

## БЕЛОК КЛОТО И АТЕРОСКЛЕРОЗ

О.В. Тимощенко, Ю.П. Никитин

*НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН  
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1*

В обзоре приводится анализ литературных данных о белке Клото. Открытие и углубленное изучение гена Клото и его белка расширили представление об естественном старении. Уровни сывороточного белка Клото уменьшаются с возрастом и при некоторых заболеваниях, связанных со старением, в частности, таких как остеопороз, артериальная гипертония, сахарный диабет, злокачественные новообразования, некоторые заболевания почек. Ряд экспериментальных публикаций дали основание предполагать, что белок Клото может оказывать влияние на функциональное состояние сосудистого эндотелия посредством подавления воспаления и окислительного стресса. По некоторым данным наблюдается снижение содержания в крови белка Клото при сердечно-сосудистых заболеваниях, однако такие данные малочисленны. Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении для изучения возможных связей содержания белка Клото в сыворотке крови с атерогенезом. Новые знания в понимании этих процессов могут использоваться для поиска более эффективного подхода в лечебно-диагностической тактике сердечно-сосудистых заболеваний.

**Ключевые слова:** белок Клото, атеросклероз, сердечно-сосудистые заболевания.

В 1997 г. профессор М. Куго-о открыл ген, замедляющий старение. Он был назван Клото в честь одной из богинь древнегреческой мифологии, прядущей нить жизни. Мыши, которые имели инсерционную мутацию в области промотора гена Клото, характеризовались процессами, напоминающими преждевременное старение: укорочение времени жизни, бесплодие, остеопороз, атрофию кожи, эмфизему легких, снижение слуха, дисфункцию сосудистого эндотелия, увеличение апоптоза, гиперфосфатемия [1–4]. Напротив, гиперэкспрессия гена Клото у мышей замедляла процессы старения и увеличивала продолжительность жизни на 20–30 % по сравнению с дикими мышами [5].

Год спустя Y. Matsumura et al. идентифицировали ген Клото у человека на 13q12 хромосоме. Преимущественное место его экспрессии – дистальные извитые каналы почек и эпителиальные клетки сосудистого сплетения в головном мозге. В более низких концентрациях этот ген определяется и в других тканях: пара-

щитовидной железе, плаценте, сердце, тонком кишечнике, простате [6–8]. Путем альтернативного сплайсинга РНК образуются два транскрипта, которые кодируют мембранную и секретируемую формы белка Клото. Экспрессия секретируемого белка Клото превалирует над трансмембранной формой во всех исследуемых органах и тканях [9].

Мембранная форма белка Клото состоит из внеклеточного, трансмембранного и внутриклеточного доменов. Под действием матричных металлопротеиназ семейства ADAM (A Disintegrin And Metalloproteinase) 10 и 17 внеклеточный домен отщепляется и выделяется во внеклеточное пространство. Это – растворимая форма белка Клото. Растворимая и секретируемая формы обнаруживаются в биологических жидкостях, таких как кровь, моча, ликвор, где они функционируют как эндокринный фактор и оказывают воздействие на ткани и клетки, которые не экспрессируют белок Клото [10].

Тимощенко Ольга Владимировна – аспирант лаборатории этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний, e-mail: lentis@yandex.ru

Никитин Юрий Петрович – д-р мед. наук, проф., академик РАН, руководитель сектора аналитико-методологических проблем терапевтических заболеваний, e-mail: yuri-nikitin@ngs.ru

Открытие и углубленное изучение гена Клото и его белка улучшили понимание процессов старения. Установлено, что уровни сывороточного белка Клото уменьшаются с возрастом [11, 12]. Y. Yamazaki et al. изучали содержание сывороточного белка Клото среди азиатских добровольцев в возрасте от 1 до 88 лет. У обследуемых не было известных заболеваний, все имели нормальный уровень кальция, фосфора, витамина D<sub>3</sub>, паратиреоидного гормона, кальцитонина, фактора роста фибробластов 23 (ФРФ-23) и нормальную почечную функцию. Концентрация белка Клото в сыворотке крови у взрослых в возрасте 20 лет и старше варьировала от 239 до 1266 пг/мл. Не было выявлено связи уровня белка Клото с полом и показателями минерального обмена. Однако отмечена достоверная обратная связь с возрастом и уровнем креатинина при простом регрессионном анализе. При сравнении уровня белка Клото между взрослыми и детьми оказалось, что его уровни значительно выше у детей, чем у взрослых. Многомерный линейный регрессионный анализ, включающий детей и взрослых, показал, что концентрация белка Клото отрицательно коррелирует с возрастом и уровнем кальция, положительно — с уровнем фосфора [11]. Выявлено, что уровень белка Клото уменьшается и при некоторых заболеваниях, связанных со старением, такими, как рак, артериальная гипертензия, сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца, заболевания почек [13]. При проведении исследований на животных и *in vitro* показано, что белок Клото замедляет старение, вероятно, посредством ингибирования внутриклеточного инсулин/инсулиноподобного фактора роста 1 сигнального пути [14]. Подавление окислительного стресса посредством ингибирования пути p53/p21 при увеличении белка Клото также является одним из механизмов, замедляющих старение и процессы онкогенеза [15].

В связи с тем, что главное место продукции белка Клото — почки, основная часть публикуемых научных данных посвящена исследованиям уровня белка Клото при снижении функции почек. Л.Ю. Милованова и соавт. обследовали уровень белка Клото в крови у 70 пациентов с хронической болезнью почек (ХБП). Выявлено, что уровни белка Клото уменьшаются уже с III стадии ХБП, прогрессируя по мере нарастания почечной недостаточности [17].

Белок Клото участвует в регуляции минерального обмена. Сывороточный уровень фосфора и кальция поддерживается в организме посредством сложного взаимодействия между всасыванием в кишечнике, депонированием в костной ткани и реабсорбцией в почках [18–20].

Нарушение минерального гомеостаза, включающее гиперкальциемию, гиперфосфатемию и гипервитаминоз D<sub>3</sub>, может влиять на фенотипизацию старения, что часто наблюдается при дефиците белка Клото. В моделях на животных показано, что увеличение белка Клото может замедлять старение у млекопитающих за счет поддержания минерального гомеостаза [21, 22].

В опыте на мышах с хронической болезнью почек умеренное и выраженное ограничение фосфата в диете уменьшало экскрецию фосфора в течение восьми недель. К 12 неделе выраженное ограничение фосфата приводило к серьезным дефектам минерализации костей и уменьшению продукции ФРФ-23 в костях [23].

Следует отметить, что однонуклеотидные полиморфизмы в гене Клото у человека связаны с некоторыми заболеваниями. H.L. Wang et al. получили связь полиморфизма G395A гена Клото с наличием артериальной гипертензии. Более сильная связь была отмечена среди женщин старше 60 лет [24]. D.E. Arking et al. продемонстрировали увеличение выживаемости и продолжительности жизни после 75 лет среди балтийцев, кавказцев и чехов, имеющих гетерозиготный вариант KL-VS гена Клото [25]. Функциональный вариант KL-VS гена Клото распространен в общей популяции на 15,7 % и связан с повышенным сердечно-сосудистым риском, повышенным систолическим артериальным давлением, уровнем холестерина и сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), в частности инсультом у кавказцев и афроамериканцев [26, 27].

Исследования связи белка Клото с сердечно-сосудистыми заболеваниями немногочисленны. В Испании в 2013 г. J. Donate-Correa et al. выявили экспрессию белка Клото методом полимеразной цепной реакции в сосудистой стенке грудной аорты, а также в тромботических массах при окклюзии коронарных сосудов у 44 пациентов с коронаросклерозом. Эти данные позволяют предполагать роль белка Клото в генезе ССЗ [28]. Y. Yao et al. продемонстрировали *in vitro*, что обработка эндотелиальных клеток окисленными липопротеидами низкой плотности вызывала снижение продукции оксида азота и окислительного стресса. Предварительная инкубация с рекомбинантным белком Клото предотвращала эти изменения [29]. J.F. Navarro-González et al. показали, что среди пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) концентрация белка Клото в крови снижена, особенно при более выраженном стенозе коронарных артерий. При многофакторном регрессионном анализе установлено, что низкая концентрация белка Клото в сыворотке крови и низкая экс-

прессия гена Клото в сосудистой стенке связаны с более высоким риском развития ИБС, независимо от других сердечно-сосудистых факторов риска, таких как возраст, сахарный диабет, гипертония, курение и дислипидемия [30]. В своей работе R.D. Semba et al. подтвердили, что у взрослых более высокие концентрации плазменного белка Клото независимо связаны с более низкой вероятностью наличия ССЗ [31]. Roberta S. Paula et al., обследовав 168 пожилых пациентов со средним возрастом 73 года, не нашли связи уровня белка Клото с факторами риска и сопутствующими заболеваниями. В корреляционном анализе выявлена связь между белком Клото и развитием сердечно-сосудистых событий, такими как инфаркт миокарда и инсульт. Увеличение уровня белка Клото у лиц после инфаркта миокарда могут отражать компенсационный механизм для предотвращения патологической гипертрофии миокарда [32].

Однако некоторые исследователи не выявили связи уровня белка Клото с атеросклеротическим поражением сосудов [33]. S. Seiler et al. не обнаружили существенной взаимосвязи между уровнем белка Клото и сердечно-сосудистыми исходами в группе с ХБП 2–4 степени [34].

Таким образом, белок Клото относят к классу гормональных белков. Он определяет состояние многих обменных процессов, связанных с естественным старением и атерогенезом.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Suga T., Kurabayashi M., Sando Y., Ohya Y. et al. Disruption of the Klotho gene causes pulmonary emphysema in mice. Defect in maintenance of pulmonary integrity during postnatal life // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2000. Vol. 22, N 1. P. 26–33.
- Kamemori M., Ohya Y., Kurabayashi M., Takahashi K. et al. Expression of Klotho protein in the inner ear // *Hear Res.* 2002. Vol. 171, N 1-2. P. 103–110.
- Takahashi Y., Kuro-O M., Ishikawa F. Aging mechanisms // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97, N 23. P. 12407–12408.
- Kuro-o M., Matsumura Y., Aizawa H., Kawaguchi H. et al. Mutation of the mouse Klotho gene leads to a syndrome resembling ageing // *Nature.* 1997. Vol. 390. P. 45–51.
- Masuda H., Chikuda H., Suga T., Kawaguchi H. et al. Regulation of multiple ageing-like phenotypes by inducible Klotho gene expression in klotho mutant mice // *Mech. Ageing. Dev.* 2005. Vol. 126. P. 1274–1283.
- Takeshita K., Fujimori T., Kurotaki Y., Honjo H. Sinusoidal node dysfunction and early unexpected death of mice with a defect of Klotho gene expression // *Circulation.* 2004. Vol. 109, N 14. P. 1776–1782.
- Yahata K., Mori K., Arai H., Koide S. et al. Molecular cloning and expression of a novel klotho-related protein // *J. Mol. Med. (Berl).* 2000. Vol. 78, N 7. P. 389–394.
- Li S.A., Watanabe M., Yamada H., Nagai A. et al. Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain, kidney, and reproductive organs of mice // *Cell. Struct. Funct.* 2004. Vol. 29, N 4. P. 91–99.
- Matsumura Y., Aizawa H., Shiraki-Iida T., Nagai R. et al. Identification of the human Klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted klotho protein // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998. Vol. 242, N 3. P. 626–630.
- Bloch L., Sineshchekova O., Reichenbach D., Reiss K. et al. Klotho is a substrate for alpha-, beta- and gamma-secretase // *FEBS Lett.* 2009. Vol. 583, N 19. P. 3221–3224.
- Yamazaki Y., Imura A., Urakawa I. et al. Establishment of sandwich ELISA for soluble  $\alpha$ -Klotho measurement: age-dependent change of soluble  $\alpha$ -Klotho levels in healthy subjects // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010. Vol. 398. P. 513–518.
- Pedersen L., Pedersen S.M., Brasen C.L., Rasmussen L.M. Soluble serum Klotho levels in healthy subjects. Comparison of two different immunoassays // *Clin. Biochem.* 2013. Vol. 46. P. 1079–1083.
- Marçais C., Maucort-Boulch D., Drai J., Dantony E. et al. ARNOGENE Project. Circulating Klotho Associates With Cardiovascular Morbidity and Mortality During Hemodialysis // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2017. Vol. 102, N 9. P. 3154–3161.
- Rubinek T., Wolf I., Modan-Moses D. The Longevity Hormone Klotho is a New Player in the Interaction of the Growth Hormone/Insulin-Like Growth Factor 1 Axis // *Pediatr. Endocrinol. Rev.* 2016. Vol. 14, N 1. P. 9–18.
- De Oliveira R.M. Klotho RNAi induces premature senescence of human cells via a p53/p21 dependent pathway // *FEBS Lett.* 2006. Vol. 580, N 24. P. 5753–5758.
- Милованова Л.Ю., Милованов Ю.С., Козловская Л.В., Мухин Н.А. Значение морфогенетических белков FGF-23 и Klotho как предикторов прогноза хронической болезни почек // *Терапевт. арх.* 2014. Т. 86, № 4. С. 36–44.
- Prié D., Beck L., Urena P., Friedlander G. Recent findings in phosphate homeostasis // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2005. Vol. 14, N 4. P. 318–324.
- Sabbagh Y., Giral H., Caldas Y., Levi M. et al. Intestinal phosphate transport // *Adv. Chronic. Kidney Dis.* 2011. Vol. 18, N 2. P. 85–90.
- Lu P., Boros S., Chang Q., Bindels R.J. et al. The beta-glucuronidase Klotho exclusively activates the epithelial  $Ca^{2+}$  channels TRPV5 and TRPV6 // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008. Vol. 23, N 11. P. 3397–3402.
- Ohnishi M., Nakatani T., Lanske B., Razzaque M.S. Reversal of mineral ion homeostasis and soft-tissue calcification of Klotho knockout mice by deletion of vitamin D 1 $\alpha$ -hydroxylase // *Kidney Int.* 2009. Vol. 75, N 11. P. 1166–1172.
- Razzaque M.S., Lanske B. Hypervitaminosis D and premature aging: lessons learned from Fgf23 and Klotho mutant mice // *Trends. Mol. Med.* 2006. Vol. 12, N 7. P. 298–305.

23. Zhang S., Gillihan R., He N., Fields T., et al. Dietary phosphate restriction suppresses phosphaturia but does not prevent FGF23 elevation in a mouse model of chronic kidney disease // *Kidney Int.* 2013. Vol. 84, N 4. P. 713–721.
24. Wang H.L., Xu Q., Wang Z. 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 // *Clin. Chim. Acta.* 2010. Vol. 411. P. 386–390.
25. Arking D.E., Krebsova A., Macek M., Sr, Macek M. et al. Association of human aging with a functional variant of Klotho // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. P. 856–861.
26. Arking D.E., Becker D.M., Yanek L.R. et al. Klotho allele status and the risk of early-onset occult coronary artery disease // *Am. J. Hum. Genet.* 2003. Vol. 72. P. 1154–1156.
27. Arking D.E., Atzmon G., Arking A. et al. Association between a functional variant of the Klotho gene and high-density lipoprotein cholesterol, blood pressure, stroke, and longevity // *Circ. Res.* 2005. Vol. 96. P. 412–8.
28. Donate-Correa J., Mora-Fernández C., Martínez-Sanz R., Muros-de-Fuentes M. et al. Expression of FGF23/Klotho system in human vascular tissue // *Int. J. Cardiol.* 2013. Vol. 165, N 1. P. 179–183.
29. Yao Y., Wang Y., Zhang Y., Liu C. Klotho ameliorates oxidized low density lipoprotein (ox-LDL)-induced oxidative stress via regulating LOX-1 and PI3K/Akt/eNOS pathways // *Lipids Health Dis.* 2017. Vol. 16, N 1. P. 77.
30. Navarro-González J.F., Donate-Correa J., Muros de Fuentes M., Pérez-Hernández H. et al. Reduced Klotho is associated with the presence and severity of coronary artery disease // *Heart.* 2014. Vol. 100, N 1. P. 34–40.
31. Semba R.D. et al. Plasma Klotho and cardiovascular disease in adults // *J. Am. Geriatr. Soc.* 2011. Vol. 59. P. 1596–1601.
32. Roberta S. Paula, Vinicius C. Souza, Wilcelly Machado-Silva, Bruno Ratier S. Almeida et al. Serum Klotho (but not haplotypes) associate with the post-myocardial infarction status of older adults // *Clinics (Sao Paulo).* 2016. Vol. 71, N 12. P. 725–732.
33. Kitagawa M. et al. A decreased level of serum soluble Klotho is an independent biomarker associated with arterial stiffness in patients with chronic kidney disease // *PloS One.* 2013. Vol. 8, N 2. E56695.
34. Seiler S. et al. Associations of FGF-23 and s Klotho with cardiovascular outcomes among patients with CKD stages 2-4 // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2014. Vol. 9. P. 1049–1058.

## KLOTHO PROTEIN AND ATHEROSCLEROSIS

O.V. Timoshchenko, Yu.P. Nikitin

*Institute of Internal and Preventive Medicine –  
Branch of Federal Research Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

The review provides an analysis of the literature data on the Klotho protein. The discovery and in-depth study of the Klotho gene and its protein broadened the notion of natural aging. The levels of Klotho protein in serum decrease with age and with certain diseases associated with aging, in particular, such as osteoporosis, arterial hypertension, diabetes mellitus, malignant neoplasms, and certain kidney diseases. A number of experimental publications have suggested that the Klotho protein may affect the functional state of the vascular endothelium by suppressing inflammation and oxidative stress. According to some data a decrease the Klotho protein in blood is observed in cardiovascular diseases, but such data are scarce. Further studies are needed in this direction to determine possible relationships of the Klotho protein content in the blood serum with atherogenesis. New knowledge in understanding these processes can be used to find a more effective approach in the treatment and diagnostic tactics of cardiovascular diseases.

**Keywords:** Klotho protein, atherosclerosis, cardiovascular diseases.

*Статья поступила 5 декабря 2017 г.,  
принята в печать 10 декабря 2017 г.*