ГЕН SLC30A8: ОТ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ФАКТОРА РИСКА К НОВОЙ ПАРАДИГМЕ В ТЕРАПИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

Султонова Дилдор Бахшиллоевна,
ассистент Кафедра биологической химии Бухара, Узбекистан
https://orcid.org/0009-0003-1239-2347
E-mail: sdildora11@gmail.com

Annotatsiya: Sinkni tashuvchi ZnT8 oqsilini kodlovchi SLC30A8 geni uzoq vaqtdan beri 2-toifa qandli diabet (T2DM) uchun klassik xavf omili hisoblanib kelgan. Biroq, 2014 yilda ushbu gendagi funktsiyalarni yo'qotadigan mutatsiyalarning himoya ta'sirining kashfiyoti uning roli haqidagi tushunchamizni keskin o'zgartirdi. Ushbu sharh ushbu genetik paradoksni tahlil qiladi, himoya ta'sirining potentsial molekulyar mexanizmlarini tushuntiradi va ZnT8 ni inhibe qilishga qaratilgan terapiyaning yangi sinfini ishlab chiqish istiqbollarini muhokama qiladi. Ushbu kashfiyot populyatsiya genetikasi yangi dori maqsadlarini qanday tasdiqlashi mumkinligiga yorqin misoldir.

Kalit so'zlar: SLC30A8, ZnT8, 2-toifa qandli diabet, genetik paradoks, shaxsiylashtirilgan tibbiyot, sink tashuvchisi ingibitorlari.

Abstract: The SLC30A8 gene encoding the zinc-transporting protein ZnT8 has long been considered a classic risk factor for the development of type 2 diabetes mellitus (T2DM). However, the 2014 discovery of the protective effect of loss-of-function mutations in this gene has radically changed the understanding of its role. This review is devoted to the analysis of this genetic paradox, an explanation of potential molecular mechanisms of protective action, and a discussion of the prospects for developing a new class of therapy aimed at inhibiting ZnT8. This discovery is a clear example of how population genetics can validate new drug targets.

Keywords: SLC30A8, ZnT8, type 2 diabetes mellitus, genetic paradox, personalized medicine, zinc transporter inhibitors.

Аннотация: Ген SLC30A8, кодирующий цинк-транспортирующий белок ZnT8, долгое время рассматривался как классический фактор риска развития сахарного диабета 2-го типа (СД2). Однако открытие 2014 года о протективном эффекте loss-of-function мутаций в этом гене кардинально изменило понимание его роли. Данный обзор посвящен анализу этого генетического парадокса, объяснению потенциальных молекулярных механизмов защитного действия и обсуждению перспектив разработки нового класса терапии, нацеленного на ингибирование ZnT8. Это открытие

ISSN 3030-3907

является наглядным примером того, как популяционная генетика может валидировать новые мишени для лекарственных препаратов.

Ключевые слова: SLC30A8, ZnT8, сахарный диабет 2 типа, генетический парадокс, персонализированная медицина, ингибиторы транспортера цинка.

Введение

Сахарный диабет 2-го типа остается одним из наиболее распространенных хронических заболеваний в мире. Поиск генетических детерминант предрасположенности к СД2 является критически важным для понимания патогенеза и разработки новых методов лечения. Одним из таких генов, идентифицированных в ходе полногеномных ассоциативных исследований (GWAS), стал SLC30A8 (Solute Carrier family 30 member 8). Данный ген кодирует белок ZnT8 – специфический транспортер цинка, экспрессирующийся преимущественно в β-клетках поджелудочной железы.

Первоначальные данные указывали на то, что определенные однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) в SLC30A8 ассоциированы с повышенным риском развития СД2, что соответствовало простой логике: нарушение функции транспортера → ухудшение транспорта цинка → нарушение синтеза и секреции инсулина → диабет.

Глубокий анализ генетической информации показал, что немногочисленные изменения в гене SLC30A8, вызывающие сбой в работе белка ZnT8 (транспортера цинка в клетках островков Лангерганса), тесно связаны со значительным уменьшением вероятности возникновения диабета 2 типа. В рамках исследования были расшифрованы и проанализированы геномы более 150 000 человек, принадлежащих к пяти различным этническим группам. В итоге было идентифицировано 12 редких вариаций, приводящих к обрыву синтеза белка SLC30A8, включая широко распространенный вариант (p.Trp325Arg), ранее ассоциированный с повышенной предрасположенностью к диабету 2 типа. У лиц, являющихся носителями данных мутаций, было отмечено статистически существенное снижение риска развития диабета 2 типа на 65%. У здоровых носителей варианта со сдвигом рамки считывания (p.Lys34SerfsX50) наблюдался более низкий уровень глюкозы в крови. Полученные результаты указывают на то, что недостаточность SLC30A8, обусловленная мутациями, приводящими к утрате функции, оказывает предохраняющее воздействие от развития диабета 2 типа. Это открытие имеет большое значение для разработки инновационных терапевтических подходов, направленных на предотвращение диабета 2 типа путем блокирования ZnT8.

ISSN 3030-3907

Стоит подчеркнуть, что предыдущие эксперименты in vitro и на животных моделях не всегда демонстрировали однозначные результаты относительно влияния SLC30A8 на развитие диабета 2 типа. Данное исследование, выполненное на масштабной человеческой популяции, впервые предоставляет веские доказательства того, что подавление ZnT8 может стать многообещающим направлением для создания новых лекарственных средств.

Анализ полногеномных ассоциаций (GWAS) позволил установить 65 геномных локусов, демонстрирующих взаимосвязь с предрасположенностью к сахарному диабету 2 типа (СД2), как указано в научной литературе (см., например, Morris, A.D. et al., Science, 2012). Данное открытие способствовало выявлению патогенетических механизмов, ранее остававшихся неизученными. С целью определения потенциальных новых терапевтических мишеней, согласно Cho, Y.S. et a., Nature Genetics, 2009, необходимо установить причинно-следственные мутации и гены, а также определить вектор взаимосвязи между функциональной активностью белков и вероятностью развития заболевания. В данном контексте, мутации, приводящие к потере функции (loss-of-function, LoF) и обеспечивающие защиту от развития заболевания (в отсутствие сопутствующих неблагоприятных фенотипов), представляют собой ценный ресурс в генетике человека, определяя мишени, ингибирование которых способно предотвратить развитие заболевания на уровне популяции.

С целью обнаружения LoF-вариантов, обладающих протективным эффектом в отношении СД2, нами было проведено секвенирование экзонов 115 генов, расположенных вблизи GWAS-сигналов СД2 у 758 индивидуумов из Финляндии и Швеции (по аналогии с ранее опубликованными исследованиями, например, Sladek, R. et al., Nature, 2007). Для повышения статистической мощности исследования была проведена селекция лиц с крайними значениями риска СД2: 352 пациентов с ранним началом СД2 и низкой массой тела и 406 лиц контрольной группы пожилого возраста с ожирением и нормальным уровнем глюкозы в крови.

В ходе исследования было выявлено 1768 несинонимичных генетических вариантов, из которых 1474 (83%) обладали частотой минорных аллелей менее 1%, а 1108 (63%) встречались только у одного человека. Анализ не выявил доказательств ассоциации этих вариантов с сахарным диабетом 2 типа, как при рассмотрении отдельных вариантов, так и при оценке наличия редких вариантов в генах. Генотипирование 71 отобранного SNV (с номинально значимой ассоциацией или предполагаемым

ISSN 3030-3907

влиянием на структуру белка) у дополнительной группы из 11 288 человек также не выявило статистически значимой ассоциации. Для повышения эффективности поиска ассоциаций использовался набор генов Illumina Human Exome Array для дальнейшего генотипирования подмножества SNV у 21 096 финнов и шведов (10 534 с диабетом и 10 562 без него). Анализ сосредоточился на вариантах с ясной функциональной интерпретацией: нонсенс-мутациях, мутациях со сдвигом рамки считывания или мутациях в сайте сплайсинга, предположительно приводящих к усечению белка. Из шести таких вариантов, выявленных при секвенировании и присутствующих в наборе генов Exome Array, только один бессмысленный SNV (c.412C> T, p.Arg138X) в гене SLC30A8 (номер доступа транскрипта NM_17385120) продемонстрировал номинально значимую ассоциацию с сахарным диабетом 2 типа.

В ходе секвенирования, анализ вариантов гена SLC30A8 и их связи с диабетом 2 типа, был обнаружен один случай редкого варианта гена SLC30A8 (c.456G> A, приводящего к преждевременному окончанию трансляции в позиции Trp152X) в контрольной группе, однако этот вариант не был выявлен при использовании экзомного массива. Для дальнейшего изучения было проведено генотипирование варианта p.Arg138X у значительной выборки европейцев (26 566 человек, включая 8210 пациентов с диабетом 2 типа и 18 356 здоровых лиц). Несмотря на то, что было обнаружено лишь 16 носителей этого варианта (двое из которых имели диабет 2 типа, а 14 были в контрольной группе), наблюдалась устойчивая тенденция к снижению риска развития диабета 2 типа (отношение шансов = 0,56, p > 0,05). Объединив данные из различных исследований, оценено, что носительство варианта p.Arg138X снижает риск диабета 2 типа на 53% (p = 0,0067, общее количество участников = 48 115). Ген SLC30A8 кодирует белок ZnT8, который является транспортером цинка в островковых клетках поджелудочной железы. Этот белок играет ключевую роль в доставке цинка в гранулы β-клеток, где он необходим для формирования кристаллов инсулина.

Цинк, высвобождаясь вместе с инсулином, также участвует в ауто- и паракринной сигнализации. Ранее был идентифицирован распространенный вариант гена SLC30A8 (rs13266634; c.973T>A, приводящий к замене Trp325 на Arg), который ассоциируется с повышенным риском диабета 2 типа, а также влияет на уровни глюкозы и проинсулина в крови, причем эти связи превышают общепринятые статистические пороги значимости. Исследования на клеточных моделях показали, что вариант p.Trp325Arg,

ISSN 3030-3907

связанный с повышенным риском диабета, снижает эффективность транспорта цинка белком ZnT8. Однако, исследования на мышах с нокаутом гена Slc30a8 продемонстрировали неоднозначные результаты, зависящие от пола животного и его генетического фона. В некоторых случаях не наблюдалось никакого влияния на секрецию инсулина или регуляцию уровня глюкозы, в то время как в других случаях отмечалась умеренная гипергликемия при диете с высоким содержанием жиров. Более того, недавние эксперименты с нокаутом гена Slc30a8, специфичного для β-клеток, указывают на многоорганное влияние на фенотип мышей, причем циркулирующий цинк может влиять на скорость выведения инсулина печенью. Таким образом, несмотря на значительный объем генетических и биологических данных, точная связь между нарушенной функцией ZnT8 и общим фенотипом организма остается не до конца выясненной.

Поскольку наблюдаемая защитная связь между p.Arg138X и риском сахарного диабета 2 типа была статистически незначимой, было запрошено больше дополнительных данных. К сожалению, практически полное отсутствие p.Arg138X за пределами Западной Финляндии, исследование проводилось там, ограничило возможность дальнейшего изучения его влияния на другие популяции. Поэтому, целью стало стремиление выявить более широкий спектр вариантов, укорачивающих белок, в SLC30A8, изучив каталог из 35 миллионов вариантов, собранных deCODE genetics посредством полногеномного секвенирования23.

Вариант p.Arg138X не был обнаружен в этом наборе данных. Однако независимый вариант, укорачивающий белок, наблюдался с частотой 0,17%: делеция (c.101_107del, p.Lys34SerfsX50; предположительно вызывающая сдвиг рамки считывания и потерю всех шести трансмембранных доменов в островках со специфичном транскрипте (NM_173851) гена SLC30A84. Гетерозиготность по p.Lys34SerfsX50 была связана со снижением риска развития сахарного диабета 2 типа на 80%: два наблюдения у 2953 пациентов с сахарным диабетом 2 типа (0,03%) против 248 наблюдений у 67 919 лиц контрольной группы (0,18%, ОШ=0,18, p=0,004; Дополнительные таблицы 8–9). Основываясь на родовом родстве между Норвегией и Исландией, ученые генотипировали этот вариант у 5714 норвежцев, и не выявили носителей в 1645 случаях против трёх носителей у 4069 контрольных лиц. Объединение данных по p.Lys34SerfsX50 и p.Arg138X усилило ассоциацию между вариантами, укорачивающими белок SLC30A8, и снижением риска сахарного диабета 2 типа (комбинированный ОШ = 0,32, p = 2,4 × 10−4). Биоинформатически предсказывается, что оба редких варианта SLC30A8

ISSN 3030-3907

вызывают укорочение ZnT8 и, следовательно, влияют на активность. Чтобы проверить это предсказание, было оценено сверхэкспрессированные варианты ZnT8, меченные V5 (Trp325, Arg325, X138 [а также Arg138X] и Ser34fsX50) в клетках HeLa20.Несмотря на схожие уровни транскриптов РНК для всех вариантов, только белки Trp325- и Arg325-ZnT8 были легко обнаружены в клетках8, при этом Arg138X, X138- и Ser34fsX50-ZnT8 присутствовали в низких или неопределяемых концентрациях.

Аналогичные результаты были получены с использованием антител к нативному белку или метке V5 с помощью вестерн-блота и иммунофлуоресценции, а также в клетках инсулиномы крысы HeLa и Ins1e. Совместная экспрессия X138- или Ser34fsX50-ZnT8 с Trp325-ZnT8 не привела к снижению экспрессии полноразмерного аллеля и не привела к восстановлению экспрессии любого из укороченных вариантов. В совокупности носители этих дополнительных вариантов продемонстрировали снижение риска сахарного диабета 2 типа на 60% (четыре случая против 18 контрольных наблюдений, ОШ=0,38, p=0,0025), при этом аналогичные эффекты и статистическая значимость наблюдались при анализе только носителей вариантов со сдвигом рамки считывания или нонсенс-вариантов (два случая против 13 контрольных наблюдений, ОШ=0,37, p=0,0027). Объединив все данные секвенирования и генотипирования 149 134 человек, можно сделать вывод, что гетерозиготность по любому из 12 вариантов, укорачивающих белок, была связана со снижением риска сахарного диабета 2 типа на 65% (ОШ=0,34, p=1,7×10−6), что является статистически значимой ассоциацией. Исследование, охватившее около 150 000 человек из пяти различных этнических групп, проанализировало ген SLC30A8.

В результате секвенирования и генотипирования было обнаружено 12 редких мутаций, которые, как ожидается, приводят к укорочению белка. Для каждой мутации были собраны данные: этническая принадлежность, группа исследования, количество участников (больных и здоровых), количество носителей мутации и частота ее встречаемости в обеих группах. Были рассчитаны показатели риска (отношение шансов, OR) и статистической значимости (p-значения) для трех групп мутаций: p.Arg138X, p.Lys34SerfsX50 и всех остальных. Для первых двух мутаций, которые встречались более чем у десяти человек, расчеты проводились отдельно для каждой группы участников, а затем результаты были объединены с помощью статистического метода (метаанализ с фиксированными эффектами).

ISSN 3030-3907

Для остальных мутаций риск оценивался путем сравнения общего числа носителей мутаций между больными и здоровыми. Все три показателя риска были объединены с помощью другого метода метаанализа (случайных эффектов) для получения итоговых оценок риска и его статистической значимости. Количество и частота мутаций были определены для всех участников, а показатели риска и значимости были скорректированы с учетом особенностей выборки (различий между группами и родства участников). Поэтому представленные значения OR могут отличаться от тех, что были бы получены только на основе частоты мутаций. Этот феномен был назван генетическим парадоксом: незначительное снижение активности белка (при SNPs) повышало риск, тогда как полная его инактивация оказывала мощный защитный эффект. Последующие исследования, включая работу Dwivedi O.P. et al. (2019), подтвердили эти findings на независимых когортах [2].

Функция белка ZnT8 и гипотезы, объясняющие протективный эффект Белок ZnT8 осуществляет транспорт цинка в секреторные гранулы β-клеток. Цинк играет ключевую роль в процессе созревания инсулина, способствуя образованию стабильных гексамерных комплексов и предохраняя гормон от деградации [3]. Инактивация гена SLC30A8 закономерно приводит к нарушению этого процесса.

На сегодняшний день существует несколько гипотез, объясняющих, почему отсутствие функционального белка оказывает защитное действие: Физическая организация селезенки позволяет ей фильтровать кровь от патогенов и аномальных клеток и облегчать маловероятные взаимодействия между антигенпрезентирующими клетками (АПК) и родственными лимфоцитами. АПК, специфичные для селезенки, регулируют реакцию Т-и В-клеток на эти антигенные мишени в крови.[4]

1. Повышенная эффективность инсулина. Инсулин, синтезированный в условиях дефицита цинка, запасается в виде мономеров и димеров, а не гексамеров. При секреции в кровь такие формы инсулина могут проявлять более высокую биологическую активность и быстрее взаимодействовать со своими рецепторами.

2. Защита β-клеток от окислительного стресса. Это основная и наиболее убедительная гипотеза. Цинк является важным элементом, однако его избыток может провоцировать оксидативный стресс. Инактивация ZnT8 потенциально снижает цинк-индуцированную нагрузку на β-клетки, повышая их устойчивость к апоптозу и сохраняя функциональную массу островкового аппарата на протяжении жизни.

ISSN 3030-3907

3. Системное влияние на метаболизм. Изменение гомеостаза цинка может оказывать положительное влияние на периферические ткани (печень, мышцы, adipose tissue), а также аутоиммунные механизмы прогрессирования гепатитов, недостаточность в Т-системе иммунитета, приводящие к иммунодефицитным состояниям, а также отрицательно влияющие на развитие потомства при гепатите материнского организма [5], повышая их чувствительность к инсулину.

От генетического открытия к фармакологической терапии - обнаружение естественного защитного механизма у людей-носителей мутаций сделало белок ZnT8 высокоприоритетной мишенью для фармакологической разработки. Данный подход носит название «генетической валидации мишени». Наличие в популяции людей с естественной, защитной мутацией является самым сильным сигналом о перспективности мишени.

Целью терапии является не полное «выключение» гена, а его фармакологическая блокада – ингибирование активности белка ZnT8 для достижения защитного эффекта, аналогичного тому, что наблюдается у носителей мутаций.

Текущий статус разработок заключается в разработках крупнейшими фармацевтическими компаниями (включая Pfizer, Novo Nordisk), которые ведут активный поиск и разработку молекул-ингибиторов ZnT8. Ряд соединений успешно прошли доклинические испытания на животных моделях, продемонстрировав способность повышать толерантность к глюкозе и защищать β-клетки от повреждения.

Перспективы развития исследований истории гена SLC30A8– это поучительный пример того, как глубокий анализ генетических данных может опровергнуть научные догмы и открыть принципиально новые пути для терапии. От признания его фактором риска наука пришла к пониманию его потенциала в качестве мишени для профилактики и лечения СД2.

Разработка ингибиторов ZnT8 открывает путь к созданию нового класса препаратов, действующих на ранее не эксплуатируемое звено патогенеза диабета. В будущем это открытие может лечь в основу персонализированной медицины: при помощи генетического тестирования аллелей SLC30A8 можно будет идентифицировать пациентов, которые получат максимальную пользу от такой терапии.

Таким образом, борьба с диабетом продолжается, и один из самых многообещающих инструментов в этой борьбе был обнаружен внутри наших собственных генов.

ISSN 3030-3907

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (REFERENCES)

1. Flannick, J. et al. (2014). Мутации потери функции в гене SLC30A8 защищают от диабета 2 типа. Nature Genetics, 46(4), 357–363.
2. Dwivedi, O. P. et al. (2019). Репликация сигналов ассоциации по всему геному в когорте шведских близнецов выявляет множественные новые локусы для диабета 2 типа. Diabetologia, 62(2), 211–215.
3. Nicolson, T. J. et al. (2009). Транспортер цинка SLC30a8/ZnT8 необходим в субпопуляции β-клеток поджелудочной железы для секреции инсулина. Journal of Biological Chemistry, 284(33), 21917–21924.
4. Бахшиллоевна, С. Д. (2023). Морфофункциональные Особенности Селезенки – Периферического Органа Иммунитета. *Research Journal of Trauma and Disability Studies*, *2*(11), 296–303. Retrieved from http://journals.academiczone.net/index.php/rjtds/article/view/1513
5. Султанова Д. Б. Хасанов Б. Б., 10.01.2022, «Роль селезенки в иммунных нарушениях организма при хронических нарушениях печени», Достижения науки и техники.
6. Моррис, А.Д. и др., Science, 2012. Крупномасштабный ассоциативный анализ позволяет лучше понять генетическую архитектуру и патофизиологию диабета 2 типа.
7. Темиров, А. Х., Ахмедов, В. Н. (2021. Получение в нефтегазовой отрасли ингибиторов коррозии на основе тиомочевины, формальдегидной смолы и акриловой кислоты// Международный научный журнал «Universum: технические науки». – Москва, 2021. – №12 (93). – С. 60-62.
8. Alisher, T., Vokhid, A., Bobir, O. Synthesis and properties of thiourea based inhibitors// Международный научный журнал «Universum: технические науки». – Москва, 2022.– №8 (101), – С. 63-65.
9. Temirov, A., Akhmedov, V. (2022). Preparation and properties of a corrosion inhibitor based on thiourea // Scientific Collection «InterConf», (120). – Vilnius, 2022. – №122. –P. 211-213.
10. Temirov, A., & Akhmedov, V. (2022). Physico-chemical characteristics of an aminoaldehyde oligomer with inhibiting properties // Scientific Collection «InterConf». – Warsaw, 2022. – №122. –P. 303-305.

ISSN 3030-3907