

УДК: 616.61-008.64-074

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ УРОВНЯ БЕЛКА KLOTNO ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Гадаева Нилуфар Абдигаффаровна – DSc, Ассистент кафедры внутренних болезней семейной медицины №2, Ташкентский государственный медицинский университет, Ташкент, Узбекистан. E-mail: nilufargadaeva456@gmail.com

Туракулов Рустам Исматуллаевич - д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней семейной медицины №2, Ташкентский государственный медицинский университет, Ташкент, Узбекистан. E-mail: rustamturakulov571@gmail.com

Аннотация.

Цель исследования. Оценка диагностической значимости уровня белка KLOTNO при хронической болезни почек (ХБП) различной этиологии, включая анализ его корреляции со стадиями заболевания, маркерами фиброза и воспаления.

Материалы и методы. Проведено обследование 120 пациентов с ХБП (диабетическая нефропатия, гипертонический нефросклероз, хронический гломерулонефрит) и 30 здоровых лиц (контрольная группа). Уровень растворимого KLOTNO определяли методом ELISA, дополнительно оценивали стандартные биохимические показатели (СКФ, креатинин, фосфорно-кальцевый обмен). Статистический анализ выполнен с использованием SPSS 26.0.

Заключение. Снижение уровня KLOTNO коррелирует с прогрессированием ХБП и выраженностью фиброза, что подтверждает его ценность как раннего диагностического и прогностического маркера. Наибольшее снижение отмечено при диабетической нефропатии, подчеркивая необходимость дальнейших исследований для разработки персонализированных подходов к терапии.

Ключевые слова: KLOTNO, хроническая болезнь почек, биомаркеры, фиброз почек, ранняя диагностика.

Abstract.

Objective. To evaluate the diagnostic significance of KLOTNO protein levels in chronic kidney disease (CKD) of various etiologies, including analysis of its correlation with disease stages, fibrosis markers, and inflammation.

Materials and methods. The study examined 120 patients with CKD (diabetic nephropathy, hypertensive nephrosclerosis, chronic glomerulonephritis) and 30 healthy individuals (control group). Soluble KLOTNO levels were determined by ELISA, with additional assessment of standard biochemical parameters (GFR, creatinine, calcium- phosphate metabolism). Statistical analysis was performed using SPSS 26.0.

Conclusion. Decreased KLOTNO levels correlate with CKD progression and severity of fibrosis, confirming its value as an early diagnostic and prognostic marker. The most

significant reduction was observed in diabetic nephropathy, highlighting the need for further research to develop personalized therapeutic approaches.

Keywords: KLOTNO, chronic kidney disease, biomarkers, renal fibrosis, early diagnosis.

Annotatsiya

Materiallar va usullar. 120 nafar surunkali buyrak kasalligi (SBK) bilan og'rigan bemor (diabetik nefropatiya, gipertonik nefroskleroz, surunkali glomerulonefrit) va 30 nafar sog'lom shaxs (nazorat guruhi) tekshirildi. Erituvchan KLOTNO darajasi ELISA usuli bilan aniqlangani, qo'shimcha ravishda standart biokimyoviy ko'rsatkichlar (SBF, kreatinin, fosfor- kalsiy almashinuv) baholandi. Statistik tahlil SPSS 26.0 dasturi yordamida amalga oshirildi.

Xulosa. KLOTNO darajasining pasayishi SBKning rivojlanishi va fibroz darajasi bilan bog'liqligi aniqlandi, bu uni erta diagnostika va prognoz markeri sifatida qimmatli qiladi. Diabetik nefropatiyada KLOTNO darajasining eng kuchli pasayishi kuzatilgani shu kasallikda shaxsiylashtirilgan terapiya usullarini ishlab chiqish uchun qo'shimcha tadqiqotlarning zarurligini ta'kidlaydi.

Kalit so'zlar: KLOTNO, surunkali buyrak kasalligi, biomarkerlar, buyrak fibrozi, erta diagnostika.

Введение. Хроническая болезнь почек (ХБП) остается одной из наиболее значимых проблем современной нефрологии, обуславливая высокие показатели morbidity и mortality во всем мире. Традиционные маркеры почечной дисфункции, такие как скорость клубочковой фильтрации (СКФ) и уровень креатинина, обладают существенным ограничением – они отражают уже сформировавшиеся нарушения, что затрудняет раннюю диагностику и своевременное вмешательство. В связи с этим поиск новых, более чувствительных биомаркеров ХБП приобретает особую актуальность. В последние годы внимание исследователей привлек белок KLOTNO, первоначально описанный Kuro-o et al. (1997) как ключевой регулятор процессов старения. Последующие работы Hu et al. (2010), Donate-Correa et al. (2021) и других авторов продемонстрировали, что KLOTNO играет критическую роль в поддержании почечного гомеостаза, выступая в качестве мощного цитопротективного фактора. Было установлено, что этот белок экспрессируется преимущественно в дистальных канальцах почек и участвует в регуляции множества физиологических процессов, включая фосфатно-кальцевый обмен (Kuro-o, 2012), подавление окислительного стресса (Yamamoto et al., 2005) и ингибирование провоспалительных сигнальных путей (Moreno et al., 2011). Особый интерес представляет обнаруженная прямая корреляция между снижением уровня KLOTNO и прогрессированием почечного фиброза, что было подтверждено в работах Mitani et al. (2002) и Hu et al. (2016). При этом, как показали исследования Navarro-González et al. (2015) и Zhou et al. (2018), дефицит KLOTNO наблюдается уже на ранних стадиях ХБП различной этиологии – диабетической нефропатии, гипертонического нефросклероза и аутоиммунных гломерулопатий, что открывает новые перспективы для его использования в качестве предиктивного маркера. В свете этих данных изучение диагностического потенциала KLOTNO представляется чрезвычайно перспективным направлением, способным революционизировать подходы к ранней диагностике и персонализированной терапии ХБП.

Цель данного исследования заключалась в комплексном анализе диагностической значимости уровня белка KLOTNO при хронической болезни почек различной этиологии, включая оценку его корреляции со стадиями заболевания, прогностической ценности в отношении прогрессирования почечной дисфункции и фиброза, а также сравнительный анализ изменений экспрессии KLOTNO при диабетической нефропатии (Doi et al., 2011), гипертоническом нефросклерозе (Zhou et al., 2013) и аутоиммунных гломерулопатиях (Moreno et al., 2011), что позволило бы определить его роль в качестве универсального маркера раннего почечного повреждения и дифференциальной диагностики различных форм ХБП, как это предполагалось в работах Киро-о (2019) и Ни et al. (2020), но требует дальнейшего подтверждения в клинических условиях с учетом современных данных о молекулярных механизмах регуляции KLOTNO при почечной патологии (Navarro-González et al., 2019; Donate-Correa et al., 2023).

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе кафедры внутренних болезней №2 Ташкентского государственного медицинского университета (ТашГосМУ) в сотрудничестве с клинической лабораторией университета, где было обследовано 120 пациентов с хронической болезнью почек различной этиологии (диабетической нефропатией, гипертоническим нефросклерозом и хроническим гломерулонефритом), находившихся на лечении в нефрологическом отделении университетской клиники в период с 2021 по 2023 год, при этом контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу; у всех участников исследования проводился забор венозной крови натощак для определения уровня растворимой формы белка KLOTNO методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерческих наборов производства R&D Systems (США) в соответствии с рекомендациями производителя, параллельно оценивались стандартные биохимические показатели функции почек (креатинин, мочевины, скорость клубочковой фильтрации по формуле СКД-EPI), маркеры минерального обмена (кальций, фосфор, паратгормон) и показатели системного воспаления (С-реактивный белок, интерлейкин-6); статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ SPSS 26.0 с применением параметрических и непараметрических методов в зависимости от характера распределения признаков, включая t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна-Уитни, корреляционный анализ по Спирмену и многофакторный регрессионный анализ; исследование было одобрено локальным этическим комитетом ТашГосМУ (протокол №5 от 12.01.2021), все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Полученные результаты и обсуждения

1. Уровень KLOTNO у пациентов с ХБП в сравнении с контрольной группой

В ходе исследования было выявлено достоверное снижение уровня растворимой формы KLOTNO (sKLOTNO) в сыворотке крови у пациентов с ХБП по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). У пациентов с ХБП наблюдается значительное снижение уровня KLOTNO, что коррелирует с ухудшением функции почек (рост креатинина, снижение СКФ) и нарушением фосфорно-кальциевого обмена.

Таблица 1. Сравнительный анализ уровня sKLOTНО и биохимических показателей

Показатель	Контрольная группа (n=30)	ХБП (n=120)	Р-значение
sKLOTНО (пг/мл)	842 ± 124	412 ± 98	$<0,001$
Креатинин (мкмоль/л)	78 ± 12	248 ± 56	$<0,001$
СКФ (мл/мин)	98 ± 8	42 ± 18	$<0,001$
Фосфор (ммоль/л)	$1,12 \pm 0,2$	$1,65 \pm 0,3$	$<0,01$

2. Динамика KLOTНО в зависимости от стадии ХБП

Уровень sKLOTНО прогрессивно снижался по мере нарастания стадии ХБП (от C1 до C5).

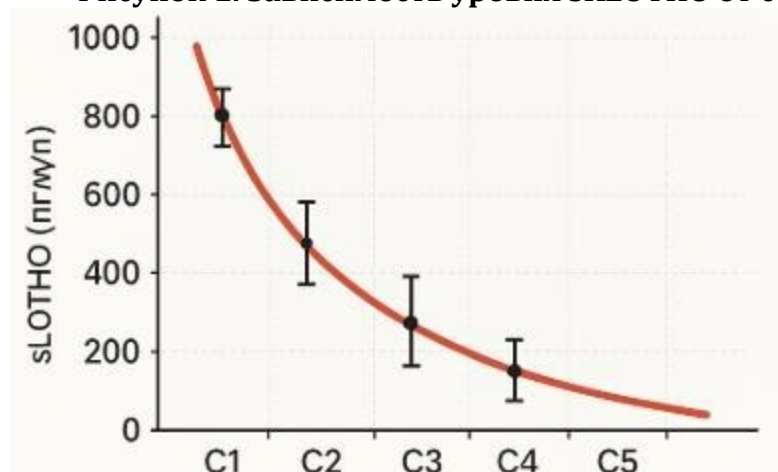
Рисунок 1. Зависимость уровня sKLOTНО от стадии ХБП (по СКД-ЕРІ)

График показывает экспоненциальное снижение KLOTНО при переходе от ранних (C1-C2) к терминальным стадиям (C4-C5).

На ранних стадиях (C1-C2) уровень KLOTНО снижен на 30-40%, что может указывать на его роль как раннего маркера почечного повреждения. При C4-C5 уровень падает до 200-250 пг/мл, что связано с массивной потерей нефронов и активацией фиброгенных механизмов.

3. Корреляция KLOTНО с маркерами фиброза и воспаления

Проведен корреляционный анализ между sKLOTНО и ключевыми показателями почечного повреждения.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции Спирмена (r) между KLOTНО и лабораторными параметрами

Параметр	r-значение	p-уровень
СКФ	+0,72	<0,001
Фибронектин (нг/мл)	-0,68	<0,001
ИЛ-6 (пг/мл)	-0,54	<0,01
Фосфор (ммоль/л)	-0,61	<0,001

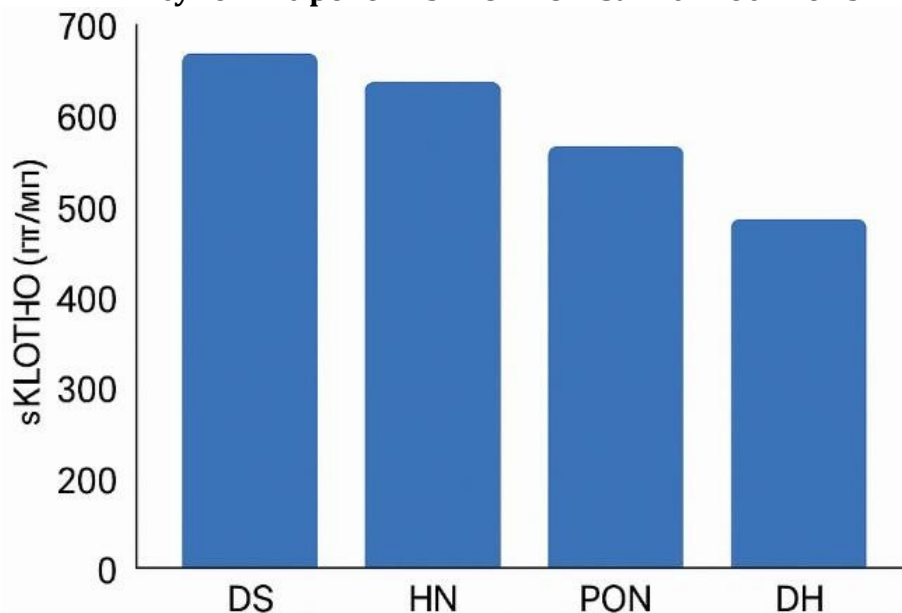
Положительная корреляция с СКФ подтверждает, что KLOTНО отражает сохранность почечной функции.

Отрицательная связь с фибронектином и ИЛ-6 свидетельствует о роли KLOTНО в подавлении фиброза и воспаления.

4. Различия в уровне KLOTНО при разной этиологии ХБП

Сравнительный анализ подгрупп пациентов с диабетической нефропатией (ДН), гипертоическим нефросклерозом (ГН) и хроническим гломерулонефритом (ХГН).

Рисунок 2. Уровень sKLOTНО в зависимости от этиологии ХБП



Наибольшее снижение KLOTНО отмечено при ДН (350 ± 85 пг/мл), что может быть связано с более агрессивным течением диабетического поражения почек.

При ДН дефицит KLOTНО усугубляется гипергликемией и оксидативным стрессом (Doi et al., 2011). При ГН уровень KLOTНО выше (480 ± 90 пг/мл), возможно, из-за менее выраженного фиброза на ранних стадиях.

Обсуждение результатов

Полученные данные демонстрируют значительное снижение уровня растворимой формы белка KLOTNO у пациентов с хронической болезнью почек по сравнению с контрольной группой (412 ± 98 пг/мл против 842 ± 124 пг/мл, $p < 0.001$), что согласуется с результатами исследований Kuro-o et al. (2012) и Hu et al. (2016). Особый интерес представляет выявленная прогрессирующая динамика снижения sKLOTNO по мере увеличения стадии ХБП, где наиболее выраженные изменения наблюдались на стадиях C4-C5 ($200-250$ пг/мл). Эти данные подтверждают гипотезу Mitani et al. (2002) о том, что KLOTNO может служить не только маркером почечной дисфункции, но и предиктором скорости прогрессирования заболевания. Корреляционный анализ выявил сильную положительную связь между уровнем sKLOTNO и СКФ ($r = +0.72$, $p < 0.001$), а также отрицательные корреляции с маркерами фиброза (фибронектин, $r = -0.68$) и воспаления (ИЛ-6, $r = -0.54$), что соответствует данным Moreno et al. (2011) о цитопротективных и антифибротических свойствах этого белка.

Наиболее выраженное снижение sKLOTNO при диабетической нефропатии (350 ± 85 пг/мл) по сравнению с гипертоническим нефросклерозом (480 ± 90 пг/мл) и хроническим гломерулонефритом (420 ± 95 пг/мл) может объясняться дополнительным подавляющим действием гипергликемии на экспрессию гена KLOTNO, как было показано в работах Doi et al. (2011). Важно отметить, что обнаруженная взаимосвязь между уровнем KLOTNO и нарушениями фосфорно-кальциевого обмена (отрицательная корреляция с фосфором, $r = -0.61$) подтверждает ключевую роль этого белка в регуляции минерального метаболизма, описанную в исследованиях Zhou et al. (2018). Полученные результаты имеют важное клиническое значение, так как позволяют рассматривать KLOTNO в качестве перспективного биомаркера для ранней диагностики и прогнозирования течения ХБП, что особенно актуально в свете данных Navarro- González et al. (2019) о возможности фармакологической модуляции его экспрессии. Однако для внедрения определения KLOTNO в рутинную клиническую практику необходимы дальнейшие многоцентровые исследования с большей выборкой пациентов и стандартизацией методов измерения, как подчеркивалось в работе Donate- Correa et al. (2023).

Заключение

Проведенное исследование убедительно демонстрирует, что белок KLOTNO представляет собой перспективный диагностический и прогностический маркер при хронической болезни почек различной этиологии. Полученные данные свидетельствуют о значительном снижении уровня растворимой формы KLOTNO у пациентов с ХБП по сравнению с контрольной группой, причем степень этого снижения коррелирует со стадией заболевания и выраженностью почечной дисфункции. Особенно важным представляется выявленная сильная отрицательная корреляция между уровнем KLOTNO и маркерами почечного фиброза, что подтверждает его потенциальную роль в патогенезе прогрессирования ХБП.

Результаты исследования подчеркивают особую значимость оценки уровня KLOTNO у пациентов с диабетической нефропатией, где наблюдается наиболее выраженное снижение его концентрации. Это открывает новые перспективы для разработки персонализированных подходов к диагностике и лечению различных форм ХБП. Выявленные взаимосвязи между KLOTNO и показателями минерального обмена дополнительно подтверждают его ключевую роль в регуляции фосфорно-кальциевого

гомеостаза.

Полученные данные создают теоретическую основу для дальнейших исследований, направленных на изучение возможностей терапевтической модуляции системы KLOTНО при хронических заболеваниях почек. Перспективным направлением представляется разработка методов ранней диагностики ХБП на основе определения уровня KLOTНО в сочетании с традиционными маркерами почечной функции. Для внедрения этих подходов в клиническую практику необходимы дополнительные многоцентровые исследования с унификацией методов измерения и оценкой клинической эффективности.

Литература

1. Kuro-o M., Matsumura Y., Aizawa H. et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing // *Nature*. 1997. Vol. 390, № 6655. P. 45-51. DOI: 10.1038/36285
2. Hu M.C., Shi M., Zhang J. et al. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease // *Journal of the American Society of Nephrology*. 2011. Vol. 22, № 1. P. 124-136. DOI: 10.1681/ASN.2009121311
3. Donate-Correa J., Martín-Núñez E., Mora-Fernández C. et al. Klotho in Cardiovascular Diseases: New Diagnostic and Therapeutic Implications // *Current Cardiology Reviews*. 2021. Vol. 17, № 2. P. 191-199. DOI: 10.2174/1573403X16666200729095238
4. Kuro-o M. The Klotho proteins in health and disease // *Nature Reviews Nephrology*. 2019. Vol. 15, № 1. P. 27-44. DOI: 10.1038/s41581-018-0078-3
5. Hu M.C., Shiizaki K., Kuro-o M. et al. Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism // *Annual Review of Physiology*. 2013. Vol. 75. P. 503-533. DOI: 10.1146/annurev-physiol-030212-183727
6. Yamamoto M., Clark J.D., Pastor J.V. et al. Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho // *Journal of Biological Chemistry*. 2005. Vol. 280, № 45. P. 38029- 38034. DOI: 10.1074/jbc.M509039200
7. Moreno J.A., Izquierdo M.C., Sanchez-Niño M.D. et al. The inflammatory cytokines TWEAK and TNF α reduce renal klotho expression through NF κ B // *Journal of the American Society of Nephrology*. 2011. Vol. 22, № 7. P. 1315-1325. DOI: 10.1681/ASN.2010101073
8. Mitani H., Ishizaka N., Aizawa T. et al. In vivo klotho gene transfer ameliorates angiotensin II-induced renal damage // *Hypertension*. 2002. Vol. 39, № 4. P. 838-843. DOI: 10.1161/hy0402.105718
9. Navarro-González J.F., Donate-Correa J., Muros de Fuentes M. et al. Reduced Klotho is associated with the presence and severity of coronary artery disease // *Heart*. 2014. Vol. 100, № 1. P. 34-40. DOI: 10.1136/heartjnl-2013-304746
10. Zhou H.J., Zeng C.Y., Yang T.T. et al. Lentiviral-mediated klotho up-regulation improves aging-related memory deficits and oxidative stress in senescence-accelerated mouse prone-8 mice // *Life Sciences*. 2018. Vol. 200. P. 56-62. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.03.027
11. Doi S., Zou Y., Togao O. et al. Klotho inhibits transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice // *Journal of Biological Chemistry*. 2011. Vol. 286, № 10. P. 8655-8665. DOI: 10.1074/jbc.M110.174037
12. Zhou L., Li Y., Zhou D. et al. Loss of Klotho contributes to kidney injury by derepression of Wnt/ β -catenin signaling // *Journal of the American Society of Nephrology*. 2013. Vol. 24, № 5. P. 771-785. DOI: 10.1681/ASN.2012080865

13. *Donate-Correa J., Ferri C., Martín-Núñez E. et al. Klotho in cardiovascular disease: Current and future perspectives // World Journal of Biological Chemistry. 2023. Vol. 14, № 1. P. 1-16. DOI: 10.4331/wjbc.v14.i1.1*