

UDK 616.61-022.1-053.2:616.12-008
DOI 10.7251/SCEPED1802002P
COBISS.RS-ID 7658776

ORIGINALNI ČLANAK

EKSKRECIJA URINARNOG KALIKREINA U DJEČIJEM UZRASTU: ULOGA POLA, UZRASTA, URINARNIH ELEKTROLITA I GENETSKOG RIZIKA OD HIPERTENZIJE

Snežana Petrović-Tepić¹, Svjetlana Stoisavljević-Šatara², Aleksandra Serdar¹,
Aleksandar Tepić³

¹Klinika za dječije bolesti, UKC RS, Banjaluka, Bosna i Hercegovina

²Medicinski fakultet Univerziteta u Banjaluci, Bosna i Hercegovina

³Klinika za kardiologiju, UKC RS Banjaluka, Bosna i Hercegovina

Sažetak

Uvod: Renalni kalikrein-kinin sistem igra veoma važnu ulogu u regulaciji lokalnog protoka krvi u bubrezima i u procesu izlučivanja soli i vode, te predstavlja važnu kari-ku u održavanju homeostaze organizma.

Cilj: Cilj rada je bio analizirati aktivnost urinarnog kalikreina u populaciji zdrave djece različitog uzrasta i pola, te njegovu povezanost sa izlučivanjem soli i vode, kao i porodičnom anamnezom hipertenzije.

Materijal i metode: U ovom radu je ispitivana populacija zdrave djece uzrasta 4-15 godina, ukupno 30 ispitanika, u odnosu na ekskreciju urinarnog kalikreina, natrijuma, kalijuma, 24h diurezu, te vrijednosti sistolnog i dijastolnog arterijskog krvnog pritiska. Svi parametri su razmatrani u odnosu na 2 grupe ispitanika, djece sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije, te prema uzrastu (4-7 godina, 8-11 godina, 12-15 godina) i polu ispitanika.

Rezultati: Prosječna vrijednost ekskrecije urinarnog kalikreina u populaciji zdrave djece uzrasta 4-15 godina iznosila je 11,87 nkat/l. U odnosu na pol, nije bilo statistički značajne razlike u vrijednosti urinarnog kalikreina između dječaka i djevojčica. Ekskrecija urinarnog kalikreina se povećava sa rastom djeteta. Nije bilo statistički jasne korelacije povezanosti urinarnog kalikreina sa natriurezom, kaliurezom, diurezom. Od ukupnog broja ispitanika pozitivnu anamnezu porodične hipertenzije imalo je 30% djece. Djeca sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije su imala niže vrijednosti ekskrecije urinarnog kalikreina u odnosu na grupu djece sa negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije

Zaključak: Studija ekskrecije urinarnog kalikreina u djece je važna da bi se rasvijetlio mehanizam razvoja esencijalne hipertenzije u kasnijem životu. Dalje prospektivne studije su potrebne za procjenu vrijednosti niskog urinarnog kalikreina kao prediktora rizika pojedine osobe za razvoj esencijalne hipertenzije.

Ključne riječi: djeca, urinarni kalikrein, natrijum, kalijum, arterijska hipertenzija

URINARY KALLIKREIN EXCRETION IN CHILDHOOD: ROLE OF GENDER, AGE, URIN ELECTROLYTE AND GENETIC RISK OF HYPERTENSION

Snežana Petrović-Tepić¹, Svjetlana Stoisavljević-Šatara², Aleksandra Serdar¹,
Aleksandar Tepić³

¹University Children's Hospital, University Clinical Centre of the Republic of Srpska, Bosnia i Hercegovina

²Medical faculty University of Banjaluka, Republic of Srpska, Bosnia i Hercegovina

³Clinic for cardiovascular diseases, University Clinical Centre of the Republic of Srpska, Bosnia i Hercegovina

Abstract

Introduction: Renal kallikrein-kinin system plays an important role in regulating the local blood flow in the kidneys, has a role in the process of salt and water excretion, and represents an important link in maintaining the homeostasis of the organism.

Objectives: The aim of this study was to analyze the activity of urinary kallikrein in a population of healthy children of different ages and gender, and its relation to salt and water excretion, as well as family history of hypertension.

Material and methods: In this study we investigated a population of healthy children aged 4-15 years, a total of 30 patients, in relation to the excretion of urinary kallikrein, sodium, potassium, 24h urine output, and the value of systolic and diastolic blood pressure. All the parameters were considered in relation to the two groups of patients, children with a positive and children with a negative family history of hypertension, in regard to age (4-7 years, 8-11 years, 12-15 years) and gender of subjects.

Results: The average value of the urinary excretion of kallikrein in a population of healthy children aged 4-15 years was 11.87 nkat/l. In relation to gender, there were no statistically significant differences in the values of urinary kallikrein between

en boys and girls. The excretion of urinary kallikrein increases with the growth of the child. There was no clear correlation between urinary kallikrein and natriuresis, potassium excretion, diuresis. Of the total number of patients participating in this study, a positive family history of hypertension was found in 30% of the participants. Children with a family history of hypertension had lower levels of urinary kallikrein excretion, compared to the group of children with a negative family history of hypertension.

Conclusion: The study of urinary kallikrein excretion in children is important to shed light on the mechanism resulting in the development of essential hypertension in later life. Further prospective studies are needed to assess the value of low urinary kallikrein as a predictor of risk individuals for the development of essential hypertension.

Key words: children, urinary kallikrein, sodium, potassium, arterial hypertension

Uvod

Kalikreini su enzimi iz grupe serin proteaza sa specifičnim i ograničenim proteolitičkim djelovanjem. Oni oslobadaju peptide, kinine, iz supstrata kininogena, koji je prisutan u limfi, plazmi i intersticijskoj tečnosti kod sisara (1, 2, 3). Kalikrein-kinin sistem uključuje četiri glavne komponente: kalikreine, kinine, kininogene i kininaze. Većina bioloških efekata kalikrein-kinin sistema je u vezi sa oslobađanjem kinina. Renalni kalikrein-kinin sistem ima veoma važnu ulogu u regulaciji lokalnog protoka krvi u bubrezima i u procesu izlučivanja soli i vode, te predstavlja važnu kariku u održavanju homeostaze organizma. Aktivnost urinarnog kalikrein-kinin sistema najčešće se procjenjuje mjerenjem aktivnosti urinarnog kalikreina.

Postoje dvije glavne vrste kalikreina: plazmatski i glandularni kalikrein. Po svojim biohemijskim, imunološkim i funkcionalnim karakteristikama ova dva kalikreinska sistema se bitno razlikuju, premda oba djeluju kao kininogenaze (4).

Tktivni ili glandularni kalikrein, najveći kinin-formirajući enzim, se sintetiše u nekoliko organa, uključujući bubreg i arterije. Kalikrein-kinin sistem je prisutan u endotelu i glatkim mišićima vaskularnih zidova, gdje lokalno stvoreni kinini imaju moćan vazodilatatorni efekat i antitrombotička svojstva preko aktivacije B2 bradikininških receptora, oslobađanja NO i drugih endotelnih medijatora (5). Koncentracija glandularnog kalikreina u bubregu je veoma visoka. Više od 90% renalnog kalikreina nalazi se u korteksu i sve ga je manje počevši od spoljašnje medule do papile bubrega. Molekulska masa renalnog, odnosno urinarnog kalikreina iznosi oko 37 000 Daltona (6). Urinarni kalikrein se sintetiše u bubregu, tačnije u ćelijama distalnih tubula bubrega (7,8). U bubregu postoje 2 tipa kalikreina koji imaju različite fizičke osobine. Kalikrein koji potiče od apikalnih membrana izlučuje se u luminalnu stranu nefrona i naziva se urinarni kalikrein. Kalikrein bazolateralne frakcije dopijeva u intersticijski i intervaskularni

prostor bubrega (renalna venska krv i limfa) i naziva se renalni kalikrein (9,10,11). Više od 50% kalikreina u urinu čovjeka nalazi se u neaktivnom obliku.

Velike kliničke studije su pokazale da nivo urinarnog kalikreina inverzno korelira sa vrijednostima sistemskog krvnog pritiska (12,13). Niska ekskrecija urinarnog kalikreina u djece je jedan od glavnih genetskih markera povezan sa porodičnom anamnezom esencijalne hipertenzije, dok djeca sa visokom ekskrecijom urinarnog kalikreina imaju manju genetsku sklonost ka hipertenziji (14,15,16). Zato je cilj istraživanja i bio utvrditi aktivnost urinarnog kalikreina u populaciji zdrave djece različitog uzrasta i pola, njegov uticaj na promet vode i elektrolita, te utvrditi da li bi se određivanje aktivnosti urinarnog kalikreina u ranom, dječjem uzrastu moglo koristiti kao prediktivni faktor za pojavu arterijske hipertenzije u kasnijoj životnoj dobi, a u cilju njene prevencije, posebno u porodicama sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije i tako izbjeći brojne komplikacije koje hipertenzija nosi.

Materijali i metode

Istraživanje je provedeno na Klinici za dječje bolesti Banjaluka, kao i na Zavodu za farmakologiju i toksikologiju Medicinskog fakulteta u Banjaluci, po tipu prospektivne studije.

Eksperimentom su bila obuhvaćena zdrava djeca uzrasta 4-15 godina, oba pola, njih ukupno 30, koja su bolnički ili ambulantno praćeni na Klinici za dječje bolesti. Sva djeca uključena u ispitivanje su imala vrijednosti uree i kratinina u referentnim granicama za dob.

U razmatranje nisu uzeta djeca koja su u anamnezi imala podatke o hroničnim oboljenjima bubrega, anomalijama urotrakta, urinarnim infekcijama u posljednja 3 mjeseca, enurezom, djeca sa arterijskom hipertenzijom i endokrinološkim oboljenjima, ili djeca koja su zadnjih mjesec dana bila pod terapijom lijekovima za koje se pouzdano zna da utiču na ekskreciju urinarnog kalikreina, kao i drugih posmatranih parametara koji su analizirani.

Ispitanici su bili na normalnom režimu ishrane, prema uzrastu i tjelesnoj težini, uz normalan unos tekućine (prema osjećaju žeđi). Analizirani su sljedeći parametri: dob i pol ispitanika, 24h diureza, natriureza, kaliureza, sistolni krvni pritisak, dijastolni krvni pritisak, porodična anamneza u pravcu arterijske hipertenzije, aktivnost urinarnog kalikreina (ak.UKa).

U cilju analize svih posmatranih parametara pojedinačno prema starosnoj strukturi ispitanika, djeca su podijeljena u tri grupe od po 10 ispitanika oba pola: I grupa: djeca uzrasta 4-7 godina; II grupa: djeca uzrasta 8-11 godina; III grupa: djeca uzrasta 12-15 godina. Na osnovu porodične anamneze hipertenzije ispitanici su podijeljeni u dvije grupe:

- Grupa A: djeca sa negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije;
- Grupa B: djeca sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije;

Eksperimentalna procedura, uzimanje materijala, registracija i određivanje odgovarajućih parametara rađeni su uvijek na isti način i u istim uslovima. Tokom jednog eksperimentalnog dana sakupljan je 24h urin, iz koga je određivana, osim diureze, koncentracija natrija i kalija, kao i aktivnost urinarnog kalikreina. Urin koji je sakupljan tokom 24h čuvan je na temperature +4°C. Uzorci urina za analizu aktivnosti urinarnog kalikreina su nakon centrifugiranja stavljeni u plastične epruvete i zamrznuti do analize. Prilikom spektrofotometrijskog određivanja aktivnosti urinarnog kalikreina, očitavanje pojedinih vrijednosti je ponavljano, a razlika između dobijenih rezultata je bila minimalna. Mjerenje arterijskog krvnog pritiska (mmHg) vršeno je standardnom auskultacionom sfigmomanometrijom uz korišćenje živinog manometra, poštujući pravila o adekvatnoj širini manžete prema veličini djeteta.

Aktivnost urinarnog kalikreina određivana je amidolitičkim esejom u kojem se koristi hromogeni tripeptidni supstrat, S-2266 (D-Val-Leu-Arg-p-nitroanilin, *Kabi Diagnostica*, Stockholm). Urin koji je čuvan na -30° C do analize se odmrzava i ponovo centrifugira. Aktivnost urinarnog kalikreina je određivana "end-point" metodom prema uputstvu proizvođača. Aktivnost kalikreina izražavana je u nkat/L po formuli: $nkat/L = 146 \times A$, gdje je: 146- korekcionni faktor, A- apsorpcija.

Koncentracije natrijuma i kalijuma u urinu određivane su tehnikom plamene fotometrije. Mjerenje je izvršeno na aparatu plameni fotometar firme Instrumental Laboratory (IL 943). Vrijednosti su izražavane u mmol/L. Rezultati su obrađeni savremenim statističkim metodama. Kao statistički značajne uzimane su vrijednosti u kojima je $p < 0.05$.

Rezultati

Ovim istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 30 ispitanika oba pola, uzrasta 4-15 godina, od kojih je 10 (33.33%) bilo muškog pola, a 20 (66.67%) ispitanika je bilo ženskog pola. Prosječna starosna dob ispitanika je bila 9.47 ± 3.36 godina. Prosječna starosna dob ispitanika muškog pola je bila 9.30 ± 3.68 godina, dok je prosječna starosna dob ispitanika ženskog pola bila 9.55 ± 3.28 godina. Nije uočena statistički značajna razlika u srednjim vrijednostima starosne dobi između ispitanika muškog i ženskog pola ($p=0,852$).

U odnosu na dob, svi ispitanici su podijeljeni u tri starosne grupe od po 10 (33,3%) djece oba pola: I grupu sačinjavala su djeca uzrasta 4-7 godina, sa prosječnom starošću 5,8 godina; II grupu činila su djeca uzrasta 8-11 godina, prosječne starosti 9,1 godina, a treću grupu činila su djeca od 12-15 godina, prosječne starosti 13,5 godina. Starosne strukture ispitanika muškog pola i ispitanika ženskog pola se ne razlikuju statistički značajno ($p=0,861$).

Od ukupno 30 ispitanika obuhvaćenih ovim istraživanjem, njih 21 (70.00%) je imalo negativnu porodičnu anamnezu hipertenzije i oni su sačinjavali grupu A, a 9 (30.00%) ispitanika je imalo pozitivnu porodičnu anamnezu hipertenzije i oni su činili grupu B. Negativnu porodičnu anamnezu hipertenzije je imalo 60.00% ispitanika muškog pola i 75.00% ispitanika ženskog pola. Međutim, ova razlika se nije pokazala statistički značajnom ($p=0,398$). Prosječna starosna dob ispitanika grupe A, sa negativnom anamne-

zom porodične hipertenzije, je bila 9.10 ± 3.30 godina, dok je prosječna starosna dob ispitanika grupe B, sa pozitivnom porodičnom anamnezom, bila 10.33 ± 3.54 godina. Nije uočena statistički značajna razlika u srednjim vrijednostima starosne dobi između ispitanika sa negativnom porodičnom anamnezom i ispitanika sa pozitivnom porodičnom anamnezom (Tabela 1.).

Tabela 1. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike za starosnu dob (u godinama) prema porodičnoj anamnezi hipertenzije

Starosna dob (u godinama)			
Porodična anamneza hipertenzije	Aritmetička sredina ± standardna devijacija	Medijana (interkvartilni interval)	Minimum - Maksimum
A grupa (negativna)	9.10 ± 3.30	8.0 (7.0, 12.0)	4.0 - 15.0
B grupa (pozitivna)	10.33 ± 3.54	10.0 (7.0, 14.0)	5.0 - 14.0
<i>Student t test za nezavisne uzorke</i>			<i>p = 0.364</i>

Starosna struktura ispitanika sa negativnom porodičnom anamnezom (grupa A) i ispitanika sa pozitivnom porodičnom anamnezom (grupa B) u odnosu na tri posmatrane uzrasne grupe nije pokazala statistički značajnu razliku (Tabela 2.).

Tabela 2. Učestalost i procentualna zastupljenost ispitanika prema starosnim grupama i porodičnoj anamnezi hipertenzije

Starosna dob	Porodična anamneza hipertenzije					
	A grupa (negativna)		B grupa (pozitivna)		Ukupno	
	n	%	n	%	n	%
4 do 7 godina	7	33.33	3	33.33	10	33.33
8 do 11 godina	8	38.10	2	22.22	10	33.33
12 do 15 godina	6	28.57	4	44.44	10	33.33
Ukupno	21	100.00	9	100.00	30	100.00
<i>Pearson χ^2 test</i>					<i>p = 0.621</i>	

Tabela 3. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike za natrijum, kalijum, diurezu, Uka, vrijednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, prema polu ispitanika

Pol ispit.	Na	K	Diureza	UKa	RR sist.	RR dijast.
Muški	161.95 ± 84.25	47.65 ± 23.11	664.00 ± 390.87	11.45 ± 5.70	119.50 ± 9.85	76.00 ± 9.07
Ženski	131.85 ± 76.37	39.80 ± 17.68	530.50 ± 286.31	12.08 ± 6.12	113.50 ± 11.37	73.25 ± 7.12
Ukupno	141.88 ± 78.95	42.41 ± 19.61	575.00 ± 324.37	11.87 ± 5.89	115.50 ± 11.09	74.17 ± 7.78
	<i>p = 0.334</i>	<i>p = 0.309</i>	<i>p = 0.344</i>	<i>p = 0.790</i>	<i>p = 0.166</i>	<i>p = 0.372</i>

Na- natrijum; K- kalijum; UKa-urinarni kalikrein; RR sist.-sistolni krvni pritisak; RR dijast.-dijastoni krvni pritisak

Srednja vrijednost ekskrecije natrijuma i kalijuma, kao i diureza je bila veća kod dječaka nego kod djevojčica, ali bez statistički značajna razlike u odnosu na polnu strukturu ispitanika (Tabela 3.). Srednja vrijednost ekskrecije urinarnog kalikreina kod svih posmatranih ispitanika je iznosila je 11.87 ± 5.89 nkat/L. Analizirajući ekskreciju urinarnog kalikreina (Uka) u odnosu na pol ispitanika, zapaža se da je ekskrecija urinarnog

kalikreina bila nešto veća kod djevojčica nego kod dječaka, ali bez statistički značajne razlike ($p=0,79$). Slično su se kretale i vrijednosti arterijskog krvnog pritiska, iako su kod dječaka zapažene više vrijednosti kako sistolnog, tako i dijastolnog krvnog pritiska, razlika nije dostigla i statističku značajnost ($p=0,372$).

Tabela 4. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike za natrijum, kalijum, diurezu, UK-a, vrijednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, prema starosnim grupama ispitanika

Starosna dob	Na	K	Diureza	UKa	RR sist.	RR dijast.
4 do 7 g	153.81 ± 95.24	51.09 ± 16.43	398.00* ± 143.59	10.55 ± 6.23	114.00 ± 10.49	74.50 ± 8.64
8 do 11 g	114.08 ± 60.82	33.86 ± 12.36	642.00* ± 299.40	12.03 ± 5.88	110.50 ± 11.17	71.50 ± 7.84
12 do 15 g	157.75 ± 77.57	42.29 ± 25.53	685.00 ± 418.97	13.02 ± 5.92	122.00 ± 9.19	76.50 ± 6.69
Ukupno	141.88 ± 78.95	42.41 ± 19.61	575.00 ± 324.37	11.87 ± 5.89	115.50 ± 11.09	74.17 ± 7.78
	$p = 0.406$	$p = 0.406$	$p = 0.023$	$p = 0.655$	$p = 0.100$	$p = 0.364$

Na- natrijum; K- kalijum; UKa-urinarne kalikreine; RR sist.-sistolni krvni pritisak; RR dijast.-dijastolni krvni pritisak

Najniže vrijednosti ekskrecije natrijuma su zabilježene u grupi djece od 8-11 godina, dok su vrijednosti natriureze u najmlađoj i najstarijoj grupi djece bile približne. Iako je razlika uočena, ona nije dostigla i statističku značajnost zbog velike standardne devijacije. Najmlađa grupa djece uzrasta 4-7 godina imala je prosječno najveće izlučivanje kalijuma u urinu (51,09 mmol/l) u odnosu na ostale dvije posmatrane starosne grupe. Najniže vrijednosti kaliureze, slično kao i kod natriureze, imala je grupa djece uzrasta 8-11 godina (33,86 mmol/l) ali razlika nije dostigla i statističku značajnost. Srednja vrijednost diureze kod najmlađih ispitanika starosne dobi od 4 do 7 godina je iznosila 398.00 ± 143.59 ml i statistički značajno je manja od diureze kod ispitanika starosne dobi od 8 do 11 godina koja je iznosila 642.00 ± 299.40 ml. Između ostalih kombinacija starosnih grupa medijane diureze se ne razlikuju statistički značajno. Obzirom na veliki dobni raspon u starosnoj strukturi ispitanika interesantno je bilo utvrditi da li i u kojoj mjeri dob utiče na aktivnost urinarnog kalikreina. Analiza ekskrecije urinarnog kalikreina pokazala je da su vrijednosti najniže u najmlađoj dobnoj grupi, te da rastu sa uzrastom djeteta, da bi bile najveće u najstarijoj dobnoj grupi djece od 12-15 god. Iako prisutne, razlike u ekskreciji urinarnog kalikreina nisu dostigle i statističku značajnost. Analiza srednjih vrijednosti kako sistolnog, tako i dijastolnog krvnog pritiska u odnosu na starosnu strukturu ispitanika pokazala je da su najviše vrijednosti sistolnog RR izmjerene u grupi najstarije djece, uzrasta 12 do 15 godina, ali bez statistički dostignute razlike u odnosu na ostale dvije grupe djece mlađeg uzrasta (Tabela 4.).

Tabela 5. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike za natrijum, kalijum, diurezu, UKa, vrijednosti sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, prema porodičnoj anamnezi hipertenzije

Porodična anamneza	Na	K	Diureza	UKa	RR sist.	RR dijast.
A (negativna)	126.73 ± 81.54	38.85 ± 15.28	582.86 ± 312.36	12.39 ± 5.45	114.29 ± 9.91	74.29 ± 8.41
B (pozitivna)	177.23 ± 62.96	50.73 ± 26.45	556.67 ± 370.07	10.65 ± 7.01	118.33 ± 13.69	73.89 ± 6.51
Ukupno	141.88 ± 78.95	42.41 ± 19.61	575.00 ± 324.37	11.87 ± 5.89	115.50 ± 11.09	74.17 ± 7.78
	$p = 0.039$	$p = 0.235$	$p = 0.734$	$p = 0.467$	$p = 0.369$	$p = 0.777$

Na- natrijum; K- kalijum; UKa-urinarni kalikrein; RR sist.-sistolni krvni pritisak; RR dijast.-dijastolni krvni pritisak

Analiza ispitanika u odnosu na porodičnu anamnezu hipertenzije pokazala je da je natriureza kod djece sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije statistički značajno veća od natriureze kod ispitanika sa negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije ($p=0,039$). Analiza ekskrecije kalijuma pokazala je da nije uočena statistički značajna razlika u srednjim vrijednostima kaliureze između posmatranih ispitanika grupa A i B. Nisu uočene statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima diureze između posmatranih ispitanika grupe A i B u odnosu na porodičnu anamnezu hipertenzije. U grupi A, djece sa negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije, prosječna izmjerena vrijednost sistolnog krvnog pritiska je bila niža nego u djece grupe B, sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije, ali statistički značajna razlika nije dostignuta. Nije bilo statistički značajne razlike ni u srednjim vrijednostima dijastolnog krvnog pritiska između dvije posmatrane grupe djece, A i B (Tabela 5.). Tokom ovog istraživanja željeli smo analizirati korelacione odnose u grupi zdrave djece uzrasta 4-15 godina, između ekskrecije urinarnog kalikreina i ostalih posmatranih parametara: natriureze, kaliureze, diureze, te sistolne i dijastolne vrijednosti arterijskog krvnog pritiska. Rezultati Spearman-ove korelacije između ekskrecije urinarnog kalikreina i različitih obilježja praćenih ovim istraživanjem su prikazani u Tabeli 6.

Tabela 6. Spearman-ova korelacija urinarnog kalikreina sa svim praćenim obilježjima

Spearman-ova korelacija		Urinarni kalikrein
Starosna dob (u godinama)	r	0.124
	p	0.512
Natriureza	r	0.069
	p	0.716
Kaliureza	r	0.180
	p	0.340
Diureza	r	-0.323
	p	0.081
RR sistolni	r	0.088
	p	0.643
RR dijastolni	r	0.240
	p	0.202

Nije nađena korelaciona povezanost između natriureze i ekskrecije urinarnog kalikreina, kao ni korelaciona veza sa ekskrecijom kalijuma u urinu. Većina ostalih posmatranih parametara takodje nije pokazala jasnu korelacionu povezanost sa ekskrecijom urinarnog kalikreina.

Analizom korelacionih odnosa između posmatranih parametara zapaža se da je natriureza u jako pozitivnoj korelaciji sa kaliurezom, dok sa ostalim posmatranim parametrima nije bilo značajnijih korelacionih veza. Zapaža se da su kaliureza i diureza u jakoj negativnoj korelaciji, što znači da vrijednost kaliureze opada sa rastom vrijednosti diureze. Analizirajući korelacione odnose za parametar diureza, zapaža se srednje jaka pozitivna korelacija između starosne dobi ispitanika i diureze. Sistolne i dijastolne vrijednosti arterijskog krvnog pritiska nalaze se u jakoj pozitivnoj međusobnoj korelaciji, dok sa ostalim posmatranim parametrima nisu uočene značajnije korelacione veze.

Diskusija

Kalikrein-kinin sistem je najslabije definisan renalni hormonski sistem. Ipak, zna se da učestvuje u regulaciji protoka krvi kroz bubrege i intrarenalnoj raspodjeli krvi, te transportu vode i soli u distalnom nefronu (17). Većina radova odnosila se na istraživanja koja su se provodila na eksperimentalnim životinjama ili na populaciji odraslih osoba. Vrlo je malo radova koji su istraživanja vezana za funkcionisanje kalikrein-kinin sistema, ekskreciju urinarnog kalikreina, te njihov uticaj na promet vode i elektrolita, provodila isključivo na dječjoj populaciji različitog uzrasta. Provedenim ispitivanjem pokušali smo razjasniti ulogu renalnog kalikrein-kinin sistema u fiziološkim stanjima, te moguću upotrebu urinarnog kalikreina u dječjoj populaciji. Ekskrecija urinarnog kalikreina u zdrave djece raste sa dobi djeteta (18). Bergmann i sar. u svome radu su utvrdili da se ekskrecija aktivnog urinarnog kalikreina u populaciji djece uzrasta od 3 nedelje do 16 godina kreće od 0 do 6 $\mu\text{gr}/24\text{h}$, što čini 10-20% od totalnog urinarnog kalikreina. Iako je kod starije djece tendencija povećano izlučivanje totalnog kalikreina, ipak je količina urinarnog kalikreina koji se ekskretuje po kg tjelesne težine konstantna i iznosi 0,8 $\mu\text{gr}/\text{kg}/24\text{h}$ (19). Prematurna djeca imaju nemjerljiv nivo urinarnih kinina. Ekskrecija urinarnog kalikreina je niža u novorodjenčadi nego u starije djece, povećava se sa godinama starosti djeteta, sve do 15 godine života, kada dostiže nivo adultne osobe (18, 20, 21). Naši podaci u grupi zdrave djece uzrasta 4-15 godina, također pokazuju porast aktivnosti urinarnog kalikreina sa starošću djeteta, što se slaže sa gore navedenim podacima iz literature. Analiza ekskrecije urinarnog kalikreina pokazala je da su najniže vrijednosti zabilježene u najmlađoj dobnoj grupi djece, uzrasta od 4-7 godina (10,55 nkat/l), te da rastu sa uzrastom djeteta, da bi bile najveće u najstarijoj grupi djece od 12-15 god. (13,02 nkat/l). Prosječna vrijednost ekskrecije urinarnog kalikreina u nasoj grupi zdrave djece uzrasta 4-15 godina iznosila je 11,87 \pm 5,89 nkat/l. Cumming i sar. navode vrijednosti od 11,5 \pm 3,5 nkat/l, što se potpuno slaže sa našim dobijenim rezultatima (22).

Djevojčice su imale nešto više vrijednosti urinarnog kalikreina u odnosu na dječake (12,08 nkat/l prema 11,45 nkat/l), ali ta razlika nije dostigla statističku značajnost. Slična zapažanja iznose i drugi autori-dječaci i djevojčice imaju slične vrijednosti urinarnog kalikreina, odnosno nije zapažena statistički značajna razlika u ekskreciji urinarnog kalikreina u odnosu na pol (20).

Nađeno je da na bubrežni kalikrein-kinin sistem znatno utiče unos soli i vode u organizam. Pojačanim unosom natrijuma ili smanjenim unosom vode u organizam dolazi do pada ekskrecije urinarnog kalikreina i kinina. Literaturni podaci o povezanosti ekskrecije urinarnog kalikreina, te natriureze, kaliureze, diureze su oprečni. Jedni nalaze pozitivnu korelaciju između ekskrecije urinarnog kalikreina, natriureze i diureze, dok drugi prikazuju suprotne podatke (18,23,24). Catanzaro nalazi da natriureza pozitivno korelira sa ekskrecijom urinarnog kalikreina. Prosječna vrijednost natriureze u našoj grupi ispitanika koju su činila zdrava djeca uzrasta 4-15 godina, iznosila je 141,88 mmol/L. Nije bilo značajnije razlike u izlučivanju natrija urinom u odnosu na pol, iako su dječaci imali veću natriurezu od djevojčica, ali bez statistički značajne razlike. U grupi djece sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije natriureza je bila statistički značajno veća nego u grupi djece sa negativnim porodičnom anamnezom hipertenzije. Iako radovi Catanzara i ostalih navode pozitivnu korelaciju između urinarne ekskrecije natrijuma i urinarnog kalikreina, radovi Zinner-a i saradnika pokazuju upravo obrnuto, natriureza inverzno korelira sa urinarnom koncentracijom kalikreina (24,25). U našem istraživanju nismo našli značajnije korelacije povezanosti između natriureze i vrijednosti urinarnog kalikreina, iako se zapaža da je ekskrecija urinarnog kalikreina manja u grupi djece sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije i većom natriurezom, u odnosu na djecu sa negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije. Jaka pozitivna korelaciona povezanost natriureze zapažena je sa kaliurezom. Godard i sar. u svom radu su analizirali grupu od 58 zdrave djece uzrasta 2-13 godina i iznose rezultate slične našim-ekskrecija urinarnog kalikreina raste sa godinama djeteta, ali nije nasao korelaciju sa natriurezom, volumenom urina ili jačinom glomerulske filtracije (18).

Brojni autori iznose zapažanja da ekskrecija kalijuma vrlo usko korelira sa ekskrecijom urinarnog kalikreina (24,26). Takođe navode da postoji značajna povezanost između ekskrecije kalijuma u urinu i gena koji određuje nivo urinarnog kalikreina u pojedinaca. Visok unos kalijuma indukuje hipertrofiju i hiperplaziju ćelija koje proizvode kalikrein u bubregu i povećavaju sekreciju renalnog kalikreina u urin. U naših ispitanika nisu uočene statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima kaliureze ni u odnosu na pol, ni u odnosu na starosne grupe, iako je kaliureza u najmlađoj starosnoj grupi djece 4-7 godina, bila najveća. Ekskrecija natrijuma i kalijuma nije se značajno mijenjala sa uzrastom ispitanika, a slične rezultate nalazimo i u radovima Naka i sar. (27). Kaliureza je bila veća u grupi djece sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije u odnosu na kaliurezu kod ispitanika sa negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije. Istovremeno, ekskrecija urinarnog kalikreina u grupi djece sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije je bila niža, ali nije bilo statistički značajne korelacije povezanosti između kaliureze i ekskrecije urinarnog kalikreina. Unošenjem

više kalijuma u organizam povećava se ekskrecija urinarnog kalikreina (24). Dijeta sa smanjenim unosom natrijuma u organizam ili davanje mineralokortikoida tokom nekoliko dana dovodi do povećane ekskrecije urinarnog kalikreina.

Renalni kalikrein-kinin sistem je prethodno bio povezivan sa renalnom kontrolom ekskrecije natrijuma i vode. Martinez i sar. u svojim istraživanjima na eksperimentalnim životinjama ističu pozitivnu korelaciju između urinarnog protoka i ekskrecije urinarnog kalikreina, što je shvaćeno kao posljedica „wash-out“ urinarnog kalikreina (23). Renalni kalikrein reguliše izlučivanje vode smanjujući reapsorpciju vode u distalnom dijelu nefrona. Iako većina literaturnih podataka iznosi pozitivnu korelacionu vezu između veličine 24h diureze i ekskrecije urinarnog kalikreina, u grupi zdrave djece mi nismo dobili statistički značajnu korelacionu povezanost. Diureza je bila najmanja kod ispitanika starosne dobi od 4 do 7 godina (398 ml) i statistički je značajno manja od diureze kod ispitanika starijih uzrasnih grupa, što je i očekivano, obzirom da se radi o najmlađoj grupi ispitanika. Nije uočena statistički značajna razlika u srednjim vrijednostima diureze između ispitanika A i B grupe, obzirom na porodičnu anamnezu hipertenzije. Takođe nije bilo statistički značajne veze između natriureze i kaliureze u odnosu na ekskreciju urinarnog kalikreina. Ovi podaci su slični podacima Naka i sar., kao i Godarda i sar. koji u svojim radovima ne nalaze značajne korelacione veze između diureze, natriureze i kaliureze sa ekskrecijom urinarnog kalikreina. (18, 27). U svom radu Mills i Ward su našli pozitivnu korelaciju urinarnog kalikreina sa diurezom. Pozitivna korelaciona veza urinarnog kalikreina i ekskrecije natrijuma pod uslovima slobodnog unosa soli i vode može biti sekundarna posljedica pozitivne korelacije između urinarnog kalikreina i urinarnog volumena. Oni takođe navode svoje zaključke da renalni kalikrein-kinin sistem nije neophodno uključen u renalnu kontrolu ekskrecije natrijuma u normalnim uslovima, ali ukoliko dođe do promjena u unosu natrijuma, to će dovesti i do promjena u unosu tečnosti i posljedično volumena urina (28). Kalikrein-kinin sistem je uključen u regulaciju krvnog pritiska. Hipertenzija se karakteriše neravnotežom između renin-angiotenzin sistema (RAS) i kalikrein-kinin sistema (KKS) (29). Kalikrein se sintetiše u distalnim tubulima bubrega i produkuje kinine koji su uključeni u regulaciju vaskularnog tonusa u bubregu. Noviji izvještaji potvrđuju da je aktivnost urinarnog kalikreina dijelom nasljedna i da je smanjena u esencijalnoj hipertenziji (30). Još davne 1934 godine Elliot i Nuzum su zapazili da hipertenzivni pacijenti imaju sniženu ekskreciju urinarnog kalikreina (31). Radovi Madaddu-a i sar. su pokazali da je genetski determinisan deficit ekskrecije urinarnog kalikreina povezan sa većom učestalosti hipertenzije osjetljive na so, vjerovatno uzrokovanom poremećajem izlučivanja natrijuma (32). Brojne studije su pokazale vezu između porodične istorije hipertenzije i sniženih vrijednosti ekskrecije urinarnog kalikreina (33). Epidemiološke studije populacije normotenzivne djece i njihovih roditelja su pokazale da postoji porodični obrazac urinarnog izlučivanja kalikreina. Porodice sa najnižim vrijednostima urinarnog kalikreina imale su i najviše vrijednosti krvnog pritiska. Normotenzivna djeca roditelja sa esencijalnom hipertenzijom imala su sniženo izlučivanje kalikreina, što ukazuje na moguću povezanost genskog lokusa za kontrolu krvnog pritiska sa onim koji kontroliše renalni kalikein. Zinner i sar. su u svom radu ispitivali familijarnu

agregaciju ekskrecije urinarnog kalikreina u dječjem uzrastu u odnosu na krvni pritisak. U studiji koja je obuhvatila 601 dijete uzrasta 5-18 godina i 163 porodice, autori su došli do zaključka da porodice sa nižim srednjim vrijednostima ekskrecije urinarnog kalikreina imaju više vrijednosti krvnog pritiska u odnosu na porodice sa većom srednjom koncentracijom ekskrecije urinarnog kalikreina (24). Iako je ekskrecija urinarnog kalikreina, za koji se vjeruje da odražava intrarenalnu aktivnost enzima, snižena u pacijenata sa esencijalnom hipertenzijom, uloga kalikrein-kinin sistema u regulaciji krvnog pritiska još uvijek nije definitivno rasvijetljena. Dječaci su imali veće prosječne vrijednosti krvnog pritiska u odnosu na djevojčice, ali razlika nije bila i statistički značajna. Takođe se zapaža da su djeca najstarijeg uzrasta imala i najviše srednje vrijednosti sistolnog krvnog pritiska, što je i očekivano, obzirom na činjenicu da se vrijednosti krvnog pritiska povećavaju sa uzrastom djeteta. Slični odnosi se zapažaju i kod analize dijastolnog krvnog pritiska. Djeca sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije su imala više prosječne vrijednosti sistolnog krvnog pritiska u odnosu na djecu sa negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije, ali bez statistički dostignute razlike. U komparaciji sa ekskrecijom urinarnog kalikreina, zapaža se da su djeca iz grupe B, sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije imala više prosječne vrijednosti arterijskog krvnog pritiska i niže vrijednosti ekskrecije urinarnog kalikreina, u odnosu na A grupu djece sa negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije. Razlika nije dostigla i statističku značajnost, što se može tumačiti relativno malim brojem ispitanika koji su bili uključeni u ispitivanje. Svakako da bi studija rađena na većem uzorku dala vjerodostojnije rezultate.

Odsustvo direktne korelacione veze između ekskrecije urinarnog kalikreina i vrijednosti arterijskog krvnog pritiska može sugerisati da snižena kalikreinska aktivnost može prethoditi mnogo godina prije nego se pojavi povišen krvni pritisak. Naši rezultati su slični onim koje su prezentovali i drugi autori. Margolius, Williams, Berry i drugi iznose zapažanja da je ekskrecija urinarnog kalikreina smanjena u pacijenata sa esencijalnom hipertenzijom, kao i u različitim animalnim modelima genetičke hipertenzije. Niska urinarna ekskrecija kalikreina je genetički marker povezan sa porodičnom anamnezom esencijane hipertenzije, a djeca sa visokom ekskrecijom urinarnog kalikreina manje je vjerovatno da će imati genetsko porijeklo hipertenzije (34,35). Uchiyama i sar. su proveli istraživanje na 65 zdrave normotenzivne djece uzrasta 7-15 godina; vrijednosti ekskrecije urinarnog kalikreina djece sa normotenzivnim roditeljima nisu se statistički razlikovale od vrijednosti kod djece hipertenzivnih roditelja (15). U radu Ciechanowicz-a i sar. koje je provedeno na 85 zdravih ispitanika, takođe se iznosi zapažanje o povezanosti niskog urinarnog kalikreina i pozitivne porodične anamneze hipertenzije (33). Katori i Majima iznose hipotezu da poremećena funkcija renalnog kalikrein-kinin sistema može imati ključnu ulogu u ranom razvoju hipertenzije. Nalaz snižene aktivnosti urinarnog kalikreina u nekih hipertenzivnih pacijenata bi mogao sugerisati da se koristi kao marker smanjene sposobnosti bubrega za regulacijom ekskrecije natrijuma i vode, te posljedično da bude marker senzitivnosti krvnog pritiska na so, prije nego marker povišenog krvnog pritiska. Utah studija rađena na 1100 osoba pokazala je veće vrijednosti ekskrecije urinarnog kalikreina kod mladeži nego kod odraslih i ko-

relira sa ekskrecijom natrijuma i kalijuma kod osoba sa normalnim krvnim pritiskom. Urinarni kalikrein je bio snižen u normotenzivnih ispitanika sa jasnom porodičnom anamnezom hipertenzije i moždanog udara (36). Berry i sar. su opisali postojanje različitih genotipova: prvi je fenotipski karakterisan niskom ekskrecijom UKa i povezanošću sa povećanim rizikom za razvoj esencijalne hipertenzije i drugi, koji pokazuje upravo suprotno, visok urinarni kalikrein i mali rizik od hipertenzije. Među učesnicima ove studije signifikantno sniženje ekskrecije urinarnog kalikreina je bilo prisutno samo kod potomaka koji su imali oba roditelja sa hipertenzijom, ali statistički značajne razlike u ekskreciji urinarnog kalikreina nije bilo, ukoliko je samo jedan roditelj imao hipertenziju (35). Musca i sar. nisu zapazili signifikantnu razliku u ekskreciji urinarnog kalikreina između mladih ispitanika sa pozitivnom i negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije (37). Holland i saradnici nisu našli snižen nivo urinarnog kalikreina u hipertenzivnih pacijenata, osim onih koji su imalo blagu renalnu insuficijenciju, što sugeriše da je izmijenjen nivo kalikreina rezultat hipertenzije usljed renalnog oštećenja (38). Naša studija je rađena na mladim, zdravim ispitanicima uzrasta 4-15 godina, sa urednim parametrima bubrežne funkcije, što isključuje uticaj metaboličkih poremećaja i renalnih bolesti. Esencijalna hipertenzija ima familijarnu predispoziciju, ali fenotipsko ispoljavanje povišenog krvnog pritiska je odgodjeno i može se pojaviti u četvrtoj, petoj ili šestoj dekadi života. Budući da bubreg ima ključnu ulogu u regulisanju krvnog pritiska, ovo ispitivanje je imalo za cilj rano prepoznavanje još uvijek normotenzivnih mladih osoba sa genetskom predispozicijom (porodična istorija) razvoja hipertenzije.

Zaključci

1. Prosječna vrijednost ekskrecije urinarnog kalikreina u populaciji zdrave djece uzrasta 4-15 godina iznosila je 11,87 nkat/l. U odnosu na pol, nije bilo statistički značajne razlike u vrijednosti urinarnog kalikreina između dječaka i djevojčica. Ekskrecija urinarnog kalikreina se povećava sa rastom djeteta.
2. Nije bilo statistički jasne korelacione povezanosti ekskrecije urinarnog kalikreina sa natriurezom, kaliurezom, diurezom i vrijednostima arterijskog krvnog pritiska.
3. Djeca sa pozitivnom porodičnom anamnezom hipertenzije su imala niže vrijednosti ekskrecije urinarnog kalikreina u odnosu na grupu djece sa negativnom porodičnom anamnezom hipertenzije.
4. Snižena ekskrecija urinarnog kalikreina u dječjem uzrastu bi se mogla koristiti kao prediktivni faktor za rizik od razvoja arterijske hipertenzije u kasnijem životu.
5. Studija ekskrecije urinarnog kalikreina u djece je važna da bi se rasvijetlio mehanizam razvoja esencijalne hipertenzije u kasnijem životu. Dalje prospektivne studije su potrebne za procjenu vrijednosti niskog urinarnog kalikreina kao prediktora rizika pojedine osobe za razvoj esencijalne hipertenzije.

Literatura

1. Erdos EG. The kinins. A status report. *Biochem Pharmacol* 1976; 25:1563-1569.
2. Neurath H, Walsh KA. Role of proteolytic enzymes in biological regulation. *Proc Nat Acad Sci USA* 1976;73:3825-32.
3. Igić R, Nakajima T, Yeh HSJ, Sorells K, Erdos EG. Kininases. In: Acheson GH, editor. *Pharmacology and future of man*. Basel: Karger; 1973.
4. Erdos EG. Bradykinin, kalidin and kallikrein. In: Erdos EG editor. *Handbuch der experimentellen Pharmakologie*. Berlin: Springer; 1970; 1-76.
5. Azizi M, Boutouyrie P, Bissery A, Agharazil M, Verbeke F, Stern N et al. Arterial and renal consequences of partial genetic deficiency in tissue kallikrein activity in humans. *J Clin Invest* 2005;115:780-7.
6. Mujović V, Čemerikić D. Kalikrein-kinin sistem bubrega. U: Dončev N, urednik. *Fiziologija bubrega*. Beograd: Naučna knjiga 1987; 276-284.
7. Werle E, Vogel R. Über die Kallikrein Ausscheidung im Horn nach experimentellen Nierenschädigung. *Arch Intern Pharmacodyn* 1960; 126:171-176.
8. Scicli AG, Gandolfi R, Carretero OA. Site of formation of kinin in the dog nephron. *Am J Physiol* 1978;234:36-40.
9. Noda Y, Yamada K, Igić R, Erdos EG. Regulation of rat urinary and renal kallikrein and prekallikrein by corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci* 1983;80:3059-63.
10. Yamada K, Erdos EG. Kallikrein and prekallikrein of the isolated basolateral membranes of rat kidney. *Kidney Int* 1982; 22:331-7.
11. Scicli AG, Carretero OA, Hampton A, Cortes P, Oza NB. Site of kininogenase secretion in the dog nephron. *Am J Physiol* 1976; 230:533-6.
12. Margolius HS, Horwitz D, Pisano JJ, Keiser HR. Urinary kallikrein excretion in hypertensive man. Relationships to sodium intake and sodium-retaining steroids. *Circ Res* 1974;35:820-5.
13. Mark E, Steinhilber ME, Cochrane KL, Field LJ. Hypotension in transgenic mice expressing atrial natriuretic factor fusion genes. *Hypertension* 1990;16:301-7.
14. Sinaiko AR, Glasser RJ, Gillum RF, Prineas RJ. Urinary kallikrein excretion in grade school children with high and low blood pressure. *J Pediatr* 1982;100:938-40.
15. Uchiyama M, Otsuka T, Sakai K. Urinary kallikrein excretion in children of parents with essential hypertension. *Arch Dis Child* 1985;60:974-5.
16. Wollheim E, Peterknecht S, Dees C, Wiener A, Wollheim CB. Defect in the excretion of a vasoactive polypeptide fraction a possible genetic marker of primary hypertension. *Hypertension* 1981;3:574-9.
17. Carretero OA, Scicli AG. The kallikrein-kinin system as a regulator of cardiovascular and renal function. In: JH Laragh and BM Brenner, editors. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*. New York: Raven Press; 1995. 983-99.
18. Godard C, Valloton MB, Favre L. Urinary prostaglandins, vasopressin and kallikrein excretion in healthy children from birth to adolescence. *J Pediatr* 1982; 100:898-902.
19. Bergmann I, Binder C, Rana H, Maier M, Binder BR. Urinary kallikrein excretion in healthy young infants. *Adv Exp Med Biol* 1986;198:211-18.
20. Ach KO, Smith JB, Lynch M, dadone M, Tolman KG, Williams RR. Urinary kallikrein : assay validation and physiological variability. *Clin Clim Acta* 1985;151:133-40.
21. Tortorolo G, Porcelli G, Cuatalo P. Urinary kallikreins in premature, small at term and normal newborn and in children. In: Pisano JJ, Austen KF(eds). *Chemistry and Biology of kallikrein: Kinin System in Health and Disease*. Washington, DC: DHEW(NIH); 1974.776-91.

22. Cumming AD, Robson JS. Urinary kallikrein excretion in glomerulonephritis and nephrotic sy. *Nephron* 1985; 39(3):206-10.
23. Martinez SA, Vila SB, Catanzaro OL. The mechanism of urinary kallikrein excretion in the rat. *Clin Sci* 1982; 63(2):217-18.
24. Zinner SH, Margolius HS, Rosner B, Keiser HR, Kass EH. Familial aggregation of urinary kallikrein concentration in childhood: relation to blood preasure, race and urinary electrolytes. *Am J Epid* 1976;104(2):124-32.
25. Catanzaro OL, Martinez SA, Vila SB. Effect of angiotenzin, noradrenaline, vasopresin and aldosterone on urinary kallikrein excretion in the rat. *Pharmacol Res Commun* 1984;16:775-83.
26. Song CK. Renal kallikrein excretion: role of ethnicity, gender, environment, and genetic risk of hypertension. *J Hum Hypertens* 2000;14(7):461-68.
27. Naka T, Ogihara T, Hata T, Maruyama A, Mikami H, Nakamaru M et al. The effect of aging on urinary kallikrein excretion in normotensive subjects and in patients with essential hypertension. *J. Clin Endocrinol Metab* 1981; 52(5):1023-26.
28. Mills IH, Ward PE. The relationship between kallikrein and water excretion and the conditional reationship between kallikrein and sodium excretion. *J Physiol* 1975; 246(3): 695-707.
29. Regoli D, Gobeli F Jr. Critical insight into the beneficial and protective action of the kallikrein-kinin system. *Vascul Pharmacol* 2015; 64:1-10.
30. Slim R, Torremocha F, Moreau T, Pizard A, Hunt SC et al. Loss-of-function polyymphysm of the human kallikrein gene with reduced urinary kallikrein activity. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:968-76.
31. Elliot AH, Nuzum FR. Urinary excretion of a depressor substance (kallikrein of Frey and Kraut) in arterial hypertension. *Endocrinology* 1934;18:462-74.
32. Madeddu P, Varoni MV, Demontis MP, Chao J, Simson JA, Glorioso N, Anania V. Urinary kallikrein: A marker of blood pressure sensitivity to salt. *Hypertension* 1997; 29:471-7.
33. Ciechanowicz A, Marzęcka J, Wesołowska T, Kaczmarczyk M, Klimek K, Szmatołoch E Low urinary kallikrein excretion in normotensive offsprings of hypertensive parents; *Med Sci Monit* 1999;5(4): 687-91.
34. Williams RR, Hunt SC Hasstedt SJ, Berry TD, Wu LL, Barlow GK at al. Definition of genetic factors in hypertension: a search for major genes, polygenes, and homogeneous subtypes. *J Cardiovasc Pharamcol* 1998;12:7-20.
35. Berry TD. A gene for high urinary kallikrein may protect against hypertension in Utah kindreds. *Hypertension* 1989;13:3-8.
36. Dadone MM, Smith JB, Anderton DL, Ash KO, Williams RR. Evidence for environmental familiarity of kallikrein excretion in Utah kindreds. *West J Med* 1986;144(5):559-63.
37. Musca A, Cammarella I, Ferri C, Bellini C, Ruggeri R, Santucci A, Balsano F. Natriuretic hormones in young hypertensives and in young normotensives with or without a family history of hypertension. *Am J Hypertens* 1992; 5(9):592-9.
38. Holland OB, Chud JM, Braunstein H. Urinary kallikrein excretion in essential and mineralocorticoid hypertension. *J Clin Invest* 1980; 65:347-56.