

АКТИВНОСТЬ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ У ДЕТЕЙ С ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ .

Т.В.РОМАНОВА, Г.Н.РУДЕНСКАЯ, Л.Т.ТЕБЛОЕВА, Д.В.ЗВЕРЕВ, Х.М.ЭМИРОВА.

Кафедра детских болезней Московского медицинского стоматологического института.
Кафедра природных соединений химического факультета МГУ. 119899, Москва,
Ленинские горы, МГУ. fax (7-095)939-31-81. Эл. Почта: Rudenskaya @ biorg.chem.msu.su.

В настоящей работе впервые изучена активность сериновых протеиназ сыворотки крови и мочи при гемолитико-уремическом синдроме (ГУС) у детей. Результаты проведенного исследования показали значительное повышение активности сериновых протеиназ трипсинового и химотрипсинового типов в сыворотке крови и моче у детей с ГУС. Наряду с повышением активности трипсиноподобных протеиназ и химотрипсиноподобных протеиназ в сыворотке крови по мере восстановления диуреза наблюдается тенденция к нормализации содержания трипсиноподобных протеиназ в моче. Исходя из полученных данных об активности сериновых протеиназ, можно предположить их участие в процессе формирования нефропатий и артериальной гипертензии, сопровождающих ГУС. Определение повышенной ТПА в моче может свидетельствовать о повреждении гломерулярного фильтра.

Ключевые слова: острая почечная недостаточность, трипсиноподобные протеиназы, химотрипсиноподобные протеиназы, лейцинаминопептидаза, диализная терапия.

Сокращения: гемолитико-уремический синдром (ГУС), активность трипсиноподобной протеиназы (ТПА), активность химотрипсиноподобной протеиназы (ХПА), гемодиализ (ГД), перитонеальный диализ (ПД), острая почечная недостаточность (ОПН), гломерулярная базальная мембрана (ГБМ), артериальное давление (АД), артериальная гипертензия (АГ)

ВВЕДЕНИЕ. Гемолитико-уремический синдром (ГУС) является наиболее распространенной причиной развития острой почечной недостаточности у детей. Общие клинические черты (гемолитическая анемия, тромбоцитопения, острая почечная недостаточность) описаны в 1955 Гассером. Симптоматическая терапия ГУС включает коррекцию водно-электролитного обмена, азотовыделительной функции почек, анемии, нормализацию артериального давления. Своевременное применение диализной терапии позволяет снизить летальность в остром периоде до 10 - 12 % [1]. Вместе с тем отмечается высокая частота развития осложнений в виде артериальной гипертензии, длительно сохраняющегося мочевого синдрома, трансформации ОПН в хроническую почечную недостаточность [2].

В последние годы важную роль в патогенезе заболеваний почек и развитии почечной недостаточности отводят состоянию протеолитических систем плазмы крови [3,4,5]. Особое место среди них принадлежит ККС, играющей ведущую роль в регуляции кровяного давления, почечной гемодинамики, водно-электролитного состояния [6,7]. Калликреины являются сериновыми протеиназами трипсиноподобного действия, которые

содержатся в плазме крови, тканях различных органов, нейтрофилах [8]. Наибольшее содержание тканевых калликреинов обнаружено в почках, слюнных железах, кишечнике, поджелудочной железе [8,9]. Более 90% ренального калликреина выявлено в корковом и наружном мозговом слое почки. Предполагается, что главные калликреинпродуцирующие клетки расположены в дистальных отделах нефрона [10]. Активность трипсиноподобных протеиназ (ТП) на 92% обусловлена суммарной активностью плазменного и тканевого калликреинов [11].

На основании литературных данных мы предположили, что активность сериновых протеиназ может заметно изменяться при ГУС. Целью настоящего исследования явилось изучение изменений активности трипсино- и химотрипсиноподобных протеиназ в сыворотке крови и моче детей при этом заболевании.

МЕТОДИКА. Обследовано 60 больных детей, находившихся на лечении в Московском детском центре гравитационной хирургии и экстракорпорального очищения крови (Московская детская городская больница Святого Владимира) в 1995-1997 годах в возрасте от 3 месяцев до 11 лет, массой тела от 6830 г. до 25700 г. Дети в возрасте до 3 лет составили основную часть (54 больных, 90%). Распределение больных по полу было практически одинаковым: 31 мальчиков (51,7%) и 29 девочек (49,3%).

Развитию ГУС у 59 из 60 больных предшествовало инфекционное заболевание. ГУС развился вследствие кишечной инфекции у 57 больных, вследствие острой респираторно-вирусной - у двоих больных. У одного ребенка данный синдром возник после вакцинации кори. Длительность продромального периода ГУС варьировала от 2 до 13 дней ($M \pm m$, $5,68 \pm 0,35$ дня). В отделение все больные поступали в период развернутой клинической картины ГУС.

Анализ протеолитической активности проводился в зависимости от тяжести и длительности острого периода ОПН, уровня артериального давления, вида почечнозаместительной терапии.

Все больные были условно разделены по тяжести и длительности острой фазы ГУС на следующие группы: 1) ОПН, стадия олигурии - 18 детей, 2) ОПН, анурия от 1 до 5 суток - 17 детей, 3) ОПН, анурия от 6 до 10 суток - 16 детей и 4) ОПН, анурия более 11 суток - 9 больных.

Артериальная гипертензия, являющаяся частым сопутствующим осложнением ГУС, была выявлена у 44 больных (группа А). Нормальные показатели артериального давления были отмечены у 16 больных (группа В).

Учитывая данные литературы о влиянии поддерживающей диализной терапии на состояние протеолиза, проведен анализ ТПА и ХПА при различных видах почечнозаместительной терапии. Ведущим методом лечения у 20 детей в возрасте от 10 месяцев до 11 лет, массой тела от 9,900 кг до 29,0 кг был гемодиализ (ГД) с использованием бикарбонатного диализирующего раствора и диализаторов из купрофановой мембраны. Больным проведено от 1 до 16 сеансов ГД. На перитонеальном диализе находилось 36 больных в возрасте от 3 месяцев до 2,7 лет, массой тела от 5,100 до 15,850 кг. Длительность ПД варьировала от 1 до 30 дней. Консервативная терапия проводилась 4 детям.

В качестве контроля исследовали кровь и мочу, полученные у 19 практически здоровых детей.

Состояние системы протеолиза оценивали, определяя активность сериновых протеиназ трипсинового и химотрипсинового ряда в сыворотке крови и моче у детей в различные периоды ГУС (олигурия или анурия, ранний период восстановления диуреза, полиурия, период реконвалесценции).

Для получения сыворотки использовали 5 мл крови без антикоагулянтов, и, после свертывания её в пробирке, центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об/мин. Сыворотку отбирали и хранили при $t-20^{\circ}\text{C}$ не более 1 месяца. При определении протеиназной активности свежеприготовленной сыворотки и после замораживания разницы не отмечено.

Для исследования протеиназной активности мочи использовали вторую утреннюю порцию мочи, которую также хранили $t-20^{\circ}\text{C}$ не более 1 месяца.

Активность протеиназ в сыворотке крови и моче определяли по расщеплению хромогенного пептидного субстрата Z-D-Ala-Leu-Arg-pNa [11]. Для этого в пробирки, содержащие 2,5-мл 0,05 М трис-НСl (рН 8,0) добавляли по 50 мкл сыворотки крови или мочи и 50 мкл субстрата. Инкубационную смесь помещали в термостат при 37°C и выдерживали в течение 1 часа (для крови) или 24 часов (для мочи). Реакцию останавливали добавлением 200 мкл 50% уксусной кислоты, отмечая длительность протекания реакции с момента добавления аликвоты сыворотки крови или мочи до остановки реакции уксусной кислотой. Затем измеряли поглощение растворов на при длине волны 410 нм в опытных пробирках против соответствующего контроля.

Протеиназную активность определяли по формуле:

$$A = \frac{D 410 \cdot 0,37 \cdot 1000}{t \cdot V}, \text{ где}$$

D 410 - разность поглощения между опытом и контролем, V - объем аликвоты сыворотки крови или мочи, t - время реакции в мин, 0,37 - коэффициент экстинкции паранитроанилида и объема инкубированной смеси.

Активность выражали в нмоль субстрата, расщепляемого ферментом в минуту.

Определение химотрипсиноподобной протеиназной активности сыворотки крови и мочи по субстрату Glp-Ala-Ala-Leu-pNa [11].

Использованный нами субстрат Glp-Ala-Ala-Leu-pNa отвечает специфичности протеиназ, близких к химотрипсину (катепсин G, сериновая эластаза лейкоцитов и др.). Взятие крови и мочи, условия хранения сыворотки крови и мочи, ход исследования и методы расчета протеиназной активности были такие же, как и у трипсиноподобных протеиназ.

Протеиназа химотрипсинового (ХП) ряда является новой протеиназой, расщепляющей брадикинин и превращающей ангиотензин-1 в ангиотензин-2 [11].

Полученные цифровые результаты обработаны методом вариационной статистики [12].

Установление связи между отдельными показателями проводилось на основании определения выборочного коэффициента корреляции "r". Коэффициент корреляции 0,3 выражает слабую связь, 0,31-0,5 умеренную тесноту связь 0,5-0,7 - заметную, и 0,71 и выше - высокую.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Содержание трипсиноподобных и химотрипсиноподобных протеиназ в крови и моче у детей с ГУС представлено в таблице 1.

В острой фазе ГУС у 60 больных независимо от тяжести ОПН протеолитическая активность крови и мочи значительно превышала контрольные показатели активности.

В период раннего восстановления диуреза установлено повышение среднего показателя ТПА и ХПА крови ($p < 0,05$). В моче ТПА оставалась на прежнем уровне, ХПА увеличилась в 1,4 раза. В период полиурии отмечена тенденция к уменьшению протеолитической активности по обоим субстратам в сыворотке крови. При этом в моче наблюдалась дальнейшее снижение активности ТП и повышение ХП. Период реконвалесценции ГУС характеризовался увеличением протеолитической активности крови, тенденцией к нормализации ТПА мочи и повышением ХПА мочи. Нормализация ТПА и ХПА сыворотки крови установлена у 40% и 46,7% больных и мочи - у 76% и 70%, соответственно.

Таким образом, у больных с ГУС установлена повышенная активность протеиназ. Однако несомненный интерес представляло выяснение активности ТП и ХП в зависимости от степени тяжести и длительности ОПН (таблица 2).

Таблица 1. Активность трипсиноподобных и химотрипсиноподобных протеиназ в крови и моче у детей при гемолитико-уремическом синдроме.

| Периоды заболевания | Активность трипсиноподобных протеиназ, нмоль/мл·мин | | Активность химотрипсиноподобных протеиназ, нмоль/мл·мин | |
|--|---|------------|---|------------|
| | кровь | моча | кровь | моча |
| | М±м | М±м | М±м | М±м |
| 1. острая фаза ГУС - олигурия, n=18 - анурия, n=42 | 55,82±7,47* | 1,95±0,65* | 1,68±0,30* | 1,43±0,51* |
| | 62,58±7,41* | - | 1,35±0,18* | |
| 2. раннее восстановление диуреза | 72,17±7,17* | 1,91±0,26* | 1,81±0,31* | 1,99±0,45* |
| 3. полиурия | 69,99±6,11* | 1,16±0,23* | 1,51±0,41* | 2,06±0,92* |
| 4. реконвалесценция | 77,86±7,94* | 0,58±0,09* | 1,65±0,52* | 2,13±1,31* |
| Группа контроля, n=19 | 29,50±2,50 | 0,44±0,05 | 0,44±0,04 | 0,19±0,04 |

* - разность достоверна по сравнению с контрольными показателями ($p < 0,05$), n - число больных.

Оказалось, что наиболее низкие показатели ТПА по сравнению с другими группами отмечены в группе больных с олигурией. По мере восстановления почечной функции наблюдалось увеличение активности ТП в крови относительно острого периода у большинства больных в условно выделенных группах. При этом активность ТП в моче имела тенденцию к нормализации.

Высокий уровень ХПА в крови и моче зарегистрирован в группе больных с олигурией. При восстановлении диуреза было отмечено значительное повышение его активности в сыворотке крови и моче у больных с олигурией. Менее выраженное увеличение ХПА и сохранение её на прежнем уровне было выявлено в при анурии более 6 суток. Тогда как, в группе с анурией до 5 суток наблюдалась тенденция к снижению ХПА крови и мочи до нормальных показателей.

Таким образом, при исследовании ТПА и ХПА в крови и моче в зависимости от тяжести и длительности острой фазы ГУС установлено их повышение у большинства больных в острый период заболевания. Восстановление почечной функции сопровождается нормализацией активности ХП крови и мочи при анурии до 5 суток. Увеличение активности ТП крови сохраняется во всех группах независимо от тяжести ГУС. Учитывая значительную ТПА в крови при нормализации ТПА в моче, можно предположить восстановление проницаемости гломерулярной базальной мембраны (ГБМ), что согласуется с представлением о природе возникновения калликреинурии, как о результате повреждения ГБМ и сосудистой стенки [13,14]. Учитывая данные Чумаковой О.В. о корреляции активности ХП уровню склероза, это наблюдение может быть расценено, как неблагоприятный признак в прогнозе заболевания [11].

В связи с тем, что у большинства больных ГУС сопровождался развитием артериальной гипертензии проведен анализ ТПА и ХПА в крови у детей в зависимости от уровня артериального давления (рисунок). Оказалось, что у больных с артериальной гипертензией уровень ТПА крови был выше, чем у больных с нормотензией. По мере восстановления почечной функции была установлена неоднозначная динамика ТПА. В

сыворотке крови наблюдалось повышение активности ТП у больных с АГ и нормотензией. Вероятно, более высокие показатели ТПА связаны с ишемией почечной ткани, которая сильнее выражена у больных с артериальной гипертензией. Уровень ХПА крови в острую фазу ГУС у больных с АГ находился на более высоком уровне, чем у больных с нормотензией. По мере восстановления почечной функции отмечено повышение активности протеиназ при АГ и понижение при нормотензии. При этом ХПА у больных с нормальным АД была выше, чем у больных с артериальной гипертензией. По-видимому, более высокие показатели ХПА в группе больных без артериальной гипертензии обусловлены в связи с отсутствием препаратов, ингибирующих ангиотензин-превращающий фермент, которые входят в комплексную терапию артериальной гипертензии, осложнившей ГУС.

Таблица 2. Активность трипсиноподобных протеиназ в крови и моче в зависимости от тяжести острого периода гемолитико-уремического синдрома.

| Периоды наблюдения | Активность трипсиноподобных протеиназ, нмоль/мл·мин. | | Активность химотрипсиноподобных протеиназ, ноль/мл·мин | |
|---|--|------------|--|------------|
| | кровь | моча | кровь | моча |
| 1. Группа больных с ОПН, в стадии олигурии, n=18 | | | | |
| 1. олигурия | 55,82±7,47* | 1,95±0,66* | 1,68±0,30* | 1,43±0,51* |
| 2. раннее восстановление диуреза | 67,11±8,84* | 2,22±0,54* | 2,63±0,98* | 1,68±0,63* |
| 3. полиурия | 72,76±13,49* | 1,79±0,69 | 3,28±1,67 | 4,84±3,28 |
| 4. реконвалесценция | 77,49±16,07* | 0,49±0,12 | 2,93±1,67 | 5,79±4,64 |
| 2. Группа больных с ОПН, в стадии анурии до 5 суток, n=17 | | | | |
| 1. анурия | 53,81±7,05* | - | 1,19±0,28* | - |
| 2. раннее восстановление диуреза | 73,39±12,07* | 1,66±0,38* | 1,28±0,42 | 2,32±1,16 |
| 3. полиурия | 78,49±11,51* | 0,68±0,23 | 0,83±0,18* | 1,02±0,52 |
| 4. реконвалесценция | 84,12±20,57* | 0,41±0,14 | 0,69±0,14 | 0,17±0,05 |
| 3. Группа больных с ОПН, в стадии анурии от 6 до 10 суток, n=16 | | | | |
| 1. анурия | 75,77±18,12* | - | 1,68±0,39 | - |
| 2. раннее восстановление диуреза | 85,14±21,06* | 1,78±0,59* | 1,87±0,54* | 2,40±0,86* |
| 3. полиурия | 67,83±11,14* | 1,23±0,42 | 1,28±0,44 | 1,15±0,71 |
| 4. реконвалесценция | 73,66±12,58* | 0,62±0,18 | 1,46±0,56 | 0,82±0,50 |
| 4. Группа больных с ОПН, в стадии анурии 11 и более суток, n=9 | | | | |
| 1. анурия | 57,19±13,15 | - | 1,09±0,22* | - |
| 2. раннее восстановление диуреза | 54,31±13,18 | 2,24±0,98 | 1,31±0,47 | 1,02±0,91 |
| 3. полиурия | 49,53±19,58 | 0,85±0,29 | 0,59±0,27 | 0,48±0,45 |
| 4. реконвалесценция | 75,29±19,28* | 1,12±0,47 | 1,03±0,29 | 1,14±0,92 |
| Группа контроля | 29,50±2,5 | 0,44±0,05 | 0,44±0,04 | 0,19±0,04 |

* - достоверность различия по сравнению с группой контроля (p<0,05).

Проведен корреляционный анализ между уровнем протеолитической активности крови и мочи и клиническими проявлениями ГУС, который выявил положительную связь ТПА мочи с уровнем протеинурии ($r=0,774$), ТПА крови с длительностью анурии ($r=0,328$). Однако, нам не удалось установить корреляцию между ТПА крови и уровнем АД у больных с артериальной гипертензией ($r=0,03$). При этом, была установлена

корреляция между систолическим АД и ТПА крови у больных с нормальным АД в острую фазу ГУС ($r=0,389$). В группе больных с артериальной гипертензией в острый период ГУС обнаружена слабая корреляционная зависимость между ХПА крови и

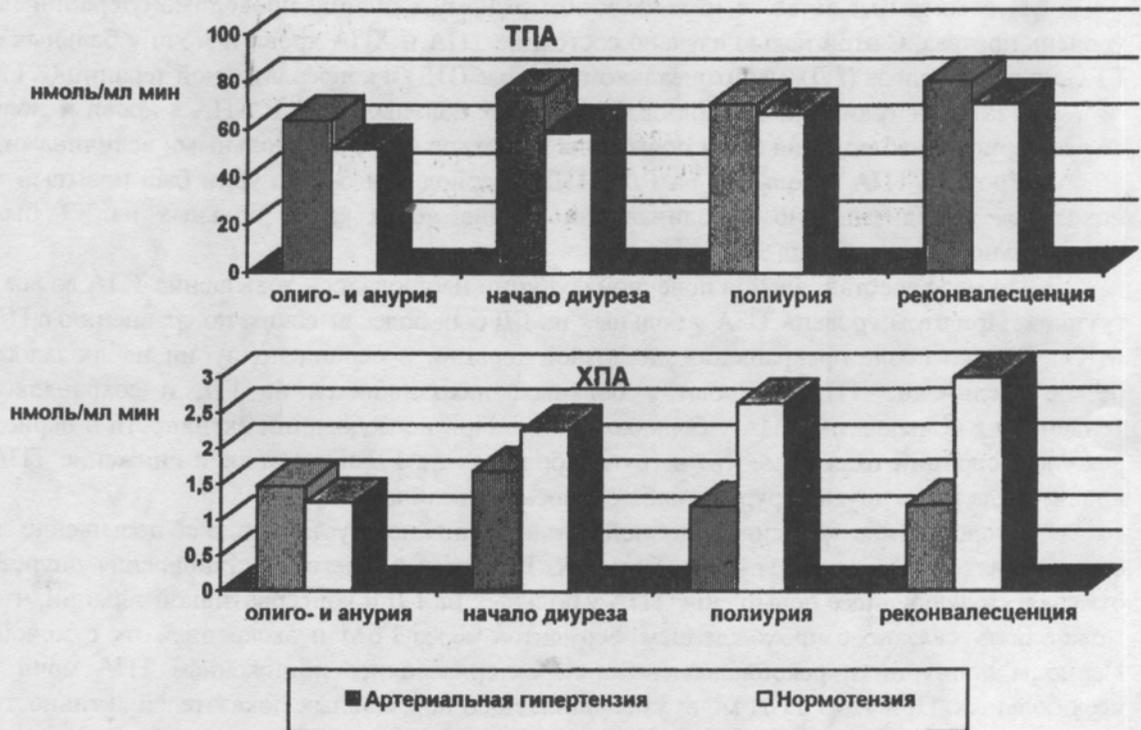


Рисунок.

Активность трипсиноподобных и химотрипсиноподобных протеиназ в крови у детей с ГУС с артериальной гипертензией и без неё.

Таблица 3. Зависимость активности трипсиноподобных протеиназ в крови и моче от вида диализной терапии.

| Периоды наблюдения | Активность ТП (нмоль/мл-мин) | | | | | |
|----------------------------------|------------------------------|------------|-----------------------------|------------|-----------------------------|-----------|
| | Гемодиализ, n=20 | | Перитонеальный диализ, n=36 | | Консервативная терапия, n=4 | |
| | кровь | моча | кровь | моча | кровь | моча |
| 1. олиго- и анурия | 64,78±8,94* | 0,91±0,11* | 64,75±8,23* | 2,49±2,10* | 47,68±14,23 | 2,05±0,94 |
| 2. раннее восстановление диуреза | 78,55±12,54* | 2,09±0,56* | 68,02±10,01* | 1,51±0,27* | 62,48±12,10 | 2,24±1,30 |
| 3. полиурия | 92,96±12,31* | 0,77±0,24* | 59,23±7,09* | 1,03±0,26* | 72,28±16,95 | 2,09±1,12 |
| 4. реконвалесценция | 69,44±11,59* | 0,56±0,14 | 83,81±11,45* | 0,71±0,14 | 102,82±38,16 | 0,25±0,05 |
| Группа сравнения | 29,50±2,50* | 0,44±0,05 | 29,50±2,50 | 0,44±0,05 | 29,50±2,5 | 0,44±0,05 |

*- разность достоверна по сравнению с группой сравнения ($p<0,05$).

систолическим АД ($r=0,242$) и диастолическим АД ($r=0,260$). В группе без АГ ХПА в сыворотке крови в период реконвалесценции коррелирует с уровнем систолического АД ($r=0,306$) и диастолического АД ($r=0,412$).

Несомненным остается интерес к возможному влиянию проводимой терапии на уровень протеаз. С этой целью изучено состояние ТПА и ХПА крови и мочи у больных с ГУС на гемодиализе (ГД), перитонеальном диализе (ПД) и консервативной терапии (КТ).

Статистический анализ показал, что у всех больных ТПА и ХПА в крови и моче во все периоды наблюдения были повышены по сравнению с контрольными величинами.

Уровень ТПА у больных на ГД и ПД в период олиго- и анурии был повышен и находился приблизительно на одинаковом уровне, тогда как у больных на КТ был значительно ниже (таблица 3).

По мере восстановления почечной функции наблюдалось повышение ТПА во всех группах. При этом уровень ТПА у больных на ГД был более высоким по сравнению с ПД и КТ. Однако после прекращения диализной терапии в период полиурии наблюдалось резкое увеличение ТПА в крови у больных, находившихся на ГД, и сохранялась тенденция к повышению ТПА у больных на КТ. При исследовании активности в период реконвалесценции оказалось, что в группе больных на ГД происходило снижение ТПА крови, тогда как в других группах наблюдалось её увеличение.

Исследование трипсиноподобной активности в моче установило её повышение в острую фазу ГУС во всех группах больных. В период раннего восстановления диуреза отмечалось дальнейшее повышение ТПА у больных на ГД и консервативной терапии, что может быть связано с прохождением ферментов через ГБМ и экскрецией их с мочой. Периоды полиурии и реконвалесценции характеризовались понижением ТПА мочи у всех больных. При этом ТПА мочи уменьшилась до нормальных показателей активности у больных на КТ.

Анализ ХПА крови в период олиго-и анурии выявил повышение активности у детей, находившихся на гемодиализе, по сравнению с группой на ПД и КТ (таблица 4). В период раннего восстановления диуреза наблюдалась тенденция к дальнейшему увеличению ХПА крови во всех группах. При этом наибольшее повышение активности отмечалась в группе больных на КТ. Периоды полиурии и реконвалесценции характеризовались понижением ХПА в крови у больных на ГД и ПД. Тогда как у детей, получающих КТ, сохранялась тенденция к увеличению ХПА в сыворотке крови. При этом нормальные показатели активности крови установлены лишь у 25% больных, находившихся на ГД, у 27,7% - на ПД. У 100% больных на консервативной терапии нормализации ХПА не происходило.

Таблица 4. Зависимость активности химотрипсиноподобных протеиназ в крови и моче от вида диализной терапии.

| Периоды наблюдения | Активность ХП (нмоль/мл·мин) | | | | | |
|----------------------------------|------------------------------|------------|-----------------------------|------------|-----------------------------|-----------|
| | Гемодиализ, n=20 | | Перитонеальный диализ, n=36 | | Консервативная терапия, n=4 | |
| | кровь | моча | кровь | моча | кровь | моча |
| 1. олиго-и анурия | 1,67±0,32* | 0,46±0,30 | 1,36±0,18* | 2,49±2,10* | 1,56±0,58 | 1,31±0,58 |
| 2. раннее восстановление диуреза | 1,95±0,49* | 1,50±0,49* | 1,45±0,23* | 2,28±0,75* | 1,62±0,62 | 0,93±0,30 |
| 3. полиурия | 1,12±0,34 | 0,31±0,20 | 1,15±0,24 | 1,47±0,61 | 1,86±0,67 | 2,06±0,71 |
| 4. реконвалесценция | 1,33±0,29* | 0,27±0,16 | 1,24±0,31* | 1,01±0,36 | 1,97±1,08 | 1,99±1,38 |
| Группа сравнения | 0,44±0,04 | 0,19±0,04 | 0,44±0,04 | 0,19±0,04 | 0,44±0,04 | 0,19±0,04 |

* - разность достоверна по сравнению с группой сравнения ($p<0,05$).

При изучении протеолитической активности мочи было установлено увеличение ХПА во всех группах в острый период ГУС и дальнейшее повышение в период раннего восстановления диуреза. Периоды полиурии и реконвалесценции характеризовались снижением ХПА у больных на ПД и ГД и повышением у больных на консервативной терапии. При этом нормальные показатели активности определялись у 85% больных на ГД, 27,7% - на ПД и 50% - на консервативной терапии.

В результате проведенных исследований установлено повышение активности трипсино- и химотрипсиноподобных протеиназ во все периоды гемолитико-уремического синдрома.

Выявлена зависимость ТПА и ХПА от тяжести и длительности острого периода ГУС. Установлено увеличение ТПА и ХПА при увеличении артериального давления. В динамике заболевания отмечено повышение ХПА в сыворотке крови у больных с нормотензией, тогда как в группе больных с артериальной гипертензией наблюдалось понижение.

В результате всех видов почечно-заместительной терапии активность трипсиноподобных ферментов в моче снижается, однако в крови остается на высоком уровне. Для химотрипсиноподобных протеиназ уменьшение активности установлено в моче только после гемодиализа. Повышение протеолитической активности в крови и моче является достаточно чувствительным критерием сохраняющегося патологического процесса в почках при отсутствии других лабораторных и клинических признаков активности заболевания.

Метод определения активности протеиназ с помощью специфических хромогенных субстратов является доступным и позволяет наблюдать за течением заболевания и результатами лечения.

ЛИТЕРАТУРА.

1. *Lenik J., Sancewicz-Pach K., Pietrzyk J.J.* (1995) 10-th Congress of IPHA, Santiago, Chile, 109.
2. *Bassani C.E., Ferraris J., Gianantonio C.A., Ruiz S., Ramirez J.* (1991) *Pediatr. Nephrol.* **5**, 607-611.
3. *Каюков И.Г., Кучер А.Г.* (1991) *Урол. и нефрол.*, **1**, 51-54
4. *Коган Ф.В.* (1984) Автореферат дисс...канд.мед.наук. Москва 27с..
5. *Назар П.С., Чернявская Г.Ф.* (1989) *Врачебное дело*, **8**, 6-8.
6. *Margolius H.S.* (1995), *Hypertension*, **26(2)**, 221-229.
7. *Miller D.H., Margolius H.S.* (1996), in *Principles of Medical Biology*, Part 1.
8. *Dahr S.S., Dipp S.* (1993), *Pediatr. Nephrol.*, **7**, 646-651.
9. *Dahr S.S.* (1994) *Pediatr. Nephrol.* **8(5)**, 624-631.
10. *Кузьмин О.Б.* (1993). *Эксперим. и клин. фармакол.*, **56**, (3), с.72-75.
11. *Чумакова О.В.* (1995). Активность трипсиноподобных и химотрипсиноподобных протеиназ при первичном гломерулонефрите у детей / Дисс. канд.мед.наук. М. 168 с.
12. *Случанко И.С.* Теория и методика санитарно-статистического исследования: Учебное пособие. М.: ЦОЛИУВ, 1986, 100 с.

13. Клиническое значение ферментурии при заболеваниях почек у детей. Методические рекомендации .М.(1989). 20с.
14. *Cumming A.D., Robson J.S* (1985). *Nephron*. 39 (3). 206-210 .

ACTIVITY OF SERINE PROTEASES IN HAEMOLYTIC URAEMIC SYNDROME OF CHILDREN.*

T.V.ROMANOVA, G.N.RUDENSKAYA, L.T.TEBLOEVA, D.V.ZVEREV,
С.М.ЕМИРОВА.

Moscow Medical Stomatological Institute and Moscow State University, Moscow 119899,
Fax: (7-095)939-31-81; E-mail: Rudenskaya@biorg.chem msu.su

Haemolytic-uremic syndrome (HUS) is the leading cause of acute renal failure in the childhood. It is characterised by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, acute renal failure and injury of the renal microvascular endothelium. In HUS the condition of proteolytic kallikrein-kinin system is unknown. The renal KKS seems to participate in the regulation of blood pressure, control of sodium and water excretion, renal vascular resistance and renin release.

In this study the role kallikrein in the developing HUS was studied. The general activity of kallikrein in plasma and urine was determined by trypsin-like peptidohydrolase activity (TP), which was measured using substrate Z-D-Ala-Leu-Arg-pNa. Chymotrypsin-like protease activity (ChP) was measured using substrate Glp-Ala-Ala-Leu-pNa.

Clinical data were analysed on 60 pediatric patients with HUS, 29 girls and 31 boys, ranging in the age from 3 months to 11 years. TP and ChP levels were determined in different periods of HUS (anuria, diuresis beginning, polyuria, recovery) in serum and urine. In acute phase TP and ChP activities increased significantly. In diuresis recovery serum TP activity was higher, but urine TP level became normal. In dynamic serum and urine ChP levels had tendency to decrease.

The present work showed that TP and ChP levels demonstrated activity of pathological renal process and condition of glomerules.

Key Words: acute renal failure, trypsin-like proteases, chymotrypsin-like proteases, leucine aminopeptidase, dialysis