



پروتئین کلوئو (Klotho) به عنوان بیومارکر تشخیصی در بیماری‌های مزمن کلیوی

پریناز زیور پور: موسسه آموزش عالی ربع رشید، تبریز، ایران

فلور زرگری: گروه علوم پزشکی، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران (*نویسنده مسئول) felorzargari@marandiau.ac.ir

چکیده

کلیدواژه‌ها

بیماری مزمن کلیوی،
بیماری قلبی-عروقی،
Klotho،
پروتئین ضد پیری

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۶/۰۹

تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۲

بیماری مزمن کلیوی (Chronic Kidney Disease یا CKD) با شیوع ۱۶-۸٪ خود، یک مشکل بهداشت عمومی در سراسر جهان است. این بیماری عملکرد و ساختار کلیه‌ها را در طی زمان به طور غیرقابل برگشت مختل می‌سازد و در مراحل پیشرفته خود (End Stage Renal Disease یا ESRD) بار مالی زیادی را به سیستم درمانی جوامع تحمیل می‌کند. از عوارض جانبی حائز اهمیت آن، می‌توان به بیماری‌های قلبی-عروقی (Cardiovascular Disease یا CVD) اشاره نمود که مهم‌ترین عامل مرگ و میر در بیماران مبتلا به CKD است. بنابراین، تشخیص سریع و زودهنگام این بیماری به علت روند سریع و در عین حال مخفی آن در مراحل ابتدایی‌تر خود جهت پیشگیری از عوارض جانبی و صرفه جویی در منابع مالی امری بسیار ضروری است. شواهد به دست آمده از مطالعات مختلف در طی سال‌های اخیر نشان می‌دهد که پیشرفت CKD به طور قابل ملاحظه‌ای با کاهش سطح پروتئین ضد پیری به نام Klotho همراه است. در شرایط فیزیولوژیکی طبیعی بدن، منبع تولید عمده این پروتئین سلول‌های بافت کلیوی است. از این رو، کمبود Klotho نه تنها یک بیومارکر زودرس در تشخیص CKD است؛ بلکه عامل پاتوژنی مهم در روند پیشرفت و بروز عوارض بعدی آن نیز می‌باشد. این مطالعه با هدف معرفی پروتئین Klotho به عنوان بیومارکر تشخیصی زودهنگام و نیز بیان استراتژی‌های درمانی جدید و موثر آن برای بیماران مبتلا به CKD صورت پذیرفته است.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

شیوه استناد به این مقاله:

Zivarpour P, Zargari F. Klotho protein as a diagnostic biomarker in chronic kidney disease. Razi J Med Sci. 2020;27(2):91-102.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با 3.0 CC BY-NC-SA صورت گرفته است.



Review Article

Klotho protein as a diagnostic biomarker in chronic kidney disease

Parinaz Zivarpour, Higher Education Institute of Rab-Rashid, Tabriz, Iran

✉ Felor Zargari, Department of Medical Sciences, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran (*Corresponding author) zargarifkb@gmail.com, felorzargari@marandiau.ac.ir

Abstract

Chronic Kidney Disease (CKD) is a worldwide public health problem with prevalence of 8 -16%. It disrupts the function and structure of the kidneys over time irreversibly, and in its advanced stages (End Stage Renal Disease-ESRD) imposes a huge financial burden on the health system of communities. Cardiovascular Disease (CVD) is one of the significant external complications, which is the most important cause of mortality in patients with CKD. Therefore, quick and early diagnosis of this disease due to its rapid and yet latent process in its earliest stages is essential to prevent side effects and avoid waste of funds. Evidence from various studies in recent years indicates that CKD progression is significantly associated with decreased levels of anti-aging protein, Klotho. Under normal physiological conditions, the major source of this protein is kidney tissue cells. Thus, Klotho deficiency is not only an early biomarker in the diagnosis of CKD, but also an important pathogenic factor in the progression and appearance of its adverse effects. This study aimed to introduce Klotho protein as an early diagnostic biomarker and to present new, effective therapeutic strategies for patients with CKD.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Keywords

Chronic kidney disease,
Cardiovascular disease,
Klotho,
Anti-aging protein

Received: 31/08/2019

Accepted: 01/02/2020

Cite this article as:

Zivarpour P, Zargari F. Klotho protein as a diagnostic biomarker in chronic kidney disease. Razi J Med Sci. 2020;27(2):91-102.

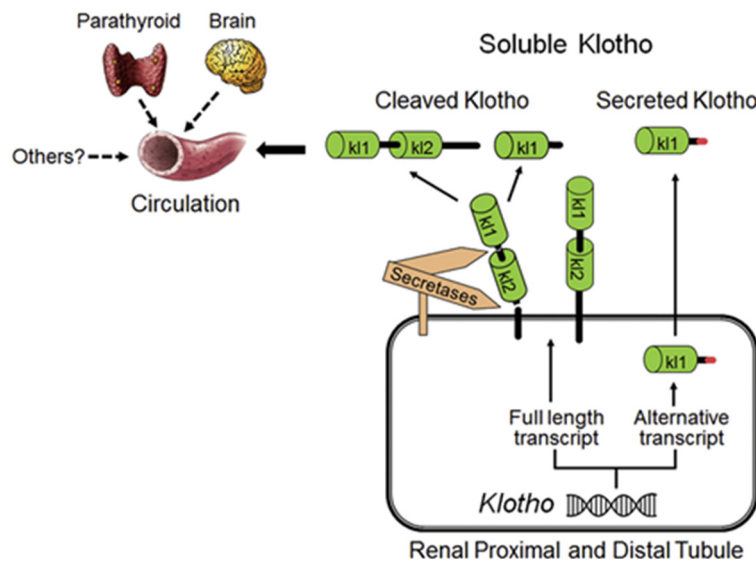
*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

ژن Klotho برای اولین بار در سال ۱۹۹۷ با بررسی موش‌هایی که به علت فقدان ژن این پروتئین دچار اختلال عملکردی در ارگان‌های متعدد شده بودند و از این رو طول عمر کوتاه‌تری نسبت به موش‌های سالم داشتند، کشف گردید. Klotho به میزان بالایی در کلیه و مغز و در سطوح پایین‌تر در ارگان‌هایی نظیر غده پاراتیروئید بیان می‌شود (۱۱). دومن کربوکسیل داخل سلولی آن از توالی کوچکی در حدود ۱۰ اسیدآمینو تشکیل شده است که فاقد عملکرد بیولوژیکی می‌باشد (۱۲). دومن خارج سلولی Klotho غشایی شامل دو توالی تکراری ۴۴۰ آمینو اسیدی به نام KL1 و KL2 بوده که توسط سکرانازها می‌تواند جدا شده و به جریان خون وارد شود (شکل ۱) (۱۱-۱۵).

فرم دیگر پروتئین Klotho در جریان خون قطعه فرم آن است که فرم ترشحی بوده و طی فرآیند اتصال جایگزینی رونوشت تولید می‌شود (۱۱) (شکل ۱). کلوئو محلول فرم مهم عملکردی در جریان خون است که علاوه بر آن در مایع مغزی نخاعی (۱۱ و ۱۶) و ادرار

بیماری مزمن کلیوی (Chronic Kidney Disease) یا CKD) یک بیماری سیستمیک پیشرفته است که به طور غیرقابل برگشتی، عملکرد و ساختار کلیه را با گذر زمان تغییر می‌دهد. با پیشرفت این بیماری اثرات منفی سیستمیکی متعددی بر اندام‌های مختلف از جمله سیستم قلبی-عروقی نمایان می‌شود که منجر به بیماری‌های قلبی-عروقی شده و خطر مرگ و میر را افزایش می‌دهد (۱-۴).

در ۳ دهه گذشته، مطالعات زیادی برای تشخیص عوامل خطر ساز و مکانیزم پاتوفیزیولوژیک این بیماری بر روی حیوانات و انسان‌ها صورت پذیرفته است. عوامل متعددی از جمله انواع مختلف سیتوکین‌ها، فاکتورهای رشد و ترکیبات وازواکتیو در فرآیند این بیماری دخیل هستند (۱، ۵، ۶). اخیراً، بیشتر شواهد نشان داده است که توسعه و پیشرفت CKD به طور قابل توجهی با کاهش در Klotho، پروتئین ضد پیری، مرتبط است (۷-۱۰).



شکل ۱- منبع کلوئو محلول. کلیه منبع اصلی Klotho گردش تحت شرایط فیزیولوژیکی است. لوله‌های پروگزیمال و دیستال هر دو، پروتئین غشایی Klotho کلیوی را بیان می‌کنند. همچنین فرم Klotho ترشحی را از طریق جایگزینی رونوشت تولید می‌کنند. Klotho ترشحی فقط دارای دومن KL1 بوده و به طور مستقیم به گردش خون وارد می‌شود. اما عملکرد بیولوژیکی آن هنوز مشخص نیست. دومن خارج سلولی Klotho غشایی حاوی تکرارهای KL1 و KL2 است و توسط سکرانازها از دومن KL1 بریده شده و بصورت فرم محلول وارد جریان خون می‌شود. هر دو قطعه Klotho بریده شده در گردش خون موجود است. چندین ارگان خارج کلیوی شامل غده پاراتیروئید و مغز این پروتئین را نیز بیان می‌کنند که در طی CKD / ESRD برای حفظ Klotho گردش نیز مشارکت دارند (۱۱).

پستانداران نیز یافت می شود (۱۱ و ۱۷). در شرایط فیزیولوژیکی، کلیه یک ارگان مهم در حفظ سطح Klotho محلول به شمار می آید (۹، ۱۱، ۱۴). اما در شرایط پاتولوژیکی مانند بیماری های مزمن کلیوی (CKD) و مراحل نهایی بیماری کلیوی (End Stage Renal Disease یا ESRD) ارگان های دیگری در پایداری سطح این پروتئین شرکت دارند (۱۱). بیان ژن Klotho در بافت ها و سلول های مختلفی به ویژه در کلیه ها رخ می دهد. در توبول های پیچ خورده دیستال کلیوی و نیز شبکه کروئیدی مغز سطح بیان این ژن بسیار بالاست. علاوه بر آن در توبول های پیچ خورده پروگزیمال کلیوی، غده تیروئید، پاراتیروئید، هیپوفیز، مثانه، ماهیچه های اسکلتی، کولون، گوش داخلی، سلول های اپی تلیال سینه و ارگان های جنسی و جفت نیز بیان می شود (۱۲ و ۱۸).

شیوع CKD به عنوان یک مسئله بهداشت جهانی با میزان آگاهی پایین حدود ۱۶-۸٪ است (۱۹). علت اصلی مرگ و میر در بیماران CKD بیماری های قلبی-عروقی (Cardiovascular Disease یا CVD) است که باعث تحمیل بار مالی زیادی بر جامعه می شود. در سال های اخیر به علت کاهش عملکرد کلیه، ریسک فاکتورهایی مانند اختلالات متابولیسمی کلسیم-فسفر، استرس های اکسیداتیو، کم خونی و در نهایت خطرات بیماری های قلبی-عروقی به صورت چشم گیری افزایش یافته است. این شاخص های غیر طبیعی به دلیل اینکه در مراحل اولیه CKD تشخیص داده می شوند و پیشرفت CKD و نتایج نامطلوب آن را پیش بینی می کنند، می توانند به عنوان بیومارکر تشخیصی زود هنگام مدنظر قرار گیرند. از این رو شناسایی CKD در مراحل اولیه در راستای پیشگیری از پیشرفت آن و متعاقباً کاهش عوارض قلبی-عروقی آن ضروری دارد. در سال های اخیر، شواهد به دست آمده نشان می دهد که α -Klotho محلول سرمی می تواند به عنوان بیومارکر زودرس برای تشخیص CKD بکار رود. سطح سرمی α -Klotho در مراحل اولیه CKD کاهش می یابد (۱۸).

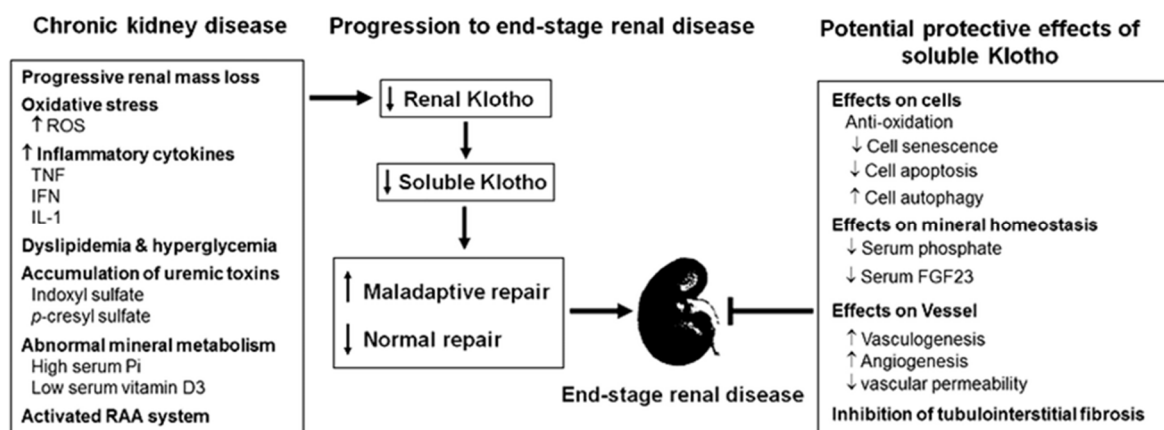
CKD با تشدید اختلال عملکردی کلیه به همراه خطر بالای (End Stage Renal Disease یا ESRD) مشخص می شود. خطر ابتلا به CKD با بالا رفتن سن افزایش می یابد و این بیماری به عنوان یک وضعیت

پیری زودرس تلقی می شود. بیماری های قلبی و عروقی عامل اصلی مرگ و میر در بیماران مبتلا به CKD و ESRD است. موش های دچار کمبود Klotho و افراد مبتلا به CKD تا حدی دارای فنوتیپ های مشابهی هستند؛ بنابراین می توان گفت کمبود Klotho نقش پاتوژنی بالقوه ای را در پیشرفت CKD از خود نمایان کند (۱). از آنجا که کلیه اصلی ترین منبع برای Klotho گردش محسوب می شود، بیان پایین کلیوی و سطح کم گردش آن در بیماران مبتلا به CKD و ESRD دور از انتظار نیست (۹ و ۱۱). مطالعات نشان می دهد کمبود کلیوی این پروتئین در مراحل ابتدایی تر CKD احتمالاً بیشتر به دلیل سرکوب بیان ژن آن است (۱۱ و ۲۰).

عوامل متعددی در کاهش سطح بیان ژن کلیوی Klotho دخیل هستند؛ از جمله سطح سرمی بالای فسفات، هایپرمتیلاسیون و هایپر دآسیلاسیون در پروموتور ژن آن که توسط سایتوکین های التهابی، سمیت اوره و ایندوکسیل سولفات القاء می شوند اشاره نمود (۱۱) (شکل ۲).

علاوه بر این، در بیماران دیالیزی که هنوز Klotho در جریان خون آن ها قابل تشخیص است نشان می دهد که بیان کلیوی آن به طور کامل سرکوب نشده است و احتمالاً از منابعی غیر از کلیه نیز تولید می گردد؛ اگر چه منشاء قطعی تولید آن تا به امروز مشخص نشده است (۱۱ و ۲۱) (شکل ۱).

کمبود Klotho نه تنها یک بیومارکر تشخیصی زود هنگام برای CKD است، بلکه یک میانجی پاتوژنی برای پیشرفت CKD (شکل ۲) و عوارض خارج کلیوی آن نیز می باشد (۱۱). کمبود Klotho با اختلال در عملکرد سلول های بنیادی و از بین رفتن آن ها همراه است؛ همان روالی که در طی فرآیند پیری به صورت طبیعی در بدن رخ می دهد (۱۱ و ۲۲). علاوه بر این، کمبود Klotho در CKD تحت تاثیر عواملی مانند استرس اکسیداتیو، سمیت اوره مانند اندوکسیل سولفات و فسفات بالا موجب فرسودگی سلول های عروقی می شود (شکل ۲). کمبود این پروتئین در بیماری های کلیوی متعدد باعث تشدید فیروز کلیوی شده و همچنین در ادامه منجر به نقص عملکردی اندوتلیال و اختلال در رگزایی می شود. پروتئین Klotho با مهار



شکل ۲- مکانیزم‌های بالقوه کاهش غلظت Klotho در CKD و اثرات مفید Klotho محلول در جلوگیری از CKD. پنل چپ: از دست دادن بافت کلیوی، تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و همچنین سیتوکین‌های پیش‌التهابی از جمله فاکتور نکروز تومور (TNF)، اینترفرون (IFN) و اینترلوکین ۱ (IL-1)، دیس‌لیپیدی و هیپرگلیسمی و افزایش سمیت اورمیک توسط ایندوکسیل سولفات و cresyl سولفات ممکن است در کاهش کلیوی Klotho نقش داشته باشند. علاوه بر این، فسفات و FGF23 سرمی بالا و همچنین سطح پایین Vit.D3-۱,۲۵ سرمی بیان Klotho را متوقف می‌کند. سطح پایین Vit.D3-۱,۲۵ سرمی نه تنها بیان Klotho را کاهش می‌دهد بلکه باعث تحریک سیستم رنین-آلدوسترون-آنژیوتانسین (RAA) می‌شود که بیشتر تولید Klotho را سرکوب می‌کند. پانل مرکزی: کاهش بیان Klotho در کلیه‌ها منجر به کمبود Klotho اندوکراین در CKD می‌شود. سطح پایین Klotho محلول، از طریق اختلال در روند بازیابی طبیعی کلیه پیشرفت CKD به ESRD را افزایش می‌دهد. پانل سمت راست: تاثیر Klotho محلول در جلوگیری از پیشرفت CKD از طریق عملکردهای متعدد بیولوژیکی: (۱) حفاظت سلولی از طریق عملکرد آنتی‌اکسیدانی، کاهش پیری و حساسیت سلولی، کاهش آپوپتوز و افزایش اتوفاجی، از این رو بازسازی توبول‌های کلیه تسریع می‌گردد؛ (۲) کاهش سطح سرمی فسفات و FGF23؛ (۳) حفاظت از تشکیل و عملکرد مویرگ‌های اطراف توبول‌ها؛ و (۴) مهار فیروز داخلی توبول‌ها (۱۱).

عضلانی صاف در انسان‌ها و جوندگان نیز دیده می‌شود (۲۰، ۲۳، ۲۴). در میان بافت‌هایی که پروتئین α -Klotho را بیان می‌کنند، کلیه دارای بالاترین سطح از بیان آن است. در کلیه پستانداران، α -Klotho به طور گسترده در لوله‌های پیچ خورده دیستال بیان می‌شود، اما در لوله‌های پیچ خورده پروگزیمال نیز سطوح پایین تری از بیان آن مشاهده می‌شود (۲۰).

از آنجایی که کلیه بالاترین سطح بیان این پروتئین را دارد، بنابراین در شرایط فیزیولوژیکی α -Klotho گردش در سرم به طور عمده از کلیه حاصل می‌شود. با این حال، تحت شرایط پاتولوژیک کلیوی مانند ESRD، سطح α -Klotho گردش بسیار کم بوده و یا اصلاً وجود ندارد. این نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً α -Klotho از منبعی غیر از کلیه تامین می‌شود. ایجاد منابع خارجی تولید α -Klotho و مشخص نمودن اینکه چگونه می‌توان آن را در زمانی که تولید ناکافی دارد در بدن جایگزین نمود، از اهمیت بالایی برخوردار باشد.

کمبود کلیوی α -Klotho در CKD

با شناخت کلیه به عنوان منبع اصلی α -Klotho

عوامل التهابی اندوتلیال از عروق محافظت می‌کند. کمبود آن به طور مستقیم و غیر مستقیم روند کاردیومیوپاتی اورمیک را تشدید می‌کند که می‌توانست توسط Klotho محلول کنترل شود. بنابراین، پروتئین Klotho محلول، احتمالاً به عنوان فاکتور جدید برای درمان بیماران مبتلا به CKD باشد (۱۱). شناسایی بیومارکر تشخیصی و پیش‌آگهی دهنده مناسب برای CKD که از هر دو جهت ارزش تشخیصی و ارزش درمانی دارای حساسیت بالایی باشد بسیار حائز اهمیت است. Klotho یک بیومارکر ارزشمند تشخیصی و فاکتور درمانی موثر برای CKD است (۱).

CKD وضعیتی از کمبود Klotho

کلیه منبع اصلی تولید α -Klotho

در مقایسه با توزیع گسترده mRNA α -Klotho در بسیاری از اندام‌ها و بافت‌ها، بیان پروتئین α -Klotho تنها به چند بافت از جمله کلیه، مغز، قلب، غده پاراتیروئید و بیضه محدود می‌شود (۲۰). پروتئین α -Klotho در سلول‌های اندوتلیال عروقی و سلول‌های

گردشی (شکل ۱)، مرحله بعدی پی بردن به چگونگی و علت کاهش α -Klotho در طی بیماری کلیوی است. به عنوان یک اصل کلی، اگر اندامی که منشاء تولید یک ماده درون ریز است دچار بیماری باشد، منطقی است که کمبود درون ریز آن ماده ناشی از اختلال منبع آن است. بنابراین، کاهش پروتئین α -Klotho در کلیه ی دچار آسیب امری طبیعی است (۲۰).

کاهش چشمگیر رونوشت کلیوی α -Klotho و پروتئین حاصل از آن در کلیه آسیب دیده، ناشی از علل متعدد برخاسته از بیماری‌های گلومرولی و توبولو اینترستیشیال، نوروباتی انسدادی، نوروباتی دیابتی، آسیب های ایسکمیک، نفروزکتومی، استرس اکسیداتیو، پس زدگی مزمن آلوگرافت و قرار گرفتن در معرض سیس پلاتین، آنژیوتانسین II (Ang II) و مهارکننده های کالسینورین در انسان و جوندگان می باشد (۲۰ و ۲۵). به نظر می رسد کمبود کلیوی α -Klotho در مراحل اولیه CKD علاوه بر از بین رفتن توبول های کلیوی، احتمالاً بیشتر به دلیل سرکوب بیان ژن آن می باشد. در بیماران مبتلا به CKD با کاهش بیان کلی mRNA α -Klotho در کلیه های این افراد مواجه هستیم که با برآورد سرعت فیلتراسیون گلومرولی (eGFR) همبستگی مثبتی را نشان می دهد. همان طور که قبلاً مطرح شد چندین واسطه در کاهش بیان α -Klotho شرکت دارند از جمله فسفات سرم، هایپرمتیلاسیون و هایپر دآسیلاسیون در پروموتور ژن آن در اثر سیتوکین های التهابی و سمیت اوره، اندوکسیل سولفات (شکل ۲) (۱۱، ۲۰، ۲۶، ۲۷). اگر این مشاهدات درست باشد، با اعمال تغییرات در این عوامل فرصتی را برای فعال کردن مجدد بیان α -Klotho فراهم می شود و در نتیجه می توان کمبود فرم گردشی و کلیوی آن را در مراحل اولیه CKD بهبود بخشید.

کمبود α -Klotho گردشی در در CKD

بیان و رونویسی α -Klotho در کلیه های بیمار انسان و حیوانات به وضوح کاهش می یابد. با این حال، هنوز ارتباط بین بیان α -Klotho کلیوی و سطح آن در سرم و / یا ادرار به صورت قطعی تایید نشده است (۲۰). در بیماران مبتلا به CKD، سطح α -Klotho ادرار به میزان قابل توجهی در مراحل اولیه آن کاهش می یابد و با

پیشرفت CKD این روند کاهشی ادامه خواهد داشت، در حالی که کاهش سرمی α کلوتو در مرحله دوم CKD شروع می شود (۲۰، ۲۸، ۲۹). علاوه بر این، دفع ادراری α -Klotho این بیماران به طور قابل توجهی کاهش می یابد و این میزان کاهش ادراری به طور مستقیم با کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی (eGFR) ارتباط دارد. این مشاهدات نشان می دهد که α -Klotho محلول در ادرار می تواند یک بیومارکر خوبی برای تشخیص زود هنگام CKD باشد. شواهد نشان می دهد که در بیماران مبتلا به CKD و ESRD سطح گردشی α -Klotho کاهش می یابد، بنابراین شناسایی مکانیسم های کاهش α -Klotho و پیامدهای بالینی آن در بیماران CKD / ESRD اهمیت اساسی دارد (۲۰ و ۲۹).

کمبود α -Klotho عامل مساعد کننده پیشرفت CKD

کمبود α -Klotho نه تنها یک بیومارکر زودرس در تشخیص CKD است؛ بلکه به عنوان یک عامل پاتوژنی برای پیشرفت CKD و عوارض بعدی آن نیز به شمار می آید. α -Klotho یک پروتئین چند وجهی است. اشکال مختلف α -Klotho ممکن است در عملکردهای مختلف بیولوژیکی دخالت داشته باشند. α -Klotho غشایی برای تأمین هموستاز مواد معدنی مشارکت دارد، در حالی که پروتئین α -Klotho محلول نقش مهم و سیستمیک در حفاظت سلولی، انژیوژنز و عملکرد ضد فیبروزی دارد (۲۰).

افزایش فرسایش سلولی و کاهش قابلیت بازسازی آن

سلول های بنیادی در بسیاری از بافت های پستانداران در حفظ هموستاز بافتی مشارکت می کنند و در بازسازی بافت نقش دارند. اختلال در عملکرد و کاهش سلول های بنیادی و پیش ساز باعث پیری و بیماری های مرتبط آن از جمله بیماری کلیوی می شود. کمبود α -Klotho با اختلال عملکردی و کاهش میزان سلول های بنیادی همراه است که بخشی از روند پیری طبیعی را شامل می شود. کمبود این پروتئین در بیماران مبتلا به CKD می تواند فرسودگی سلول های توبول های کلیوی و عروق را که در اثر استرس اکسیداتیو، سمیت اوره ای و فسفات بالا پدید می آید، افزایش دهد (۲۰).

شروع و پیشرفت CKD، مشخص کردن شدت و مرحله آن، اطمینان از قابلیت تشخیصی در چندین گونه مشابه (به ویژه انسان) و امکان دسترسی در مایعات یا بافت های بدن را دارا باشد (۲۰ و ۳۰). کمبود کلیوی Klotho به شدت با اختلالات یونی، بیماری های قلبی عروقی، التهاب، فیبروز کلیوی و اختلالات معدنی استخوانی مرتبط است که همه ی آن ها از ویژگی های CKD هستند. کاهش سطح سرمی Klotho در مراحل خفیف بیماران مبتلا به CKD (مراحل ≥ 2) آغاز می‌شود و مقدم بر افزایش سطح سرمی FGF23، PTH و Pi است. درحالی که کاهش Klotho ادراری حتی در مراحل ابتدایی تر آن رخ می دهد (۲۸). علاوه بر این، اطلاعات نشان می دهد که کمبود Klotho در CKD می تواند حساسیت سلول های کلیوی و عروقی را تحت تاثیر استرس اکسیداتیو افزایش دهد (۳۱-۳۳). این یافته ها نشان می دهد که کمبود Klotho با پیشرفت CKD و عوارض جانبی آن ارتباط نزدیکی دارد. بنابراین، کمبود شکل محلول این پروتئین دارای پتانسیل تشخیصی برای اختلالات عملکردی کلیوی بوده و به عنوان بیومارکر حساس و زود هنگام CKD عمل می کند (۳۴ و ۳۵).

α-Klotho شاخصی از پیامدهای ناخواسته در

CKD انسانی

بر اساس مطالعه انجام شده توسط کراجیسنیک در سال ۲۰۱۰، CKD را می توان انعکاسی از کمبود α-Klotho در بافت های متعدد دانست. همزمان با کاهش eGFR در طی مراحل مختلف CKD، سطح mRNA - α-Klotho در غده پاراتیروئید نیز کاهش می یابد (۲۰ و ۳۶). همچنین، بیان α-Klotho-mRNA در بافت کلیه به میزان قابل توجهی کاهش داشته و با eGFR در بیماران مبتلا به CKD رابطه مثبت و معنی داری دارد (۲۰). طی نتایج حاصل از مطالعه ساکان در سال ۲۰۱۴، α-Klotho-mRNA کلیوی را می توان به عنوان تنها عامل دخیل مستقل در سطح سرمی α-Klotho در تمام رده های بیماران مبتلا به CKD بیان کرد. بر اساس این مطالعه سطح α-Klotho کلیوی به طور معنی داری با کلسیم سرم، فسفر سرم، ویتامین D3، PTH و FGF23 ارتباط دارد (۲۰ و ۳۷). سطح سرمی این فاکتور در هر مرحله از CKD به طور مداوم

اختلال عملکردی اندوتلیال

α-Klotho باعث کاهش فرسودگی سلول و آپوپتوزیس ناشی از استرس اکسیداتیو در سلول های اندوتلیال می شود و همچنین بیان مولکول چسبندگی بین سلولی (Intercellular Adhesion Molecule 1) و مولکول چسبندگی سلول های عروقی (ICAM-1) و مولکول چسبندگی سلول های عروقی (Vascular cell adhesion protein 1 (VCAM-1)) ناشی از فاکتور TNF-β را سرکوب می کند و فعالیت NF-kappaB را کاهش می دهد. بنابراین پروتئین α-Klotho از طریق مهار فرآیند التهاب از آندوتلیوم عروقی محافظت می کند (۲۰).

پیشگیری از فیبروز کلیوی

فیبروز کلیوی علاوه بر اینکه شاخص بافتی برای CKD است؛ به عنوان یک عامل پاتوژنی برای پیشرفت CKD نیز به شمار می آید. فیبروز کلیوی ناشی از انسداد یک طرفه میزنای (UUO : Unilateral Ureteral Obstruction) با افزایش TGF-β و فیبرونکتین و کاهش α-Klotho - mRNA و پروتئین حاصل از آن همراه است. α-Klotho محلول فیبروز کلیوی ناشی از UUO را کاهش می دهد و بیان ژن های مورد هدف فاکتورهای فیبروزی و TGF-β1 را سرکوب می کند. اما بیان TGF-β1 را در کلیه مبتلا شده به UUO را نمی تواند کاهش دهد، بنابراین α-Klotho به طور عمده از طریق مهار عوامل پایین دست مسیر سیگنالینگ TGF-β1، فیبروز کلیوی را کاهش می دهد (۲۰).

کمبود α-Klotho به عنوان یک بیومارکر CKD

CKD یک مشکل جهانی بهداشت عمومی است که بیش از ۲۰ میلیون نفر را فقط در ایالات متحده تحت تاثیر قرار داده است. تشخیص دقیق و زود هنگام CKD در مراحل اولیه آن به راحتی امکان پذیر نمی باشد و هیچ بیومارکر اختصاصی، حساس و قابل اطمینانی وجود ندارد که به راحتی بتوان آن را برای تشخیص ابتلا به CKD، پیشرفت و عوارض متعاقب آن مورد سنجش قرار داد. بررسی های زیادی برای شناسایی بیومارکرهایی با حساسیت بالا (ارزش تشخیصی) و اختصاصیت بالا (ارزش اثر درمان) برای پیش بینی روند آغاز ابتلا به CKD و یا پیشرفت آن صورت پذیرفته است. بیومارکر ایده آل CKD باید قادر به پیش بینی

فیروز کلیوی را کاهش می دهد. بنابراین، هایپرمتیلاسیون احتمالاً جزو یکی از مکانیسم های مهار بیان ژن Klotho در بیماران CKD باشد (۱۱ و ۲۰).

داستیلاسیون (Deacetylation)

هایپرستیلایسیون هیستون در پروموتور کلو تو نیز به عنوان یکی از مکانیسم های مهار Klotho در انواع بسیاری از سلول های سرطانی مطرح شده است. مشاهده شده است که تاثیر استیلایسیون هیستون پروموتور ژن Klotho بر روی تنظیم بیان آن در پیشرفت انواع مختلف سرطان دخالت دارد، اما نقش آن در کاهش Klotho کلیوی و تاثیر درمان طی مهار استیلایسیون در راستای افزایش این پروتئین در افراد مبتلا به بیماری کلیوی ارزشمند بوده و نیازمند تأیید است (۱۱ و ۲۰).

مکانیسم فعال سازی مجدد بیان α -Klotho

اندوژنی مستقل از تغییرات اپی ژنتیکی

تا به امروز در اثر استفاده از برخی ترکیبات دارویی حاوی مشتقات فعال ویتامین D3 (Cholecalciferol) (۲۴)، آنتاگونیست گیرنده نوع I آنژیوتانسین II (۳۹)، مهارکننده های آنزیم هیدروکسی متیل گلو تاریل کوآنزیم آ ردوکتاز (HMG-CoA) مانند استاتین (۲۰) و آگونیست های گیرنده های گامای فعال کننده تکثیر پروکسی زوم ها (PPAR- γ) (۴۰ و ۴۱) افزایش بیان Klotho را در شرایط آزمایشگاهی و محیط زنده مشاهده شده است.

فعال سازی مجدد تولید Klotho از طریق دمتیلایسیون و داستیلایسیون پروموتور ژن آن در کنار سایر مکاسیم های شناخته شده تاکنون ممکن است یک روش و استراتژی آسان و مفیدی برای بازگرداندن تولید Klotho کلیوی و افزایش سطح آن در گردش خون برای بیماران مبتلا به CKD اولیه را فراهم کند. سطح بالای Klotho در کلیه و گردش خون بی تردید به حفظ تعادل متابولیسم مواد معدنی، جلوگیری از پیشرفت CKD و حفاظت از قلب و عروق کمک می کند (۱۱).

(Complementary) Delivery of Klotho cDNA

DNA

تحقیقات نشان داده است که Delivery ژن Klotho

کاهش می یابد. طبق مطالعات بارکر و روتوندی در سال ۲۰۱۵، در سرم افراد مبتلا به مراحل اولیه CKD (به عنوان مثال، مرحله ۲) تداوم کاهش α -Klotho ممکن است ناشی از افزایش سطح PTH، FGF23 و هیپر فسفاتمی باشد (۲۰، ۲۸، ۳۸).

α -Klotho به عنوان استراتژی درمانی جدید و

موثر در CKD

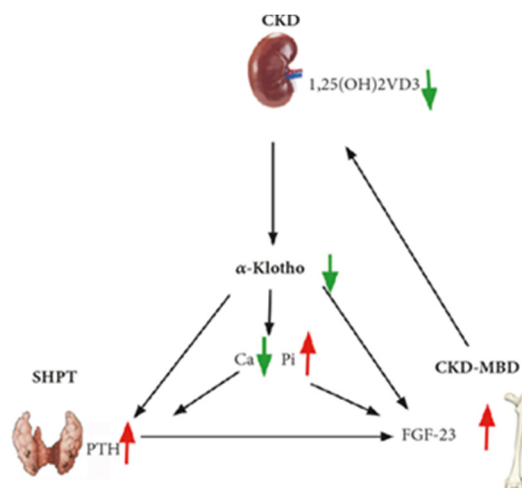
کلیه به عنوان جایگاه اصلی تولید α -Klotho در حفظ سطح گردش آن مشارکت می کند (۹، ۱۱، ۲۰). کاهش تعداد سلول های تولید کننده α -Klotho منجر به کمبود آن شده که به دنبال آن تسریع در روند پیری در بدن اتفاق می افتد و کلیه را بیشتر در معرض ناراحتی های مختلف کلیوی قرار می دهد. از سوی دیگر، افزایش α -Klotho از طریق دستکاری های ژنتیکی، انتقال به واسطه عوامل ویروسی و یا مدیریت Klotho اگزوزنر موجب بهبود عوارض متعدد کلیوی و غیر کلیوی در هر دو اختلال عملکردی حاد و مزمن کلیوی می شود. از این رو، کمبود α -Klotho نه تنها می تواند عامل پاتوژنیکی برای تسریع روند پیشرفت CKD باشد بلکه یک عامل اصلی در بروز عوارض مزمن آن مانند هیپرپاراتیروئیدی ثانویه و بیماری های قلبی-عروقی در بیماران CKD است. تصور می شود درمان هایی که باعث تحریک و تولید مجدد α -Klotho اندوژنر شود و یا تجویز α -Klotho اگزوزنر، همه ی این روش ها ممکن است یک استراتژی درمانی جدید برای CKD باشد. برای مثال بر اساس نتایج حاصل از مطالعات متعدد می توان به روش های زیر در جهت تحریک مجدد بیان و تولید α -Klotho اشاره کرد (۱۱ و ۲۰):

مکانیسم فعال سازی مجدد بیان α -Klotho

اندوژنی وابسته به تغییرات اپی ژنتیکی

دمتیلایسیون (Demethylation)

با متیلایسیون پروموتور ژن Klotho فعالیت آن در حدود ۴۰-۳۰٪ کاهش می یابد، در حالی که دمتیلایسیون DNA آن، بیان Klotho را ۱٫۵ تا ۳٫۰ برابر افزایش می دهد. آزمایش های حیوانی به وضوح نشان می دهد که دمتیلایسیون پروموتور ژن کلو تو به طور قابل توجهی کمبود کلیوی آن را جبران کرده و



شکل ۳- شمایک ارتباط متقابل بین klotho، بیماری مزمن کلیوی، هیپرپاراتیروئیدیسم ثانویه و بیماری‌های متابولیک استخوان (۱۸)

قلبی و عروقی متحمل رنج زیادی هستند. کلیه یک عضو اصلی برای حفظ کلوته محلول است که این عملکرد از طریق دو روش انجام می‌شود. اول اینکه α -Klotho متصل به غشای سلول‌های اپیتلیال توبول‌های کلیوی بریده شده و به گردش خون آزاد شود. در روش دوم برای حذف α -Klotho محلول اضافی و غیر ضروری از گردش خون از طریق ترنسیتوز توبول‌های پروگزیمال کلیه وارد لومن ادراری به منظور نقش بیولوژیکی آن انجام می‌شود (۱۸ و ۲۰).

با کاهش عملکرد کلیه، سطح α -Klotho کاهش یافته و FGF23 افزایش می‌یابد. اما هنوز معلوم نیست در ابتدا کدام یک از این تغییرات رخ می‌دهد؟ در مراحل اولیه، این تغییرات می‌تواند به ننگ داشتن هموستاز معدنی کمک کنند. با تشدید اختلال عملکرد کلیه، فیدبک مهمی FGF23 افزایش یافته بر روی فسفات سرم و تولید PTH به دلیل تشدید روند کاهش α -Klotho متوقف می‌شود. متعاقباً هیپر فسفاتمی و هیپرپاراتیروئیدیسم ثانویه رخ می‌دهد. با مختل شدن عملکرد کلیه، به دلیل تولید ویتامین D3 در کلیه میزان آن کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش FGF23 که منجر به کاهش کلسیم سرم می‌شود تولید ویتامین D3 سرکوب می‌شود. کمبود کلسیم و هیپر فسفاتمی روند هیپرپاراتیروئیدیسم ثانویه را بیشتر تشدید می‌کند و سطوح PTH و FGF23 را افزایش می‌دهد. تغییرات فوق یک چرخه معیوبی را تشکیل می‌دهند و با همکاری هم به تشدید عوارض CKD مانند بیماری‌های

از طریق حامل ویروسی به طور موثری موجب بهبود بسیاری از فنوتیپ‌های ظاهر شده در موش‌های دچار کمبود Klotho از جمله کند شدن پیشرفت افزایش فشار خون و آسیب کلیه، بهبود عملکرد در آسیب حاد کلیوی (Acute kidney injury یا AKI)، بهبود آسیب کلیوی ناشی از آنژیوتانسین II، بهبود عملکرد اندوتلیال و پیشگیری از کاردیومیوپاتی اورمیک می‌شود. اگر چه ژن درمانی در مطالعات حیوانی موثر است اما وضعیت ایمنی آن همچنان در حال بررسی است و برای کاربردهای بالینی در انسان فعلاً میسر نیست (۱۱ و ۲۰).

تجویز پروتئین محلول Klotho

گزینه مناسب برای افزایش Klotho گردش خون، تجویز پروتئین محلول Klotho (برش کامل دومین خارج سلولی Klotho غشایی) که روشی مستقیم، ایمن تر و راحت تر برای جبران کمبود Klotho اندوکرین نسبت به حامل‌های ویروسی است. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که تجویز یک واحد پروتئین کلوته محلول بلافاصله پس از آسیب کلیوی آن را به طور موثری بهبود بخشیده و عملکرد کلیه را حفظ می‌کند (۱۱ و ۲۰).

بحث و نتیجه‌گیری

کلیه ارگان اصلی تولید Klotho است. CKD با کاهش این پروتئین همراه بوده و بیماران مبتلا به آن از عوارض جانبی ناشی از آن به خصوص بیماری‌های

جدول ۱- استراتژی های بالقوه افزایش Klotho برای درمان CKD در انسان.

افزایش اپی ژنتیکی Klotho اندوژنی	دمتیلاسیون پروموتور ژن Klotho
افزایش غیر اپی ژنتیکی Klotho اندوژنی	داستیلاسیون پروموتور ژن Klotho آگونیست γ -PPAR
Delivery کردن ژن Klotho در محیط زنده	آنتاگونیست گیرنده نوع I آنژیوتانسین II استاتین مشتقات فعال ویتامین D حامل ویروسی Klotho cDNA
تجویز پروتئین محلول Klotho اگزوژنی	Klotho cDNA پروتئین Klotho تغییر یافته

References

- Zou D, Wu W, He Y, Ma S, Gao J. The role of klotho in chronic kidney disease. *BMC Nephrol.* 2018;19(1):285.
- Hu MC, Shi M, Gillings N, Flores B, Takahashi M, Kuro-o M, et al. Recombinant α -Klotho may be prophylactic and therapeutic for acute to chronic kidney disease progression and uremic cardiomyopathy. *Kidney Int.* 2017;91(5):1104-14.
- Lu X, Hu MC. Klotho/FGF23 axis in chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Dis (Basel).* 2017;3(1):15-23.
- Stenvinkel P, Larsson TE. Chronic kidney disease: a clinical model of premature aging. *Am J Kidney Dis.* 2013;62(2):339-51.
- Zoja C, Abbate M, Remuzzi G. Progression of chronic kidney disease: insights from animal models. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006;15(3):250-7.
- Cortinovis M, Ruggenenti P, Remuzzi G. Progression, remission and regression of chronic renal diseases. *Nephron.* 2016;134(1):20-4.
- Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. Klotho and chronic kidney disease. *Phosphate and Vitamin D in Chronic Kidney Disease.* 180: Karger Publishers; 2013. p. 47-63.
- Giachelli CM. The emerging role of phosphate in vascular calcification. *Kidney Int.* 2009;75(9):890-7.
- Lindberg K, Amin R, Moe OW, Hu MC, Erben RG, Wernerson AÖ, et al. The kidney is the principal organ mediating klotho effects. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25(10):2169-75.
- Hu MC, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Griffith C, Kuro-o M, et al. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(1):124-36.
- Neyra JA, Hu MCJB. Potential application of klotho in human chronic kidney disease. *Bone.* 2017;100:41-9.
- Kim JH, Hwang KH, Park KS, Kong ID, Cha SK. Biological role of anti-aging protein Klotho. *J Lifestyle Med.* 2015;5(1):1.
- Chen CD, Tung TY, Liang J, Zeldich E, Tucker Zhou TB, Turk BE, et al. Identification of cleavage

متابولیک استخوان، هیپرپاراتیروئیدسم ثانویه و کلسیفیکاسیون عروقی کمک می کنند (شکل ۳) (۱۸). در نفرولوژی بالینی بر اساس مطالعات پری کلینیکال چند نقش ارزشمند برای Klotho مطرح شده است: Klotho می تواند مارکر حساس برای تشخیص زودرس CKD و فاکتور پیش آگهی دهنده قابل اعتماد برای پیش بینی پیشرفت CKD، ESRD و بیماری های قلبی- عروقی مرتبط با CKD باشد، اگرچه انتخاب Klotho سرم یا ادرار به عنوان بیومارکر نیازمند ارزیابی های بیشتر است. همچنین Klotho می تواند یک عامل پیشگیری کننده از آسیب های حاد کلیوی به ویژه در افراد مبتلا به CKD که ریسک بالایی برای ظهور این عوارض را دارند باشد. Klotho تاثیرات درمانی امیدوار کننده ای برای پیشرفت CKD و تبدیل AKI به CKD نشان می دهد. همچنین می تواند مبتلا به بیمارهای قلبی- عروقی را کاهش دهد. با این حال، هنوز باید اثربخشی و ایمنی روش های درمانی با Klotho در مراحل مختلف CKD در انسان تایید شود (جدول ۱).

مکانیزم های مولکولی حفاظتی Klotho بر کلیه و قلب در حال مشخص شدن است، اما اینکه اثر Klotho بر روی کلیه و قلب از یک مسیر ارگانی اختصاصی است و یا مشابه مسیرهای سیگنالینگ مشترک است، هنوز شناخته نشده است. بدیهی است، درک بهتر مکانیزم های مولکولی Klotho در بیماری کلیوی و جلوگیری از بیماری های قلبی- عروقی در توسعه و اجرای استراتژی های درمانی جدید بسیار کمک کننده خواهد بود.

- kidney. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;280(4):1015-20.
27. Asai O, Nakatani K, Tanaka T, Sakan H, Imura A, Yoshimoto S, et al. Decreased renal α -Klotho expression in early diabetic nephropathy in humans and mice and its possible role in urinary calcium excretion. *Kidney Int.* 2012;81(6):539-47.
 28. Barker SL, Pastor J, Carranza D, Quiñones H, Griffith C, Goetz R, et al. The demonstration of α Klotho deficiency in human chronic kidney disease with a novel synthetic antibody. *Nephrol Dial Transpl.* 2014;30(2):223-33.
 29. Hu MC. Klotho connects intermedin1-53 to suppression of vascular calcification in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2016;89(3):534-7.
 30. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. The emerging role of Klotho in clinical nephrology. *Nephrol Dial Transpl.* 2012;27(7):2650-7.
 31. Verbeke F, Van Biesen W, Vanholder R. The role of collagen metabolism in CKD-associated arterial senescence: underestimated and underappreciated. Oxford University Press; 2011.
 32. Small DM, Bennett NC, Roy S, Gabrielli BG, Johnson DW, Gobe GC. Oxidative stress and cell senescence combine to cause maximal renal tubular epithelial cell dysfunction and loss in an in vitro model of kidney disease. *Nephron Exp Nephrol.* 2012;122(3-4):123-30.
 33. Shimada T, Takeshita Y, Murohara T, Sasaki K-i, Egami K, Shintani S, et al. Angiogenesis and vasculogenesis are impaired in the precocious-aging klotho mouse. *Circulation.* 2004;110(9):1148-55.
 34. Pavik I, Jaeger P, Ebner L, Wagner CA, Petzold K, Spichtig D, et al. Secreted Klotho and FGF23 in chronic kidney disease Stage 1 to 5: a sequence suggested from a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transpl.* 2012;28(2):352-9.
 35. Cano FJ, Freundlich M, Ceballos ML, Rojo AP, Azocar MA, Delgado IO, et al. Longitudinal FGF23 and Klotho axis characterization in children treated with chronic peritoneal dialysis. *Clin Kidney J.* 2014;7(5):457-63.
 36. Krajsnik T, Olason H, Mirza MA, Hellman P, Åkerström G, Westin G, et al. Parathyroid Klotho and FGF-receptor 1 expression decline with renal function in hyperparathyroid patients with chronic kidney disease and kidney transplant recipients. *Kidney Int.* 2010;78(10):1024-32.
 37. Sakan H, Nakatani K, Asai O, Imura A, Tanaka T, Yoshimoto S, et al. Reduced renal α -Klotho expression in CKD patients and its effect on renal phosphate handling and vitamin D metabolism. *PLoS One.* 2014;9(1):e86301.
 38. Rotondi S, Pasquali M, Tartaglione L, Muci ML, Mandanici G, Leonangeli C, et al. Soluble α -Klotho serum levels in chronic kidney disease. *INT J Endocrinol.* 2015;2015.
 39. Karalliedde J, Maltese G, Hill B, Viberti G, sites leading to the shed form of the anti-aging protein klotho. *Biochemistry.* 2014;53(34):5579-87.
 14. Hu MC, Shi M, Zhang J, Addo T, Cho HJ, Barker SL, et al. Renal production, uptake, and handling of circulating α Klotho. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(1):79-90.
 15. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature.* 1997;390(6655):45.
 16. Kunert SK, Hartmann H, Haffner D, Leifheit-Nestler M. Klotho and fibroblast growth factor 23 in cerebrospinal fluid in children. *J Bone Miner Metab.* 2017;35(2):215-26.
 17. Akimoto T, Yoshizawa H, Watanabe Y, Numata A, Yamazaki T, Takeshima E, et al. Characteristics of urinary and serum soluble Klotho protein in patients with different degrees of chronic kidney disease. *BMC Nephrol.* 2012;13(1):155.
 18. Wang Q, Su W, Shen Z, Wang RJBri. Correlation between soluble α -Klotho and renal function in patients with chronic kidney disease: A review and meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2018;2018.
 19. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *The Lancet.* 2013;382(9888):260-72.
 20. Neyra J, Hu MC. α Klotho and chronic kidney disease. *Vitamins & Hormones.* 101: Elsevier; 2016. p. 257-310.
 21. Lau WL, Leaf EM, Hu MC, Takeno MM, Kuro-o M, Moe OW, et al. Vitamin D receptor agonists increase klotho and osteopontin while decreasing aortic calcification in mice with chronic kidney disease fed a high phosphate diet. *Kidney Int.* 2012;82(12):1261-70.
 22. Liu H, Fergusson MM, Castilho RM, Liu J, Cao L, Chen J, et al. Augmented Wnt signaling in a mammalian model of accelerated aging. *Science.* 2007;317(5839):803-6.
 23. Fang Y, Ginsberg C, Sugatani T, Monier-Faugere MC, Malluche H, Hruska KA. Early chronic kidney disease-mineral bone disorder stimulates vascular calcification. *Kidney Int.* 2014;85(1):142-50.
 24. Ritter CS, Zhang S, Delmez J, Finch JL, Slatopolsky E. Differential expression and regulation of Klotho by paricalcitol in the kidney, parathyroid, and aorta of uremic rats. *Kidney Int.* 2015;87(6):1141-52.
 25. Shi M, Flores B, Gillings N, Bian A, Cho H, Yan S, et al. α Klotho mitigates progression of AKI to CKD through activation of autophagy. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(8):2331-45.
 26. Koh N, Fujimori T, Nishiguchi S, Tamori A, Shiomi S, Nakatani T, et al. Severely reduced production of klotho in human chronic renal failure

Gnudi L. Effect of renin-angiotensin system blockade on soluble Klotho in patients with type 2 diabetes , systolic hypertension, and albuminuria. *J Am Soc Nephrol.* 2013;8(11):1899-905.

40. Chen LJ, Cheng MF, Ku PM, Lin JW. Rosiglitazone increases cerebral klotho expression to reverse baroreflex in type 1-like diabetic rats. *Biomed Res Int.* 2014;2014.

41. Lin W, Zhang Q, Liu L, Yin S, Liu Z, Cao W. Klotho restoration via acetylation of peroxisome proliferation-activated receptor γ reduces the progression of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2017;92(3):669-79.