

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y - DƯỢC

NGUYỄN MINH QUÂN

**NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ KLOTHO HUYẾT THANH VÀ
MỐI LIÊN QUAN ĐẾN MỘT SỐ RỐI LOẠN KHOÁNG
XƯƠNG Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN**

Ngành: NỘI KHOA
Mã số: 9 72 01 07

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HUẾ - 2026

Công trình được hoàn thành tại:
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y - DƯỢC, ĐẠI HỌC HUẾ

Người hướng dẫn khoa học:
GS.TS.BS. VÕ TAM

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp Đại Học Huế
họp tại Hội trường bảo vệ luận án - Đại Học Huế, số 03 Lê Lợi, TP
Huế Vào hồi..... giờ..... ngày..... tháng năm 2026

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế
- Thư viện Quốc gia
- Trung tâm học liệu - Đại học Huế

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thận mạn tính (BTM) là vấn đề sức khỏe toàn cầu với tỷ lệ mắc và tử vong gia tăng nhanh chóng. Năm 2017, ước tính có 843,6 triệu người mắc BTM; ở nhóm ≥ 20 tuổi, tỷ lệ là 10,4% ở nam và 11,8% ở nữ. BTM phổ biến ở người cao tuổi do mức lọc cầu thận (MLCT) giảm theo tuổi, đồng thời liên quan chặt chẽ đến đái tháo đường, tăng huyết áp và yếu tố chủng tộc. Theo Tổ chức Gánh nặng Bệnh tật Toàn cầu, tử vong do BTM tăng 41,5% từ năm 1990 đến 2017; bệnh xếp thứ 12 về nguyên nhân giảm tuổi thọ năm 2017 và dự báo đứng thứ 5 vào năm 2040.

BTM gây nhiều biến chứng, trong đó rối loạn chuyển hóa xương và khoáng chất (CKD-MBD) là biến chứng quan trọng, làm tăng nguy cơ gãy xương và tử vong do tim mạch. Phát hiện sớm BTM và CKD-MBD có ý nghĩa lớn trong kiểm soát bệnh và giảm gánh nặng y tế.

Protein Klotho gần đây được chú ý như một dấu ấn sinh học tiềm năng liên quan đến chức năng nội tiết của thận. Klotho do tế bào ống thận tiết ra, đóng vai trò đồng thụ thể với FGF23 trong điều hòa phospho và vitamin D. Nhiều nghiên cứu cho thấy Klotho giảm sớm trong bệnh thận mạn và liên quan đến CKD-MBD, nhưng kết quả của một số tác giả không chứng minh được điều đó với mỗi công bố có các khoảng trống nghiên cứu khác nhau, dẫn đến còn tranh luận về vai trò của dấu ấn này.

Tại Việt Nam, nghiên cứu về CKD-MBD chủ yếu tập trung vào canxi, phospho, PTH và vitamin D, trong khi dữ liệu về Klotho và mật độ xương còn thiếu. Vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài: **“Nghiên cứu nồng độ Klotho huyết thanh và mối liên quan đến một số rối loạn khoáng xương ở bệnh nhân bệnh thận mạn”** với mục tiêu:

1. *Xác định nồng độ Klotho huyết thanh ở bệnh nhân bệnh thận mạn từ giai đoạn 1 đến giai đoạn 5 đang lọc máu chu kỳ.*
2. *Phân tích mối liên quan giữa nồng độ Klotho huyết thanh với mức lọc cầu thận ở nhóm bệnh thận mạn chưa lọc máu, các yếu tố khoáng xương (canxi, phospho, PTH, 25-hydroxyvitamin D huyết thanh) và*

mật độ xương.

2. ĐÓNG GÓP CỦA LUẬN ÁN

Đây là nghiên cứu đầu tiên trong nước khảo sát nồng độ Klotho huyết thanh và mối liên quan với rối loạn khoáng xương – mật độ xương ở bệnh nhân bệnh thận mạn.

Ý nghĩa khoa học: Nghiên cứu bổ sung dữ liệu về biến đổi nồng độ Klotho huyết thanh theo các giai đoạn bệnh thận mạn và mối liên quan với rối loạn khoáng xương – mật độ xương, góp phần làm rõ đặc điểm sinh học của CKD–MBD. Kết quả đồng thời mở ra hướng nghiên cứu về giá trị tiên lượng của Klotho trong bệnh thận mạn và xây dựng cơ sở dữ liệu trong nước về dấu ấn sinh học mới này.

Ý nghĩa thực tiễn: Kết quả nghiên cứu giúp nhận diện sớm tình trạng tiến triển bệnh thận mạn thông qua giảm Klotho huyết thanh, hỗ trợ đánh giá nguy cơ CKD–MBD và gợi ý ứng dụng phối hợp Klotho với các chỉ số khoáng xương khác trong quản lý bệnh nhân. Kết quả còn giúp định hướng các giải pháp theo dõi và can thiệp sớm nhằm hạn chế biến chứng xương – tim mạch ở bệnh nhân bệnh thận mạn.

3. BỐ CỤC CỦA LUẬN ÁN

Luận án gồm 148 trang: Đặt vấn đề 3 trang, tổng quan tài liệu 39 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 29 trang, kết quả nghiên cứu 35 trang, bàn luận 39 trang, kết luận 2 trang, kiến nghị 1 trang. Luận án có 56 bảng, 10 hình, 1 sơ đồ, 15 biểu đồ, 172 tài liệu tham khảo, trong đó có 12 tài liệu tiếng Việt và 160 tài liệu tiếng Anh.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. BỆNH THẬN MẠN VÀ RỐI LOẠN CHUYỂN HÓA XƯƠNG VÀ KHOÁNG CHẤT DO BỆNH THẬN MẠN

1.1.1. Chẩn đoán bệnh thận mạn và các biến chứng của bệnh thận mạn

1.1.1.1. Chẩn đoán bệnh thận mạn

Theo KDIGO 2012, BTM được xác định khi có tổn thương cấu trúc hoặc thay đổi chức năng thận kéo dài ≥ 3 tháng, gây ảnh hưởng

sức khỏe. Thay đổi chức năng thận được chẩn đoán khi mức lọc cầu thận ≤ 60 mL/phút/1,73m². Tồn thương cấu trúc có thể phát hiện qua sinh thiết thận hoặc gián tiếp qua tỷ số albumin niệu hoặc protein niệu, căn lắng nước tiểu, hình ảnh học, rối loạn nước - điện giải, bất thường ống thận hay tiền sử ghép thận. Bệnh thận mạn được chẩn đoán khi có ít nhất một trong hai tiêu chí trên, kể cả khi mức lọc cầu thận > 60 mL/phút/1,73m².

1.1.1.2. Biến chứng của bệnh thận mạn

Bệnh thận mạn thường gây nhiều biến chứng nặng nề, đặc biệt khi mức lọc cầu thận giảm. Tăng huyết áp là biến chứng phổ biến, vừa thúc đẩy tiến triển bệnh vừa làm tăng nguy cơ tim mạch. Bệnh tim mạch là nguyên nhân tử vong chính, bao gồm xơ vữa động mạch, phì đại thất trái và vôi hóa mạch máu. Thiếu máu do giảm sản xuất erythropoietin, giữ muối nước gây phù và tăng huyết áp, toan chuyển hóa và rối loạn điện giải đều có thể gây nguy hiểm. Hội chứng tăng ure huyết với các triệu chứng ngứa, mệt mỏi, rối loạn giấc ngủ làm giảm chất lượng sống. Ngoài ra, rối loạn nội tiết và viêm mạn tính cũng góp phần làm nặng thêm biến chứng toàn thân. Đặc biệt, rối loạn chuyển hóa khoáng-xương (CKD-MBD) gây loãng xương, gãy xương và góp phần làm tăng nguy cơ tử vong. Việc phát hiện sớm và kiểm soát biến chứng này có ý nghĩa quan trọng trong điều trị toàn diện BTM.

1.1.2. Rối loạn chuyển hóa xương và khoáng chất do bệnh thận mạn

1.1.2.1. Định nghĩa rối loạn chuyển hóa xương và khoáng chất do bệnh thận mạn

Năm 2005, KDIGO đề cập đến CKD-MBD là một tình trạng rối loạn hệ thống về chuyển hóa xương và khoáng chất do BTM biểu hiện bằng một hoặc kết hợp các yếu tố: (1) bất thường về chuyển hóa canxi, phospho, PTH hoặc vitamin D; (2) bất thường về chu chuyển xương, khoáng hóa, khối lượng xương, tăng trưởng tuyến tính hoặc sức mạnh của xương; hoặc (3) vôi hóa mạch máu hoặc mô mềm khác.

1.1.2.2. Rối loạn chuyển hóa khoáng xương do bệnh thận mạn

CKD-MBD là rối loạn khởi phát sớm nhưng biểu hiện rõ khi mức lọc cầu thận (MLCT) < 45–50 mL/phút/1,73 m², với đặc trưng là cường cận giáp thứ phát, tăng phosphate máu, hạ canxi và rối loạn vitamin D. Theo giả thuyết nephron nguyên vẹn, nephron còn lại tăng hoạt động bù trừ dẫn đến mất cân bằng nội môi phosphate-canxi. Dù phosphate máu được duy trì bình thường nhờ tăng FGF23 và PTH, song khi MLCT < 30–40 mL/phút/1,73 m², cơ chế này suy yếu, gây tăng phosphate máu, giảm calcitriol và cường cận giáp tiến triển.

FGF23 (Fibroblast Growth Factor 23 - yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi 23), bài tiết chủ yếu từ xương, phối hợp với đồng thụ thể Klotho tại thận để tăng thải phosphate và làm giảm tổng hợp 1,25(OH)₂D₃. Thiếu hụt Klotho làm giảm hiệu lực của FGF23, dẫn đến mất kiểm soát phosphate máu. Sự giảm calcitriol kéo theo giảm hoạt hóa CaSR (Calcium-Sensing Receptor – thụ thể cảm nhận canxi) và VDR (Vitamin D Receptor – thụ thể vitamin D, càng thúc đẩy tăng tiết PTH. Mặt khác, PTH làm tăng tái hấp thu canxi và thải phosphate ở thận, song về lâu dài gây tiêu xương, tăng canxi-phosphate huyết, thúc đẩy vôi hóa mạch máu. Sự tương tác phức tạp giữa FGF23-PTH-calcitriol-Klotho tạo nên một trục bệnh lý CKD-MBD mang tính hệ thống và tiến triển, đòi hỏi can thiệp sớm và toàn diện.

1.2. CHỨC NĂNG CỦA KLOTHO TRONG BỆNH THẬN MẠN VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI RỐI LOẠN CHUYỂN HÓA KHOÁNG XƯƠNG

1.2.1. Chức năng của Klotho trong bệnh thận mạn

1.2.1.1. Tổng quan về Klotho:

Klotho chủ yếu được biểu hiện ở thận dưới dạng protein xuyên màng, đóng vai trò là đồng thụ thể, giúp FGF23 gắn và hoạt hóa thụ thể FGF (FGFR) để phát huy tác dụng sinh học. Miền ngoại bào của Klotho (gồm K11 và K12) bị protease ADAM-10, ADAM-17 cắt, giải phóng vào tuần hoàn dưới dạng protein hòa tan hoặc các mảnh K11,

Kl2. Klotho hòa tan được tìm thấy trong máu, dịch não tủy và nước tiểu.

1.2.1.4. Chức năng và sinh lý bệnh của Klotho trong bệnh thận mạn

Đồng thụ thể của FGF23: FGF23 gắn với phức hợp FGFR-Klotho màng ở ống lượn gần, làm giảm biểu hiện kênh NaPi-2a, gây tăng bài tiết phosphate; đồng thời ức chế men 1α -hydroxylase, làm giảm tổng hợp $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Ở ống lượn xa, phức hợp này điều hòa kênh TRPV5 (Transient Receptor Potential Vanilloid 5) giúp tái hấp thu canxi và tăng tái hấp thu natri qua kênh NCC (Na^+ -Cl⁻ Cotransporter).

Klotho hòa tan được giải phóng vào tuần hoàn và phản ánh gián tiếp hoạt động của Klotho màng. Dạng hòa tan này có thể điều hòa kênh TRPV5 một cách độc lập với FGF23, giúp ổn định kênh trên màng tế bào và tăng tái hấp thu canxi tại ống lượn xa. Klotho hòa tan được ghi nhận có tác dụng bảo vệ như chống oxy hóa, chống xơ hóa, bảo vệ nội mô mạch máu, điều hòa kênh ion và ức chế tín hiệu IGF-1, góp phần làm chậm quá trình lão hóa, duy trì chức năng thận.

1.2.2. Mối liên quan giữa Klotho huyết thanh với mức lọc cầu thận, rối loạn chuyển hóa khoáng xương

1.3. TÌNH HÌNH NGHIÊN CỨU

1.3.1. Các nghiên cứu ngoài nước

Nhóm bệnh thận mạn chưa lọc máu

Tác giả Pavik (2013) ghi nhận Klotho giảm từ $1078,6 \pm 1810,2$ pg/mL ở nhóm chứng xuống $460,2 \pm 222,8$ pg/mL ở giai đoạn 5. Tác giả Rotondi (2015) ghi nhận nồng độ Klotho ở BTM có giá trị 519 ± 183 pg/mL, thấp hơn rõ rệt so với nhóm chứng, bắt đầu giảm từ BTM giai đoạn 2.

Klotho tương quan thuận với MLCT và một số chỉ số khoáng xương như canxi, phospho, PTH, FGF23, (Tác giả Rotondi, 2015; Khodeir, 2019). Ngược lại, Ozeki (2014) không thấy tương quan với canxi, phosphate, và Edmonston (2024) cũng cho rằng Klotho không liên quan tử vong hay tiến triển BTM, trong khi FGF23 là yếu tố dự

báo độc lập. Các dữ liệu về mối liên hệ giữa Klotho và mật độ xương còn hạn chế và chưa thống nhất.

Nhóm bệnh nhân lọc máu chu kỳ (LMCK)

Nồng độ Klotho ở nhóm LMCK thấp hơn nhóm chứng trong nhiều nghiên cứu. Ling Yu (2018) ghi nhận Klotho là $379,93 \pm 143,66$ pg/mL, không tương quan với canxi, PTH, tương quan nghịch yếu với phospho. Wei (2019) ghi nhận Klotho là $119,10 \pm 47,29$ pg/mL, không có tương quan với canxi, phospho, PTH. Tác giả Pasaoglu (2021) ghi nhận Klotho không có tương quan với các yếu tố trên và vitamin D.

1.3.2. Các nghiên cứu trong nước

Các nghiên cứu trong nước cho thấy rối loạn CKD–MBD thường gặp ở bệnh nhân BTM và LMCK. Tác giả Nguyễn Hữu Vũ Quang, Võ Tam (2020) ghi nhận FGF23 tăng ở BTM tiến triển và LMCK, trong khi Nguyễn Thanh Minh (2021) báo cáo chỉ 4,91% bệnh nhân LMCK đạt ≥ 3 tiêu chuẩn KDIGO. Nguyễn Văn Chí (2024) cũng ghi nhận Klotho huyết tương ở bệnh nhân LMCK thấp hơn nhóm chứng nhưng chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

2.1.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu: từ 10/2022 đến 06/2024, chọn mẫu tại phòng khám Nội Thận (khoa Khám bệnh) và khoa Nội Thận - Lọc Máu, các xét nghiệm được thực hiện tại khoa Huyết học, Hóa sinh, đo mật độ xương tại khoa Chẩn đoán hình ảnh, Bệnh viện Thống Nhất.

2.1.2. Nhóm bệnh

Tiêu chuẩn chọn nhóm bệnh: Bệnh nhân BTM giai đoạn 1–5 chưa lọc máu và bệnh nhân lọc máu chu kỳ điều trị tại phòng khám Nội Thận (khoa Khám bệnh) và tại khoa Nội Thận – Lọc máu, Bệnh viện Thống Nhất; từ 18 tuổi trở lên và đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân có bệnh lý nặng hoặc có ảnh hưởng đến Klotho như tổn thương thận cấp, Lupus, ung thư, nhiễm trùng

nặng, rối loạn nội tiết, viêm gan, xơ gan, BTM giai đoạn 5 chưa lọc máu có MLCT < 7 mL/ph/1,73 m², thai kỳ hoặc cho con bú. Các trường hợp dùng thuốc tác động Klotho hoặc mật độ xương (corticosteroid kéo dài, bisphosphonate, denosumab, vitamin D liều cao), phẫu thuật xương, thay khớp trong 6 tháng hoặc chống chỉ định đo mật độ xương.

2.1.3. Nhóm chứng: người khỏe mạnh khám sức khỏe định kỳ tại phòng khám Nội Thận (khoa Khám bệnh), Bệnh viện Thống Nhất, có kết quả khám lâm sàng và xét nghiệm cơ bản (công thức máu; đường huyết; chức năng thận; men gan; ion đồ gồm natri, kali, clo, canxi; nước tiểu 10 thông số; điện tâm đồ; X-quang phổi; siêu âm bụng) trong giới hạn bình thường, không có tiêu chuẩn loại trừ, đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang có phân tích.

2.2.2. Tính cỡ mẫu:

Cỡ mẫu tối thiểu mỗi nhóm được tính dựa trên so sánh trung bình nồng độ Klotho giữa nhóm bệnh và nhóm chứng.

$$n = \frac{2 \times C}{(ES)^2}$$

Theo Rotondi, nồng độ Klotho trung bình ở bệnh nhân BTM là 519 ± 183 pg/mL, thấp hơn nhóm chứng 845 ± 330 pg/mL. Với $\alpha = 0,05$ và Power = 95% ($\beta = 0,05$), hằng số C = 13,0. Từ đó, cỡ mẫu ước tính khoảng hai mươi bảy đối tượng cho mỗi nhóm. Nghiên cứu này chọn 300 đối tượng gồm 60 người khỏe mạnh (nhóm chứng), 150 bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn 1-5 chưa lọc máu và 90 bệnh nhân lọc máu chu kỳ.

Chọn mẫu theo phương pháp không xác suất, có chủ đích.

2.2.3. Phương tiện nghiên cứu: máy DxH 900 (Beckman Coulter) dùng cho tổng phân tích tế bào máu, máy AU5800, Dxi 800 (Beckman Coulter) và Cobas 8000 (Roche) cho các xét nghiệm sinh hóa, máy ELISA tự động Immunomat 4 khay (Đức) để định lượng Klotho huyết thanh, máy đo mật độ xương DXA Hologic Di.

2.2.4. Các bước tiến hành nghiên cứu

2.2.4.5. Định nghĩa và cách đo lường các biến nghiên cứu:

Các biến số lâm sàng gồm: chiều cao, cân nặng, BMI, huyết áp, lượng nước tiểu 24 giờ, tiền căn: đái tháo đường, tăng huyết áp, đột quỵ, nhồi máu cơ tim, hút thuốc lá, gia đình có người mắc bệnh thận, thời gian mắc BTM, thời gian lọc máu.

Các biến số cận lâm sàng gồm: định lượng ure, creatinin, các chỉ số khoáng xương (canxi, phospho, PTH, 25(OH)D), lipid máu (cholesterol, triglyceride, LDL-C, HDL-C), albumin, công thức máu, tỷ số albumin niệu/creatinin niệu. Các xét nghiệm được thực hiện theo quy trình, đạt chuẩn ISO 15189:2012 tại khoa Huyết học, Hóa Sinh của bệnh viện.

2.2.4.6. *Đo mật độ xương và cách đánh giá:* Mật độ xương đo bằng phương pháp hấp thụ tia X năng lượng kép (DXA), sử dụng máy Hologic Discovery Wi, đo tại cột sống thắt lưng và xương đùi, đánh giá loãng xương qua T-score. Theo Tổ chức Y tế Thế giới, loãng xương được chẩn đoán khi T-score $\leq -2,5$ SD; thiếu xương khi T-score từ -1,0 đến -2,5 SD.

2.2.4.7. Định lượng nồng độ Klotho và cách đánh giá kết quả:

Dùng phương pháp hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme (ELISA) trên máy Immunomat (Đức) với bộ kit Human soluble α -Klotho Assay Kit (do hãng IBL, Nhật Bản sản xuất), độ nhạy 6,15 pg/mL, độ lặp lại nội kiểm $< 3,5\%$ và độ lặp lại giữa các lô $< 11,4\%$.

Máu tĩnh mạch được lấy vào ống không chứa chất chống đông, để đông tụ 30 phút, đem quay ly tâm lạnh 3.000 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C trong 15 phút, sau đó tách huyết thanh và bảo quản ở -40°C. Mẫu chỉ rã đông một lần, phân tích đồng thời để giảm sai số kỹ thuật. Nồng độ Klotho huyết thanh được xác định bằng nội suy từ đường cong chuẩn (93,75–6.000 pg/mL).

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu: phân tích bằng SPSS 22.0.

Biến định tính trình bày số lượng và %, biến định lượng bằng trung bình \pm SD hoặc trung vị, $p < 0,05$ là có ý nghĩa.

So sánh tỷ lệ dùng χ^2 , Fisher; so sánh trung bình dùng t-test,

ANOVA (phân phối chuẩn) hoặc Mann-Whitney, Kruskal-Wallis (phân phối không chuẩn).

Hệ số tương quan Pearson/Spearman và hồi quy (tuyến tính hoặc logistic) đơn biến–đa biến được sử dụng để phân tích các yếu tố liên quan; ROC đánh giá giá trị chẩn đoán thông qua AUC.

2.3. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được chấp thuận bởi Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y Sinh học Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế (số H2022/502) và Bệnh viện Thống Nhất (số 61/2022/BVTN-HĐYĐ).

Chi phí xét nghiệm Klotho huyết thanh và các chi phí phát sinh do nghiên cứu viên chi trả, đảm bảo quyền lợi bệnh nhân.

2.4. SƠ ĐỒ THIẾT KẾ NGHIÊN CỨU

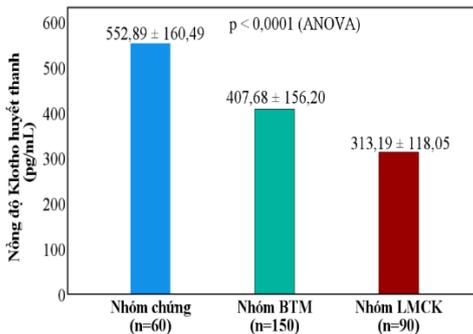
Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. ĐẶC ĐIỂM CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

3.2. NỒNG ĐỘ KLOTHO HUYẾT THANH Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN

3.2.1. Nồng độ Klotho của đối tượng nghiên cứu



Biểu đồ 3.2. Nồng độ Klotho của các đối tượng nghiên cứu

Nhận xét: Klotho giảm dần theo thứ tự nhóm chứng, nhóm bệnh thận mạn và nhóm lọc máu chu kỳ

Bảng 3.17. Nồng độ Klotho theo giai đoạn bệnh thận mạn

Nhóm nghiên cứu		Chứng ^a (n=60)	GD1 ^b (n=30)	GD2 ^c (n=30)	GD3 ^d (n=30)	GD4 ^e (n=30)	GD5 ^f (n=30)
Klotho huyết thanh (pg/mL)	Nhỏ nhất	313,84	225,52	176,25	196,53	127,50	116,25
	Lớn nhất	1058,17	882,43	885,44	598,40	515,02	623,67
	TB ±	552,89 ±	497,95	490,46	395,17	335,44	319,38
	ĐLC	160,49	±151,32	±183,16	±116,12	±98,23	±128,97
	p	p ^{a&b} > 0,05; p ^{a&c} > 0,05; p ^{a&d} < 0,0001; p ^{a&e} < 0,0001; p ^{a&f} < 0,0001; p ^{c&d} < 0,05					

Nhận xét: Klotho giảm dần theo tiến triển của bệnh thận mạn, bắt đầu giảm có ý nghĩa từ BTM giai đoạn 3.

- Ở nhóm LMCK, nồng độ Klotho huyết thanh trung bình ở bệnh nhân lọc máu < 5 năm là 337,95 ± 117,09 pg/mL, cao hơn có ý nghĩa so với nhóm ≥ 5 năm (258,36 ± 102,17 pg/mL, p<0,05)(Biểu đồ 3.3)

Bảng 3.20. Nồng độ Klotho theo rối loạn canxi-phospho ở nhóm bệnh (n=240)

Chỉ số	Phân nhóm	n	%	Klotho (pg/mL)	p
Canxi _{hc} (mmol/L)	Giảm (< 2,10)	36	15%	326,49 ±133,19	> 0,05
	Bình thường (2,10 - 2,54)	186	77,5%	379,31 ±149,09	
	Tăng (> 2,54)	18	7,5%	390,79 ±180,48	
Phospho máu (mmol/L)	Bình thường (≤ 1,78)	190	79,2%	389,38 ±152,50	< 0,001
	Tăng (> 1,78)	50	20,8%	307,15 ±120,76	
Ca × P (mmol ² /L ²)	Bình thường (< 4,4)	205	85,4%	382,71 ±153,39	< 0,05
	Tăng (≥ 4,4)	35	14,6%	310,94 ±111,64	

Nhận xét: Klotho không khác biệt giữa các nhóm canxi máu hiệu chỉnh, nhưng giảm đáng kể ở nhóm tăng phospho và nhóm tăng tích số canxi x phospho.

- Ở nhóm bệnh, nồng độ Klotho huyết thanh ở nhóm $25(\text{OH})\text{D} < 30 \text{ ng/mL}$ là $379,09 \pm 153,20 \text{ pg/mL}$, và ở nhóm $\geq 30 \text{ ng/mL}$ là $363,30 \pm 145,97 \text{ pg/mL}$; sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Biểu đồ 3.5)

Bảng 3.21. Nồng độ Klotho theo phân lớp PTH của các nhóm.

Klotho (pg/mL)		Nhóm chứng ¹ (n = 60)	Bệnh thận mạn ² (n = 150)	LMCK ³ (n = 90)	
PTH (pg/mL)	<150 ^(a) ± ĐLC (n=192)	TB	552,89	431,66	343,35
		± ĐLC	± 160,49	± 156,68	± 141,08
		p	$p^{1\&2} < 0,0001$; $p^{1\&3} < 0,0001$; $p^{2\&3} > 0,05$		
	≥150 ^(b) ± ĐLC (n=108)	n (%)	60(100)	120 (80)	12 (13,3)
		TB		311,74	308,55
		± ĐLC		± 112,79	± 14,46
p	$p^{2\&3} > 0,05$				
n (%)		30 (20)	78 (86,7)		
			$p^{(a)\&(b)} < 0,001$	$p^{(a)\&(b)} > 0,05$	

Nhận xét: Ở nhóm BTM, Klotho cao hơn rõ rệt khi PTH < 150 pg/mL, trong khi nhóm lọc máu không ghi nhận sự khác biệt.

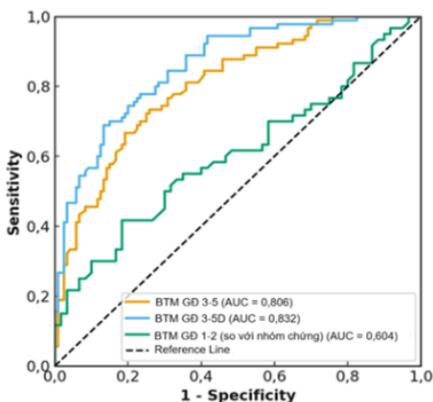
Bảng 3.25. Nồng độ Klotho giữa các nhóm bệnh nhân theo mật độ xương tại các vị trí đo khác nhau ở nhóm LMCK

Vị trí đo	Nhóm bệnh nhân	n	%	Klotho trung bình (pg/mL)	p
CSTL	Loãng xương	18	20,0	$269,50 \pm 106,54$	>0,05
	Thiếu xương	31	34,4	$328,78 \pm 142,62$	
	Bình thường	41	45,6	$320,58 \pm 99,12$	
CXĐ	Loãng xương	33	36,7	$292,85 \pm 133,03$	>0,05

	Thiếu xương	40	44,4	321,19 ± 110,37	
	Bình thường	17	18,9	333,85 ± 104,72	
Toàn bộ XĐ	Loãng xương	19	21,1	255,99 ± 110,28	<0,05
	Thiếu xương	30	33,3	346,57 ± 117,96	
	Bình thường	41	45,6	315,27 ± 114,24	
Toàn thân	Loãng xương	36	40,0	297,91 ± 132,46	>0,05
	Thiếu xương	40	44,4	319,45 ± 106,18	
	Bình thường	14	15,6	334,59 ± 114,40	

Nhận xét: Nồng độ Klotho trung bình không khác biệt giữa các nhóm tại CSTL, CXĐ và toàn thân ($p > 0,05$); riêng tại TBXĐ có khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$), thấp nhất ở nhóm loãng xương.

3.2.2. Đường cong ROC của nồng độ Klotho trong phân biệt giai đoạn BTM và các rối loạn chuyển hóa khoáng xương.



Biểu đồ 3.6. Đường cong ROC của Klotho trong phân biệt giảm MLCT

Bảng 3.26. Giá trị của nồng độ Klotho huyết thanh trong phân biệt tình trạng giảm mức lọc cầu thận và các giai đoạn bệnh thận mạn

Mô hình	AUC	p	KTC 95%	Điểmcắt (pg/mL)	Chỉ số Youden	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
Nhóm chứng với BTM ≥Đ 1-2	0,604	<0,05	0,502–0,706	424,2	0,217	0,81	0,400
BTM ≥Đ ≤ 2 với BTM ≥Đ 3-5	0,806	<0,01	0,747–0,864	390,8	0,475	0,808	0,667
BTM ≥Đ ≤ 2 với BTM ≥Đ 3–5Đ	0,832	<0,01	0,787–0,878	397,1	0,500	0,800	0,700

Nhận xét: AUC của nồng độ Klotho huyết thanh tăng dần qua các mô hình, cao nhất ở mô hình BTM ≤ Đ 2 với BTM ≥Đ 3–5Đ, cho thấy Klotho có khả năng phân biệt tốt khi BTM ở giai đoạn tiến triển.

3.3. MỐI LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ KLOTHO HUYẾT THANH VỚI MỨC LỌC CẦU THẬN, CÁC YẾU TỐ KHOÁNG XƯƠNG, MẬT ĐỘ XƯƠNG VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ KHÁC Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN

3.3.1. Tương quan giữa Klotho với các yếu tố ở nhóm BTM

Bảng 3.28. Tương quan giữa Klotho với các yếu tố cận lâm sàng ở nhóm BTM

Khoảng xương	Klotho	Canxi hc	Phospho	Ca x PPTH	25(OH)D		
Hb	r	0,31	0,21	-0,44	-0,38	-0,58	0,14
	p	<0,001	0,01	<0,001	<0,001	<0,001	0,08
Ure	r	-0,39	-0,22	0,5	0,45	0,7	-0,14
	p	<0,001	0,007	<0,001	<0,001	<0,001	0,10
Creatinin	r	-0,46	-0,19	0,49	0,44	0,74	-0,11
	p	<0,001	0,20	<0,001	<0,001	<0,001	0,18
MLCT	r	0,45	0,23	-0,44	-0,39	-0,61	0,02
	p	<0,001	0,004	<0,001	<0,001	<0,001	0,78

Nhận xét: Klotho tương quan thuận với mức lọc cầu thận và

hemoglobin, tương quan nghịch với ure, creatinin trong nhóm bệnh nhân bệnh thận mạn.

- Ở nhóm BTM, Klotho có tương quan nghịch với PTH ($r = -0,37$; $p < 0,001$), nhưng không có tương quan với canxi hiệu chỉnh ($r = 0,08$; $p = 0,35$), phospho ($r = -0,13$; $p = 0,12$), $Ca \times P$ ($r = -0,11$; $p = 0,17$) và $25(OH)D$ ($r = 0,004$; $p = 0,96$) (Bảng 3.29).

Bảng 3.30. Phân tích tương quan giữa nồng độ Klotho huyết thanh với MĐX và T-score tại 3 vị trí đo ở nhóm BTM GD 3-5 ($n = 90$)

Vị trí đo	Biến số	r	p
CSTL	MĐX	0,03	0,77
	T-score	0,01	0,89
CXĐ	MĐX	0,004	0,97
	T-score	0,02	0,86
TBXĐ	MĐX	-0,00	0,96
	T-score	0,02	0,83

Nhận xét: Không có tương quan ý nghĩa giữa Klotho huyết thanh và mật độ xương hoặc T-score tại CXĐ, TBXĐ, CSTL ($p > 0,05$).

- Phân tích hồi quy tuyến tính đơn biến ở nhóm BTM chưa lọc máu cho thấy 7 yếu tố liên quan có ý nghĩa với Klotho ($p < 0,05$), trong đó MLCT có tương quan cao nhất ($R^2 = 0,206$), tiếp theo là creatinin, ure, PTH, hemoglobin, số rối loạn khoáng xương và thấp nhất là tuổi ($R^2 = 0,037$) (Bảng 3.31).

Bảng 3.32. Hồi quy tuyến tính đa biến các yếu tố liên quan đến nồng độ Klotho trong nhóm BTM

Chỉ số	Hằng số B	Hệ số Beta (Chuẩn hóa)	t	p
Hằng số	307,517		3,061	0,003
MLCT (mL/ph/1,73 m ²)	2,172	0,487	4,583	<0,001
Hemoglobin (g/dL)	-1,357	-0,027	-0,188	0,851
Tuổi (năm)	0,171	0,014	0,202	0,840

Nhận xét: MLCT, hemoglobin và tuổi giải thích 20,7% biến thiên

Klotho ($R^2 = 0,207$; $p < 0,0001$). Phân tích hồi quy đa biến cho thấy MLCT là yếu tố có ảnh hưởng mạnh nhất đến Klotho ($\text{Beta} = 0,487$). Phương trình hồi quy: **Nồng độ Klotho (pg/mL) = 2,172 × MLCT (mL/ph/1,73 m²) – 1,357 × Hemoglobin (g/dL) + 0,171 × Tuổi (năm) + 307,517.**

- Phân tích hồi quy tuyến tính và logistic đơn biến giữa Klotho với MĐX, T-score, và tình trạng loãng xương ở nhóm BTM không ghi nhận mối liên quan có ý nghĩa giữa Klotho với mật độ xương, T-score tại các vị trí đo, hoặc nguy cơ loãng xương trong nhóm BTM tiến triển ($p > 0,05$). Hệ số R, R² và OR (≈ 1) đều thấp, cho thấy Klotho không ảnh hưởng đáng kể đến loãng xương ở nhóm này (Bảng 3.33; Bảng 3.34).

3.2.2. Tương quan giữa Klotho với các yếu tố trong nhóm LMCK

- Klotho có tương quan nghịch với thời gian lọc máu ($r = -0,29$; $p = 0,005$) (Bảng 3.35)

- Klotho không có tương quan với các yếu tố khoáng xương: canxi hiệu chỉnh ($r = -0,17$; $p = 0,11$), phospho ($r = -0,09$; $p = 0,40$), Ca × P ($r = -0,12$; $p = 0,28$), PTH ($r = -0,17$; $p = 0,10$) và 25(OH)D ($r = -0,04$; $p = 0,72$) (Bảng 3.37)

Bảng 3.40. Hồi quy tuyến tính đa biến các yếu tố liên quan đến Klotho trong nhóm LMCK

Chỉ số	Hằng số B	Hệ số Beta (Chuẩn hóa)	t	p
Hằng số	238,123		1,478	0,143
Thời gian lọc máu	-0,655	-0,224	-2,167	0,033
Hemoglobin	26,180	0,292	2,905	0,005
HATTr	-2,084	-0,152	-1.508	0,135

Nhận xét: Với $R = 0,413$ và $R^2 = 0,170$, ba yếu tố thời gian lọc máu, hemoglobin và huyết áp tâm trương giải thích 17% biến thiên nồng độ Klotho. Tuy nhiên, chỉ Hemoglobin ($\beta = 0,292$; $p = 0,005$) và thời

gian lọc máu ($\beta = -0,224$; $p = 0,033$) có ý nghĩa thực sự. Phương trình hồi quy: **Nồng độ Klotho (pg/mL) = $-0,655 \times$ Thời gian lọc máu (tháng) + $26,180 \times$ Hemoglobin (g/dL) - $2,084 \times$ HATTr (mmHg) + $238,123$.**

- Phân tích hồi quy tuyến tính đơn biến không cho thấy mối liên quan có ý nghĩa giữa Klotho và mật độ xương, T-score ở nhóm LMCK ($p > 0,05$).

Chương 4 BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM CỦA ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

4.2. NỒNG ĐỘ KLOTHO HUYẾT THANH Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN

4.2.1. Nồng độ Klotho huyết thanh giữa các nhóm nghiên cứu

Nồng độ Klotho huyết thanh giảm dần theo thứ tự nhóm chứng đến nhóm BTM và thấp nhất ở nhóm LMCK ($p < 0,05$), phù hợp với xu hướng ghi nhận trong nhiều nghiên cứu tại Nhật Bản, Đức, Thụy Sĩ, Ý và Trung Quốc. Tuy nhiên, giá trị tuyệt đối giữa các nghiên cứu còn khác biệt có thể do khác biệt về phương pháp đo, bộ kit xét nghiệm và đặc điểm dân số. Các yếu tố như viêm, stress oxy hóa, độc tố urê, hệ renin-angiotensin và ảnh hưởng của điều trị (vitamin D, thuốc gắn phosphate) có thể ảnh hưởng đến biểu hiện Klotho, nhấn mạnh sự cần thiết của chuẩn hóa quy trình xét nghiệm và kiểm soát các yếu tố đi kèm.

Ở nhóm LMCK, Klotho giảm rõ so với nhóm chứng, tương tự các nghiên cứu của Yokoyama, Ling Yu, Wei, Pasaoglu và Yan Lin. Ngoài ảnh hưởng của thời gian lọc máu, Klotho thấp còn liên quan đến các biến chứng tim mạch và rối loạn chuyển hóa khoáng chất. Tuy nhiên, nhiều yếu tố khác như phương thức lọc máu, viêm mạn tính, bệnh lý kèm theo và điều trị có thể làm biến động nồng độ Klotho. Do đó, cần thêm các nghiên cứu chuẩn hóa để làm rõ giá trị tiên lượng và vai trò trong đánh giá diễn tiến bệnh của Klotho ở bệnh nhân lọc máu.

4.2.2. Nồng độ Klotho huyết thanh theo giai đoạn của BTM

Nghiên cứu cho thấy Klotho huyết thanh giảm dần theo tiến triển BTM, bắt đầu có ý nghĩa từ giai đoạn 3 ($p < 0,05$) và rõ hơn ở giai đoạn 4-5 ($p < 0,001$), gợi ý vai trò phản ánh mức độ bệnh thận mạn. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu của Shimamura, Pavik, Liu, Rotondi, khi một số tác giả ghi nhận Klotho giảm từ giai đoạn 2 và xem như dấu ấn sinh học sớm. Tuy nhiên, giá trị tuyệt đối giữa các nghiên cứu còn khác biệt có thể do khác nhau về phương pháp đo, bộ kit và dân số nghiên cứu. Ngoài ra, tổn thương ống thận, viêm và yếu tố điều trị cũng ảnh hưởng đến nồng độ Klotho. Một vài nghiên cứu như Seiler không ghi nhận sự khác biệt rõ theo các giai đoạn BTM. Tóm lại, Klotho có tiềm năng là chỉ dấu phản ánh tiến triển BTM, nhưng cần thêm nghiên cứu để làm rõ vai trò chẩn đoán sớm.

4.2.3. Nồng độ Klotho huyết thanh theo thời gian lọc máu (< 5 năm và ≥ 5 năm)

Nồng độ Klotho giảm đáng kể ở bệnh nhân lọc máu ≥ 60 tháng (5 năm) so với < 60 tháng ($p < 0,05$) và có mối tương quan nghịch với thời gian lọc máu ($r = -0,29$; $p = 0,005$), cho thấy thời gian lọc máu kéo dài có thể góp phần làm giảm Klotho. Khác với nghiên cứu của Memmos không ghi nhận mối liên quan này, sự khác biệt có thể do đặc điểm dân số và phương pháp đo. Klotho còn chịu ảnh hưởng bởi tổn thương ống thận, chức năng thận tồn dư, viêm mạn và stress oxy hóa. Nhìn chung, kết quả của chúng tôi gợi ý thời gian lọc máu là yếu tố có liên quan đến giảm Klotho và mức Klotho thấp có thể giúp đánh giá diễn tiến bệnh ở bệnh nhân LMCK lâu năm.

4.3. MỐI LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ KLOTHO HUYẾT THANH VỚI MỨC LỌC CẦU THẬN, CÁC YẾU TỐ KHOÁNG XƯƠNG, MẬT ĐỘ XƯƠNG VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ KHÁC Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN

4.3.1. Liên quan giữa Klotho với mức lọc cầu thận

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy Klotho huyết thanh giảm dần theo tiến triển bệnh thận mạn và có mối tương quan thuận mức độ vừa với MLCT ($r = 0,45$; $p < 0,001$). Klotho bắt đầu giảm có ý nghĩa từ giai đoạn 3, giảm sâu hơn ở giai đoạn 4-5 ($p < 0,001$). Kết quả

này phù hợp với nhiều nghiên cứu quốc tế: Liu và cộng sự ($r = 0,593$; $p < 0,001$) trên bệnh nhân BTM giai đoạn 3-5; Pavik và cộng sự ($r^2 = 0,41$; $p < 0,0001$) trên bệnh nhân giai đoạn 1-5; Shimamura và cộng sự ($r = 0,441$; $p < 0,0001$). Ngược lại, nghiên cứu của Seiler ($p = 0,098$) không ghi nhận mối liên hệ rõ rệt. Phân tích gộp của Wang và cộng sự (2018) trên 1.457 bệnh nhân từ 9 nghiên cứu báo cáo hệ số tương quan tổng hợp giữa Klotho và MLCT là 0,35 ($p < 0,05$), không bị ảnh hưởng bởi tuổi, khu vực hay mức MLCT. Mối liên quan này phản ánh tổn thương ống thận - nơi tổng hợp chính Klotho - cùng với ảnh hưởng của viêm, xơ hóa và độc tố urê máu. Do đó, Klotho có thể đóng vai trò như dấu ấn sinh học phản ánh suy giảm chức năng thận, đặc biệt từ giai đoạn 3 trở đi.

Phân tích ROC cũng cho thấy điều tương tự khi Klotho có khả năng phân biệt tốt mức độ suy thận. Ở nhóm BTM GD 3–5D (so với BTM GD ≤ 2), AUC đạt 0,832 (KTC 95%: 0,787–0,878; $p < 0,01$) với điểm cắt 397,1 pg/mL, độ nhạy 80,0% và độ đặc hiệu 70,0% (Youden = 0,500), gợi ý giá trị chẩn đoán tiềm năng của Klotho trong nhận diện suy thận tiến triển.

4.3.2. Liên quan giữa Klotho với các yếu tố khoáng xương

Nghiên cứu phân tích mối liên quan giữa Klotho và các yếu tố khoáng xương, kết quả cho thấy:

Canxi máu hiệu chỉnh: Nồng độ Klotho có xu hướng giảm nhẹ ở nhóm hạ canxi máu, tuy nhiên sự khác biệt chưa đạt ý nghĩa thống kê và không ghi nhận tương quan tuyến tính giữa Klotho và canxi ở cả hai nhóm BTM và LMCK. Phân tích ROC cho thấy Klotho phân biệt tình trạng hạ canxi máu ở mức trung bình (AUC = 0,655; $p < 0,05$). Mặc dù Klotho có vai trò điều hòa kênh TRPV5 và trục FGF23–vitamin D, các nghiên cứu trước đây vẫn cho kết quả chưa đồng nhất, có thể do khác biệt về quần thể nghiên cứu, giai đoạn bệnh, tình trạng viêm mạn, rối loạn nội tiết và các yếu tố điều trị (như bổ sung canxi hoặc thuốc gắn phosphate). Ở bệnh nhân LMCK, biến động canxi liên quan đến lọc máu và điều trị đi kèm có thể làm giảm khả năng phát hiện mối liên quan này. Dù vậy, dữ liệu vẫn gợi

ý Klotho có thể tham gia vào cơ chế điều hòa canxi trong CKD–MBD.

Phospho máu: Nồng độ Klotho giảm có ý nghĩa ở nhóm tăng phospho máu ($p < 0,001$), tuy nhiên không ghi nhận tương quan tuyến tính trong nhóm BTM ($r = -0,13$; $p = 0,12$) và LMCK ($r = -0,09$; $p = 0,40$). Phân tích ROC cho thấy Klotho có khả năng phân biệt tình trạng tăng phospho máu với $AUC = 0,654$ ($p < 0,01$), thấp hơn so với PTH ($AUC = 0,839$; $p < 0,001$). Các phân tích gộp trước đây cũng ghi nhận mối tương quan nghịch mức độ yếu giữa Klotho và phospho, đặc biệt ở nhóm BTM, phù hợp với vai trò sinh lý của Klotho trong tăng thải phosphate qua thận. Sự khác biệt giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến mức độ suy thận, tình trạng viêm mạn tính và các liệu pháp điều trị. Ở bệnh nhân LMCK, dao động phospho chịu ảnh hưởng bởi quá trình lọc máu và sử dụng thuốc gắn phosphate có thể làm thay đổi mối liên quan quan sát được giữa Klotho và phospho.

PTH máu: Nghiên cứu ghi nhận mối tương quan nghịch giữa Klotho và PTH ở nhóm BTM chưa lọc máu ($r = -0,37$; $p < 0,001$), trong khi không có ý nghĩa ở nhóm LMCK. Kết quả này góp phần củng cố vai trò điều hòa ngược giữa Klotho và PTH thông qua trục Klotho–FGF23. Sự không đồng nhất giữa các nghiên cứu cho thấy mối liên quan Klotho–PTH có thể chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố, trong đó cơ chế bệnh sinh CKD–MBD đóng vai trò trung tâm. Ngoài ra, phân tích ROC cho thấy Klotho phân biệt tình trạng tăng PTH (≥ 150 pg/mL) ở bệnh nhân BTM với $AUC = 0,712$ ($p < 0,01$), gợi ý Klotho có thể có giá trị hỗ trợ trong đánh giá rối loạn cận giáp ở bệnh nhân mạn giai đoạn tiến triển.

25(OH)D: Nghiên cứu không ghi nhận mối liên quan có ý nghĩa giữa Klotho và nồng độ 25(OH)D huyết thanh ($p > 0,05$). Mặc dù một số nghiên cứu can thiệp cho thấy vitamin D hoạt hóa có thể làm tăng biểu hiện Klotho, các dữ liệu quan sát hiện nay vẫn chưa đủ để khẳng định mối liên quan nhất quán giữa Klotho và vitamin D dạng dự trữ.

4.3.3. Liên quan giữa Klotho với mật độ xương, loãng xương

Ở nhóm BTM chưa lọc máu, Klotho không liên quan đáng kể đến mật độ xương tại tất cả các vị trí đo ($p > 0,05$). Ở LMCK, Klotho giảm ở bệnh nhân loãng xương tại toàn bộ xương đùi ($p = 0,030$), nhưng phân tích hồi quy không cho thấy ý nghĩa thống kê. Kết quả này có thể do khác biệt chuyển hóa giữa xương vỏ và xương bè trong CKD-MBD. Ngoài ra, MĐX cột sống đo bằng DXA ở bệnh nhân lọc máu dễ bị nhiễu bởi thoái hóa hoặc vôi hóa gây tăng giả tạo, và cỡ mẫu phân nhóm loãng xương còn nhỏ, do đó cần xác nhận thêm bằng các nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn.

Một số nghiên cứu, như của Chewcharat (2022), không ghi nhận mối liên hệ giữa Klotho và loãng xương, trong khi các nghiên cứu khác (Zhang, Jiang, Zheng) lại cho thấy Klotho thấp có thể liên quan đến giảm mật độ xương hoặc tăng nguy cơ loãng xương tại một số vị trí nhất định và trên các đối tượng cụ thể. Nhìn chung, kết quả vẫn chưa thống nhất và cần thêm bằng chứng để làm rõ mối liên quan này. Mặc dù chưa ghi nhận mối liên quan có ý nghĩa, kết quả âm tính này vẫn có giá trị khoa học, gợi ý rằng Klotho có thể không phản ánh trực tiếp thay đổi MĐX tại một thời điểm, đặc biệt trong thiết kế cắt ngang và bối cảnh CKD-MBD đa yếu tố (PTH, FGF23, vitamin D hoạt hóa và các yếu tố lâm sàng liên quan).

Tóm lại, Klotho không liên quan rõ với MĐX ở BTM, nhưng xu hướng giảm ở bệnh nhân LMCK có loãng xương gợi ý vai trò tiềm năng của Klotho trong CKD-MBD. Cần thêm các nghiên cứu đoàn hệ theo dõi dọc, đa trung tâm và phân tích đa biến để xác định giá trị của Klotho trong đánh giá sức khỏe xương.

4.3.4. Phân tích hồi quy tuyến tính giữa Klotho và các yếu tố

Hồi quy tuyến tính cho thấy MLCT là yếu tố liên quan độc lập mạnh nhất của Klotho ở nhóm BTM (R^2 của mô hình là 0,207), trong khi hemoglobin và thời gian lọc máu là yếu tố chính ở nhóm LMCK (R^2 của mô hình là 0,170). Các nghiên cứu quốc tế cũng ghi nhận MLCT, Hb, phospho, hoặc tuổi có thể là yếu tố liên quan đến Klotho, nhưng chưa nhất quán. Kết quả trên phản ánh cơ chế điều hòa Klotho

khác nhau theo giai đoạn bệnh. Klotho có tiềm năng trở thành dấu ấn sinh học đánh giá tiến triển BTM và tình trạng nội môi ở BN LMCK.

Tóm lại, nghiên cứu ghi nhận nồng độ Klotho huyết thanh giảm dần từ nhóm chứng đến nhóm bệnh thận mạn và thấp nhất ở nhóm lọc máu chu kỳ. Klotho tương quan thuận rõ rệt với mức lọc cầu thận và phân tích ROC cho thấy giá trị phân biệt tốt đối với bệnh thận mạn tiến triển (giai đoạn 3A–5D). Ở nhóm lọc máu chu kỳ, nồng độ Klotho giảm có ý nghĩa ở bệnh nhân loãng xương tại vùng xương đùi. Trong nhóm bệnh thận mạn chưa lọc máu, Klotho có tương quan nghịch với PTH; tuy nhiên, không ghi nhận mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa Klotho với canxi, phospho và 25(OH)D ở cả hai nhóm bệnh thận mạn và lọc máu chu kỳ. Với cỡ mẫu phù hợp, phân tầng bệnh thận mạn rõ ràng, có nhóm chứng đối chiếu và quy trình xét nghiệm được chuẩn hóa, kết quả của chúng tôi tương đồng với nhiều nghiên cứu quốc tế và góp phần bổ sung dữ liệu cho bệnh nhân Việt Nam. Qua đó, Klotho cho thấy tiềm năng trở thành dấu ấn sinh học phản ánh suy giảm chức năng thận và rối loạn CKD–MBD; tuy nhiên, cần thêm các nghiên cứu quy mô lớn và theo dõi dọc để khẳng định giá trị ứng dụng trên lâm sàng.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu nồng độ Klotho huyết thanh và mối liên quan với một số yếu tố lâm sàng, chỉ số xét nghiệm, rối loạn khoáng xương và mật độ xương trên 300 đối tượng, bao gồm 60 người khỏe mạnh (nhóm chứng) và 240 bệnh nhân bệnh thận mạn (150 bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn 1 đến giai đoạn 5 chưa lọc máu và 90 bệnh nhân lọc máu chu kỳ) tại Bệnh viện Thống Nhất, từ tháng 10 năm 2022 đến tháng 06 năm 2024, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. NỒNG ĐỘ KLOTHO HUYẾT THANH Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN

Nồng độ klotho huyết thanh giảm rõ rệt ở bệnh nhân bệnh thận mạn và có xu hướng giảm dần theo mức độ tiến triển của bệnh, đặc

biệt ở bệnh nhân lọc máu chu kỳ. Những kết quả chính bao gồm:

- Nồng độ Klotho huyết thanh giảm dần từ nhóm chứng ($552,89 \pm 160,49$ pg/mL) đến nhóm bệnh thận mạn giai đoạn 1–5 chưa lọc máu ($407,68 \pm 156,20$ pg/mL) và thấp nhất ở nhóm lọc máu chu kỳ ($313,19 \pm 118,05$ pg/mL), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$).

- Nồng độ Klotho trung bình ở các giai đoạn BTM 1, 2, 3, 4 và 5 có giá trị lần lượt là $497,95 \pm 151,32$; $490,46 \pm 183,16$; $395,17 \pm 116,12$; $335,44 \pm 98,23$; và $319,38 \pm 128,97$ pg/mL, cho thấy xu hướng giảm dần khi bệnh tiến triển. Sự giảm này có ý nghĩa từ giai đoạn 3 trở đi so với nhóm chứng, cũng như so với giai đoạn 1 và 2.

- Ở bệnh nhân LMCK, nhóm có thời gian lọc máu ≥ 60 tháng có nồng độ Klotho trung bình $258,36 \pm 102,17$ pg/mL, thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm lọc máu < 60 tháng ($337,95 \pm 117,09$ pg/mL).

2. MỐI LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ KLOTHO HUYẾT THANH VỚI MỨC LỌC CẦU THẬN, CÁC YẾU TỐ KHOÁNG XƯƠNG VÀ MẬT ĐỘ XƯƠNG

Nồng độ Klotho huyết thanh có mối liên quan với chức năng thận, một số yếu tố khoáng–xương và mật độ xương ở bệnh nhân bệnh thận mạn, thể hiện qua các kết quả sau:

2.1. Mối liên quan giữa Klotho và mức lọc cầu thận

- Nồng độ Klotho huyết thanh có tương quan thuận với mức lọc cầu thận ($r = 0,45$; $p < 0,001$) và hemoglobin ($r = 0,31$; $p < 0,001$); tương quan nghịch với ure ($r = -0,39$; $p < 0,001$) và creatinin ($r = -0,46$; $p < 0,001$).

- Phân tích ROC cho thấy Klotho có khả năng phân biệt khá tốt tình trạng giảm mức lọc cầu thận (< 60 mL/ph/1,73 m² hay bệnh thận mạn giai đoạn 3-5D), với AUC = 0,832 (KTC 95%: 0,787–0,878; độ nhạy 80%; độ đặc hiệu 70%; $p < 0,01$).

- Hồi quy đa biến cho thấy mức lọc cầu thận là yếu tố liên quan độc lập mạnh nhất của nồng độ Klotho huyết thanh, với phương trình:

Nồng độ Klotho (pg/mL) = $2,172 \times \text{MLCT (mL/ph/1,73 m}^2\text{)} - 1,357 \times \text{Hemoglobin (g/dL)} + 0,171 \times \text{Tuổi (năm)} + 307,517$.

Mô hình có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$), với hệ số xác định $R^2 = 0,207$, giải thích khoảng 20,7% sự biến thiên nồng độ Klotho.

2.2. Mối liên hệ giữa Klotho và các yếu tố khoáng xương

- Ở nhóm bệnh thận mạn chưa lọc máu, Klotho có tương quan nghịch với PTH ($r = -0,37$; $p < 0,001$) nhưng không có mối liên hệ có ý nghĩa với canxi, phospho hoặc 25(OH)D huyết thanh ($p > 0,05$).

- Ở nhóm lọc máu chu kỳ, Klotho tương quan nghịch với thời gian lọc máu ($r = -0,29$; $p = 0,005$) và thuận với hemoglobin ($r = 0,34$; $p < 0,001$); không ghi nhận tương quan có ý nghĩa giữa Klotho và canxi, phospho, 25(OH)D hoặc PTH.

- Hồi quy đa biến xác định thời gian lọc máu và hemoglobin là hai yếu tố ảnh hưởng chính đến nồng độ Klotho huyết thanh ở nhóm LMCK. Phương trình hồi quy đầy đủ:

Nồng độ Klotho (pg/mL) = $-0,655 \times$ Thời gian lọc máu (tháng) + $26,180 \times$ Hemoglobin (g/dL) - $2,084 \times$ Huyết áp tâm trương (mmHg) + $238,123$.

Mô hình có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$), với hệ số xác định $R^2 = 0,170$, giải thích khoảng 17% sự biến thiên nồng độ Klotho.

2.3. Mối liên hệ giữa Klotho và mật độ xương

- Ở bệnh nhân lọc máu chu kỳ, nồng độ Klotho giảm có ý nghĩa ở nhóm có loãng xương tại vị trí toàn bộ xương đùi ($255,99 \pm 110,28$ pg/mL) so với nhóm thiếu xương hoặc mật độ xương bình thường ($315,27 \pm 114,24$ pg/mL; $p < 0,05$). Tuy nhiên, chưa ghi nhận tương quan tuyến tính có ý nghĩa giữa Klotho và mật độ xương tại các vị trí khác.

KIẾN NGHỊ

Dựa trên kết quả nghiên cứu, chúng tôi đề xuất một số kiến nghị sau:

1. Ứng dụng Klotho trong thực hành lâm sàng

- Nồng độ klotho huyết thanh giảm dần theo tiến triển bệnh thận mạn và thời gian lọc máu, đặc biệt giảm rõ từ giai đoạn 3 trở đi. Do đó, xét nghiệm Klotho có thể được cân nhắc sử dụng như một dấu ấn sinh học bổ sung ở các nhóm bệnh nhân chọn lọc, bao gồm: bệnh nhân bệnh thận mạn từ giai đoạn 3 trở lên; bệnh nhân có rối loạn

khoáng–xương (PTH tăng, phospho tăng, mật độ xương giảm); bệnh nhân lọc máu chu kỳ, đặc biệt ở nhóm có thời gian lọc máu kéo dài.

- Phân tích ROC cho thấy Klotho có khả năng phân biệt tình trạng giảm mức lọc cầu thận ($< 60 \text{ ml/ph}/1,73 \text{ m}^2$) khá tốt, gợi ý tiềm năng ứng dụng hỗ trợ đánh giá mức độ suy giảm chức năng thận ở các nhóm nguy cơ cao, trong điều kiện xét nghiệm ELISA hiện có.

2. Theo dõi và can thiệp sớm CKD-MBD

- Xét nghiệm Klotho có thể được sử dụng phối hợp cùng với Ca, P, PTH, 25(OH)D và mật độ xương để phát hiện sớm rối loạn CKD–MBD và theo dõi đáp ứng điều trị ở bệnh nhân bệnh thận mạn.

- Mặc dù thiết kế nghiên cứu cắt ngang chưa cho phép kết luận quan hệ nhân–quả, cần ưu tiên kiểm soát các yếu tố thường đi kèm với nồng độ Klotho thấp, bao gồm tăng phospho máu, PTH tăng và thiếu máu, nhằm góp phần cải thiện tình trạng CKD–MBD và hạn chế các biến chứng xương–mạch máu ở bệnh nhân bệnh thận mạn.

3. Định hướng nghiên cứu tiếp theo

- Cần nghiên cứu đoàn hệ dọc để theo dõi biến đổi nồng độ Klotho theo tiến triển bệnh và đáp ứng điều trị.

- Kết hợp phân tích đồng thời các dấu ấn khác như FGF23, sclerostin hoặc 25(OH)D hoạt tính để xây dựng mô hình tiên lượng toàn diện CKD–MBD và đánh giá ngưỡng Klotho có ý nghĩa lâm sàng cho từng giai đoạn bệnh.

CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CÓ LIÊN QUAN ĐỀ TÀI ĐÃ CÔNG BỐ

1. Nguyễn Minh Quân, Võ Tam. Nghiên cứu nồng độ Klotho huyết thanh và mối liên quan đến một số rối loạn khoáng xương ở bệnh nhân lọc máu chu kỳ. Tạp chí Y Dược Huế – Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế. Số đặc biệt Hội nghị Tiết niệu – Thân học; tháng 8/2024: tr.598-607. ISSN: 3030-4318; eISSN: 3030-4326.

2. Nguyễn Minh Quân, Võ Tam. Nghiên cứu nồng độ Klotho huyết thanh và mối liên quan với mức lọc cầu thận, một số chỉ số sinh hóa ở bệnh nhân bệnh thận mạn. Tạp chí Y Dược Huế – Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế. 2025; Tập 15, Số 1: tr.152-160. ISSN: 3030-4318; eISSN: 3030-4326. DOI: 10.34071/jmp.2025.1.21.

3. Nguyễn Minh Quân, Võ Tam. Đánh giá nguy cơ loãng xương và các yếu tố ảnh hưởng đến mật độ xương ở bệnh nhân bệnh thận mạn tiến triển và đang lọc máu chu kỳ. Tạp chí Y học Cộng đồng. 2025;66(Số chuyên đề 19):260-267. ISSN: 2354 - 0613.doi:10.52163/yhc.v66iCD19.3713.

HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY

NGUYEN MINH QUAN

**SERUM KLOTHO LEVELS AND THEIR ASSOCIATION
WITH MINERAL AND BONE DISORDERS IN
PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE**

Major: INTERNAL MEDICINE

Code: 9 72 01 07

MEDICAL DOCTORAL DISSERTATION

HUE - 2026

The name of postgraduate training institution:
UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY,
HUE UNIVERSITY

Academic supervisor:

Pro. VO TAM

Reviewer 1:

Reviewer 2:

Reviewer 3:

The doctoral thesis was defended before the Hue University thesis
review board at:

At the time:.....

The doctoral thesis can be found at:

- National library of Vietnam
- The library of Hue University
- The library of University of Medicine and Pharmacy, Hue University

1. INTRODUCTION

Chronic kidney disease (CKD) is a major global health issue with rapidly increasing morbidity and mortality. In 2017, an estimated 843.6 million individuals were affected by CKD; among adults aged ≥ 20 years, the prevalence was 10.4% in men and 11.8% in women. CKD is particularly common in the elderly due to the age-related decline in glomerular filtration rate (GFR) and is strongly associated with diabetes, hypertension, and race-related factors. According to the Global Burden of Disease (GBD) report, CKD-related mortality increased by 41.5% from 1990 to 2017; CKD ranked 12th among causes of reduced life expectancy in 2017 and is projected to rise to 5th place by 2040.

CKD results in a wide range of complications, among which chronic kidney disease–mineral and bone disorder (CKD-MBD) is especially important, as it contributes significantly to fracture risk and cardiovascular mortality. Early detection of CKD and CKD-MBD is therefore crucial for disease control and reducing the healthcare burden.

Klotho, a protein predominantly secreted by renal tubular cells, has recently emerged as a potential biomarker of interest, given its close association with the endocrine function of the kidney. Klotho acts as an obligate co-receptor for fibroblast growth factor 23 (FGF23), thereby participating in the regulation of phosphate and vitamin D metabolism. Numerous studies have reported early reductions in Klotho levels in CKD and associations with CKD-MBD; however, some investigations have failed to confirm these findings. Variability in study designs and existing research gaps have led to ongoing debate regarding the clinical significance of this biomarker.

In Vietnam, research on CKD-MBD has largely focused on calcium, phosphate, parathyroid hormone (PTH), and vitamin D, while data on Klotho and bone mineral density remain limited. For this reason, we conducted the study entitled “**Serum Klotho levels and their association with mineral and bone disorders in patients with chronic kidney disease**”, with the following objectives:

1. *To determine serum Klotho levels in patients with chronic kidney*

disease from stages 1 to 5, including those undergoing maintenance hemodialysis.

2. To investigate the relationship between serum Klotho levels and glomerular filtration rate in non-dialysis CKD patients, and to assess their associations with mineral–bone parameters (serum calcium, phosphate, parathyroid hormone, and 25-hydroxyvitamin D) and bone mineral density.

2. CONTRIBUTIONS OF THE DISSERTATION

This is the first study in Vietnam to investigate serum Klotho levels and their association with mineral–bone disorders and bone mineral density in patients with chronic kidney disease.

Scientific significance:

The study clarifies how serum Klotho levels change across CKD stages and relate to mineral–bone abnormalities and bone density, improving understanding of CKD–MBD and highlighting the biomarker’s potential prognostic value.

Practical significance:

The study supports early detection of CKD progression through declining Klotho levels, helps identify the risk of CKD–MBD, and suggests combining Klotho with standard mineral–bone markers for clinical management. The findings also guide early monitoring and interventions to reduce skeletal and cardiovascular complications.

3. STRUCTURE OF THE DISSERTATION

The dissertation comprises 148 pages: Introduction (3 pages), Literature Review (39 pages), Subjects and Methods (29 pages), Results (35 pages), Discussion (39 pages), Conclusion (2 pages), and Recommendations (1 page). It includes 56 tables, 10 figures, 1 diagram, 15 charts, and 172 references (12 Vietnamese, 160 English)

Chapter 1

LITERATURE REVIEW

1.1. CHRONIC KIDNEY DISEASE AND CKD-RELATED MINERAL AND BONE DISORDERS

1.1.1. Diagnosis of CKD and Its Complications

1.1.1.1. Diagnosis of CKD

According to KDIGO 2012, chronic kidney disease (CKD) is defined by the presence of kidney structural damage and/or

decreased kidney function lasting for at least 3 months, with implications for health. Decreased kidney function is diagnosed when the estimated glomerular filtration rate (eGFR) is ≤ 60 mL/min/1.73 m². Structural kidney damage can be detected directly by kidney biopsy or indirectly through markers such as the urinary albumin-to-creatinine ratio or proteinuria, abnormal urinary sediment, imaging abnormalities, disturbances in fluid and electrolyte balance, tubular dysfunction, or a history of kidney transplantation. CKD is diagnosed when at least one of these two criteria is present, even when eGFR is > 60 mL/min/1.73 m².

1.1.1.2. Complications of Chronic Kidney Disease

CKD is associated with multiple severe complications, particularly as eGFR declines. Hypertension is common, accelerating disease progression and increasing cardiovascular risk. Cardiovascular disease—including atherosclerosis, left ventricular hypertrophy, and vascular calcification—remains the leading cause of death. Other major complications include anemia due to reduced erythropoietin production, fluid overload with edema and hypertension, metabolic acidosis, and electrolyte disturbances. Uremic syndrome, manifested by pruritus, fatigue, and sleep disturbances, significantly impairs quality of life. Endocrine dysfunction and chronic inflammation further contribute to systemic complications. Notably, CKD–mineral and bone disorder (CKD–MBD) increases the risk of osteoporosis and fractures and is also associated with higher cardiovascular mortality. Therefore, early detection and appropriate management of CKD–MBD are essential components of comprehensive CKD care.

1.1.2. Chronic kidney disease–mineral and bone disorder (CKD–MBD)

1.1.2.1. Definition of CKD-MBD

In 2005, KDIGO defined CKD–MBD as a systemic disorder of mineral and bone metabolism due to CKD, characterized by one or more of the following: (1) abnormalities in calcium, phosphate, parathyroid hormone (PTH), or vitamin D metabolism; (2) abnormalities in bone turnover, mineralization, volume, linear growth, or strength; and (3) vascular or soft-tissue calcification.

1.1.2.2. Mineral Metabolism Disorders in CKD

CKD–MBD develops early in the course of CKD and becomes more clinically apparent as eGFR declines, particularly below 45–50 mL/min/1.73 m². It is characterized by secondary hyperparathyroidism, hyperphosphatemia, hypocalcemia, and disturbances in vitamin D metabolism. In the early stages, compensatory increases in phosphate excretion by the remaining nephrons help maintain phosphate homeostasis, largely mediated by elevated FGF23 and PTH. However, as eGFR falls below 30–40 mL/min/1.73 m², these adaptive mechanisms become insufficient, resulting in hyperphosphatemia, reduced calcitriol levels, and progressive secondary hyperparathyroidism.

FGF23 (fibroblast growth factor 23), produced mainly by osteocytes and osteoblasts, acts in concert with its co-receptor Klotho in the kidney to promote phosphaturia and suppress renal 1,25(OH)₂D₃ synthesis. Klotho deficiency attenuates FGF23 signaling, thereby impairing phosphate regulation. Reduced calcitriol further decreases calcium-sensing receptor (CaSR) and vitamin D receptor (VDR) activation, leading to increased PTH secretion. Although PTH initially enhances renal calcium reabsorption and phosphate excretion, sustained elevation promotes bone resorption and contributes to hypercalcemia, hyperphosphatemia, and vascular calcification.

Collectively, the interplay among FGF23, PTH, calcitriol, and Klotho constitutes a progressive pathophysiological axis underlying CKD–MBD, underscoring the importance of early recognition and comprehensive management.

1.2. THE ROLE OF KLOTHO IN CHRONIC KIDNEY DISEASE AND ITS RELATIONSHIP WITH MINERAL–BONE DISORDERS

1.2.1. Functions of Klotho in chronic kidney disease

1.2.1.1. Overview of Klotho

Klotho is predominantly expressed in the kidney as a transmembrane protein that serves as a co-receptor facilitating FGF23 binding to fibroblast growth factor receptors (FGFRs). Its extracellular domain, consisting of two homologous subunits (K11

and K12), can be cleaved by the proteases ADAM10 and ADAM17, generating soluble Klotho or K11/K12 fragments that are released into the circulation. Soluble Klotho is detectable in blood, cerebrospinal fluid, and urine.

1.2.1.4. Functions and pathophysiology of Klotho in chronic kidney disease

As a co-receptor for fibroblast growth factor 23 (FGF23), the FGFR–Klotho complex mediates key effects on mineral metabolism. In the kidney, it reduces the expression of the NaPi-2a cotransporter, thereby enhancing urinary phosphate excretion. In addition, it suppresses 1α -hydroxylase activity, leading to decreased synthesis of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. In the distal convoluted tubule, Klotho also regulates the TRPV5 (transient receptor potential vanilloid 5) channel to promote calcium reabsorption and enhances sodium reabsorption via the NCC (Na^+ – Cl^- cotransporter).

Soluble Klotho, released into the circulation, may reflect the activity of membrane-bound Klotho. This soluble form can also regulate TRPV5 in an FGF23-independent manner by stabilizing the channel on the cell membrane, thereby increasing distal tubular calcium reabsorption. Moreover, soluble Klotho has been reported to exert protective effects, including antioxidant and anti-fibrotic actions, endothelial protection, ion channel regulation, and inhibition of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) signaling. These mechanisms may contribute to anti-aging effects and help preserve renal function.

1.2.2. Association between serum Klotho levels and glomerular filtration rate and mineral–bone metabolism disorders

1.3. CURRENT RESEARCH STATUS

1.3.1. International Studies

Studies in non-dialysis CKD populations have consistently demonstrated a decline in circulating Klotho levels with worsening kidney function. Pavik et al. (2013) reported that serum Klotho decreased from 1078.6 ± 1810.2 pg/mL in healthy controls to 460.2 ± 222.8 pg/mL in patients with CKD stage 5. Similarly, Rotondi et al. (2015) found significantly lower Klotho levels in CKD patients (519 ± 183 pg/mL) compared with controls, with reductions

observed as early as CKD stage 2. Several studies have reported a positive correlation between serum Klotho and eGFR, as well as associations with mineral–bone markers such as calcium, phosphate, PTH, and FGF23 (Rotondi et al., 2015; Khodeir et al., 2019). However, findings remain inconsistent. Ozeki et al. (2014) did not observe significant correlations between Klotho and calcium or phosphate, while Edmonston et al. (2024) reported that Klotho was not associated with mortality or CKD progression, whereas FGF23 remained an independent predictor. To date, evidence regarding the relationship between Klotho and bone mineral density remains limited and inconclusive.

In maintenance hemodialysis populations, multiple studies have shown lower Klotho levels compared with healthy controls. Ling Yu et al. (2018) reported a mean Klotho level of 379.93 ± 143.66 pg/mL, with no correlation with calcium or PTH and only a weak inverse correlation with phosphate. Wei et al. (2019) observed markedly lower Klotho levels (119.10 ± 47.29 pg/mL) and found no significant associations with calcium, phosphate, or PTH. Similarly, Pasaoglu et al. (2021) reported no significant correlations between Klotho and mineral metabolism markers or vitamin D levels.

1.3.2. Domestic Studies

In Vietnam, available evidence remains limited. Nguyen Huu Vu Quang and Vo Tam (2020) reported elevated FGF23 levels in patients with advanced CKD and those receiving hemodialysis. Nguyen Thanh Minh (2021) described a high prevalence of CKD–MBD among maintenance hemodialysis patients, with only 4.91% meeting at least three KDIGO target criteria. More recently, Nguyen Van Chi (2024) reported lower plasma Klotho levels in maintenance hemodialysis patients compared with controls; however, the difference was not statistically significant ($p > 0.05$).

Chapter 2

STUDY PARTICIPANTS AND METHODS

2.1. STUDY PARTICIPANTS

2.1.1. Study period and setting

The study was conducted from October 2022 to June 2024 at Thong Nhat Hospital. Participants were recruited from the

Nephrology Outpatient Clinic (Department of Outpatient Services) and the Department of Nephrology–Hemodialysis. Laboratory analyses were performed at the Departments of Hematology and Biochemistry, and bone mineral density measurements were conducted at the Department of Diagnostic Imaging.

2.1.2. Patient group

Inclusion criteria: Patients with CKD stages 1–5 not on dialysis and patients receiving maintenance hemodialysis, who were treated at the Nephrology Outpatient Clinic (Department of Outpatient Services) and the Department of Nephrology–Hemodialysis, Thong Nhat Hospital; aged ≥ 18 years; and providing written informed consent.

Exclusion criteria: Patients were excluded if they had severe comorbidities or conditions potentially affecting Klotho levels, including acute kidney injury, systemic lupus erythematosus, malignancy, severe infection, endocrine disorders, hepatitis, or cirrhosis. Patients with stage 5 chronic kidney disease not yet on dialysis and $eGFR < 7 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ were also excluded. In addition, pregnant or breastfeeding women, patients receiving medications that may influence Klotho levels or bone mineral density (long-term corticosteroids, bisphosphonates, denosumab, or high-dose vitamin D), those who had undergone bone surgery or joint replacement within the previous 6 months, and those with contraindications to bone mineral density measurement were excluded.

2.1.3. Control group

Controls were individuals undergoing routine health check-ups at the Nephrology Outpatient Clinic (Department of Outpatient Services), Thong Nhat Hospital, with normal clinical examination and basic laboratory test results (complete blood count; blood glucose; renal function; liver enzymes; electrolytes including sodium, potassium, chloride, and calcium; urinalysis using 10 parameters; electrocardiography; chest X-ray; and abdominal ultrasound), meeting no exclusion criteria and providing informed consent.

2.2. STUDY CONTENTS AND METHODS

2.2.1. Study design

This was a cross-sectional descriptive study with analytical components.

2.2.2. Sample size calculation

The minimum required sample size for each group was calculated based on the comparison of mean serum Klotho levels between the CKD group and the control group.

$$n = \frac{2 \times C}{(ES)^2}$$

According to Rotondi, the mean serum Klotho level in CKD patients was 519 ± 183 pg/mL, which was lower than that in controls (845 ± 330 pg/mL). With $\alpha = 0.05$ and power = 95% ($\beta = 0.05$), the constant $C = 13.0$. The calculated sample size was approximately 27 participants per group. This study included 300 participants: 60 healthy controls, 150 non-dialysis CKD patients (stages 1–5), and 90 maintenance hemodialysis patients.

A non-probability purposive sampling method was applied.

2.2.3. Study instruments and equipment

The DxH 900 analyzer (Beckman Coulter) was used for complete blood count testing. The AU5800 and DxI 800 systems (Beckman Coulter) and Cobas 8000 (Roche) were used for biochemical tests. Serum Klotho was quantified using an automated ELISA system (Immunomat, 4-plate, Germany). Bone mineral density was measured using a DXA Hologic system.

2.2.4. Study procedures

2.2.4.5. Definitions and measurement of study variables

Clinical variables included height, weight, body mass index (BMI), blood pressure, 24-hour urine volume, medical history (diabetes mellitus, hypertension, stroke, myocardial infarction, smoking), family history of kidney disease, duration of CKD, and dialysis vintage.

Laboratory variables included serum urea and creatinine, mineral–bone parameters (calcium, phosphate, parathyroid hormone [PTH], and 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D]), lipid profile (total cholesterol, triglycerides, LDL-C, HDL-C), serum albumin, complete blood count, and the urinary albumin-to-creatinine ratio.

Laboratory testing was conducted according to standardized procedures and met ISO 15189:2012 requirements at the Hematology and Biochemistry Departments of the hospital.

2.2.4.6. Bone mineral density measurement and assessment

Bone mineral density was measured using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) with a Hologic Discovery Wi system at the lumbar spine and proximal femur. Osteoporosis was assessed using the T-score. According to the World Health Organization, osteoporosis was diagnosed when T-score ≤ -2.5 SD, and osteopenia was defined as a T-score between -1.0 and -2.5 SD.

2.2.4.7. Measurement of serum Klotho and interpretation

Serum Klotho was measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) on the Immunomat system (Germany) with the Human soluble α -Klotho Assay Kit (IBL, Japan), with a sensitivity of 6.15 pg/mL, intra-assay coefficient of variation $< 3.5\%$, and inter-assay coefficient of variation $< 11.4\%$.

Venous blood samples were collected in tubes without anticoagulant, allowed to clot for 30 minutes, and centrifuged at 3,000 rpm at 4°C for 15 minutes. Serum was separated and stored at -40°C . Each sample was thawed only once and analyzed in a single batch to minimize technical variability. Serum Klotho concentrations were determined by interpolation from the standard curve (93.75–6,000 pg/mL).

2.2.5. Statistical analysis: Data were analyzed using SPSS version 22.0.

Categorical variables were presented as frequency and percentage, and continuous variables as mean \pm SD or median. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

Proportions were compared using the chi-square test or Fisher's exact test. Means were compared using the t-test or one-way ANOVA (for normally distributed data), and the Mann–Whitney U test or Kruskal–Wallis test (for non-normally distributed data).

Pearson or Spearman correlation coefficients and univariable/multivariable regression models (linear or logistic) were used to analyze associated factors. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed to evaluate diagnostic

performance using the area under the curve (AUC).

2.3. RESEARCH ETHICS

The study was approved by the Ethics Committee in Biomedical Research of Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University (No. H2022/502) and Thong Nhat Hospital (No. 61/2022/BVTN-HĐYĐ).

The costs of serum Klotho testing and other study-related expenses were covered by the investigators to ensure participants' benefits.

2.4. STUDY FLOW DIAGRAM

Chapter 3

RESEARCH RESULTS

3.1. CHARACTERISTICS OF THE STUDY POPULATION

3.2. SERUM KLOTHO LEVELS IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

3.2.1. Serum Klotho Levels in the Study Subjects

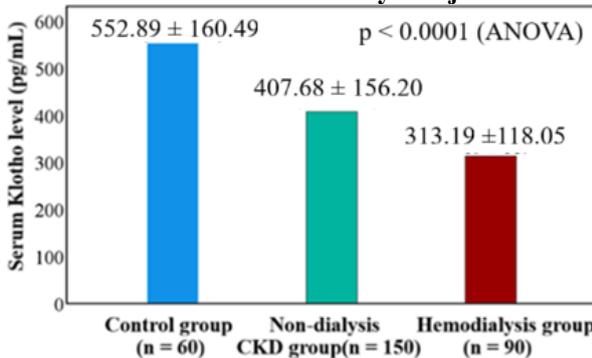


Figure 3.2. Serum Klotho Levels Across Study Groups

Observation: Serum Klotho levels progressively decreased from the control group to the chronic kidney disease group and were lowest in the hemodialysis group.

Table 3.17. Serum Klotho Levels by CKD Stage

Group		Control (n=60) ^a	Stage 1 (n=30) ^b	Stage 2 (n=30) ^c	Stage 3 (n=30) ^d	Stage 4 (n=30) ^e	Stage 5 (n=30) ^f
Serum Klotho level (pg/mL)	Minimum	313.84	225.52	176.25	196.53	127.50	116.25
	Maximum	1058.17	882.43	885.44	598.40	515.02	623.67
	Mean±SD	552.89± 160.49	497.9± 151.32	490.4± 183.16	395.1± 116.12	335.44 ±98.23	319.3± 128.97
	p-value	p ^{a&b} > 0.05; p ^{a&c} > 0.05; p ^{a&d} < 0.0001; p ^{a&e} < 0.0001; p ^{a&f} < 0.0001; p ^{c&d} < 0.05					

Observation: Serum Klotho levels declined progressively with advancing CKD stages, with a statistically significant reduction beginning from stage 3.

In the hemodialysis group, patients on dialysis for < 5 years had significantly higher mean serum Klotho levels (337.95 ± 117.09 pg/mL) compared with those on dialysis for ≥ 5 years (258.36 ± 102.17 pg/mL, p < 0.05; Mann–Whitney test) (Figure 3.3).

Table 3.20. Serum Klotho Levels According to Calcium–Phosphate Disorders in the CKD Group (n = 240)

Parameter	Subgroup	n	%	Klotho (pg/mL) Mean±SD	p-value
Corrected calcium (mmol/L)	Low (< 2.10)	36	15%	326.49 ±133.19	> 0.05
	Normal (2.10-2.54)	186	77.5%	379.31 ±149.09	
	High (> 2.54)	18	7.5%	390.79 ±180.48	
Serum phosphate (mmol/L)	Normal (≤ 1.78)	190	79.2%	389.38 ±152.50	< 0.001
	High (> 1.78)	50	20.8%	307.15 ±120.76	
Calcium × Phosphate product (mmol ² /L ²)	Normal (< 4.4)	205	85.4%	382.71 ±153.39	< 0.05
	High	35	14.6%	310.94	

	(≥ 4.4)			± 111.64	
--	----------------	--	--	--------------	--

Observation: Serum Klotho levels did not differ across corrected calcium subgroups; however, they were significantly lower in patients with hyperphosphatemia and in those with an elevated calcium-phosphate product.

In the CKD group, mean serum Klotho levels were 379.09 ± 153.20 pg/mL in patients with $25(\text{OH})\text{D} < 30$ ng/mL and 363.30 ± 145.97 pg/mL in those with ≥ 30 ng/mL, with no statistically significant difference ($p > 0.05$) (Figure 3.5).

Table 3.21. Serum Klotho Levels According to PTH Categories Across Study Group

Klotho (pg/mL)		Control ¹ (n = 60)	Non-dialysis CKD ² (n = 150)	Hemodialysis ³ (n = 90)	
PTH (pg/mL)	<150 ^(a) (n=192)	Mean	552.89	431.66	
		\pm SD	± 160.49	± 156.68	
		p-value	$p^{1\&2} < 0.0001$; $p^{1\&3} < 0.0001$; $p^{2\&3} > 0.05$		
	n (%)	60(100)	120 (80)	12 (13.3)	
	≥ 150 ^(b) (n=108)	Mean		311.74	308.55
		\pm SD		± 112.79	± 14.46
p-value			$p^{2\&3} > 0.05$		
n (%)			30 (20)	78 (86.7)	
		$p^{(a)\&(b)} < 0.001$		$p^{(a)\&(b)} > 0.05$	

Observation: In the CKD group, serum Klotho levels were significantly higher in patients with PTH < 150 pg/mL, whereas no difference was observed between PTH categories in the hemodialysis group.

Table 3.25. Serum Klotho Levels According to Bone Mineral Density Categories at Different Measurement Sites in the Hemodialysis Group

Site	BMD category	n	%	Klotho (pg/mL) Mean \pm SD	p-value
Lumbar spine (L1-L4)	Osteoporosis	18	20.0	269.50 ± 106.54	> 0.05
	Osteopenia	31	34.4	328.78 ± 142.62	
	Normal	41	45.6	320.58 ± 99.12	
Femoral neck	Osteoporosis	33	36.7	292.85 ± 133.03	> 0.05
	Osteopenia	40	44.4	321.19 ± 110.37	

	Normal	17	18.9	333.85 ± 104.72	
Total Hip	Osteoporosis	19	21.1	255.99 ± 110.28	<0.05
	Osteopenia	30	33.3	346.57 ± 117.96	
	Normal	41	45.6	315.27 ± 114.24	
Total body	Osteoporosis	36	40.0	297.91 ± 132.46	>0.05
	Osteopenia	40	44.4	319.45 ± 106.18	
	Normal	14	15.6	334.59 ± 114.40	

Observation: Mean serum Klotho levels did not differ among the osteoporosis, osteopenia, and normal groups at the lumbar spine, femoral neck, or total body ($p > 0.05$). However, at the total hip, Klotho levels differed significantly ($p < 0.05$), with the lowest values observed in the osteoporosis group.

3.2.2. ROC Curves of Serum Klotho for Identifying CKD Stages and Mineral–Bone Metabolism Disorders

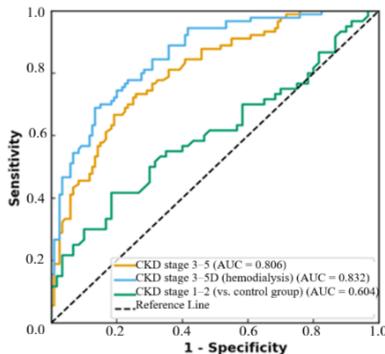


Figure 3.6. ROC Curve of Serum Klotho levels for identifying decreased eGFR.

Table 3.26. Diagnostic Performance of Serum Klotho in Identifying Reduced eGFR and CKD Stages.

Model	AUC	p-value	95% CI	Cutoff (pg/mL)	Youden Index	Se	Sp
Controls vs CKD G1–G2	0.604	<0.05	0.502–0.706	424.2	0.217	0.81	0.400
CKD ≤ G2 vs CKD G3–G5	0.806	<0.01	0.747–0.864	390.8	0.475	0.808	0.667
CKD ≤ G2 vs	0.832	<0.01	0.787–	397.1	0.500	0.800	0.700

CKD G3–G5D			0.878				
------------	--	--	-------	--	--	--	--

Observation: The AUC of serum Klotho levels increased across the models and was highest for the comparison between CKD stage ≤ 2 and CKD stages 3–5D, suggesting that Klotho has good discriminative ability in advanced-stage CKD.

3.3. ASSOCIATION BETWEEN SERUM KLOTHO LEVELS AND EGFR, MINERAL–BONE PARAMETERS, BONE MINERAL DENSITY, AND OTHER FACTORS IN PATIENTS WITH CKD

3.3.1. Correlations Between Klotho and Clinical–Laboratory Parameters in the Non-Dialysis CKD Group

Table 3.28. Correlation Between Serum Klotho and Laboratory Parameters in the Non-Dialysis CKD Group

Parameter		Klotho	Ca _{corr}	Phosphate	Ca x P	PTH	25(OH)D
Hemoglobin	r	0.31	0.21	-0.44	-0.38	-0.58	0.14
	p	<0.001	0.01	<0.001	<0.001	<0.001	0.08
Ure	r	-0.39	-0.22	0.5	0.45	0.7	-0.14
	p	<0.001	0.007	<0.001	<0.001	<0.001	0.10
Creatinin	r	-0.46	-0.19	0.49	0.44	0.74	-0.11
	p	<0.001	0.20	<0.001	<0.001	<0.001	0.18
MLCT	r	0.45	0.23	-0.44	-0.39	-0.61	0.02
	p	<0.001	0.004	<0.001	<0.001	<0.001	0.78

Observation: Serum Klotho levels showed a positive correlation with eGFR and hemoglobin, and an inverse correlation with urea and creatinine in the CKD group.

In patients with CKD, Klotho was negatively correlated with PTH ($r = -0.37$; $p < 0.001$), whereas no significant correlations were observed with corrected calcium ($r = 0.08$; $p = 0.35$), phosphate ($r = -0.13$; $p = 0.12$), calcium–phosphate product ($r = -0.11$; $p = 0.17$), or 25(OH)D ($r = 0.004$; $p = 0.96$) (Table 3.29).

Table 3.30. Correlation Analysis Between Serum Klotho Levels and Bone Mineral Density and T-scores at Three Measurement Sites in the CKD G3–G5 Group (n = 90)

Site	Variable	r	p-value
Lumbar spine (L1–L4)	BMD	0.03	0.77
	T-score	0.01	0.89
Femoral neck	BMD	0.004	0.97
	T-score	0.02	0.86
Total hip	BMD	-0.00	0.96
	T-score	0.02	0.83

Observation: No significant correlations were observed between serum Klotho levels and either bone mineral density or T-scores at the femoral neck, total hip, or lumbar spine ($p > 0.05$).

Univariable linear regression analysis in the non-dialysis CKD group identified seven factors significantly associated with serum Klotho levels ($p < 0.05$), with eGFR showing the strongest association ($R^2 = 0.206$), followed by creatinine, urea, PTH, hemoglobin, the number of mineral–bone abnormalities, and age ($R^2 = 0.037$), which had the weakest association (Table 3.31).

Table 3.32. Multivariable Linear Regression Analysis of Factors Associated With Serum Klotho Levels in the CKD Group

Variable	Unstandardized B	Standardized Beta	t	p-value
Constant	307.517	-	3.061	0.003
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	2.172	0.487	4.583	<0.001
Hemoglobin (g/dL)	-1.357	-0.027	-0.188	0.851
Age (years)	0.171	0.014	0.202	0.840

Observation: eGFR, hemoglobin, and age together explained 20.7% of the variation in serum Klotho levels ($R^2 = 0.207$; $p < 0.0001$). In the multivariable regression model, eGFR was the strongest independent factor associated with serum Klotho ($\beta = 0.487$). Regression equation:

$$\text{Serum Klotho (pg/mL)} = 2.172 \times \text{eGFR (mL/min/1.73 m}^2\text{)} - 1.357 \times \text{Hemoglobin (g/dL)} + 0.171 \times \text{Age (years)} + 307.517$$

Univariable linear and logistic regression analyses showed no significant associations between Klotho and BMD, T-scores, or osteoporosis status in patients with advanced CKD ($p > 0.05$). The correlation coefficients (R), coefficients of determination (R^2), and odds ratios (≈ 1) were all low, indicating that Klotho did not meaningfully influence bone density or osteoporosis risk in this group (Tables 3.33 and 3.34).

3.2.2. Correlations Between Klotho and Clinical Parameters in the Hemodialysis Group

Serum Klotho levels demonstrated a negative correlation with dialysis vintage ($r = -0.29$; $p = 0.005$) (Table 3.35).

Klotho showed no significant correlations with mineral–bone parameters, including corrected calcium ($r = -0.17$; $p = 0.11$), phosphate ($r = -0.09$; $p = 0.40$), calcium–phosphate product ($r = -0.12$; $p = 0.28$), PTH ($r = -0.17$; $p = 0.10$), or 25(OH)D ($r = -0.04$; $p = 0.72$) (Table 3.37).

Table 3.40. Multivariable Linear Regression Analysis of Factors Associated With Serum Klotho in the Hemodialysis Group

Variable	Unstandardized B	Standardized Beta	t	p-value
Constant	238.123	-	1.478	0.143
Dialysis vintage	-0.655	-0.224	-2.167	0.033
Hemoglobin	26.180	0.292	2.905	0.005
Diastolic BP	-2.084	-0.152	-1.508	0.135

Observation: With $R = 0.413$ and $R^2 = 0.170$, the three variables - dialysis vintage, hemoglobin, and diastolic blood pressure - explained 17% of the variation in serum Klotho levels. However, only hemoglobin ($\beta = 0.292$; $p = 0.005$) and dialysis vintage ($\beta = -0.224$; $p = 0.033$) remained independently associated with serum Klotho levels. Regression equation:

$$\text{Serum Klotho (pg/mL)} = -0.655 \times \text{Dialysis vintage (months)} + 26.180 \times \text{Hemoglobin (g/dL)} - 2.084 \times \text{Diastolic blood pressure (mmHg)} + 238.123$$

Univariable linear regression analysis showed no significant associations between Klotho and bone mineral density or T-scores in the hemodialysis group ($p > 0.05$).

Chapter 4

DISCUSSION

4.1. CHARACTERISTICS OF THE STUDY POPULATION

4.2. SERUM KLOTHO LEVELS IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

4.2.1. Serum Klotho levels across study groups

Serum Klotho levels decreased progressively from controls to CKD patients and were lowest in those receiving hemodialysis ($p < 0.05$), consistent with international findings. Variations in absolute values across studies may reflect differences in assay methods, population characteristics, and confounding factors such as inflammation, oxidative stress, uremic toxins, and treatment effects. In hemodialysis patients, Klotho levels were markedly reduced, consistent with reports by Yokoyama and others. This reduction may be influenced by dialysis vintage and modality, chronic inflammation, comorbidities, and therapeutic interventions. Further standardized and well-controlled studies are warranted to clarify the prognostic significance of Klotho in hemodialysis populations.

4.2.2. Serum Klotho levels according to CKD stages

This study showed that serum Klotho levels progressively declined with CKD progression, becoming significantly reduced from stage 3 onward ($p < 0.05$) and more pronounced in stages 4–5 ($p < 0.001$), suggesting that Klotho may reflect CKD severity. These findings are consistent with those reported by Shimamura, Pavik, Liu, and Rotondi, in which some authors observed a decline as early as stage 2 and proposed Klotho as an early biomarker. However, absolute Klotho values vary across studies, which may be attributable to differences in assay methods, commercial kits, and study populations. In addition, tubular injury, inflammation, and treatment-related factors may also influence circulating Klotho levels. Notably, some studies, such as that by Seiler, did not demonstrate a clear stage-dependent decline. In summary, serum Klotho appears to have potential as a biomarker reflecting CKD progression; however, further studies are required to clarify its diagnostic value for early CKD detection.

4.2.3. Serum Klotho levels according to dialysis vintage (< 5

years vs ≥ 5 years)

Serum Klotho levels were significantly lower in patients with a dialysis vintage of ≥ 60 months (5 years) compared with those with < 60 months ($p < 0.05$), and were inversely correlated with dialysis vintage ($r = -0.29$; $p = 0.005$), suggesting that prolonged hemodialysis exposure may contribute to reduced Klotho levels. In contrast to the study by Memmos, which did not report this association, the discrepancy may be attributed to differences in population characteristics and assay methods. Serum Klotho levels are also influenced by tubular injury, residual kidney function, chronic inflammation, and oxidative stress. Overall, our findings suggest that dialysis vintage is associated with decreased Klotho levels, and that low Klotho may serve as a potential marker for assessing disease progression in long-term maintenance hemodialysis patients.

4.3. ASSOCIATION BETWEEN SERUM KLOTHO LEVELS AND EGFR, MINERAL–BONE PARAMETERS, BONE MINERAL DENSITY, AND OTHER FACTORS IN PATIENTS WITH CKD

4.3.1. Association between Klotho and Glomerular Filtration Rate

Our study demonstrated that serum Klotho levels progressively declined with CKD progression and showed a moderate positive correlation with eGFR ($r = 0.45$; $p < 0.001$). The reduction in Klotho became significant from CKD stage 3 onward and was more pronounced in stages 4–5 ($p < 0.001$). These findings are consistent with several international studies, including those by Liu et al. ($r = 0.593$; $p < 0.001$) in patients with CKD stages 3–5, Pavik et al. ($r^2 = 0.41$; $p < 0.0001$) in patients with CKD stages 1–5, and Shimamura et al. ($r = 0.441$; $p < 0.0001$). In contrast, Seiler’s study ($p = 0.098$) did not demonstrate a clear association. A meta-analysis by Wang et al. (2018), including 1,457 patients from nine studies, reported a pooled correlation coefficient of 0.35 ($p < 0.05$) between Klotho and eGFR, which was not significantly influenced by age, geographic region, or baseline eGFR. This association likely reflects tubular injury—given that the kidney, particularly tubular cells, is the

primary source of Klotho synthesis—as well as the effects of inflammation, fibrosis, and uremic toxins. Therefore, Klotho may serve as a biomarker reflecting declining kidney function, particularly from CKD stage 3 onward.

ROC analysis further supported this finding, showing that Klotho had good discriminatory ability for advanced CKD. In patients with CKD stages 3–5D (vs. CKD stage ≤ 2), the AUC was 0.832 (95% CI: 0.787–0.878; $p < 0.01$). A cutoff value of 397.1 pg/mL yielded a sensitivity of 80.0% and a specificity of 70.0% (Youden index = 0.500), suggesting the potential diagnostic value of Klotho in identifying progressive kidney function decline.

4.3.2. Association between Klotho and Mineral–Bone Parameters

Analysis of the associations between Klotho and mineral–bone parameters revealed:

Corrected serum calcium: Serum Klotho levels showed a slight decrease as calcium levels declined; however, this difference was not statistically significant, and no significant linear correlation between Klotho and calcium was observed in either the CKD or maintenance hemodialysis groups. ROC analysis showed that serum Klotho had a moderate discriminatory ability for hypocalcemia (AUC = 0.655; $p < 0.05$). Although Klotho plays a regulatory role in TRPV5 activity and the FGF23–vitamin D axis, previous studies have reported inconsistent results, which may be attributable to differences in study populations, disease stages, chronic inflammation, endocrine disturbances, and treatment-related factors (e.g., calcium supplementation and phosphate binders). In maintenance hemodialysis patients, fluctuations in calcium levels related to dialysis and concomitant therapies may obscure this association. Nevertheless, the findings still suggest a potential role of Klotho in calcium regulation within the CKD–MBD context.

Serum phosphate: Serum Klotho levels were significantly lower in patients with hyperphosphatemia ($p < 0.001$); however, no significant linear correlations were observed in the CKD group ($r = -0.13$; $p = 0.12$) or the maintenance hemodialysis group ($r = -0.09$; $p = 0.40$). ROC analysis showed that serum Klotho had a moderate

discriminatory ability for hyperphosphatemia (AUC = 0.654; $p < 0.01$), which was lower than that of PTH (AUC = 0.839; $p < 0.001$). Meta-analyses have reported a weak inverse correlation between Klotho and phosphate, particularly in CKD populations, which is consistent with its physiological role in promoting renal phosphate excretion. Differences across studies may be influenced by variations in patient populations, the severity of kidney dysfunction, chronic inflammation, and treatment strategies. In maintenance hemodialysis patients, phosphate fluctuations related to dialysis and the use of phosphate binders may attenuate the observed association between Klotho and phosphate.

Serum PTH: Serum Klotho levels were inversely correlated with PTH in the CKD group ($r = -0.37$; $p < 0.001$), but this association was not significant in the maintenance hemodialysis group. These findings support the inverse regulatory relationship between Klotho and PTH through the Klotho–FGF23 axis. Variability among studies suggests that the Klotho–PTH relationship may be influenced by multiple factors, with CKD–MBD pathophysiology playing a central role. In addition, ROC analysis showed that serum Klotho discriminated elevated PTH levels (≥ 150 pg/mL) in patients with chronic kidney disease, with an AUC of 0.712 ($p < 0.01$), suggesting that Klotho may have supportive value in assessing parathyroid dysfunction in advanced CKD.

25(OH)D: No significant association was observed between Klotho and serum 25(OH)D levels ($p > 0.05$). Although some interventional studies have suggested that active vitamin D may increase Klotho expression, available observational evidence remains insufficient to establish a consistent relationship.

4.3.3. Association between Klotho and Bone Mineral Density and Osteoporosis

In the non-dialysis CKD group, serum Klotho levels were not significantly associated with bone mineral density at any measured sites ($p > 0.05$). In the maintenance hemodialysis group, serum Klotho levels were significantly lower in patients with osteoporosis at the total hip site ($p = 0.030$); however, this association was not statistically significant in regression analysis. These findings may be

attributable to metabolic differences between cortical and trabecular bone in the context of CKD–MBD. In addition, lumbar spine BMD assessed by DXA in dialysis patients may be confounded by degenerative changes or calcification, leading to falsely elevated measurements, and the sample size of the osteoporosis subgroups was limited; therefore, these results should be further confirmed in studies with larger sample sizes.

Several studies, such as that by Chewcharat (2022), reported no significant relationship between Klotho and osteoporosis. In contrast, other studies (e.g., Zhang, Jiang, and Zheng) suggested that lower Klotho levels may be associated with reduced bone mineral density or an increased risk of osteoporosis at specific skeletal sites and in certain populations. Overall, the evidence remains inconsistent, and further studies are needed to clarify this association. Although no statistically significant association was observed, this negative finding remains scientifically meaningful, suggesting that Klotho may not directly reflect changes in BMD at a single time point, particularly in a cross-sectional design and within the multifactorial context of CKD–MBD (including PTH, FGF23, active vitamin D, and other relevant clinical factors).

In summary, serum Klotho was not clearly associated with bone mineral density in CKD patients in our study, whereas the observed reduction in Klotho among hemodialysis patients with osteoporosis suggests a potential role of Klotho in CKD–MBD. Further multicenter longitudinal cohort studies with multivariable analyses are needed to determine the clinical value of Klotho in assessing bone health.

4.3.4. Regression Analyses Between Klotho and Related Factors

Linear regression analysis showed that eGFR was the strongest independent factor associated with serum Klotho levels in the non-dialysis CKD group (model $R^2 = 0.207$), whereas hemoglobin and dialysis vintage were the main determinants in the maintenance hemodialysis group (model $R^2 = 0.170$). International studies have also reported that eGFR, hemoglobin, phosphate, or age may be associated with serum Klotho levels; however, findings remain

inconsistent. These results may reflect differences in Klotho regulation across CKD stages. Overall, Klotho has potential as a biomarker for assessing CKD progression and mineral–metabolic homeostasis in maintenance hemodialysis patients.

In summary, this study demonstrated that serum Klotho levels progressively declined from the control group to CKD patients and were lowest in the maintenance hemodialysis group. Serum Klotho showed a clear positive correlation with eGFR, and ROC analysis indicated good discriminatory performance for advanced CKD (stages 3A–5D). Among maintenance hemodialysis patients, Klotho levels were significantly lower in those with osteoporosis at the hip region. In the non-dialysis CKD group, Klotho was inversely correlated with PTH; however, no significant associations were observed between Klotho and serum calcium, phosphate, or 25(OH)D in either the CKD or hemodialysis groups. With an adequate sample size, well-defined CKD stratification, an appropriate control group, and standardized laboratory procedures, our findings are consistent with international evidence and provide additional data in Vietnamese patients. Overall, Klotho appears to be a promising biomarker reflecting kidney function decline and CKD–MBD; however, further large-scale and longitudinal studies are warranted to confirm its clinical utility.

CONCLUSION

Based on the assessment of serum Klotho levels and their associations with selected clinical factors, laboratory parameters, mineral–bone disorders, and bone mineral density in 300 participants at Thong Nhat Hospital (from October 2022 to June 2024), including 60 healthy controls and 240 patients with chronic kidney disease (150 patients with non-dialysis CKD stages 1–5 and 90 patients receiving maintenance hemodialysis), we drew the following conclusions:

1. Serum Klotho levels in chronic kidney disease

Serum Klotho levels were markedly decreased in patients with chronic kidney disease and tended to decline with disease progression, particularly among maintenance hemodialysis patients. The main findings were as follows:

- Serum Klotho levels progressively decreased from the control group (552.89 ± 160.49 pg/mL) to the non-dialysis CKD stages 1–5 group (407.68 ± 156.20 pg/mL) and were lowest in the maintenance hemodialysis group (313.19 ± 118.05 pg/mL), with a statistically significant difference ($p < 0.0001$).

- The mean serum Klotho levels across CKD stages 1, 2, 3, 4, and 5 were 497.95 ± 151.32 , 490.46 ± 183.16 , 395.17 ± 116.12 , 335.44 ± 98.23 , and 319.38 ± 128.97 pg/mL, respectively, demonstrating a decreasing trend with advancing CKD stage. This reduction became significant from stage 3 onward compared with the control group, as well as compared with stages 1 and 2.

- Among maintenance hemodialysis patients, those with dialysis vintage ≥ 60 months had a significantly lower mean serum Klotho level (258.36 ± 102.17 pg/mL) than those with dialysis vintage < 60 months (337.95 ± 117.09 pg/mL).

2. Associations Between Serum Klotho Levels and Estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR), Mineral–Bone Parameters, and Bone Mineral Density

Serum Klotho levels were associated with kidney function, selected mineral–bone parameters, and bone mineral density in patients with chronic kidney disease, as demonstrated by the following results:

2.1. Association Between Serum Klotho Levels and Estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR)

Serum Klotho levels were positively correlated with eGFR ($r = 0.45$; $p < 0.001$) and hemoglobin ($r = 0.31$; $p < 0.001$), and negatively correlated with urea ($r = -0.39$; $p < 0.001$) and creatinine ($r = -0.46$; $p < 0.001$).

ROC analysis showed that serum Klotho had good discriminatory ability for reduced eGFR (eGFR < 60 mL/min/1.73 m²; corresponding to CKD stages 3–5D), with an AUC of 0.832 (95% CI: 0.787–0.878), sensitivity of 80%, and specificity of 70% ($p < 0.01$).

In multivariable regression analysis, eGFR was the strongest independent factor associated with serum Klotho levels. The regression equation was:

$$\text{Klotho (pg/mL)} = 2.172 \times \text{eGFR (mL/min/1.73 m}^2) - 1.357 \times \text{hemoglobin (g/dL)} + 0.171 \times \text{age (years)} + 307.517$$

The model was statistically significant ($p < 0.001$), with an R^2 of 0.207, explaining approximately 20.7% of the variance in serum Klotho levels.

2.2. Association Between Serum Klotho Levels and Mineral–Bone Parameters

In the non-dialysis CKD group, serum Klotho levels were inversely correlated with PTH ($r = -0.37$; $p < 0.001$), but showed no significant associations with serum calcium, phosphate, or 25(OH)D ($p > 0.05$).

In the maintenance hemodialysis group, serum Klotho levels were inversely correlated with dialysis vintage ($r = -0.29$; $p = 0.005$) and positively correlated with hemoglobin ($r = 0.34$; $p < 0.001$). No significant correlations were observed between Klotho and calcium, phosphate, 25(OH)D, or PTH.

Multivariable regression analysis identified dialysis vintage and hemoglobin as the two main determinants of serum Klotho levels in maintenance hemodialysis patients. The full regression equation was:

$$\text{Klotho (pg/mL)} = -0.655 \times \text{dialysis vintage (months)} + 26.180 \times \text{hemoglobin (g/dL)} - 2.084 \times \text{diastolic blood pressure (mmHg)} + 238.123$$

The model was statistically significant ($p < 0.001$), with an R^2 of 0.170, explaining approximately 17% of the variance in serum Klotho levels.

2.3. Association Between Serum Klotho Levels and Bone Mineral Density

Among maintenance hemodialysis patients, serum Klotho levels were significantly lower in those with osteoporosis at the total hip site (255.99 ± 110.28 pg/mL) compared with those with osteopenia or normal bone mineral density (315.27 ± 114.24 pg/mL; $p < 0.05$). However, no significant linear correlations were observed between Klotho and bone mineral density at other skeletal sites.

RECOMMENDATIONS

1. Application of Klotho in Clinical Practice

Serum Klotho levels progressively declined with the progression of chronic kidney disease and with longer dialysis vintage, with a marked decrease from CKD stage 3 onward. Therefore, serum Klotho testing may be considered as an additional biomarker in selected patient groups, including: patients with CKD from stage 3 or higher; those with mineral–bone disturbances (elevated PTH, hyperphosphatemia, and reduced bone mineral density); and maintenance hemodialysis patients, particularly those with longer dialysis vintage.

ROC analysis showed that serum Klotho had good discriminatory ability for reduced eGFR (eGFR < 60 mL/min/1.73 m²), suggesting its potential utility as an adjunct biomarker for assessing renal function decline in high-risk populations, as measured by ELISA in this study.

2. Early Detection and Intervention for CKD–MBD

Serum Klotho testing may be used in combination with calcium, phosphate, PTH, 25(OH)D, and bone mineral density to facilitate early detection of CKD–mineral and bone disorder (CKD–MBD) and to monitor treatment response in patients with chronic kidney disease.

Although the cross-sectional design does not allow causal inference, priority should be given to controlling factors commonly associated with low Klotho levels, including hyperphosphatemia, elevated PTH, and anemia, in order to improve CKD–MBD status and reduce bone–vascular complications in CKD patients.

3. Directions for Future Research

Longitudinal cohort studies are needed to evaluate changes in serum Klotho levels over the course of CKD progression and in response to treatment.

In addition, integrating other biomarkers such as FGF23, sclerostin, or active 25(OH)D may help develop a comprehensive prognostic model for CKD–MBD and determine clinically meaningful Klotho thresholds for each CKD stage.

RELATED SCIENTIFIC PUBLICATIONS

1. Nguyen Minh Quan, Vo Tam. Study on Serum Klotho Levels and Their Associations with Mineral–Bone Disorders in Hemodialysis Patients. *Hue Journal of Medicine and Pharmacy – Hue University of Medicine and Pharmacy. Special Issue for the Urology–Nephrology Conference*; August 2024: pp. 598–607. ISSN: 3030-4318; eISSN: 3030-4326.
2. Nguyen Minh Quan, Vo Tam. Study on Serum Klotho Levels and Their Associations with Estimated Glomerular Filtration Rate and Selected Biochemical Parameters in Patients with Chronic Kidney Disease. *Hue Journal of Medicine and Pharmacy – Hue University of Medicine and Pharmacy*. 2025; Volume 15, Issue 1: pp. 152–160. ISSN: 3030-4318; eISSN: 3030-4326. DOI: 10.34071/jmp.2025.1.21.
3. Nguyen Minh Quan, Vo Tam. Assessment of osteoporosis risk and factors influencing bone mineral density in patients with advanced chronic kidney disease and those undergoing maintenance hemodialysis. *Vietnam Journal of Community Medicine*. 2025;66(Special Issue 19):260-267. ISSN: 2354-0613. doi:10.52163/yhc.v66iCD19.3713.