

Активность калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой систем крови новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией

Суханова Г.А., Кондратьева Е.И., Гунбина Т.Е., Горев В.В., Хлынина Т.Н.

Activity of blood kallikrein-kinin and renin-angiotensin systems in newborns with hypoxic-ishaemic encephalopathy

Soukhanova G.A., Kondratyeva Ye.I., Gunbina T.Ye., Gorev V.V., Khlynina T.N.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Суханова Г.А., Кондратьева Е.И., Гунбина Т.Е. и др.

Кислородная недостаточность у новорожденных сопровождается нарушением тонуса сосудов, в регуляции которого принимают участие калликреин-кининовая (ККС) и ренин-ангиотензиновая системы (РАС). Важным показателем гемодинамических нарушений является активность калликреина, ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), а также ингибиторов протеиназ — α_1 -протеиназного ингибитора (α_1 -ПИ) и α_2 -макроглобулина. При гипоксически-ишемической энцефалопатии доношенных и детей I, II степени недоношенности установлена более выраженная активация ККС крови по сравнению с РАС. Снижение активности α_1 -ПИ наблюдается у 46% новорожденных II степени недоношенности, что, как правило, приводит к хронизации патологического процесса. Для прогноза нарушений гемодинамики имеет значение повышенная активность АПФ.

Ключевые слова: калликреин, ангиотензинпревращающий фермент, α_1 -протеиназный ингибитор, доношенные и недоношенные новорожденные.

Oxygen insufficiency in newborns is associated with disturbed vascular tone, which are regulated by kallikrein-kinin (KKS) and renin-angiotensin systems (RAS). Important index of hemodynamic disturbances is the activity of kallikrein, of angiotensin-converting enzyme (ACE) and also inhibitors of proteinases: α_1 -proteinase inhibitor and α_2 -macroglobulin. In hypoxic-ischemic encephalopathy of mature newborns and children of the I, II premature degrees, blood KKS activity is increased in comparison with RAS. Decreased activity of α_1 -proteinase inhibitor is seen in 46% of premature infants of II degree which usually leads to chronic pathologic process. The increased activity of ACE is important for preventing hemodynamic disturbances.

Key words: kallikrein, angiotensin-converting enzymes, α_1 -proteolysis inhibitor, mature and premature newborns.

УДК 577.152.34:616.153.962.4-053.31:616.831

Введение

Ферменты протеолиза и их ингибиторы в плазме крови образуют каскад реакций, участвующих в регуляции гемостаза. Калликреин-кининовая система взаимодействует с системами тромбообразования, фибринолиза, комплемента [2, 10, 11]. Ренин-ангиотензиновая (РАС) и калликреин-кининовая системы (ККС) регулируют тонус сосудов и обеспечивают оптимальную доставку кислорода к тканям. Связь калликреин-кининовой и ренин-ангиотензиновой систем осуществляется на уровне проренина, который активируется калликреином, а также ангиотензинпревращающего фермента, участвующего в деградации брадикинина и образовании ангиотензина II. Последний выполняет функцию вазоконстриктора и является основным маркером повреждения эндотелия сосудов, брадикинин расширяет просвет сосудов [7, 10]. Являясь ан-

тагонистами, ККС и РАС осуществляют адаптивную защиту организма. В регуляции этих систем принимают участие α_1 -протеиназный ингибитор (α_1 -ПИ) и α_2 -макроглобулин (α_2 -МГ), локализованные в плазме крови. α_1 -ПИ полностью инактивирует протеиназу, α_2 -МГ ограничивает кининогеназную активность, сохраняя БАЭЭ-эстеразную. Дисбаланс этих систем, как правило, приводит к нарушениям гемодинамики [7, 9].

Известно, что кислородная недостаточность сопровождается нарушением регуляции тонуса сосудистой стенки, повышением проницаемости гематоэнцефалического барьера. Церебральная перфузия при гипоксии зависит от колебаний системного артериального давления и определяет дальнейшее нервно-психическое развитие детей [1, 6]. Сосуды го-

ловного мозга наиболее чувствительны к воздействию кининов [8, 9].

Окончательное формирование большинства систем организма, включая ККС и РАС, происходит в течение первого месяца жизни ребенка [8]. В связи с этим цель настоящего исследования заключалась в изучении активности калликреина, ангиотензинпревращающего фермента, α_1 -протеиназного ингибитора и α_2 -макроглобулина крови у доношенных и недоношенных новорожденных с гипоксически-ишемической энцефалопатией.

Материал и методы

На базе МЛПУ «Детская больница № 1» (г. Томск) проведено обследование 75 детей первого месяца жизни с гипоксически-ишемической энцефалопатией (ГИЭ). Диагноз перинатальной гипоксически-ишемической энцефалопатии устанавливали в соответствии с классификацией перинатальных поражений нервной системы у новорожденных [1]. В зависимости от срока гестации и массы тела были выбраны группы доношенных и недоношенных детей. ГИЭ у доношенных новорожденных (34 ребенка, 38—40 нед гестации, масса тела 3 300—3 500 г) характеризовалась проявлением неврологической симптоматики, двигательными нарушениями, наличием синдрома гипервозбудимости или угнетения ЦНС, горизонтальным нистагмом. Недоношенность сопровождалась развитием перивентрикулярного отека. При I степени недоношенности (18 детей, 36—37 нед гестации, масса тела 2 001—2 500 г) преобладал синдром угнетения, в 20% случаев наблюдались внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК). При II степени недоношенности (23 ребенка, 32—35 нед гестации, масса тела 1 501—2 000 г) на первый план выходил судорожный синдром и наличие ВЖК у 50% новорожденных детей. В контрольную группу включены 10 практически здоровых доношенных новорожденных.

У всех обследованных утром на 7, 14, 30-е сут после рождения брали кровь для получения плазмы и сыворотки. Сыворотку отделяли от сгустка и центрифугировали при 3 000 об/мин в течение 10 мин. Для получения плазмы в кровь добавляли 3,8%-й раствор цитрата натрия. Активность калликреина (КК) плазмы крови оценивали по скорости гидролиза N- α -бензоил-L-аргининэтилового эфира (БАЭЭ) [6]. Для выявления активности α_1 -протеиназного ингибитора и α_2 -макроглобулина использовали метод В.Ф. Нартиковой и Т.С. Пасхиной [4]. Активность ангиотензинпревращающего

фермента (АПФ) сыворотки, мкмоль/(мин · л), определяли по гидролизу фурилакрилоилфенилаланилглицилглицина [3].

Статистический анализ проводили с применением программ Statistica 6.0. Рассчитывали среднее значение M и ошибку среднего m . Для оценки межгрупповых различий использовали непараметрический U -критерий Манна—Уитни. Различия между средними значениями считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для оценки вклада отдельных биохимических показателей в общую протеолитическую активность крови был проведен регрессионный анализ.

Результаты и обсуждение

Активность КК, АПФ, α_1 -ПИ и α_2 -МГ крови практически здоровых новорожденных на 7-е сут после рождения (табл. 1) соответствовала референтным значениям [9]. На 14-е и 30-е сут жизни активность КК плазмы крови повышалась на 70 и 40% соответственно. Активность АПФ сыворотки крови на 7, 14 и 30-е сут наблюдений не изменялась. Активность α_1 -протеиназного ингибитора на 14-е и 30-е сут жизни здоровых новорожденных увеличивалась на 27 и 30% соответственно, тогда как активность α_2 -макроглобулина снижалась на 14-е сут до 75%, а к 30-м сут восстанавливалась до уровня 7-х сут. Данные изменения свидетельствуют об активации ККС в течение первого месяца жизни, что способствует переходу с фетального на неонатальный тип кровообращения.

Таблица 1
Активность калликреина, ангиотензинпревращающего фермента и ингибиторов протеолиза плазмы крови практически здоровых новорожденных детей ($n = 10$), $M \pm m$

| Показатель | Сутки жизни | | |
|---|------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| | 7 | 14 | 30 |
| Калликреин, МЕ/мл | 55,43 \pm 2,33 | 94,54 \pm 4,01 $p < 0,05$ | 76,36 \pm 2,82 $p < 0,05$ |
| Ангиотензинпревращающий фермент, мкмоль/(мин · л) | 32,62 \pm 0,42 | 36,11 \pm 0,93 $p > 0,05$ | 39,90 \pm 0,69 $p_1 > 0,05$ |
| α_1 -протеиназный ингибитор, ИЕ/мл | 28,62 \pm 0,82 | 36,48 \pm 0,66 $p < 0,05$ | 37,19 \pm 1,03 $p < 0,05$ |
| α_2 -макроглобулин, ИЕ/мл | 2,40 \pm 0,12 | 1,93 \pm 0,11 $p < 0,05$ | 2,45 \pm 0,07 $p > 0,05$ |

Примечание. n — количество обследованных детей; p — уровень статистической значимости по сравнению с 7-ми сут ($p < 0,05$).

В табл. 2 приведены показатели протеолиза крови доношенных и недоношенных новорожденных с ГИЭ через 7 сут после рождения. ГИЭ вызывает значительное увеличение активности КК и АПФ крови новорожденных. На 7-е сут

жизни активность КК и АПФ плазмы крови у доношенных новорожденных была соответственно в 3,5 и 1,5 раза выше, чем в группе здоровых детей (см. табл. 1). Существенных изменений активности ингибиторов протеолиза у доношенных детей не обнаружено.

Таблица 2

Активность калликреина, ангиотензинпревращающего фермента и ингибиторов протеолиза плазмы крови новорожденных детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией на 7-е сут жизни

| Показатель | Группа | | |
|---|----------------------------------|--|---|
| | Доношенные дети (n = 34) | Дети I степени недоношенности (n = 18) | Дети II степени недоношенности (n = 23) |
| Калликреин, МЕ/мл | 190,09 ± 4,15 <i>p</i> < 0,05 | 188,73 ± 8,24 <i>p</i> < 0,05 | 190,64 ± 3,80 <i>p</i> < 0,05 |
| Ангиотензинпревращающий фермент, мкмоль/(мин · л) | 48,93 ± 0,67 <i>p</i> < 0,05 | 61,97 ± 3,22 <i>p</i> < 0,05 | 76,26 ± 1,34 <i>p</i> < 0,05 |
| α_1 -протеиназный ингибитор, ИЕ/мл | 29,27 ± 0,83 <i>p</i> > 0,05 | 32,76 ± 1,49 <i>p</i> > 0,05 | 32,63 ± 1,14 <i>p</i> > 0,05 |
| α_2 -макроглобулин, ИЕ/мл | 2,12 ± 0,19 <i>p</i> > 0,05 | 2,31 ± 0,34 <i>p</i> > 0,05 | 2,83 ± 0,20 <i>p</i> > 0,05 |

Примечание. *p* — уровень статистической значимости по сравнению с контролем (*p* < 0,05).

При ГИЭ у детей I степени недоношенности также выявлено увеличение активности КК и АПФ по сравнению с практически здоровыми детьми. На 7-е сут после рождения активность КК и АПФ была соответственно в 3,4 и 1,9 раза выше, чем в контроле. Активность ингибиторов на 7-е сут после рождения у детей I степени недоношенности не отличалась от контроля. При ГИЭ у детей II степени недоношенности активность КК и АПФ плазмы крови на 7-е сут превышала контрольные значения в 3,4 и 2,3 раза соответственно. Следует отметить, что у детей II степени недоношенности выявлена более высокая активность АПФ сыворотки крови, которая превышала уровень данного показателя у доношенных и детей I степени недоношенности с ГИЭ на 50 и 20% соответственно. Отличий активности α_1 -ПИ и α_2 -МГ от контроля у детей II степени недоношенности на 7-е сут жизни не выявлено. При более детальном анализе данных было установлено, что снижение активности α_1 -ПИ при I степени недоношенности происходит у 20% новорожденных, а при II степени недоношенности — у 46% по сравнению со значениями практически здоровых детей.

В дальнейшем у доношенных новорожденных с ГИЭ активность КК снижалась, но к 30-м сут превышала данный показатель контрольной группы в 1,3 раза. Активность АПФ сыворотки крови соответствовала контрольным значениям.

Активность α_1 -ПИ и α_2 -МГ к 30-м сут снизилась до 82 и 86% соответственно. Уменьшение активности ингибиторов протеолиза — признак хронизации процессов, связанных с активацией КК, приводит к развитию воспалительных процессов и является фактором риска нарушений гемодинамики в дальнейшем.

При ГИЭ у детей I и II степени недоношенности активность КК плазмы через 30 сут после рождения оставалась высокой и превышала значения контроля на 70 и 80% соответственно. Увеличение активности АПФ к 30-м сут после рождения наблюдалось у 25% детей I степени и у 42% детей II степени недоношенности. В этих группах активность фермента находилась в пределах 49,51—50,43 мкмоль/(мин · л), что является неблагоприятным прогностическим признаком, свидетельствует о нарушении сосудистого тонуса и возможном развитии гипертензии. Активность α_1 -ПИ в этих группах новорожденных снизилась до 62 и 67% соответственно. Значения активности α_2 -МГ находились на уровне контрольных значений.

В качестве примера далее приведены показатели протеолиза у новорожденного ребенка с гипоксически-ишемическим поражением ЦНС. Девочка с массой тела 1 730 г. На 7-е сут после рождения диагностировано перивентрикулярное кровоизлияние I степени, которое проявлялось пирамидными нарушениями и синдромом угнетения. В возрасте 1 мес у ребенка также наблюдались симптомы пирамидной недостаточности и минимальных мозговых дисфункций на фоне повышенной нервной возбудимости. На 7-е сут активность КК составила 87,3 МЕ/мл, что на 60% выше контрольных значений; активность ингибиторов снижена (α_1 -ПИ — 20,5 ИЕ/мл; α_2 -МГ — 1,4 ИЕ/мл). Низкий потенциал ингибиторов свидетельствует о возможной активации протеолиза и наличии риска нарушений гемодинамики, что проявлялось в дальнейшем.

К 30-м сут активность α_1 -ПИ и α_2 -МГ также была снижена. К концу первого года жизни девочки активность КК была повышена на 30%, активность ингибиторов находилась в пределах контрольных значений. Таким образом, у ребенка наблюдался дисбаланс между протеиназами и их ингибиторами, который сопровождался нарушениями гемодинамики на фоне синдрома повышенной нервно-рефлекторной возбудимости.

Для изучения взаимосвязей показателей протеолиза в группах доношенных и недоношенных детей был проведен регрессионный анализ, построены уравнения зависимости КК от АПФ, α_1 -ПИ и α_2 -МГ. Достоверной связи между изменениями показателей протеолиза и КК у практически здоро-

вых детей не выявлено: степень влияния факторов составила в группе 8%. При гипоксически-ишемической энцефалопатии у доношенных вклад исследуемых показателей составил 10%, при I степени недоношенности — 23% и у детей II степени недоношенности — 39%. На долю ангиотензин-превращающего фермента в этих группах соответственно приходилось 4, 23, 39%.

Заключение

Таким образом, гипоксические состояния у доношенных и недоношенных детей сопровождаются более выраженной активацией калликреин-кининовой системы по сравнению с ренин-ангиотензиновой системой. При гипоксически-ишемической энцефалопатии происходит повышение активности калликреина, ангиотензинпревращающего фермента, а у части новорожденных снижается активность α_1 -протеиназного ингибитора. Наиболее значительный дисбаланс между протеиназами и ингибиторами обнаружен у детей II степени недоношенности. Существенное значение для прогноза нарушений гемодинамики имеет высокая активность ангиотензинпревращающего фермента.

Работа выполнена при финансовой поддержке администрации Томской области: целевая программа «Дети Томской области», пункт 2.4, гос. контракт 203а05.

Литература

1. Буркова А.С., Володин М.И., Медведев М.И. и др. Новые подходы к диагностике перинатальных поражений нервной системы у детей первого года жизни и их классификация // Педиатрия. 2004. № 1. С. 5—9.
2. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кузин А.И. Протеолиз в норме и при патологии. Киев: Здоров'я, 1988. 199 с.
3. Голиков П.П., Николаева Н.Ю. Экспресс-метод определения активности ангиотензин-превращающего фермента в сыворотке крови // Клинич. лаб. диагностика. 1998. № 1. С. 11—14.
4. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. Унифицированный метод определения активности α_1 -антитрипсина и α_2 -макроглобулина в сыворотке крови // Вопр. мед. химии. 1979. № 4. С. 494—499.
5. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Гипоксическая энцефалопатия новорожденных. СПб.: Питер, 2000. 224 с.
6. Пасхина Т.С., Кринская А.В. Упрощенный пробирочный метод определения содержания калликреина и калликреиногена // Вопр. мед. химии. 1974. Т. 20. Вып. 6. С. 660—663.
7. Суханова Г.А., Кондратьева Е.И., Спирина Л.В. Значение протеолиза при сосудистых осложнениях сахарного диабета типа 1 у детей // Клинич. лаб. диагностика. 2004. № 5. С. 38—40.
8. Шабалов Н.П., Иванов Д.О., Шабалова Н.Н. Гемостаз в динамике первой недели жизни как отражение механизмов адаптации к внеутробной жизни новорожденного // Педиатрия. 2000. № 3. С. 84—91.
9. Чувакова Т.К. Нейрохимические нарушения при гипоксически-ишемической энцефалопатии у недоношенных новорожденных детей [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.aiha.com>
10. Яровая Г.А. Калликреин-кининовая система: новые факты и концепции (обзор) // Вопр. мед. химии. 2001. № 1. С. 20—38.
11. Bradford H.N., Jameson B.A., Adam A.A. Kallikrein-kinin system // J. Biol. Chem. 1993. V. 7. P. 2654—2655.

Поступила в редакцию 24.07.2006 г.