БИОХИМИЯ, 2021, том 86, вып. 2, с. 158 – 174

УДК 551.464.796+616.12

БЕЛОК КЛОТО И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТАЯ СИСТЕМА*

Обзор

© 2021 И.Н. Тюренков[1], В.Н. Перфилова[1], А.А. Нестерова[2], Е.Ю. Глинка[3]**

[1] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400066 Волгоград, Россия; электронная почта: vnperfilova@mail.ru; vnperfilova@gmail.com*

[2] *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пятигорский медико-фармацевтический институт» – филиал «Волгоградского государственного медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 357500 Пятигорск, Россия*

[3] *Keenan Research Centre, St. Michael's Hospital, Toronto, Canada*

Поступила в редакцию 11.04.2020
После доработки 20.08.2020
Принята к публикации 08.09.2020

Белок клото влияет на многие метаболические процессы, играющие важную роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Он способен подавлять процессы перекисного окисления липидов, воспаление, предупреждать повреждение эндотелия, кальцификацию сосудов, повышение их ригидности, угнетать фиброзирование сердца. Уровень его экспрессии при многих заболеваниях снижается. Молекулярные механизмы, посредством которых клото осуществляет кардиопротекторное действие, основаны на его взаимодействии с рядом рецепторов и ионных каналов. Плейотропность этого белка делает его потенциальной мишенью в терапии сердечно-сосудистых заболеваний. В настоящем обзоре также приведены данные о лекарственных препаратах, стимулирующих экспрессию белка клото, и рассмотрены перспективы дальнейших исследований.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: белок клото, сердечная недостаточность, ишемическая болезнь сердца, кардиомиопатии, артериальная гипертензия.

DOI: 10.31857/S0320972521020020

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются основной причиной ранней инвалидизации и преждевременной смертности населения. В основе ССЗ лежит множество патогенетических механизмов, и их список продолжает расти. Поэтому для улучшения результатов профилактики и лечения ССЗ, минимизации их отдаленных последствий ведется поиск терапевтически значимых мишеней, среди которых особое внимание привлекают те, что задействованы в различных патогенетических механизмах. С этой точки зрения заслуживает особого внимания многофункциональный белок клото, участвующий во многих метаболических процессах. В обзоре представлены данные, свидетельствующие о значимой роли белка клото в регуляции различных функций, сопряженных с физиологией и патологией сердечно-сосудистой системы, таких как предотвращение окислительного стресса и повреждения эндотелия, влияние на электрическую активность, ремоделирование сердца и сосудов, развитие ишемической болезни сердца, артериальной гипертонии, сердечной недостаточности и других.

СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ И ЛОКАЛИЗАЦИЯ БЕЛКА КЛОТО

Kl (известный как α-клото или просто клото) первоначально был идентифицирован Kuro-O et al. (1997) [1] как ген мыши, продукт которого

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; ИБС – ишемическая болезнь сердца; мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота; т.п.н. – тысяч пар нуклеотидов; ХБП – хроническая болезнь почек; Akt – протеинкиназа B; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; FGF – фактор роста фибробластов; FGFR – рецептор фактора роста фибробластов; HUVECs – эндотелиальные клетки пупочной вены человека; IGF – инсулиноподобный фактор роста; MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа; NF-κB – ядерный фактор каппа-би; NO – оксид азота; PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа; SOD – супероксиддисмутаза; TGF – трансформирующий фактор роста; TNF-α – фактор некроза опухолей.

* Первоначально английский вариант рукописи опубликован на сайте «Biochemistry» (Moscow) http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya, в рубрике «Papers in Press», BM20-098, 21.12.2020.

** Адресат для корреспонденции.

препятствует старению. У человека ген клото находится на хромосомном бэнде 13q13.1, состоит из 50 т.п.н. и включает пять экзонов. Он экспрессируется в разных органах и тканях: основное количество *KL* и его продукта обнаруживается в почках и, существенно меньшее – в простате, легких, печени, скелетных мышцах, аорте, островках поджелудочной железы и мозге. Его паралог *KLB* (β-клото) находится на 4-й хромосоме и имеет очень близкую структуру и размер. Основным источником *KLB* в организме человека является жировая ткань. Некоторое его количество синтезируется в легких и поджелудочной железе, однако соответствующая мРНК найдена во многих тканях, в том числе в скелетных мышцах, аорте, сердце. Оба гена благодаря альтернативному сплайсингу кодируют и мембранные, и секретируемые белки [2]. Третий член семейства клото кодируется геном *LCTL* – этот трансмембранный лактазоподобный белок (lactase-like protein) имеет альтернативные названия γ-клото или клото/лактазо-флоризингидролазоподобный белок (англ. абб. KLPH от klotho/lactase-phlorizin hydrolase-related protein). Ген *LCTL* находится на 15-й хромосоме и экспрессируется в большинстве органов примерно на одном уровне. Самое значительное его количество обнаружено в ткани яичек. При сравнении уровня экспрессии паралогов клото на первом месте оказался *KL*, а самый низкий уровень зафиксирован у *LCTL* [1, 2, 3, 4, 5]. Таким образом, в геноме млекопитающих закодировано 3 члена семейства клото, они представляют собой трансмембранные белки различной длины [6].

α- и β-клото состоят из двух внеклеточных субдоменов (KL1 и KL2), каждый длиной около 450 аминокислот, а также трансмембранного и внутриклеточного доменов с карбоксильным концом. γ-Клото, в отличие от своих паралогов, состоит из 567 аминокислот и содержит только один внеклеточный домен KL1. Внеклеточные домены высоко гомологичны β-глюкозидазам, гидролизующим связи в сахаридах, гликопротеинах и гликолипидах. Клото принадлежит к семейству гликозид-гидролаз 1, хотя необходимые для гидролазной активности остатки глутамата в его активном центре отсутствуют. Очень короткий внутриклеточный домен клото (21 аминокислота в α-клото и 24 в β-клото) исключает возможность осуществления самостоятельной передачи сигнала и не содержит PDZ-доменов или мотивов, связывающих известные адаптерные белки. В силу описанной структуры независимая рецепторная активность мембраносвязанного клото маловероятна. Насколько нам известно, поиск клото-связывающих белков с применением двугибридной системы не проводился. Однако внеклеточные домены клото взаимодействуют с другими рецепторными белками и образуют комплексы с лигандами, модифицируя функцию этих рецепторов. Влияние этого взаимодействия на физиологию клетки определяется типом рецептора и уровнем его экспрессии в данной ткани.

Экспериментально установлено, что α-клото связывается непосредственно с рецепторами фактора роста фибробластов FGFR1c и FGFR4, инсулиноподобного фактора роста IGF1, рецептором второго типа трансформирующего фактора роста TGF-β1, а также с Wnt. В случае с FGFR1c и FGFR4 клото выполняет функцию корецептора и вызывает переключение специфичности рецептора и многократное увеличение его сродства к эндокринному фактору роста фибробластов FGF23 в противовес каноническим FGF1–FGF20, связывание которых с рецепторами зависит от гепарина. Структурный анализ показывает, что α-клото взаимодействует одновременно с карбоксильным концом FGF23 и с доменом D3 FGFR1c, стабилизируя тройной комплекс и выполняя роль каркасного белка. Карбоксильный конец FGF23 содержит мотив RXXR, который отвечает за связывание FGF23 с димером FGFR1c–клото. Активность комплекса зависит от связи с гепарансульфатом, обязательным кофактором паракринной передачи сигналов FGF. Три остатка аспарагиновой кислоты и один остаток цистеина в молекуле α-клото координируют ион цинка. Связывание белка в комплексе меняет его конформацию и исключает возможность его ферментативной активности [7]. При взаимодействии с α-клото кардинально изменяются физиологические последствия стимуляции FGFR1. Сигнальный путь, активируемый связыванием канонических FGF в отсутствие α-клото, включает димеризацию и аутофосфорилирование рецептора, активацию его субстрата, ERK1/2 и Akt, а также Ras/MAPK [8]. Он участвует в органогенезе, дифференцировке клеток, способствует их пролиферации и миграции, кооперируется с TGF-β1, Notch и неканоническими сигнальными путями Wnt [9]. В отличие от описанного выше канонического пути тройной комплекс эндокринного FGF23 с FGFR1c и α-клото контролирует гомеостаз кальция и неорганического фосфата, регулирует метаболизм витамина Д. Сигнальный механизм, активированный образованием тройного комплекса, включает каскад Ras/MAPK, характерный для клеток, экспрессирующих α-клото. Связывание FGF23 с кардиомиоцитами, не синтезирующими α-клото, напротив, приводит к активации фосфолипазы PLCγ, кальциневрина и NFAT [10].

Кроме этого, описаны FGFR-независимые сигнальные пути α-клото. Взаимодействие растворимого клото с Wnt и рецептором TGF-β RII ингибирует соответствующие канонические сигнальные пути Wnt/β-катенина и TGF-β1/SMAD2, предотвращая развитие фиброза [11–13]. Связывание α-клото с рецептором инсулина/IGF1 предотвращает активацию его субстратов (insulin receptor substrate IRS1, IRS2) и пути PI3K/Akt [14, 15].

Помимо этого, многие эффекты α-клото обусловливаются глюкозидазной или сиалидазной активностью его внеклеточных субдоменов [16–18]. Структурные исследования показывают, что растворимый клото связывается с α2-3-сиалил-лактозной частью ганглиозидов липидных рафтов за счет смещения петли β6α6. Это происходит независимо от FGF23 и FGFR [18]. Удаление сиаловых кислот с гликопротеинового компонента ионных каналов влияет на присутствие и локализацию последних на мембране, интенсивность ионного транспорта [16–19]. Регуляция активности ионных каналов играет важную роль в функционировании сердечно-сосудистой системы.

Подобно своему паралогу, β-клото меняет физиологическую функцию FGFR: эндокринные FGF15/19 или FGF21 в комплексе с FGFR и β-клото регулируют уровень глюкозы, триглицеридов, холестерина. FGF19 и β-клото, связываясь с FGFR4, участвуют в гомеостазе желчных кислот. Так, у мышей, дефицитных по FGF15, β-клото или FGFR4, наблюдается повышенная экспрессия Cyp7α1 и увеличение синтеза желчных кислот в печени [20]. В кардиомиоцитах, экспрессирующих β-клото и FGFR1, связывание FGF21 с этим рецептором приводит к активации путей PI3K/Akt, AMPK, ERK1/2 и ROR-α и обеспечивает защиту от ишемии [21]. Структурные исследования показывают, что FGF21 связывается с обоими внеклеточными субдоменами β-клото, затем этот комплекс присоединяется к FGFR1c, и образовавшиеся тройные комплексы димеризуются [22]. Карбоксильные концы FGF21 и FGF19 связываются с одним и тем же участком β-клото [23].

Внеклеточный домен отщепляется мембранными металлопротеиназами ADAM10 и ADAM17, активность которых регулируется их фосфорилированием [18, 24, 25]. Участок между KL1 и KL2 содержит четыре аминокислоты (Lys-Lys-Arg-Lys), которые образуют потенциальный сайт для протеолиза [26]. Растворимая форма включает отщепленные при участии ADAM10 и ADAM17 три продукта – полный внеклеточный домен, содержащий KL1 и KL2, только KL1 или только KL2, функционирующие как гуморальные факторы с плейотропной активностью или действующие локально по аутокринно-паракринному механизму. Они осуществляют передачу сигналов факторов роста, регулируют ионный гомеостаз и подавляют окислительный стресс, то есть выполняют протекторную функцию [26]. Клетки, которые способны связывать растворимый клото, должны экспрессировать один или несколько из упомянутых выше рецепторов или иметь на своей поверхности сиаловые кислоты. Форма клеточного ответа зависит от типов рецепторов, преимущественно экспрессируемых данной клеткой. По-видимому, все ткани млекопитающих содержат эти рецепторы в том или ином наборе и, соответственно, могут реагировать на гормональные сигналы, переносимые растворимым α-клото.

Существует две противоположные точки зрения на функциональные различия между растворимой и мембраносвязанной формами α-клото. Так, считается, что корецепторную функцию по отношению к FGF23 выполняет только мембраносвязанная форма [27, 28]. В этом случае его действие ограничено клото-экспрессирующими клетками. Однако в других работах признается способность растворимого клото связываться с рецепторами FGF [29]. Недавнее структурное исследование показало, что в формировании тройного комплекса участвует растворимый клото [7] и, следовательно, его гормональное действие может проявляться в любых тканях, экспрессирующих рецепторы FGF. С нашей точки зрения, вопрос о различиях между растворимой и мембраносвязанной формами клото остается открытым, поскольку пока неясны причины указанных разногласий.

Субдомены KL1 и KL2 функционально различаются, несмотря на значительное структурное сходство. Так, растворимый клото, включающий в себя полный внеклеточный домен, т. е. и KL1, и KL2, способен ингибировать сигнальные пути IGF1 и bFGF и связывать FGF23. В отличие от него, фрагмент, содержащий только KL1, не влияет на FGF23 [30]. KL2 не взаимодействует с путями IGF1 и bFGF, но необходим для функционирования FGF23 [14]. Эти различия подтверждаются структурными исследованиями [22]. Отметим, что представленные данные относятся к растворимым формам клото, и, следовательно, сигнальные пути IGF1 подвержены его гормональному действию. Он также взаимодействует с Wnt, рецепторами TGF-β1, липидными рафтами и ионными каналами. Данные об индивидуальной роли KL1 и KL2 ограничены, а о возможности отщепления растворимой формы γ-клото можно судить только по аналогии с двумя другими формами.

Секретируемый α-клото образуется путем альтернативного сплайсинга. Этот белок имеет молекулярный вес 65 кДа, близкий к весу KL1 (70 кДа), и содержит дополнительный мотив из десяти аминокислот. Аналогично KL1 и KL2 он подавляет воспаление, препятствует клеточному старению и контролирует минеральный обмен [26, 31]. Однако некоторые авторы считают сомнительной независимую роль секретируемой формы и наличие ее в крови [32]. В недавней работе Xu и Sun [33] было показано, что короткий фрагмент α-клото, идентичный секретируемому, введенный в клетки HEK293 и IMCD (англ. абб. от inner medullary collecting duct) с помощью трансфекции, экспрессировался в них, связывался с S-формилглутатионгидролазой (FGH) и регулировал ее активность. Этот белковый комплекс находился в цитоплазме и окружал ядро. Отметим, что при всей значимости данного открытия физиологическая роль секретируемой формы α-клото остается под вопросом, поскольку естественный уровень экспрессии этой формы существенно ниже, чем в представленном исследовании. Показано, что растворимый α-клото внутри клетки связывается с шаперонами 60 и 70 или рибосомными белками. Учитывая, что они облегчают свертывание и посттрансляционную модификацию многих белков, мы уже сейчас можем говорить о его участии в регуляции трансформации и гомеостаза последних, хотя это требует дальнейшего изучения [33].

Очевидно, что для осуществления таких функций требуется присутствие α-клото в цитоплазме, возможно за счет его эндоцитоза, что также нуждается в дополнительных исследованиях. Аналогичные наблюдения растворимого α-клото нам неизвестны и сравнить свойства всех укороченных форм этого белка в одинаковых условиях мы пока не можем.

γ-Клото образует комплексы с FGFR1b, FGFR1c, FGFR2c, FGFR4 и может функционировать в качестве корецептора для FGF19 в культивируемых клетках [34]. Структурные исследования этих комплексов пока не проводились. Данные о роли γ-клото в сердечно-сосудистой системе также пока отсутствуют, но этот белок отвечает за ряд важных функций в других органах. Так, выявлено, что FGF15/19 вызывает потерю веса у мышей с ожирением, активируя термогенез в бурой жировой ткани [35]; регулирует уровень экспрессии эфрина-A3 и эфрина-A4b в развивающейся сетчатке, что определяет ее назально-темпоральную дифференцировку, необходимую для корректной передачи информации в высшие зрительные центры растущими аксонами ганглиозных клеток; контролирует рост сетчатки, а также дифференцировку и рост хрусталика у рыбок данио [36] и кур [37]. Способность FGF15/19 передавать сигналы через комплекс γ-клото – FGFR свидетельствует о его участии в регуляции этих процессов, а экспрессия FGFR тканями сердечно-сосудистой системы создает возможности для этого взаимодействия.

АНТИОКСИДАНТНОЕ И ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ КЛОТО

Окислительный стресс лежит в основе многих патологических состояний, при которых клеточная антиоксидантная защита работает неэффективно. Это справедливо в отношении заболеваний воспалительной природы, дисфункции эндотелия, гипертонии [38], атеросклероза [39]. Антиоксидантные свойства белка α-клото продемонстрированы в многочисленных исследованиях. Выявлено, что он повышает жизнеспособность эндотелиальных клеток пуповинной вены человека (англ. абб. HUVECs от human umbilical vein endothelial cells) в условиях окислительного повреждения, вызванного H_2O_2, способствует увеличению в них активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы (SOD), каталазы и гемоксигеназы-1 (HO-1)) и, соответственно, инактивации реактивных кислородных радикалов. Кроме того, α-клото снижает скорость апоптоза в эндотелиальных клетках, в результате чего повышается секреция оксида азота (NO) и улучшается вазодилатирующая и антитромботическая функции эндотелия. Антиоксидантная защита осуществляется за счет активации под влиянием α-клото пути PI3K/Akt (фосфатидилинозитол-3-киназа/протеинкиназа B) и увеличения экспрессии Nrf2 (транскрипционного фактора – ключевого регулятора систем клеточной защиты, запускающего в условиях окислительного стресса экспрессию генов, кодирующих белки антиоксидантной защиты) [28].

Вопрос о взаимоотношении α-клото и сигнального пути PI3K/Akt не до конца ясен. Так, связываясь с рецепторами к инсулину и IGF-1 (insulin-like growth factor 1), клото повышает устойчивость к окислительному стрессу через ингибирование сигнального каскада инсулин (или IGF-1)/PI3K/Akt. В результате этого предотвращается фосфорилирование фактора транскрипции FOXO1 (forkhead box protein O1), он становится активным и переносится в ядро, где напрямую связывается с промотором и усиливает экспрессию гена *SOD2,* кодирующего митохон-

дриальную Mn-зависимую супероксиддисмутазу [40]. Вероятно, клото способен активировать FOXO1 не только посредством ингибирования Akt, но и подавляя активность сыворотка- и глюкокортикоид-индуцируемой киназы (англ. абб. SGK от serum- and glucocorticoid-inducible kinase), а также стимулируя c-Jun *N*-терминальные киназы (JNKs). SGK, как и Akt, является компонентом пути инсулин/PI3K. Вызванное ею фосфорилирование FOXO1 и FOXO3 увеличивает их ассоциацию с регуляторными белками 14-3-3, приводит к перемещению FOXO из ядра в цитоплазму, результатом чего является его транскрипционная инактивация [41]. Таким образом, и в этом случае блокада рецепторов инсулина белком α-клото должна способствовать ограничению окислительного стресса. JNK, в свою очередь, напрямую взаимодействует с FOXO. Индукция JNK способствует ядерной локализации указанных факторов транскрипции, и ее ингибирование приводит к снижению экспрессии генов-мишеней FOXO1 [42, 43]. Показано также, что стимуляция сигналов PI3K/Akt может ингибировать индуцированную стрессом и цитокинами активацию JNK [44]. Таким образом, α-клото, взаимодействуя с рецептором инсулина, ингибирует PI3K/Akt и способствует активации JNK и FOXO1. JNK также может фосфорилировать белки 14-3-3, что вызывает высвобождение и активацию связанных с ними FOXO [45]. Кроме того, JNK фосфорилирует FOXO4 в положениях Thr447 и Thr451, вызывая их перемещение в ядро и экспрессию SOD [46]. Интересно, что компонент сигнального пути Wnt β-катенин способен образовывать комплексы с FOXO1 и усиливать его транскрипционную активность [47].

Об антиоксидантном действии α-клото свидетельствует работа Yao et al. (2017) [48], в которой было показано, что предварительная инкубация с рекомбинантным белком повышала жизнеспособность HUVECs, подвергнутых действию окисленных липопротеинов низкой плотности (англ. абб. Ox-LDL от oxidized low density lipoprotein) и окислительному стрессу. Под влиянием α-клото повышалась активность цитоплазматической Cu/Zn-зависимой супероксиддисмутазы (SOD1), экспрессия PI3K, Akt, эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и продукция NO. При этом снижались содержание малонового диальдегида (МДА), синтез активных форм кислорода (АФК), экспрессия индуцибельной NO-синтазы (iNOS), активность Gp91(phox) (гем-связывающей субъединицы NADPH-оксидазы, генерирующей супероксид-анион) и лектин-подобных рецепторов Ox-LDL. Результаты показывают, что α-клото ослабляет окислительный стресс, индуцированный Ox-LDL в HUVECs, активируя SOD1 и синтез NO, которые нейтрализуют реактивные кислородные радикалы. Это происходит за счет активации сигнального пути PI3K/Akt/eNOS и подавления экспрессии рецепторов Ox-LDL [48]. Обращает на себя внимание очевидное противоречие: в одном случае клото активирует, а в другом – ингибирует PI3K/Akt. В данном контексте можно указать на то, что α-клото подавляет активность сигнального пути IGF1/PI3K/Akt, в результате чего повышается экспрессия SOD2. С другой стороны, клото не ингибирует PI3K/Akt при стимуляции других рецепторов, например FGFR. При этом активируются альтернативные защитные механизмы с участием Cu/Zn-SOD, eNOS, гемоксигеназы. Таким образом, можно заключить, что клото гибко регулирует несколько альтернативных антиоксидантных механизмов.

Выше мы уже упоминали, что секретируемый α-клото, содержащий KL1 и дополнительный пептидный мотив, непосредственно связывается с S-формилглутатионгидролазой (FGH), ключевым ферментом синтеза антиоксиданта глутатиона (GSH), активирует сам фермент и экспрессию его гена, влияя на транскрипционный фактор Kid3 в культивируемых клетках HEK293 и IMCD, а также в почках мыши. Функциональное взаимодействие молекулы α-клото и FGH становится возможным благодаря процессу посттрансляционной модификации первого – N-гликозилированию аминокислотного остатка аспарагина Asn285. Ингибирование гликозилирования или замена аспарагина (Asn) на аланин (Ala) в 285-м положении приводила к потере антиоксидантной активности α-клото. Можно предположить, что N-гликозилирование в 285-м сайте является ключевым механизмом, определяющим активность белка, и N-гликановые фрагменты нужны для взаимодействия с FGH [33]. Как мы уже упоминали, α-клото был обнаружен вместе с FGH в цитоплазме, где функции его практически не исследованы. Эти вопросы ожидают своего изучения.

Дальнейшие исследования сигнальных путей с участием клото помогут лучше понять механизмы, с помощью которых белок повышает устойчивость к окислительному стрессу и, в конечном итоге, подавляет старение и патологические процессы, в которых АФК играют ведущую роль [40].

Установлено, что клото связан с поддержанием целостности эндотелия, увеличением выработки эндотелиального оксида азота и улучшением эндотелий-зависимой вазодилатации. В экспериментах на HUVECs обнаружено, что ин-

кубация их с уремическим токсином индоксилсульфатом (IS) вызывает высвобождение большого количества АФК, повышение экспрессии моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (англ. абб. MCP-1 от monocyte chemoattractant protein 1), снижение жизнеспособности клеток и подавление выработки оксида азота, что свидетельствует о развитии дисфункции эндотелия. При этом в клетках отмечено повышение активности p38 митоген-активируемой протеинкиназы (англ. абб. p38MAPK от p38 mitogen-activated protein kinase), обусловленное ее фосфорилированием, и ядерная транслокация провоспалительного фактора транскрипции NF-κB. Предварительная обработка белком α-клото способствует выживанию клеток и усилению синтеза NO, уменьшению накопления АФК и снижению экспрессии MCP-1, а также предотвращает активацию p38MAPK и NF-κB в HUVECs. Таким образом, α-клото предупреждает дисфункцию эндотелия, вероятно, частично за счет ингибирования накопления АФК и активности p38MAPK, а также нижестоящего участника сигнального каскада NF-κB [49, 50]. Антагонизм между α-клото и NF-κB проявляется на разных уровнях клеточных процессов, в частности, на уровне активации NF-κB и FOXO1 [51].

Циркулирующий α-клото способствует нормализации эндотелий-зависимой вазодилатации, предотвращению апоптоза и улучшению регенерации эндотелия. Он поддерживает целостность слоя эндотелиальных клеток и снижает проницаемость сосудов путем связывания с Ca^{2+} каналами TRPC1 (transient receptor potential channels) и рецепторами фактора роста эндотелия сосудов 2 (англ. абб. VEGFR-2 от receptors for vascular endothelial growth factor 2). Комплекс интернализуется в ответ на стимуляцию VEGF, регулируя таким образом приток Ca^{2+} в клетку [52, 53], в то время как α-клото ингибирует фосфорилирование рецептора VEGF [54] и предотвращает его эндоцитоз. У мышей с дефицитом клото эндотелий сосудов обладает повышенной проницаемостью из-за усиленного апоптоза, пониженной экспрессии кадгерина эндотелия сосудов и гиперактивности Ca^{2+}-зависимого кальпаина/каспазы-3 [52, 53], а также, по-видимому, высокой сигнальной активности VEGF.

Растворимый α-клото обладает противовоспалительным действием, подавляя активацию NF-κB и снижая экспрессию индуцированных фактором некроза опухолей TNF-α молекул адгезии ICAM-1 и VCAM-1 в эндотелии [53]. Транскрипция α-клото при воспалительных процессах подавляется цитокином интерлейкином IL-1β при одновременном снижении активности ERK1/2 [55]. Антагонистические взаимоотношения между α-клото и фактором транскрипции NF-κB, активирующим воспалительные реакции, детально рассмотрены в работе Нестеровой и соавт. [13]. По-видимому, системная терапия α-клото способна оказывать противовоспалительное действие [56], которое может проявляться во взаимодействии эндотелия и клеток иммунной системы. Эта тема представляет значительный научный и клинический интерес. Обобщая сказанное выше, можно утверждать, что в основе защитного действия α-клото на эндотелий лежат его антиоксидантные и противовоспалительные свойства, а также способность регулировать гомеостаз кальция.

БЕЛОК КЛОТО И ИШЕМИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ СЕРДЦА

Сегодня ученые продолжают работать над расшифровкой молекулярных основ патогенеза ССЗ, в частности ишемической болезни сердца (ИБС). Белок клото в этом смысле представляет несомненный интерес. Ряд авторов отметили зависимость между концентрацией его в плазме крови и риском развития ИБС [53, 57]. При обследовании 3555 пациентов со стабильной ИБС с фракцией выброса левого желудочка > 40%, включенных в исследование PEACE (трандолаприл против плацебо), выявлено, что низкая концентрация α-клото связана с повышенной частотой смерти от сердечно-сосудистых заболеваний или госпитализации по поводу сердечной недостаточности. После многопараметрической корректировки клинических переменных и биомаркеров (скорость клубочковой фильтрации, концентрация цистатина C, соотношение альбумина и креатинина в моче, концентрации FGF23, тропонина T, про-натрийуретического *N*-концевого пептида B-типа, C-реактивного белка) корреляция сохранялась. Комбинация низкой концентрации α-клото и высокой концентрации FGF23 повышала риск смерти или госпитализации при ИБС [58]. Это соотношение концентраций обоих белков, по-видимому, благоприятно для проявления клото-независимой активности FGF23. Представление о его самостоятельных эффектах неоднозначно. Показано, что FGF23 способствует развитию гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) в равной степени как у гомозиготных нокаутных $Kl^{-/-}$ мышей, так и у животных дикого типа [59]. Однако у гетерозиготных нокаутных мышей $Kl^{+/-}$ FGF23 повышается в меньшей степени, и ГЛЖ менее выражена, чем у гомозиготных. Хотя авторы объясняют это дозозависимым эффектом, мож-

но говорить и о защитном действии α-клото [59]. Кроме того, Xie et al. (2015), наоборот, считают, что дефицит последнего, а не повышенный уровень FGF23, вызывает гипертрофию сердца. У гетерозиготных мышей с хронической болезнью почек (ХБП) уровень сывороточного фосфата и FGF23 не влиял на развитие ГЛЖ, ситуация изменялась только при введении экзогенного α-клото [60]. У человека в настоящее время невозможно четко определить, что является причиной ГЛЖ – дефицит α-клото или повышение FGF23, в том числе и в связи с тем, что до сих пор нет надежных методов определения растворимого клото.

Выявлено также, что дефицит α-клото может приводить к нарушению неоваскуляризации, вызванной ишемией, сверхэкспрессии ингибитора активатора плазминогена-1, который стимулирует фиброзные процессы, ведет к дисфункции синоатриального узла и внезапной сердечной смерти [53].

Ишемия/реперфузия активирует генерацию митохондриальных АФК, окислительное повреждение и гибель кардиомиоцитов [61]. Развивающийся окислительный стресс вызывает дисфункцию эндотелия. В этой связи можно предположить, что антиоксидантные и эндотелиопротекторные эффекты α-клото играют ключевую роль в его противоишемическом действии. Есть основания полагать, что в этом случае системная терапия α-клото может дать положительный клинический эффект.

ВЛИЯНИЕ КЛОТО НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ СЕРДЦА

Клото обнаружен в пейсмекерных клетках синоатриального узла, и дефицит его у мышей сопровождается дисфункцией этого узла. Показано, что в условиях 20-ти часового стрессорного воздействия частота внезапной смерти высока и связана с блокадой или проводимости, или синусового узла. Точные молекулярные и клеточные механизмы, лежащие в основе этого феномена, остаются неизвестными. Можно предположить, что экспрессия α-клото в синоатриальном узле важна для функционирования определенных ионных каналов, влияющих на возбудимость клеток-водителей ритма [62]. К настоящему времени известно, что α-клото модулирует ионные каналы в плазматической мембране, в том числе Na^+/фосфат-котранспортеры [63, 64], Na^+/K^+-АТРазы [65], Ca^{2+}-каналы [66], специфические калиевые каналы сердца (кодируемые геном *hERG* – от англ. human ether-a-go-go related gene), способствующие электрической активности сердца, играющие существенную роль в координации сердцебиения [67], реполяризации сердца и участвующие в возбуждении миокарда ненормальным путем на фоне гипертрофии. Это указывает на возможную положительную роль α-клото в регуляции активности сердца и на перспективы терапевтического использования этого белка.

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ КЛОТО В РАЗВИТИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Одним из факторов риска развития артериальной гипертензии является повышение жесткости (ригидности) артерий, отражением которого служит показатель скорости пульсовой волны [68]. У пациентов с гипертонией и повышенной жесткостью сосудов наблюдается понижение уровня циркулирующего α-клото на 45% [69]. Недостаток α-клото, вероятно, является важным фактором, который способствует возникновению артериальной ригидности, что играет существенную роль в патогенезе гипертонии, т.к. экспериментальный гаплодефицит белка у мышей ($Kl^{+/-}$) вызывает значительное увеличение скорости пульсовой волны и повышение артериального давления (АД), а также сопровождается повышением уровня альдостерона. Артериальная жесткость является одним из самых ранних обнаруживаемых проявлений неблагоприятных структурных и функциональных изменений в стенке сосуда, что в значительной мере повышает риск ИБС и инсульта [69–71]. В культивируемых клетках гладких мышц аорты мышей дефицит гена *Kl* вызывал повышение активности аутофагии, что приводило к увеличению экспрессии склераксиса, ключевого транскрипционного фактора синтеза коллагена, играющего существенную роль в развитии артериальной жесткости, и снижению уровня эластина [72]. Помимо этого, гаплодефицит α-клото сопровождался активацией металлопротеиназы MMP9, профиброзных факторов TGF-β1 и TGF-β3, RUNX2 (фактора транскрипции, регулирующего клеточный цикл в эндотелиальных клетках и остеобластах). Эти эффекты нейтрализовались хлорокином или эплереноном, антагонистом рецептора альдостерона. Изменениям на клеточном уровне соответствуют физиологические эффекты *in vivo*: увеличение скорости пульсовой волны и повышение артериального давления. Важно отметить, что α-клото подавляет экспрессию CYP11B2, ключевого фермента синтеза альдостерона в надпочечниках, на уровне факторов транскрипции [73]. Таким образом, α-клото вовлечен в

различные аспекты поддержания нормальной функции артерий и предотвращение развития артериальной гипертонии: регуляцию уровня альдостерона и жесткости сосудистой стенки. Выявление связи между дефицитом белка и повышенной жесткостью сосудов является важным открытием, поскольку оно определяет новое направление для понимания патогенеза гипертонии. Доступные в настоящее время антигипертензивные препараты в основном снижают периферическое сопротивление и не влияют на патологические процессы ремоделирования и жесткость сосудов. В этой связи α-клото может быть важным этиологическим фактором и потенциальной мишенью для ограничения ремоделирования и ригидности артерий.

РОЛЬ КЛОТО В ПАТОГЕНЕЗЕ КАРДИОМИОПАТИЙ

α-Клото продуцируется преимущественно в почках и секретируется в кровоток. Выявлено, что дефицит его при хронической болезни почек вызывает уремическую кардиомиопатию. В экспериментах на крысах с ХБП длительное введение рекомбинантного клото ослабляло ремоделирование сердца. Полученные данные позволяют считать рекомбинантный белок α-клото безопасным, эффективным и многообещающим профилактическим/терапевтическим агентом для предотвращения или замедления прогрессирования уремической кардиомиопатии [74].

Поскольку в соответствии с преобладающим мнением в патогенезе уремической кардиомиопатии существенную роль играет чрезмерное повышение уровня FGF23 и/или фосфатов в сыворотке, механизм протекторного действия α-клото предположительно может реализовываться через его взаимодействие с FGFR и FGF23. Однако недавно было выявлено, что растворимая форма белка клото ограничивает развитие гипертрофии миокарда независимым от FGF23 и фосфатов путем – он подавляет аномальную активность кальций-зависимых сигнальных механизмов в сердце [60, 75]. Показано, что различные внеклеточные стрессорные стимулы вызывают увеличение концентрации внутриклеточного кальция, способствуя его высвобождению из клеточных органелл или проникновению через плазматическую мембрану по Ca^{2+}-проницаемым катионным TRPC-каналам. Семейство TRPC включает 7 членов (TRPC1–7, TRPC2 не экспрессируется у человека). Имеющиеся данные указывают на то, что приток Ca^{2+} по каналам TRPC1, 3, 4, 5 и 6 в клетках сердца важен для передачи сигналов, включая активацию кальмодулин-зависимой серин/треонин фосфатазы (фермента кальциневрина). Эта фосфатаза дефосфорилирует и стимулирует ядерный фактор активированных Т-клеток (англ. абб. NFAT от nuclear factor of activated T cells) и NFAT-зависимую экспрессию определенных генов (например, тяжелой цепи бета-миозина), что, в свою очередь, способствует развитию патологической гипертрофии и ремоделированию сердца [76, 77]. Считается, что растворимый α-клото, циркулирующий в системном кровотоке, взаимодействует с рецептором IGF1 и предотвращает IGF1-зависимую активацию PI3K и последующий PI3K-зависимый экзоцитоз каналов TRPC6 в клетках сердца, что обусловливает его кардиопротекторный эффект [75]. При этом структурное моделирование и молекулярный докинг позволили выявить, что растворимый α-клото также может ингибировать каналы TRPC6 путем связывания с 2-3-сиалиллактозой ганглиозидов липидных рафтов. Показано, что белок взаимодействует с гликолипидами благодаря репозиционной петле β6α6 в домене KL1 и образует стабильный комплекс. Связывание растворимого клото с липидными рафтами модулирует их организацию в мембране, подавляет передачу сигналов по пути PI3K/Akt, а также процесс экзоцитоза TRPC6. Авторы исследования считают, что липидные рафты могут быть рецепторами для растворимого α-клото [16, 18, 19], а белок таким путем обеспечивает защиту от вызванной стрессом гипертрофии сердца у мышей [18].

Было также обнаружено, что при ХБП растворимый α-клото ограничивает кальцификацию сосудов, воздействуя непосредственно на их гладкомышечные клетки и косвенно регулируя метаболизм фосфатов. *In vitro* белок подавляет Na^{+}-зависимое всасывание фосфатов и минерализацию, вызванную их высоким содержанием в клетках гладких мышц сосудов [78]. При этом существуют противоречивые результаты относительно присутствия α-клото в сосудистой сети [79]. Lindberg et al. (2013) не наблюдали влияния белка на кальцификацию аортального кольца мыши [80]. Lim et al. (2012) показали, что FGF23 снижает кальцификацию клеток гладких мышц аорты человека – и этот эффект зависит от индукции α-клото [81]. Jimbo et al. (2014) обнаружили, что FGF23 усиливал Pi-стимулированную кальцификацию (Pi – неорганический фосфат сыворотки крови) в культивируемых клетках гладких мышц сосудов человека, сверхэкспрессирующих α-клото [82]. У мышей с дефицитом белка наблюдались высокие уровни циркулирующего фосфора и кальцитриола, и развивалась медиальная кальцификация арте-

рий, практически идентичная наблюдаемой у нокаутированных по *Fgf23* мышей [83]. Однако в подавляющем большинстве работ на сегодняшний день преобладает мнение, что α-клото защищает сосуды от кальцификации. Hu et al. (2011) сообщили, что его дефицит у мышей с ХБП вызывает Pi-индуцированную кальцификацию, а растворимый α-клото может подавлять натрий-зависимое всасывание Pi и кальцификацию у крыс [78]. В работе Zhang et al. (2015) показано, что растворимая форма белка подавляла Pi-индуцированную кальцификацию мезенхимальных стволовых клеток, полученных из костного мозга человека, путем инактивации сигнального пути FGFR1/ERK [29]. Zhao et al. (2015) и Chang et al. (2016) сообщили, что α-клото ослабляет кальцификацию сосудов, причем защитная роль принадлежит как мембраносвязанной, так и растворимой формам белка. Учитывая разноречия, необходимы дальнейшие исследования в этой области [84, 85].

Следует заметить, что результаты исследований роли клото в развитии гипертрофии сердца также разнятся. В некоторых исследованиях патология у мышей при дефиците α-клото не была обнаружена [86]. Она развивалась только после стрессорных воздействий, что позволяет думать об участии белка в формировании толерантности сердца к стрессу [60].

Тем не менее Hu et al. (2015) обнаружили гипертрофию миокарда с последующим фиброзом у клото-дефицитных мышей в возрасте до 12 недель [87]. Снижение уровня α-клото было вызвано генетическим дефектом, потреблением большого количества фосфатов, старением и ХБП. Независимо от причины его дефицита степень гипертрофии и фиброза сердца положительно коррелировала с концентрацией фосфатов и была обратно пропорциональна уровню α-клото в плазме. *In vitro* белок ингибировал TGF-β1- и ангиотензин II-индуцированную гипертрофию и фиброз кардиомиоцитов или фиброз, вызванный высоким содержанием фосфатов [87].

Причины противоречий в исследованиях необходимо выяснять. Возможно, это связано с генетическими различиями между линиями мышей, их стрессоустойчивости или иными различиями.

УЧАСТИЕ КЛОТО В ПРОЦЕССАХ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ СЕРДЦА И СОСУДОВ, РАЗВИТИИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

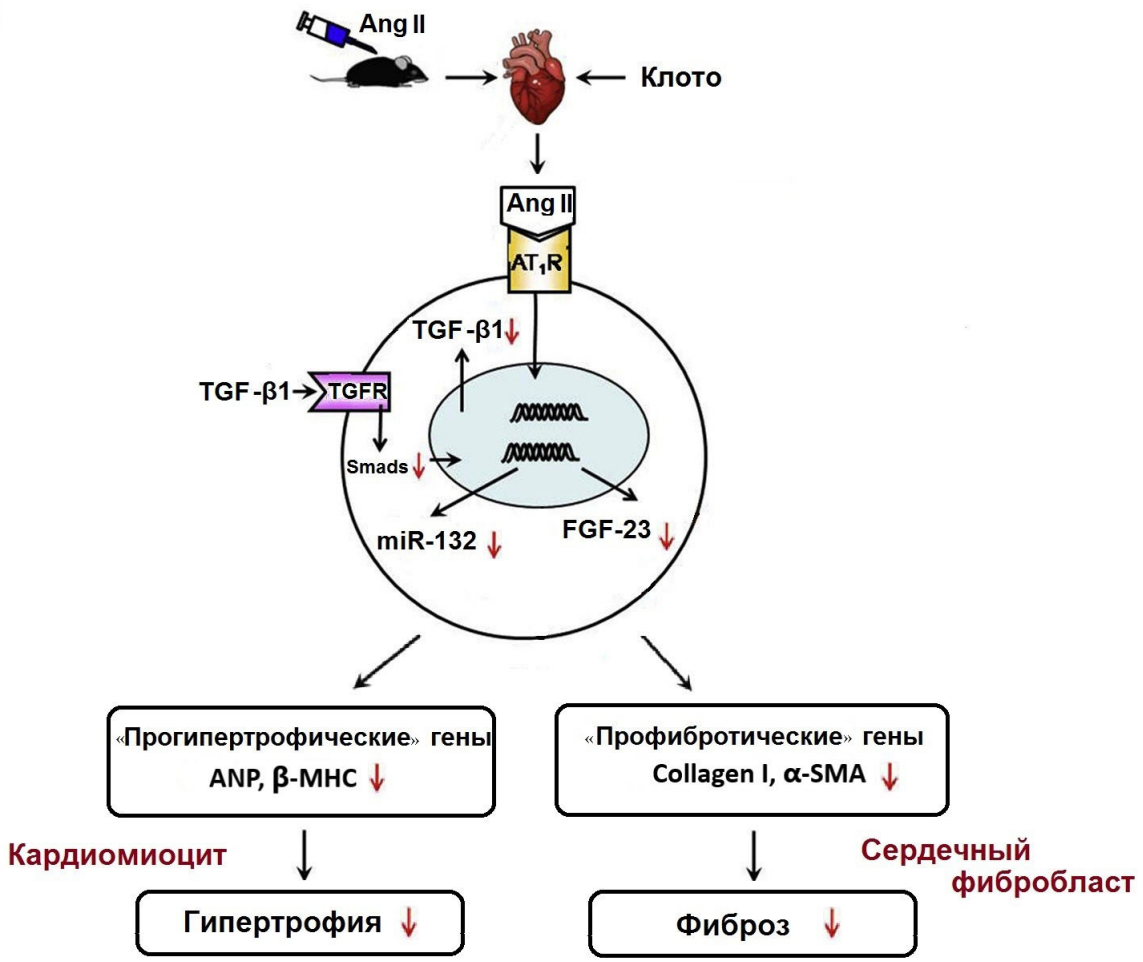
В эксперименте на крысах с сердечной недостаточностью, вызванной интраперитонеальным введением изопротеренола, показано, что трансфекция гена *Kl* способствует повышению фракции выброса, скоростей сокращения и расслабления (± dP/dt max), а также существенному уменьшению фиброза и ремоделирования миокарда у трансфицированных животных опытной группы по сравнению с контрольной [88]. Возможно, кардиопротекторные эффекты α-клото обусловлены его участием в регуляции внутриклеточного уровня Ca^{2+}, повышение которого является одной из причин указанных выше изменений в миокарде. В работе Tang et al. (2018) показано, что α-клото влияет на активность Na^+/Ca^{2+}-обменника и Na^+/K^+-АТРазы в клетках H9C2, обработанных изопротеренолом [89].

Эксперименты *in vitro* позволили обнаружить, что α-клото способен ингибировать ангиотензин II-индуцированную гипертрофию и пролиферацию кардиомиоцитов, а также фиброз в соединительнотканных клетках сердца. Названные эффекты ангиотензина II реализуются через активацию TGF-β1-сигнального пути. TGF-β1 секретируется моноцитами и макрофагами при их активации, а также фибробластами, эндотелиоцитами, тучными клетками и др. Существует 5 изоформ TGF, из них TGF-β1 обладает наиболее выраженной экспрессией и существенной ролью в ремоделировании и фиброзировании сосудов и миокарда. На ранней стадии инфаркта миокарда он участвует в воспалительной реакции, в более поздние сроки – в ремоделировании левого желудочка путем активации фибробластов и гипертрофии не пораженного инфарктом участка миокарда [90]. Показана связь уровня TGF-β1 в сыворотке крови со степенью выраженности фиброза миокарда левого предсердия у пациентов с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий [91]. Рецидив ишемии миокарда в послеоперационном периоде ассоциирован с повышением уровня TGF-β1 [92]. При взаимодействии TGF-β1 с рецептором трансформирующего фактора роста βII (TGFR-βII) фосфорилируется ряд SMAD-белков (smad and mad related proteins), классический сигнальный каскад включает гетеромеризацию SMAD2/3 с участием SMAD4 и перемещение внутрь ядра, где они играют роль факторов транскрипции генов профибротических белков (*COL1A1* – коллаген I и *ACTA2* – гладкомышечный α-актин (α-SMA)) и генов прогипертрофических белков (*NPPA/ANP* – предсердный натрийуретический пептид и *MYH7* – β-форма тяжелой цепи миозина (MHC-β)).

Растворимый клото может напрямую связываться с TGFR-βII и блокировать взаимодей-

ствие с ним TGF-β1, тем самым ингибируя передачу сигналов, а также ослаблять экспрессию рецептора ангиотензина II типа 1 (англ. абб. AT1R от angiotensin II receptor type 1) [11]. Клото способен подавлять как экспрессию TGF-β1, так и TGF-β1-зависимое фосфорилирование SMAD2 и SMAD3 (канонический сигнальный путь TGF-β1) в ангиотензин II-инфузированных тканях сердца, а также ангиотензин II-стимулированных культивируемых кардиомиоцитах и фибробластах.

Кроме того, клото ингибирует экспрессию FGF23 при ангиотензин II-индуцированной гипертрофии сердца и фиброзе *in vivo* и *in vitro*. FGF23 является гормоном костного происхождения. Он играет важную роль в регуляции метаболизма фосфора в сыворотке крови, снижает его реабсорбцию в проксимальных почечных канальцах, увеличивая клиренс. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что высокий уровень FGF23 является клинически значимым фактором риска развития тяжелых осложнений, в том числе при сердечно-сосудистых заболеваниях, и смертности. Показана связь высокой концентрации FGF23 с массой и гипертрофией левого желудочка, а также летальностью среди больных с терминальной стадией почечной недостаточности и ишемической болезнью сердца [93]. Участие клото в подавлении этих патологических процессов может быть представлено следующим образом. Опосредованно, через снижение количества TGF-β1, α-клото ингибирует микроРНК miR-132 (рисунок адаптирован из работы Ding et al. [94]), которая подавляет фактор транскрипции FOXO3, необходимый для экспрессии атрогина-1. Этот F-box белок вызывает убиквитинирование и, следовательно, деградацию



Роль клото в развитии ангиотензин II-индуцированных гипертрофии и фиброза сердца мыши. Было обнаружено, что обработка экзогенным клото положительно влияла на ангиотензин II-индуцированное ремоделирование сердца и его дисфункцию, что частично можно объяснить его ингибирующим действием на TGF-β1/miR-132 путь. Направленными вниз стрелками обозначена отрицательная регуляция или ингибирование под действием клото. (С цветным вариантом рисунка можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте https://sciencejournals.ru/journal/biokhsm/)

кальциневрина А в кардиомиоцитах. Избыток кальциневрина А стимулирует NFAT и, как следствие, увеличение экспрессии генов профибротических и прогипертрофических факторов. Ингибируя miR-132, клото ограничивает развитие фиброза и гипертрофии миокарда [95].

Существенную роль в процессе ремоделирования сердца и сосудов играет также сигнальный путь Wnt. Показано, что эндотелиальные клетки эндокарда могут быть предшественниками перицитов и миоцитов, которые способны мигрировать в миокард, дифференцироваться и формировать стенку вновь образуемых сосудов миокарда. Ключевую роль в этом процессе играют Wnt/Frizzled-4, β-катенин и лиганды Wnt, синтезируемые эндотелиальными клетками [96]. Белок α-клото ингибирует этот сигнальный путь, что теоретически может снижать скорость ремоделирования. С другой стороны, профиброзная активность Wnt нейтрализуется α-клото – и суммарный результат применения белка, по-видимому, должен быть положительным, хотя это нуждается в экспериментальной проверке.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ, СВЯЗАННАЯ С ПОЛИМОРФИЗМОМ KL

Сердечно-сосудистые заболевания имеют многофакторную этиологию, и генетическая предрасположенность к ним не является исключением. Перекрестные исследования показали связь между аллелем *KL-VS* гена клото и ранней ишемической болезнью сердца. Методом логистической регрессии выявлено, что *KL-VS* является независимым фактором риска коронарных заболеваний сердца, при этом модифицируемые факторы влияют на этот риск: гипертония маскирует, повышение уровня липопротеинов высокой плотности снижает, курение увеличивает [97]. Выявлена связь варианта *KL-VS* с ишемическим инсультом, причем у гомозигот по этому варианту в возрасте до 40 лет отмечен более высокий риск развития болезни по сравнению с гетерозиготами, тогда как в старшей группе (в возрасте более 40 лет) значимой ассоциации не наблюдалось [98].

Обнаружены и другие типы полиморфизма клото, которые также ассоциированы с различными отклонениями от физиологической нормы. Продемонстрировано, что однонуклеотидный полиморфизм *KL* rs650439 в значительной степени связан со средней толщиной интима-медиа и атеросклерозом сонной артерии у пациентов с гипертонической болезнью [99].

Выявлено, что полиморфизм G395A в промоторном участке гена *KL* человека может быть генетическим фактором риска развития ИБС и никак не связан с вазоспастической стенокардией [100].

Полиморфизм C1818T в 4-м экзоне *KL* ассоциирован с более высоким систолическим АД, чем референсный вариант C1818C. Возможно, это связано с влиянием C1818T на продукцию оксида азота (NO), снижение концентрации которого обнаружено у лиц старше 40 лет, носителей названного полиморфизма. Снижение биодоступности NO способствует эндотелиальной дисфункции, вазоконстрикции, тромбозу и сердечно-сосудистым заболеваниям [101, 102]. Можно предполагать, что заместительная терапия белком клото будет оказывать благоприятное воздействие при указанных патологиях.

МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ КЛОТО – НОВЫЙ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ЛЕЧЕНИЮ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В настоящее время не существует лекарственных средств, разработанных специально для модуляции активности клото, но показано, что некоторые из уже известных усиливают его экспрессию или ограничивают снижение синтеза при патологических состояниях. Выявлено, что у крыс в условиях изопротереноловой интоксикации снижается частота сердечных сокращений (ЧСС), экспрессия клото и каналов HCN4 (hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels – управляемых циклическими нуклеотидами гиперполяризационно-активируемых каналов). Эти интегральные белки являются неселективными лиганд-зависимыми катионными каналами в мембранах клеток сердца и головного мозга. HCN-каналы называют еще «каналами-водителями ритма», поскольку они участвуют в генерации ритмической активности клетками сердца и головного мозга [103]. Показано, что флавоноид астрагалозид IV повышает экспрессию α-клото, который, в свою очередь, увеличивает экспрессию HCN4 и I_f-каналов (funny current channels). ЧСС при этом нормализуется, что может служить основанием для поиска веществ, влияющих на экспрессию клото, с целью применения их при нарушениях ритма сердца [103].

Возможно, в механизме ангиопротекторного действия статинов (аторвастатин и питавастатин) α-клото играет существенную роль, реали-

зуя защитные эффекты через инактивацию RhoA-пути (от англ. Ras homolog family member A) [104]. На культуре клеток IMCD3 продемонстрировано, что статины дозозависимо повышают экспрессию мРНК α-клото посредством ингибирования RhoA. Клото, в свою очередь, регулирует обмен кальция и защищает сосуды от кальцификации, которая способствует повышению их ригидности [104].

Установлено, что ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента и блокаторы рецепторов ангиотензина II увеличивают экспрессию α-клото, очевидно, вследствие снижения активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, которая угнетает выработку этого белка [105].

Модулирующее действие гипогликемических средств, росиглитазона и тиазолидиндиона, на экспрессию α-клото в гладкомышечных клетках сосудов (англ. абб. VSMCs от vascular smooth muscle cells) связано с тем, что они являются агонистами PPARγ, фактора его транскрипции. Эти препараты препятствуют кальцификации тканей, по-видимому, за счет повышения уровня α-клото [106].

Сосудистая кальцификация усугубляет ишемические процессы в миокарде, является основным фактором риска сердечно-сосудистой смертности у пациентов. Поскольку α-клото играет критическую роль в ограничении кальцификации сосудов иммунодепрессантом рапамицином *in vitro* и *in vivo* через торможение mTOR [84], он может служить потенциальной мишенью для поиска лекарственных препаратов, предупреждающих патологические изменения сосудов. Наиболее известный индуктор экспрессии α-клото – витамин Д, избыточное потребление которого также сопряжено с кальцификацией сосудов и внутренних органов. Многие положительные эффекты этого витамина, вероятно, связаны с экспрессией α-клото, который, в свою очередь, регулирует уровень витамина Д и препятствует развитию его побочных эффектов [107].

Таким образом, представленные в обзоре данные позволяют считать, что вещества, повышающие экспрессию клото, могут иметь высокий терапевтический потенциал, т.к. этот белок влияет на многие процессы, играющие важную роль в развитии ССЗ: подавляет перекисное окисление липидов и развитие воспаления, предупреждает повреждение эндотелия, формирование атеросклероза, кальцификацию сосудов, угнетает фиброзирование сердца и сосудов и повышение их жесткости. Рассматривая возможность терапевтического применения клото, следует учесть и предполагаемые побочные эффекты. Их можно прогнозировать на основании описанных выше сигнальных механизмов, регулируемых им. Так, потенциальная передозировка может предположительно способствовать гипотонии, гипофосфатемии, гипокальциемии, т.к. тандем клото–FGF23 способствует экскреции фосфата и кальция. И несмотря на то что в экспериментах на животных системная администрация белка не приводила ни к одному из таких эффектов, недостаточная экспрессия клото и повышенная экспрессия FGF23 действительно сопровождается гипофосфатемией и гипокальциемией. Как уже отмечено выше, гипотензивное действие клото обусловливается повышением эластичности сосудов и антагонизмом между ним и ренин-ангиотензин-альдостероновой системой. Помимо этого, взаимодействие клото с субстратами рецептора инсулина вызывает опасение в контексте возможной индукции инсулинорезистентности, что было исследовано на экспериментальной модели [108]. Установлено, что белок не принимает непосредственного участия в формировании толерантности к инсулину. В силу видовых различий доклинические эксперименты не могут дать исчерпывающего ответа на вопрос о возможных побочных эффектах у человека. Тем не менее индукторы клото, прошедшие клиническую проверку, могут дать предварительную оценку. Так, статины и витамин Д используются в клинической практике, и их длительный прием не сопровождается указанными побочными эффектами, что косвенно свидетельствует в пользу безопасности повышения экспрессии клото или его системного введения. К сожалению, росиглитазон обладает рядом нежелательных эффектов, которые, очевидно, не имеют отношения к увеличению синтеза клото [109, 110]. Таким образом, индукция экспрессии клото может иметь свои ограничения, которые не распространяются на терапевтическое использование рекомбинантного белка. Окончательный ответ могут дать клинические испытания, которые, насколько нам известно, пока не проводились.

Проблема изучения молекулярных основ патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний на протяжении долгого времени остается чрезвычайно важной. Изучение роли взаимодействия белков в развитии патологических процессов дает большие возможности для более точного понимания как возникновения патологий сердца и сосудов, так и поиска способов и лекарственных препаратов для их лечения. Белок клото играет существенную роль в механизмах защиты от нарушения функций сердечно-сосудистой системы и развития кардиомиопатии,

сердечной недостаточности, артериальной гипертензии. Плейотропные свойства клото находят свое отражение в разнообразии и взаимодействии кардиопротекторных механизмов. Регуляция уровня белка в сыворотке крови и его экспрессии в кардиомиоцитах с помощью лекарственных препаратов может иметь важное значение для клеточного метаболизма и представлять собой перспективную мишень для лечения ССЗ.

Некоторые вопросы, требующие своего разрешения, мы уже указали выше – различия между мембраносвязанной и растворимой формами клото, механизмы ферментативной активности, различные функции KL1 и KL2. К этому списку следует добавить малоисследованную роль клото в цитоплазме, где он может связываться с какими-то другими партнерами, помимо шаперонов. Не исключено, что именно внутриклеточный клото влияет на экспрессию генов, самостоятельно или при участии других белков. В связи с этим возникает вопрос о возможности его интернализации, например, путем эндоцитоза рецепторных белков, взаимодействующих с ним. Из всего сказанного выше можно предположить, что клото, связываясь с каноническими рецепторами и модулируя их функцию, участвует в тонкой настройке организма в разные периоды его жизни. Например, высокая активность канонических механизмов FGF и Wnt играет важную роль в органогенезе. В зрелом организме поддержание гомеостаза является важной задачей, которая осуществляется разными способами, например, с помощью регуляции экспрессии генов и протеолитической деградации белков. Модуляция активности существующих сигнальных механизмов при участии клото является еще одним таким способом. Потеря этой настройки сопровождается патологиями, подобно тому, как избыток FGF23 в условиях дефицита α-клото наблюдается при ИБС. Недостаточный контроль со стороны клото и высокая активность сигнальных путей Wnt, IGF1, TGF-β1 способствует развитию фиброза и онкологических заболеваний. Можно постулировать, что физиологическое значение клото состоит в этой настройке. Роль его как потенциального регулятора-синхронизатора гомеостаза до сих пор не исследовалась. Наконец, большинство работ на эту тему посвящены α-клото, а не его паралогам β и γ, где, очевидно, существует большое количество неисследованных вопросов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kuro-o, M., Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., et al. (1997) Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing, *Nature*, **390**, 45-51, doi: 10.1038/36285.
2. Shiraki-Iida, T., Aizawa, H., Matsumura, Y., Sekine, S., Iida, A., Anazawa, H., Nagai, R., Kuro-o, M., and Nabeshima, Y. (1998) Structure of the mouse klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted protein 1, *FEBS Lett.*, 424, 6-10, doi: 10.1016/S0014-5793(98)00127-6.
3. Li, S.-A., Watanabe, M., Yamada, H., Nagai, A., Kinuta, M., and Takei, K. (2004) Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain, kidney, and reproductive organs of mice, *Cell Struct. Funct.*, **29**, 91-99, doi: 10.1247/csf.29.91.
4. Lim, K., Groen, A., Molostvov, G., Lu, T., Lilley, K. S., Snead, D., James, S., Wilkinson, I. B., Ting, S., Hsiao, L. L., Hiemstra, T. F., and Zehnder, D. (2015) α-klotho expression in human tissues, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **100**, 1308-1318, doi: 10.1210/jc.2015-1800.
5. Мельник А. А. (2017) Белок Klotho и фактор роста фибробластов FGF23 как маркеры хронической болезни почек, *Почки*, **6**, 132-138.
6. Ito, S., Fujimori, T., Hayashizaki, Y., and Nabeshima Y. (2002) Identification of a novel mouse membrane-bound family 1 glycosidase-like protein, which carries an atypical active site structure, *Biochim. Biophys. Acta*, **1576**, 341-345, doi: 10.1016/s0167-4781(02)00281-6.
7. Chen, G., Liu, Y., Goetz, R., Fu, L., Jayaraman, S., Hu, M. C., Moe, O. W., Liang, G., Li, X. and Mohammadi, M. (2018) α-Klotho is a non-enzymatic molecular scaffold for FGF23 hormone signaling, *Nature*, **553**, 461-466, doi: 10.1038/nature25451.
8. Xie, T., and Leung, P. S. (2017) Fibroblast growth factor 21: a regulator of metabolic disease and health span, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **313**, E292-E302, doi: 10.1152/ajpendo.00101.2017.
9. Katoh, M., and Nakagama, H. (2014) FGF receptors: cancer biology and therapeutics, *Med. Res. Rev.*, **34**, 280-300, doi: 10.1002/med.21288.
10. Grabner, A., Amaral, A. P., Schramm, K., Singh, S., Sloan, A., et al. (2015) Activation of cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 causes left ventricular hypertrophy, *Cell Metab.*, **22**, 1020-1032, doi: 10.1016/j.cmet.2015.09.002.
11. Doi, S., Zou, Y., Toga, O., Pastor, J. V., John, G. B., Wang, L., Shiizaki, K., Gotschall, R., Schiavi, S., Yorioka, N., Takahashi, M., Boothman, D. A., and Kuro-o, M. (2011) Klotho inhibits Transforming Growth Factor-β1 (TGF-β1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice, *J. Biol. Chem.*, **286**, 8655-8665, doi: 10.1074/jbc.M110.174037.
12. Lee, J., Jeong, D. J., Kim, J., Lee, S., Park, J. H., et al. (2010) The anti-aging gene KLOTHO is a novel target for epigenetic silencing in human cervical carcinoma, *Mol. Cancer*, **9**, 109, doi: 10.1186/1476-4598-9-109.

13. Нестерова А. А., Глинка Е. Ю., Тюренков И. Н., Перфилова В. Н. (2020) Белок клото – универсальный регулятор физиологических процессов в организме, *Успехи физиол. наук*, **51**, 88-104.
14. Ligumsky, H., Rubinek, T., Merenbakh-Lamin, K., Yeheskel, A., Sertchook, R., Shahmoon, S., Aviel-Ronen, S., and Wolf, I. (2015) Tumor suppressor activity of Klotho in breast cancer is revealed by structure–function analysis, *Mol. Cancer Res.*, **13**, 1398-1407, doi: 10.1158/1541-7786.MCR-15-0141.
15. Sopjani, M., Rinnerthaler, M., Kruja, J., and Dërmaku-Sopjani, M. (2015) Intracellular signaling of the aging suppressor protein Klotho, *Curr. Mol. Med.*, **15**, 27-37, doi: 10.2174/1566524015666150114111258.
16. Dalton, G., An, S.-W., Al-Juboori, S. I., Nischan, N., Yoon, J., et al. (2017) Soluble klotho binds monosialoganglioside to regulate membrane microdomains and growth factor signaling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 752-757, doi: 10.1073/pnas.1620301114.
17. Wolf, M. T., An, S. W., Nie, M., Bal, M. S., and Huang, C. L. (2014) Klotho up-regulates renal calcium channel transient receptor potential vanilloid 5 (TRPV5) by intra- and extracellular N-glycosylation-dependent mechanisms, *J. Biol. Chem.*, **289**, 35849-35857, doi: 10.1074/jbc.M114.616649.
18. Wright, J. D., An, S. W., Xie, J., Lim, C., and Huang, C. L. (2019) Soluble klotho regulates TRPC6 calcium signaling *via* lipid rafts, independent of the FGFR-FGF23 pathway, *FASEB J.*, **33**, 9182-9193, doi: 10.1096/fj.201900321R.
19. Wright, J. D., An, S.-W., Xie, J., Yoon, J., Nischan, N., Kohler, J. J., Oliver, N., Lim, C., and Huang, C. L. (2017) Modeled structural basis for the recognition of α2-3-sialyllactose by soluble Klotho, *FASEB J.*, **31**, 3574-3586, doi: 10.1096/fj.201700043R.
20. Zhang, J., Gupte, J., Gong, Y., Weiszmann, J., Zhang, Y., Lee, K. J., Richards, W. G., and Lia, Y. (2017) Overexpression of fibroblast growth factor 21 increases bile acid biosynthesis by opposing FGF15/19 action, *EBioMedicine*, **15**, 173-183, doi: 10.1016/j.ebiom.2016.12.016.
21. Patel, V., Adya, R., Chen, J., Ramanjaneya, M., Bari, M. F., Bhudia, S. K., Hillhouse, E. W., Tan, B. K., and Randeva, H. S. (2014) Novel insights into the cardio-protective effects of FGF21 in lean and obese rat hearts, *PLoS One*, **9**, e87102, doi: 10.1371/journal.pone.0087102.
22. Lee, S., Choi, J., Mohanty, J., Sousa, L. P., Tome, F., Pardon, E., Steyaert, J., Lemmon, M. A., Lax, I., and Schlessinger, J. (2018) Structures of β-Klotho reveal a 'zip code'-like mechanism for endocrine FGF signaling, *Nature*, **553**, 501-505, doi: 10.1038/nature25010.
23. Kuzina, E. S., Ung, P. M., Mohanty, J., Tome, F., Choi, J., Pardon, E., Steyaert, J., Lax, I., Schlessinger, A., Schlessinger, J., and Lee, S. (2019) Structures of ligand-occupied β-Klotho complexes reveal a molecular mechanism underlying endocrine FGF specificity and activity, *PNAS*, **116**, 7819-7824, doi: /10.1073/pnas.1822055116.
24. Rubinek, T., Shahmoon, S., Shabtay-Orbach, A., Ben Ami, M., Levy-Shraga, Y., et al. (2016) Klotho response to treatment with growth hormone and the role of IGF-I as a mediator, *Metabolism*, **65**, 1597-1604, doi: 10.1016/j.metabol.2016.08.004.
25. Chen, C. D., Podvin, S., Gillespie, E., Leeman, S. E., and Abraham C. R. (2007) Insulin stimulates the cleavage and release of the extracellular domain of Klotho by ADAM10 and ADAM17, *Proc. Natl. Acad. Ssi. USA*, **104**, 19796-19801, doi: 10.1073/pnas.0709805104.
26. Kim, J. H., Hwang, K. H., Park, K. S., Kong, I. D., and Cha, S. K. (2015) Biological role of anti-aging protein klotho, *J. Lifestyle Med.*, **5**, 1-6, doi: 10.15280/jlm.2015.5.1.1.
27. Kuro-o, M. (2009) Klotho and aging, *Biochim. Biophys. Acta*, **1790**, 1049-1058, doi: 10.1016/j.bbagen.2009.02.005.
28. Cui, W., Leng, B., and Wang, G. (2019) Klotho protein inhibits H_2O_2-induced oxidative injury in endothelial cells via regulation of PI3K/AKT/Nrf2/HO-1 pathways, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **97**, 370-376, doi: 10.1139/cjpp-2018-0277.
29. Zhang, W., Xue, D., Hu, D., Xie, T., Tao, Y., Zhu, T., Chen, E., and Pan, Z. (2015) Secreted klotho protein attenuates osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells in vitro via inactivation of the FGFR1/ERK signaling pathway, *Growth Factors*, **33**, 356-365, doi: 10.3109/08977194.2015.1108313.
30. Abramovitz, L., Rubinek, T., Ligumsky, H., Bose, S., Barshack, I., Avivi, C., Kaufman, B., and Wolf, I. (2011) KL1 internal repeat mediates Klotho tumor suppressor activities and inhibits bFGF and IGF-I signaling in pancreatic cancer, *Clin. Cancer Res.*, **17**, 4254-4266, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2749.
31. Neyra, J. A., and Hu, M. C. (2017) Potential application of klotho in human chronic kidney disease, *Bone*, **100**, 41-49, doi: 10.1016/j.bone.2017.01.017.
32. Mencke, R., Harms, G., Moser, J., van Meurs, M., Diepstra, A., Leuvenink, H. G., and Hillebrands, J. L. (2017) Human alternative Klotho mRNA is a nonsense-mediated mRNA decay target inefficiently spliced in renal disease, *JCI Insight*, **2**, e94375, doi: 10.1172/jci.insight.94375.
33. Xu, Y., and Sun, Z. (2017) Regulation of S-formylglutathione hydrolase by the anti-aging gene klotho, *Oncotarget*, **8**, 88259-88275, doi: 10.18632/oncotarget.19111.
34. Tacer, K. F., Bookout, A. L., Ding, X. S., Kurosu, H., John, G. B., Wang, L., Goetz, R., Mohammadi, M., Kuro-o, M., Mangelsdorf, D. J., and Kliewer, S. A. (2010) Research resource: comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse, *Mol. Endocrinol.*, **24**, 2050-2064, doi: 10.1210/me.2010-0142.
35. Tomlinson, E., Fu, L., John, L., Hultgren, B., Huang, X., Renz, M., Stephan, J. P., Tsai, S. P., Powell-Braxton, L., French, D., and Stewart, T. A. (2002) Transgenic mice expressing human fibroblast growth factor-19 display increased metabolic rate and decreased adiposity, *Endocrinology*, **143**, 1741-1747, doi: 10.1210/endo.143.5.8850.
36. Nakayama, Y., Miyake, A., Nakagawa, Y., Mido, T., Yoshikawa, M., Konishi, M., and Itoh, N. (2008) Fgf19 is required for zebrafish lens and retina development, *Dev. Biol.*, **313**, 752-766, doi: 10.1016/j.ydbio.2007.11.013.
37. Kurose, H., Okamoto, M., Shimizu, M., Bito, T., Marcelle, C., Noji, S., and Ohuchi, H. (2005) FGF19-FGFR4 signaling elaborates lens induction with the FGF8-L-Maf cascade in the chick embryo, *Dev. Growth Differ.*, **47**, 213-223, doi: 10.1111/j.1440-169X.2005.00795.x.
38. Dinh, Q. N., Drummond, G. R., Sobey, C. G., and Chrissobolis, S. (2014) Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension, *Biomed. Res. Int.*, **2014**, 406960, doi: 10.1155/2014/406960.
39. Förstermann, U., Xia, N., and Li, H. (2017) Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis, *Circ. Res.*, **120**, 713-735, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309326.
40. Yamamoto, M., Clark, J. D., Pastor, J. V., Gurnani, P., Nandi, A., Kurosu, H., Miyoshi, M., Ogawa, Y., Castrillon, D. H., Rosenblatt, K. P., and Kuro-o, M. (2005) Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho, *J. Biol. Chem.*, **280**, 38029-38034, doi: 10.1074/jbc.M509039200.

41. Wang, Y., Zhou, Y., and Graves, D. T. (2014) FOXO transcription factors: their clinical significance and regulation, *Biomed. Res. Int.*, **2014**, 925350, doi: 10.1155/2014/925350.
42. Kawamori, D., Kaneto, H., Nakatani, Y., Matsuoka, T. A., Matsuhisa, M., Hori, M., and Yamasaki, Y. (2006) The forkhead transcription factor Foxo1 bridges the JNK pathway and the transcription factor PDX-1 through its intracellular translocation, *J. Biol. Chem.*, **281**, 1091-1098, doi: 10.1074/jbc.M508510200.
43. Ju, Y., Xu, T., Zhang, H., and Yu, A. (2014) FOXO1-dependent DNA damage repair is regulated by JNK in lung cancer cells, *Int. J. Oncol.,* 44, 1284-1292, doi: 10.3892/ijo.2014.2269.
44. Zhao, H. F., Wang, J., and Tony To, S.-S. (2015) The phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and c-Jun N-terminal kinase signaling in cancer: Alliance or contradiction? *Int. J. Oncol.*, **47**, 429-436, doi: 10.3892/ijo.2015.3052.
45. Sunayama, J., Tsuruta, F., Masuyama, N., and Gotoh, Y. (2005) JNK antagonizes Akt-mediated survival signals by phosphorylating 14-3-3, *J. Cell. Biol.*, **170**, 295-304, doi: 10.1083/jcb.200409117.
46. Essers, M. A., Weijzen, S., de Vries-Smits, A. M., Saarloos, I., de Ruiter, N. D., Bos, J. L., and Burgering, B. M. (2004) FOXO transcription factor activation by oxidative stress mediated by the small GTPase Ral and JNK, *EMBO J.*, **23**, 4802-4812, doi: 10.1038/sj.emboj.7600476.
47. Essers, M. A., de Vries-Smits, L. M., Barker, N., Polderman, P. E., Burgering, B. M., and Korswagen, H. C. (2005) Functional interaction between beta-catenin and FOXO in oxidative stress signaling, *Science*, **308**, 1181-1184, doi: 10.1126/science.1109083.
48. Yao, Y., Wang, Y., Zhang, Y., and Liu, C. (2017) Klotho ameliorates oxidized low density lipoprotein (Ox-LDL)-induced oxidative stress via regulating LOX-1 and PI3K/Akt/eNOS pathways, *Lipids Health Dis.,* **16**, 77, doi: 10.1186/s12944-017-0447-0.
49. Yang, K., Nie, L., Huang, Y., Zhang, J., Xiao, T., Guan, X., and Zhao, J. (2012) Amelioration of uremic toxin indoxyl sulfate-induced endothelial cell dysfunction by Klotho protein, *Toxicol. Lett.*, **215**, 77-83, doi: 10.1016/j.toxlet.2012.10.004.
50. Chung, C. P., Chang, Y. C., Ding, Y., Lim, K., Liu, Q., Zhu, L., Zhang, W., Lu, T. S., Molostvov, G., Zehnder, D., and Hsiao, L. L. (2017) α-Klotho expression determines nitric oxide synthesis in response to FGF23 in human aortic endothelial cells, *PLoS One*, **12**, e0176817, doi: 10.1371/journal.pone.0176817.
51. Prud'homme, G. J., Glinka, Y., Kurt, M., Liu, W., and Wang, Q. (2017) The anti-aging protein Klotho is induced by GABA therapy and exerts protective and stimulatory effects on pancreatic beta cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **493**, 1542-1547, doi: 10.1016/j.bbrc.2017.10.029.
52. Kusaba, T., Okigaki, M., Matui, A., Murakami, M., Ishikawa, K., et al. (2010) Klotho is associated with VEGF receptor-2 and the transient receptor potential canonical-1 Ca^{2+} channel to maintain endothelial integrity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 19308-19313, doi: 10.1073/pnas.1008544107.
53. Semba, R. D., Cappola, A. R., Sun, K., Bandinelli, S., Dalal, M., Crasto, C., Guralnik, J. M., and Ferrucci, L. (2011) Plasma klotho and cardiovascular disease in adults, *J. Am. Geriatr. Soc.*, **59**, 1596-1601, doi: 10.1111/j.1532-5415.2011.03558.x.
54. Kokkinaki, M., Abu-Asab, M., Gunawardena, N., Ahern, G., Javidnia, M., Young, J., and Golestaneh, N. (2013) Klotho regulates retinal pigment epithelial functions and protects against oxidative stress, *J. Neurosci.*, **33**, 16346-16359, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0402-13.2013.
55. Zhao, Y., Meng, C., Wang, Y., Huang, H., Liu, W., Zhang, J. F., Zhao, H., Feng, B., Leung, P. S., and Xi, Y. (2016) IL-1 inhibits Klotho expression and FGF19 signaling in hepatocytes, *Physiol. Endocrinol. Metab.*, **310**, E289-300, doi: 10.1152/ajpendo.00356.2015.
56. Prud'homme, G. J., Glinka, Y., Kurt, M., Liu, W., and Wang, Q. (2020) Systemic Klotho therapy protects against insulitis and enhances beta-cell mass in NOD mice, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **525**, 693-698, doi: 10.1016/j.bbrc.2020.02.123.
57. Navarro-González, J. F., Donate-Correa, J., Muros de Fuentes, M., Pérez-Hernández, H., Martínez-Sanz, R., and Mora-Fernández, C. (2014) Reduced Klotho is associated with the presence and severity of coronary artery disease, *Heart*, **100**, 34-40, doi: 10.1136/heartjnl-2013-304746.
58. Bergmark, B. A., Udell, J. A., Morrow, D. A., Jarolim, P., Kuder, J. F., Solomon, S. D., Pfeffer, M. A., Braunwald, E., and Sabatine, M. S. (2019) Klotho, fibroblast growth factor-23, and the renin-angiotensin system – an analysis from the PEACE trial, *Eur. J. Heart Fail.*, **21**, 462-470, doi: 10.1002/ejhf.1424.
59. Faul, C., Amaral, A. P., Oskouei, B., Hu, M. C., Sloan, A., and Isakova, T. (2011) FGF23 induces left ventricular hypertrophy, *J. Clin. Invest.,* **121**, 4393-4408, doi: 10.1172/JCI46122.
60. Xie, J., Yoon, J., An, S.-W., Kuro-o, M., and Huang, C.-L. (2015) Soluble klotho protects against uremic cardiomyopathy independently of fibroblast growth factor 23 and phosphate, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **26**, 1150-1160, doi: 10.1681/ASN.2014040325.
61. Zhou, X., Li, S., Wang, Z., Yu, L., and Jiang, H. (2015) Klotho protein: a potential therapeutic agent during myocardial ischemia and reperfusion, *Int. J. Cardiol.*, **191**, 227-228, doi: 10.1016/j.ijcard.2015.05.029.
62. Takeshita, K., Fujimori, T., Kurotaki, Y., Honjo, H., Tsujikawa, H., et al. (2004) Sinoatrial node dysfunction and early unexpected death of mice with a defect of klotho gene expression, *Circulation*, **109**, 1776-1782, doi: 10.1161/01.CIR.0000124224.48962.32.
63. Dermaku-Sopjani, M., Sopjani, M., Saxena, A., Shojaiefard, M., Bogatikov, E., Alesutan, I., Eichenmüller, M., and Lang, F. (2011) Downregulation of NaPi-IIa and NaPi-IIb Na-coupled phosphate transporters by coexpression of Klotho, *Cell Physiol. Biochem.*, **28**, 251-258, doi: 10.1159/000331737.
64. Hu, M. C., Shi, M., Zhang, J., Pastor, J., Nakatani, T., and Lanske, B. (2010) Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule, *FASEB J.*, **24**, 3438-3450, doi: 10.1096/fj.10-154765.
65. Sopjani, M., Alesutan, I., Dermaku-Sopjani, M., Gu, S., Zelenak, C., Munoz, C., Velic, A., Föller, M., Rosenblatt, K. P., Kuro-o, M., and Lang, F. (2011) Regulation of the Na^+/K^+-ATPase by Klotho, *FEBS Lett.*, **585**, 1759-1764, doi: 10.1016/j.febslet.2011.05.021.
66. Boros, S., Bindels, R. J., and Hoenderop, J. G. (2009) Active $Ca^{(2+)}$ reabsorption in the connecting tubule, *Pflugers Arch.*, **458**, 99-109, doi: 10.1007/s00424-008-0602-6.
67. Munoz, C., Pakladok, T., Almilaji, A., Elvira, B., Seebohm, G., Voelkl, J., Föller, M., Shumilina, E., and Lang, F. (2013) Klotho sensitivity of the hERG channel, *FEBS Lett.*, **587**, 1663-1668, doi: 10.1016/j.febslet.2013.04.011.
68. Kaess, B. M., Rong, J., Larson, M. G., Hamburg, N. M., Vita, J. A., Levy, D., Benjamin, E. J., Vasan, R. S., and Mitchell, G. F. (2012) Aortic stiffness, blood pressure progression, and incident hypertension, *JAMA*, **308**, 875-881, doi: 10.1001/2012.jama.10503.

69. Cavalcante, J. L., Lima, J. A., Redheuil, A., and Al-Mallah, M. H. (2011) Aortic stiffness: current understanding and future directions, *J. Am. Coll. Cardiol.*, **57**, 1511-1522, doi: 10.1016/j.jacc.2010.12.017.
70. Gao, D., Zuo, Z., Tian, J., Ali, Q., Lin, Y., Lei, H., and Sun, Z. (2016) Activation of SIRT1 attenuates klotho deficiency-induced arterial stiffness and hypertension by enhancing AMP-activated protein kinase activity, *Hypertension*, **68**, 1191-1199, doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07709.
71. Mencke, R., and Hillebrands, J.-L. (2016) The Role of the anti-ageing protein klotho in vascular physiology and pathophysiology, *Nature*, **553**, 461-466, doi: 10.1016/j.arr.2016.09.001.
72. Chen, K., and Sun, Z. (2019) Autophagy plays a critical role in Klotho gene deficiency-induced arterial stiffening and hypertension, *J. Mol. Med. (Berl)*, **97**, 1615-1625, doi: 10.1007/s00109-019-01841-6.
73. Zhou, X., Chen, K., Wang, Y., Schuman, M., Lei, H., and Sun, Z. (2016) Antiaging gene Klotho regulates adrenal CYP11B2 expression and aldosterone synthesis, *JASN*, **27,** 1765-1776, doi: 10.1681/ASN.2015010093.
74. Hu, M. C., Shi, M., Gillings, N., Flores, B., Takahashi, M., Kuro-O, M., and Moe, O. W. (2017) Recombinant α-Klotho may be prophylactic and therapeutic for acute to chronic kidney disease progression and uremic cardiomyopathy, *Kidney Int.*, **91**, 1104-1114, doi: 10.1016/j.kint.2016.10.034.
75. Xie, J., Cha, S. K., An, S. W., Kuro-O, M., Birnbaumer, L., and Huang, C. L. (2012) Cardioprotection by Klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart, *Nat. Commun.*, **3**, 123, doi: 10.1038/ncomms2240.
76. Wu, X., Eder, P., Chang, B., and Molkentin, J. D. (2010) TRPC channels are necessary mediators of pathologic cardiac hypertrophy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 7000-7005, doi: 10.1073/pnas.1001825107.
77. Eder, P., and Molkentin, J. D. (2011) TRPC channels as effectors of cardiac hypertrophy, *Circ. Res.*, **108**, 265-272, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.110.225888.
78. Hu, M. C., Shi, M., Zhang, J., Quiñones, H., Griffith, C., Kuro-O, M., and Moe, O. W. (2011) Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **22**, 124-136, doi: 10.1681/ASN.2009121311.
79. Yamada, S., and Giachelli, C. M. (2017) Vascular calcification in CKD-MBD: Roles for phosphate, FGF23, and Klotho, *Bone*, **100**, 87-93, doi: 10.1016/j.bone.2016.11.012.
80. Lindberg, K., Olauson, H., Amin, R., Ponnusamy, A., Goetz, R., Taylor, R. F., Mohammadi, M., Canfield, A., Kublickiene, K., and Larsson, T. E. (2013) Arterial klotho expression and FGF23 effects on vascular calcification and function, *PLoS One*, **8**, e60658, doi: 10.1371/journal.pone.0060658.
81. Lim, K., Lu, T. S., Molostvov, G., Lee, C., Lam, F. T., Zehnder, D., and Hsiao, L. L. (2012) Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23, *Circulation*, **125**, 2243-2255, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.053405.
82. Jimbo, R., Kawakami-Mori, F., Mu, S., Hirohama, D., Majtan, B., Shimizu, Y., Yatomi, Y., Fukumoto, S., Fujita, T., and Shimosawa, T. (2014) Fibroblast growth factor 23 accelerates phosphate-induced vascular calcification in the absence of Klotho deficiency, *Kidney Int.*, **85**, 1103-1111, doi: 10.1038/ki.2013.332.
83. Shimada, T., Kakitani, M., Yamazaki, Y., Hasegawa, H., Takeuchi, Y., Fujita, T., Fukumoto, S., Tomizuka, K., and Yamashita, T. (2004) Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism, *J. Clin. Invest.* **113**, 561-568, doi: 10.1172/JCI19081.
84. Zhao, Y., Zhao, M. M., Cai, Y., Zheng, M. F., Sun, W. L., Zhang, S. Y., Kong, W., Gu, J., Wang, X., and Xu, M. J. (2015) Mammalian target of rapamycin signaling inhibition ameliorates vascular calcification via Klotho upregulation, *Kidney Int.*, **88**, 711-721, doi: 10.1038/ki.2015.160.
85. Chang, J. R., Guo, J., Wang, Y., Hou, Y. L., Lu, W. W., et al. (2016) Intermedin1-53 attenuates vascular calcification in rats with chronic kidney disease by upregulation of α-Klotho, *Kidney Int.*, **89**, 586-600, doi: 10.1016/j.kint.2015.12.029.
86. Agarwal, I., Ide, N., Ix, J. H., Kestenbaum, B., Lanske, B., Schiller, N. B., Whooley, M. A., and Mukamal, K. J. (2014) Fibroblast growth factor-23 and cardiac structure and function, *J. Am. Heart Assoc.*, **3**, e000584, doi: 10.1161/JAHA.113.000584.
87. Hu, M. C., Shi, M., Cho, H. J., Adams-Huet, B., Paek, J., et al. (2015) Klotho and phosphate are modulators of pathologic uremic cardiac remodeling, *J. Am. Soc. Nephrol.*, **26**, 1290-1302, doi: 10.1681/ASN.2014050465.
88. Jia, Z., Wei, L., Liu, Q., Zhu, Z., Yang, J., Yang, X., Gan, S., Chen, W., and Zhang, L. (2015) Impact of transfection with recombinant adenovirus vector-mediated Klotho gene on myocardial remodeling in a rat model of heart failure, *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, **43**, 219-226.
89. Tang, G., Shen, Y., Gao, P., Song, S. S., and Si, L. Y. (2018) Klotho attenuates isoproterenol-induced hypertrophic response in H9C2 cells by activating Na^+/K^+-ATPase and inhibiting the reverse mode of Na^+/Ca^{2+}-exchanger, *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.,* **54**, 250-256, doi: 10.1007/s11626-017-0215-5.
90. Москалёв А. В., Рудой А. С., Апчел А. В., Зуева В. О., Казымова О. Э. (2016) Особенности биологии трансформирующего ростового фактора β и иммунопатология, *Вестн. РВМА*, **54**, 206-216.
91. Заславская Е. Л., Морозов А. Н., Ионин В. А., Ма И., Нифонтов С. Е., Баранова Е. И., Яшин С. М., Шляхто Е. В. (2018) Роль трансформирующего фактора роста бета1 и галектина-3 в формировании фиброза левого предсердия у пациентов с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий и метаболическим синдромом, *Рос. кардиол. ж.*, **154**, 60-66.
92. Корженевская К. В., Гавришева Н. А., Панов А. В., Сесь Т. П., Алугишвили М. З., Козлов В. В. (2010) Трансформирующий фактор роста-β1 при различном клиническом течении ишемической болезни сердца после операции коронарного шунтирования, *Мед. иммунология*, **12**, 521-528.
93. Inoue, N., Maeda, R., Kavakami, H., Shokawa, T., Yamamoto, H., Ito, C., and Sasaki, H. (2009) Aortic pulse wave velocity predicts cardiovascular mortality in middle-aged and elderly Japanese men, *Circ. J.*, **73**, 549-553, doi: 10.1253/circj.cj-08-0492.
94. Ding, J., Tang, Q., Luo, B., Zhang, L., Lin, L., Han, L., Hao, M., Li, M., Yu, L., and Li, M. (2019) Klotho inhibits angiotensin II-induced cardiac hypertrophy, fibrosis, and dysfunction in mice through suppression of transforming growth factor-β1 signaling pathway, *Eur. J. Pharmacol.*, **859**, 172549, doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172549.
95. Ucar, A., Gupta, S. K., Fiedler, J., Erikci, E., Kardasinski, M., et al. (2012) The miRNA-212/132 family regulates both cardiac hypertrophy and cardiomyocyte autophagy, *Nat. Commun.,* **3**, 1078, doi: 10.1038/ncomms2090.
96. Chen, Q., Zhang, H., Liu, Y., Adams, S., Eilken, H., Stehling, M., Corada, M., Dejana, E., Zhou, B., and Adams, R. H. (2016) Endothelial cells are progenitors of cardiac pericytes and vascular smooth muscle cells, *Nat. Commun.*, **7**, 12422, doi: 10.1038/ncomms12422.

97. Arking, D. E., Becker, D. M., Yanek, L. R., Fallin, D., Judge, D. P., Moy, T. F., Becker, L. C., and Dietz, H. C. (2003) KLOTHO allele status and the risk of early-onset occult coronary artery disease, *Am. J. Hum. Genet.*, **72**, 1154-1161, doi: 10.1086/375035.
98. Majumdar, V., Nagaraja, D., and Christopher, R. (2010) Association of the functional KL-VS variant of Klotho gene with early-onset ischemic stroke, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **403**, 412-416, doi: 10.1016/j.bbrc.2010.11.045.
99. Oguro, R., Kamide, K., Kokubo, Y., Shimaoka, I., Congrains, A., et al. (2010) Association of carotid atherosclerosis with genetic polymorphisms of the klotho gene in patients with hypertension, *Geriatr. Gerontol. Int.*, **10**, 311-318, doi: 10.1111/j.1447-0594.2010.00612.x.
100. Imamura, A., Okumura, K., Ogawa, Y., Murakami, R., Torigoe, M., Numaguchi, Y., and Murohara, T. (2006) Klotho gene polymorphism may be a genetic risk factor for atherosclerotic coronary artery disease but not for vasospastic angina in Japanese, *Clin. Chim. Acta.*, **371**, 66-70, doi: 10.1016/j.cca.2006.02.021.
101. Majumdar, V., Jose, D., and Christopher, R. (2011) Influence of Klotho genotypes on plasma NO(x) levels in South Indian population, *Thromb Res.*, **128**, 251-255, doi: 10.1016/j.thromres.2011.04.002.
102. Pavlatou, M. G., Remaley, A. T., and Gold, P. W. (2016) Klotho: a humeral mediator in CSF and plasma that influences longevity and susceptibility to multiple complex disorders, including depression, *Transl. Psychiatry*, **6**, e876, doi: 10.1038/tp.2016.135.
103. Qiu, X., Guo, Q., Xiong, W., Yang, X., and Tang, Y. Q. (2016) Therapeutic effect of astragaloside-IV on bradycardia is involved in up-regulating klotho expression, *Life Sci.*, **144**, 94-102, doi: 10.1016/j.lfs.2015.11.021.
104. Narumiya, H., Sasaki, S., Kuwahara, N., Irie, H., Kusaba, T., Kameyama, H., Tamagaki, K., Hatta, T., Takeda, K., and Matsubara, H. (2004) HMG-CoA reductase inhibitors up-regulate anti-aging klotho mRNA via RhoA inactivation in IMCD3 cells, *Cardiovasc. Res.*, **64**, 331-336, doi: 10.1016/j.cardiores.2004.07.011.
105. Yoon, H. E., Ghee, J. Y., Piao, S., Song, J. H., Han, D. H., Kim, S., Ohashi, N., Kobori, H., Kuro-O, M., and Yang, C. W. (2011) Angiotensin II blockade upregulates the expression of Klotho, the anti-ageing gene, in an experimental model of chronic cyclosporine nephropathy, *Nephrol. Dial. Transplant.*, **26**, 800-813, doi: 10.1093/ndt/gfq537.
106. Cheng, L., Zhang, L., Yang, J., and Hao, L. (2017) Activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ inhibits vascular calcification by upregulating Klotho, *Exp. Ther. Med.*, **13**, 467-474, doi: 10.3892/etm.2016.3996.
107. Haussler, M. R., Whitfield, G. K., Haussler, C. A., Sabir, M. S., Khan, Z., Sandoval, R., and Jurutka, P. W. (2016) 1,25-Dihydroxyvitamin D and Klotho: A tale of two renal hormones coming of age, *Vitam. Horm.*, **100**, 165-230, doi: 10.1016/bs.vh.2015.11.005.
108. Lorenzi, O., Veyrat-Durebex, C., Wollheim, C. B., Villemin, P., Rohner-Jeanrenaud, F., Zanchi, A., and Vischer, U. M. (2010) Evidence against a direct role of klotho in insulin resistance, *Pflugers Arch.*, **459**, 465-473, doi: 10.1007/s00424-009-0735-2.
109. Bilan, V. P., Salah, E. M., Bastacky, S., Jones, H. B., Mayers, R. M., Zinker, B., Poucher, S. M., and Tofovic, S.P. (2011) Diabetic nephropathy and long-term treatment effects of rosiglitazone and enalapril in obese ZSF1 rats, *J. Endocrinol.*, **210**, 293-308, doi: 10.1530/JOE-11-0122.
110. Dagenais, G. R., Gerstein, H. C., Holman, R., Budaj, A., Escalante, A., et al. (2008) Effects of ramipril and rosiglitazone on cardiovascular and renal outcomes in people with impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose: results of the diabetes reduction assessment with ramipril and rosiglitazone medication (DREAM) Trial, *Diabetes Care*, **31**, 1007-1014, doi: 10.2337/dc07-1868.

KLOTHO PROTEIN AND THE CARDIOVASCULAR SYSTEM

Review

I. N. Tyurenkov[1], V. N. Perfilova[1]*, A. A. Nesterova[2], and E. Yu. Glinka[3]

[1] *Volgograd State Medical University, 400066 Volgograd, Russia; E-mail: vnperfilova@mail.ru; vnperfilova@gmail.com*

[2] *Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy, 357500 Pyatigorsk, Russia*

[3] *Keenan Research Centre, St. Michael's Hospital, Toronto, Canada*

Klotho protein affects a number of metabolic pathways essential for pathogenesis of cardiovascular diseases. It inhibits lipid peroxidation and inflammation, it prevents endothelial injury and calcification of blood vessels. Klotho decreases rigidity of blood vessels and suppresses the development of heart fibrosis. Low level of its expression coincides with a number of diseases. Cardioprotective effect of klotho is based on its ability to interact with multiple receptors and ion channels. Being a pleiotropic protein, klotho may become a useful target for therapeutic intervention in the treatment of cardiovascular diseases. We list hereby pharmaceuticals that stimulate klotho expression and suggest some possible perspectives for future studies.

Keywords: klotho protein, heart failure, coronary heart disease, cardiomyopathy, arterial hypertension