev Munkh-Orshikh, Badamnachin Batsukh, Ganbold Sarangua, Jazag Amarsanaa. Epidemiology, Genotype Distribution, Prognosis, Control, and Management of Viral Hepatitis B, C, D, and Hepatocellular Carcinoma in Mongolia. Euroasian Journal of Hepato-Gastroenterology, January-June 2018;8(1):57-62*
4. *Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. The American journal of clinical nutrition. Nov 2004;80(5):1106-1122.*
5. *Liu Y, Wu F. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: a risk assessment. Environmental health perspectives. Jun 2010;118(6):818-824.*
6. *Boonen J, Malysheva SV, Taevernier L, Diana Di Mavungu J, De Saeger S, De Spiegeleer B. Human skin penetration of selected model mycotoxins. Toxicology. Nov 15 2012;301(1-3):21-32.*
7. *Hamid, A. S., Tesfamariam, I. G., Zhang, Y., & Zhang, Z. G. (2013). Aflatoxin B1-induced hepatocellular carcinoma in developing countries: Geographical distribution, mechanism of action and prevention. Oncology letters, 5(4), 1087–1092. https://doi.org/10.3892/ol.2013.1169*
8. *Murugavel, K. G., Naranatt, P. P., Shankar, E. M., Mathews, S., Raghuram, K., Rajasambandam, P., Jayanthi, V., Surendran, R., Murali, A., Srinivas, U., Palaniswamy, K. R., Srikumari, D., & Thyagarajan, S. P. (2007). Prevalence of aflatoxin B1 in liver biopsies of proven hepatocellular carcinoma in India determined by an in-house immunoperoxidase test. Journal of medical microbiology, 56(Pt 11), 1455–1459. https://doi.org/10.1099/jmm.0.47151-0*
9. *Baydar, T., Engin, A. B., Girgin, G., Aydin, S., & Sahin, G. (2005). Aflatoxin and ochratoxin in various types of commonly consumed retail ground samples in Ankara, Turkey. Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM, 12(2), 193–197.*
10. *Popescu, R. G., Rădulescu, A. L., Georgescu, S. E., & Dinischiotu, A. (2022). Aflatoxins in Feed: Types, Metabolism, Health Consequences in Swine and Mitigation Strategies. Toxins, 14(12), 853. https://doi.org/10.3390/toxins14120853*
11. *Gramantieri L, Gnudi F, Vasuri F, Mandrioli D, Fornari F, Tovoli F, Suzzi F, Vornoli A, D'Errico A, Piscaglia F, et al. Aflatoxin B1 DNA-Adducts in Hepatocellular Carcinoma from a Low Exposure Area. Nutrients. 2022; 14(8):1652. https://doi.org/10.3390/nu14081652*
12. *Wogan G. N. (1992). Aflatoxins as risk factors for hepatocellular carcinoma in humans. Cancer research, 52(7 Suppl), 2114s–2118s.*
13. *McLean, M., & Dutton, M. F. (1995). Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. Pharmacology & therapeutics, 65(2), 163–192. https://doi.org/10.1016/0163-7258(94)00054-7*
14. *Arnold J.Levine. Targeting Therapies for the p53 Protein in Cancer Treatments. Cancer Res; 82(3) February 1, 2022.*
15. *Marei, H.E., Althani, A., Afifi, N. et al. p53 signaling in cancer progression and therapy. Cancer Cell Int 21, 703 (2021). https://doi.org/10.1186/s12935-021-02396-8*
16. *Sabapathy K and Lane DP: Understanding p53 functions through*

p53 antibodies. J Mol Cell Biol. 11:317–329. 2019.

17. *Jiangbo Liu, Wei Li, Miao Deng, Dechun Liu, Qingyong Ma, Xiaoshan Feng. Immunohistochemical Determination of p53 Protein Overexpression for Predicting p53 Gene Mutations in Hepatocellular Carcinoma: A Meta-Analysis. PLoS ONE 11(7): e0159636. doi:10.1371/ journal.pone.0159636. 2016*
18. *Mathumai Kanapathipillai. Treating p53 Mutant Aggregation-Associated Cancer. Cancers 2018, 10(6), 154; https://doi.org/10.3390/cancers10060154*
19. *Lu-Nan Qi, Tao Bai, Zu-Shun Chen, Fei-Xiang Wu, Yuan-Yuan Chen, Bang- De Xiang, Tao Peng, Ze-Guang Han, Le-Qun Li. The p53 mutation spectrum in hepatocellular carcinoma from Guangxi, China : role of chronic hepatitis B virus infection and aflatoxin B1 exposure. Liver International (2014). DOI:10.1111/liv.12460*
20. *Villanueva A, Hoshida Y. Depicting the role of TP53 in hepatocellular carcinoma progression. J Hepatol. 2011 Sep;55(3):724-725. doi: 10.1016/j.jhep.2011.03.018. Epub 2011 May 14. PMID: 21616106.*
21. *Д.Булган. Элэгний анхдагч өмөнтэй хүмүүст хавдар дарангуйлах p53. Rb болон эсийн мөчлөгийн зохицуулгын зарим гений экспрессийг судалсан нь, Эрүүл Мэндийн Шинжлэх Ухааны Их Сургууль; 2006.*
22. *Paul B S Lai, Tian-Yi Chi, George G Chen. Different levels of p53 induced either apoptosis or cell cycle arrest in a doxycycline-regulated hepatocellular carcinoma cell line in vitro. Apoptosis. 2007 Feb;12(2):387-93. doi: 10.1007/s10495-006-0571-1.*
23. *Parisa Shahnazari, Kourosh Sayehmiri, Zarrin Minuchehr, Ardavan Parhizkar, Hossein Poustchi, Ghodratollah Montazeri, Ashraf Mohamadkhani. The Increased Level of Serum p53 in Hepatitis B-Associated Liver Cirrhosis. Iran J Med Sci September 2014; Vol 39 No 5*
24. *Roghyeh Kordestani, Hamideh Mirshafiee, Seyed Masoud Hosseini, and Zohreh Sharifi. Effect of Hepatitis B Virus X Gene on the Expression Level of p53 Gene using Hep G2 Cell Line. Avicenna J Med Biotech 2014; 6(1): 3-9*

Results of identifying mutations in the TP53 gene and comparing them with p53 protein expression in hepatocellular carcinoma tissues

Tsogzolmaa Sh[1,2], Yesukhei E[2], Yundendash D[2], Nyam-Erdene D[2], Batchimeg B[2], Munkhtsetseg B[2], Uranbileg O[2], Naymjargal B[3], Suren O[3], Bayarmaa E[3], Batbold B[1,2], Munkhbayar S[2]

[1]Department of Health Research, Graduate School, MNUMS
[2]Institute of Medical Science, MNUMS
[3]Department of Pathology, Mongolia-Japan Hospital, MNUMS
E-mail: Tsogzolmaa.ims@mnums.edu.mn, Tel: +976-95610269

Background: Mongolia's incidence and mortality rates for hepatocellular carcinoma (HCC) are eight times higher than the global average. According to 2023 statistics from the National Cancer Center of Mongolia, 7,244 cases of HCC were recorded, with 4,556 deaths. Risk factors for HCC include hepatitis B and C infections, alcohol and tobacco use, and exposure to toxins such as aflatoxin. In Asian countries, hepatitis B virus (HBV) infection and aflatoxin exposure are particularly common causes. The *TP53* (p53) gene encodes the p53 protein with a weight of 53 kD, is located on the short line of chromosome 17 (17p13), and is a transcription factor that regulates the cell division cycle, so it is considered a tumor suppressor gene. Mutations of the *TP53* gene occur in 50% of all tumors, and mutations of this gene are also found in hepatocellular carcinoma. Hepatitis B and C infections and aflatoxin exposure are known to induce *TP53* gene mutations, particularly at codons 249 and 258 in exon 7, which are frequently identified in HCC. Studies also suggest that TP53 mutations and p53 protein accumulation in cancer tissues influence tumor progression and patient prognosis. In Mongolia, there is a lack of research on this topic, providing the basis for our study.

Aim: To investigate TP53 gene mutations and p53 protein expression in HCC tissues and compare these findings with selected clinical, laboratory, and pathological parameters.

Materials and Methods: The study included 50 participants diagnosed with HCC and treated with surgery at different stages of the disease. Genomic DNA was extracted from paraffin-embedded tissue samples, and allele-specific PCR was conducted to identify *TP53* gene mutations at codons 249 and 258 in exon 7. Immunohistochemistry was used to evaluate p53 protein expression, which was then correlated with clinical, laboratory, and pathological indicators.

Results: Participants ranged in age from 33 to 79 years (mean: 64.06±9.1), comprising 21 males (42%) and 29 females (58%). *TP53* gene mutations at codon 249 were not observed in any samples (0%), but mutant alleles at codon 258 were identified in 15 (30%) cases. Statistical analysis found no significant association between the *TP53* gene codon 258 mutation and age (p=0.558), sex (p=0.851), HBV infection (p=0.288), HCV infection (p=0.902), cirrhosis (p=0.736), fibrosis (p=0.985), steatosis (p=0.368), serum AFP levels (p=0.662), tumor number (p=0.665), tumor size (p=0.439), or vascular invasion (p=0.849). In 46 tissue samples, p53 protein expression was assessed, revealing positive staining in 26 (57%) cases. Positive p53 expression was significantly associated with *TP53* gene codon 258 mutations (p=0.004) and HBV infection (p=0.002).

Conclusions:

1. The predominance of mutations at codon 258 of the *TP53* gene in hepatocellular carcinoma (HCC) tissues suggests that this is primarily driven by the effects of hepatitis virus infection. Additionally, the absence of mutations at codon 249 indicates that aflatoxin exposure currently plays a minor role in the development of HCC among Mongolians.
2. In the presence of TP53 gene mutations, the expression of p53 protein is elevated in liver tissues, which is associated with hepatitis B virus (HBV) infection.

Keywords: Allele-specific PCR, Wild-allele, Mutant-allele, Exon-7