

پروتئین کلوتو، بیومارکری در تشخیص AKI

● مینا مواساتی

کارشناس علوم آزمایشگاهی، گروه علوم
آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه
علوم پزشکی تهران



● دکتر فریبا نباتچیان

دکترای بیوشیمی بالینی، دانشیار گروه علوم
آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه
علوم پزشکی تهران



fnabatchian@yahoo.com

● دکتر نگین داودی

داروساز، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم
پزشکی تهران



□ چکیده

۲- کلوتو ترشچی به عنوان یک عامل همورال دارای
فعالیت پلئوتروپیک است که شامل تنظیم استرس
اکسیداتیو، سیگنالینگ فاکتور رشد و هموستاز یون
می‌باشد. کلوتو ترشچی همچنین در محافظت از ارگان‌ها
نقش دارد.

۳- فرم داخل سلولی کلوتو، التهاب‌های ناشی از پیری
سلول و متابولیسم معدنی را سرکوب می‌کند.

کلمات کلیدی: بیماری حاد کلیوی، بیماری مزمن
کلیوی، پروتئین کلوتو

□ پروتئین کلوتو (Klotho)

این مولکول شامل ۱۰۱۴ اسید آمینه در موش و ۱۰۱۲
اسید آمینه در انسان می‌باشد؛ که در غشاء پلاسمایی و
جسم گلژی واقع شده است.

کلوتو نقش‌های متعددی دارد از جمله: حفاظت سلولی از

کلوتو یک پروتئین غشاء گذر ضد پیری است که عمدتاً
در کلیه تولید می‌شود. میزان کلوتو محلول با افزایش
سن کاهش می‌یابد و ژن کلوتو با افزایش خطر ابتلا به
بیماری‌های مرتبط با سن از جمله دیابت، آتروفی پوست،
بیماری مزمن کلیوی، آتاکسی و سرطان همراه است.

ژن کلوتو از ۵ اگزون تشکیل شده است. این ژن یک
گلیکوپروتئین غشایی که در غشای پلاسمایی قرار دارد را
کد می‌کند.

۳ فرم کلوتو پروتئین دارای عملکرد مشخصی هستند:

۱- کلوتو پروتئین غشایی، کمپلکسی با رسپتورهای
فاکتور رشد فیبروبلاست تشکیل می‌دهد و به عنوان
کورسپتور اتصالی برای فاکتور ۲۳ عمل می‌کند که از طریق
تنظیم فسفر یونیزه و متابولیسم ویتامین D در پیری و
ایجاد بیماری‌های مزمن نقش دارد.



طریق همکاری با آنتی اکسیدان ها، آنتی آپوپتوز، ضد پیری، رگ زایی و مهار فیبرینوژن. علاوه بر این، کلوئو جذب فسفات و فسفاتوری را مهار می کند. بنابراین از اضافه بار فسفات جلوگیری می کند. از دیگر اثرات محافظت کننده آن، می تواند از کلسیفیه شدن عروق (کلسیفیکاسیون عروقی) جلوگیری کند. تحقیقات متعددی به صورت جامع به فیزیولوژی کلوئو در پیری، انتقال کلسیم، فسفات و پتاسیم کلیوی، نقش پاتوفیزیولوژیک آن در پیشرفت آسیب حاد کلیوی و پیشرفت بیماری های مزمن کلیوی و عوارض آن اشاره می کند.

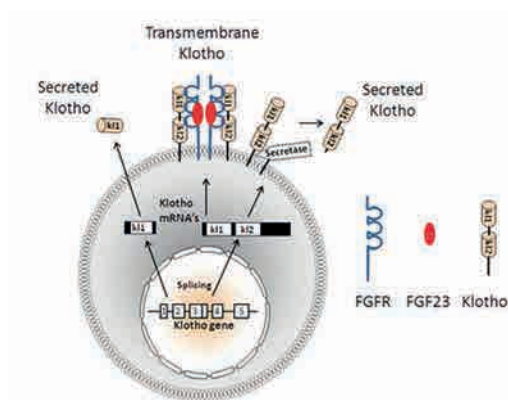
□ مقدمه

همه موجودات زنده، پیر شده و می میرند. در یونان باستان *atropose* و *klotho* دختران *zeus* و *themis* بودند. اعتقاد بر این بود که *klotho* نخ زندگی را می ریسد، *lechesis* طول آن را تعیین می کند و *atropose* آن را کاهش می دهد. زن کلوئو به نام مویرای (*Moirai*) نام گذاری شده است که نخ زندگی را می ریسد. در ابتدا کلوئو به عنوان یک زن جهش یافته در نژادی از موش ها شناسایی شده بود که فنوتیپی شبیه به پیری انسان داشتند. کلوئو در سال ۱۹۹۷ به طور اتفاقی ضمن تولید یک مدل موش با فشار خون بالا کشف و تشخیص داده شد. از زمان کشف کلوئو، دو الگوی دیگر مرتبط با آن، β -کلوئو که در اسید صفاوی و متابولیسم انرژی دخیل است و γ -کلوئو با عملکردی که هنوز به طور کامل مشخص نیست، شرح داده شده است که منجر به تغییر نام کلوئو به عنوان α -کلوئو شده است [۱].

زن کلوئو شامل ۵ اگزون می باشد و گلیکوپروتئین میان غشایی *single pass* نوع I را رمز گذاری می کند (شامل ۱۰۱۴ اسید آمینه در موش و ۱۰۱۲ اسید آمینه در انسان می باشد) که در غشاء پلاسمایی و جسم گلژی واقع شده است. دومین داخل سلولی خیلی کوتاه است (تقریباً ۱۰ اسید آمینه) و هیچ گونه عملگری ندارد. دومین خارج سلولی دارای ۲ تکرار داخلی *kl1* و *kl2* می باشد که دارای توالی اسید آمینه ای یکسانی هستند و پیوند β گلیکوزیداز را در ساکاریدها، گلیکوپروتئین ها و گلیکولیپیدها

هیدرولیز می کنند. ناحیه پیوند دهنده بین دو تکرار داخلی حاوی ۴ اسید آمینه اساسی (*lys-lys-Arg-lys*) است که یک سایت بالقوه برای برش پروتئولیتیک تشکیل می دهد. با وجود همسانی توالی با گلیکوزیداز، فعالیت آنزیمی گلیکوزیداز در پروتئین نو ترکیب کلوئو قابل تشخیص نیست؛ شاید به این دلیل که رزیدوی مهم باقی مانده در مراکز فعال مفروض کلوئو پروتئین با آنزیم های β گلیکوزیداز متفاوت است. در واقع کلوئو، فعالیت β گلوکورونیداز ضعیف در شرایط آزمایشگاهی نشان می دهد و اثرات بیولوژیکی را از طریق فعالیت β گلوکورونیداز و یا فعالیت آنزیم سیالییداز برانگیخته می کند. (شکل ۱) [۱، ۲].

در شرایط فیزیولوژیکی پروتئین کلوئو عمدتاً در مجرای دیستال نفرون و در مناطق خاصی از مغز مانند هیپوفیز، هیپوکامپ و احتمالاً شبکه عنکبوتیه بیان می شود. بیان پایین کلوئو پروتئین در شرایط پاتولوژیک از جمله دیابت ملیتوس، چاقی شکم و نارسایی قلبی ایجاد می شود. در حالی که تغییر در سطح گردش کلوئو، بیشتر نتیجه افزایش تخریب است تا اختلال در سنتز [۳].
روش اندازه گیری کلوئو پروتئین الیزا می باشد که با استفاده از روش ساندریج سنجیده می شود [۴].



شکل ۱: شمای زن کلوئو، رونوشتها و پروتئینها

کلوئو جوندگان (موشها) و انسان به طول ۵۰ kb است و شامل پنج اگزون می باشد. دو رونوشت، فرم های غشایی و ترشح شده کلوئو، از طریق اتصال متناوب RNA تولید

می‌شوند. جایگاه فاصله دهنده داخلی در اگزون ۳ است. در نتیجه، رونوشت را همراه با یک کدون پایان قرار می‌دهد. یک پروتئین کوتاه از سلول تولید می‌شود که کلتو را ترشح می‌کند و فقط دارای K11 است. کلتوی بلند که از روی رونوشت کلتو توسط غشا کد می‌شود یک پروتئین میان‌غشائی single pass (تک گذر) است که در سطح سلول لنگر می‌اندازد. دومین خارج سلولی کلتو غشائی که شامل K11 و تکرارهای K12 است، توسط ADAM10 / 17 شکافته شده و در جریان خون ترشح می‌شود. بنابراین، گردش خون شامل دو فرم کلتو است - یکی دارای یک اکتودومین است که از شکاف دومین خارج سلولی غشاء کلتو مشتق شده و یکی دیگر پروتئین ترشح شده از یک رونوشت کلتو متناوب حاصل شده است. کلتو میان‌غشائی با FGFRs به عنوان گیرنده انتقال سیگنال FGF23 همکاری می‌کند [۲].

□ کلتو و پیری و بیماری‌های انسان

کلتو یک پروتئین ضد پیری است. این پروتئین با فعالیت چند جانبه باعث محافظت از ارگان می‌شود. شواهدی از این نظر پشتیبانی می‌کنند که کلتو به عنوان یک مولکول سرکوبگر سن انسان عمل می‌کند. پلی مورفوسم کلتو با طول عمر، بیماری عروق کرونر، آترواسکلروز و پوکی استخوان در انسان ارتباط دارد. کلتو همچنین با تجمع شدید کلسیم و همچنین سکنه مغزی همراه است. کمبود کلتو در بیماری‌های حاد و مزمن کلیه، سرطان‌ها و فشار خون حساس به نمک نقش دارد. در واقع سطح سرمی کلتو با رشد در انسان کاهش می‌یابد. کلتوی داخل سلولی تعامل فیزیکی با پمپ سدیم - پتاسیم در ارگان‌های داخل سلولی پیدا می‌کند. بار منفی داخل سلول و کاهش غلظت سدیم که توسط پمپ سدیم - پتاسیم ایجاد می‌شود، نیرویی را در لایه اپیتلیال قابل عبور ایجاد می‌کند که باعث انتقال کلسیم در لایه شبکه کروئید و کلیه می‌شود. به خوبی مشخص شده است که پیری با افزایش بیان سایتوکاین‌های التهابی مانند اینترلوکین - ۶ و اینترلوکین - ۸ که توسط ژن القائی

رتینوئیک اسید القا می‌شود. اخیراً دیده شده که کلتو داخل سلولی به این ژن متصل شده و از کپی شدن منومرها جلوگیری می‌کند. کلتو، التهاب ایجاد شده توسط RIG-I القا شده را که در پیری دخالت دارد سرکوب می‌کند که این نشان دهنده عملکرد کلتو به عنوان یک ضد التهاب داخل سلولی و فاکتور ضد پیری است [۱].

□ کلتو ونفرولوژی بالینی

کمبود پروتئین کلتو در هر دو آسیب کلیوی (آسیب حاد و مزمن کلیوی) وجود دارد. کلتو بسیار سریع و به شدت در آسیب حاد کلیوی کاهش می‌یابد و یک عامل بیماری‌زا است که این عارضه را تشدید می‌کند. در آسیب مزمن، کمبود کلتو تأثیر قابل توجهی در پیشرفت بیماری کلیوی و عوارض دیگر آن دارد. در AKI سطح کلتو محلول در پلاسما و یا ادرار ممکن است به عنوان یک مارکر بیوشیمیایی اولیه آسیب پارانشیمال کلیه باشد. ترمیم آن با تجویز اگزوزن یا تحریک آندوزن کلتو صورت می‌گیرد. این روند ممکن است از آسیب‌های کلیوی جلوگیری کرده و یا باعث بهبود CKD شود. در CKD سطح کلتو می‌تواند نشانه‌ای از بیماری اولیه باشد و میزان پیشرفت و حضور و شدت کلسیفیکاسیون بافت نرم را پیش بینی کند. اصلاح کمبود کلتو ممکن است، پیشرفت و ایجاد عوارض دیگر کلیوی CKD را به تأخیر اندازد [۲].

□ کلتو و بیماری‌های حاد کلیوی

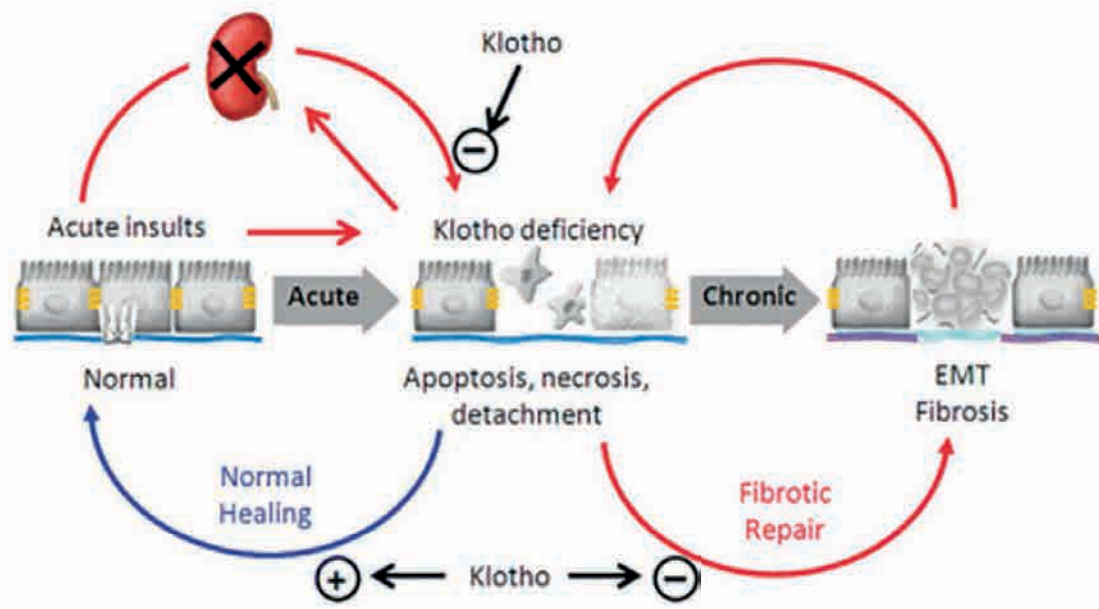
مدل‌های حیوانی به وضوح نشان داده که کمبود کلتوی کلیوی در آسیب حاد کلیوی (AKI) ناشی از دلایل مختلف از جمله آسیب ایسکمی - خون رسانی مجدد، انسداد مجاری ادراری، لیپوپولی ساکارید (مدل سپسیس)، هیپوولمی و نفروتوکسین‌ها از جمله سیس پلاتین و اسیدفولیک دیده می‌شود. که نشان می‌دهد تنظیم کاهشی کلتوی کلیوی در AKI احتمالاً یک پدیده عمومی پس از خونریزی کلیه است. مشاهده دراز مدت در مورد مدل

1- Retinoic Acid Inducible Gene



اندازه گیری کلتو پلاسما و ادرار برای نظارت بر وضعیت کلتو در انسان از کلتو کلیوی، معنی دار است. متأسفانه، تا به امروز، داده‌های انسانی محدودی وجود دارد. در جوندگان، کلتو محلول پلاسما در ۳ ساعت اولیه به طور چشمگیری کاهش یافته و در حدود ۴۸ ساعت بازیابی شد تا در نهایت در طول ۷ روز به سطح استاندارد رسید، که تغییرات موازی در کلتو کلیوی را به همراه داشت. AKI نفروتوکسیک حیوانات که ناشی از اسید فولیک و سیس پلاتین است، کلتو پلاسما را کاهش می‌دهد. کلتو ادرار در جوندگان به طور چشمگیری در روز اول کاهش یافته و در روز دوم افزایش یافت تا جایی که در روز هفتم به سطح تقریباً عادی رسید علاوه بر این، در بیماران مبتلا به AKI نسبت به افراد سالم، میزان پروتئین کلتو ادرار یا غیرقابل تشخیص است یا نسبتاً پایین‌تر است. برای تعریف دوره زمانی، ویژگی و حساسیت کلتو ادرار و پلاسما نیاز به طرح و تلاش بیشتر در آینده است [۲].

AKI نشان داد که mRNA پروتئین کلتو در روز اول شروع به کاهش می‌کند و به ترتیب در حدود روز ۳ و ۴ به نزدیک خط استاندارد باز می‌گردد. در حالی که تغییرات در مورفولوژی کلیه و افزایش در لیپوکالین مرتبط با نوتروفیل ژلاتیناز پس از ۵ ساعت قابل تشخیص است، سطح کلتوی کلیوی به طور چشمگیر و به صورت پایداری در ۳ ساعت ابتدایی کاهش یافته است و این نشان می‌دهد که کلتو کلیوی ممکن است یکی از اولین نشانگرهای زیستی برای آسیب کلیوی، حداقل در مدل جوندگان باشد. در مدل پس کلیوی AKI از انسداد مجرای ادراری یک طرفه حیوانات، با کاهش بیان کلتو کلیوی همراه با $TGF\beta 1$ افزایش یافته و نشانگرهای فیبروزیک توسعه یافته‌اند. اگر چه هیچ مطالعه انسانی برای تعیین کلتوی کلیوی در بیماران مبتلا به AKI وجود ندارد، مطالعات فعلی روی حیوانات نشان داده که تنظیم کلتوی در AKI ممکن است یک پدیده شایع و کلی از آسیب کلیه باشد (شکل ۲).



شکل ۲: الگوی پیشنهادی نقش‌های مفید کلتو در AKI

پس از قرار گرفتن در معرض مواردی مانند ایسکمی، نفروتوکسین یا انسداد، کلوتو در کلیه، پلاسما و ادرار کاهش می‌یابد. استرس اکسیداتیو و تولید سیتوکین نیز به طور مستقیم کلوتو کلیوی را سرکوب می‌کند. سطح کلوتو پایین ممکن است یک واسطه پاتولوژیک برای تشدید آسیب کلیه باشد. اگر آسیب کلیه خفیف باشد، کلیه برای بازگرداندن مورفولوژی نرمال خود، تحت بازسازی بافت طبیعی قرار می‌گیرد. در آسیب جدی‌تر، بازیابی جبرانی با فیبروز جایگزین می‌شود که باعث کاهش نقص کلوتو کلیوی می‌شود. تجویز پروتئین کلوتو اگزوزن می‌تواند به طور موثری باعث ممانعت و محدودیت آسیب کلیه، بهبود طبیعی و پیشگیری از فیبروز شود.

□ نقش بالقوه تشخیصی کلوتو در AKI

به دلیل حساسیت نسبتاً ضعیف، پاسخ تاخیری و عدم ویژگی‌های نشانگرهای تشخیصی سنتی AKI، چندین نشانگر تجاری جدید برای تشخیص زود هنگام و پیش‌بینی نتیجه AKI ایجاد شده است. در بین توضیح آن دسته از نشانگرهای زیستی، اینترلوکین پلاسما (IL-18)، لیپوکالین مرتبط با نوتروفیل ژلاتیناز (NGAL) و مولکول ۱-آسیب دیده کلیه (KIM-1) بیشترین توجه را به خود جلب کرده‌اند. اینترلوکین-۱۸ و NGAL نشانگرهای بسیار حساسی برای تشخیص زودرس آسیب کلیوی هستند. در حالی که KIM-1 اختصاصی‌تر است و در مقایسه با NGAL حساسیت کمتری دارد. بنابراین ترکیب این نشانگرهای زیستی می‌تواند بر برخی از اشکالات آن‌ها غلبه کرده و ارزش تشخیصی آن‌ها را تقویت کند. در حالی که در AKI، KIM-1، NGAL و IL-18 افزایش می‌یابند، کلوتو محلول در پلاسما کاهش می‌یابد. بنابراین اندازه‌گیری ترکیبی از دو متغیر مختلف، به عنوان مثال نسبت NGAL/klotho و KIM-1/klotho به لحاظ نظری حساسیت برای تشخیص زودرس AKI را تقویت می‌کند.

بررسی پیش‌آگهی پلاسما و کلوتو محلول در ادرار برای پیش‌بینی نتیجه AKI حائز اهمیت است [۵]. در حال حاضر نمی‌توان تعیین کرد که کاهش کلوتو به

صورت پیوسته اتفاق می‌افتد یا این که به صورت مقطعی. آیا سطح کلوتو نشانگر نکرز حد توبولار است؟ بدون شک میزان کلوتو پلاسما باید به عنوان نشانگر زیستی اصلی بالقوه برای تمایز آسیب پیش‌کلیوی از AKI ذاتی مورد بررسی قرار گیرد که می‌تواند معادل تروپونین کلیوی برای آسیب قلبی نقش ایفا کند. در یک مدل AKI نفروتوکسیک ناشی از اسید فولیک، mRNA کلوتو کلیوی به مدت ۷ روز، حتی زمانی که کراتینین سرم به سطوح نزدیک به پایه برگشت، ادامه یافت. این نکته بیان می‌کند بازیابی mRNA کلوتو در مقایسه با بازیابی عملکرد کلیه ممکن است به تأخیر بیافتد و می‌تواند نشان دهنده پنهان شدن برخی از آسیب‌های ساختاری پایدار به دلیل جبران عملکردی باشد. بازیابی بیان کلوتو کلیوی پیش‌بینی کننده پیشرفت CKD از AKI مبهم بوده است [۲].

□ کلوتو و بیماری‌های مزمن کلیوی

رونویسی کلوتوی کلیوی به طور قابل توجهی در بیماران مبتلا به آسیب مزمن کلیوی (CKD) با دلایل متنوعی مانند انسداد نفرون‌ها، پیوند کلیه پس زده شده، نروپاتی دیابتی، سندروم نفروتیک با حداقل تغییر، نروپاتی IgA و گلوبولونفریت مزمن کاهش می‌یابد. نشان داده شده با استفاده از یک کیت الایزا که اخیراً ساخته شده است، کلوتو محلول در پلاسما را مورد بررسی قرار داده و ارتباط سطح کلوتو پلاسما را با کراتینین سرم، BUN و FGF23 تعیین کرده‌اند و نشان داده شد که سطح کلوتو محلول در پلاسما ممکن است با عملکرد کلیه همراه باشد. سایر تحقیقات که کلوتو محلول در پلاسما را در یک جمعیت کوچک CKD با استفاده از همان کیت بررسی کرده‌اند، نتایج متناقضی را نشان دادند: افزایش یا عدم تغییر در ابتلا به CKD زودرس یا کاهش خفیف تا متوسط در افراد مبتلا به بیماری کلیوی در مرحله نهایی. پس بنابراین برای مطالعه، گروه‌های بزرگ‌تر مورد نیاز است و مهم‌تر از همه، اعتبار این کیت‌های الایزا برای بررسی بیشتر سطح کلوتو پلاسما در بیماران CKD زودرس و بیماران کلیوی در مراحل نهایی (ESRD) بسیار مهم است [۶]. سطح کلوتو ادراری در افراد مبتلا به CKD زودرس به



طور قابل توجهی کاهش می‌یابد و با پیشرفت CKD این کاهش بیشتر می‌شود. علاوه بر این، سطح کلوتو در پلاسما، ادرار و کلیه به طور همزمان در جوندگان مبتلا به CKD کاهش یافته است. تعداد زیادی از داده‌های حیوانی به وضوح کاهش کلوتو کلیوی و غدد درون ریز را در انواعی از مدل‌های حیوانی مبتلا به CKD نشان می‌دهد. علاوه بر مدل‌های کاهش کلیوی بیماران CKD، در سایر مدل‌ها از جمله گلمرولونفریت مزمن، دیابت (ناشی از استرپتوزوتوکین، کمبود لپتین و دیابت نوع II خود به خودی غیر وابسته به انسولین) و فشار خون بالا (فشار خون خود به خودی و فشار خون وابسته به حجم) بیان پروتئین و یا mRNA کلوتو کلیوی به طور چشمگیری کاهش می‌یابد که نشان می‌دهد کاهش در کلوتو کلیوی یک فنوتیپ عمومی در CKD می‌باشد [۶، ۲].

□ اثرات klotho بر عملکرد اندوتلیال

اختلال عملکرد اندوتلیال یک وضعیت پاتولوژیکی سیستماتیک است که ناشی از عدم تعادل بین گشاد شدن عروق و انقباض عروق می‌باشد. عدم تعادل عمدتاً با کاهش فراهمی زیستی NO و یا افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر، ایجاد می‌شود. محرک‌های التهابی و فشار خون بالا، سرعت اختلال اندوتلیال را افزایش می‌دهد. کلوتو ممکن است تولید NO را القا کند یا فعالیت ضد التهابی را به منظور حفاظت از اندوتلیال به نمایش بگذارد. در سنین بالا، ظرفیت گشاد کننده عروق با کاهش حساسیت نسبت به عروق، کاهش می‌یابد (به عنوان مثال NO). از طرف دیگر انقباض عروق با لیگاندها به عنوان آنژیوتانسین II و اندوتلین-1 افزایش می‌یابد. این آسیب‌ها توسط اختلال عملکرد اندوتلیال مرتبط با سن بروز می‌یابد. تجمع صدمات اکسیداتیو، نقش مهمی را در فرآیند پیری سلولی ایفا می‌کند. استرس اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد با افزایش سن، افزایش می‌یابد. کلوتو محلول ضدپیری، نقش مهمی در حفظ هموستاز دیواره اندوتلیال و ارتقاء سلامت عروق دارد. کلوتو پروتئین NO قابل دسترس را افزایش می‌دهد و در برابر اختلالات اندوتلیال محافظت می‌کند [۷]. شواهد اخیر نشان می‌دهد که کلوتو پروتئین موجب

بیان سوپراکسید دیسموتاز میتوکندریایی (MNSOD) می‌شود و موجب مهار NADPH اکسیداز به منظور محافظت در برابر استرس اکسیداتیو می‌شود. هنگامی که بیان SOD افزایش پیدا می‌کند، جهش ژنتیکی در کلوتو، بیان SOD را کاهش می‌دهد که نشان دهنده این است که کلوتو ممکن است در تنظیم بیان SOD نقش داشته باشد. نشان داده شده که کلوتو نه تنها باعث تنظیم کاهشی بیان پروتئین NOX2 و تولید سوپراکسید داخل سلولی می‌شود، بلکه سوپراکسیدهای تولید شده از آنژیوتانسین II، آسیب اکسیداتیو و آپوپتوز را نیز کاهش می‌دهد [۸].

در همین حال از مدل‌های حیوانی برای کشف اثرات سریع و مستقیم به کارگیری کلوتو محلول و FGF23 روی دیواره عروق استفاده کردند. بدین ترتیب اگر چه فسفات، کلوتو محلول و FGF23 به طور جداگانه انقباض آئورت را تحریک می‌کنند، کلوتو اثرات فسفات و FGF23 را بر انقباض از طریق افزایش تولید NO، کاهش می‌دهد. در نتیجه کلوتو اثرات مستقیم فسفات و FGF23 ترکیبی را در انقباض آئورت کاهش می‌دهد و از این طریق از دیواره رگ محافظت می‌کند.

دریافت ژن کلوتو، باعث افزایش سطح IL-10 خون در موش‌های مبتلا به فشار خون بالا (SHRs) می‌شود که نشان می‌دهد کلوتو ممکن است برای حفظ یکپارچگی دیواره عروق، التهاب را سرکوب کند. کلوتو محلول بیان فاکتور α نکروز تومور را که ناشی از مولکول‌های چسبندگی از جمله مولکول-1 چسبندگی داخل سلولی و مولکول-1 چسبندگی سلول عروقی (VCAM-1) در اندوتلیال است، سرکوب می‌کند. در یک مطالعه بالینی دیگر نشان داده شده است که FGF23 تولید مولکول‌های چسبندگی سلول، E-سلکتین و VCAM را تحریک می‌کند. سطوح بالاتر E-سلکتین و VCAM فعال سازی اندوتلیوم عروقی را نشان می‌دهند، که اغلب در بیماران فشار خون بالا اساسی با اختلال عملکرد اندوتلیال اتفاق می‌افتد [۹].

اندوتلین 1 (ET-1) نقش مهمی را در تنظیم عملکرد اندوتلیال ایفا می‌کند. ET-1 باعث افزایش انقباض عروق و ترمیم عروق با افزایش سن برای تشدید آسیب اندوتلیال می‌شود. عملکرد ET-1 به واسطه گیرنده‌های ETA

می باشد. فعال سازی گیرنده های ETA، فعالیت NADPH اکسیداز و تولید سوپراکساید را افزایش می دهد که ممکن است در تنظیم کاهشی آسیب کلیوی مرتبط با سن که مربوط به بیان کلوتو پروتئین کلیوی است اثر داشته است؛ چون از بین رفتن پایداری سلول اندوتلیال، تغییرات مرتبط با سن در رسپتورهای ET و ET-1 در قلب گزارش شده است. بنابراین کلوتوی بیشتر ممکن است سطح ET-1 را برای محافظت از اندوتلیوم کاهش دهد (شکل ۳) [۸، ۹].

می افتد را افزایش می دهد. به علاوه FGF23 که روی کمپلکس کلوتو - گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاست در قسمت پایه عمل می کند، باز جذب کلسیم از طریق کانال TRPV5 را تحریک کرده که در غشای اپیکال لوله پیچ خورده دور بیان شده است. کمپلکس کلوتو - گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاست آبخار سیگنالینگ را که شامل Erk1/2، SGK-1 و WNK4 است، برای واسطه باز جذب کلسیم فعال می کند [۱].

□ کلوتو و کلسیفیکاسیون عروقی

اختلال عملکرد عروقی ممکن است به دلیل کلسیفیکاسیون عروقی باشد. فشار خون بالا، دیابت و هیپرلیپیدمی برخی از عوامل خطر را برای کلسیفیکاسیون عروقی هستند. با این حال، نارسایی مزمن کلیه عامل اصلی خطر برای افزایش کلسیفیکاسیون عروقی است. این مورد در بیماران مبتلا به CKD و بیشتر در افراد مبتلا به دیالیز مزمن مشاهده شده است. مطالعات اخیر نشان داده اند که CKD ممکن است حالتی از کمبود کلوتو باشد. در انسان، کلوتو پروتئین ادراری با کاهش عملکرد کلیه کاهش می یابد. مقادیر پایین حتی در مراحل اولیه مانند CKD-1، بسیار زود در فرآیند تشخیص داده می شوند. هنگامی که GFR کاهش می یابد، افت تدریجی دفع کلوتو مشاهده می شود. کمترین مقادیر در بیماران CKD-5 شناسایی می شود. کاهش تولید کلوتو ممکن است تا حدودی فرآیندهای کلسیفیکاسیون عروقی شایع و شدید مشاهده شده در بیماران مبتلا به CKD را توضیح دهد. در موش های ترانس ژنیک بیان کننده بیش از حد کلوتو، تغییرات ناشی از CKD به ویژه در کلسیفیکاسیون های مشاهده شده در اندام ها و عروق، به وضوح بهبود یافته است. در حقیقت، در موش های CKD بیان کننده بیش از حد کلوتو، تقریباً هیچ گونه کلسیفیکاسیون آئورتی در مقایسه با کلسیفیکاسیون های آشکار موجود در موش های نوع وحشی CKD دارای کمبود کلوتو با اختلال عملکرد کلیوی مشابه، قابل تشخیص نیست. علاوه بر این، بیان بیش از حد میزان پیشرفت CKD را به موازات کاهش در کلسیفیکاسیون عروقی کاهش داد. در مطالعات آزمایشگاهی اثر مستقیم کلوتو پروتئین روی

□ کلوتو و هموستاز کلسیم و فسفات

سه فرم کلوتو، کمپلکس گیرنده اجباری با گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاست را تشکیل می دهد. در نتیجه وابستگی اتصال انتخابی FGFRs به FGFs غده درون ریز (اندوکراین) را فراهم می کند. خانواده FGF غده درون ریز نیز از ۳ عضو تشکیل شده است و شامل FGF15 (ارتولوگ موش FGF19 انسان)، FGF21 و FGF23 می باشد. فاکتورهای رشد فیبروبلاست کلاسیک، فعالیت بیولوژیکی خود را به روش اتوکراین و یا پاراکراین نشان می دهند. FGF های اندوکرینی که فاقد اتصال دومین هپارینی هستند عملکردی مانند فاکتورهای همورال دارند. کلوتو کمپلکس هایی با FGFR های متنوع تشکیل می دهد (FGFR4، FGFR1C، FGFR3C) و تمایل انتخابی به FGF23 که یک هورمون فسفاتوریک نشات گرفته از استخوان است را، افزایش می دهد. عملکرد FGF23 روی کمپلکس کلوتو-گیرنده های فاکتور رشد فیبروبلاست نقش مهمی را در هموستاز کلسیم و فسفات ایفا می کند. کلوتو، FGFR های ابتدایی را به گیرنده های اختصاصی برای FGF23 تبدیل می کند. FGF23 نه تنها باز جذب فسفات غیر معدنی در لوله های پروکسیمال کلیه را با مهار پمپ سدیم - پتاسیم Napi-IIa، مهار می کند، بلکه کمینه بیان $\alpha 1$ -هیدروکسیلاز (CYP27B1) را تنظیم می کند. $\alpha 1$ -هیدروکسیلاز یک آنزیم کلیوی برای سنتز D3 ویتامین دی هیدروکسی ۱ و ۲۵ (کلسی تریول) که از نظر بیولوژیکی فعال است، جذب Pi در روده را تحریک می کند. کلوتو متصل غشائی در عمل FGF23 دخالت می کند در نتیجه دفع Pi که به دنبال کمبود Pi سرم اتفاق



آنژیوتانسین و مهارکننده پلاسمینوژن نوع ۱ را تغییر دهد [۷، ۱۱].

نتیجه گیری

تلاش‌های متعددی برای شناسایی بیومارکرهایی با حساسیت و اختصاصیت بالا صورت گرفته است و در واقع پیشرفت‌های چشمگیری حاصل شده است. بیومارکرها باید در تشخیص زودرس و همچنین از نظر پیش‌آگهی کاربرد داشته باشند. در مقایسه با KIM، NGAL و اینترلوکین-۱۸ که همه در ارتباط با عرصه بالینی هستند، اندازه‌گیری کلوتو در بیماران AKI و CKD هنوز در مراحل ابتدایی است.

به طور امیدوارکننده‌ای اندازه‌گیری کلوتو ممکن است برنامه‌های بالینی را بعد از آن در AKI و CKD فراهم کند: ۱- تشخیص زودرس وجود AKI، ۲- شناسایی ریسک پیشرفت Post-AKI به CKD، ۳- تشخیص زودرس خارج کلیوی و مرگ و میر در CKD. این برنامه‌های بالقوه در حال حاضر همه مبنی بر داده‌های بالینی است [۱].

کلوتو مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو و فشار خون قلب را تحریک می‌کند و هموستاز معدنی را بهبود می‌بخشد. FGF23 و کلوتو ممکن است اقدامات مستقل در سیستم‌های قلبی عروقی داشته باشند، که بر عملکرد عروقی، کلسیفیکاسیون و آترواسکلروز و همچنین تصلب شرایین اثر می‌گذارد. فعالیت‌های متقابل آن‌ها ممکن است اثرات مستقیم و غیرمستقیمی بر پاتوفیزیولوژی عروقی قلبی وابسته داشته باشد [۷].

سلول‌های عضله صاف عروقی، سرکوب کلسیفیکاسیون و حفظ تمایز اثبات شده است [۷، ۱۰].

حیوانات بدون درمان فنوتیپ Klotho/(KL) شامل کلسیفیکاسیون عروقی را ایجاد کردند و وقتی بیان کلوتو توسط تغذیه روی ایجاد شد نجات یافت. در این مدل، مکمل با کلوتو سن معکوس ایجاد کلسیفیکاسیون داخلی آئورت را ایجاد کرد. به طور کلی، کلوتو ممکن است اثر محافظتی مستقیمی بر کلسیفیکاسیون بافت نرم داشته باشد [۲].

کلوتو و تنظیم فشار خون

بر اساس نظر WHO (2012)، فشار خون بالا باعث تقریباً نیمی از مرگ و میر در بیماران قلبی-عروقی می‌شود. تأثیر فشار خون بالا در پیشرفت چند بیماری، نشان می‌دهد که فشار خون بالا نقش مهمی در گسترش بیماری ایسکمی قلبی و نارسایی قلبی و کلیوی ایفا می‌کند. کلوتو از طریق تداخل هموستاتیک بین سیستم NO و سیستم رنین-آنژیوتانسین در تنظیم تعادل عروقی نقش دارد. کلوتو و FGF23 هر دو در تنظیم تعادل عروقی شرکت دارند. این ارتباط ممکن است ارتباط کلوتو و یا FGF23 را با فشار خون بالا توضیح دهد.

کلوتو ممکن است در پاتوژنز افزایش فشار خون به عنوان یک هورمون در حال گردش، بر عملکردهای اندوتلیال نقش داشته باشد. به عنوان یک عامل مغزی که تعدیل‌کننده بیان ET1 است و در نتیجه کنترل فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک درگیر می‌شود. علاوه بر این، کلوتو، یک بتا گلوکوکورتیکوئیداز قادر به هیدرولیز کردن بتا گلوکوکورتیکوئیدهاست. همچنین ممکن است بیان ژن آنزیم مبدل

References

- 1- Kim, J.-H., et al., *Biological role of anti-aging protein Klotho. Journal of lifestyle medicine*, 2015. 5(1): p. 1.
- 2- Hu, M.C., M. Kuro-o, and O.W. Moe, *The emerging role of Klotho in clinical nephrology. Nephrology Dialysis Transplantation*, 2012. 27(7): p. 2650-2657.
- 3- Berezin, A.E. and A.A. Berezin, *Impaired function of fibroblast growth factor 23/Klotho protein axis in prediabetes and diabetes mellitus: Promising predictor of cardiovascular risk. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 2019.
- 4- Yamazaki, Y., et al., *Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement: Age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects. Biochemical and biophysical research communications*, 2010. 398(3): p. 513-518.
- 5- Kuro-o, M., *Klotho in chronic kidney disease—what's new? 2009, Oxford University Press.*
- 6- Hu, M.C., et al., *Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. Journal of the American Society of Nephrology*, 2011. 22(1): p. 124-136.
- 7- Bernheim, J. and S. Benchetrit, *The potential roles of FGF23 and Klotho in the prognosis of renal and cardiovascular diseases. Nephrology Dialysis Transplantation*, 2011. 26(8): p. 2433-2438.
- 8- Ding, H.-Y. and H.-X. Ma, *Significant roles of anti-aging protein klotho and fibroblast growth factor23 in cardiovascular disease. Journal of geriatric cardiology: JGC*, 2015. 12(4): p. 439.
- 9- Saito, Y., et al., *Klotho protein protects against endothelial dysfunction. Biochemical and biophysical research communications*, 1998. 248(2): p. 324-329.
- 10- Lim, K., et al., *Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. Circulation*, 2012. 125(18): p. 2243-2255.
- 11- Wang, H.-L., et al., *A potential regulatory single nucleotide polymorphism in the promoter of the Klotho gene may be associated with essential hypertension in the Chinese Han population. Clinica Chimica Acta*, 2010. 411(5-6): p. 386-390.

