

## Analiza stężenia wybranych czynników w moczu dzieci z uropatią zaporową – doniesienie wstępne

Analysis of the concentration of chosen parameters in urine of children with obstructive uropathy – preliminary report

Aleksandra Gawłowska<sup>1</sup>, Jerzy Niedzielski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Chirurgii i Onkologii Dziecięcej Katedry Pediatrii Zabiegowej Uniwersytetu Medycznego, Łódź (Department of Pediatric Surgery and Oncology, University Childrens' Hospital No 4, University School of Medicine in Lodz)

<sup>2</sup>Samodzielny Oddział Kliniczny Chirurgii i Urologii Dziecięcej Katedry Pediatrii Zabiegowej Uniwersytetu Medycznego, Łódź (Department of Pediatric Surgery and Urology, University Childrens' Hospital No 4, University School of Medicine in Lodz)

### Streszczenie

**Wstęp:** Zwężenie połączenia miedniczkowo-moczowodowego stanowi 1/3 ogólnej liczby wad wrodzonych układu moczowego u dzieci. Postępujące zmiany wsteczne w nerce, a spowodowane przeszkodą w odpływie moczu z miedniczki, określa się jako uropatię zaporową. Celem pracy było zbadanie stężenia TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES oraz sFas/Apo-1 w moczu pacjentów operowanych z powodu wodonercza i porównanie ich z wynikami uzyskanymi w grupie referencyjnej.

**Materiał i metody:** Grupę badaną stanowiło 28 dzieci w wieku od 1 miesiąca do 17 lat (średni wiek — 8,5 roku), operowanych z powodu wodonercza. W 2 przypadkach rozpoznano wodonercze obustronne (7,1%). Pięcioro dzieci (17,8%) operowano w pierwszym roku życia. U 26 pacjentów wykonano ureteropieloplastykę metodą Hynes-Andersona, a u 2 — nefrektomię. U każdego pacjenta w próbkach moczu z pęcherza moczowego i z miedniczki nerkowej oznaczano stężenie kreatyniny oraz stężenia badanych czynników (TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES, sFas/Apo-1). Grupę referencyjną stanowiło 25 pacjentów operowanych z powodu przepukliny pachwinowej.

**Wyniki:** Średnie stężenie TGF  $\beta$ 1 w moczu z miedniczki ( $2365,491 \pm 2361,748$  pg/mg kreatyniny) było nieznacznie wyższe niż stężenie w moczu pochodzącym z pęcherza ( $2329,287 \pm 2099,852$  pg/mg kreatyniny); obydwa stężenia były statystycznie istotnie wyższe niż stężenie w moczu pacjentów z grupy referencyjnej ( $971,067 \pm 1426,541$  pg/mg kreatyniny) ( $p < 0,05$ ). Średnie stężenie CCL5/RANTES w moczu pochodzącym z miedniczki ( $355,7143 \pm 1387,583$  pg/ml) było wyższe niż stężenie w moczu pochodzącym z pęcherza ( $196,9643 \pm 625,038$  pg/ml) i statystycznie istotnie wyższe niż stężenie w moczu pacjentów z grupy referencyjnej ( $41,2000 \pm 60,627$  pg/ml) ( $p < 0,05$ ). Średnie stężenie sFas/Apo-1 w moczu z miedniczki ( $0,637743 \pm 0,308462$  ng/ml) było istotnie statystycznie wyższe zarówno od stężenia w moczu z pęcherza ( $0,481149 \pm 0,308462$  ng/ml), jak i od stężenia w moczu pacjentów z grupy referencyjnej ( $0,379059 \pm 0,156984$  ng/ml) ( $p < 0,05$ ).

**Wnioski:** Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że stężenia TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES i sFas/Apo-1 w moczu dzieci z wodonerczem są istotnie wyższe niż u pacjentów zdrowych, co zależy prawdopodobnie od nasilonego włóknienia mięszu nerki, śródmięszkowych zmian zapalnych oraz zaburzeń apoptozy komórkowej.

**Słowa kluczowe:** uropatia zaporowa, zwężenie połączenia miedniczkowo-moczowodowego, dzieci, TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES, sFas/Apo-1

### Abstract

**Background:** Stenosis of the pelvico-ureteral junction constitutes 1/3 of congenital defects of the urinary tract and is the most frequent cause of a total or partial urinary tract obstruction. The progressive reactive changes in a kidney caused by the obstacle of the urine outflow from renal pelvis are called an obstructive uropathy. Aim of the study was to examine concentration of TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES and sFas/Apo-1 in the urine of patients operated due to hydronephrosis and to compare them with the results obtained in controls.

**Material and methods:** The examined group consisted of 28 children, aged 1 month to 17 years (mean age — 8.5 yrs), operated on due to hydronephrosis. Bilateral hydronephrosis was diagnosed in 2 children (7.1%). Five patients (17.8%) were operated on during the first year of life. 26 patients underwent ureteropyeloplasty m/o Hynes-Anderson, and in two cases a nephrectomy was performed. The level of creatinine and concentrations of examined factors (TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES, sFas/Apo-1) were determined in the samples of urine from the bladder and renal pelvis in all patients. The reference group consisted of 25 children operated on due to the inguinal hernia.

**Results:** The mean TGF  $\beta$ 1 concentration in urine from the renal pelvis ( $2365.491 \pm 2361.748$  pg/mg creatinine) was slightly higher than its concentration in urine from the bladder ( $2329.287 \pm 2099.852$  pg/mg creatinine) and both were statistically significantly higher than the concentration in the urine of patients from the reference group ( $971.067 \pm 1426.541$  pg/mg creatinine) ( $p < 0.05$ ). The mean CCL5/RANTES concentration in urine from the renal pelvis ( $355.7143 \pm 1387.583$  pg/ml) was higher than its concentration in urine from the bladder ( $196.9643 \pm 625.038$  pg/ml) and was statistically significantly higher than the concentration in urine of patients from the reference group ( $41.2000 \pm 60.627$  pg/ml) ( $p < 0.05$ ).

The mean sFas/Apo-1 concentration in urine from the pelvis ( $0.637743 \pm 0.308462$  ng/ml) was significantly statistically higher than both its concentration in urine from the bladder ( $0.481149 \pm 0.308462$  ng/ml) and its concentration in the urine of patients from the reference group ( $0.379059 \pm 0.156984$  ng/ml) ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** Obtained results indicate, that the concentrations of TGF  $\beta$  1, CCL5/RANTES and sFas/Apo-1 in the urine of pediatric patients with hydronephrosis are significantly higher than in healthy patients what is probably caused by intensified fibrosis of the renal parenchyma, by interstitial inflammatory changes, as well as by disorders of cellular apoptosis.

**Key words:** obstructive uropathy, pelvico-ureteral junction stenosis, children, TGF  $\beta$  1, CCL5/RANTES, sFas/Apo-1

Pracę zrealizowano na podstawie funduszy grantu promotorskiego KBN nr 2 P05E 072 28

Financial sources: the KBN grant nr 2 P05E 072 28

## Wstęp

Wady wrodzone układu moczowego, które wykrywa się prenatalnie, występują z częstością 1–2/1000 żywych urodzeń. Zwężenie połączenia miedniczkowo-moczowodowego stanowi 1/3 ogólnej liczby tych wad i jest najczęstszą przyczyną całkowitej lub częściowej niedrożności dróg moczowych [1].

W licznych badaniach doświadczalnych wykazano, że przyczyną zwężenia połączenia miedniczkowo-moczowodowego u dzieci może być niekompletna rekanalizacja moczowodu podczas nefrogenyzy [2, 3], jego ucisk przez naczynia płodowe [3, 4] lub występowanie zastawki moczowodu [5]. Utrudniony odpływ moczu może być również wynikiem zaburzeń czynnościowych w przechodzeniu fal perystaltycznych w moczowodzie [5–7], spowodowanych zaburzeniami autonomicznego unerwienia jego ściany [8, 9]. Nabyte przeszkody mechaniczne, czyli zrosty pourazowe, pooperacyjne lub pozapalne, a także nowotwory w tej okolicy, rzadziej występują u dzieci.

Wodonercze prawie 2-krotnie częściej występuje u chłopców. Może dotyczyć jednej lub obu nerek (> 10%), a jeśli jednej, to częściej stwierdza się je po stronie lewej [6, 10–12].

Zarówno przeszkody organiczne, jak i zaburzenia czynnościowe prowadzą do tych samych następstw. Powodują utrudniony odpływ moczu z miedniczki i wzrost ciśnienia hydrostatycznego w miedniczce i kielichach, który przenosi się na cewki zbiorcze i torebkę Bowmana [5, 10, 13]. Dochodzi do zaburzeń ukrwienia i przesączania kłębuszkowego, pobudzenia układu renina–angiotensyna (RA, *renin-angiotensin*), wzmożonej apoptozy komórek nabłonkowych cewek nerkowych, odczynu zapalnego w tkance śródmiąższowej, a następnie jej nadmiernego włóknienia [5, 10, 13–17]. W końcowej fazie choroby

## Introduction

Congenital defects of the urinary tract, diagnosed prenatally, occur with the incidence of 1–2/1000 live births. Stenosis of the pelvico-ureteral junction is found in 1/3 of this number and is the most frequent cause of a total or partial urinary tract obstruction [1].

As demonstrated by numerous experimental studies, obstruction of the ureteropelvic junction in children can be caused by incomplete recanalization of the ureter during nephrogenesis [2, 3], impression of the ureter by foetal vessels [3, 4] or the presence of the valve of the ureter [5]. Difficulties in urine outflow can be also caused by functional disturbances of ureteral peristalsis [5–7] resulting from disorders of the autonomic innervation of its wall [8, 9]. Secondary acquired mechanical obstacles i.e. post-traumatic, post-operative or post-inflammatory adhesions, as well as neoplasmas occur rarely in children.

Hydronephrosis is diagnosed almost twice more often in boys. It can concern one or both kidneys (over 10%), and if one, it is more often found on the left side [6, 10–12].

Both organic obstacles and functional disorders lead to the same results. They cause difficulties in the urine outflow from the renal pelvis and increase the hydrostatic pressure in pelvis and calices, which carries on to the collecting tubules and Bowman's capsule [5, 10, 13]. It next leads to impaired blood supply and glomerular filtration, to the stimulation of the renin-angiotensin system (RA), to the increased apoptosis of the epithelial cells of the renal tubules as well as to an inflammatory reaction in the interstitial tissue and then to its fibrosis [5, 10, 13–17]. In the terminal phase of the disease, the thinning and atrophy of renal tissue occurs, scars on the level of the calices form and renal insufficiency develops. These

dochodzi do ścieńczenia i zaniku mięszu nerki, tworzenia się blizn, głównie na poziomie kielichów, oraz rozwoju niewydolności nerki. Te postępujące zmiany wsteczne w nerce, spowodowane przeszkodą w odpływie moczu z miedniczki, określa się jako uropatię zaporową [5]. W każdej fazie choroby w moczu pacjentów można wyodrębnić liczne czynniki, które świadczą nie tylko o charakterze toczących się procesów, ale także o ich nasileniu [10, 18, 19].

### Transformujący czynnik wzrostu $\beta 1$

Transformujący czynnik wzrostu  $\beta 1$  (TGF  $\beta 1$ , *transforming growth factor beta 1*) jest cytokiną o masie cząsteczkowej 25 kDa. W nerkach aktywność dla genu kodującego TGF  $\beta 1$  jest regulowana przez angiotensynę II. Wzmoczone pobudzenie układu RA stymuluje receptory AT-1 na komórkach cewki bliższej do zwiększonej syntezy TGF  $\beta 1$ . Cytokina ta jest również wytwarzana przez pobudzone limfocyty T, B, makrofagi, które, jak wykazały wyniki badań doświadczalnych, naciekają zrab nerki już kilka godzin po pojawieniu się przeszkody podmiedniczkowej. Transformujący czynnik wzrostu  $\beta 1$  wykazuje silne działanie immunosupresyjne, hamujące pobudzenie i proliferację limfocytów Th1. Ma główne znaczenie w regulacji syntezy kolagenu w macierzy pozakomórkowej i  $\beta$ -aktyny mięśni gładkich w komórkach mezangium. Wzrost wydzielania TGF  $\beta 1$  w uropatii zaporowej powoduje zwłóknienie tkanki śródmiąższowej i szklwienie kłębuszków nerkowych [5, 13, 18–21].

### CCL5/RANTES

CCL5/RANTES (*regulated on activation normal T-cell expressed and secreted  $\beta$*  — regulowana przez aktywację; ekspresja i wydzielanie przez prawidłowe limfocyty T) jest chemokiną z podrodziny  $\beta$ , wydzielaną przez makrofagi i limfocyty T. Odgrywa ona rolę w miejscowej reakcji zapalnej przez działanie chemotaktyczne na monocyty, limfocyty T, komórki NK, eozynofile, komórki dendrytyczne i tuczne. W uszkodzonej nerce dochodzi do zmiany fenotypu komórek cewki bliższej, która polega na zwiększeniu ekspresji chemokin, między innymi CCL5/RANTES. Aktywując migrację komórek odczynu zapalnego, CCL5/RANTES jest odpowiedzialna za powstanie zmian zapalnych śródmiąższowych na poziomie cewek nerkowych we wczesnej fazie uropatii zaporowej [13, 22].

### sFas/Apo-1

sFas/Apo-1 (CD95) to receptor z rodziny TNFR, występujący w różnych typach komórek. Głównym ligandem dla tego receptora jest FasL/Apo-1L, który po związaniu się z nim, wywołuje mechanizmy komórkowe prowadzące do aktywacji kaspaz i apoptozy. Mechanizm ten stwarza limfocytom Tc CD4+ główną możliwość wywierania efektu cytotoksycznego. W uropatii zaporowej dochodzi do wzmoczonej apoptozy komórek nabłonkowych dystalnych cewek nerkowych, która prawdopodobnie prowadzi do ich atrofii. Czynnikiem pobudzającym apoptozę jest między innymi miejscowo podwyższone stężenie TGF  $\beta 1$  [3, 13, 23, 24].

progressive reactive changes in the kidneys caused by the obstruction of the urine outflow from the renal pelvis are called an obstructive uropathy [5]. It is possible in every phase of the disease to distinguish numerous factors in the urine of a patient proving not only the character of ongoing processes but also their progression [10, 18, 19].

### Transforming growth factor $\beta 1$ (TGF $\beta 1$ )

TGF  $\beta 1$  is a cytokine with a particle mass of 25 kDa. In kidneys activity of the TGF  $\beta 1$  encoding gene is regulated by angiotensine II. Prompting of the RA system stimulates AT-1 receptors on cells of the proximal tubules to increased TGF  $\beta 1$  synthesis. This cytokine is also produced by stimulated lymphocytes T, B, macrophages, which, as experimental studies have demonstrated, infiltrate stroma of the kidney already few hours after the subpelvic obstacle appears. TGF  $\beta 1$  has a strong immunosuppressive effect, inhibiting the stimulation and proliferation of Th1 lymphocytes. It plays a basic role in the regulation of the synthesis of collagen in the extracellular matrix and  $\beta$ -actine of smooth muscles in cells of the mezangium. The increase of TGF  $\beta 1$  in obstructive uropathy causes fibrosis of the interstitial tissue and hyalinization of renal glomeruli [5, 13, 18–21].

### CCL5/RANTES (regulated on activation normal T-cell expressed and secreted $\beta$ )

CCL5/RANTES is a chemokine from the subfamily  $\beta$ , secreted by macrophages and T lymphocytes. It takes part in the local inflammatory reaction through the chemotactic action on monocytes, lymphocytes T, NK cells, eosinophiles, dendritic cells and mastocytes. In the affected kidney a change of the phenotype of proximal tubule cells takes place, consisting in increased expression of chemokines, CCL5/RANTES among others. CCL5/RANTES is responsible for interstitial inflammatory changes on the level of the renal tubules in the early phase of the obstructive uropathy by activating the migration of cells of an inflammatory reaction [13, 22].

### sFas/Apo-1

sFas/Apo-1 (CD95) is a receptor from the TNFR family, occurring in different types of cells. The main ligand for this receptor is FasL/Apo-1L which induces cellular mechanisms to lead to the activation of caspases and apoptosis after binding with the receptor. This mechanism creates the main possibility of exerting the cytotoxic effect for Tc CD4+ lymphocytes. The increased apoptosis of epithelial cells of distal renal tubules, which probably leads to their atrophy, occurs in obstructive uropathy. The local increase of TGF  $\beta 1$  concentration is among the factors stimulating apoptosis [3, 13, 23, 24].

### Purpose

The aim of the study was to examine the concentration of TGF  $\beta 1$ , CCL5/RANTES and sFas/Apo-1 in the urine of patients operated on due to hydronephrosis and to compare them with the results obtained in controls.

## Cel pracy

Celem pracy było zbadanie stężeń TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES oraz sFas/Apo-1 w moczu pacjentów operowanych z powodu wodonercza i porównanie ich z wynikami uzyskanymi w grupie referencyjnej.

## Material i metody

Grupę badaną stanowiło 28 dzieci w wieku od 1 miesiąca do 17 lat (średni wiek — 8,5 roku), operowanych z powodu wodonercza w Klinice Chirurgii i Onkologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz w Klinice Chirurgii i Urologii Dziecięcej Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi w latach 2002–2005. Wśród pacjentów było 19 chłopców (67,8%), a wada najczęściej dotyczyła lewej nerki (18–64,3%). W 2 przypadkach rozpoznano wodonercze obustronne (7,1%). Pięcioro dzieci (17,8%) operowano w pierwszym roku życia.

Diagnostyka obejmowała badanie ogólne i bakteriologiczne moczu, badania biochemiczne (stężenia mocznika, kreatyniny) oraz badania obrazowe:

- badanie ultrasonograficzne układu moczowego;
  - urografię dożylną;
  - cystografię mikcyjną;
  - renoscintyografię dynamiczną z użyciem znakowanego technetem kwasu dietylenotriaminopentaoctowego (DTPA), którą wykonano u 20 pacjentów (71,4%), z których u 17 zastosowano test z użyciem furosemidu.
- U wszystkich badanych dzieci (28 osób) stwierdzono uropatię zaporową, a u 2 z nich (2/28 — 7,1%) całkowitą czynność chorej nerki poniżej 5%. U 26 pacjentów wykonano ureteropieloplastykę metodą Hynes-Andersona [25], a u 2 — nefrektomię. U 3 dzieci z bardzo zaawansowanym wodonerczem przed zabiegiem operacyjnym założono nefrostomię odbarczającą.

Od każdego pacjenta przed zabiegiem operacyjnym uzyskiwano drogą mikcji pierwszą próbkę moczu z pęcherza moczowego. Drugą próbkę moczu uzyskiwano przez nakłucie miedniczki nerkowej śródoperacyjnie przed wykonaniem plastyki połączenia miedniczkowo-moczowodowego.

Grupę referencyjną stanowiło 25 pacjentów operowanych z powodu przepukliny pachwinowej w Klinice Chirurgii i Onkologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w latach 2002–2005. U tych dzieci wykonywano badanie ogólne moczu, a następnie uzyskiwano próbkę moczu drogą mikcji.

W wszystkich próbkach moczu oznaczano stężenie kreatyniny. Próbkę wirowano (2000 g) przez 10 minut w temperaturze +4°C, następnie przechowywano w temperaturze -20°C w celu wykonania oznaczenia. Stężenia badanych czynników (TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES, sFas/Apo-1) oceniano metodą immunoenzymatyczną (ELISA) przy użyciu komercyjnych zestawów firmy BioSource. Uzyskane stężenie TGF  $\beta$ 1 porównywano z wartościami kreatyniny.

Aby ocenić prawidłowość stężenia TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES, sFas/Apo-1 w moczu pochodzącym z pęcherza

## Material and methods

The examined group consisted of 28 children, aged 1 month to 17 years (mean age — 8.5 yrs), operated on due to hydronephrosis in the Department of Pediatric Surgery and Oncology of the University School of Medicine in Lodz and the Department of Pediatric Surgery and Urology of the Polish Mother's Health Center in Lodz, in the years 2002–2005. There were 19 boys in the group (67.8%) and most often, the left kidney was involved (18 — 64.3%). Bilateral hydronephrosis was diagnosed in 2 children (7.1%). Five patients (17.8%) were operated on during the first year of life.

Diagnostics comprises urine analysis and culture, biochemical examinations (blood urea and creatinine) and imaging examinations:

- ultrasound examination of the urinary tract;
- intravenous pyelography (ivp);
- voiding cystography;
- dynamic renoscintigraphy with use of diethylenetriaminopentaacetic acid (DTPA) marked with technetium in 20 patients (71.4%), in 17 of whom a Furosemidum test was applied.

Obstructive uropathy was diagnosed in all 28 children and in two of them (2/28–7.1%) the total function of the diseased kidney was below 5%. 26 patients underwent ureteropieloplasty m/o Hynes-Anderson [25], and in 2 cases a nephrectomy was performed. In 3 children with markedly advanced hydronephrosis, a decompressing nephrostomy was carried out.

The first sample of urine was obtained from the bladder of every patient through miction before the operation. The second sample of urine was obtained by intraoperative puncture of the renal pelvis before the ureteropieloplasty was performed.

The reference group consisted of 25 children operated due to an inguinal hernia in the Department of Pediatric Surgery and Oncology in the years 2002–2005. Urine analysis was performed in these patients and then a sample of urine was obtained through miction.

The level of creatinine was determined in all samples of urine. Samples were centrifuged (2000 g) for 10 min at a temperature of +4°C, and next were kept at a temperature of -20°C until the moment of assessment. Concentrations of examined factors (TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES, sFas/Apo-1) were determined by the immunoenzymatic method ELISA with use of BioSource commercial sets. Obtained TGF  $\beta$ 1 concentrations were referred to the values of creatinine.

The normality of the concentrations of TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES, sFas/Apo-1 in urine from the bladder, from the renal pelvis and in the urine of patients from the reference group was assessed by the Kolmogorow-Smirnow test with Lilliefors correction. Concentrations of the examined factors are not subject to a normal distribution. Therefore, nonparametric tests were used to work the results out.

i z miedniczki nerkowej oraz w moczu pacjentów, grupy kontrolnej zastosowano test Kołmogorowa-Smirnowa z poprawką Lillieforsa. Stężenia badanych czynników nie podlegają rozkładowi normalnemu, dlatego do opracowania wyników wykorzystano testy nieparametryczne.

## Wyniki

### TGF $\beta$ 1

Średnie stężenie TGF  $\beta$ 1 w moczu pobranym z miedniczki ( $2365,491 \pm 2361,748$  pg/mg kreatyniny) było nieznacznie wyższe niż stężenie w moczu pobranym z pęcherza ( $2329,287 \pm 2099,852$  pg/mg kreatyniny). Różnice statystycznie istotne stwierdzono między średnim stężeniem TGF  $\beta$ 1 w moczu pochodzącym z miedniczki a stężeniem w moczu pacjentów z grupy kontrolnej ( $971,067 \pm 1426,541$  pg/mg kreatyniny) oraz między stężeniem TGF  $\beta$ 1 w moczu pochodzącym z pęcherza a użytym w grupie referencyjnej (test serii Walda-Wolfowitza) ( $p < 0,05$ ) (tab. I i ryc. 1).

### CCL5/RANTES

Średnie stężenie CCL5/RANTES w moczu pobranym z pęcherza ( $196,9643 \pm 625,038$  pg/ml) było niższe niż stężenie uzyskane w moczu pobranym śródoperacyjnie z miedniczki nerkowej ( $355,7143 \pm 1387,583$  pg/ml). Różnice statystycznie istotne stwierdzono między średnim stężeniem CCL5/RANTES w moczu pochodzącym z miedniczki a stężeniem w moczu pacjentów z grupy kontrolnej ( $41,2000 \pm 60,627$  pg/ml) (test serii Walda-Wolfowitza) ( $p < 0,05$ ) (tab. II i ryc. 2).

### sFas/Apo-1

Średnie stężenie sFas/Apo-1 w moczu pobranym z miedniczki ( $0,637743 \pm 0,308462$  ng/ml) było istotnie statystycznie wyższe zarówno od stężenia uzyskanego w moczu pobranym z pęcherza moczowego ( $0,481149 \pm 0,308462$  ng/ml), jak i od stężenia w moczu pacjentów z grupy kontrolnej ( $0,379059 \pm 0,156984$  ng/ml) (test serii Walda-Wolfowitza) ( $p < 0,05$ ) (tab. III i ryc. 3).

## Dyskusja

Stopniowo narastające wodonercze początkowo może nie wywoływać żadnych objawów klinicznych. Zgłaszane przez pacjentów dolegliwości są mało charakterystyczne i dość zróżnicowane, co może zależeć od przyczyny i lokalizacji przeszkody w odpływie moczu oraz od szybkości narastania i stopnia wodonercza. Podstawowe znaczenie w diagnostyce wodonercza mają głównie badania obrazowe. Rozpowszechnienie badań ultrasonograficznych, w tym również prenatalnych, wpłynęło na skuteczniejsze wykrywanie wodonercza w jego fazie bezobjawowej, nawet u płodów i noworodków. Obecnie około 80% przypadków wodonercza u dzieci stwierdza się u pacjentów do 1 roku życia [5].

W licznych badaniach doświadczalnych na zwierzętach oraz w badaniach klinicznych udowodniono, że

## Results

### TGF $\beta$ 1

The mean TGF  $\beta$ 1 concentration in urine from the renal pelvis ( $2365.491 \pm 2361.748$  pg/mg creatinine) was slightly higher than its concentration in urine from the bladder ( $2329.287 \pm 2099.852$  pg/mg creatinine). Statistically significant differences were found between the medium TGF  $\beta$ 1 concentration in urine from the pelvis and in the urine of patients from the reference group ( $971.067 \pm 1426.541$  pg/mg creatinine) and between the TGF  $\beta$ 1 concentration in urine from the bladder and obtained in the reference group (test of the Wald-Wolfowitz series) ( $p < 0.05$ ) (Tab. I and Fig. 1).

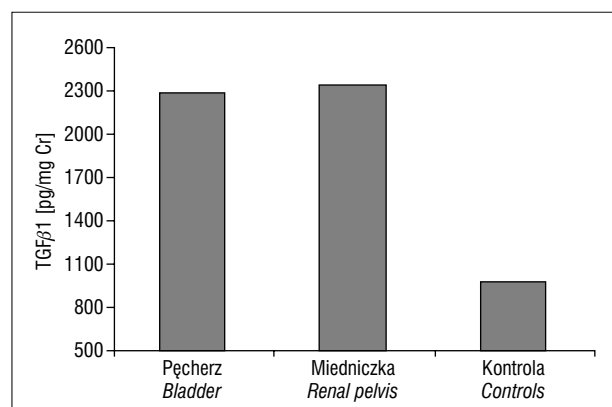
### CCL5/RANTES

The mean CCL5/RANTES concentration in urine from the bladder ( $196.9643 \pm 625.038$  pg/ml) was lower than its concentration in urine obtained intraoperatively from the renal pelvis ( $355.7143 \pm 1387.583$  pg/ml). Statistically significant differences were found between the medium CCL5/RANTES concentration in urine from the pelvis and

**Tabela I. Średnie stężenia TGF  $\beta$ 1 w moczu pochodzącym z pęcherza i miedniczki oraz w moczu pacjentów z grupy referencyjnej**

**Table I. Mean concentration of TGF  $\beta$ 1 in urine from the bladder, renal pelvis and in urine of patients from the reference group**

TGF $\beta$ 1	n	Średnie stężenie [pg/mg kreatyniny] Mean concentration [pg/mg creatinine]	SD
Pęcherz / Bladder	28	2329, 287	2361,748
Miedniczka / Renal pelvis	28	2365, 491	2099,852
Grupa referencyjna Reference group	25	971,067	1426,541



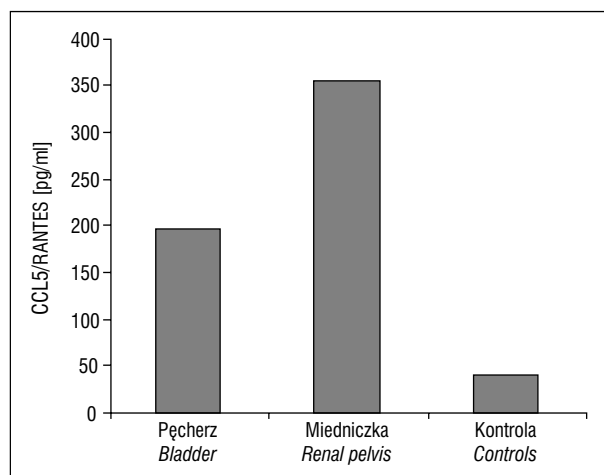
**Rycina 1. Średnie stężenia TGF  $\beta$ 1 w moczu pochodzącym z pęcherza i miedniczki oraz w moczu pacjentów z grupy referencyjnej**

**Figure 1. Mean concentration of TGF  $\beta$ 1 in urine from the bladder, renal pelvis and in urine of patients from the reference group**

**Tabela II. Średnie stężenia CCL5/RANTES w moczu pochodzącym z pęcherza i miedniczki oraz w moczu pacjentów z grupy referencyjnej**

**Table II. Mean concentration of CCL5/RANTES in urine from the bladder, renal pelvis and in urine of patients from the reference group**

CCL5/RANTES	n	Średnie stężenie [pg/ml] Mean concentration [pg/ml]	SD
Pęcherz / Bladder	28	196,9643	625,038
Miedniczka / Renal pelvis	28	355,7143	1387,583
Grupa referencyjna Reference group	25	41,2000	60,627



**Rycina 2. Średnie stężenia CCL5/RANTES w moczu pochodzącym z pęcherza i miedniczki oraz w moczu pacjentów z grupy referencyjnej**

**Figure 2. Mean concentration of CCL5/RANTES in urine from the bladder, renal pelvis and in urine of patients from the reference group**

w przebiegu wodonercza występuje wiele nieodwracalnych procesów patologicznych, które mogą doprowadzić nawet do niewydolności nerek. Celem leczenia wodonercza jest zlikwidowanie nadciśnienia w miedniczce nerkowej i umożliwienie swobodnego odpływu moczu z nerki. Zatem jedyną radykalną metodą leczenia jest operacyjne usunięcie istniejącej przeszkody. Leczenie operacyjne daje bardzo dobre wyniki, prowadzi do ustąpienia wodonercza i swobodnego odpływu moczu (w piśmiennictwie szacuje się na ok. 93–96%) [11, 12]. Zwykle utrzymują się jednak objawy związane z postępującą przewlekłą nefropatią.

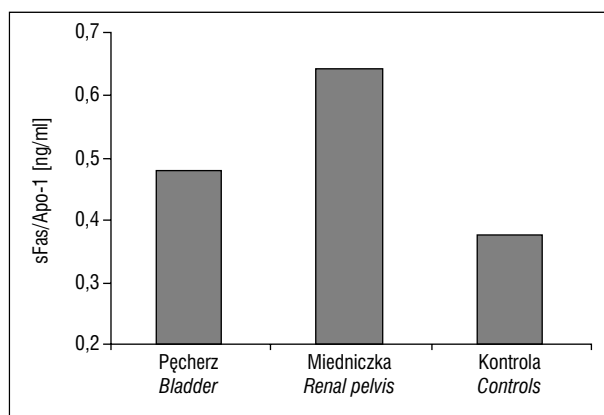
Zbyt mała wiedza na temat dokładnych patomechanizmów występujących w uropatii zaporowej powoduje brak pewności, które z nich są przyczyną, a które następstwem zachodzących procesów.

Celem przeprowadzonych badań było wykazanie, czy w moczu pacjentów operowanych z powodu wodonercza można wykryć istotnie wyższe stężenia wybranych cytokin oraz sFas/Apo-1 [10], co może dowodzić nasilenia opisanych powyżej procesów patologicznych w nerce.

**Tabela III. Średnie stężenia sFas/Apo-1 w moczu pochodzącym z pęcherza i miedniczki oraz w moczu pacjentów z grupy referencyjnej**

**Table III. Mean concentration of sFas/Apo-1 in urine from the bladder, renal pelvis and in urine of patients from the reference group**

sFas/Apo-1	n	Średnie stężenie [ng/ml] Mean concentration [ng/ml]	SD
Pęcherz / Bladder	28	0,481149	0,308462
Miedniczka / Renal pelvis	28	0,637743	0,488304
Grupa referencyjna Reference group	25	0,379059	0,156984



**Rycina 3. Średnie stężenia sFas/Apo-1 w moczu pochodzącym z pęcherza i miedniczki oraz w moczu pacjentów z grupy referencyjnej**

**Figure 3. Mean concentration of sFas/Apo-1 in urine from the bladder, renal pelvis and in urine of patients from the reference group**

in the urine of patients from the reference group ( $41.2000 \pm 60.627$  pg/ml) (test of the Wald-Wolfowitz series) ( $p < 0.05$ ) (Tab. II and Fig. 2).

### sFas/Apo-1

The mean sFas/Apo-1 concentration in urine from the pelvis ( $0.637743 \pm 0.308462$  ng/ml) was significantly statistically higher than both its concentration in urine from the bladder ( $0.481149 \pm 0.308462$  ng/ml) and its concentration in the urine of patients from the reference group ( $0.379059 \pm 0.156984$  ng/ml) (test of the Wald-Wolfowitz series) ( $p < 0.05$ ) (Tab. III and Fig. 3).

### Discussion

Gradually growing hydronephrosis may display no clinical symptoms at first. Complaints described by patients are not very characteristic and diversified enough, which can depend on the cause and the location of the obstacle to the outflow of urine, as well as on the speed of growth and the grade of hydronephrosis. The most important tool in the diagnostics of hydronephrosis are

Furness i wsp. [18] oraz Palmer i wsp. [19] obserwowali znaczną różnicę w stężeniach TGF  $\beta$ 1 między pęcherzem a miedniczką, co można tłumaczyć mieszanym się w pęcherzu moczu pochodzącego ze zdrowej i uszkodzonej nerki. Badania autorów artykułu wskazują na coś przeciwnego. W uzyskanych przez nich wynikach zwraca uwagę bardzo niewielka różnica między średnim stężeniem TGF  $\beta$ 1 w moczu pochodzącym z miedniczki nerkowej i pęcherza w grupie badanej, chociaż było ono znacząco wyższe niż w grupie referencyjnej. Może to potwierdzać teorię dowiedzioną dotychczas na modelu zwierzęcym, że na skutek uropatii zaporowej jednostronnej zostaje uszkodzona druga, pierwotnie zdrowa nerka [26, 27]. W stężeniu CCL5/RANTES różnica między miedniczką a pęcherzem była większa, chociaż nadal nie była istotna statystycznie. Obydwa stężenia były natomiast istotnie statystycznie wyższe niż stężenie uzyskane w moczu dzieci zdrowych. Jedynie w przypadku sFas/Apo-1, gdy porównano wszystkie 3 pomiary, różnice były istotne statystycznie.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że stężenia TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES i sFas/Apo-1 w moczu dzieci z wodonerczem są istotnie wyższe niż u pacjentów zdrowych, co jest prawdopodobnie spowodowane nasilonym włóknieniem miąższu nerki, śródmiąższowymi zmianami zapalnymi oraz zaburzeniami apoptozy komórkowej. Przyczyna niewielkich różnic między średnim stężeniem TGF  $\beta$ 1 i CCL5/RANTES w pęcherzu moczowym i miedniczce nerkowej jest trudna do wyjaśnienia i interpretacji na obecnym poziomie wiedzy.

## Piśmiennictwo (References)

1. Pawłowska B, Zjawiona A, Samolewicz E *et al.* Uropatie zaporowe u noworodków — algorytm postępowania. *Postępy Neonatologii* 2000; (supl I): 214–217.
2. Ruano-Gil D, Tejedó-Mateu A. Human embryo (12 mm) with mesohydronephrosis and ureterohydronephrosis. *Acta Anat.* 1975; 93: 135–140.
3. Pope J, Brock J, Adams M *et al.* How they begin and how they end. *J Am Soc Nephrol.* 1999; 10: 2018–2028.
4. Allen T. Congenital ureteral strictures. *J Urol.* 1970; 104: 196–204.
5. Sułowicz J. Nefropatia zaporowa (obturacyjna). In: Hruby Z (ed) *Nefrologia praktyczna*. PZWL, Warszawa 2001; 161–166.
6. Krzeski T. Wodonercze (*hydronephrosis*). In: Zieliński J, Leńko J (ed) *Urologia kliniczna*. PZWL, Warszawa 1993; 15–21.
7. Gonzalez R. Schorzenia urologiczne u niemowląt i dzieci. In: Behrman RE (ed) *Podręcznik Pediatrii Nelsona*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1996; 1543–1572.
8. Rolle U, Andersen H, Puri P *et al.* Innervation of congenitally hydronephrotic and normal porcine upper urinary tract. *BJU Int.* 2002; 89: 566–570.
9. Nemeth L, O'Briain D, Puri P. Demonstration of neuronal networks in the human upper urinary tract using confocal laser scanning microscopy. *J Urol.* 2001; 166: 255–258.
10. Gawłowska A, Niedzielski J. Uropatia zaporowa u dzieci — wybrane aspekty. *Przeg Pediatr.* 2003; 33: 282–285.
11. Johnston J, Evans J, Glassberg K *et al.* Pelvic hydronephrosis in children: A review of 219 personal cases. *J Urol.* 1977; 117: 97–101.

imaging examinations. The growth of ultrasound examinations has influenced more the effective detection of hydronephrosis in its asymptomatic phase, even in foeti and newborn babies. Currently, approximately 80% of hydronephrosis diagnoses are established in children under one year old [5].

It has been proved on animals and in numerous clinical examinations, that in the course of hydronephrosis many irreversible pathological processes take place which can lead even to renal failure. The purpose of the treatment of hydronephrosis is to reduce hypertension in the renal pelvis and to enable the free outflow of urine from the kidney. Therefore, the only radical method of treatment is operative removal of the existing obstacle. Operative treatment has good results, it leads to the re-treating of hydronephrosis and the free outflow of urine, estimated in the literature as high as 93–96% [11, 12]. However, the symptoms connected with progressive chronic nephropathy persist.

Too little knowledge of the subject of the precise pathomechanisms which are involved in obstructive uropathy leads to the lack of certainty which of them is a cause and which is an effect of the ongoing processes.

The purpose of this study is to demonstrate whether significantly higher concentrations of chosen cytokines and sFas/Apo-1 [10] can be detected in the urine of patients operated on because of hydronephrosis, which could prove the intensification of the above-described pathologic processes in the kidney.

Furness *et al.* [18] and Palmer *et al.* [19] observed significant differences in TGF  $\beta$ 1 concentrations between the bladder and the renal pelvis which is possible to explain by the mixing of urine from the healthy and damaged kidney in the bladder. Our study revealed the opposite. In results obtained by us, a small, insignificant difference between the mean concentration of TGF  $\beta$ 1 in urine from the renal pelvis and from the bladder in the examined group was observed, although it was markedly higher than in the reference group. This could support the theory proven to date on the animal model, that unilateral obstructive uropathy causes the damage of the contralateral, primary healthy kidney [26, 27]. The difference in the CCL5/RANTES concentration between the renal pelvis and the bladder was bigger although still it was not statistically significant. However, both concentrations were indeed statistically higher than the concentration in the urine of healthy children. Only in the case of Fas/Apo-1, while comparing all 3 measurements, were differences statistically significant.

This study performed proved undoubtedly that the concentrations of TGF  $\beta$ 1, CCL5/RANTES and sFas/Apo-1 in the urine of pediatric patients with hydronephrosis are significantly higher than in healthy patients which is probably caused by intensified fibrosis of the renal parenchyma, by interstitial inflammatory changes, as well as by disorders of cellular apoptosis. The reason for small differences between the mean concentration of TGF  $\beta$ 1 and CCL5/RANTES in the bladder and renal pelvis is hard to explain and to interpret on the basis of present knowledge.

12. Kelalis P, Culp O, Stickler G *et. al.* Ureteropelvic obstruction in children: Experiences with 109 cases. *J Urol.* 1971; 106: 418–423.
13. Litwin M. Leczenie nefroprotektoryjne. In: Grenda R (ed) Wybrane zagadnienia z nefrologii dziecięcej. PZWL, Warszawa 2003; 149–171.
14. Pimentel J, Wang S, Martinez-Malonado M. Regulation of the renal angiotensin II receptor gene in acute unilateral obstruction. *Kidney Int.* 1994; 45: 1614–1621.
15. Chevalier R, Kim A, Thornhill B *et. al.* Recovery following relief of unilateral obstruction in the neonatal rat. *Kidney Int.* 1990; 55: 793–780.
16. Peters C, Carr M, Lais A *et. al.* The response of the fetal kidney to obstruction. *J Urol.* 1992; 148: 503–509.
17. Chung K, Chevalier R. Arrested development of neonatal kidney following chronic ureteral obstruction. *J Urol.* 1996; 155: 1139–1144.
18. Furness P, Maizels M, Sang W *et. al.* Elevated bladder urine concentration of TGF  $\beta$ 1 correlates with upper urinary tract obstruction in children. *J Urol.* 1999; 162: 1033–1036.
19. Palmer L, Maizels M, Kaplan W *et. al.* Urine levels of transforming growth factor-beta 1 in children with ureteropelvic junction obstruction. *Urology* 1997; 50: 769–773.
20. Matsell D, Tarantal A. Experimental models of fetal obstructive nephropathy. *Pediatr Nephrol.* 2002; 17: 470–476.
21. Junker U, Haufe C, Nuske K *et. al.* Elevated plasma TGF-beta1 in renal diseases: cause or consequence? *Cytokine* 2000; 12: 1084–1091.
22. Wolf G, Ziyadeh F, Tomaszewski J *et. al.* Angiotensin II stimulates expression of the chemokine RANTES in rat glomerular endothelial cells. *J Clin Invest.* 1997; 100: 1047–1058.
23. Choi Y, Baranowska-Daca E, Nguyen V *et. al.* Mechanism of chronic obstructive uropathy: Increased expression of apoptosis-promoting molecules. *Kidney Int.* 2000; 58: 1481–1491.
24. Miyajima A, Chen J, Lawrence C *et. al.* Antibody to transforming growth factor beta ameliorates tubular apoptosis in unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int.* 2000; 58: 2301–2313.
25. Carr M. Anomalies and surgery of the ureteropelvic junction in children. In: Walsh P (ed.) *Campbell's urology.* W. B. Saunders Company, Philadelphia 2002; 551–558.
26. Chevalier R, Kim A, Thornhill B *et. al.* Recovery from release of ureteral obstruction in the rat: relationship to nephrogenesis. *Kidney Int.* 2002; 61: 2033–2043.
27. Chevalier R, Kim A, Thornhill B *et. al.* Unilateral obstruction in neonatal rats leads to renal insufficiency in adulthood. *Kidney Int.* 2000; 58: 1987–1995.

**Adres do korespondencji (Address for correspondence):**

Lek. Aleksandra Gawłowska  
Klinika Chirurgii i Onkologii Dziecięcej  
Katedra Pediatrii Zabiegowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
ul. Sporna 36/50, 91–738 Łódź  
e-mail: agawłowska@mnc.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 17.07.2006 r.