

## КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИСТАТИНА С В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ ВОСПАЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Татьяна Григорьевна ФИЛАТОВА<sup>1</sup>, Валентина Сергеевна КРАПИВКИНА<sup>1,2</sup>, Юлия Валерьевна ЮЗЬКО<sup>1</sup>, Наталья Борисовна ВОЛОШИНА<sup>3</sup>, Татьяна Александровна КОРОЛЕНКО<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГУ НИИ физиологии СО РАМН  
630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 4

<sup>2</sup> МУЗ Городская клиническая больница №7  
630005, Новосибирск, ул. О. Жилиной, 90а

<sup>3</sup> ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава  
630091, ул. Красный проспект, 52,

Цистатины — новая, относительно недавно открытая группа эндогенных ингибиторов цистеиновых протеаз, биологическая роль которых интенсивно исследуется в течение последних 20 лет. Цистатин С, обнаруженный в различных типах клеток (макрофагах, гепатоцитах и др.), — низкомолекулярный белок, который является наиболее эффективным эндогенным ингибитором цистеиновых протеаз — катепсинов В, L, Н, S и К. В настоящее время изучается роль ингибитора в качестве возможного неинвазивного маркера воспалительного процесса печени у больных с неалкогольной жировой болезнью печени. Исследованы изменения концентрации цистатина С в сыворотке крови у пациентов с неалкогольным стеатозом печени и стеатогепатитом. По сравнению с показателями у практически здоровых людей среднего возраста (20–50 лет) обнаружено достоверное увеличение концентрации цистатина С у пациентов с неалкогольным стеатозом печени и стеатогепатитом. Таким образом, определение концентрации ингибитора цистеиновых протеаз цистатина С в сыворотке крови может рассматриваться в качестве возможного неинвазивного маркера воспалительного процесса у больных с неалкогольной жировой болезнью печени.

**Ключевые слова:** цистатин С, неалкогольный стеатогепатит, неалкогольная жировая болезнь печени, стеатоз печени.

Согласно статистическим данным, более половины больных с заболеваниями печени страдают неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП), которая включает стеатоз и стеатогепатит [1]. До 25% случаев криптогенного цирроза печени обусловлены стеатогепатитом. При ультразвуковом исследовании у большинства пациентов с избыточным весом выявляются признаки жировой дистрофии печени. У 30% пациентов при гистологическом исследовании срезов печени выявляется стеатогепатит, который примерно в 20–25% случаев трансформируется в цирроз печени [1, 2].

Одной из причин бессимптомного подъема активности трансаминаз печени является стеатогепатит [1]. Безусловно, решающим фактором в диагностике неалкогольной жировой болезни печени является биопсия печени, однако возможности пункционной биопсии ограничены наличием противопоказаний, погрешностями в получении материала и в трактовке результатов, значительной стоимостью про-

цедуры. Кроме того, являясь инвазивным методом, пункционная биопсия печени имеет ряд серьезных осложнений. В связи с этим поиск неинвазивных (сывороточных) маркеров воспалительного процесса приобретает все большее значение [3].

Для неалкогольного стеатогепатита наиболее характерно повышение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ), также возможно повышение активности щелочной фосфатазы и γ-глутамилтранспептидазы (ГГТП), реже — увеличение концентрации билирубина [1, 2]. Тем не менее, до настоящего времени четких диагностических критериев, альтернативных инвазивным методам определения и оценки степени фиброза печени, не найдено [3].

Цистатины — новая, относительно недавно открытая группа эндогенных ингибиторов цистеиновых протеаз, биологическая роль которых интенсивно исследуется в течение последних 20 лет. Цистатин С, обнаруженный в

Филатова Т.Г. — зав.клинической лабораторией, ГУ НИИ физиологии СО РАМН

Крапивкина В.С. — врач-терапевт МУЗ ГКБ №7, аспирант ГУ НИИ физиологии СО РАМН, e-mail: ak303@yandex.ru

Юзько Ю.В. — клинический ординатор, ГУ НИИ физиологии СО РАМН

Волошина Н.Б. — д.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета

Короленко Т.А. — д.м.н., проф., зав. лаб. клеточной биохимии и физиологии, ГУ НИИ физиологии СО РАМН

различных типах клеток (макрофагах, гепатоцитах и др.), низкомолекулярный белок, который является наиболее эффективным эндогенным ингибитором цистеиновых протеаз — катепсинов В, L, Н, S и К [4–9]. Основная функция цистатина С, более изученного по сравнению с другими цистатинами, — регуляция активности цистеиновых протеаз [4, 10–12]. Также цистатин С участвует в процессинге и презентации антигена, регуляции деградации белков внеклеточного матрикса, процессов клеточной дифференцировки и пролиферации, старения [4, 6]. Биологическая роль цистатинов в патологии печени изучена недостаточно. Нарушения соотношения протеазы/ингибиторы и следующий за этим неконтролируемый протеолиз наблюдаются при ряде поражений печени, при вирусных гепатитах В и С человека, а также в эксперименте у животных с токсическим гепатитом [3, 4]. Выявлено повышение концентрации цистатина С в сыворотке крови больных с вирусным гепатитом В и С, более значительное при развитии фиброза печени, что позволяет рассматривать показатель среди возможных неинвазивных сывороточных маркеров фиброза, связанных с функционированием клеток соединительной ткани [3]. Несмотря на то, что при жировом гепатозе и стеатогепатите непременно снижается функциональное состояние печени, с помощью традиционных лабораторных тестов подтвердить эти нарушения почти невозможно [13]. В связи с этим поиск неинвазивных (сывороточных) маркеров воспалительного процесса приобретает все большее значение.

Цель исследования — определение концентрации ингибитора цистеиновых протеаз цистатина С в сыворотке крови у пациентов с неалкогольным стеатозом печени и стеатогепатитом.

#### Материалы и методы

В исследование включено 142 пациента, средний возраст которых составил  $57,4 \pm 1,47$  лет (среди них 36 мужчин в возрасте  $52,42 \pm 1,82$  лет и 106 женщин, средний возраст которых составил  $60,28 \pm 0,85$  лет) с ультразвуковыми признаками жирового гепатоза, наличием гиперинсулинемии и/или клиническими признаками инсулинрезистентности (абдоминально — висцеральное ожирение, артериальная гипертензия, дислипидемия, ультразвуковые признаки жировой болезни печени — симптом «белой печени»).

Контрольная группа представлена 51 здоровым донором в возрасте  $35,9 \pm 2,34$  лет.

Из исследования исключались больные с признаками вирусного, алкогольного (потребление менее 40 г этанола в день), аутоиммунного гепатита или другого этиологически верифицированного гепатита, пациенты с циррозом печени.

Маркеры вирусного гепатита В и С определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Активность АЛТ и АСТ в сыворотке крови оценивали с помощью наборов ЗАО «Вектор-Бест» на фотометре 750 (полуавтомат, Германия). Концентрацию общего билирубина, прямого и непрямого билирубина определяли с использованием модифицированного метода Йендрашека—Грофа; щелочную фосфатазу (ЩФ) и ГГТП — с помощью наборов ЗАО «Вектор-Бест» кинетическим методом по конечной точке. Концентрацию холестерина и триглицеридов определяли с помощью наборов «Биокон» (Германия) колориметрическим методом (Verno, Австрия). Концентрацию цистатина С оценивали методом ИФА с использованием наборов BioVendor (Чехия) для ИФА-анализа цистатина С человека. Данные наборы предназначены для количественного определения концентрации цистатина С в биологических жидкостях человека. Применение наборов ИФА специфично для цистатина С и позволяет исключить перекрестную реакцию с другими цистатинами человека (А, F).

У всех пациентов было получено информированное согласие на проведение исследования.

Статистический анализ произведен при помощи пакета программ SPSS 11.5.

#### Результаты исследования

У обследованных пациентов развитие неалкогольного стеатогепатита сопровождалось умеренными отклонениями функциональных проб печени. Выявлено достоверное повышение активности в плазме крови активности АЛТ и АСТ в группах со стеатозом печени и стеатогепатитом по сравнению со здоровыми донорами (**табл. 1**). Цитолитический синдром, судя по повышению активности АЛТ и АСТ сыворотки, и холестаза выражены незначительно (**табл. 1**), что в целом соответствует данным литературы [13, 14].

Клиническое течение жирового гепатоза и стеатогепатита обычно бессимптомно. Иногда бывают жалобы у больных на тяжесть и неприятные ощущения в правом верхнем квадранте живота, повышенную утомляемость, слабость [1, 14, 15]. Чаще всего болезнь выявляется случайно — на основании лабораторных и

Таблица 1

Активность АЛТ, АСТ, ЩФ, ГГТП, концентрация общего белка и билирубина в сыворотке крови пациентов с неалкогольным стеатозом печени и стеатогепатитом ( $M \pm m$ )

Показатели \ Группы	Контроль (здоровые)	Стеатоз печени	Неалкогольный стеатогепатит
АЛТ, мкмоль/л в час	$0,33 \pm 0,01$ (n = 34)	$0,37 \pm 0,008$ (n = 108)	$0,93 \pm 0,08$ *** (n = 33)
АСТ, мкмоль/л в час	$0,30 \pm 0,009$ (n = 34)	$0,33 \pm 0,005$ (n = 108)	$0,57 \pm 0,04$ *** (n = 33)
ЩФ, ЕД/л	$102,2 \pm 2,2$ (n = 25)	$139,9 \pm 5,5$ *** (n = 87)	$175,3 \pm 14,32$ (n = 34)
ГГТП, мкмоль/л	$1,14 \pm 0,05$ (n = 19)	$1,25 \pm 0,06$ (n = 74)	$1,38 \pm 0,15$ (n = 31)
Общий белок, г/л	$76,9 \pm 0,69$ (n = 29)	$77,1 \pm 0,52$ (n = 107)	$75,9 \pm 1,26$ (n = 29)
Общий билирубин, мкмоль/л	$12,85 \pm 0,53$ (n = 34)	$19,1 \pm 0,48$ ** (n = 33)	$20,4 \pm 1,54$ *** (n = 31)
Прямой билирубин, мкмоль/л	$2,0 \pm 0,12$ (n = 34)	$4,2 \pm 0,54$ ** (n = 33)	$5,4 \pm 0,8$ *** (n = 31)
Непрямой билирубин, мкмоль/л	$10,9 \pm 0,44$ (n = 34)	$14,9 \pm 0,83$ *** (n = 33)	$15,0 \pm 1,08$ *** (n = 31)

Таблица 2

Концентрация холестерина и триглицеридов в сыворотке крови больных с неалкогольной жировой болезнью печени ( $M \pm m$ )

Группы	Холестерин, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л
Контроль (здоровые)	$4,58 \pm 0,08$ (n = 21)	$1,05 \pm 0,16$ (n = 9)
НАЖБП	$6,95 \pm 0,74$ * (n = 7)	$2,49 \pm 0,29$ *** (n = 27)

Примечание: сравнение показателей проводили с контрольной группой (здоровые);

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ .

инструментальных данных. Нередко повышение активности трансаминаз или «бессимптомная» гепатомегалия выявляются у больных с сахарным диабетом типа 2 или пациентов с нарушением толерантности к глюкозе, при желчнокаменной болезни, у лиц, получающих гиполипидемическую терапию [13, 14]. Как известно, синдром цитолиза не коррелирует с выраженностью стеатоза и фиброза печени [13].

По данным литературы у 30–60 % больных неалкогольным стеатогепатитом возможно повышение активности щелочной фосфатазы и ГГТП, обычно не превышающее двух норм [13, 15]. При определении активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови выявлено достоверное ее увеличение в группах со стеатозом печени и неалкогольным стеатогепатитом по сравнению с группой здоровых лиц (табл. 1).

Гиперлипидемия выявляется у 20–80% больных неалкогольным стеатогепатитом [1, 14].

Характерно, что при гипертриглицеридемии неалкогольный стеатогепатит развивается чаще, чем при гиперхолестеринемии [13]. Выявлено достоверное увеличение концентрации холестерина ( $p < 0,05$ ) в группе больных с НАЖБП, а также достоверное увеличение концентрации триглицеридов ( $p < 0,001$ ), подтверждающие нарушения липидного обмена (табл. 2).

У больных с жировым гепатозом и неалкогольным стеатогепатитом обнаружено повышение концентрации цистатина С в сыворотке крови (табл. 3). Аналогичное увеличение показателя наблюдали в сыворотке крови у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени, страдающих сахарным диабетом типа 2. Сходное повышение концентрации цистатина С отмечено в группах больных со стеатозом печени и неалкогольным стеатогепатитом (табл. 3). Повышение содержания цистатина С во всех исследованных группах больных отражает

Таблица 3

Концентрация цистатина С в сыворотке крови у пациентов с НАЖБП, стеатозом печени и неалкогольным стеатогепатитом ( $M \pm m$ )

Группы	Цистатин С, нг/мл
Контроль (здоровые)	1000,0 $\pm$ 125,61 (n=17)
НАЖБП	1683,8 $\pm$ 95,6 *** (n=39)
Стеатоз печени	1728,9 $\pm$ 118,32*** (n=29)
Неалкогольный стеатогепатит	1553,0 $\pm$ 147,1 ** (n=10)
НАЖБП + сахарный диабет типа 2	1660,9 $\pm$ 233,81 * (n=11)

Примечание: сравнение показателей проводили с контрольной группой (здоровые);

\* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ .

интенсивность воспалительного процесса в печени. В нашей лаборатории показано увеличение сывороточной концентрации цистатина С у больных с хроническим вирусным гепатитом С и, особенно, с циррозом печени [3], что может быть использовано в качестве возможного неинвазивного маркера воспалительного процесса в печени.

В последние годы увеличилась доля населения с факторами риска развития НАЖБП, резко возросла заболеваемость ожирением и сахарным диабетом типа 2, а, следовательно, увеличилось количество пациентов с неалкогольным стеатогепатитом и стеатозом печени, в связи с чем поиск неинвазивных методов диагностики неалкогольного стеатоза печени и стеатогепатита имеет большое значение [13, 16].

Известно, что в настоящее время наиболее значительна роль биопсии печени, особенно при криптогенных гепатитах и циррозах, позволяющая выявить развитие фиброза печени. В нашем исследовании продемонстрировано достоверное увеличение концентрации цистатина С в сыворотке крови больных с НАЖБП по сравнению со здоровыми людьми, хотя достоверных различий концентраций цистатина С у пациентов со стеатозом печени и стеатогепатитом нет. В отдельных работах отмечено повышение концентрации цистатина С в сыворотке при хронических заболеваниях печени (цирроз печени) [3], что согласуется с полученными нами результатами. Таким образом, определение концентрации ингибитора цистеиновых протеаз цистатина С в сыворотке крови

может рассматриваться в качестве возможного неинвазивного маркера воспалительного процесса печени у больных с НАЖБП.

#### Литература

1. Yu A.S., Keeffe E.B. Nonalcoholic fatty liver disease // Rev. Gastroenterol. Disord. 2002. 2. 11–19.
2. Зилов А.В. Печень при метаболическом синдроме и инсулинрезистентности: взгляд эндокринолога// Клини. перспективы гастроэнт., гепатологии. 2005. (5). 14–19.
3. Зилов А.В. Liver in metabolic syndrome and insulin resistance: approach of endocrinologist // Clin. perspectives gastroenterology, hepatology. 2005. (5). 14–19.
4. Юзько Ю.В. Изменения различных классов протеаз и ингибиторов протеаз как возможных сывороточных маркеров фиброза у больных хроническим вирусным гепатитом С: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2007. 24.
5. Юзько Ю.В. Changes of different proteases classes and inhibitors proteases as a fibrosis seromarker of chronic HCV: Avtoreferat, thesis, Candidate of Medical Science. Novosibirsk, 2007. - 24 pages.
6. Короленко Т.А., Филатова Т.Г., Черканова М.С. и др. Цистатины: регуляция цистеиновых протеаз и нарушения при опухолевых и воспалительных заболеваниях// Биомедицинская химия. 2008. 54 (2). 210–217.
7. Korolenko T.A., Filatova T.G., Cherkanova M.S. et al. Cystatins: cysteine proteases regulation and disturbances in tumors and inflammation// Biomed Chemistry. 2008. 54/2. - C.210-217
8. Abrahamson M., Alvares-Fernandez M., Nathanson C.M. Cystatins // Biochem. Soc. Symp. 2003. 70. 179–199.
9. Keppler D. Towards novel anti-cancer strategies based on cystatin function // Cancer Lett. 2006. 235. 159–176.
10. Turk B., Turk D., Salvesen G.S. Regulating cysteine protease activity: essential role of protease inhibitors as guardians and regulators // Curr. Pharm. Des. 2002. 8. 1623–1637.
11. Shi G.-P., Sukhova G.K., Grubb A. et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms // J. Clin. Invest. 1999. 104. – 1191–1197.
12. Stoka V., Turk B., Turk V. Lysosomal cysteine proteases: structural features and their role in apoptosis // IUBMB Life. 2005. 57. 347–353.
13. Sarnak M.J., Katz R., Stehman-Breen C. et al. Cystatin C concentration as a risk factor for heart failure in older adults // Ann. Inter. Med. 2005. 142. 497–505.
14. Filler G., Bokenkamp A., Hofmann W. et al. Cystatin C as a marker of GFR – history, indications, and future research // Clin. Biochem. 2006. 38. 1–8.
15. Turk V., Stoka V., Turk D. Cystatins: biochemical and structural properties, and medical relevance // Front Biosci. 2008. 13. 5406–5420.
16. Богомолов П.О., Павлова Т.В. Неалкогольный стеатогепатит: патофизиология, патоморфология, клиника и подходы к лечению // Фарматека. 2003. (10). 31–39.



Bogomolov P.O., Pavlova T.V. Nonalcoholic steatohepatitis: patophysiology, pathomorphology, clinic and approaches to treatment// Farmateka. — 2003. 10. 31-39

14. Карнейро де Мура М. Неалкогольный стеатогепатит // Клини. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. 2001. (3). 12–16.

Kaneyro de Mura M. Nonalcoholic steatohepatitis // Clin. perspectives gastroenterology, hepatology. 2001. №3. — С. 12- 16

15. Adams L.A., Angulo P., Lindor K.D. Nonalcoholic fatty liver disease // CMAJ. 2005. 29. 172.

16. Brunt E.M. Nonalcoholic steatohepatitis // Semin. Liver Dis. 2004. 24. 3–20.

## **CONCENTRATION OF CYSTATIN C IN BLOOD SERUM IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE AS AN INDEX OF INFLAMMATION AND CHRONIC LIVER DAMAGE DEVELOPMENT**

**Tatyana Grigorjevna FILATOVA<sup>1</sup>, Valentina Sergeevna KRAPIVKINA<sup>1,2</sup>, Julia Valerievna YUZKO<sup>1</sup>, Natalia Borisovna VOLOSHINA<sup>3</sup>, Tatyana Aleksandrovna KOROLENKO<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> State Institute of Physiology Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences  
4, Timakov str., Novosibirsk, 630117

<sup>2</sup> Municipal Health Care Institution of City clinical Hospital № 7  
90a, O.Gilinoi st., Novosibirsk, 630005

<sup>3</sup> Novosibirsk State Medical University  
52, Krasniy Prospect, Novosibirsk, 630091

Cystatins are recently discovered group of endogenous inhibitors of cysteine proteases, their biological role has been intensively researched over the last 20 years. Cystatin C, discovered in different types of cells (macrophages, hepatocytes, etc.) is a low-molecular protein, the most effective endogenic inhibitor of cysteine protease — cathepsins B, L, H, S и K.

The role of the cystatin C as a possible noninvasive marker of an inflammatory liver process in nonalcoholic hepatic steatosis was studied. Changes in the concentration of cystatin C in blood serum of nonalcoholic steatosis and steatohepatitis patients have been studied. A comparison with indices of healthy middle-aged people (20-50 years old) has shown an increased concentration of cystatin C in nonalcoholic steatosis and steatohepatitis patients. Hence, detection of the concentration of cystatin C, the inhibitor of cysteine protease, in blood serum can be considered as a possible noninvasive marker of an inflammatory liver process in nonalcoholic fatty liver disease.

---

**Key words:** cystatin C, nonalcoholic steatohepatitis, nonalcoholic fatty liver disease, steatosis liver.

**Filatova T.G.** — Head Lab Cell Biochem

**Krapivkina V.S.** — internist, Municipal Health Care Institution of City clinical Hospital № 7; postgraduate student, State Institute of Physiology Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences e-mail: ak303@yandex.ru

**Yuzko J.V.** — resident

**Voloshina N.B.** — doctor of Medical Science, assistant professor

**Korolenko T.A.** — doctor of Medical Science, prof., Head Lab Cell Biochemistry and Physiology