

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.447>

<https://orcid.org/0000-0002-5764-2202>

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Vytis Kazlauskas

Neinvazinių ir minimaliai invazinių bei molekulinių diagnostikos metodų taikymas tiriant įgimtas obstrukcines uropatijas

DAKTARO DISERTACIJA

Medicinos ir sveikatos mokslai,
Medicina (M 001)

VILNIUS 2023

Disertacija rengta 2018–2022 metais Vilniaus universitete, Medicinos fakultete.

Mokslinis tyrimas finansuotas Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto lėšomis.

Mokslinis vadovas – prof. dr. Gilvydas Verkauskas (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Gynimo taryba:

Pirmininkas – prof. habil. dr. Kęstutis Strupas (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Nariai:

dr. Karolis Ažukaitis (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

dr. Albertas Čekauskas (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Marius Miglinas (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Ramnath Subramaniam (University of Leeds, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2023 m. kovo 24 d. 13 val. Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Santaros klinikų auditorijoje. Adresas: Santariškių g. 7, Vilnius, Lietuva, tel. + 370 698 13 598; el. paštas vytis.kazlauskas@mf.vu.lt

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje ir VU interneto svetainėje adresu:

<https://www.vu.lt/naujienos/ivykiu-kalendo>

<https://doi.org/10.15388/vu.thesis.447>

<https://orcid.org/0000-0002-5764-2202>

VILNIUS UNIVERSITY

Vytis Kazlauskas

The Role of Non-invasive, Minimally Invasive and Molecular Methods in the Diagnosis of Congenital Obstructive Uropathies

DOCTORAL DISSERTATION

Medicine and Health Sciences,
Medicine (M 001)

VILNIUS 2023

The dissertation was prepared between 2018 and 2022 in Vilnius University. The research was supported by Vilnius University Medical Faculty.

Academic supervisor – Prof. Dr. Gilvydas Verkauskas (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

This doctoral dissertation will be defended in a public meeting of the Dissertation Defence Panel:

Chairman – Prof. Habil. Dr. Kęstutis Strupas (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

Members:

Dr. Karolis Ažukaitis (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

Dr. Albertas Čekauskas (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

Prof. Dr. Marius Miglinas (Vilnius University, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001),

Prof. Dr. Ramnath Subramaniam (University of Leeds, Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

The dissertation shall be defended at a public meeting of the Dissertation Defence Panel at 1 PM on 24 March 2023 in auditorium of Vilnius University Santaros Klinikos.

Address: Santariskiu street 7, Vilnius, Lithuania

Tel. +37069813598; e-mail: vytis.kazlauskas@mf.vu.lt

The text of this dissertation can be accessed at the libraries of Vilnius University as well as on the website of Vilnius University:

www.vu.lt/lt/naujienos/ivykiu-kalendorius

SANTRUMPOS IR SAŲVOKOS

AGS – alternatyvi hidronefrozės laipsniavimo sistema, aprašyta Onen ir kt. (angl. *alternative grading system*).

AKT – proteinkinazė B.

AngII – angiotenzinas II.

APD – hidronefrozės laipsniavimo sistema ir kalbant apie geldelę jos priekinis užpakalinis skersmuo (angl. *anterior posterior diameter*).

AT1R ir **ATR2** – angiotenzino I receptoriai ir angiotenzino II receptoriai.

AUC – plotas po kreive (angl. *area under the curve*).

BAPU – Britanijos vaikų urologų asociacija (angl. *British association of paediatric urologists*).

BMP – kaulų morfogeninis baltymas (angl. *bone morphogenic protein*).

CA19-9 – angl. *carbohydrate antigen 19-9*.

cDNR – komplementarioji deoksiribonukleininė rūgštis.

CD31 – trombocitų endotelio adhezijos molekulė.

Cldn4 – kladinas 4.

Cr – kreatininas (angl. *creatinine*).

CTGF – jungiamojo audinio augimo faktorius (angl. *connective tissue growth factor*).

DIF – diferencinė inkstų funkcija.

EGF – epidermio augimo faktorius (angl. *epidermal growth factor*).

EGFR – epidermio augimo faktoriaus receptoriai (angl. *epidermal growth factor receptor*).

GADPH – gliceraldehidfosfatdehidrogenazė.

Gli3 – Shh reguliuojamas baltymas, kuris dalyvauja proksimalinės šlapimtakio dalies lygiųjų raumenų diferenciacijoje.

GPI – gliukozės fosfatizomerazė.

HIF-1 – hipoksijos aktyvuojamas veiksnys (angl. *Hypoxia-inducible factor*).

IFN- γ – interferonas gama.

IP-10 – interferono gama indukuotas baltymas 10.

iRNR – informacinė ribonukleininė rūgštis.

KIM-1 – inkstų pažeidimo molekulė 1 (angl. *kidney injury molecule 1*).

MCP-1 – monocitų chemotaktinis baltymas 1 (angl. *monocyte chemotactic peptide 1*).

MMP – metaloproteinazė (jos izoforma žymima skaičiumi šalia santrumpos).

MYH9/MYH10 – neraumeninio miozino II izoformos.

OU – obstrukcinė uropatija,

PAI1 – plazmino aktyvatoriaus inhibitorius 1 (angl. *plasmin activator inhibitor*).

PDGFR α ⁺ – trombocitų augimo faktoriaus receptorių α turinčios ląstelės (angl. *platelet-derived growth factor receptors α positive cells*).

PI – pasikliautinis intervalas.

PUJ – pieloureterinė jungtis.

PUJO – pieloureterinės jungties obstrukcija.

Ras – ląstelinis signalinis kelias.

RBP – retinoli surišantis baltymas (angl. *retinol binding protein*).

ROC – angl. *Receiver operating characteristic*.

ROS – reaktyvios deguonies rūšys (angl. *reactive oxygen species*).

RT-qPGR – polimerazių grandininė reakcija („RT“ – atvirkštinė transkripcija, angl. *reverse transcription*; „q“ – kiekybinė, angl. *quantitative*).

SFU – angl. *society for fetal urology* (hidronefrozės gradavimo sistema)

SHH – angl. *sonic-hedgehog* genas.

SMAD4 – ląstelių signalų perdavime dalyvaujantis baltymas, kurio veikimas moduluojamas Bmp4 and Tgf β signalų.

SOX9 – didelio judrumo grupės domeno transkripcijos faktorius,

Tc-99m MAG3 – merkaptoacetiltriglicinas, žymėtas Tc99 izotopu.

TGF β 1 – transformuojantis augimo faktorius β 1.

TIMP – audinių metaloproteinazės inhibitorius, šalia skaičiumi žymima jo izoforma (angl. *tissue inhibitor of metalloproteinases*),

TSHZ3 – *Shh* reguliuojamas veiksnys, kuris dalyvauja proksimalinės šlapimtakio dalies lygiųjų raumenų diferenciacijoje (angl. *Teashirt homolog 3*).

TTT – audinių perėjimo laikas (angl. *tissue transit time*).

UTD – hidronefrozės laipsniavimo sistema (angl. *urinary tract dilatation system*),

uAlb – šlapimo albuminas,

u β 2-M – šlapimo beta 2 mikroglobulinas,

UG – ultragarsinis tyrimas,

uNGAL – su neutrofilų želatinaze susijęs lipokalcinas šlapime (angl. *urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin*).

VEGF – kraujagyslių augimo faktorius (angl. *vascular endothelial growth factor*).

VUJO – vezikoureterinės jungties obstrukcija.

VUL SK – Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos

VUR – vezikoureterinis refluksas.

TURINYS

1. ĮVADAS	11
1.1. Tiriamoji problema	11
1.2. Darbo aktualumas	12
1.3. Darbo tikslas	13
1.4. Darbo uždaviniai	13
1.5. Darbo naujumas ir reikšmė	13
1.6. Disertacijos ginamieji teiginiai	14
2. LITERATŪROS APŽVALGA	15
2.1. Įgimtos obstrukcinės uropatijos	15
2.1.1. Hidronefrozės epidemiologija	15
2.1.2. Supravezikinės obstrukcijos epidemiologija	15
2.2. Šlapimtaklių ir inkstų kolektorikos formavimosi embriologija	16
2.3. Įgimtos hidronefrozės etiologija ir patogenezė	17
2.3.1. Laboratorinių gyvūnų tyrimai	17
2.4. Hidronefrozės diagnostika	20
2.4.1. Pieloureterinės jungties obstrukcijos diagnostika ir gydymo taktikos pasirinkimas	23
2.4.2. Vezikoureterinės jungties obstrukcijos diagnostika ir gydymo pasirinkimas	25
2.4.3. Pooperacinių išeičių prognozavimas ir pooperacinis stebėjimas	26
2.5. Neinvaziniai ir minimaliai invaziniai diagnostikos metodai, taikomi prognozavimas	28
2.5.1. Echoskopinio tyrimo modifikacijos, taikomos pagerinti supravezikinės obstrukcijos diagnostiką	28
2.5.2. Šlapimo biocheminiai žymenys, taikomi diagnozuoti supravezikinę obstrukciją	31
2.5.3. Dažniausiai aprašomi šlapimo takų obstrukcijos žymenys	31
2.5.4. Šlapimo albuminas	38
2.5.5. Beta 2 mikroglobulinas	39

2.5.6. Retai aprašomi šlapimo takų obstrukcijos žymenys	40
2.5.7. Šlapimo žymenų ir inkstų scintigrafijos rodiklių ryšys.....	46
2.6. Molekuliniai ir imunohistocheminiai šlapimtakio audinio tyrimai...	47
2.6.1. Su randėjimu susijusių veiksnių nustatymas šlapimtakio audinyje.....	50
2.6.2. Su randėjimu susijusių veiksnių funkcija.....	50
2.6.3. Šlapimtakio striktūros audinio proteomo tyrimai.....	52
3. DARBO METODOLOGIJA	53
3.1. Tyrimo etapai.....	53
3.2. Tyrimo eiga.....	53
3.2.1. Įtraukimo kriterijai	54
3.2.2. Neįtraukimo kriterijai.....	54
3.2.3. Atlikto tyrimo schema.....	54
3.3. Echoskopijos suleidus diuretiko efektyvumo prognozuojant chirurginį gydymą tyrimo metodika	55
3.4. Šlapimo biocheminių žymenų efektyvumo prognozuojant operacinį gydymą ir inkstų scintigrafijos rodiklius tyrimo metodika.....	57
3.4.1. Logistinės regresijos modelio ir ROC kreivių sudarymo principai, kai buvo sudėti keli įverčiai kaip prognostiniai faktoriai.	60
3.5. Su randėjimu susijusių veiksnių santykinės raiškos įgimtos šlapimtakio striktūros audinyje tyrimo metodika	60
3.6. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir periooperacinių echoskopinių rodiklių ryšio nustatymo metodika.....	63
3.7. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir obstrukcijos biocheminių žymenų bei inkstų scintigrafijos rodiklių ryšys.....	63
4. REZULTATAI	64
4.1. Echoskopijos suleidus diuretiko panaudojimas tiriant pieloureterinės jungties obstrukciją.....	64
4.1.1. Imties aprašymas.....	64
4.1.2. Echoskopinių parametrų verčių palyginimas tarp operuotų ir neoperuotų inkstų.....	64

4.1.3. Inksto be hidronefrozės požymių reakcija į diuretiką vienpusės hidronefrozės atveju	66
4.1.4. APD padidėjimo po diuretikų injekcijos ryšys su APD prieš diuretikų injekciją ir priešingo inksto APD padidėjimu.....	66
4.1.5. Reikšmingos kovariantės, prognozuojančios operacinį gydymą ir APD prieš diuretikų suleidimą ir APD po diuretikų suleidimo ROC kreivių palyginimas skirtingose amžiaus grupėse ..	67
4.2. Šlapimo biocheminių žymenų efektyvumas prognozuojant operacinį gydymą ir inkstų scintigrafijos rodiklius.....	69
4.2.1. Imties aprašymas.....	69
4.2.2. Reikšmingų echoskopinių įvertimų operacijos prognozavimui nustatymas.....	69
4.2.3. APD ir vidurinės parenchimos dalies santykio panaudojimas prognozuojant operacinį gydymą.....	70
4.2.4. APD ir vidurinės parenchimos dalies santykio panaudojimas prognozuojant inkstų scintigrafijos rodiklius.....	70
4.2.5. Suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykis kartu su biocheminiais šlapimo žymenimis prognozuojant operacinį gydymą.....	73
4.2.6. TTT, šlapimo žymenų ir suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies santykio palyginimas tarp operuotų ir neoperuotų tiriamųjų pagal amžiaus grupes.....	76
4.2.7. Suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykis kartu su biocheminiais šlapimo žymenimis prognozuojant inkstų scintigrafijos rodiklius.....	78
4.2.8. Šlapimo žymenų koncentracijos atsižvelgiant į TTT ir renogramos kreivę.....	81
4.2.9. Šlapimo žymenų koncentracijų šlapime palyginimas tarp operuotų, neoperuotų pacientų, kuriems yra hidronefrozė, ir kontrolinės grupės pacientų bei biocheminių žymenų palyginimas pagal amžiaus grupes	82
4.3. Su randėjimu susijusių veiksnių šlapimtakių audinyje raiška.....	82
4.4. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakių striktūros audinyje ir perioperacinių echoskopinių rodiklių ryšys.....	86

4.5. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ryšys.....	87
5. REZULTATŲ APTARIMAS.....	91
5.1. Echoskopijos suleidus diuretikų efektyvumo rezultatų aptarimas....	91
5.2. Šlapimo biocheminių žymenų efektyvumo prognozuojant operacinį gydymą ir inkstų scintigrafijos rodiklius rezultatų aptarimas.....	93
5.3. Su randėjimu susijusių veiksnių šlapimtakio striktūros audinyje raiškos nustatymo reikšmė striktūros etiologijos supratimui.....	94
5.4. Echoskopinių rodiklių ir su randėjimu susijusių veiksnių santykinės raiškos įgimtos šlapimtakio striktūros audinyje ryšys.....	97
5.5. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir obstrukcijos biocheminių žymenų ir inkstų scintigrafijos rodiklių ryšys.....	97
IŠVADOS.....	100
REKOMENDACIJOS.....	101
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	102
PRIEDAI.....	121
SUMMARY.....	128
PUBLIKACIJŲ IR PRANEŠIMŲ SĄRAŠAS.....	168
PADĖKA.....	169
CURRICULUM VITAE.....	170
UŽRAŠAMS.....	173

1. ĮVADAS

1.1. Tiriamoji problema

Obstrukcinės uropatijos (OU) yra grupė šlapimo organų ligų, kurių pagrindinis požymis – šlapimo nutekėjimo iš tam tikros šlapimo takų dalies sutrikimas. Pagal etiologiją OU gal būti funkcinės arba mechaninės, taip pat įgimtos arba įgytos. Šioje disertacijoje bus nagrinėjamos tik įgimtos OU. Priklausomai nuo kliūties aukščio, įgimtos OU gali pasireikšti hidronefroze viename arba abiejuose inkstuose, kartu gali būti išsiplėtęs šlapimtakis arba abu šlapimtakiai, būti padidėjusi šlapimo pūslė (1). Įgimtos OU, priklausomai nuo etiologijos ir pažeidimo aukščio, gali sąlygoti įvairius simptomus, kurie supravežikinės (kai kliūtis aukščiau šlapimo pūslės) obstrukcijos atveju gali kisti nuo visiškai besimptomės ligos eigos jos pradžioje, kai diagnozuojama tik hidronefroze ar ureterohidronefroze, iki pasikartojančių šlapimo organų infekcijų, šlapimo takų akmenų susidarymo, blogėjančios inkstų funkcijos (2). Kiti retesni simptomai gali būti augimo sutrikimas, anemija ir hipertenzija (3). O infravezikinė obstrukcija (esant kliūčiai žemiau šlapimo pūslės) sukelia hidro- ar ureterohidronefrozę, gali būti ženklus inkstų funkcijos blogėjimo priežastis, lemti šlapimo susilaikymą, šlapimo nelaikymą dėl persipildžiusios šlapimo pūslės, pasikartojančias šlapimo takų infekcijas, blogėjančią inkstų funkciją, hipertenziją (4, 5). Nediagnozuota ir negydyta pieloureterinės jungties obstrukcija (PUJO) didesniems vaikams ir suaugusiesiems gali kelti pasikartojančius pilvo ar šono skausmus, pilve gali atsirasti čiuopiamas darinys – hidronefrotinis inkstas, atsirasti pykinimas, vėmimas, hematurija, arterinė hipertenzija, sutrikti arba išnykti inksto ar abiejų inkstų funkcija (2, 3, 6).

Geriausias obstrukcijos apibrėžimas – tai tokia kliūtis šlapimui nutekėti, kurios negydant, pažeidžiamas inkstas (S. Koff). (7) Įgimtos hidronefrozės tyrimų tikslas – arba įrodyti funkcijos blogėjimą, arba rasti netiesioginius požymius / žymenis, prognozuojančius inkstų pažeidimą. Pašalinus obstrukciją anksti, tikėtinas funkcijos atsikūrimas, pavėlavus – inksto funkcija prarandama negrįžtamai. Pagrindinis tikslas tiriant įgimtas OU yra gebėti kuo anksčiau prognozuoti, kuriuo atveju gali prireikti chirurginio gydymo ir kokios OU eigos tikėtis po chirurginio gydymo (8–10). Kalbant apie OU stebėjimą ir diagnostiką, ultragarsinis tyrimas (UG) yra pradinis lengvai prieinamas neinvazinis ir svarbiausias tyrimas. Tačiau pagrindinė diagnostikos problema yra ta, kad naudojant vien tik UG diagnostiką galima lengvai nustatyti inkstų kolektorikos ir šlapimtakių išsiplėtimą, šlapimo

pūslės padidėjimą, tačiau viso to priežastis gali būti susijusi su mechanine obstrukcija arba su funkcinio šlapimo takų išsiplėtimu, kai mechaninės obstrukcijos nėra. Nustatant, ar hidronefrozės priežastis sąlygota mechaninės obstrukcijos ar ne, paprastai reikia panaudoti kitus vaizdinius funkcinis tyrimus, nes ultragarsinis tyrimas puikiai tinka tirti šlapimo takų anatomiją, tačiau obstrukcijai nustatyti jo diagnostinės savybės nėra pakankamos net ir taikant įvairias modifikacijas (11–13).

Papildomų funkcinį ir vaizdinių tyrimų pasirinkimas daugeliu atvejų yra siejamas su ribiniu hidronefrozės laipsniu ar esant palaipsniui didėjančiam hidronefrozės laipsniui, o tai gali būti interpretuojama kaip obstrukcijos požymis, kuriam reikia detalesnio ištyrimo (14). Pagrindinės priežastys, verčiančios riboti vaizdinių tyrimų skaičių ir ieškoti minimaliai invazinių metodų, yra su vaiko apšvita ir bendrąja nejautra susijusios rizikos.

1.2. Darbo aktualumas

Nors OU gana dažnai pasitaiko vaikų amžiuje, iki šiol nėra aiškių kriterijų ar tyrimų, kurie leistų neabejotinai pasakyti, ar obstrukcija, sąlygojanti hidronefrozę, yra įgimta ir ar jai koreguoti yra būtina operacija. Be UG, kuri yra dažniausia diagnostinė priemonė, naudojami ir kiti OU tyrimai: inkstų dinaminė scintigrafija, magnetinio rezonanso ir kompiuterinės tomografijos urografija, cistografija ir cistoskopija (12, 15–17). Nors visi šie išvardyti tyrimai, kurie paprastai atliekami po UG, suteikia papildomos informacijos, leidžiančios spręsti apie obstrukcijos reikšmingumą, tačiau jie yra invaziniai, norint juos atlikti, reikia kateterizuoti periferinę veną, mažiems vaikams reikalinga bendra nejautra, tokie tyrimai gali būti atliekami tik specializuotuose centruose, turinčiuose reikalingą įrangą, taip pat inkstų dinaminei scintigrafijai atlikti naudojama jonizuojančioji spinduliuotė (13, 15).

Siekiant išvengti invazinių ir sudėtingų tyrimų ir sutelkiant dėmesį į neinvazinius ir pacientui nekenksmingus tyrimus, iki šiol išlieka keletas neatsakytų klausimų, kaip racionaliausiai panaudoti pastaruosius, vertinant OU ir pasirenkant tinkamiausią gydymo taktiką (8, 15, 18).

Nepakanka informacijos apie tai, kaip racionaliausiai turėtų būti derinamos įvairios ultragarsinio tyrimo modifikacijos, biocheminiai ir molekuliniai šlapimo bei kraujo tyrimai, siekiant įvertinti įgimtas obstrukcines uropatijas. Literatūroje mažai duomenų apie tai, kaip operacijos metu pašalintos susiaurėjusios šlapimtakio dalies ištyrimas galėtų

padėti prognozuoti pooperacinę eigą ir padėti geriau suvokti šlapimtakio striktūros etiopatogenezę.

1.3. Darbo tikslas

Nustatyti neinvazinių ir minimaliai invazinių tyrimų diagnostinę vertę, esant įgimtoms obstrukcinėms uropatijoms, ir ištirti įgimtos šlapimtakio striktūros audinį, siekiant įvertinti pooperacinio gydymo eigą, ir galbūt paaiškinti įgimtos šlapimtakios striktūros atsiradimo pastogenezę.

1.4. Darbo uždaviniai

1. Nustatyti, ar diuretikų paskyrimas prieš inkstų echoskopiją padeda geriau prognozuoti operacinio gydymo būtinumą, nei echoskopinis ištyrimas neskiriant diuretikų.
2. Nustatyti, ar biocheminiai šlapimo žymenys (šlapimo albuminas (uAlb), šlapimo beta2 mikroglobulinas (u β M-2), šlapimo neutrofilų gelatinazės lipokalinai (uNGAL)), skiriami kartu su echoskopiniu ištyrimu, duoda papildomos vertingos informacijos prognozuojant pokyčius, aptinkamus atliekant inkstų scintigrafiją, ir chirurginio gydymo reikalingumą esant įgimtai hidronefrozei.
3. Palyginti su randėjimu susijusių genų raiškos skirtumus surandėjusiame ir nepakitusiame šlapimtakyje.
4. Nustatyti su randėjimu susijusių genų raiškos koreliaciją su inkstų echoskopijos priešoperaciniais ir pooperaciniais ir biocheminiais obstrukcijos žymenimis.

1.5. Darbo naujumas ir reikšmė

Šiame perspektyviajame klinikiniam tyrime pirmą kartą bandyta optimizuoti neinvazinį ligo, kuriam įtariama įgimta obstrukcinė uropatija, ištyrimą, numatyti operacinio gydymo būtinumą, pasitelkiant įprastą ultragarsinį ištyrimą, šlapimo bei kraujo biocheminius žymenis. Parodyta, kokia yra skiriamų prieš echoskopiją diuretikų nauda, sprendžiant dėl operacinio gydymo būtinumo. Surandėjusio ir sveiko šlapimtakio genų raiškos skirtumai leidžia daryti tam tikras išvadas apie galimą įgimtos obstrukcinės uropatijos patogenezę.

Darbe panaudota tyrimų visuma, sutelkiant dėmesį į neinvazinius ir paprastus tyrimus, yra prieinama praktiškai kiekvienoje gydymo įstaigoje, todėl darbo rezultatai ir pasiūlytas pacientui, kuriam įtariama įgimta

obstrukcinė uropatija, ištyrimo būdas nesunkiai gali būti įdiegtas į kasdienę praktiką. Be to, toks požiūris ištiriant ir numatant ligos prognozę leidžia atsisakyti brangių, invazinių ir su radiologine apšvita susijusių tyrimų.

Palyginamasis su randėjimu susijusių genų raiškos tyrimas surandėjusiame ir nepakitusiame šlapimtakyje leidžia geriau suprasti įgimtos obstrukcinės uropatijos patogenezę ir patvirtinti jos kilmę.

1.6. Disertacijos ginamieji teiginiai

1. Diuretikų paskyrimas prieš šlapimo organų echoskopinį ištyrimą dėl įgimtos hidronefrozės yra vertingas numatant galimą hidronefrozės priežastį ir pasirenkant gydymą.
2. APD ir vidurinės inksto dalies parenchimos santykio nustatymas padeda prognozuoti operacinio gydymo poreikį ir pokyčius, aptiktus atliekant inkstų scintigrafiją.
3. Ultragarsinio ištyrimo papildymas uAlb, šlapimo Cr, uNGAL, uβ2-M žymenų nustatymu išplečia obstrukcinės uropatijos diagnostikos galimybes ir padeda prognozuoti galimus pokyčius, kurie aptinkami atliekant inkstų dinaminę scintigrafiją.
4. Su randėjimu susijusių genų raiška šlapimtakio striktūros audinyje padeda patvirtinti įgimtą obstrukcijos kilmę ir gali būti vertingas įrankis, padedantis suprasti įgimtos obstrukcijos patogenezę.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. Įgimtos obstrukcinės uropatijos

2.1.1. Hidronefrozės epidemiologija

Anksčiausiai įtarti OU galima atlikus vaisiaus echoskopiją nėštumo metu, kai yra nustatomas šlapimo takų išsiplėtimas, tačiau vaisiaus hidronefrozė po gimimo išlieka tik mažai daliai pacientų. Šio radinio dažnis svyruoja tarp 0,5–1 % visų nėštumų (29). Tai gali būti nustatoma nuo 12–14 nėštumo savaitės (30). Jei hidronefrozė diagnozuota antro trimestro metu, ji po gimimo išlieka tik mažiau nei penktadaliui pacientų, o trečio trimestro metu – mažiau nei pusei pacientų; intervencijos dėl esamos obstrukcijos prireikia tik 2 % visų antrame nėštumo trimestre diagnozuotų šlapimo takų išsiplėtimo atvejų ir 14 % visų po gimimo išliekančių šlapimo takų išsiplėtimų (31). Bendrai po gimimo išliekančios nėštumo metu diagnozuotos hidronefrozės dažnis yra apie 25 % (32). Vienoje didelėje epidemiologinėje studijoje, kurioje buvo tiriamas nėštumo metu nustatytos hidronefrozės dažnis, buvo nustatyta, kad per trejus metus trukusį tyrimą atlikus 32 443 pacienčių UG nėštumo metu buvo fiksuoti 269 (0,83 %) vaisiaus hidronefrozės atvejai, kai antro nėštumo trimestro metu slenkstinė APD vertė diagnozuoti hidronefrozę buvo 4 mm, o trečio trimestro metu – 7 mm. Berniukų ir mergaičių santykis buvo 3,3:1 (dažniau pasitaiko berniukams). Įgimtų šlapimo organų anomalijų skaičius buvo 94/32,443 (0,3 %) visų nėštumo atvejų, kai hidronefrozė dėl įvairių priežasčių išliko po gimimo. Visi nėštumo metu nustatytos hidronefrozės atvejai buvo stebėti 6 mėnesius po gimimo, iš jų 26 % reikėjo chirurginės intervencijos (dėl PUJO – 42, užpakalinių šlaplės vožtuvų – 22, ureterocelės – 1) (33).

2.1.2. Supravezikinės obstrukcijos epidemiologija

Įgimtos hidronefrozės dažnis dėl PUJO yra maždaug 1 iš 2 000 gimusių vaikų. Berniukų ir mergaičių santykis 2–3:1. PUJO dažniau diagnozuojama kairėje pusėje, o abipusė PUJO pasitaiko apie 20–39 % visų hidronefrozės atvejų. Esant PUJO papildomos urologinės anomalijos tikimybė yra apie 50 %. Su PUJO susijęs vezikoureterinis refluksas (VUR) toje pačioje pusėje nustatomas nuo 7,3 % iki 11,3 %. Pacientai, kuriems diagnozuotas didelio laipsnio VUR, patiria daug didesnę PUJO išsivystymo riziką nei kad pacientai, kuriems diagnozuotas mažo laipsnio VUR (15).

Pirminis įgimtas šlapimtakio išsiplėtimas be VUR – tai kitas supravežikinės (esančios virš šlapimo pūslės) obstrukcijos variantas. Įgimtas šlapimtakio išsiplėtimas arba ureterohidronefrozė – inksto kolektorikos ir šlapimtakio išsiplėtimas dėl vezikoureterinės jungties obstrukcijos (VUJO) arba dėl šlapimtakio funkcijos sutrikimo.

Pirminis įgimtas šlapimtakio išsiplėtimas be VUR yra dažnas hidronefrozės variantas. Jis nustatomas 5–23 % visų naujagimių, kuriems nėštumo metu diagnozuotas šlapimo takų išsiplėtimas (34, 35). Pirminis įgimtas šlapimtakio išsiplėtimas be VUR yra keturis kartus dažnesnis berniukams nei mergaitėms. Kairysis šlapimtakis būna 1,6–4,5 karto dažniau išsiplėtęs nei dešinysis ir apie 25 % atvejų būna abipusė ureterohidronefrozė. Priešingas inkstas būna neišsivystęs arba jo nebūna 10–15 % pacientų (36).

2.2. Šlapimtakių ir inkstų kolektorikos formavimosi embriologija

Inkstai, šlapimtakiai ir mezonefriniai (Volfo) latakai formuojasi iš tarpinės mezodermos. Ankstyvu šlapimo organų vystymosi laikotarpiu Volfo latakai atsiveria į kloaką – iš endodermos susiformavusią ertmę, kuri yra sudaryta iš dviejų dalių – užpakalinės žarnos (tiesiosios žarnos pirmtako) ir urogenitalinio ančio (šlapimo pūslės ir šlaplės pirmtako). Viršutinė šlapimo takų dalis – šlapimtakiai ir inkstų kolektorika – formuojasi iš šlapimtakio pūslytės, kuri yra epitelinė struktūra, atsirandanti uodeginėje Volfo latakų dalyje tarp 10–12 embriono vystymosi savaitės pelės organizme. Tolimasis šlapimtakio pūslytės galas susijungia su metanefrine mezenchima ir taip pradeda formotis inksto kolektorika, o iš artimojo šlapimtakio pūslytės galo pradeda formotis pats šlapimtakis. Iš pradžių šlapimtakiai susijungia su urogenitaliniu ančiu netiesiogiai – per bendrąjį inkstų lataką. (37). Inkstų latakų susijungimas su kloaka yra svarbus šlapimo takų vystymosi etapas. (38) Vėliau, toliau vystantis, šlapimtakis atsijungia nuo bendrojo inkstų latakų, kurio ląstelės apoptuoja ir tokiu būdu šlapimtakiai susijungia su šlapimo pūslės epiteliu tiesiogiai ir atsiranda šlapimtakių angos. Klasikinė Mackie'io ir Stephenso teorija teigia, kad šlapimtakio ir šlapimo pūslės susijungimo vieta priklauso nuo to, kokiam Volfo latakų aukštyje pradeda formotis šlapimtakio pūslytė. Kuo aukščiau pradeda formotis šlapimtakio pūslytė, tuo labiau tikėtinas šlapimtakio ir šlapimo pūslės susijungimas užpakalinėje jos dalyje, taip pat atsiranda didelė tikimybė, kad šlapimtakio ir šlapimo pūslės susijungimo vietoje susiformuos striktūra arba šlapimtakiai atsivers į lytinius latakus. Kuo žemesnėje Volfo latakų dalyje pradeda formotis šlapimtakio pūslytė,

tuo tikėtinesnis šoninis-priekinis susijungimas su šlapimo pūsle. Tai gali lemti VUR (39). Tyrimai su pelėmis atskleidė, kad šlapimtakių vystymosi procese dalyvauja įvairūs genai, kurie lemia šlapimtakio spindžio atsiradimą arba obstrukciją. Vienas iš šių eksperimentų su pelėmis parodė, kad šlapimtakio spindžio atsiradimui svarbi apoptozė, nes šlapimtakio ir šlapimo pūslės susijungimo momentu šlapimtakis neturi spindžio, tačiau 15-ą embriono vystymosi savaitę įvyksta ryški šlapimtakio distalinės dalies ląstelių apoptozė ir tai lemia tuščiavidurio raumeninio vamzdelio susiformavimą, kuris tampa struktūra, tinkama šlapimui nutekėti į šlapimo pūslę (37).

Embriogenezės metu Shh ir kaulų morfogeninis baltymas (BMP) palaiko aplink kloaką esančių mezenchiminių ląstelių populiaciją ir dalyvauja viršutinių šlapimo takų (šlapimtakių ir inkstų kolektorikos) vytymosi mechanizmuose (40). Svarbus vaidmuo vystantis šlapimo takams tenka angiotenzino pirmo ir antro tipo receptoriams (AT1R ir ATR2), taip pat epiderminio augimo faktoriaus receptoriui (EGFR). Koordinuotas EGFR ir AT1R signalas būtinas šlapimo takų vystymuisi, nes minėti receptoriai ir jų ligandai veikia šlapimtakio pūslytės vystymąsi (41).

Šlapimo takų vystymosi procesuose taip pat svarbūs *homeobox* genai. Tai – grupė genų, kurie atsakinga už embriono vystymąsi. Jų pagrindinė funkcija – ląstelių padėties ir jų išsidėstymo krypties keitimas, kas padeda organams įgyti tik jiems būdingą formą. Vienas iš tokių genų yra *Lim1*, kuris reguliuoja inkstų latako ilgėjimą, jo diferenciaciją ir šlapimtakio pūslytės pumpuravimąsi (42).

2.3. Įgimtos hidronefrozės etiologija ir patogenezė

2.3.1. Laboratorinių gyvūnų tyrimai

Viena iš vystymosi teorijų teigia, kad viena iš vietų, kuri siunčia apoptozės signalus, yra šlapimo pūslės epitelis ir tos struktūros, kurios yra arčiau šlapimo pūslės epitelio, reaguoja į tuos signalus geriau. Tai gali paaiškinti Mackie'io ir Stephenso teoriją, kuri teigia, kad šlapimtakis, kuris pradeda formotis iš aukštesnės Volfo latako dalies, atsiduria toliau nuo šlapimo pūslės epitelio, dėl to susijungęs su šlapimo pūsle atsiveria netinkamoje vietoje ir dažnai toje vietoje būna šlapimtakio spindžio susiaurėjimas (37). Galvodami apie PUJO keletas autorių teigė, kad ši anomalija gali būti paaiškinta obliteracijos-rekanalizacijos teorija, tačiau šiuo metu, kai atsirado daugiau duomenų tiriant molekulinis mechanizmus gyvūnų modeliuose, ši teorija nebe tokia populiari (43).

Atsižvelgdami į literatūros duomenis galime išskirti keletą hidronefrozės patogenezės mechanizmų. Vienas arba keletas jų, veikiančių vienu metu, gali lemti inkstų kolektorikos išsiplėtimą, tai – šlapimtakio spindžio susiaurėjimas, neperistaltuojatis šlapimtakio segmentas, pirminis inkstų kolektorikos išsiplėtimas be šlapimtakio obstrukcijos ir padidėjęs pagaminamo šlapimo kiekis per laiko vienetą. Visos šios priežastys gali lemti hidronefrozę. Tačiau nedaug buvo pasiekta stengiantis iš esmės suprasti įgimtos hidronefrozės etiologiją daugiausia dėl eksperimentinių gyvūnų modelių trūkumo. Ar keli hidronefrozės išsivystymo mechanizmai gali būti nepriklausomi vienas nuo kito, ar vienas jų gali lemti kito atsiradimą, nėra iki galo aišku.

Tyrimai su laboratoriniais gyvūnais atskleidė, kad kai kurių genų išjungimas lėmė ganėtinai tikroviškų hidronefrozės modelių sukūrimą ir visi pirmiau išvardyti hidronefrozės mechanizmai buvo sėkmingai imituoti.

Centrinio egzocistos komponento (*SEC10*) geno išjungimas lėmė abipusę hidronefrozę pelės embrione. Urogenitalinio ančio pirmtakinės ląstelės nesidiferencijavo ir nepradėjo gaminti uroplakinų, šis procesas lėmė padidėjusį urotelio pralaidumą, o tai savo ruožtu $TGF\beta 1$ ir miofibroblastų aktyvumą ir šlapimtakio stromos persitvarkymą (44, 45). Klaudino 4 (*CLDN4*) geno išjungimas lėmė urotelio hiperplaziją, šlapimo takų spindžio išnykimą ir šlapimo takų obstrukciją. *CLDN4* atlieka svarbų vaidmenį palaikant normalaus urotelio homeostatinį integralumą (46). Wnt (ląstelinio signalo perdavimo kelio) signalai iš urotelio skatina šlapimtakio mezenchimos ląsteles išsidėstyti statmenai šlapimtakio spindžiui, taip pat šis ląstelinis signalas stabdo šlapimtakio adventicijos fibroblastų diferenciaciją ir skatina lygiųjų raumenų ląstelių pirmtakų vystymąsi arčiausiai urotelio esančiame mezenchiminių ląstelių sluoksnyje (47). Kitame eksperimentiniame modelyje pademonstruota, kad *SOX9* (didelio judrumo grupės domeno transkripcijos faktoriaus) išjungimas lėmė proksimalinės šlapimtakio dalies išsiplėtimą dėl funkcinės obstrukcijos. *SOX9* funkcijos netekimas sutrikdė ląstelių diferenciaciją į lygiųjų raumenų ląsteles. *SIX1* ir *SOX9* genetiškai sąveikauja su T-box transkripcijos faktoriumi 18 (*TBX18*) vystantis šlapimtakiai. *SIX1* ir *TBX18* genų produktai suformuoja kompleksą ląstelių kultūroje ir besivystančiame šlapimtakyje. Tokiu būdu šie faktoriai sinergiškai veikia lygiųjų raumenų vystymąsi ir normalią šlapimtakio funkciją (48).

SMAD4 (ląstelinių signalų perdavime dalyvaujantis baltymas, kurio veikimas moduluojamas *BMP4* ir *TGF\beta* signalų) išjungimas lėmė šlapimtakio mezenchimos normalios struktūros praradimą ir šlapimtakio striktūrą. Tai įrodo besivystančio šlapimtakio mezenchimos svarbą palaikant

normalią šlapimtakio audinio struktūrą. *BMP4* užslopinimas taip pat sustabdė lygiųjų šlapimtakio raumenų vystymąsi, o tai yra dažnas šlapimtakio striktūros požymis. Taip pat pastebėtas kitų veiksnių, tokių kaip fosforilinto *SMAD1*, 5 ir 8, kurie formuoja kompleksą su *SMAD4* šlapimtakio mezenchimoje, reguliuojamų *BMP4*, raiškos sumažėjimas. Susiformavęs kompleksas yra perkeliamas į ląstelės branduolį ir tokiu būdu jis reguliuoja įvairių genų transkripciją. *BMP4* kuria signalą, kuris sujungia ląstelių proliferacijos ir diferenciacijos programas besivystančio šlapimtakio epiteliname ir mezenchimos audinyje aktyvuodamas *AKT* (proteinkinazės B) ir *SMAD* grupės genų raišką (49–51).

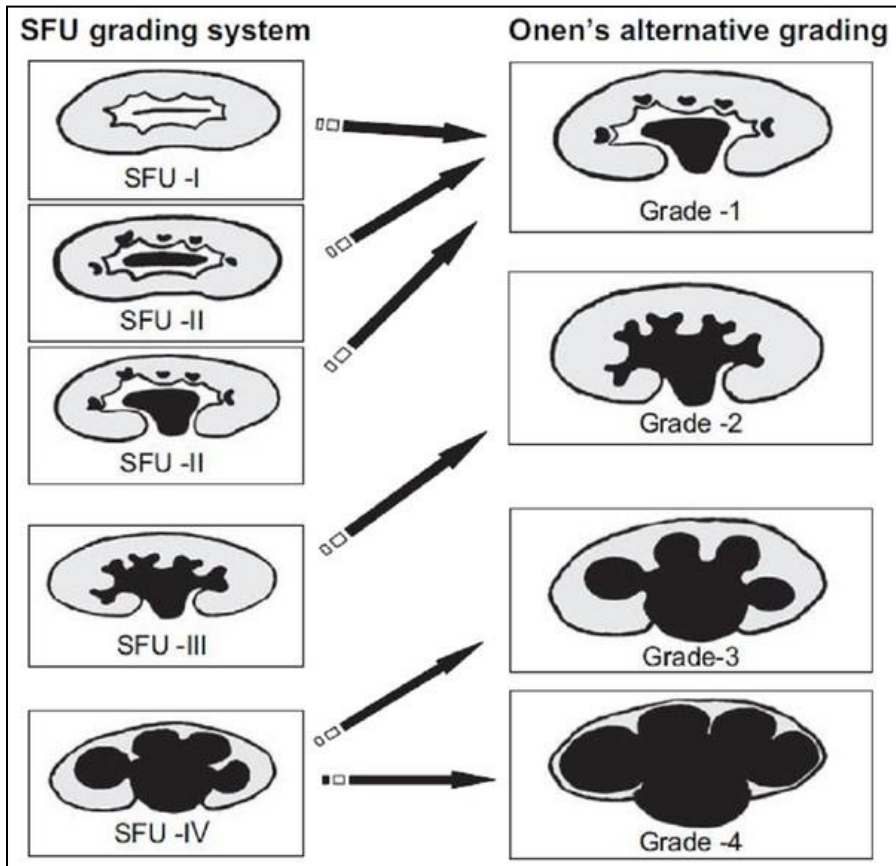
Nustatyta, kad neraumeninis miozinas II yra esminis veiksnys, palaikantis besivystančių inkstų urotelinių ląstelių integralumą. *MYH9/MYH10* delecija pelių jaunikliams lėmė sunkios formos įgimtą ureterohidronefrozę dėl netinkamo šlapimtakio ir šlapimo pūslės susijungimo, nes miozinas II lemia nuo kadherino priklausomą tarpląstelinį susijungimą ir nuo integrino priklausomą susijungimą su bazine membrana (38). Kai kurie tyrimai su gyvūnais parodė, kad taip pat galimas pirminis inkstų išsiplėtimas nesant obstrukcijos. *Keap1* baltymo praradimas sukėlė į hidronefrozę panašų pirminį inkstų pažeidimą, nesant šlapimtakio obstrukcijos, šiuo pagrindu galėtų būti suformuluota ir alternatyvi inkstų pažeidimo hipotezė esant hidronefrozei, kai inksto pažeidimas atsiranda ne kaip antrinis reiškinys dėl šlapimo nutekėjimo sutrikimo, o kaip pirminis inksto vystymosi sutrikimas dėl tam tikrų genų raiškos pokyčių (52). Remiantis kitu genetiškai modifikuotos pelės modeliu *TSHZ3*, yra dar vienas šlapimtakio vystymosi veiksnys, kuris taip pat reguliuojamas *SHH* ir *BMP4*, jis dalyvauja proksimalinės šlapimtakio dalies lygiųjų raumenų vystymosi procese. Kai *SHH* ir *BMP4* genai buvo nepažeisti ir veikė normaliai, o *TSHZ3* išjungtas, miokardinas (baltymas, atsakingas už ląstelių kontraktumą reguliuojančių baltymų sintezę) nebuvo ekspresuojamas homozigotinių pelių organizme ir tai lėmė neobstrukcinę hidronefrozę (53). *SMAD4* praradimas reikšmingai sumažino tokių baltymų kaip *Sox9*, *Tbx18* ir miokardino, kurie susiję su lygiųjų raumenų ląstelių diferenciacija, raišką. Esant *SMAD4* raiškos trūkimui, lygiųjų raumenų alfa aktinas ir lygiųjų raumenų miozino sunkioji grandinė nebuvo aptikta šių homozigotinių pelių šlapimtakuose. Taip pat buvo padidėjusi mezenchimos ląstelių apoptozė ir sumažėjusi mezenchimos ląstelių proliferacija (54). Audiniams specifiško *Smo* (transmembraninio ląstelių baltymo, kuris yra vienas esminių „*hedgehog*“ signalo grandžių) išjungimas inkstų geldelės ir viršutinės šlapimtakio dalies mezenchimoje lėmė neobstrukcinę ureterohidronefrozę, kuri pasižymėjo šlapimtakio nejudrumu, sumažėjusiu „*Cajal*“ ląstelių

kiekiu, tačiau epitelinių ir lygiųjų raumenų ląstelių diferenciacija buvo normali (55). Inkstų nepakankamumas taip pat gali atsirasti ir dėl padidėjusios diurezės per laiko vienetą, šlapalo transporterio B praradimas pelėms lėmė didesnę diurezę ir sumažėjusį inkstų gebėjimą koncentruoti šlapimą (56). Dar vienas genas, kurio iškirpimas lėmė hidronefrozės nesant obstrukcijos išsivystymą, buvo akvaporino genas, jo išjungimas taip pat lėmė didesnę diurezę ir hidronefrozę (57).

2.4. Hidronefrozės diagnostika

Atliekant UG nėštumo metu ir nustatčius vaisiaus hidronefrozę, visada reikia pagalvoti apie įgimtą šlapimo takų anomaliją (58). Nėštumo metu diagnozavus hidronefrozę, pirmas tyrimas, kuris turėtų būti atliktas po gimimo, yra inkstų, šlapimtakių ir šlapimo pūslės UG. Tai neinvazinis tyrimas, kuris suteikia pakankamai svarbios informacijos apie inkstų struktūrą, dydį, parenchimą, kolektoriką, šlapimtakius ir šlapimo pūslę. Keletas hidronefrozės laipsniavimo sistemų buvo pasiūlytos vertinti hidronefrozės sunkumą ir nustatyti didelės rizikos atvejus, kai bus reikalingas detalesnis ištyrimas ir galbūt gydymas. Vienos hidronefrozės vertinimo sistemos yra apibūdinamosios, kitos – kiekybinės (dažniausiai matojamas parametras – geldelės APD) (59, 60) ar pusiau kiekybinės (kaip pavyzdys gali būti alternatyvi Onen laipsniavimo sistema, kur vertinamas kolektorikos išsiplėtimo faktas, tačiau jis nematuojamas jokiais matavimo vienetais, bet matuojamas parenchimos storis (61, 62). Pasiūlyti APD slenkstiniai įverčiai kliniškai reikšmingai hidronefrozei nustatyti, priklausomai nuo nėštumo trimestro, kada atliekamas vertinimas (63–65). 1978 m. Ellenbogen ir kt. pasiūlė apibūdinamąją laipsniavimo sistemą, kai vertinamas inkstų geldelės ir taurelių išsiplėtimas ir inkstų parenchimos storis. Tuo pagrindu hidronefrozę skirstoma į lengvą, vidutinę ir sunkią (60). 1993 m. Fernbach ir kt. aprašė šiuo metu labai populiarią ir plačiai naudojamą pusiau kiekybinę SFU laipsniavimo sistemą, kuri remiasi UG nustatyto inkstų kolektorinės sistemos išsiplėtimo vertinimu ir parenchimos būklės vertinimu. Ši sistema skirstoma į penkis laipsnius: 0 – nėra hidronefrozės; I – UG matoma prasiplėtusi tik inksto geldelė, II – prasiplėtusi inksto geldelė ir viena taurelė ar taurelių grupė; III – prasiplėtusi inksto geldelė ir visos taurelės; IV – atitinka III laipsnio aprašymą ir yra suplonėjusi inksto parenchima. Taip pat remiantis SFU laipsniavimu gali būti išskiriama mažo laipsnio (I–II) ir didelio laipsnio (III–IV) hidronefrožė (66). Dar viena panaši į SFU hidronefrozės vertinimo sistema buvo aprašyta Onen ir kt. kaip alternatyvi hidronefrozės laipsniavimo sistema (AGS), jos

pirmas variantas buvo pateiktas 2007 m. ir atnaujintas 2016 m. (61, 67). Šioje sistemoje SFU I ir II laipsniai tampa AGS I laipsniu, SFU III laipsnis tampa AGS II laipsniu, SFU IV – arba AGS III, arba AGS IV, tai priklauso nuo parenchimos storio (1 pav.) (61).



1 pav. SFU ir alternatyvios Onen (AGS) sistemų palyginimas. DOI: 10.7717/peerj.4791/fig-1

Atnaujintame AGS variante labiau atsižvelgiama į struktūrinius inkstų pokyčius:

- AGS I – tik geldelės išsiplėtimas.
- AGS II – geldelės ir taurelių išsiplėtimas. Inksto parenchima normali (> 7 mm).
- AGS III – geldelės ir taurelių išsiplėtimas, inksto šerdies suplonėjimas, žievė normali. Kortikomeduliarinė diferenciacija išlieka. Parenchimos storis pagal nėštumo trimestrą: 2-ame – 2–5 mm, 3-iaame – 2,5–6 mm, po gimimo – 3–7 mm.

- AGS IV – geldelės ir taurelių išsiplėtimas. Nėra kortikomeduliarinės diferenciacijos. Parenchimos storis pagal trimestrą (2-ame – < 2 mm, 3-iaame – < 2,5 mm, po gimimo – < 3 mm). Tarpai tarp taurelių yra siauri ir ploni.

Chirurginės intervencijos rizika pagal AGS laipsnį: AGS I – 1 %, AGS II – 10 %, AGS III – 30 %, AGS IV – 99 % (67).

Aprašomos ir kompleksiškesnės hidronefrozės laipsniavimo sistemos, kai naudojama daugiau UG rodiklių. Viena jų – UTD sistema, kuri buvo priimta 2014 m. kovo 14–15 d. vykusiame susitikime dėl naujo perinatalinės hidronefrozės klasifikacijos patvirtinimo (*Linthicum, Maryland, JAV*). Šio susitikimo metu buvo akcentuota, kad siekiama sukurti unikalią sistemą, kuri tiktų tiek vaisiaus, tiek naujagimio hidronefrozės vertinimui. UTD laipsniavimo sistema grindžiama 6 UG požymių kategorijomis, kurios yra:

1) APD ≥ 7 mm 16–27 gestacijos savaitę ir ≥ 10 mm ≥ 28 gestacijos savaitę (labiausiai tikėtinas obstrukcijos požymis tiriant vaisių), taip pat inkstų išsiplėtimas laikomas mažo laipsnio, kai APD 4–6 mm 16–27 gestacijos savaitę ir 7–9 mm ≥ 28 gestacijos savaitę (tai taip pat gali būti obstrukcijos požymis, tačiau įtarimas dėl obstrukcijos turėtų kilti tik esant ir kitiems obstrukcijos požymiams):

- 2) taurelių išsiplėtimas;
- 3) inkstų parenchimos storis;
- 4) inkstų parenchimos būklė;
- 5) šlapimo pūslės anomalijos;
- 6) šlapimtakių anomalijos.

Klasifikuojant hidronefrozę pagal šią sistemą taip pat atsižvelgiama į gestacinį amžių (ar vertinimas atliekamas prieš 28-ą nėštumo savaitę, ar po 28-os) ir ar hidronefrozė nustatyta vaisiui, ar naujagimiui, taip pat koks vaisiaus vandens kiekis, vaisiaus lytis. Pagal UTD hidronefrozė klasifikuojama į P0(norma)/P1–geldelės išsiplėtimas/P2–geldelės ir taurelių išsiplėtimas/P3–parenchimos suplonėjimas (63, 68).

Tačiau UTD ir AGS sistemas naudoti kasdienėje praktikoje sunkiau, reikia daugiau patirties.

Visi pacientai, kuriems yra vaisiaus hidronefrozė, turi būti įvertinti UG po gimimo. Poros tyrimų, kuriuose buvo analizuojami ilgalaikio hidronefrozės stebėjimo rezultatai, parodė, kad tolesnis stebėjimas ir ištyrimas neindikotini tuo atveju, kai naujagimį tiriant ultragarsu, geldelės APD yra ne daugiau kaip 7 mm (69). O kai geldelės APD buvo mažiau kaip 20 mm, savaiminis pagerėjimas įvyko 71 % atvejų (70). Pastaruoju metu manoma, kad, kai SFU 1–2 ar naujagimiui nustatčius APD < 20 mm, tai yra

mažos rizikos hidronefrozė. Kai SFU 3 arba hidronefrozė abipusė, arba po gimimo APD 20–30 mm, tokia hidronefrozė įvardijama kaip turinti vidutinę riziką progresuoti. Esant SFU 4 arba naujagimiui nustačius APD > 30 mm, yra didelė hidronefrozės progresavimo rizika (71).

Jei vaisiui buvo diagnozuota hidronefrozė, po gimimo turėtų būti atlikti bent du vertinimai, pirmąjį UG rekomenduojama atlikti ne anksčiau kaip 5-ą gyvenimo dieną, o antras echoskopinis tyrimas rekomenduojamas 4–6 savaičių amžiuje. Aksu ir kt. teigia, kad 45 % vaikų, kuriems nenustatoma hidronefrozė pirmojo UG metu, ji nustatoma vėliau (72).

Jei yra įtariama vaisiaus infravezikinė obstrukcija (abipusė ureterohidronefrozė, matoma storasienė didelė šlapimo pūslė, naujagimio lytis vyriškoji), tuoj pat po gimimo turėtų būti atlikta šlapimo organų echoskopija, taip pat išliekant tokiems patiems pokyčiams po gimimo vertinant UG turėtų kilti įtarimas dėl infravezikinės obstrukcijos. Tokiu atveju turėtų būti siekama kuo anksčiau drenuoti šlapimo pūslę. UŠV patvirtinami atliekant cistogramas ir cistoskopiją (10).

2.4.1. Pieloureterinės jungties obstrukcijos diagnostika ir gydymo taktikos pasirinkimas

PUJO tipišškai pasireiškia didelio laipsnio hidronefroze, kuri nustatoma atlikus UG po gimimo ir tik retkarčiais aptinkama turintiems lengvą ir vidutinį hidronefrozės laipsnį. Taigi daugeliu atvejų po gimimo nustatytos hidronefrozės laipsnis gali padėti nustatyti, ar yra obstrukcija, ar ne (10, 73). Buvo nustatyta, kad geldelės APD matavimas ir priešoperacinė DIF atliekant inkstų scintigrafiją suleidus diuretikų yra vieninteliai du nepriklausomi chirurginio gydymo pasirinkimą galintys prognozuoti diagnostiniai parametrai. Inkstų scintigrafija su Tc-99m MAG3 yra dažniausiai naudojama scintigrafijos modifikacija siekiant nustatyti šlapimo takų obstrukciją kūdikiams nuo 6–8 gyvenimo savaitės. Šis vaizdinis tyrimas leidžia atskirti obstrukcinių priežasčių sukeltą hidronefrozę nuo neobstrukcinių priežasčių sukeltos hidronefrozės ir įvertinti DIF (10). Nors paprastai kliniškai reikšminga šlapimtaki obstrukcija gydoma chirurginiu būdu, tačiau tyrimai parodė, kad dalis obstrukcijų praeina savaime (73). Kuris obstrukcijos atvejis praeis savaime, o kuriuo atveju anksčiau ar vėliau teks gydyti chirurgiškai, dažniausiai lieka neaišku (74). Tačiau sutariama, kad kai DIF < 40 % arba stebėjimo laikotarpiu DIF sumažėja daugiau kaip 10 %, tai rodo kliniškai reikšmingą obstrukciją, dėl kurios trinka inksto funkcija ir reikalingas chirurginis gydymas (10, 75).

Kita vertus, kodėl obstrukcinė radionuklido pasišalinimo kreivė scintigrafijoje ir sumažėjusi DIF pasirinktos neabejotinomis indikacijomis operacijai, trūksta. Literatūroje stokojama duomenų, kurie leistų palyginti inkstų funkcijos blogėjimo tendencijas, kai esant hidronefrozei inksto funkcija jau buvo sutrikusi, ir vertinimo pradžioje, kai inksto funkcija buvo normali (76, 77).

Nustačius PUJO vieni autoriai siūlo pieloureteroplastiką atlikti nedelsiant ir kuo anksčiau, o kiti – neskubėti (74, 78). Pagindindinė to priežastis – tai, kad trūksta palyginamųjų prospektyvinių studijų šiuo klausimu (79, 80). Tačiau keletu studijų buvo nustatyta, kad delsiant ir neoperuojant tais atvejais, kai yra kliniškai reikšminga PUJO, yra labiau tikėtinas negrįžtamas inksto funkcijos praradimas, nei tais atvejais, kai operacija atliekama anksčiau (81, 82). Keliuose tyrimuose buvo nustatytas teigiamas ankstyvos chirurginės intervencijos efektas, palyginti su stebėjimu, kai echoskopiskai buvo diagnozuota didelio laipsnio hidronefrozė (SFU 3–4 ir DIF buvo > 40 %). Sulaukus 6 mėnesių amžiaus inksto žievės storis, inksto ilgis ir SFU laipsnis buvo statistiškai reikšmingai mažesni, palyginti su grupe, kuri buvo stebima neatliekant chirurginės intervencijos, taip pat ilgiau stebimiems pacientams DIF sumažėjo reikšmingiau nei tais atvejais, kai operacija buvo atlikta anksčiau, išeitys vertintos pacientui sulaukus 12 mėnesių (83). Dar vieno tyrimo rezultatai parodė, kad kai pieloureteroplastika buvo atliekama iki 3 mėnesių amžiaus, būdavo didesnis DIF pagerėjimas, palyginti su ta grupe, kai operacija būdavo atliekama 3–12 mėnesių amžiaus vaikams (84). Inksto funkcija po chirurginio gydymo Kumar ir kt. tyrime pagerėjo tik daliai pacientų. Autoriai aprašė, kad > 5 % DIF pagerėjimas, kai pradinė DIF prieš operaciją buvo < 40 %, buvo 41–46 % atvejų ir inkstų funkcijos pagerėjimas išliko daugiau nei penkerius metus po operacijos (8). Kitoje studijoje nustatyta, kad atlikus pieloureteroplastiką DIF reikšmingai pagerėjo 75 % pacientų, tačiau tik anksti atliekant scintigrafiją (7–9 savaitės po operacijos) (18).

Šiems tyrimams paantrina Babu ir kt., nes jų rezultatai parodė, kad inkstų funkcijos praradimas įvyko 80 % atvejų stebint vaikus, vyresnius negu metų amžiaus, kuriems buvo didelio laipsnio hidronefrozė, o kai buvo atlikta ankstyva intervencija, esant vidutiniam 2,8 mėnesių amžiui, rezultatai buvo geresni (85). Nepaisant nusiteikimo stebėti didelio laipsnio hidronefrozę, kai yra obstrukcijos požymių scintigrafijoje, tačiau nėra DIF sumažėjimo, tai gali nepavykti apie 50 % atvejų, kai yra hidronefrozė, vertinama kaip UTD 3, ir 33 % atvejų, kai hidronefrozė vertinama kaip SFU 4, šiame tyrime dalyvavusių pacientų stebėjimo mediana buvo 14 metų (73). Kim ir kt. teigia, kad geresnis inksto parenchimos augimas būna, kai

pieloureteroplastika atliekama iki metų amžiaus, negu kad kai operacija atliekama vėliau (86). Dar vieno tyrimo rezultatai atskleidė, kad bendrai imant visiems operuotiems dėl PUJO buvo diferencinės inkstų funkcijos pagerėjimas po operacijos, tačiau šiame tyrime nebuvo išskirtos amžiaus grupės (87).

Tačiau taip pat yra studijų, kuriose nebuvo nustatyta ankstyvos operacijos pranašumų, kaip kad neseniai atliktame tyrime nerasta statistiškai reikšmingo DIF skirtumo tarp operuotų anksti, iki 3 mėnesių amžiaus, ir operuotųjų 3–12 mėnesių grupėje, kai pieloureteroplastika buvo atliekama minimaliai invaziniu būdu (88). Kalbant apie atokius rezultatus, kai pacientai po operacijos buvo stebimi ilgiau kaip septynerius metus, kai kam buvo nustatytas tolesnis DIF kritimas nepaisant ankstyvo gero pooperacinio rezultato, tačiau į tyrimą įtraukti skirtingo amžiaus vaikai, kuriems buvo atlikta pieloureteroplastika (amžius operacijos metu buvo nuo 1 iki 41 mėnesio ir stebėjimo trukmė po operacijos taip pat svyravo plačiose ribose nuo 15 iki 181 mėnesių) (89). Duong ir kt. pateikia retrospektyvios studijos, kurios tikslas buvo nustatyti, kaip UG atspindi scintigrafijos radinius duomenis. Nustatyta, kad $APD < 30$ mm ir taurelių išsiplėtimas < 10 mm ir normalus parenchimos storis buvo susiję su maža inkstų funkcijos blogėjimo tikimybe arba obstrukcija. Dėl to buvo rekomenduota, kad scintigrafija turėtų būti atlikta tik tuo atveju, jei $APD > 30$ mm, taurelių skersmuo > 10 mm ir (ar) yra parenchimos suplonėjimas (90). Tie pacientai, kuriuos nutariama stebėti konservatyviai, turėtų būti reguliariai stebimi atliekant UG. Pakartotinai scintigrafija turėtų būti atliekama tik tuo atveju, jei atsiranda simptomų arba jei UG matomi didėjančios hidronefrozės požymiai ir (arba) plonėja inksto parenchima. Abadir ir kt. savo straipsnyje diskutuoja, kaip galima būtų optimizuoti stebėjimo trukmę ir pakartotinių vizitų skaičių. Stebint pacientą, kuriam yra įgimta hidronefrozė, galima trumpinti stebėjimą iki 3 metų amžiaus, paskui ilgalaikis stebėjimas neindikotinas, jei hidronefrozė neprogresuoja, taip pat pateikiama nuomonė, kad galima sumažinti tyrimų skaičių iki 3 UG ir 1 funkcinio tyrimo per minėtą stebėjimo laikotarpį. Atrankos kriterijus, pagal kurį buvo nutarta, ar atlikti inkstų funkcinę scintigrafiją, buvo $APD \geq 15$ mm (91).

2.4.2. Vezikoureterinės jungties obstrukcijos diagnostika ir gydymo taktikos pasirinkimas

Jei vaisiui buvo diagnozuota ureterohidrinefrozė, BAPU konsensusas teigia, kad pirmas postnatalinis tyrimas turėtų būti UG. Berniukai, kuriems buvo nustatyta abipusė ureterohidronefrozė, turėtų būti tiriami ultragarsu

anksčiau, mikcinė cisturograma turėtų būti atliekama siekiant atmesti infravezikinę obstrukciją. Mikcinė cisturograma taip pat turėtų būti atliekama berniukams, kuriems yra vienpusė ureterohidronefrozė, nes apie 14 % užpakalinių šlaplės vožtuvų atvejų bus susiję su vienušiu išsiplėtimu (92). Kai atlikus mikcinę cisturogramą nenustatoma nei infravezikinė obstrukcija, nei VUR, rekomenduojama atlikti scintigrafiją su Tc-99m MAG3 ir diuretikų, siekiant nustatyti, ar nėra VUJO. Taip pat, kalbant apie tikslesnes indikacijas, reikėtų atlikti scintigrafiją esant ureterohidronefrozei be VUR ir VUJO. BAPU konsensusas teigia, kad esant izoliuotam šlapimtakio išsiplėtimui scintigrafija tikslinga tik kai šlapimtakio skersmuo > 10 mm (93). Esant ureterohidronefrozei renograma turėtų būti vertinama kritiškai, nes radionuklido pasišalinimas gali būti lėtesnis iš šlapimtakio ne dėl VUJO, bet ir dėl išsiplėtusio šlapimtakio ir jo galimybės sukaupti daugiau kontrasto spindyje, gulimos padėties tyrimo metu arba pilnos šlapimo pūslės, dėl to pati renograma atskirai neturėtų būti vertinama neatsižvelgiant į DIF ir inksto kolektorikos išsiplėtimą, kai DIF normos ribos yra 45–55 % (94). DIF turėtų būti atsargiai interpretuojama, kai yra galbūt abipusis inkstų pažeidimas, nes esant vienodai pažeistiems inkstams gali būti normali DIF. Vertinant pacientą, kuriam diagnozuota ureterohidronefrozė, išvados apie galimą obstrukciją turėtų būti padarytos remiantis ligos klinika ir radiologiniais tyrimais. Nesant simptomų, kai DRF < 40 %, ar DRF mažėjimas > 5 %, kartojant tyrimą arba didėjant inksto kolektorikos išsiplėtimui kartojant UG yra obstrukcijos požymiai. Obstrukcinė kreivė renogramoje, kai DIF sumažėjusi, neturėtų būti vertinama kaip obstrukcijos požymis (95).

Dar vienoje prospektyvinėje studijoje buvo ieškoma, kokie galimi prognostiniai chirurginės intervencijos veiksniai esant ureterohidronefrozei yra reikšmingi. Atlikus Kokso regresijos analizę, nustatyta, kad didelio laipsnio ureterohidronefrozė, pasikartojančios šlapimo takų infekcijos su karščiavimu ir šlapimtakio išsiplėtimas ≥ 14 mm, buvo reikšmingi veiksniai prognozuojant chirurginės intervencijos poreikį. O šlapimtakio išsiplėtimas < 11 mm buvo vienintelis nepriklausomas savaime mažėjančios ureterohidronefrozės prognostinis veiksnys (35).

2.4.3. Pooperacinių išeičių prognozavimas ir pooperacinis stebėjimas

Menon ir Sarhan su bendraautoriais, analizuodami pooperacinius rezultatus po pieloureteroplastikos, nustatė, kad kai inkstų diferencinė funkcija buvo < 20 %, po operacijos buvo statistiškai reikšmingas funkcijos pagerėjimas (96, 97). Vienoje studijoje rašoma, kad atlikus scintigrafiją 3–6

mėnesiai po pieloureteroplastikos ir gavus gerus rezultatus, galima išvengti tolesnio paciento stebėjimo, nes recidyvo rizika yra maža (98).

Remiantis literatūros duomenimis, pooperaciam stebėjimui ir operacijos rezultatų vertinimui pirmumas teikiamas neinvaziniams ir apšvitos neturintiems tyrimo metodams. Esant stabiliai ar sumažėjusiai hidronefrozei po pieloureteroplastikos tiriant ultragarsu beveik visiems tiriamiesiems buvo pagerėjusi arba stabili diferencinė funkcija, o jei hidronefroze didėjo, DIF sumažėjimas buvo 28,6 % atvejų, dėl to UG pukai tinka pooperaciam stebėjimui (99). Apie neinvazinio stebėjimo galimybę po pieloureteroplastikos, siekiant įvertinti operacijos efektą, rašoma straipsnyje, kuriame teigiama, kad tiriant hidronefrozę echoskopu ir nustačius, kad APD sumažėjo po operacijos > 38 %, galima teigti, kad tai rodo operacijos sėkmę su dideliu jautrumu ir specifiškumu (100). Vienoje studijoje svarbus operacijos nesėkmės rodiklis minimas kaip inksto parenchimos storio sumažėjimas, kuris gali suteikti panašiai reikšmingą informaciją apie blogėjančią inkstų funkciją po operacijos kaip ir scintigrafija (101). Taip pat yra duomenų, kaip kolektorikos ir parenchimos santykis atspindi pooperacinius rezultatus. Taurelės parenchimos santykio sumažėjimas po operacijos reikšmingai koreliuoja su pagerėjusiais scintigrafijos rodikliais (102). O pacientams, kuriems nustatyta didelė hidronefrozės ploto parenchimos santykio reikšmė prieš operaciją, labiau tikėtina, kad mažės diferencinė funkcija po operacijos. Retrospektyviai ištyrus 187 vaikus, kuriems buvo atlikta pieloureteroplastika, nustatyta, kad hidronefrozės ploto ir parenchimos ploto santykis buvo vienintelis blogos pooperacinės inkstų funkcijos prognozės veiksnys, kai bloga išėitis buvo apibrėžiama kaip diferencinės inkstų funkcijos sumažėjimas daugiau kaip 10 % (103). Kitame tyrime taip pat paantrinama pastarajam, kad inkstų kolektorikos ploto ir inkstų parenchimos ploto pasikeitimas po operacijos buvo geros išėities rodiklis (104). Taurelių ir parenchimos santykio sumažėjimas taip pat gali būti kaip gero operacijos rezultato rodiklis (105).

Dar viename tyrime aprašoma, kad spalvinio doplerio naudojimas tiriant šlapimo srovę šlapimtakiais gerai atspindi šlapimtakio praeinamumo atsikūrimą ir koreliuoja su scintigrafijos duomenimis ir gali būti naudojamas pooperacinio rezultato vertinimui (106).

Taip pat pastebėta, kad toks paprastas ir pigus tyrimas kaip šlapimo osmoliariškumas gali turėti naudos vertinant pooperacines išėitis po pieloureteroplastikos. Besinormalizuojantis šlapimo osmoliariškumas rodo gerėjančią inksto funkciją po operacijos (107).

2.5. Neinvaziniai ir minimaliai invaziniai diagnostikos metodai, taikomi supravezikinei obstrukcijai diagnozuoti, ir jos eigos prognozavimas

2.5.1. Echoskopinio tyrimo modifikacijos, taikomos pagerinti supravezikinės obstrukcijos diagnostiką

Literatūroje aprašomos įvairios ultragarsinio tyrimo modifikacijos, padedančios prognozuoti chirurginio gydymo poreikį. Viena iš jų yra inksto piramidžių aukščio matavimas, kuris poroje studijų buvo statistiškai reikšmingai mažesnis operuotų ligonių grupėje ir piramidžių aukštis ≤ 3 mm turėjo 98,1 % jautrumą ir 89,7 % specifiškumą prognozuojant chirurginę intervenciją, tačiau metodo pritaikymo trūkumai yra tai, kad esant blogai kortikomeduliarinei diferenciacijai inkstų piramidės echoskopiskai neįvertinamos, reikia specialių vertintojo įgūdžių dirbant su ultragarsu bei geros raiškos echoskopinio vaizdo, ši studija atlikta retrospektyviai (108). Dar vienas iš netipinių ultragarsinių parametrų, kurie galėtų prognozuoti obstrukcijos ir chirurginės intervencijos poreikį, galėtų būti hidronefrotinio inksto parenchimos santykis su inksto kolektorikos plotu. Publikuoti tyrimo rezultatai, kai ištyrus 196 vaikus, kurie buvo operuoti dėl hidronefrozės, nustatyta, kad iš priešoperacinių UG parametrų statistiškai reikšmingai operaciją prognozavo parenchimos hidronefrozės ploto santykis ($AUC = 0,816$; $P < 0,001$) ir turėjo geresnę prognostinę vertę nei APD, SFU, UTD laipsnis. Parenchimos ir hidronefrozės ploto santykis koreliavo su scintigrafijos duomenimis. Tačiau šiam tyrimui reikalinga atskira vaizdus analizuojanti programa, kuri tiksliai apskaičiuotų minėtus plotus, tačiau didelis šio tyrimo pranašumas, kad įvertinimas neinvazinis (109).

Mudrik-Zohar ir kt. teigė, kad vaisiaus inkstų geldelės APD ir parenchimos storio santykis gali būti naudingas prognozuojant, ar reikės operacijos po gimimo. Kai šis santykis buvo $> 2,1$, buvo nustatyta didelė PUJO rizika ir tokiu atveju rekomenduotas atidesnis stebėjimas po gimimo (110).

Dar vienoje studijoje, kurioje buvo siekiama nustatyti, kokie ultragarsiniai parametrai ir kokia APD slenkstinė vertė tiriant vaisių ir naujagimių gali geriausiai prognozuoti tokius obstrukcijos atvejus, kai reikalingas chirurginis gydymas. Rezultatai parodė, kad AUC buvo 0,96 (95 % PI 0,92–0,98), kai buvo tiriamas vaisiaus geldelės išsiplėtimas, ir 0,97 (95 % PI 0,95–0,98), kai buvo tiriamas naujagimio geldelės išsiplėtimas. Vaisiaus inksto geldelės skersmens slenkstinė vertė prognozuoti operaciją buvo 18 mm ir naujagimio geldelės slenkstinė vertė prognozuoti operaciją – 16 mm. Sudėjus šiuos įverčius, tai yra kai vaisiaus geldelės APD buvo > 18 mm ir

vaikui gimus geldelės APD buvo > 16 mm, jautrumas prognozuojant operaciją buvo 100 % ir specifiškumas 86 % (95 % PI 80,7–89,9) (111).

Kalbant apie abipusę hidronefrozę, kai vienoje pusėje atliekama pieloureteroplastika, kyla klausimas, kokiais echoskopiniais parametrais galėtume pasikliauti prognozuodami operacijos poreikį priešingoje pusėje. Viename tyrime buvo aprašyta, kad toje tiriamųjų, kuriems buvo atlikta pieloureteroplastika ir kitoje pusėje, grupėje buvo statistiškai reikšmingai didesnis vidutinis APD ir taurelių skersmuo nei kad neoperuotų grupėje ($p < 0,001$). Taurelių išsiplėtimas ≥ 10 mm ir taurelių parenchimos storio santykis ≥ 5 buvo reikšmingai susiję su priešingos pusės operacijos tikimybe (112).

Dewan ir kt. taip pat aprašė taurelių skersmens ir parenchimos santykio reikšmę diagnozuojant obstrukciją ir prognozuojant chirurginę intervenciją. Autoriai paminėjo, kad geldelės tūris yra nejautrus dydis prognozuojant operaciją (105). Babu ir Sai bei kt. naudojo inksto geldelės ir žievės storio santykį kaip matą, padedantį nustatyti, kam bus reikalinga chirurginė intervencija, ir nustatė, kad esant šiam santykiui < 8 beveik visais atvejais operuoti nereikėjo, o kai santykis buvo > 12 , pieloureteroplastika buvo labai tikėtina ($p < 0,01$) (jautrumas 92 %; specifiškumas beveik 100 %; teigiama prognostinė vertė 100 % ir neigiama prognostinė vertė 98 %) (113). Nors UG yra neinvazinis, lengvai prieinamas ir pigus tyrimas, jo atlikimas ir rezultatai yra labai priklausomi nuo vertintojo. Taip pat dažnu atveju inkstų kolektorikos išsiplėtimas priklauso nuo hidracijos, o inksto parenchimos storis gali priklausyti nuo to, kurioje inksto dalyje jį matuojame. Taip pat dauguma šių tyrimų yra retrospektyvūs ir dominuoja santykinai mažos imtys (105, 113, 114).

Atliekant vaisiaus UG, vertinti inkstų būklei galima pasitelkti 3D inkstų tūrių skaičiavimo metodą naudojant *SonoAVC* arba *VOCAL (Virtual Organ Computer-Aided AnaLysis)* programas. Buvo atliktas tyrimas, lyginantis 3D UG metodika nustatyto inkstų geldelės tūrio ir APD bei inkstų parenchimos storio efektyvumus prognozuojant chirurginę intervenciją po gimimo. Nustatyta, kad tiek 3D geldelės tūris, tiek APD ir parenchimos storis yra geri operacijos prognostiniai rodikliai. Slenkstinė vertė, kuri geriausiai prognozavo chirurginę intervenciją, buvo geldelės tūris $1,58 \text{ cm}^3$ (100 % jautrumas, 87,3 % specifiškumas) ir APD 10,5 mm (93,3 % jautrumas, 81,8 % specifiškumas). O parenchimos storis, šio tyrimo duomenimis, neturėjo didesnės prognostinės vertės pasirenkant chirurginę intervenciją. Šis tyrimas parodo, kad geldelės tūrio matavimas leidžia geriau prognozuoti chirurginio gydymo tikimybę nei kad įprastas APD matavimas (115).

Dar viename straipsnyje teigiama, kad 3D atvaizdavimas naudojant kompiuterinę tomografiją arba magnetinio rezonanso tomografiją yra daug tikslesnis inkstų tūrio vertinimo prasme, palyginti su UG, kuris tradiciškai aprašo parenchiminių organų tūrį remiantis 2D vaizdo matavimais skirtingose plokštumose. Tam tikros papildomos priemonės, kaip antai kontrasto naudojimas atliekant UG, padėjo pagerinti tyrimo tikslumą realiai nepadidinant rizikos tiriamajam (116).

Inksto tūrio ir hidronefrozės tūrio nustatymas pasirodė esantis labai prasmingas chirurginės intervencijos prognozavimui, šie matavimai turėjo didelį AUC prognozuojant chirurginę intervenciją. Šie dydžiai operuotų ir neoperuotų ligonių grupėje statistiškai reikšmingai skyrėsi ir buvo didesni operuotų ligonių grupėje. Hidronefrozės tūris (plotas po kreive 0,972, PI 95 % 0,943–1,000; $p < 0,001$) ir hidronefrozės tūrio ir inksto tūrio santykis (plotas po kreive 0,968, PI 95 % 0,939–0,998; $p < 0,001$) buvo geresni prognostiniai faktoriai operacijai nei UG naudojimas ar inkstų funkcijos vertinimas ir jų jautrumo vertės buvo didesnės nei gaunamos atlikus funkcinius inkstų tyrimus (117).

Ultragarsiniai tyrimai naudojantis vaizdo analizės programomis yra ateities diagnostikos vizija, kuri teikia vilčių, kad hidronefrozės diagnostika ir klinikinių sprendimų priėmimas galės būti atliekami remiantis vien neinvaziniais tyrimais. Šia programa naudojantis išnagrinėjamas inksto ultragarsinio tyrimo vaizdas, atliekama parenchimos, geldelės, taurelių plotų analizė. Remiantis šia informacija buvo ištirti kompiuterių diagnostiniai algoritmai: logistinės regresijos analizė ir pagalbos vektorių mašina (angl. *support vector machine*). Abu šie algoritmai parodė, kad yra tikslesni nei SFU klasifikacija. Tyrėjai teigia, kad, naudojantis šia ultragarsinių duomenų tyrimo priemone, būtų galima atsisakyti iki 62 % atvejų scintigrafijos (118).

Dar vienas dėmesio vertas tyrimas aprašytas de Bessa Jr ir kt. Autoriai pateikia savo patirtį, sukaupą derinant hidronefrozės vertinimą pagal AGS ir šlapimo srovės šlapimtakyje fiksavimą dopleriu. Visiems tirtiems pacientams buvo atlikta ir inkstų scintigrafija. Obstrukcijos požymiai buvo vertinti kaip $DIF < 40$ % hidronefrozės pusėje ir (arba) požymiai, rodantys blogą šlapimo nutekėjimą kaip radionuklido pasišalinimo pusperiodis $T_{1/2} > 20$ minučių po diuretikų suleidimo ir plato arba kylanti ekskrecijos kreivė. Kai hidronefrozė buvo vertinama kaip AGS 3–4 ir nebuvo fiksuojama šlapimo srovė šlapimtakyje, jautrumas nustatyti obstrukciją scintigrafijoje padidėjo iki 78,9 %, o specifiškumas iki 100 %. Šis metodas, autorių skaičiavimu, leistų sumažinti inkstų scintigrafijos atlikimą 61 %, paliekant invazinius tyrimus tiems atvejams, kuriems vertinti neinvazinių tyrimų duomenų neužtenka (119).

2.5.2. Šlapimo biocheminiai žymenys, taikomi diagnozuoti supravėzikinę obstrukciją

Dažniausiai literatūroje aprašomi šlapimo takų obstrukcijos žymenys: epiderminis augimo faktorius (EGF), su neutrofilų gelatinaze susijęs lipokalinas (NGAL), monocitų chemotaktinis peptidas 1 (MCP-1), transformuojantis augimo faktorius β 1 (TGF β 1) ir inkstų pažeidimo molekulė 1 (KIM-1). Tačiau skirtinguose straipsniuose yra pateikiami skirtingi ir kartais prieštaraujantys rezultatai. Pagrindinė to priežastis gali būti imties nevienalypumas amžiaus atžvilgiu, stebėjimo trukmės skirtumai, skiriasi kontrolinės grupės ir šlapimo mėginio paėmimo vieta (kaip pavyzdys – vienu atveju inksto geldelė, kitu šlapimas surinktas iš šlapimo pūslės). Iš turimų duomenų panašu, kad žymenys šlapime gali turėti didelę reikšmę – padėti nustatyti obstrukciją ir inkstų pažeidimo riziką esant obstrukcijai, kai yra didelio laipsnio hidronefrozė. Nepaisant atliktų tyrimų, kuriais buvo siekiama nustatyti, kuris šlapimo žymuo ar žymenų grupė savo pranašumu lenktų kitus žinomus šlapimo žymenis, tokio unikalaus žymens dar nepavyko nustatyti (10, 22, 120).

2.5.3. Dažniausiai aprašomi šlapimo takų obstrukcijos žymenys

Į vieną iš tyrimų įtraukti 25 tiriamieji, kuriems buvo PUJO, ir 25 sveiki kontrolinės grupės vaikai. Nustatyta, kad vidutinis šlapimo TGF- β 1 PUJO grupėje buvo $87,1 \pm 12,6$ pg/ml, o kontrolinėje grupėje – $30,5 \pm 14,5$ pg/ml, statistiškai reikšmingai skyrėsi ir šlapimo TGF β 1 koncentracija, ji buvo susijusi su hidronefrozės laipsniu ir didžiausia buvo IV laipsnio hidronefrozės grupėje (121). Gawłowska-Marciniak ir kt. savo tyrime aprašė panašius rezultatus. Jie į tyrimą buvo įtraukę 45 tiriamuosius, kuriems buvo obstrukcija, ir 25 kontrolinės grupės tiriamuosius. Buvo matuojama TGF β 1 koncentracija vaikų, kuriems buvo atliekama pieloureteroplastika, šlapime ir nustatyta, kad TGF β 1 koncentracija šlapime statistiškai reikšmingai buvo didesnė operuotų pacientų nei kontrolinės grupės pacientų, o praėjus metams po operacijos TGF β 1 koncentracija šlapime sumažėjo (122).

Tolesni tyrimai parodė, kad TGF β 1 koncentracija ne tik skyrėsi hidronefrozės ir kontrolinės grupės tiriamųjų šlapime, bet ir padėjo atskirti tuos hidronefrozės atvejus, kuriuos sukėlė obstrukcija ir buvo reikalingas chirurginis gydymas. Kostic ir kt. į tyrimą įtraukė 88 tiriamuosius ir 24 kontrolinės grupės tiriamuosius. Šlapimas tiriamiesiems buvo surinktas iki dvejų metų amžiaus. Pagal pateiktus rezultatus TGF β 1 jautrumas prognozuojant chirurginį gydymą buvo 60,8 %, o specifiškumas 92,8 %, o

AUC – 0,719, o šio dydžio slenkstinė vertė chirurginiam gydymui buvo 2,68 pg/mg. Tame pačiame tyrime nustatytos dar kelių šlapimo biocheminių žymenų charakteristikos, prognozuojančios chirurginį gydymą: uNGAL koncentracijos jautrumas 63,3 %, specifiškumas 96,7 %, plotas po kreive 0,801; RBP slenkstinė vertė buvo 5,5 ng/mg, jautrumas 73 %, specifiškumas 97 %, AUC 0,752; KIM-1 jautrumas – 62,5 %, specifiškumas – 82,1 %, AUC 0,701. Šių biocheminių žymenų koncentracijos buvo standartizuotos pagal kreatinimą ir labiausiai tiko nustatant vienpusės hidronefrozė operacijos riziką per pirmus gyvenimo metus (123).

Zieg ir kt. į tyrimą įtraukė 19 tiriamųjų, kuriems buvo OU, ir 11, kuriems – neobstrukcinė hidronefrozė, o 21 sveikas tiriamasis sudarė kontrolinę grupę. Nustatyta, kad vidutinė šlapimo TGF-β1 koncentracija, standartizuota pagal kreatinimą esant hidronefrozei, kai yra obstrukcija, buvo reikšmingai didesnė nei grupėje, kurioje buvo hidronefrozė nesant obstrukcijos ($4,14 \pm 0,67$ ir $1,80 \pm 0,24$ pg/mmol, $P < 0,05$) ir kontrolinės grupės ($1,66 \pm 0,28$ pg/mmol, $P < 0,05$) (124).

Kitoje studijoje (imtis – 22 tiriamieji) aprašoma kiek kitokia metodika, kai šlapimas buvo surinktas tiek iš inksto, kuriame yra obstrukcija, kolektorikos per pielostominį vamzdelį, tiek iš šlapimo pūslės esant vienpusei PUJO ir praėjus 2 dienoms po operacijos (šlapimas iš šlapimo pūslės buvo naudojamas kaip kontrolinis). Nustatyta, kad šlapimo TGFβ1 koncentracija buvo daug didesnė šlapime iš operuoto inksto, nei šlapime, surinktame iš šlapimo pūslės (125).

Į Yu ir kt. tyrimą įtraukti pacientai, kuriems buvo vienpusė arba abipusė PUJO ($n = 17$), ir 17 kontrolinės grupės sveikų pacientų. Tyrėjai nerado statistiškai reikšmingo TGF-β1 koncentracijos skirtumo tarp dėl PUJO operuotų pacientų ir sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų pūslės šlapimo. Tačiau ANOVA testas parodė, kad buvo statistiškai reikšmingas MCP-1 koncentracijos šlapime skirtumas tarp trijų grupių: kontrolinės sveikųjų grupės, neoperuotų, kuriems nustatyta hidronefrozė, ir operuotų pacientų ($p = 0,0002$). Naudojant kaip diagnostikos būdą atskirti operuotų ir neoperuotų pacientų grupes jautrumas ir specifiškumas buvo po 88 %, AUC 0,89 (126).

Noyan ir kt. aprašė savo tyrimo, kurio imtis – 62 tiriamieji, kuriems buvo įvairaus laipsnio hidronefrozė, ir 20 sveikų tiriamųjų kontrolinė grupė, rezultatus. Atliktas šlapimo NGAL/Cr ir KIM-1/Cr koncentracijų palyginimas tarp tiriamųjų, kuriems buvo hidronefrozė esant obstrukcijai, tiriamųjų, kuriems buvo hidronefrozė nesant obstrukcijos, ir sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų. uNGAL/Cr koncentracijos reikšmingai skyrėsi tarp tiriamųjų grupių ir kontrolinės grupės ($P < 0,05$). Nustatyta slenkstinė vertė – 0,16 ng/mg Cr obstrukcijai jautrumas 58 %, specifiškumas 75 %,

AUC 0,68. KIM-1/Cr koncentracija tarp pacientų, kuriems buvo hidronefrozė esant obstrukcijai, nesiskyrė nuo pacientų, kuriems buvo hidronefrozė nesant obstrukcijos, ir sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų ($p > 0,05$) (11).

Į Ozkuvanci ir kt. prospektyvinę studiją buvo įtraukti 24 tiriamieji, kuriems buvo obstrukcija, ir 27 neobstrukcinės hidronefrozės grupės tiriamieji be hidronefrozės požymių. Prieš operaciją iš šlapimo pūslės surinktame šlapime obstrukcijos žymenų koncentracija buvo statistiškai reikšmingai didesnė negu sveikų vaikų šlapime ir negu neobstrukcinės hidronefrozės grupės vaikų šlapime, kai žymenys buvo standartizuoti pagal kreatininą. Vienas iš tirtųjų žymenų buvo uNGAL/Cr. Slenkstinė vertė, jautrumas, specifiškumas ir plotas po kreive atskiriant obstrukcinę grupę, kai buvo reikalingas chirurginis gydymas, nuo neobstrukcinės hidronefrozės grupės buvo atitinkamai 16,15 ng/mgCr, 70,8 %; 70,4 %, AUC = 0,669. MCP-1/Cr slenkstinė vertė buvo 367,65 pg/mgC, jautrumas 62,5 %; specifiškumas 52 %, AUC = 0,660. KIM-1/Cr slenkstinė vertė buvo 0,89 ng/mgCr, jautrumas – 79,2 %, specifiškumas – 88 %, AUC 0,802. IP-10 turėjo 75 % jautrumą, 66 % specifiškumą, AUC 0,735, Ca 19-9, kai slenkstinė vertė 55,5 U/mgC nustatyti obstrukciją jautrumas buvo 75 %; specifiškumas – 66 %, AUC – 0,676) (127).

Amiri ir kt. tyrime tirti 45 pacientai (visi jaunesni nei dvejų metų), nustatytas statistiškai reikšmingas uNGAL koncentracijos skirtumas tarp didesnę ir mažesnę hidronefrozę turinčių pacientų ($p = 0,002$) (128).

Didžiausios apimties studijos, kurioje buvo tirta šlapimo žymenų reikšmė obstrukcijos prognozavimui, imtį sudarė 161 tiriamasis, kuriam buvo hidronefrozė (77 tiriamieji, operuoti dėl obstrukcijos, ir 82 pacientai, kuriems buvo hidronefrozė, sudarė stebėjimo grupę). Buvo nustatytas geresnis CA19-9 prognostinis efektyvumas, kai jautrumas, specifiškumas, AUC buvo atitinkamai: 84,2 %, 73,2 % ir 0,794–0,909, o slenkstinė vertė nustatyti obstrukciją buvo 59,09 U/ml. uNGAL jautrumas, specifiškumas ir AUC buvo atitinkamai 64,3 %, 69,6 % 0,61; $p = 0,1679$, nebuvo statistiškai reikšmingas nustatant atvejus, kai dėl hidronefrozės buvo reikalingas operacinis gydymas. KIM-1 tarp grupių statistiškai reikšmingai nesiskyrė (129).

Pavlaki ir kt. aprašė 22 tiriamųjų PUJO ir 19 – neobstrukcinės hidronefrozės grupę ir 17 tiriamųjų kontrolinę grupę. Šiame tyrime buvo lygintos uNGAL koncentracijos prieš operaciją, po operacijos ir tiriamųjų, kurie buvo stebimi dėl hidronefrozės, ir kontrolinės grupės tiriamųjų. Statistiškai reikšmingai skyrėsi operuotų pacientų grupės uNGAL nuo kontrolinės grupės tiriamųjų, tačiau statistiškai reikšmingai nesiskyrė nuo

neoperuotų vaikų, kuriems buvo hidronefrozė. Cistatino C koncentracija šlapime statistiškai reikšmingai sumažėjo praėjus vieniems metams po operacijos, palyginti su priešoperacinėmis vertėmis ir taip pat priešoperacinė cistatino C koncentracija buvo reikšmingai didesnė, palyginti su kontrolinės grupės cistatino C koncentracija ($p = 0,004$ ir $p = 0,02$) ir nebuvo rasta skirtumo tarp po operacijos nustatytos cistatino C koncentracijos šlapime ir kontrolinės grupės tiriamųjų šlapime ($p = 0,82$). Serumo cistatinas C nesiskyrė tarp obstrukcinės hidronefrozės grupės ir neobstrukcinės hidronefrozės grupės ir neobstrukcinės hidronefrozės grupės cistatino C koncentracija nesiskyrė nuo kontrolinės grupės kraujo serumo cistatino C koncentracijos (130). Kraujo cistatiną kaip obstrukcijos rodiklį aprašė Inal ir kt. Į studiją įtrauktas 61 suaugęs tiriamasis, kuriems buvo įvairių formų ūmus inkstų nepakankamumas. Tiramieji suskirstyti į 2 inkstų nepakankamumo grupes: postrenalinis inkstų nepakankamumas, kai visiems tiriamiesiems buvo abipusė hidronefrozė ($n = 15$), ir kitų priežasčių nulemtas inkstų funkcijos nepakankamumas ($n = 46$). Nustatyta, kad kreatinino ir cistatino C santykis buvo reikšmingai didesnis inkstų nepakankamumo, kai yra hidronefrozė, grupėje ($6,9 \pm 3,1$ ir $4,4 \pm 2,1$, $P = 0,007$) (131).

Kitoje studijoje tirti 34 vaikai (10 – operuotų dėl obstrukcijos, 24 stebėti dėl hidronefrozės). Šiame tyrime buvo rastas statistiškai reikšmingas skirtumas tarp operuotų pacientų kraujo NGAL koncentracijos ir stebėtų konservatyviai 259,2 ng/mL ir 46,8 ng/mL, $p = 0,028$ atitinkamai, tačiau nenustatyta reikšmingo skirtumo tarp operuotų ir neoperuotų vaikų uNGAL koncentracijos. Taip pat nustatyta, kad kraujo NGAL statistiškai reikšmingai sumažėjo po operacijos. Šio tyrimo išskirtinumas toks, kad, be šlapimo KIM-1 tyrimo, buvo tirta KIM-1 koncentracija ir kraujo plazmoje. Šiame tyrime nebuvo nustatyta reikšmingo skirtumo tarp operuotų ir neoperuotų vaikų šlapimo ir kraujo serumo KIM-1 koncentracijų (132).

Karakus ir kt. rezultatai rodo, kad nebuvo rastas statistiškai reikšmingas uNGAL koncentracijos šlapime skirtumas obstrukcinės ir neobstrukcinės hidronefrozės atvejais. Įtraukti 27 tiramieji, kuriems buvo hidronefrozė, ir 9 sveiki kontrolinės grupės tiramieji. uNGAL koncentracija tarp operuotų PUJO pacientų ir sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų skyrėsi statistiškai reikšmingai ($P = 0,032$), tačiau operuotųjų uNGAL koncentracija nesiskyrė nuo neobstrukcinės hidronefrozės pacientų grupės ($P > 0,05$). MCP-1 koncentracija šlapime buvo reikšmingai didesnė operuotų pacientų grupėje, palyginti su grupe, kuriems neoperuota hidronefrozė ($p = 0,037$), ir kontroline grupe ($p = 0,02$). KIM-1 koncentracija buvo reikšmingai didesnė pieloureteroplastikos grupėje, palyginti su kontroline ($P = 0,001$) grupe,

tačiau nesiskyrė tarp operuotų pacientų ir neobstrukcinės hidronefrozės grupės pacientų ($p > 0,05$). Cistatino C koncentracija buvo reikšmingai didesnė neobstrukcinės hidronefrozės grupės tiriamųjų šlapime, palyginti su kontrolinės grupės tiriamųjų šlapimo koncentracija ($p = 0,004$), tačiau nesiskyrė reikšmingai nuo operuotų tiriamųjų grupės šlapimo koncentracijos ($p > 0,05$) (133). IP-10 koncentracija buvo reikšmingai didesnė operuotų pacientų grupėje, palyginti su neobstrukcinės hidronefrozės grupe ($p = 0,038$) ir kontroline grupe ($p = 0,024$). Po operacijos šio žymens koncentracija šlapime reikšmingai sumažėjo 85 % pacientų. Šiame tyrime taip pat tirta motinų kraujo serumo CA19-9 koncentracija. Į tyrimą įtraukta 10 moterų, kurių vaisiui nustatyta hidronefrozė, ir 10 moterų, kurių nėštumo metu pokyčių nerasta. Rasta, kad reikšmingai didesnė CA19-9 koncentracija buvo vaisiaus hidronefrozės grupėje (134,5 U/ml ir 22,2 U/ml, $P < 0,001$) (133).

Madsen ir kt. studijoje, kurioje tirti 24 vaikai, kuriems buvo obstrukcija, ir 13-os vaikų kontrolinė grupė, nustatyta, kad statistiškai reikšmingai skyrėsi uNGAL koncentracija prieš operaciją, palyginti su sveikais kontrolinės grupės tiriamaisiais, taip pat buvo pastebėta, kad uNGAL koncentracija mažėja po gydymo pašalinus obstrukciją. Tame pačiame tyrime nenustatyti cistatino C koncentracijos šlapime skirtumai tarp operuotų dėl obstrukcijos pacientų ir kontrolinės grupės tiriamųjų. Buvo rastas statistiškai reikšmingas skirtumas tik tarp šlapimo, paimto iš operuojamo inksto geldelės, cistatino C koncentracijos, ir priešingo inksto be hidronefrozės šlapimo (134).

Pavyko rasti 1 straipsnį, kuriame aprašoma nedidelė tiriamųjų imtis – 12 tiriamųjų, kuriems buvo PUJO, ir 12-os tiriamųjų kontrolinė grupė. Nebuvo rastas statistiškai reikšmingas skirtumas tarp uNGAL koncentracijos lyginant vaikų, kuriems PUJO, šlapimą su sveikų vaikų šlapimu ($p = 0,932$), taip pat nerasta reikšmingo šlapimo KIM-1 koncentracijų skirtumo tarp dėl obstrukcijos operuotų pacientų ir sveikų tiriamųjų (135).

Zhi ir kt. atliko naujagimių, kuriems diagnozuota hidronefrozė, šlapimo žymenų koncentracijos palyginimą su sveikos grupės tiriamųjų šlapimo žymenų koncentracija. Buvo nustatyta reikšmingai didesnė šio žymens koncentracija hidronefrozės grupės šlapime nei kontrolinės grupės – $7,64 \pm 2,63$ mg/l ir $1,96 \pm 0,75$ mg/l, $p < 0,001$, taip pat buvo pastebėta, kad RBP koncentracija statistiškai reikšmingai sumažėjo po obstrukcijos gydymo – $2,56 \pm 1,25$ p $< 0,001$. Tame pačiame tyrime buvo tirta ir motinos kraujo MCP-1 koncentracija prognozuojant vaisiaus šlapimo takų obstrukciją. Buvo tiriama, ar yra skirtumas tarp motinos kraujo serumo MCP-1 koncentracijos, kai vaisiui diagnozuota hidronefrozė, ir kai echoskopiskai

matomi normalūs inkstai be kolektorikos išsiplėtimo. Nustatyta, kad buvo statistiškai reikšmingas skirtumas, kai buvo vaisiaus hidronefrozė – $208,63 \pm 16,43$ ng/ml ir kai hidronefrozės nebuvo – $141,22 \pm 13,28$ ng/ml, $p < 0,001$, taip pat motinos kraujo serumo MCP-1 koncentracija reikšmingai koreliavo su kitais gimusio vaiko šlapimo obstrukcijos žymenimis, kaip antai RBP, uAlb ir akvaporinas 2 (136).

42 naujagimiai buvo įtraukti į operuotųjų dėl obstrukcijos grupę ir 24 naujagimiai – į nedidelio laipsnio hidronefrozės grupę, kuriai chirurginis gydymas nebuvo taikomas.

Šlapimo MCP-1/Cr santykis buvo statistiškai didesnis operuotų tiriamųjų grupėje (slenkstinė vertė nustatyti operuotą pacientą buvo $0,927$ ng/mg, jautrumas 77 %; specifiškumas 72 %, AUC $0,732$) (137).

Madsen ir kt. palygino operuotų dėl PUJO ($n = 28$) šlapimo MCP-1 koncentraciją su 13 sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų šlapimo MCP-1 koncentracija. Rastas statistiškai reikšmingas skirtumas tarp grupių. Didesnė MCP-1 koncentracija, standartizuota pagal kreatiną, buvo operuotų tiriamųjų grupėje, mediana su kvartiliais buvo $136,9$ [47,7–545,5] ir $80,1$ [28,8–149,9] pg/mg atitinkamai. Atskiriant operuotus nuo sveikų kontrolinės grupės pacientų AUC buvo $0,78$, slenkstinė vertė – $93,19$ pg/mg (jautrumas 77,8 %, specifiškumas 69,2 %). Tiriant iš hidronefrotinio inksto geldelės operacijos metu paimtą šlapimą, AUC $0,89$, slenkstinė žymens vertė – $152,69$ pg/mg (jautrumas 78,6 %, specifiškumas 100 %). Taip pat šio žymens koncentracija susinormalizavo praėjus vieniems metams po operacijos. Tame pačiame tyrime nebuvo reikšmingo IP-10 koncentracijos šlapime skirtumo tarp grupių ($p = 0,1610$), o EGF/Cr santykis šlapime hidronefrozės grupėje buvo reikšmingai didesnis nei kontrolinės grupės (šių santykių medianos atitinkamai buvo $7,4$ [1,2–60,2] ir $4,0$ [1,2–13,8] ng/mg) (138).

Į tyrimą įtraukti 76 pacientai, kuriems buvo PUJO, ir 30 sveikų kontrolinės grupės pacientų. PUJO grupė buvo padalinta į 3 pogrupius: obstrukcijos – 12, funkcinės obstrukcijos – 36 ir operuotus – 28 tiriamieji. Buvo nustatytas reikšmingas skirtumas tarp PUJO (nustatytų remiantis scintigrafija) grupių ir kontrolinės grupės, tačiau nebuvo rasta reikšmingo skirtumo atskirai imant operuotų vaikų grupę ir ją lyginant su kontroline grupe. Taip pat nebuvo skirtumo tarp funkcinės obstrukcijos ir neoperuotos obstrukcijos grupių. Tame pačiame tyrime PUJO grupėje vidutinė EGF/Cr koncentracija (41 ng/mg) buvo reikšmingai mažesnė nei kad funkcinės obstrukcijos grupėje (61 ng/mg) $p = 0,028$ (139).

Kitą analogiškos struktūros tyrimą aprašė Mohammadjafari, Rafiei ir kt. Šiame tyrime jo dalyviai buvo suskirstyti į tas pačias 3 grupes: hidronefrozė,

kai yra obstrukcija, hidronefrozė, kai nėra obstrukcijos, ir sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų grupė. Iš viso į tyrimą įtraukti 59 naujagimiai. KIM-1/Cr koncentracija buvo reikšmingai didesnė pirmos grupės šlapime nei antros grupės ($p = 0,015$). Kai slenkstinė vertė buvo 0,4765 ng/mg, jautrumas – 81 %, specifiskumas – 71 %, AUC 0,731 atskiriant šias 2 grupes. EGF/Cr vidurkis buvo statistiškai reikšmingai didesnis obstrukcinės hidronefrozės atveju (21,07 ng/mg) nei neobstrukcinės hidronefrozės (12,86 ng/mg) $p = 0,016$. Slenkstinė koncentracijos vertė diagnozuoti obstrukciją buvo 16,855 ng/mg (jautrumas 71 %, specifiskumas 77 %) (140).

Dar vieni autoriai aprašė suaugusiųjų tiriamųjų, kuriems buvo šlapimo takų obstrukcija, grupę. Dažniausia obstrukcijos priežastis buvo inkstų akmenligė. Tiriamųjų, kuriems buvo obstrukcija, grupę sudarė 24 pacientai, tiriamųjų, kuriems obstrukcijos nebuvo – 20, kontrolinę – 11 pacientų. Šio tyrimo rezultatai parodė, kad kai KIM-1 standartizuotos pagal šlapimo kreatinina, koncentracijos šlapime slenkstinė vertė buvo 0,735 ng/mg, jautrumas – 75 %, o specifiskumas – 67 %, AUC 0,73 nustatant hidronefrozę, kuriai buvo taikomas chirurginis gydymas (141). Alizadeh ir kt. į tyrimą įtraukė 30 vaikų, kuriems buvo PUJO, ir 30 sveikų kontrolinės tiriamosios grupės pacientų. Šlapimo CA 19-9 koncentracija ir jo santykis su šlapimo kreatininu naudotas skaičiavimams. CA 19-9 koncentracija reikšmingai nesiskyrė tarp PUJO grupės ir kontrolinės grupės ($p = 0,13$), tačiau CA 19-9/Cr buvo rastas statistiškai reikšmingas skirtumas $19,03 \pm 20,31$ tarp obstrukcijos grupės ir $34,52 \pm 32,11$ kontrolinės grupės ($p = 0,04$). Po chirurginio gydymo reikšmingai padidėjo šlapimo kreatinino koncentracija ir sumažėjo CA19-9/Cr ($P = 0,0001$) (142).

Atar ir kt. tyrime lygintos 3 grupės: operuotųjų dėl PUJO ($n = 17$), neobstrukcinės hidronefrozės ($n = 17$) ir sveikųjų kontrolinė grupė ($n = 21$). Obstrukcinės grupės šlapimo CA 19-9 koncentracija buvo reikšmingai didesnė nei neobstrukcinės hidronefrozės grupės (143 ± 38 U/ml ir 68 ± 23 U/ml; $p = 0,007$) ir sveikų kontrolinės grupės pacientų (143 ± 38 U/ml ir 13 ± 3 U/ml; $p = 0,001$). Obstrukcinės grupės pacientų kraujo serumo CA 19-9 koncentracija nebuvo reikšmingai didesnė nei neobstrukcinės hidronefrozės grupės pacientų ($p = 0,053$), tačiau obstrukcinės grupės pacientų serumo CA 19-9 koncentracijos buvo reikšmingai didesnės nei sveikųjų kontrolinės grupės pacientų ($p = 0,027$). Statistinė analizė atskleidė, kad nustatant obstrukciją naudingesnė buvo šlapimo CA19-9 koncentracija nei kraujo serumo: šlapimo pūslės šlapimo CA 19-9 koncentracijos AUC buvo 0,8, o slenkstinė vertė – 85,5 U/mL, kai pasiektas didžiausias jautrumas 76 % ir specifiskumas 85 %, o kai serumo CA koncentracijos kraujo serume

slenkstinė vertė buvo 40,5 U/ml, jautrumas – 100 %, specifiškumas – 50 %, AUC – 0,7 (143).

Į suaugusiųjų tyrimą įtraukti 33 tiriamieji, kuriems buvo obstrukcinė hidronefrozė, jie dėl to operuoti, ir 24 sveiki kontrolinės grupės tiriamieji, šlapimo ir serumo CA19-9 koncentracijos buvo pamatuotos prieš operaciją ir po jos. CA19-9 koncentracija buvo reikšmingai didesnė tiek kraujo serume, tiek šlapime prieš operaciją obstrukcijos grupėje ($1665,95 \pm 695,28$ U/ml ir $6596,66 \pm 3303,34$ U/ml) nei kontrolinėje grupėje ($10,39 \pm 1,96$ U/ml ir $21,69 \pm 1,40$ U/ml). Serumo ir šlapimo CA19-9 koncentracijos buvo reikšmingai didesnės prieš operaciją nei po jos ($P < 0,05$) (144). Grandaliano ir kt. publikavo tyrimo, į kurį įtraukti 24 tiriamieji, kuriems buvo PUJO, ir 15 sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų, rezultatus. Nustatyta, kad EGF koncentracija šlapime buvo reikšmingai sumažėjusi PUJO grupėje, palyginti su kontroline grupe, ir koreliavo su to paties baltymo raiška inksto biopsijos audinyje. Po chirurginio gydymo buvo reikšmingas inksto funkcijos pagerėjimas ir taip pat ženklus EGF koncentracijos šlapime padidėjimas (145).

Į dar vieną prospektyvinį tyrimą įtraukti 45 tiriamieji (33 – stebėti, 12 – operuoti dėl vienpusės PUJO). Šlapimo EGF/Cr koncentracija buvo reikšmingai mažesnė operuotų pacientų grupėje, kai tyrimas atliktas per pirmus 6 gyvenimo mėnesius (mediana – 38 ng/mg, $n = 12$) ir (mediana – 50 ng/mg, $n = 33$) $p < 0,01$. Pacientų su SFU 3-4 ir neoperuotų grupėje EGF koncentracija šlapime buvo didesnė nei kad to paties SFU laipsnio operuotųjų grupėje ($p = 0,048$) (146).

2.5.4. Šlapimo albuminas

Šlapimo albuminas arba mikroalbuminas, kai kalbama apie mažą jo koncentraciją šlapime, yra šlapimo baltymas, kuris rodo glomerulų pažeidimą. Esant jam didesnės molekulinės masės molekulės gausiau patenka pro pažeistą glomerulų bazinę membraną į šlapimą ir jo pertekliaus inkstai nebespėja reabsorbuoti. Keliuose tyrimuose jis buvo tirtas kaip obstrukcijos žymuo. Zhi ir kt. palygino naujagimių uAlb koncentraciją, kai jie buvo operuoti dėl įgimtos hidronefrozės, kai buvo obstrukcija ($n = 46$), su sveikų kontrolinės grupės tiriamųjų uAlb koncentracija ($n = 46$). Buvo nustatyta reikšmingai didesnė šio žymens koncentracija nei kontrolinės grupės šlapime – $1,59 \pm 0,78$ mg/ml ir $10,37 \pm 0,15$ mg/ml, $p < 0,001$, taip pat buvo pastebėta, kad statistiškai reikšmingai sumažėjo po gydymo iki $0,68 \pm 0,15$ mg/ml, $p < 0,001$ (136). Dar viename tyrime tirtas ir palygintas trijų grupių šlapimas: dėl

hidronefrozės operuotų vaikų ($n = 16$), neoperuotų vaikų, bet stebėtų dėl hidronefrozės ($n = 16$), ir kontrolinės sveikų pacientų grupės ($n = 42$). Pagrindinis tyrimo tikslas buvo nustyti lizosominių egzoglikozidazių skirtumus tarp grupių ir nustatyti jų koreliaciją su albumino ir kreatinino koncentracijos santykiu šlapime. Buvo nustatyta kad yra egzoglikozidazių koncentracijos skirtumas tarp obstrukcijos grupės ir kitų dviejų lyginamų grupių, taip pat buvo nustatyta stipri teigiama koreliacija tarp tirtų egzoglikozidazių ir albumino kreatinino koncentracijos santykio šlapime ($p < 0.01$) (147).

Zieg ir kt. į tyrimą įtraukė 19 tiriamųjų, kuriems buvo OU, ir 11, kuriems buvo neobstrukcinė hidronefrozė, ir 21 sveiką vaiką į kontrolinę grupę. Buvo nustatyta teigiama šlapimo TGF- β 1/Cr koreliacija su baltymo ir kreatinino santykiu ($r = 0,87$, $P < 0,0001$) ir TGF- β /Cr koreliacija su šlapimo α 1-mikroglobulinu/Cr ($r = 0,82$, $P = 0,0002$) tiriant pacientus, kuriems buvo obstrukcinė uropatija, kai TGF- β 1/Cr koncentracija reikšmingai skyrėsi tarp obstrukcinės ir neobstrukcinės hidronefrozė grupių. Tačiau nebuvo rasta reikšmingos koreliacijos tarp TGF- β 1/Cr ir mikroalbumino/Cr koncentracijų santykių ($p = 0,1$) (124).

2.5.5. Beta 2 mikroglobulinas

Apibendrinant keletą tyrimų rezultatus – u β 2-M buvo tiriamas kaip inkstų pažeidimo žymuo nuo vaisiaus laikotarpio iki vyresnio amžiaus vaikų. Pirmasis tyrimas, kuriame buvo nustatytas uNGAL ir u β 2-M koncentracijos padidėjimas šlapime, kai buvo tirtas vaikų prieš operaciją šlapimas iš šlapimo pūslės ir iš operuojamo inksto geldelės, atlikus pieloureteroplastiką buvo palygintos u β 2-M koncentracijos šlapime iš operuojamo inksto geldelės ir šlapimo pūslės po operacijos, kai į ją šlapimas nubėga tik iš sveiką inksto. Nustatyta, kad u β 2-M koncentracijos tyrimas padėjo atskirti šlapimą iš inksto, kuriame buvo obstrukcija, nuo šlapimo iš inksto, kuriame nebuvo obstrukcijos, 68 % jautrumu ir 92 % specifiškumu u β 2-M AUC buvo 0,811 (95 % PI 0,661–0,952), o slenkstinė vertė – 191,8 ng/mg standartizuojant pagal kreatinimą (134). Kitame tyrime atskleista, kad u β 2-M koncentracija buvo reikšmingai padidėjusi vaisiaus geldelės šlapime, kai buvo vaisiaus PUJO sukeltas inkstų funkcijos sutrikimas ($n = 9$), palyginti su atvejais, kai buvo atlikta vaisiaus šlapimo aspiracija iš inksto geldelės dėl hidronefrozės, tačiau inkstų funkcijos sutrikimo pagal šlapimo tyrimus nenustatyta ($n = 6$), $p = 0,035$ (31).

2.5.6. Retai aprašomi šlapimo takų obstrukcijos žymenys

1 lentelė. Santrumpos, naudojamos lentelėje ir nepateiktos disertacijos pradžioje: IL-6 – interleukinas 6; kontr. – kontrolinė grupė; NOH – neobstrukcinė hidronefrozė; v – vaikai; n – naujagimiai; m – motinos; s – suaugusieji; šlap. – šlapimas; ADMA – asimetrinis dimetilargininas (angl. *asymmetric dimethylarginine*); MDA – malondialdehidas (angl. *malondialdehyde*); hArg – homoargininas; op – operuotas; uICAM-1 – šlapimo intraląstelinė adhezijos molekulė; Emmprin – metaloproteinazės induktorius; MXRA5 – su matrikso pertvarkymu susijęs baltymas 5; PTGR1 – prostaglandino reduktazė-1; FCN2 – fikolinas-2; QPRT – nikotinukleotidpirofosforilazė; ISLR – imunoglobulinų superšeima, turinti leucino sekos pasikartojimą; VCAM1 – ląstelių adhezijos molekulė 1; BD-1 – beta defensinas 1; HIP/PAP – hepatokarcinomos–žarnų–kasos su pankreatitu susijęs baltymas; LL-37 – katelicidinas; HO-1 – hemo oksigenazė-1; sPIIINP/uPIIINP – šlapimo prokolageno III aminoterminalinis propeptidas; AGT – šlapimo angiotenzinas; TNF- α – tumoro nekrozės faktorius α ; SEMA-3A – šlapimo semaforinas 3A; Netrin-1 – netrin-1; NAG – N-acetil-beta-D-gliukozaminidazė; ŠF – šarminė fosfatazė; GGT – gamagliutamiltansferazė; LCN-2 – su neutrofilų želatinaze susijęs lipokalin-2; AQP2 – akvaporinas 2; CD10, CD13, CD26 – metaloproteinazės, kurios gausiai gaminamos proksimalinių inkstų kanalėlių epitelyje.

Žymuo	Imtis	Tiriamoji medžiaga	Amžius	Slenkstinė vertė obstrukcijai	Lyginamos grupės	AUC	Jautrumas, specifiskumas	p reikšmė	Šaltinis
IL-6	17 PUJO 17 kontr.	Šlap.	v	–	PUJO ir kontr.	0,78	–	0,0073	(126)
<i>BK poliomos virusas</i>	42 n, 42 m, 25 kontr.	Šlap.	n,m	10 ⁵ kopijos / mL	SFU 1, 2 su 3, 4	0,758	100 % ir 71 %	< 0,001 skirtumas tarp didelės ir mažos hidronefrozės	(148)
<i>Vaninas-1</i>	28 PUJO, 21 kontr.	Geldelės šlap. / pūslės	s	3,315 ng/mg Cr	PUJO ir kontr.	0,9778 (geldelės šlap.)	86,7 % ir 95,2 % iš geldelės šlap.	0,0927 – skirtumas šlapimo pūslės ir kontr.	(149)

		šlap.				0,6386 (pūslēs šlap.)	39,3 % ir 95,2% iš šlapimo pūslēs šlap.	< 0,0001 lyginant iš geldelēs ir kontr.	
ADMA; MDA; hArg	21 PUJO, 21 NOH 19 kontr.	Kraujo serumas	v	–	PUJO ir NOH	ADMA 0,66 (0,48– 0,84) MDA 0,64 (0,47–0,82) hArg 0.72 (0,56–0,88)	–	ADMA 0,050; MDA 0,022; hArg 0,006	(150)
Lizosominēs egzoglikozidazēs	PUJO + op 16 PUJO kons. 16 Kontr. 42	šlap.	v	–	PUJO ir kontr.	AUC 0,798– 0,869 pagal pasirinktā izofermentā	–	–	(147)
uICAM-1/Cr	PUJO op. 29 Ne op. hidronefrozē – 23 Kontr. – 19	Šlap.	v	9,486 ng/mg Cr (atskiriānt hidronefrozē nuo kontr.) 176,598 ng/mg Cr	PUJO ir ne op. PUJO; Ne op. PUJO ir kontr.	Tarp v 0,845 (ne op. PUJO nuo kontr.); 0,778 (PUJO nuo NOH)	87,8 %, 70,6 %, (atskiriānt hidronefrozē nuo kontr. – 16,7 %, ir 100 %)	ICAM-1 koncentracija buvo reikšmingai didesnē op. grupēje, palyginti su ne op. PUJO (P < 0,05)	(151)
MMP-1/Cr, uMMP- 2/Cr, u-TIMP-1/Cr ir u-TIMP-2/Cr	26 PUJO; 22 NOH 26 kontr.	šlap.	v	MMP-2 /Cr 2,01 pg/mg; TIMP-1 /Cr 1,67 pg/mg TIMP-2 /Cr 1,83 pg/mg	Tarp hidronefrozēs ir kontr.	MMP-2/Cr 0,655; TIMP-1/Cr 0,692; TIMP-2/Cr 0,678,	MMP-2/Cr 42,3 % ir 79,2 % TIMP-1/Cr 42,3 % ir 83,3 %; TIMP-2/Cr	uMMP-2/Cr; uTIMP-1/Cr; uTIMP-2/Cr < 0,05	(152)

							j 46,2 ir 83,0 %)		
MMP-1, 2, 9; TIMP-1, 2	25- SFU 3, 4, 20- SFU 1, 2; 21 kontr.	Šlap., serumas	v	Serumo MMP-9 – 526200 pg/ml; serumo MMP- 9/TIMP-1 ir MMP- 9/TIMP-2 santykiai 2,961 ir 3,838 pg/pg	PUJO ir kontr.	Serumo MMP-9 0,722, serumo MMP- 9/TIMP-1 ir MMP- 9/TIMP-2 santykiai 0,758 ir 0,697	Serumo MMP-9 71 ir 66,7 %, serumo MMP- 9/TIMP-1 ir MMP- 9/TIMP-2 santykiai 58,1 ir 83,9 %; 88,9 ir 56 %	Serumo MMP-9 mediana didesnė PUJO grupėje nei kitose (p = 0,03); mažesnis serumo MMP-9/TIMP-1 ir 2, palyginti su NOH (p = 0,01 ir p = 0,002). Jei buvo proteinurija, buvo didesnė serumo TIMP-1 koncentracija, didesnis šlapimo TIMP-2/Cr ir mažesnis serumo MMP-9/TIMP-1, palyginti su tais, kurie neturėjo šio simptomo (p < 0,05)	(153)
Emmprin, MMP-9 ir TIMP-1	25 PUJO ir 15 NOH	Šlap.	v	Emmprin 33,1 ng/mg Cr; MMP-9 27,15 ng/mg Cr; TIMP-1 5,35 ng/mg Cr	PUJO stebėjimo pradžioje ir stebėjimo pabaigoje	Emmprin 0,877; uMMP-9 0,727; uTIMP-1 0,823	Emmprin 76 % ir 83 %; uMMP-9 88 % ir 67 %; TIMP 80 % ir 83 %	Emmpr < 0,0001; MMP-9 0,0007; TIMP-1 0,0009	(154)

MXRA5	35 PUJO 12 kontr.	šlap.	v	Egzosominis MXRA5 pūslēs šlap. 3,1471 pg/μg ir geldelēs šlap. 4,1471 pg/μg	PUJO su kontr.	Pūslēs šlap. 0,9074 (p = 0,0005); Geldelēs šlap. 0,6250 (p = 0,4795), atskiriant DIF < 30 %	Pūslēs šlap. 87,5 % ir 81,5 %; geldelēs šlap. 100 % ir 50 %	Egzosominio MXRA5 koncentrācija šlapimo pūslēs šlap. ir geldelēs šlap. buvo reikšmingai didesnē PUJO nei kontr. P < 0,05	(155)
PTGR1; FCN2; QPRT; ISLR; VCA; M1(atrinkti iš 171 tirto baltymo)	PUJO 21, kontr. 22	šlap.	v	–	2,9–9,4 karto didesnē koncentracija PUJO šlap.	–	–	–	(19)
Įvairūs serumo metabolitai	20 PUJO; 19 NOH; 17 kontr.	serumas	v	–	PUJO ir NOH taip pat kontr.	0,7–0,86	–	< 0,05 tarp visų grupių	(156)
BD-1, HIP/PAP, LL-37	13 PUJO	šlap.	v	–	prieš op. ir po jos	–	–	HIP/PAP ir BD-1 reikšmingai sumažėjo po operacijos 0,0215 ir 0,0052, LL-37 reikšmingai nesiskyrė 0,5417	(157)
HO-1	25 PUJO, 25 NOH 30 kontr.	šlap.	v	uHO-1/cr 1,92 ng/mg cr., (kai DIF < 40 %) 1,215 ng/mg cr. (kai DIF	PUJO,NOH, kontr. ir DIF < 45 % tarp visų kitų	uHO-1/cr. 0,767 (95 % PI) 0,624–0,910 (kai DIF < 40	uHO-1/cr 72,2 % ir 78,1 % (kai DIF < 40 %) 76,7 % ir 80 % (kai DIF <	< 0,05, kai vertintas šlapimas prieš operaciją dėl PUJO	(158)

				< 45 %)		%) 0,812 (95 % PI 0,686– 0,937) (kai DIF < 45 %)	45 %)		
sPIIINP/uPIIINP/Cr	29 PUJO, 30 NOH, 30 kontr.	šlap. ir serumas	v	334,6 pg/mg cr.	PUJO ir NOH	0,789 (95 % PI 0,647– 0,930)	88,2 % ir 69 %	sPIIINP ir uPIIINP prieš operaciją statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo NOH < 0,05	(159)
AGT/Cr	31 PUJO 21 NOH 19 kontr.	šlap.	v	0,195 ng/mg Cr	DIF < 40 % ir kita hidronefrozė	0,838 (PI: 0,725– 0,951)	93,3 % ir 60,0 %	< 0,01 (skirtumas tarp visų 3 grupių)	(160)
TNF- α ir kaspazė 3	31 PUJO, 33 kontr.	šlap.	v	–	Prieš operaciją ir po jos	–	–	< 0,01	(161)
Šlapimo tiodoksinas/Cr	156 PUJO 80 kontr.	šlap., serumas	v	33,5 ng/mg	DIF < 3 9,2 % su kontr.	0,869 (0,805– 0,917)	85,9 % ir 73,1 %	< 0,001 (tarp hidronefrozės ir kontr.)	(162)
SEMA-3A/Cr ir Netrin-1/Cr	42 PUJO, 42 NOH, 44 kontr.	šlap.	v	uSEMA- 3A/cr. 186,65 pg/mg cr. Netrin-1 642,95 pg/mg cr.	PUJO (kai DIF < 40 %) su NOH ir kontr.	uSEMA- 3A/Cr. 0,825 PI [0,691– 0,960]; uNetrin- 1/Cr. 0,745	uSEMA- 3A/Cr j 89,5 %, s 80 %), Netrin-1 j 73,7 %, s 80 %	< 0,01	(163)

						PI 0,577– 0,914)			
NAG/Cr, ŠF/Cr, GGT/Cr	35 PUJO, 15 NOH	šlap.	v	NAG 7,8 mU/mg; ŠF 34,5 IU/gm, GGT 54 IU/gm	PUJO su NOH	–	NAG 97,1 % ir 80 %; ŠF 91,4 % ir 100 %; GGT 62,9 % ir 100 %	< 0,001 visų žymenų	(164)
LCN-2	17 PUJO, 17 kontr.	šlap.	v	–	PUJO su kontr.	0,90	88 % ir 76 %	P = 0,0004	(126)
AQP-2	46 PUJO, 46 kontr.	šlap.	n	–	PUJO su kontr.	–	–	PUJO 7,63 ± 1,24 ng/ml ir kontr. 12,79 ± 2,35 ng/ml, p < 0,001, taip pat statistiškai reikšmingai padidėjo po gydymo iki 11,89 ± 1,35 ng/ml, p < 0,001	(136)
CD10, CD13, CD26	12 PUJO, 12 kontr.	šlap.	v ir s					CD10, CD13 ir CD26 koncentracija šlapime buvo PUJO, palyginti su kontr. (p = 0,002, p = 0,024 ir p = 0,007)	(135)

2.5.7. Šlapimo žymenų ir inkstų scintigrafijos rodiklių ryšys

Bieniaš ir kt., siekdami nustatyti, kaip NGAL/Cr ir KIM-1/Cr atspindi scintigrafijos rezultatus, į tyrimą įtraukė 45 tiriamuosius, kuriems buvo skirtingo laipsnio hidronefrozė, ir 21 sveiką kontrolinės grupės tiriamąjį. Buvo tiriamos NGAL ir KIM-1 koncentracijos kraujo serume ir šlapime. Atliekant inkstų scintigrafiją uNGAL/Cr koncentracija teigiamai koreliavo su inksto, kuriame buvo obstrukcija, funkcijos praradimo procentu. ROC kreivės analizė padėjo nustatyti, kad optimali slenkstinė vertė atskiriant hidronefrozę, kai yra obstrukcija (nustatyta atliekant scintigrafiją), nuo hidronefrozės, kai nėra obstrukcijos, buvo uNGAL/Cr 0,079 ng/mg, AUC 0,805, jautrumas ir specifiškumas atitinkamai 78,6 % ir 58,3 %. Atskiriant tiriamųjų, kuriems buvo obstrukcija, grupę nuo kontrolinės sveikų tiriamųjų grupės, buvo naudojama KIM-1/Cr slenkstinė vertė 0,084, ng/mg, jautrumas – 55,6 %, specifiškumas – 69,6 %, AUC 0,653 (165).

Yucel ir kt. aprašė prospektyvinę studiją, joje buvo nustatyta, kaip KIM-1, NGAL ir CA19-9 koncentracija šlapime galėtų padėti atskirti tuos pacientus, kuriems buvo diagnozuota hidronefrozė, kai yra inksto hiperfunkcija, atliekant scintigrafiją (> 50 %), ir laikui bėgant jie turėjo būti operuoti, nuo tų, kurie buvo stebimi ir neoperuoti. Į tyrimą įtraukta 20 vaikų, kuriems buvo hidronefrotinio inksto hiperfunkcija, ir 33 vaikai, kurių inksto funkcija buvo mažesnė. Nustatyta, kad KIM-1 galėjo padėti atskirti obstrukcinę ir neobstrukcinę hidronefrozę hiperfunkcijos grupėje su 83 % jautrumu ir 71 % specifiškumu, slenkstinė KIM-1 koncentracijos, standartizuotos pagal kreatinina, vertė buvo 0,85 ng/mg, AUC 0,679. Šiame tyrime nustatyta, kad uNGAL lygis pieloureteroplastikos ir neobstrukcinės dilatacijos grupėse nebuvo nulemtas inksto hiperfunkcijos ($p = 1,00$). uNGAL padėjo nustatyti operacijos poreikį su 83 % jautrumu ir 86 % specifiškumu inksto hiperfunkcijos grupėje.

CA 19-9 koncentracijos šlapime nustatymas padėjo atskirti hiperfunkcijos grupėje atvejus, kai buvo reikalingas chirurginis gydymas, nuo tų, kuriais jo nereikėjo. Jautrumas buvo 100 %, specifiškumas – 79 %, AUC 0,893, kai slenkstinė vertė buvo 113,9 U/mg Cr (166).

Atsižvelgiant į dar vieno didesnės apimties tyrimo rezultatus (61 tiriamasis buvo operuotas dėl PUJO, vidutinis amžius operacijos metu 1,62 metų) tirtas šlapimas paimtas iš geldelės operacijos metu ir iš šlapimo pūslės prieš operaciją. Vidutinė šlapimo pūslės uNGAL koncentracija buvo 18,6 ng/mg (svyravo nuo 1,4 iki 1650,8) ir vidutinė koncentracija iš operuojamo inksto geldelės – 26,2 ng/mg (svyravo nuo 1,2 iki 18,0345, $p = 0,004$). Vidutinė šlapimo pūslės uNGAL koncentracija buvo statistiškai reikšmingai

didesnė nei kontrolinės grupės tiriamųjų ($p = 0,004$). Taip pat nustatyta statistiškai reikšminga koreliacija tarp šlapimo pūslės, inksto geldelės uNGAL koncentracijos ir diferencinės to inksto funkcijos, kuri buvo statistiškai reikšminga, atitinkamai $r = -0,359$ ($p = 0,004$) ir $r = -0,383$ ($p = 0,002$) (167).

Į dar vieną studiją įtraukta 20 vaikų, kuriems buvo didelio laipsnio hidronefrozė ir jiems reikėjo atlikti operaciją dėl obstrukcijos, taip pat surinktos 2 kontrolinės grupės – vaikai, kuriems buvo nedidelio laipsnio neobstrukcinė hidronefrozė ($n = 20$), ir antra – sveikų tiriamųjų grupė ($n = 25$). Statistiniai skaičiavimai parodė geras KIM-1 savybes nustatant $DIF < 40\%$ (AUC 0,8) ir kai $DIF < 45\%$, AUC buvo 0,779. Iš to padaryta išvada, kad didėjanti KIM-1 koncentracija leidžia galvoti apie progresuojančią obstrukciją. uNGAL koncentracija nustatant $DIF < 40\%$ tame pačiame tyrime buvo 0,814 ir nustatant $DIF < 45\%$ – 0,868. Remiantis šiais radiniais padaryta išvada, kad didėjanti uNGAL koncentracija gali būti susijusi su didėjančia obstrukcija (168).

2.6. Molekuliniai ir imunohistocheminiai šlapimtakio audinio tyrimai

Įgimtas šlapimtakio susiaurėjimas yra pagrindinė sutrikusio šlapimo nutekėjimo iš inksto kolektorinės sistemos priežastis, o tai ilgainiui sąlygoja inksto parenchimos sklerozę ir jo funkcijos sutrikimą (37, 38). Nepaisant molekulinį ir biocheminių PUJ tyrimų gausos, vis dar mažai žinoma apie šios įgimtos anomalijos etiologiją. Molekuliniai ir imunohistocheminiai, histologiniai šlapimtakio struktūros audinio tyrimai išlieka svarbūs siekiant gerinti supratimą apie šios vystymosi ydos etiopatogenezę ir galimybę remiantis jais prognozuoti operacinio gydymo rezultatus.

Dažniausiai literatūroje aprašomas būdas prognozuoti pooperacines išeitis pagal histologinius duomenis yra šlapimtakio lygiųjų raumenų vertinimas ekstraląstelinio matrikso atžvilgiu.

Dong Suk Kim ištyrė 75 PUJO segmentus. Juos padalino į 3 dalis: prestenotinė dalis, stenozė ir postenotinė dalis, ir tyrė kolageno ir lygiųjų raumenų santykį ir kaip pooperacinės išeitys priklauso nuo šio santykio. Hidronefrozė po operacijos labiau pagerėjo tiems pacientams, kurių PUJO buvo mažesnis kolageno ir lygiųjų raumenų santykis ($p = 0,049$). Tiriamiesiems, kurie turėjo mažesnę elastino procentą visuose PUJO segmentuose, hidronefrozė po operacijos taip pat sumažėjo daugiau (169).

Kiratli ir kt. aprašė suaugusių pacientų, kuriems buvo PUJO ir kuriems buvo atliekama pieloureteroplastika, kohortą. Buvo palygintos 2 grupės: viena – kuriai buvo diuretinės renogramos pagerėjimas po operacijos, o kitai

– ne. Šlapimtakio audinyje buvo rasta statistiškai reikšmingai didesnė lygiųjų raumenų proporcija geldelės pjūvio krašte (1,85 +/- 0,87), kai buvo pagerėjimas, nei tais atvejais, kai pagerėjimo nebuvo (0,36 +/- 0,03) ($p = 0,001$). Buvo stipri reikšminga koreliacija tarp lygiųjų raumenų dalies šlapimtakio audinyje ir pagerėjimo (26).

Susiaurėjusiai PUJ būdingas ir peristaltikos sutrikimas. Siekdami paaiškinti šio reiškinio etiopatogenezę, Hunziker ir kt. aprašė anoktamino 1 (kalcio jonų aktyvuojamas chloro kanalas) nustatymą šlapimtakio striktūros audinyje *Western blot* analizės būdu ir nustatė, kad PUJO buvo suintensyvėjęs tirozino fosforilinimas, palyginti su kontroline grupe, ir sumažėjusi Ano1 raiška PUJO audinyje. Remdamiesi gautais rezultatais autoriai iškėlė prielaidą, kad pakitęs tirozino fosforilinimas slopina kalcio aktyvuojamus chloro kanalus PUJO audinyje. Dėl to PUJO segmentas pasižymi menkesniu peristaltiniu aktyvumu (170).

Knerr ir kt. savo tyrime aprašė, jog ištyrus RT-qPGR 20 PUJO ir 21 kontrolinės grupės šlapimtakį, nustatyta, kad PUJO buvo reikšmingai padidėjusi endotelino (jis dalyvauja lygiųjų raumenų susitraukimo mechanizmuose) raiška ir endotelino / CD31 santykis, taip pat reikšmingai sumažėjusi andromedulino (susijęs su lygiųjų raumenų atsipalaidavimo mechanizmais) raiška PUJO audinyje, palyginti su kontroline grupe ($p < 0,05$) (171).

Hosgor aprašė imunohistocheminius lygiųjų raumenų miozino sunkiosios grandinės 1,2 izoformos ir neraumeninio miozino izoformos PUJO audinyje ir kontrolinės grupės audinių tyrimus. Į PUJO grupę buvo įtrauktas 21 pacientas, o į kontrolinę grupę – 14. Imunohistocheminė SM1 ir SM2 raiška buvo reikšmingai didesnė PUJO grupėje, palyginti su kontroline grupe ($P < 0,05$) (172).

Bayrak ir kt. aprašė atliktų imunohistocheminių PUJO audinio tyrimų rezultatus. Buvo nustatyta, kad šiame audinyje rasta mažiau kaveolino 1, taip pat PUJO buvo sumažėjęs intersticinių *Cajal* ląstelių kiekis. Padaryta prielaida, kad galimas ryšys tarp šių dviejų požymių, kurie galbūt lemia peristaltikos ir peristaltinio impulso perdavimo sutrikimus PUJO (173).

Kalbant apie įvairių ląstelių kiekį PUJO audinyje, reikšmingiausių pakitimų randama ir tarp telocitų (intersticinių ląstelių, perduodančių signalus). PUJO ir VUJO audinyje jų aptinkama gerokai mažiau nei normalaus šlapimtakio audinyje (174). Dar viena iš priežasčių, lemiančių mažesnę šlapimtakio striktūros peristaltinį aktyvumą, gali būti PDGFR α^+ (trombocitų augimo faktoriaus receptoriaus α turinčios ląstelės). Šių ląstelių kiekis nesiskyrė PUJO ir kontrolinės grupės šlapimtakio audinyje, tačiau buvo nustatyta PDGFR α^+ ląstelėse sumažėjusi kalcio SK3

kanalų raiška PUJO audinyje. Šie kanalai, tikėtina, dalyvauja kuriant peristaltinę bangą (175).

Palyginus ekstraląstelinio matrikso baltymus PUJO ir normaliaame šlapimtakio audinyje atliekant imunohistocheminį tyrimą nustatyta, kad PUJO audinys turėjo reikšmingai daugiau fibronektino, 4 tipo kolageno ir laminino tarpuskaiduliniame lygiųjų raumenų sluoksnyje ir lygiųjų raumenų stromoje. PUJO audinyje taip pat buvo padidėjusi *BCI-2* raiška. Jame nenustatyta intersticinių *Cajal* ląstelių, bet buvo gausu mastocitų (176).

Tęsdami pastarąją mintį apie uždegiminių ląstelių pagausėjimą PUJO, kiti tyrėjai aprašė, kad PUJO vyko infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis ir eozinofilais. Padidėjęs interleukino 5 ir eotaksino aktyvumas nustatytas atliekant imunohistocheminius tyrimus ir *in situ* hibridizaciją, taip pat buvo nustatyta padidėjusi mastocitų degranuliacija PUJO urotelyje. Interleukino 4, interferono γ ir TNF- α aptikti nepavyko.

Urotelis, kaip ir kitų organų – žarnų ar kvėpavimo takų – atlieka aktyvų imuninį atsaką reguliuojančią funkciją. Daug su eozinofilais susijusių citokinių, kurie gali lemti mastocitų degranuliaciją, yra pagrindinės signalinės molekulės PUJO urotelyje (177).

Kaip anksčiau minėta, ryškūs molekuliniai ekstraląstelinio matrikso, ląstelių citoskeleto, miozino sudėties, lygiųjų raumenų diferenciacijos, tarpląstelinų jungčių ir ląstelių funkcijos pakitimai nustatyti žmogaus PUJO. Cutroneo ir kt. aprašė tyrimą, kurio rezultatai parodė, kad lygiųjų raumenų citoskeleto baltymų talino ir β -distroglikano pusiausvyra buvo nežymiai sutrikdyta, $\alpha 7B$ ir $\beta 1D$ integrinų buvo sumažėję, o $\alpha 7A$, $\beta 1A$ ir aktyvios kaspazės 3 padaugėję, palyginti su kontroliniais šlapimtakiais. Šie pokyčiai PUJO galbūt paaiškina padidėjusią lygiųjų raumenų ląstelių apoptozę PUJO. Vėliau vykstantis lygiųjų raumenų ląstelių citoskeleto persitvarkymas PUJO audinyje gali būti susijęs su po gimimo įvykstančiu $\alpha 7A$, $\beta 1A$ integrinų susijungimu su $\alpha 7B$ ir $\beta 1D$ integriniais. Šis reiškinys galėtų paaiškinti spontanišią hidronefrozės regresiją bręstant PUJ po gimimo (178).

Knerr ir kt. tyrė azoto oksido sintetazės ir neuropeptido Y raišką PUJO ir normalaus šlapimtakio audinyje. Tyrimo rezultatai atskleidė, kad azoto oksido sintetazės raiška buvo reikšmingai mažesnė PUJO ir standartizuota pagal GADPH, ir pagal CD31 ($p < 0,05$). Neuropeptido Y raiška reikšmingai nesiskyrė tarp tiriamųjų ir kontrolinės grupės (179).

Yilmaz ir kt. aprašė 42 pacientų, kuriems buvo PUJO, ir 20 kontrolinės grupės PUJO iš autopsijų imunohistocheminį tyrimą, kurio metu nustatyta, kad SHH, TBX18 ir TSHZ3 imunohistocheminė raiška buvo statistiškai reikšmingai didesnė PUJO nei kontrolinės grupės PUJ (180).

Chen ir kt. ištyrė 60 PUJO ir 10 kontrolinių šlapimtakių, kuriuose nebuvo obstrukcijos, trimis skirtingais būdais: atlikdami imunohistochemiją, *Western blot* ir RT-qPCR buvo nustatyta *GLI3* ir *TSHZ3* raiška. Minėtų veiksmų imunohistocheminės raiškos PUJO audinyje nebuvo, o iRNR raiška buvo ryškiai mažesnė PUJO audinyje (181).

2.6.1. Su randėjimu susijusių veiksmų nustatymas šlapimtakio audinyje

Reis ir kt. ištyrė 16 PUJO mėginių ir nustatė, kad *MMP9* raiška buvo padidėjusi, o *TIMP1* raiška buvo sumažėjusi, kai buvo gera pooperacinė išėitis ($T 1/2 > 20$ minučių, simptomų nebuvimas, gerėjanti inkstų funkcija ir mažėjantis inkstų kolektorikos išsiplėtimas). Straipsnio autoriai darė prielaidą, kad intensyvesnė *MMP9* raiška gali būti susijusi su didesne audinio degradacija ir audinio persitvarkymo procesu, i tai gali būti naudojama kaip prognostinis veiksnys po operacijos (28).

Yang ir kt. tyrė *EGF* ir *TGFβ1* raišką 25 PUJO ir 15 kontrolinės grupės šlapimtakių audinio mėginiuose. Imunohistochemijos, *in situ* hibridizacijos RT-qPCR būdu buvo nustatyta padidėjusi *TGFβ1* raiška ir sumažėjusi *EGF* raiška PUJO audinyje. *EGF* ir *TGFβ1* raiškos pokyčiai gali būti susiję su PUJO patogeneze (182).

Koca ir kt. taip pat aprašė imunohistocheminius PUJO tyrimus. Ištyrė 36 PUJO segmentus ir 14 kontrolinių šlapimtakio audinio fragmentų. Gauti rezultatai parodė, kad tirtu kontrolinio audinio gleivinė intensyviau nusidažė TNF- α , o PUJO audinyje intensyviau – TGFβ3 (183).

Seremetis ir kt., taip pat naudodami eksperimentinį modelį ir tirdami PUJO pašalintas pieloureteroplastikos metu, nustatė, kad eksperimentiškai sukėlus hidronefrozę geldelėse, *TGFβ* raiška buvo didesnė nei normos atveju. Pašalinus obstrukciją *TGFβ* raiška išliko didesnė nei kontrolinės grupės, bet skyrėsi ir nuo tų atvejų, kai obstrukcija buvo palikta. Vertinant įgimtą obstrukciją *TGFβ* raiška taip pat buvo didesnė PUJO grupėje, palyginti su normalia geldele. Didelė *TGFβ* raiška koreliavo su gera pooperacine išėitimi, gera inkstų funkcija, raumenų hipertrofija ir staigia obstrukcijos pradžia (184).

2.6.2. Su randėjimu susijusių veiksmų funkcija

Iš mūsų pasirinktų randėjimo žymenų šlapimtakio audinyje labiausiai yra ištirta *TGF* grupė. Panašiausia funkcija iš *TGF* grupės pasižymi *TGF 1-3* ir juos lyginant tarpusavyje matyti tik nedidelių struktūrinių skirtumų (185). Iš minėtų *TGF* grupės geriausiai žinomas ir labiausiai paplitęs žmogaus

audiniuose yra *TGFβ1*, polipeptidas, kuris reguliuoja ląstelių diferenciaciją, proliferaciją, adheziją ir imuninį atsaką. Šio faktoriaus aptinkama audinių pažeidimo vietose, vystantis uždegimui ar vėžiniams procesams. Šis baltymas reguliuoja kitų augimo faktorių efektą. Brandžios struktūros *TGFβ1* gali formuoti heterodimerus su kitais *TGF* šeimos baltymais (185, 186). *TGFβ1* yra saugomas ekstraląsteliniam matrikse kartu su savo prodomu. *TGFβ1* aktyvacijai reikia prisijungti α -V integriną (esantį ląstelės membranoje) prie RGD sekos *TGF* prodome ir taip pat reikia mechaninio poveikio šiam domeniui, kurį ekstraląstelinėje matricoje laiko latentiniai *TGFβ* surišantys baltymai (LTBP). Kadangi *TGFβ* sintezė ir išskyrimas susideda iš daugelio proteolitinio proceso etapų, surišimo ir išskyrimo, *TGFβ* raiška ir aktyvumas priklauso nuo proceso trukmės ir situacijos.

Lėtinės inkstų ligos atveju randėjimas yra vienas iš esminių reiškinų, lemiančių inkstų veiklos sutrikimą. Randėjimo procese nuo *TGFβ/SMAD* priklausoma signalinė sistema yra svarbi randėjimą reguliuojanti grandis. *TGFβ1* reguliuoja ekstraląstelinio matrikso sintezę ir irimą progresuojant inkstų randėjimui ir skatina inkstų kanalėlių epitelinių ląstelių transformaciją į miofibroblastus epitelinės-mezenchiminės transformacijos keliu, šitaip prasideda randėjimas. Yra žinoma, kad kiti *TGFβ1* signalinio kelio mediatoriai *SMAD2* ir *SMAD3* yra aktyvuojami randėjimo pažeistuose inkstuose tiriant tiek žmonių, tiek laboratorinių gyvūnų inkstus. Progresuojant randėjimui *SMAD2* turi randėjimą stabdantį poveikį, o *SMAD3* – atvirkščiai. Jis prisijungia prie kolageno promotoriaus sekos ir taip skatina inkstų randėjimą ir slopina *MMP-1*, kuris slopina ekstraląstelinio matrikso irimą aktyvinant *TIMP-1*. Priešingu atveju *SMAD2* geno išjungimas inkstų kanalėlių epitelinėse ląstelėse skatina *SMAD3* aktyvuotą inkstų randėjimą, kuris yra susijęs su *Smad3* fosforiliniu, jo translokacija į ląstelės branduolį, *TGFβ1* raiškos aktyvinimu ir kolageno I ir III genų transkripcija (187). Tarp su liga susijusių nuo ROS (reaktyvių deguonies rūšių) priklausanų genomo taikinių *TGFβ1* stimuliuoja potencialiai randėjimą skatinančių genų raišką *PAI-1* ir *CTGF*, taip pat raišką tų genų, kurie koduoja ekstraląstelinio matrikso struktūrines dalis (fibronektiną, kolageną I). Vienas iš labiausiai *TGFβ1/SMAD3* reguliuojamų faktorių yra *PAI-1*, kuris yra reikšmingas į ROS reaguojantis genas ir dalyvauja audinių randėjimo procesuose. Kaip pagrindinis plazminis inhibitorius, *PAI-1* reguliuoja ekstraląstelinio matrikso degradaciją palengvindamas jo komponentų kaupimąsi pažeidimo vietoje. *PAI-1* trūkumas apsaugo nuo inkstų pažeidimo, o didesnė jo raiška skatina intensyvesnį randėjimą uždegiminio proceso metu, kai į uždegimo vietą pritraukiamos uždegiminės

ląstelės, makrofagai ir miofibroblastai. Ši teiginį paremiančiu faktu galima laikyti tai, kad *PAI-1*^{-/-} pelėms sukūrus pieloureterinės jungties obstrukciją, jų inkstuose išsivysto silpnėnis uždegiminis atsakas reaguojant į šlapimtakio obstrukciją, tuo remiantis galima manyti, kad *PAI-1* skatina audinio infiltraciją makrofagais ir T ląstelėmis (186).

2.6.3. Šlapimtakio striktūros audinio proteomo tyrimai

Yueyan Li ir kt. aprašė, kad 15 skirtingų baltymų raiška buvo padidėjusi ir 33 – sumažėjusi vystantis įgimtam šlapimtakio susiaurėjimui. Reikšmingi baltymų raiškos pokyčiai lemia pakitusią ekstraląstelinio matrikso ir citoskeleto struktūrą. Padidėjęs oksidacinių mechanizmų aktyvumo reguliavimas ir su uždegimo procesais susijusios egzocitozės pakitimai galimai lemia įgimtą šlapimtakio striktūrą. Padidėjusi biglikano, fibulino 1, miozino 10, citochromo b5 raiška galbūt lemia PUJO išsivystymą. Šių baltymų raiškos sutrikimas gali būti susijęs su sutrikusiu lygiųjų raumenų ir urotelio integralumu ir padidėjusiu oksidaciniu stresu (188).

Uzay Görmüş ir kt. aprašė dviejų krypčių gelinės elektroforezės analizės rezultatus. Ištyrę 12 vaikų PUJO audinį, autoriai nustatė, kad 4 baltymų: tropomiozino β ir α -1, aktino ir desmino, buvo gausiau striktūroje nei šlapimtakio audinyje, esančiame distaliau striktūros. Atlikta dar viena panaši analizė. Palyginti striktūros audinio ir šlapimtakio audinio, esančio proksimaliau striktūros, baltymai. Nustatyta, kad šilumos šoko (angl. *heat shock*) baltymas β -1 ir anglies anhidrazė 1 buvo padidėję striktūros audinyje, o tropomiozino α -3 ir ATF sintetazės β buvo daugiau proksimaliau šlapimtakio striktūros esančiame audinyje. Palyginus audinį proksimaliau ir distaliau šlapimtakio striktūros nustatyta, kad distalinėje dalyje buvo daugiau aneksino A1, A5 ir vimentino, mitochondrinės ATF sintetazės beta 1 subvieneto, peroksiredoksino-2 ir apolipoproteino A1 proksimalinėje dalyje. Bioinformatinė analizė padėjo nustatyti, kad baltyminės struktūros skirtumai skirtinguose šlapimtakio striktūros audinio segmentuose yra bendrai susiję su lygiųjų raumenų skaidulų susitraukimų reguliavimu ir lipazės slopinimo aktyvumo pakitimu (189).

3. DARBO METODOLOGIJA

Tyrimas atliktas 2018–2022 metais VUL SK Vaikų chirurgijos, ortopedijos ir traumatologijos centro Vaikų chirurgijos skyriuje. Buvo gautas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimas Nr. 158200-18/6-1044-544, patvirtinimo data 2018-06-05, ir du papildymai (2019-02-20 ir 2019-09-19) atlikti biomedicininį tyrimą (priedai Nr. 1 ir Nr. 2). Visi pacientai, įtraukti į tyrimą, buvo konsultuoti ir gydyti Santaros klinikose. Visi biocheminiai šlapimo tyrimai buvo atlikti Vilniaus universiteto Santaros klinikų laboratorinės medicinos centre, biochemijos laboratorijoje (atliko medicinos biologė L. Gogelienė), o molekuliniai šlapimtakų tyrimai buvo atlikti Vilniaus universiteto Gamtos mokslų centro laboratorijoje (atliko P. Barasa ir R. Žilinskaitė-Tamašauskė).

Atlikti tyrimą buvo gautas tiriamųjų tėvų arba globėjų sutikimas ir pasirašyta Informuoto asmens sutikimo forma. Tyrimą sudarė keli etapai.

3.1. Tyrimo etapai

1. Echoskopijos suleidus diuretikų vertinimas tiriant įgimtą hidronefrozę remiantis retrospektyviais duomenimis.
2. Tiriamųjų perspektyviam tyrimui atranka ir duomenų rinkimas.
3. Šlapimo NGAL, $\beta 2$ mikroglobulino ir mikroalbumino ir echoskopinių inkstų parametrų reikšmės nustatymas prognozuojant inkstų funkcinės scintigrafijos rodiklius ir operacinį gydymą.
4. Su fibroze susijusių genų raiškos tyrimas šlapimtakio striktūros audinyje ir jos palyginimas su raiška šlapimtakio, kuriame nėra obstrukcijos, audinyje.
5. Echoskopinių pooperacinių išeičių fiksavimas ir jų ryšio su randėjimo genų raiška šlapimtakio audinyje nustatymas.
6. Duomenų analizė ir gautų rezultatų interpretavimas.

3.2. Tyrimo eiga

Tiriamųjų atranka: 2018–2022 metais dalyvauti tyrime buvo kviečiami ligoniai, atvykę į VUL SK Konsultacinę polikliniką vaikų chirurgo arba vaikų urologo konsultacijai, kuriems vizito metu arba iki vizito buvo diagnozuota vienpusė arba abipusė hidro- arba ureterohidronefroze, ir kontrolinės grupės tiriamieji, kurie buvo konsultuojami dėl kitų priežasčių, o vertinant echoskopiškai abu inkstai buvo be matomų anomalijų.

3.2.1. Įtraukimo kriterijai

Amžius iki 11 metų imtinai (berniukai ir mergaitės) – perspektyvinėje tyrimo dalyje (nutarta įtraukti tiriamuosius iki lytinio brendimo, nes vyresniems vaikams ir paaugliams dažnai būna kitos etiologijos šlapimo takų obstrukcija) ir amžius iki 17 metų retrospektyvinėje tyrimo dalyje.

Vienpusė arba abipusė hidro- arba ureterohidronefrozė.

Kontrolinės grupės tiriamasis konsultuojamas dėl kitų priežasčių, jį vertinant echoskopiskai nebuvo aptikta šlapimo takų anomalijų.

Sutikimas dalyvauti tyrime.

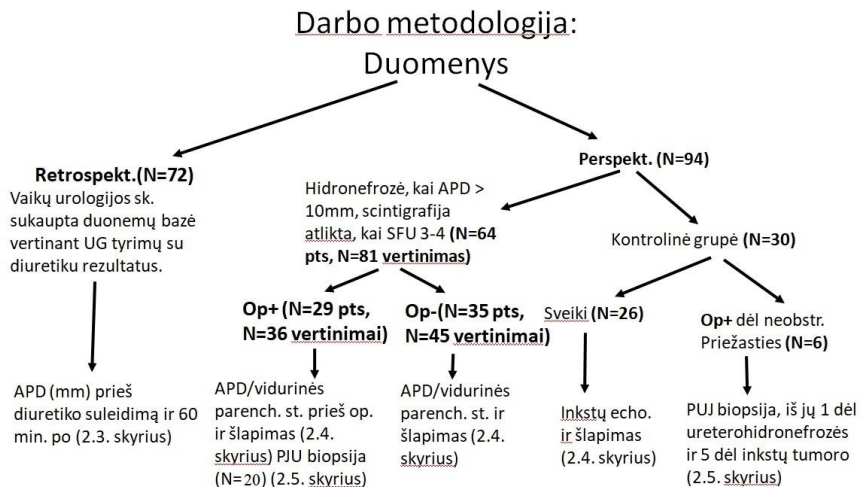
3.2.2. Neįtraukimo kriterijai

Pasireiškę ūminės ligos simptomai.

Vienintelis inkstas / priešingos pusės inksto displazija.

Įgyta šlapimo takų obstrukcija.

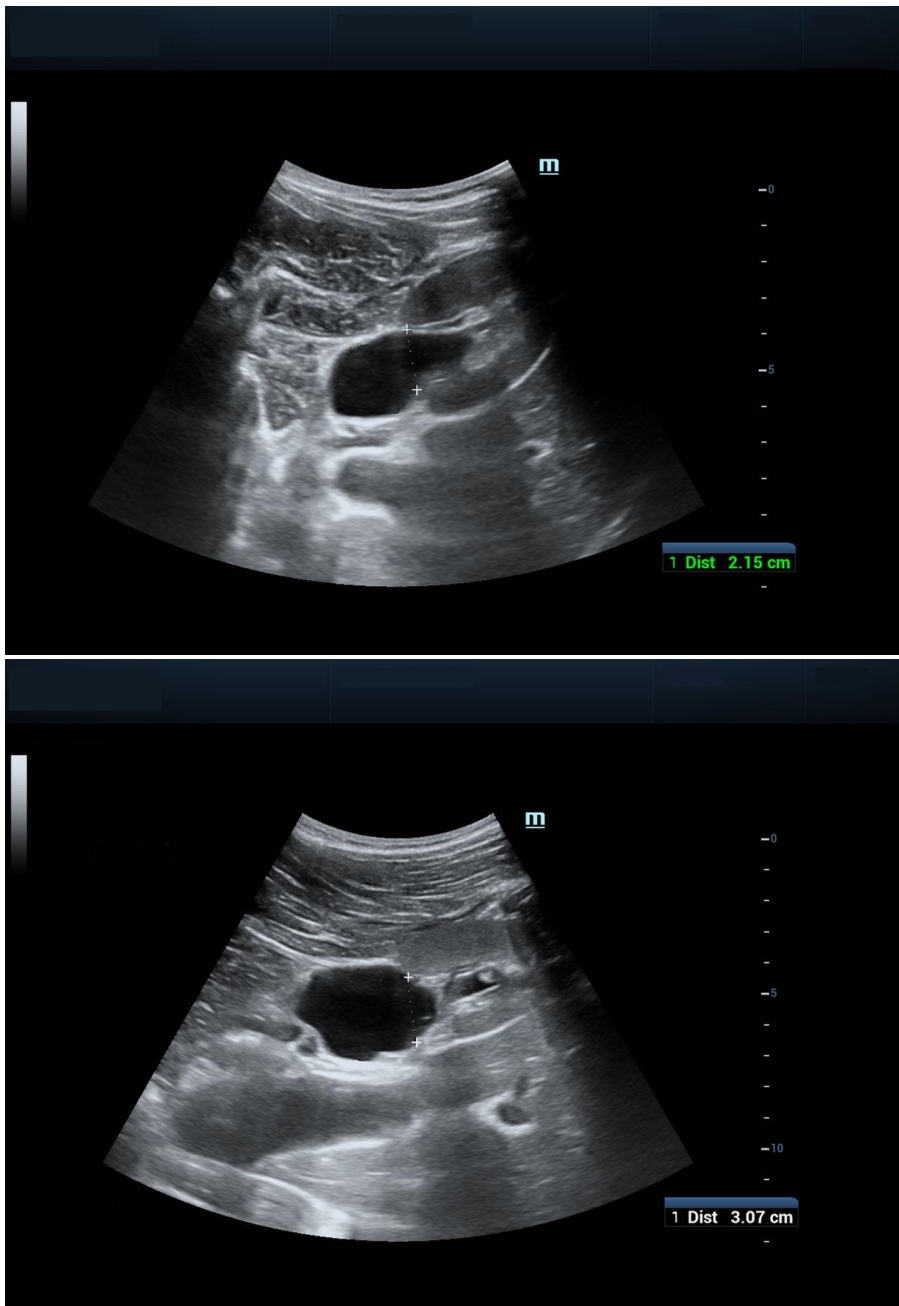
3.2.3. Atlikto tyrimo schema



2 pav. pts – pacientai, op+ – operuota, op– – neoperuota

3.3. Echoskopijos suleidus diuretiko efektyvumo prognozuojant chirurginį gydymą tyrimo metodika

Vaikų urologijos skyriuje sukaupta retrospektyvi duomenų bazė, joje registruojami echoskopinių inkstų tyrimų suleidus diuretiko rezultatai. Buvo fiksuojamos hidronefrotinio inksto APD reikšmės prieš diuretiko injekciją ir po jos. Į tyrimą buvo įtraukti 72 pacientai (42 berniukai ir 30 mergaičių, amžius svyravo nuo 2 mėnesių iki 17 metų, amžiaus mediana buvo 7,07 metų). Tiriamieji buvo tirti ir gydyti Santaros klinikose nuo 2006 metų sausio mėnesio iki 2011 metų spalio mėnesio, kai atlikus inkstų echoskopiją geldelės APD buvo 10 mm ir didesnis. Atliekant duomenų analizę buvo skaičiuota tiesinė regresija ir nustatytos APD kovariantės. Viena iš reikšmingų kovariančių buvo paciento amžius, dėl to pacientai buvo suskirstyti į 3 amžiaus grupes, kuriose amžiaus įtakos APD neliko. Pacientai suskirstyti į 0–4 metų, 5–9 metų ir 10–17 metų grupes. Iš retrospektyvių duomenų žinoma, kad visiems pacientams taip pat buvo atlikta cistograma ir atmesta diagnozė, kad jiems yra VUR ir neurogeninė šlapimo pūslė. Visiems pacientams buvo atlikta echoskopija, vėliau ji pakartota prieš pakartotinį tyrimą į veną suleidžiant 1 mg/kg furozemido, kai paciento svoris buvo iki 20 kg, arba ne daugiau kaip 20 mg, kai paciento svoris buvo didesnis. Prieš atliekant šį tyrimą pacientų taip pat buvo prašoma pagerti vandens. Geldelės APD buvo matuojamas prieš diuretiko suleidimą ir 60 minučių po diuretiko suleidimo (3 pav.).



3 pav. Geldelės APD matuojamas prieš diuretiko suleidimą ir 60 minučių po diuretiko suleidimo.

Parenchimos sklerozė buvo vertinama kaip parenchimos suplonėjimas ir hiperechogeniškumas vertinant echoskopiškai. Pagal mūsų naudojamą

obstrukcijos diagnostikos protokolą, obstrukcija yra diagnozuojama ir operacinis gydymas reikalingas, kai inksto APD išsiplėtimas atliekant pakartotinį echoskopinį vertinimą būna padidėjęs 20 %, DIF atlikus scintigrafiją yra mažiau kaip 40 % arba sumažėja 5 %, atsiranda simptomų, kaip antai skausmas, hipertenzija arba pielonefritas. Echoskopinių rizikos veiksnių pieloureteroplastikai analizė buvo atlikta naudojantis *R commander* versija 2.5-1 (Makmasterio universitetas, Hamiltonas, Ontarijas, Kanada). Kovariantės operaciniam gydymui logistinės regresijos modelyje buvo: APD prieš diuretikų suleidimą, APD po diuretikų suleidimo ir hidronefrotinio inksto parenchimos būklė. Reikšmingumo lygmeniu buvo laikytas $\alpha < 0,05$. Vertintojas taip pat nebuvo susijęs su gydymo pasirinkimu. Ultragaršiniam tyrimui buvo naudotas *Medison Accuvix XQ* ultragaršinis aparatas (*Medison Americal, Cypress, Kalifornija, JAV*).

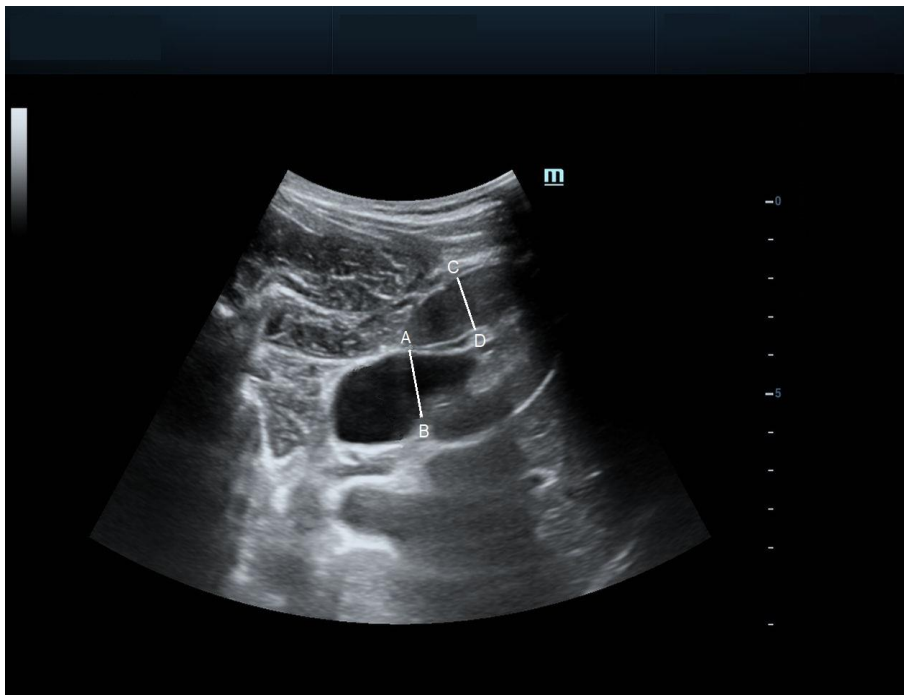
3.4. Šlapimo biocheminių žymenų efektyvumo prognozuojant operacinį gydymą ir inkstų scintigrafijos rodiklius tyrimo metodika

Nuo 2019 metų vasario iki 2021 metų vasario 64 pacientai (39 berniukai ir 25 mergaitės), kuriems buvo nustatyta hidronefrozė, buvo prospektyviai įtraukti į tyrimą. Neįtraukimo kriterijai išvardyti 2.2.2. Abu inkstai buvo vertinami echoskopiskai ir tuo pačiu metu buvo surenkamas šlapimo mėginys paprašius pasišlapinti arba naudojant šlapimo surinkimo mašelius. Visi šlapimo mėginiai buvo užšaldyti $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Hidronefrozės laipsnis buvo įvertintas pagal SFU ir AGS vertinimo sistemas. Taip pat buvo matuojamas inkstų tūris, APD, didžiausios inksto taurelės skersmuo ir vidurinės inksto dalies parenchimos storis. Ultragaršinis inkstų vertinimas buvo atliktas to paties vertintojo. Ultragaršiniam tyrimui naudojome „LOGIQ V2“ potabilų ultragaršinį aparatą. Pacientai, kuriems echoskopiskai buvo diagnozuota didelio laipsnio hidronefrozė (SFU 3–4 arba AGS 3–4), buvo nusiųsti atlikti inkstų dinaminės scintigrafijos. Operuojami buvo tie tiriamieji, kuriems tyrimo metu buvo nustatyta obstrukcija. Pagal mūsų naudojamą obstrukcijos diagnostikos protokolą, obstrukcija yra diagnozuojama ir operacinis gydymas reikalingas, kai inksto APD išsiplėtimas atliekant pakartotinį echoskopinį vertinimą būna padidėjęs 20 %, DIF atlikus scintigrafiją yra mažiau kaip 40 % arba sumažėja 5 %, atsiranda simptomų, kaip antai skausmas, hipertenzija arba pielonefritas. Remiantis šiuo protokolu diagnozuota obstrukcija visais atvejais buvo patvirtinta operaciniais radiniais. Inkstų scintigrafija buvo atlikta naudojant *Infinitia2* dviejų detektorių vaizdavimo sistemą. Tc-99m MAG3 radionuklidai

buvo naudotas pagal F-20 protokolą, o tai reiškia, kad renogramos vertinimas dėl obstrukcijos buvo atliekamas praėjus 20 minučių nuo radionuklido suleidimo. DIF, renogramos vertinimas ir inksto audinių perėjimo laikas (TTT) buvo inksto scintigrafijos vertinimo kriterijai. Skenavimas pirmas 2 minutes buvo atliekamas kas 1 sekundę, o likusias 40 minučių kas 15 sekundžių. Tokiu tikslumu buvo įvertintas audinių perėjimo laikas (ir taip skaičiuojama trukmė nuo momento, kai buvo pirmiausia pastebėtas radionuklidas inksto parenchimoje, ir momento, kai radionuklidas pasirodo inksto kolektorikoje). TTT vertintas to paties vertintojo (gyd. radiologė R. Komiegienė). Taip pat paimti kontrolinės grupės tiriamųjų, kurie neturėjo jokių šlapimo takų anomalijų pagal anamnezę, šlapimo mėginiai, ir jiems nebuvo šlapimo takų anomalijų požymių tiriant echoskopiskai. Kontrolinės grupės šlapimas buvo surinktas tokiu pačiu būdu kaip ir tiriamosios grupės – naudojant šlapimo surinkimo maišelius arba prašant pasišlapinti į šlapimo surinkimo indelį. Šlapimo mėginiai per 1–2 valandas buvo užšaldyti -80°C . Surinkus visą šlapimo mėginių imtį, jie vienu metu buvo iširti. Šlapime buvo tirtas uAlb, u β 2-M1 ir uNGAL koncentracijos ir jų santykis su šlapimo kreatininu. Šie tyrimai buvo atlikti tiek tiriamųjų, tiek kontrolinėje grupėje. Biocheminei šlapimo analizei naudojome *Abbot Architect* analizatorių. Pirmiausia iš visų mūsų turimų echoskopinių parametrų atrinkome tokį, kuris geriausiai prognozavo operacinio gydymo poreikį, tada palyginome jo ir biocheminių šlapimo žymenų kombinacijos efektyvumą nustatant obstrukciją tarp tiriamųjų grupių (hidronefrozės, kai yra obstrukcija, hidronefrozės, kai nėra obstrukcijos, ir kontrolinės grupės).

Taip pat atlikome skaičiavimus, kurie padėjo nustatyti, ar echoskopinių duomenų derinimas su šlapimo biocheminių žymenų koncentracijos tyrimu gali padėti prognozuoti inkstų scintigrafijos parametrus (DIF < 40 %, TTT > 3 min, obstrukcinę renogramos kreivę, klasifikuojamą kaip B arba D tipo pagal *O'Reilly's* klasifikaciją) (190). Logistinės regresijos metodas buvo pritaikytas siekiant nustatyti reikšmingus chirurginio gydymo ir pirmiau apibūdintų inkstų scintigrafijos rodiklių prognostinius echoskopinius ir biocheminius šlapimo rodiklius. Buvo sudarytos ir palygintos ROC kreivės ir plotas po kreivėmis, kai buvo naudojamas tik echoskopinis matmuo ir kai buvo naudojama echoskopinio matmens kombinacija kartu su biocheminiais šlapimo žymenimis prognozuoti chirurginį gydymą ir minėtus scintigrafijos rodiklius.

Vietoj dažnai naudojamo APD matmens mes naudojome APD ir vidurinės inksto dalies parenchimos storio santykį, kuris, atskirai vertinant, buvo reikšmingas prognozuojant operacinio gydymo poreikį (4 pav.).



4 pav. APD ir vidurinės inksto dalies parenchimos storio santykio skaičiavimas. *APD ir vidurinės parenchimos dalies santykis buvo apskaičiuotas AB/CD .*

Daugumoje savo skaičiavimų naudojome kumuliacinį APD ir vidurinės inksto dalies parenchimos storio santykį, kuris buvo apskaičiuojamas sudedant abiejų inkstų APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykius. Tai buvo atlikta remiantis prielaida, kad šlapimo, surinkto iš šlapimo pūslės, biocheminių žymenų koncentracija gali priklausyti nuo abiejų inkstų, nesvarbu, ar buvo vienusė, ar abipusė hidronefrozė. Kaplano–Mejerio išgyvenamumo kreivė buvo sudaryta siekiant pademonstruoti operuotų ir neoperuotų pacientų proporciją, kai mūsų sukurtas modelis prognozavo skirtingas išėtis. Šiems skaičiavimams naudojome R versiją 4.1.0.

3.4.1. Logistinės regresijos modelio ir ROC kreivių sudarymo principai, kai buvo sudėti keli įverčiai kaip prognostiniai faktoriai

Echoskopinis matmuo su biocheminiais šlapimo žymenimis sudarant ROC kreivę buvo sudėtas kiekvienu individualiu atveju apskaičiuojant tikimybę, kad modelis prognozuos teigiamą išeitį:

$z_1 = a_1 + b_1 \cdot uAlb + b_2 \cdot u\beta_2\text{-M} + b_3 \cdot uNGAL + b_4 \cdot x$ (kai buvo prognozuojama operacijos tikimybė, pailgėjęs TTT ir sumažėjusi DIF),

čia z – galimybės logaritmas arba logit funkcija; a – logistinės regresijos koeficientas (angl. *intercept*); $b(1-4)$ – kiti logistinės regresijos koeficientai kiekvienam nepriklausomajam kintamajam modelyje.

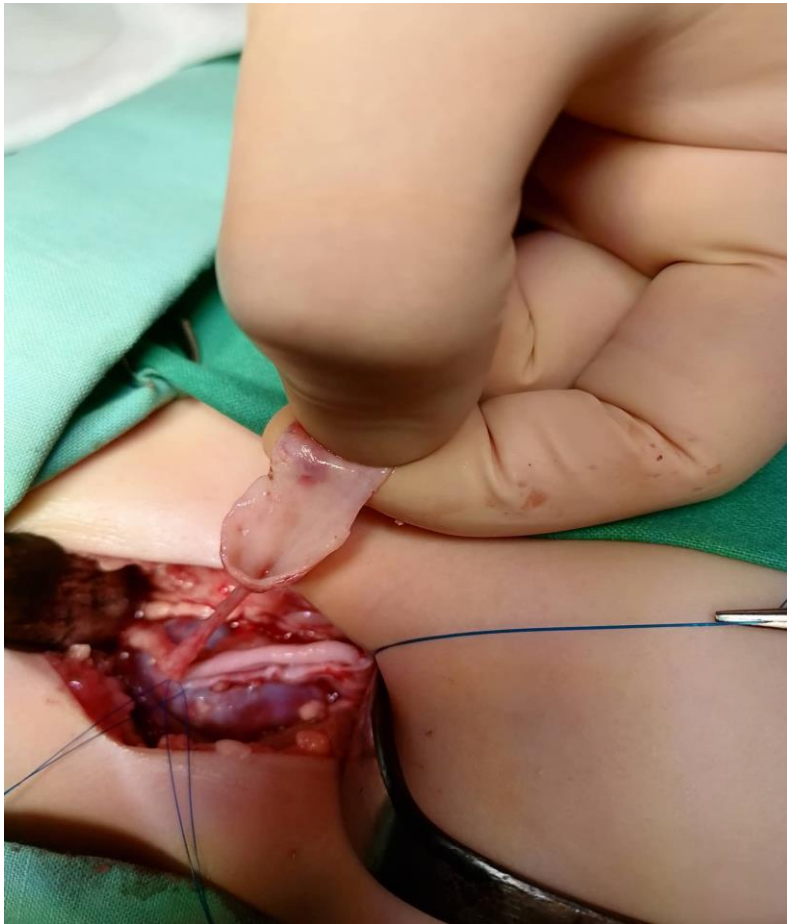
$$P = e^z / (1 + e^z),$$

čia e – natūrinio logaritmo pagrindas; p – tikimybė, kad įvykis (mūsų atveju operacija) įvyks; z – galimybės logaritmas arba logit funkcija.

Suradant ROC kreivę naudoti binariai įverčiai (0 – įvykis neįvyks, kai $p < 0,5$, ir 1 – įvykis įvyks, kai $p > 0,5$).

3.5. Su randėjimu susijusių veiksnių santykinės raiškos įgimtos šlapimtakio striktūros audinyje tyrimo metodika

Į šią tyrimo dalį įtraukti 26 pacientai. 18 iš jų buvo atlikta Hynes–Andersono pieloureteroplastika dėl PUJO, 2 pacientams atlikta ureteroneocistostomija dėl VUJO ir 6 pacientai buvo įtraukti kaip kontrolinės grupės tiriamieji, 5 iš jų atlikta nefrektomija dėl inksto naviko ir vienam – heminefrektomija dėl viršutinės inksto dalies ureterohidronefrozės, kai pieloureterinė jungtis buvo normali. Į šlapimtakio striktūros grupę įtraukta 13 berniukų ir 7 mergaitės. Amžiaus mediana operacijos metu šlapimtakio striktūros grupėje buvo 15,2 [9,07, 66,2] mėnesio. Kontrolinėje grupėje pacientų amžiaus mediana buvo 60 [35; 80,3] mėnesių, šioje grupėje buvo 4 mergaitės ir 2 berniukai. Visi pacientai, įtraukti į šią tyrimo dalį, buvo gydyti nuo 2019 iki 2021 metų. Šlapimtakio striktūros segmentas visais atvejais buvo pašalintas atliekant standartinę procedūrą ir dėl dalyvavimo tyrime operacijos apimtis nebuvo padidinta (5 pav.).



5 pav. Pieloureterinės jungties striktūra atliekant pieloureteroplastiką

Šlapimtakio striktūros audinys, pašalintas operacijos metu, visais atvejais buvo užšaldytas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje skystame azote. Kaip minėta, visiems pacientams, įtrauktiems į tyrimą, buvo atlikta inkstų echoskopija, inkstų scintigrafija, šlapimo biocheminiai tyrimai.

Surinkus visą imtį mėginiai ištirti vienu metu. Atliktas RNR išskyrimas iš audinių ir RT-PGR siekiant nustatyti santykinę su randėjimu susijusių veiksnių (*TGF β 1*, *TIMP1*, *VEGFA*, *CTGF*, *PAIL*, *MMP1*) raišką ir tos raiškos skirtumus lyginant su šlapimtakio audiniu, kai nėra obstrukcijos.

Santykinė genų raiška skaičiuota naudojant *GADPH* ir *GPI* genus kaip kontrolinius.

Molekuliniai tyrimai buvo atlikti Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų centre. Šlapimtakio audinio RNR išskyrimas buvo atliktas užšaldytus mėginius palaipsniui atšildžius ir juos centrifūguojant naudojant Trizolio reagentą (*Thermo Fisher*) pagal gamintojo protokolą. 1 mL Trizolio reagento

buvo panaudota 100 mg audinio tirti. Išskirta RNR ištirpinta nukleazių neturiničiame vandenyje ir RNR kiekis bei kokybė įvertinti naudojant *NanoDrop* prietaisą (*Thermo Fisher*).

Komplementarioji DNR (cDNR) buvo susintetinta naudojant *Maxima H Minus First Strand* cDNR sintezės rinkinį (*Thermo Fisher*). RT-PGR buvo atlikta nuodojantis *Luminaris Color HiGreen qPCR Master Mix* (*Thermo Fisher*) su *Eppendorf realplex4* kiekybinės PGR įrenginiu. *Gapdh* ir *Gpi* genų raiškos geometrinis vidurkis buvo panaudotas skaičiuojant tirtųjų genų santykinę raišką. Skaičiuojant santykinę raišką buvo taikytas bendros bazės metodas:

$$Cq(w) = 1/n \sum_{i=1}^n \log_{10}(E) \cdot Cq_i,$$

čia $Cq(w)$ – vidutinis efektyvumas; E – efektyvumas; Cq – slenkstinis qPGR ciklų skaičius, kai fluorescencinis aktyvumas viršija slenkstinę vertę; $\log(E) \cdot Cq$ – nuo efektyvumo priklausoma Cq vertė; n – techninių replikatų kiekis (mūsų atvejų $n = 2$).

Efektyvumo koeficiento skaičiavimas:

$$E = 10^{-1/k},$$

čia k – santykinis cDNR kiekio padidėjimas įvykus vienam RT-qPGR ciklui.

Toliau taikėme formulę skaičiuoti skirtumą tarp dominančio geno $Cq(w)g$ vertės ir vidutinio pasvertojo visų atskaitos genų tame mėginyje efektyvumo:

$$\Delta Cq(w) = Cq(w)g - 1/n \sum_{i=1}^n Cq(w)REF_i,$$

čia dominantis genas – g ; n – atskaitos genų (REF) kiekis, mūsų atveju kaip atskaitos genai buvo naudoti *Gpi* ir *Gapdh*.

Toliau $\Delta Cq(w)$ vertės buvo panaudotos skaičiuojant normalizuotą santykinę raišką:

$$R = 10^{-\Delta Cq(w)}$$

(191)

Siekiant nustatyti genų raiškos skirtumus tarp tiriamosios ir kontrolinės grupių, kiekvieno tiriamojo mėginio (kai yra obstrukcija) kiekvieno geno R

vertės buvo padalintos iš kontrolinės gupės audinių atitinkamų genų R verčių vidurkio. Šios galutinės reikšmės buvo naudotos statistiniuose skaičiavimuose.

Šios tyrimo dalies rezultatai buvo analizuoti naudojant *Rstudio* statistinį paketą, versija 1.2.5033. Išskirtys buvo pašalintos prieš duomenų analizę. Vilkoksono testas buvo pritaikytas charakterizuoti tirtų genų santykinės raiškos skirtumus tarp šlapimtakių, kai yra obstrukcija, audinio ir tarp kontrolinės grupės audinio. Reikšmingumo lygmuo buvo pasirinktas, kai $\alpha = 0,05$, taip pat buvo taikytas 95 % PI rezultatams. qPGR naudotų pradmenų sekų sąrašas pateikiamas 1 priede.

3.6. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir periooperacinių echoskopinių rodiklių ryšio nustatymo metodika

Remiantis pirmiau aprašyta tirtųjų genų audiniuose santykinės raiškos įverčiais bei atliktais echoskopiniais inkstų tyrimais prieš operacinį gydymą ir po jo buvo skaičiuota, ar kurio nors geno santykinė raiška koreliuoja su periooperaciniais echoskopiniais įverčiais, kaip kad APD prieš operaciją, APD po operacijos, APD ir parenchimos santykiu prieš operaciją ir po operacijos, APD ir parenchimos santykio pokyčiu, APD pokyčiu, SFU pokyčiu.

APD ir vidurinės parenchimos dalies santykio pokytis ir APD pokyčiai buvo skaičiuojami nustatant minėtų dydžių po operacijos santykį su minėtais dydžiais prieš operaciją. SFU pokytis buvo skaičiuojamas atimant SFU laipsnio reikšmę po operacijos iš SFU reikšmės prieš operaciją. Buvo taikytas Spirmano koreliacijos testas. Skaičiavimui naudojome *R commander* statistinį paketą, versija 4.1.0. Reikšmingumo lygmuo buvo, kai $\alpha = 0,05$.

3.7. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir obstrukcijos biocheminių žymenų bei inkstų scintigrafijos rodiklių ryšys

Remiantis pirmiau aprašytos tirtųjų genų šlapimtakių audiniuose santykinės raiškos įverčiais ir atliktais šlapimo biocheminiais ir kraujo tyrimais buvo skaičiuota, ar kurio nors geno santykinė raiška koreliuoja su uAlb, uNGAL, u β 2-M ir jų santykiu su šlapimo kreatininu bei kraujo serumo cistatinu c. Taip pat buvo skaičiuota, ar šlapimtakio striktūros audinio su randėjimu susijusių veiksnių raiška koreliuoja su pažeisto inksto scintigrafijos rodikliais kaip diferencine inksto funkcija ir audinių perėjimo laiku. Skaičiuojant buvo taikytas Spirmano koreliacijos testas. Skaičiavimui naudojome *R commander* statistinį paketą, versija 4.1.0. Reikšmingumo lygmuo buvo, kai $\alpha = 0,05$.

4. REZULTATAI

4.1. Echoskopijos suleidus diuretiko panaudojimas tiriant pieloureterinės jungties obstrukciją

4.1.1. Imties aprašymas

Tiriamojame grupėje hidronefrozė buvo vienas 61 (84,7 %) pacientui ir abipusė 11 (15,3 %) pacientų. Bendras įvertinimų, inkstų skaičius buvo 144. Iš jų inkstų, kai yra hidronefrozė, skaičius buvo 83. Vienpusės hidronefrozės atveju kairė hidronefrozė buvo 49,2 % ($n = 30$) ir dešinė hidronefrozė – 50,8 % ($n = 31$). 28 (39 %) pacientai buvo operuoti dėl hidronefrozės, visiems buvo atlikta vienas pieloureteroplastika, o likę 44 (61 %) pacientai buvo stebėti.

4.1.2. Echoskopinių parametrų verčių palyginimas tarp operuotų ir neoperuotų inkstų

Visų operuotų inkstų APD mediana su kvartiliais prieš diuretiko suleidimą buvo 22 [17, 21,8] mm, o neoperuotų inkstų – 17 [12,9, 20,5] mm ($p = 0,005$) ir po diuretiko suleidimo APD padidėjo iki 35,5 [29,2, 39,2] mm operuotiems inkstams ir iki 25,8 [19,8, 29] mm neoperuotiems inkstams ($p < 0,001$). Pacientų duomenų ir APD statistika pateikta 2 lentelėje.

2 lentelė. Pacientai, kuriems buvo vienpusė arba abipusė hidronefrozė, suskirstyti į tris grupes pagal amžių: 0–4 metų, 5–9 metų ir 10–17 metų (Ne-op – neoperuoti inkstai, Op – operuoti inkstai). Laužtiniuose skliaustuose pateikiami 1-as ir 3-ias kvartiliai. Kai $\alpha < 0,05$, skirtumas laikytas statistiškai reikšmingu. * – statistiškai reikšmingi skirtumai (kadangi pacientų, kuriems yra hidronefrozė, skaičius N1 = 72, o abipusės hidronefrozės skaičius N2 = 11, tai tiriamųjų inkstų, kai yra hidronefrozė, N = 83).

Amžius (metais) N = 83	Matavimas			
	prieš diuretikų suleidimą ir po jo	Op (APD mm)	Ne-op (APD mm)	P vertė
0–4 Op 9 (29 %) Ne-op 22 (71 %)	prieš	22,0 [18,20, 25,900]	17,5 [13,85, 22,625]	0,1115
	po	29,3 [26,0, 33,000]	23,5 [18,3, 27,675]	0,003886*
	APD padidėjimas 60 minučių po suleidimo	8,0 [6,200, 9,60]	4,2 [0,025, 6,85]	0,07684
5–9 Op 8 (38 %) Ne-op 13 (62 %)	prieš	23,0 [14,3, 35,25]	17,8 [13,5, 18,20]	0,1157
	po	39,5 [35,75, 43,7]	26,0 [20,00, 29,0]	0,00285*
	APD padidėjimas 60 minučių po suleidimo	4 [2,75, 26,4]	8 [4, 11,0]	0,572
10–17 Op 11 (35 %) Ne-op 20 (55 %)	prieš	23,40 [19,52, 28,1]	13,75 [10,875, 21,425]	0,01313*
	po	37,15 [32,8, 39,20]	27,55 [20,4, 32,25]	0,003213*
	APD padidėjimas 60 minučių po suleidimo	12,60 [7,0; 16,300]	9,35 [6,9; 12,325]	0,1603

4.1.3. Inksto be hidronefrozės požymių reakcija į diuretiką vienos pusės hidronefrozės atveju

Taip pat buvo pastebėta, kad kai kuriais atvejais, suleidus diuretiką, išsiplėtė ir priešingo inksto kolektorika, o jos išsiplėtimo echoskopiskai vertinant prieš diuretiką suleidimą nebuvo. Taip pat kai kuriais atvejais, esant hidronefrozei, suleidus diuretiką, tos pačios pusės kolektorikos papildomos reakcijos nebuvo. Kadangi į tyrimą buvo įtraukti 72 tiriamieji pacientai, kuriems buvo hidronefrozė, įvertinti 144 inkstai. Šie atvejai pateikti 3 lentelėje.

3 lentelė. Lentelėje pateikiamas reakcijos į diuretiką atvejų skaičius priklausomai nuo to, ar buvo hidronefrozė, ar ne. PI – pasikliautinis intervalas. Procentai skliausteliuose gauti padalinus atitinkamo laukelio skaičių iš bendro skaičiaus tiriamųjų, kuriems buvo inksto kolektorikos išsiplėtimas arba jo nebuvo prieš diuretiką injekciją (stulpelio sumos).

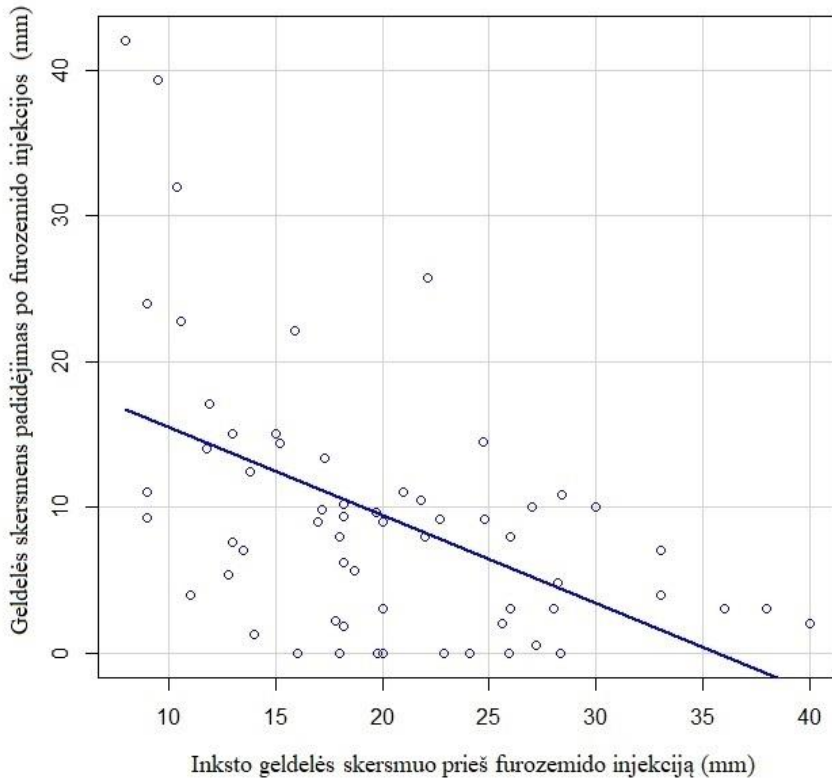
N = 144	Kolektorikos išsiplėtimas prieš diuretiką injekciją	Nebuvo kolektorikos išsiplėtimo prieš diuretiką injekciją	Chi kvadrato testas	p vertė
Atsakas į diuretiką suleidimą	71 (86 %)	16 (22 %)	51,722	< 0,001
Be atsako į diuretiką suleidimą	12 (14 %)	45 (74 %)		
Atsako į diuretiką šansų santykis, kai yra hidronefrozė	16,4 95 % PI (13,2; 20,5)			

4.1.4. APD padidėjimo po diuretiką injekcijos ryšys su APD prieš diuretiką injekciją ir priešingo inksto APD padidėjimu

Spirmeno ranginės koreliacijos testas parodė (koreliacijos koeficientas pažymėtas rs) neigiamą koreliaciją tarp APD prieš diuretiką suleidimą ir APD padidėjimo po suleidimo ($rs = -0,47$, $p < 0,001$) vienos pusės hidronefrozės atveju ($n = 61$) (6 pav.), taip pat nustatyta teigiama koreliacija tarp hidronefrotinio inksto APD padidėjimo po diuretiką suleidimo ir priešingos pusės inksto, kai nėra hidronefrozės, kolektorikos išsiplėtimo

suleidus diuretiką, kai taip įvyko ($r_s = 0,51$, $p = 0,04$). APD padidėjimas buvo vertinamas atėmus APD prieš diuretiką iš APD po diuretiką suleidimo.

Abipusės hidronefrozės atveju APD prieš diuretiką suleidimą ir po jo nekoreliavo su priešingos pusės inksto išsiplėtimu prieš diuretiką suleidimą ($p = 0,63$).

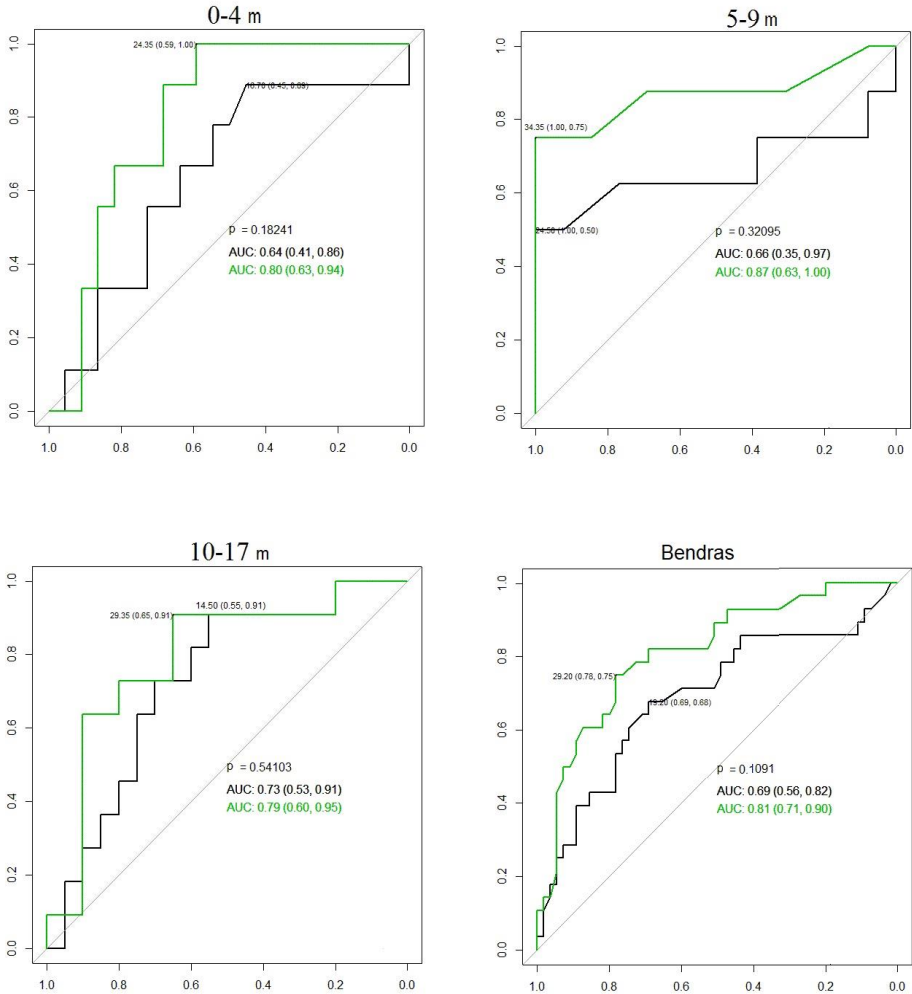


6 pav. Neigiama koreliacija tarp APD prieš diuretiką suleidimą ir APD padidėjimo po suleidimo.

4.1.5. Reikšmingos kovariantės, prognozuojančios operacinį gydymą ir APD prieš diuretiką suleidimą ir APD po diuretiką suleidimo ROC kreivių palyginimas skirtingose amžiaus grupėse

Pritaikius logistinės regresijos modelį ir pažingsninę modelio atranką, nustatytos reikšmingos kovariantės, kai priklausomasis kintamasis buvo operacijos pasirinkimas. Pacientai buvo suskirstyti į tas pačias amžiaus grupes: 0–4, 5–9 ir 10–17 metų. 0–4 amžiaus grupėje reikšminga kovariantė operacijai buvo APD po furozemido suleidimo ($p = 0,04$), 5–9 metų grupėje

– parenchimos sklerozė ($p = 0,02$) ir APD skersmuo po furozemido suleidimo buvo galbūt reikšmingas ($p = 0,05$) ir 10–17 metų grupėje parenchimos sklerozė ($p = 0,02$). ROC kreivių operacijai palyginimai, kai buvo matuojamas APD prieš diuretiko injekciją ir po jos, pavaizduoti 7 pav., o APD slenkstinės vertės prognozuoti operciją pateiktos 4 lentelėje.



7 pav. Žalios spalvos ROC kreivės vaizduoja APD suleidus diuretiko, o juodos spalvos kreivės – APD prieš diuretiko injekciją statistines savybes nustatant operacijos riziką. Atskiros ROC kreivės sudarytos kiekvienai amžiaus grupei. M – metai; p reikšmės nurodo, ar statistiškai reikšmingai skyrėsi plotas po kreive.

4 lentelė. Šioje lentelėje pavaizduotos APD slenkstinės vertės prognozuoti operaciją bei jautrumas ir specifiškumas skliausteliuose.

Amžiaus grupė	APD nesuleidus diuretiko	APD suleidus diuretiko
0–4 m.	16,7 (0,45; 0,89)	24,35 (0,59; 1)
5–9 m.	24,5 (1; 0,5)	34,35 (1; 0,75)
10–17 m.	14,5 (0,55; 0,91)	29,35 (0,65; 0,91)
Bendras	19,20 (0,69; 0,68)	29,2 (0,78; 0,75)

4.2. Šlapimo biocheminių žymenų efektyvumas prognozuojant operacinį gydymą ir inkstų scintigrafijos rodiklius

4.2.1. Imties aprašymas

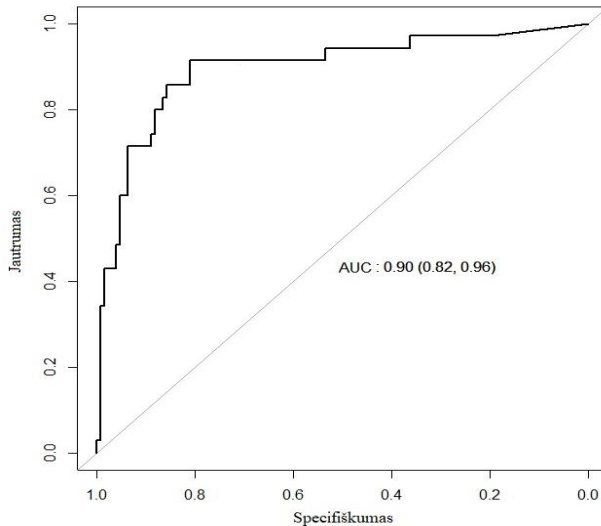
Į tyrimą prospektyviai įtraukti 64 pacientai (39 berniukai ir 25 mergaitės), kuriems buvo hidronefrozė. 17 iš jų buvo tirti 2 kartus (intervalo tarp 2 vertinimų (kai jie buvo) mediana 7,1 [5,8, 8,4] mėnesio), dėl to atliktas 81 vertinimas ir įvertinti 162 inkstai, skaičiuojant su pakartotiniais vertinimais. Kontrolinę grupę sudarė 26 pacientai (23 berniukai ir 3 mergaitės). Vidutinis amžius įtraukimo metu hidronefrozės grupėje buvo 43,7 (\pm 45,5) mėnesio ir 61,2 (\pm 41,3) mėnesio kontrolinėje grupėje. Vienpusė hidronefrozė buvo 56 pacientams, o abipusė – 8. Pacientų stebėjimo trukmės mediana buvo 22,9 [8,6; 31] mėnesio. 36 pacientams buvo diagnozuota kairė hidronefrozė, 20 – dešinė ir 8 – abipusė. 40 pacientų buvo atlikta inkstų scintigrafija ir atliktas 80 inkstų vertinimas.

4.2.2. Reikšmingų echoskopinių įverčių operacijos prognozavimui nustatymas

Logistinės regresijos modelis ir pakopinė modelio atranka (angl. *stepwise model selection*) parodė, kad reikšmingi ultragarsiniai parametrai, padedantys prognozuoti operacinio gydymo poreikį, buvo vidurinės inksto parenchimos dalies ($p = 0,014$) storis ir geldelės APD ($p = 0,0118$), kai į modelį kaip nepriklausomieji kintamieji buvo įtraukti: didžiausios taurelės skersmuo, vidurinės parenchimos dalies storis, inksto geldelės APD, inksto tūrio santykis su amžiaus normos vidurkiu (192). O didžiausios taurelės skersmuo, santykinis inksto tūris (pagal amžiaus normos vidurkį), hidronefrozės vertinimas pagal AGS ir SFU sistemas nebuvo reikšmingos kovariantės prognozuoti operacinį gydymą.

4.2.3. APD ir vidurinės parenchimos dalies santykio panaudojimas prognozuojant operacinį gydymą

Vietoj dviejų atskirų parametrų mes naudojome vieną – APD ir vidurinės parenchimos dalies santykį, kuris taip pat buvo reikšmingas prognozuojant operacinį gydymą, kai inkstai buvo vertinti nepriklausomai vienas nuo kito. (8A pav., 5 lentelė).

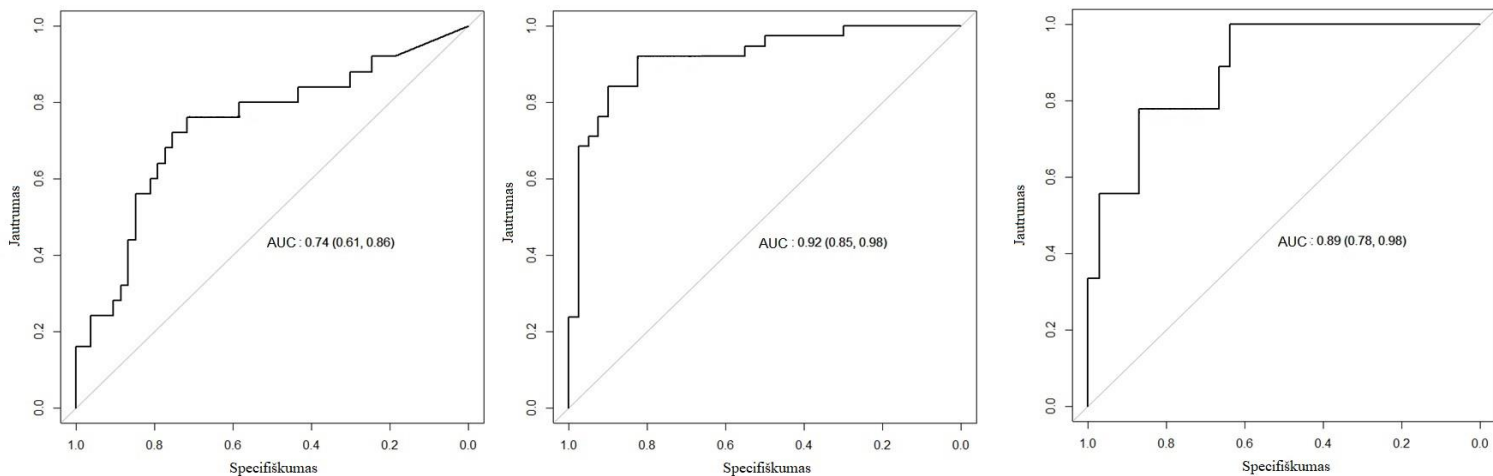


8A pav. ROC kreivė, vaizduojanti APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio statistines savybes prognozuoti operacinį gydymą, slenkstinė vertė operacijai – 1,51 ($p < 0,001$). Šansų santykis operacijai, kai APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykis daugiau nei nurodyta slenkstinė vertė esant 95 % PI – 1,97 (1,54; 2,51). N = 162 inkstai.

APD ir vidurinės parenchimos dalies santykis nesiskyrė tarp amžiaus grupių, kai tiriamieji buvo suskirstyti į 0–4, 5–8 ir 9–12 metų grupes (skaičiuotas Kruskalo–Voliso testas lygioms medianoms, $n = 162$, $p = 0,68$). APD ir vidurinės parenchimos dalies santykio vertė kontrolinėje grupėje kiekvieno inksto buvo 0,25 ($\pm 0,26$) ir svyravo nuo 0 (22 inkstų iš 52 galimų) iki 0,68.

4.2.4. APD ir vidurinės parenchimos dalies santykio panaudojimas prognozuojant inkstų scintigrafijos rodiklius

ROC kreivės analizė parodė, kad APD ir vidurinės parenchimos dalies santykis sudaro reikšmingą plotą po kreive, kai naudojamas prognozuoti radionuklido audinių perėjimo laiką (TTT) > 3 min, obstrukcinę kreivę renogramoje ir DIF < 40 % kiekvienam inkstui (8B pav., 5 lentelė).



8B pav. Iš kairės į dešinę: APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio statistinės savybės prognozuoti TTT > 3 minutės, slenkstinė vertė – 1,38; APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio statistinės savybės prognozuoti obstrukcinę kreivę (B, D tipų pagal O’Reillys klasifikaciją), slenkstinė vertė – 0,88; APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio statistinės savybės prognozuoti DIF < 40 %, slenkstinė vertė – 3,85. N = 80 (įvertinta inkstų).

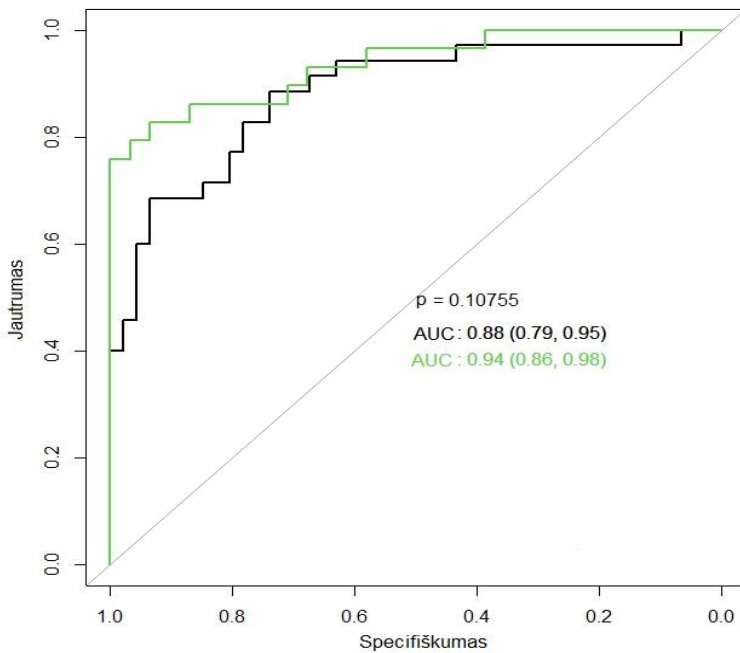
5 lentelė. APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio statistinės charakteristikos prognozuoti pokyčius inkstų scintigrafijoje ir chirurginę intervenciją kiekvienam inkstui atskirai (n = 162). J – jautrumas; SP – specifiškumas; TPV – teigiama prognostinė vertė; NPV – neigiama prognostinė vertė; TTS – teigiamas tikėtinumo santykis; NTS – neigiamas tikėtinumo santykis. APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio slenkstinė vertė prognozuoti: TTT > 3 min – 1,38, obstrukcinę kreivę – 0,88, DIF – 3,85, chirurginę intervenciją – 1,51.

N = 80* (inkstų) N = 162** (inkstai)	TTT > 3 min*	Obstrukcinė kreivė*	DIF < 40 %*	Chirurginė intervencija**
Charakteristika	Įverčiai esant 95 % PI			
J	0,36 (0,18, 0,57)	0,76 (0,60, 0,89)	0,33 (0,07, 0,70)	0,51 (0,34, 0,69)
SP	0,87 (0,75, 0,95)	0,90 (0,76, 0,97)	0,99 (0,92, 1,00)	0,95 (0,90, 0,98)
TPV	0,56 (0,30, 0,80)	0,88 (0,72, 0,97)	0,75 (0,19, 0,99)	0,75 (0,53, 0,90)
NPV	0,74 (0,62, 0,84)	0,80 (0,65, 0,90)	0,92 (0,83, 0,97)	0,88 (0,81, 0,93)
TTS	2,73 (1,15, 6,48)	7,63 (2,96, 19,66)	23,00 (2,67, 198,23)	10,89 (4,68, 25,34)
NTS	0,74 (0,54, 1,01)	0,26 (0,15, 0,47)	0,68 (0,43, 1,07)	0,51 (0,36, 0,72)

*skaičiavimai atlikti vertinant 80 inkstų, kai buvo atlikta inkstų scintigrafija, **skaičiavimai atlikti vertinant 162 inkstus (visus, kuriems buvo atlikta scintigrafija, ir kuriems nebuvo atlikta scintigrafija).

4.2.5. Suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykis kartu su biocheminiais šlapimo žymenimis prognozuojant operacinį gydymą

Siekdami įvertinti chirurginės intervencijos riziką kiekvienam pacientui naudojome abiejų inkstų APD ir vidurinės inksto parenchimos dalies santykių sumą ir pasirinktų žymenų koncentracijas šlapime. ROC kreivės analizė parodė, kad suminis APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykis buvo reikšmingas prognostinis chirurginės intervencijos rodiklis stebėjimo laikotarpiu, kai buvo operuota bent viena pusė (slenkstinė vertė operacijai buvo 3,32). Suminis APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykis kontrolinėje grupėje buvo 0,50 (\pm 0,39) ir svyravo nuo 0 (7 iš 26 tiriamųjų) iki 1,3. Derinant suminį APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykį su biocheminiais šlapimo žymenimis logistinės regresijos modelyje prognozuoti operaciją, plotas po ROC kreive padidėjo, tačiau padidėjimas nepasiekė statistinio reikšmingumo ($p = 0,1$) (9A pav.). Derinant pavienius šlapimo žymenis su suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies santykiu plotas po ROC kreive nebuvo statistiškai didesnis, nei kai ROC kreivė buvo sudaryta remiantis tik suminiu APD ir vidurinės parenchimos dalies santykiu. Tačiau suminis APD ir vidurinės parenchimos dalies santykis kartu su šlapimo biocheminiais rodikliais statistiškai reikšmingai geriau prognozavo chirurginę intervenciją nei hidronefrotinio inksto APD arba didžiausias APD abipusės hidronefrozės atveju (9B pav.) ir suminis APD ir vidurinės parenchimos dalies santykis be biocheminių šlapimo rodiklių statistiškai reikšmingai geriau prognozavo chirurginę intervenciją nei hidronefrotinio inksto APD arba didžiausias APD abipusės hidronefrozės atveju (9C pav.).



9A pav. ROC kreivių palyginimas. Žalia kreivė – suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio kartu su biocheminiais šlapimo žymenimis gebėjimas prognozuoti chirurginę intervenciją; juoda kreivė – suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio gebėjimas prognozuoti chirurginę intervenciją. Šlapimo biocheminių žymenų slenkstinės vertės operacijai: uNGAL – 2,5 ng/ml, uAlb – 11,5 mg/l, uβ2-M – 0,04 mg/l. (slenkstinės vertės apskaičiuotos sudarant ROC kreives prognozuoti operaciją, kai kiekvienas žymuo buvo atskirai imamas kaip prognostinis operacijos veiksnys). Atskirai naudojant šlapimo biocheminius žymenis kaip operacijos prognostinius veiksnius ir sudarant ROC kreives uAlb, AUC 0,72 (95 % PI 0,62;0,84), uβ2-M AUC 0,65 (95 % PI 0,53;0,76).

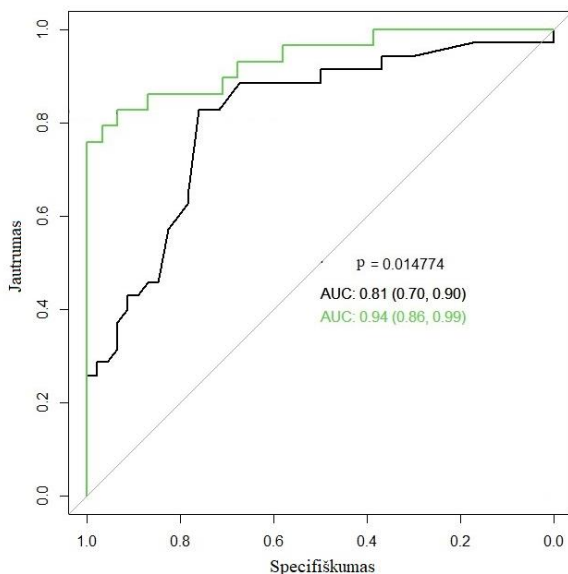
Pagal logistinės regresijos modelio duomenis tikimybė, kad reikės operacijos, kiekvienam individualiam atvejui apskaičiuojama:

$$z_1 = -5,136 + 0,198 \cdot uAlb + 0,119 \cdot u\beta 2-M + (-0,046) \cdot uNGAL + 1,218 \cdot x,$$

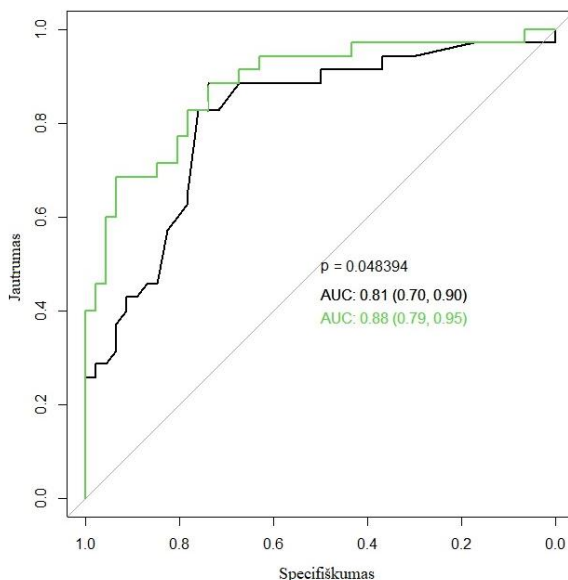
čia z – logit funkcija; x – suminis APD ir parenchimos vidurinės dalies santykis

$$P = e^{z_1} / (1 + e^{z_1}).$$

Kai $p > 0,5$, laikome, kad tokiu atveju reikia operacijos.

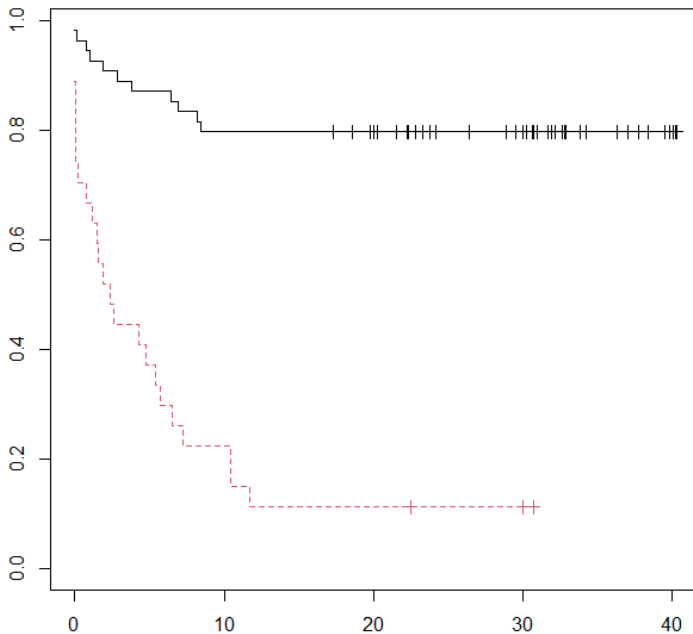


9B pav. Žalia kreivė – suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio kartu su biocheminiais šlapimo žymenimis gebėjimas prognozuoti chirurginę intervenciją; juoda kreivė – operuoto arba didžiausio iš dviejų vertintų inkstų APD reikšmė prognozuoti chirurginę intervenciją.



9C pav. Žalia kreivė – suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio kartu su gebėjimas prognozuoti chirurginę intervenciją; juoda kreivė – operuoto arba didžiausio iš dviejų vertintų inkstų APD reikšmė prognozuoti chirurginę intervenciją.

Kaplano–Mejerio išgyvenamumo be operacijos kreivių palyginimas, kai modelis prognozavo skirtingas išeitas (10 pav.).



10 pav. Kaplano–Mejerio kreivės, vaizduojančios laiką iki operacijos. Raudona kreivė rodo laiką iki operacijos, kai modelis (aprašytas 3.2.6 dalyje) prognozavo operaciją, juoda – kai prognozavo, kad operacijos nereikės. Stebėjimo laikas pateiktas mėnesiais horizontalioje koordinatų ašyje. $p = 0,00004$ (logRank). Rizikos santykis (angl. hazard ratio) $HR = 11,482$, kad bus atlikta operacija stebėjimo laikotarpiu, kai modelis prognozavo operaciją. $N = 81$.

Kai tiriamieji skaičiuojant buvo suskirstyti į dvi amžiaus grupes: iki šešerių metų ($n_1 = 58$) ir daugiau kaip šešerių metų ($n_2 = 23$), ir atlikus analogiškus skaičiavimus palygintos ROC kreivės, plotas po jomis reikšmingai nesiskyrė (< 6 metų, $p = 0,2$ ir > 6 metų, $p = 0,23$).

4.2.6. TTT, šlapimo žymenų ir suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies santykio palyginimas tarp operuotų ir neoperuotų tiriamųjų pagal amžiaus grupes

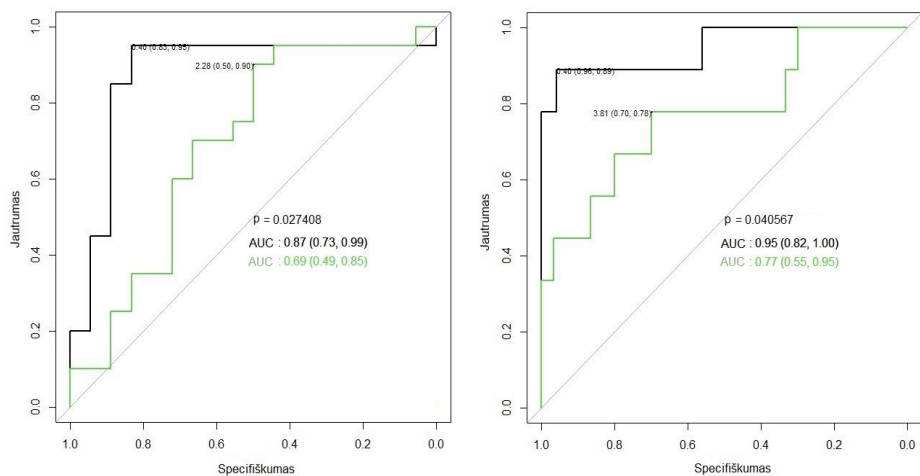
Lyginamos reikšmės, kai pacientai buvo suskirstyti į dvi amžiaus grupes – iki šešerių metų ir daugiau kaip šešerių metų – pateiktos 6 lentelėje.

6 lentelė. TTT, šlapimo žymenų ir suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio palyginimas tarp operuotų ir neoperuotų skirtingų amžiaus grupių pacientų. Op+/- nurodo operuotų (+) ir neoperuotų (-) pacientų scintigrafijos, šlapimo ir echoskopijos parametrus ir p reikšmės vertinant jų medianų skirtumą nurodytos toliau jų. ‡ – pailgėjusio TTT pasiskirstymas buvo palygintas tarp > šešerių ir < šešerių metų operuotų ir neoperuotų pacientų grupių (Fišerio testas) ir p reikšmė po kiekvienu stulpeliu. Į šias grupes nuspręsta suskirstyti, nes pacientams iki šešerių metų tikėtinesnė hidronefrozės priežastis yra PUJO, o vyresniems negu šešerių metų – intermituojanti hidronefrozė dėl papildomos kraujagyslės (193). Bendras pacientų skaičius kiekvienoje grupėje pateiktas skliausteliuose. * – statistiškai reikšminga vertė.

N=81 pts	TTT bent vieno inksto >3 min‡		uAlb (mg/l)		uAlb/Cr (mg/mmol)		β2-M (mg/l)		β2-M/Cr (mg/mmol)		uNGAL (ng/ml)		uNGAL/Cr (μg/ml)		Suminio APD/vidurinės parenchimos dalies storio santykis	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Medianos																
Op+/-																
Amžius†																
<6m (n1=58) Op-21, ne-op-37	12 (14)	4 (11)	11	3	3.26	2.72	0.09	0.04	0.055	0.044	4.2	4.4	1.93	4.31	4.37	1.94
P value			<0.001*		0.0484*		0.0039*		0.34		0.671		0.155		<0.001*	
>6m (n2=23) Op-13, ne-op-10	3(8)	1 (6)	8	8	1.2	1.15	0.05	0.06	0.01	0.012	2.9	2.0	0.63	0.48	5.02	1.9
P vertė	0.052	0.6	0.876		0.563		0.446		0.605		0.395		0.671		0.015*	

4.2.7. Suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykis kartu su biocheminiais šlapimo žymenimis prognozuojant inkstų scintigrafijos rodiklius

Siekdami prognozuoti inkstų scintigrafijos parametrus, sudarėme kelis logistinės regresijos modelius, kai priklausomieji kintamieji buvo tokie: bent vienas inkstas scintigrafijoje turėjo $TTT > 3$ minutės; bent vienoje pusėje fiksuota obstrukcinė kreivė; bent vienos pusės radionuklido pasišalinimo pusperiodis ($T_{1/2}$) > 20 minučių ir $DIF < 40$ %. Nenustatyta nė vieno reikšmingo nepriklausomojo kintamojo radionuklido pasišalinimo pusperiodžiui $T_{1/2}$, kai nepriklausomaisiais kintamaisiais buvo pasirinkti šlapimo žymenys. uNGAL ir uAlb nebuvo reikšmingi prognozuojant padidėjusį TTT, tačiau $u\beta_2\text{-M/Cr}$ santykis kartu su suminiu APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykiu buvo reikšmingi nustatant pailgėjusį TTT. Suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio plotas po kreive nustatyti $DIF < 40$ % buvo didesnis, kai suminis APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykis buvo naudotas kartu su biocheminiais šlapimo žymenimis (11 pav.). Patikrinome, kaip priklauso sumažėjusio DIF tikimybė nuo to, kiek iš šių vertintų dydžių (suminio APD ir vidurinės inksto parenchimos dalies santykio, uNGAL, $u\beta_2\text{-M}$, uAlb koncentracijos) viršija apskaičiuotas slenkstines vertes, pateiktas 11 pav. Nustatėme, kad kai 0–2 iš šių vertintinų dydžių viršijo slenkstinę vertę ($n = 17$), buvo vienas atvejis (5,5 %), kai $DIF < 40$ %, kai buvo 3 dydžiai, kurie viršijo slenkstinę vertę ($n = 18$), buvo 5 atvejai (28 %), kai $DIF < 40$ %, ir kai buvo visi 4 dydžiai, viršijantys slenkstinę vertę ($n = 4$), buvo 3 atvejai (75 %), kai $DIF < 40$ % ($p = 0,0027$, Fišerio testas).



11 pav. Kairėje pusėje esančios ROC kreivės vaizduoja suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio (žalia kreivė) gebėjimą prognozuoti TTT > 3 min, o juoda kreivė vaizduoja suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio kartu su $u\beta 2$ -M/Cr santykiu gebėjimą prognozuoti TTT > 3 min bent vienam iš inkstų poros, $p = 0,027$, slenkstinė $u\beta 2$ -M/Cr santykio vertė – 0,03 ir suminio APD ir vidurinės inksto parenchimos dalies storio santykio slenkstinė vertė – 2,28. Dešinė ROC kreivė vaizduoja suminio APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykio (žalia kreivė) gebėjimą prognozuoti DIF < 40 %, lyginant su suminio APD ir vidurinės inksto parenchimos dalies storio santykiu kartu su $u\beta 2$ -M, uNGAL, uAlb logistinės regresijos modelyje prognozuoti DIF < 40 % (juoda kreivė) su didesniu AUC, $p = 0,04$; slenkstinė suminio APD ir vidurinės inksto parenchimos dalies storio santykio vertė – 3,81, $u\beta 2$ -M 0,04 mg/l, uNGAL 0,35 ng/ml ir uAlb 4,3 mg/l. N = 40 (slenkstinės vertės apskaičiuotos kaip ir 9A pav.).

Pagal logistinės regresijos modelio duomenis tikimybė, kad bus pailgėjęs TTT, kiekvienam individualiam atvejui apskaičiuojama:

$$z_2 = -1,521 + 23,712 \cdot u\beta 2\text{-M} + 0,123 \cdot x,$$

čia z – logit funkcija; x – suminis APD ir parenchimos vidurinės dalies santykis.

$$p = e^{z^2} / (1 + e^{z^2}),$$

čia $p > 0,5$ atvejis klasifikuojamas kaip esant pailgėjusiam TTT.

Pagal logistinės regresijos modelio duomenis tikimybė, kad bus sumažėjusi DIF, kiekvienam individualiam atvejui apskaičiuojama:

$$z_3 = -7,37 + 9,865 \cdot u\beta_2 - M + 0,085 \cdot uAlb + 0,151 \cdot uNGAL + 0,52 \cdot x,$$

čia z – logit funkcija; x – suminis APD ir parenchimos vidurinės dalies santykis.

$$P = e^{z_3} / (1 + e^{z_3}),$$

čia $p > 0,5$ atvejis klasifikuojamas kaip esant pailgėjusiam TTT.

4.2.8. Šlapimo žymenų koncentracijos atsižvelgiant į TTT ir renogramos kreivę

7 lentelė. Kruskalo–Voliso testas naudotas palyginti šlapimo žymenų koncentracijos medianas atsižvelgiant į TTT ir radionuklido pasišalinimo iš inksto kolektorikos kreivės tipą. Padidėjęs TTT buvo, kai bent vieno inksto TTT atliekant scintigrafiją buvo > 3 minutės, o obstrukcinė kreivė buvo vertinta kaip B arba D tipo kreivė pagal O'Reillys klasifikaciją. * – obstrukcija, † – pacientai, – reikšmė arti statistinio reikšmingumo, kai α (0,05–0,1). Tarp tiriamųjų nebuvo nė vieno paciento, kurio bent vienas inkstas turėtų pailgėjusį TTT > 3 min ir nebūtų obstrukcinės kreivės.

N = 40 pts	uAlb (mg/l)	uAlb/Cr (mg/mmol)	uNGAL (ng/ml)	uNGAL/Cr (μg/ml)	uβ2-M (mg/l)	uβ2-M/Cr (mg/mmol)
Parametrai						
TTT < 3 obs*+ (14 pts†)	7,5	1,78	3,5	0,94	0,05	0,02
TTT > 3 su obs+ (20 pts)	3,5	3,22	3,1	1,81	0,05	0,05
TTT < 3 obs– (6 pts)	6,5	1,94	2	0,31	0,04	0,01
P reikšmė	0,489	0,519	0,292	0,059	0,446	< 0,001*

4.2.9. Šlapimo žymenų koncentracijų šlapime palyginimas tarp operuotų, neoperuotų pacientų, kuriems yra hidronefrozė, ir kontrolinės grupės pacientų bei biocheminių žymenų palyginimas pagal amžiaus grupes

8 lentelė. Kruskalo–Voliso testas atliktas siekiant palyginti šlapimo biocheminių žymenų medianas tarp operuotų, stebėtų ir kontrolinės grupės pacientų. Normalios reikšmės: uNGAL (mediana 5,2 [2,5; 12,8] ng/ml), uAlb/kreatinino santykis (< 3,39 mg/mmol), β 2-M (< 0,3 mg/l) (194–196). * Statistiškai reikšmingos vertės. † Reikšmės arti statistinio reikšmingumo, kai α (0,05–0,1).

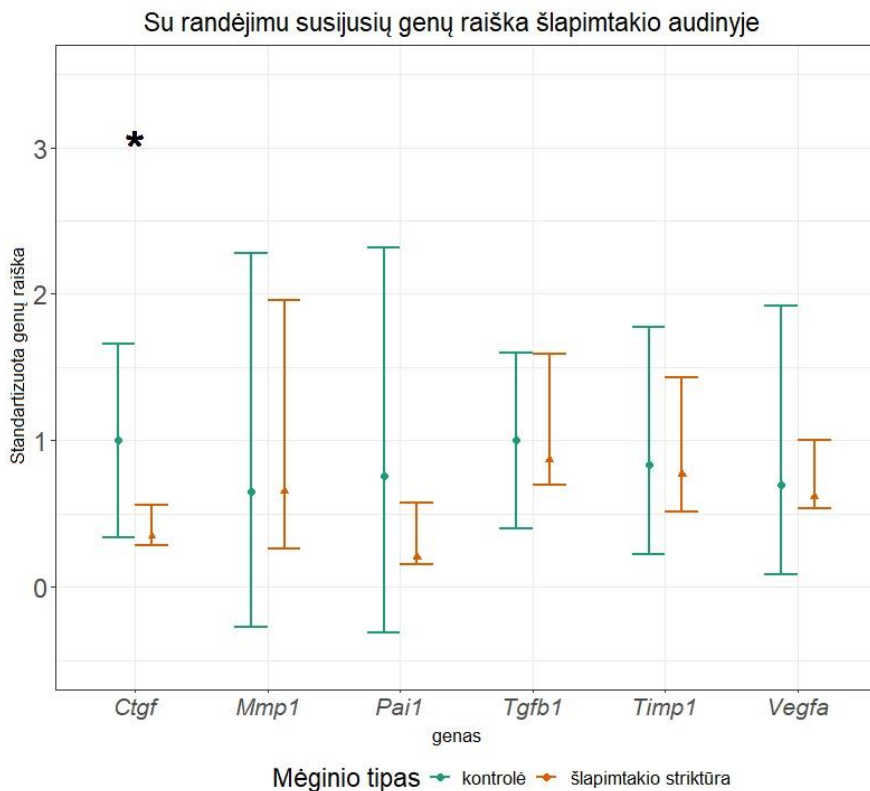
N = 107 medianos	Stebėti (n = 45)	Operuoti (n = 36)	Kontrolinė grupė (n = 26)	p reikšmė
uAlb (mg/l)	4	9	6	0,001*
uAlb/Cr (mg/mmol)	1,31	3,21	4,225	0,007*
β 2-M (mg/l)	0,04	0,07	0,075	0,02*
β 2-M/Cr (mg/mmol)	0,03	0,03	0,016	0,081†
uNGAL (ng/ml)	3,1	3,1	3,6	0,996
uNGAL/Cr (μ g/mmol)	1,6	1,02	0,73	0,07892†

Siekiant nustatyti, ar yra skirtingų amžiaus grupių (< 6 ir > 6 metų) šlapimo žymenų koncentracijos skirtumas, palygintos jų koncentracijos medianos ir reikšmingo skirtumo nenustatyta (p = 0,22 uAlb, p = 0,49 β 2-M ir p = 0,38 uNGAL).

4.3. Su randėjimu susijusių veiksnių šlapimtakio audinyje raiška

Vilkoksono rangų sumų kriterijaus taikymas parodė reikšmingą *CTGF* geno raiškos skirtumą tarp kontrolinės ir šlapimtakio striktūros grupių, kai skaičiuojant buvo pašalintos išskirtys (12 pav.). Tačiau nebuvo reikšmingo skirtumo nė tarp vieno iš su randėjimu susijusio geno santykinės raiškos, kai nebuvo pašalintos išskirtys ir kai buvo iš tiriamųjų mėginių pašalinti 2 vezikoureterinės jungties striktūros mėginiai ir iš kontrolinės grupės

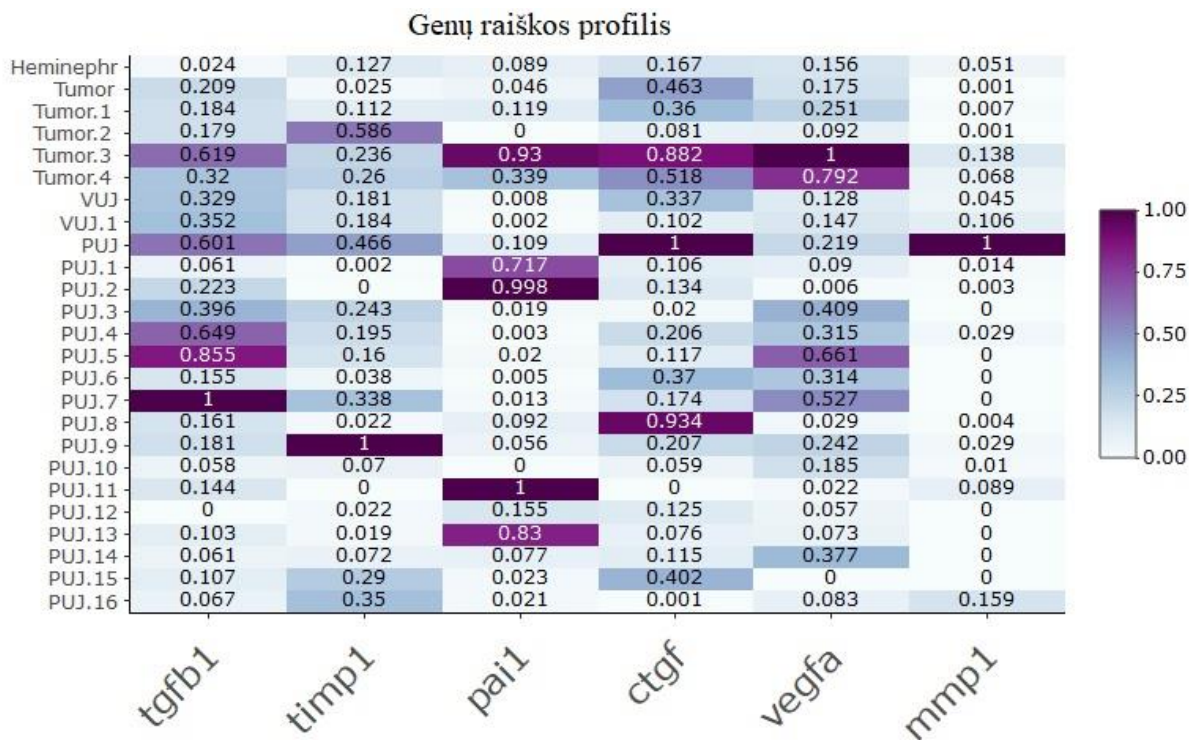
pašalintas šlapimtakio segmentas iš dvigubos inkstų sistemos (9 lentelė). Santykinės su randėjimu susijusių genų raiškos profilis pavaizduotas 13 pav. Su randėjimu susijusių genų raiškos vertės kiekviename mėginyje pavaizduotos 5 priede.



12 pav. Santykinė su randėjimu susijusių veiksnių kontroliniame ir šlapimtakio, kuriame yra striktūra, raiška audinyje. Diagramoje pateiktos medianos (taškai / trikampiukai), ūsai atitinka 95 % PI medianas. Rezultatai buvo standartizuoti pagal kontrolinės grupės atitinkamo geno raišką (tiriamo geno raišką šlapimtakio striktūros audinyje padalinant iš atitinkamo geno vidutinės raiškos kontroliniame audinyje). Žvaigždutė (*) rodo statistiškai reikšmingą raiškos skirtumą tarp šlapimtakio striktūros ir kontrolinės grupės audinio ($p < 0,05$). CTGF raiškos skirtumo tarp lygintų grupių $p = 0,03$. Skirtumui nustatyti naudotas Vilkoksono rangų sumų kriterijus. Imties dydis kontrolinėje grupėje $n_1 = 6$ ir striktūros grupėje $n_2 = 20$.

9 lentelė. Su randėjimu susijusių veiksnių santykinės raiškos medianų skirtumai tarp šlapimtakio striktūros ir kontrolinės grupės šlapimtakio audinio taikant Vilkoksono testą, kai buvo naudoti visos imties duomenys ir išskirtys nebuvo pašalintos, taip pat kai į skaičiavimus nebuvo įtraukti dviejų vezikoureterinės jungties segmentų rezultatai ir vienos kontrolinės PUJ, kai nėra striktūros, iš dvigubo inksto. 1 – kai į skaičiavimus įtraukti visi mėginiai ir išskirtys nebuvo pašalintos, 2 – kai į skaičiavimus įtraukti tik PUJ, kai yra striktūra, mėginiai ir į kontrolinę grupę tik PUJ mėginiai paimti iš preparato po nefrektomijos dėl inksto naviko, S – striktūra, K – kontrolinė grupė, † – reikšmė arti statistinio reikšmingumo, kai P [0,05–0,1).

Santykinė raiška (medianos)	<i>TGFβ1</i>	<i>TIMP1</i>	<i>PAII</i>	<i>CTGF</i>	<i>VEGFA</i>	<i>MMP1</i>
1 (visa imtis) S (N = 19)	0,68	0,72	0,11	0,365	0,48	0,66
K (N = 6)	0,8	0,81	0,422	0,99	0,61	0,65
P reikšmė	0,83	0,48	0,48	0,12	0,18	0,46
2 (visa imtis) S (N = 18)	0,57	0,304	0,21	0,33	0,499	0,674
K (N = 5)	0,725	0,968	0,425	1,01	0,62	0,164
P reikšmė	0,249	0,401	0,65	0,12	0,164	0,364
2 (pašalinus išskirtis) S	0,533	0,299	0,09	0,313	0,499	0,501
K	0,688	0,968	0,299	0,902	0,619	0,164
P reikšmė	0,185	0,275	0,412	0,079†	0,164	0,524

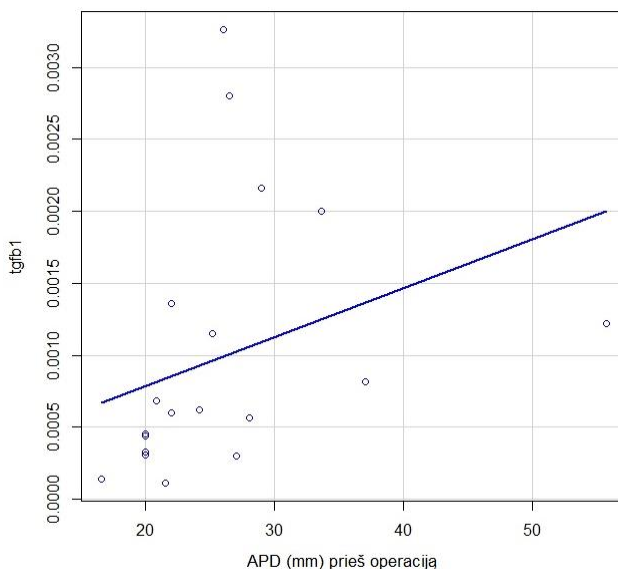


13 pav. Santykinės su randėjimu susijusių genų raiškos profilis kontroliniuose (pirmos keturios genų raiškos profilio lentelės eilutės) ir šlapimtakio striktūros audinio mėginiuose toliau. PUJ – pieloureterinė jungtis, kai yra striktūra; hemi – pieloureterinė jungtis, kai nėra striktūros, pašalinta heminefrektomijos metu; PUJ.ctrl – pieloureterinė jungtis, kai nėra striktūros, pašalinta nefrektomijos dėl inksto naviko metu; VUJ – vezikoureterinė jungtis, kai yra striktūra.

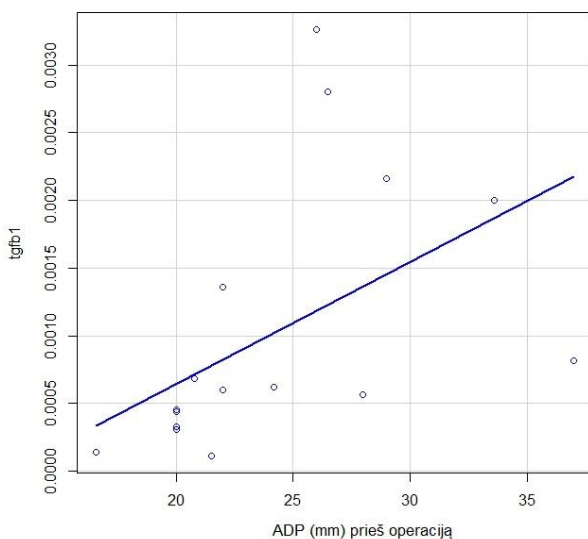
4.4. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir perioperacinių echoskopinių rodiklių ryšys

Į šią tyrimo dalį buvo įtraukta 18 pieloureterinių jungčių ir 2 vezikoureterinės jungtys pašalintos 20-iai pacientų pieloureteroplastikos ir šlapimtakio persodinimo į šlapimo pūslę metu. Amžiaus mediana operacijos metu buvo 15,2 [9,07, 66,2] mėnesio, stebėjimo trukmės po operacijos mediana buvo 10,35 [4,26, 14,8] mėnesio. Buvo nustatyta reikšminga koreliacija tarp APD prieš operaciją ir *TGFβ1* santykinės raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ($\rho = 0,64$, $p = 0,003$).

(14 pav., korelicijų lentelė pateikta 6 priede). Atlikus tą patį skaičiavimą, kai buvo vertintos tik pieloureterinės jungtys, neįtraukiant vezikoureterinių jungčių, išliko panašiai reikšminga koreliacija ($\rho = 0,76$, $p = 0,0004$) (15 pav.). Tiesinės regresijos modelyje, kai nepriklausomuoju kintamuoju pasirinkta *TGFβ1* santykinė raiška, o priklausomuoju kintamuoju – APD dydis prieš operaciją, nustatyta, kad santykinė *TGFβ1* raiška buvo reikšminga kovariantė paaiškinant APD dydį prieš operaciją ($p < 0,001$, determinacijos koeficientas $r^2 = 0,106$). Siekdami atmesti amžiaus įtaką rezultatams apskaičiavome tiriamųjų amžiaus koreliacijas su visų su randėjimu susijusių veiksnių santykinė raiška. Nė vienu atveju nebuvo nustatyta reikšminga koreliacija.



14 pav. Koreliacija tarp APD prieš operaciją ir *TGFβ1* santykinės raiškos šlapimtakio striktūros audinyje. Mėlyna tiesė sudaryta mažiausių kvadratų principu ($n = 20$).

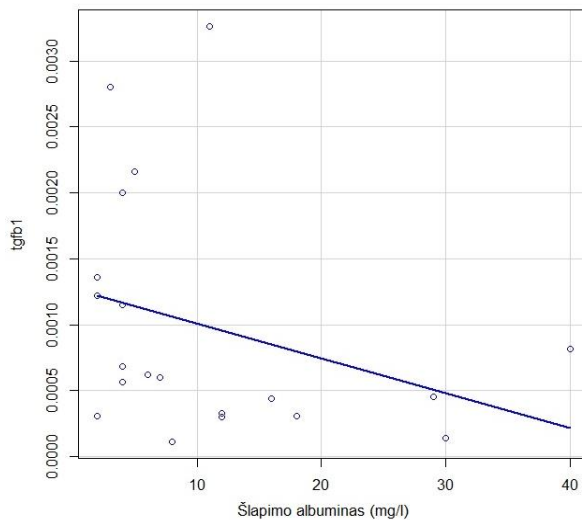


15 pav. Koreliacija tarp APD prieš operaciją ir TGFβ1 santykinės raiškos šlapimtakio striktūros audinyje, kai į skaičiavimą nebuvo įtraukti vezikoureterinės jungties mėginiai. Mėlyna tiesė sudaryta mažiausių kvadratų principu (n = 17).

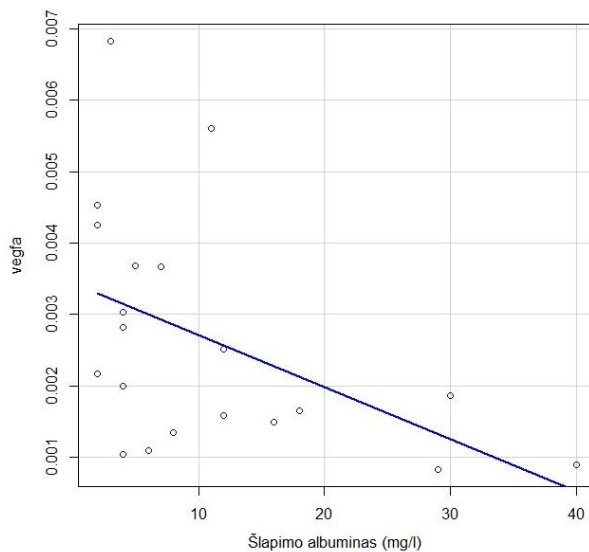
4.5. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir obstrukcijos biocheminių žymenų bei inkstų scintigrafijos rodiklių ryšys

Nustatyta reikšminga koreliacija tarp uAlb ir *TGFβ1* ($\rho = -0,45$, $p = 0,047$) (16 pav.) raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir reikšminga koreliacija tarp uAlb ir *VEGFA* ($\rho = -0,575$, $p = 0,008$) (17 pav.), kai į skaičiavimus buvo įtraukti visi šlapimtakio striktūros mėginiai (n = 20). Taip pat uAlb ir kreatinino santykio koreliacija su *VEGFA*, uNGAL ir jo santykio su kreatininu koreliacija su *MMP1* buvo arti statistiškai reikšmingos (atitinkamai $p = 0,06$ ir $0,08$) (koreliacijų matrica pateikta 7 priede). Kai į skaičiavimus nebuvo įtraukti du abipusės hidronefrozės atvejai ir ureterohidronefrozės atvejai (n = 16), koreliacija tarp uAlb koncentracijos šlapime ir *TGFβ1* šlapimtakio striktūros audinyje ($\rho = -0,46$, $p = 0,05$) (18 pav.) ir koreliacija tarp šlapimo albumino ir *VEGFA* šlapimtakio striktūros audinyje ($\rho = -0,64$, $p = 0,007$) (19 pav.), taip pat uNGAL ir jo santykio su kreatininu koreliacija su *MMP1* raiška išliko arti statistiškai reikšmingos (atitinkamai $p = 0,09$ ir $p = 0,07$) Taip pat atsirado statistiškai reikšminga koreliacija tarp uβ2-M ir kreatinino šlapime santykio ir *TIMP1* raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ($\rho = 0,56$, $p = 0,03$) (20 pav.) ir NGAL kreatinino santykio koreliacija su *Timp1* tapo artima reikšmingai (ρ

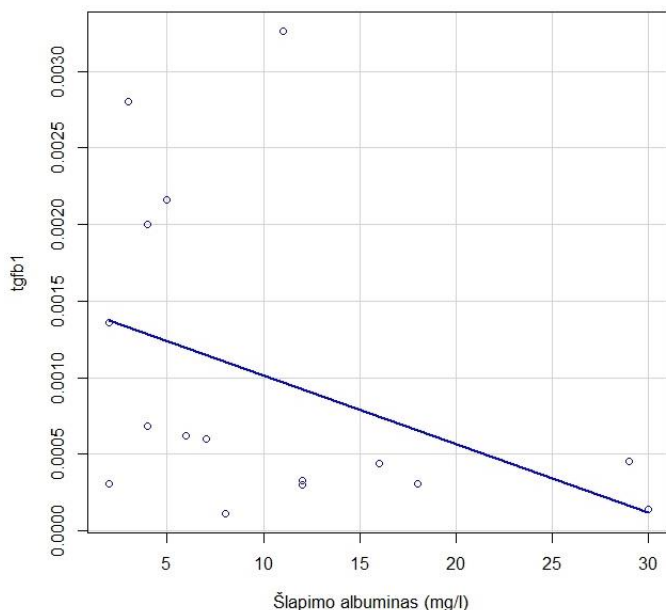
= 0,51, $p = 0,05$). Taip pat nustatyta reikšminga koreliacija tarp *PAII* ir TTT (audinių perėjimo laiko) $\rho = 0,63$, $p = 0,03$ (21 pav.). Koreliacijų matrica tarp inkstų scintigrafijos rodiklių ir su randėjimu susijusių veiksnių raiškos šlapimtakio striktūros audinyje pateikta 8 priede.



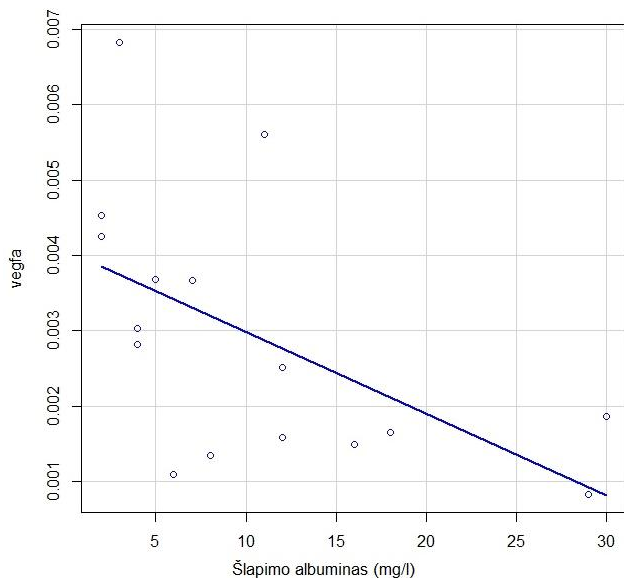
16 pav. Koreliacija tarp TGFβ1 ir šlapimo albumino koncentracijos, kai į skaičiavimus įtraukti visi šlapimtakio striktūros mėginiai ($n = 20$). Mėlyna tiesė sudaryta mažiausių kvadratų principu.



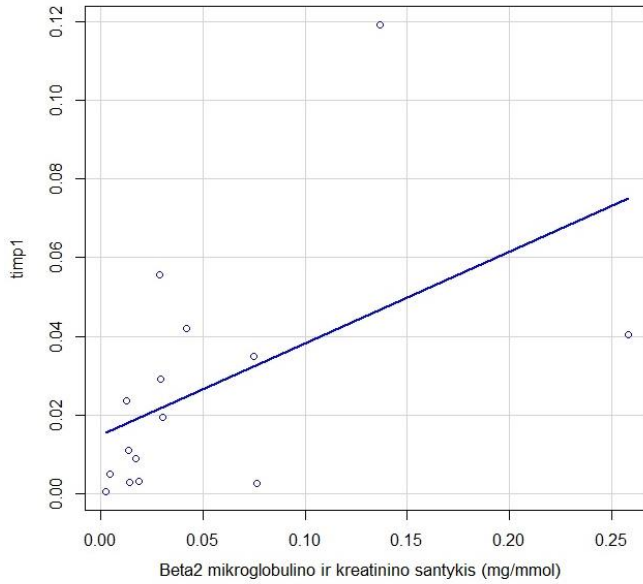
17 pav. Koreliacija tarp VEGFA ir šlapimo albumino koncentracijos, kai į skaičiavimus įtraukti visi šlapimtakio striktūros mėginiai ($n = 20$). Mėlyna tiesė sudaryta mažiausių kvadratų principu.



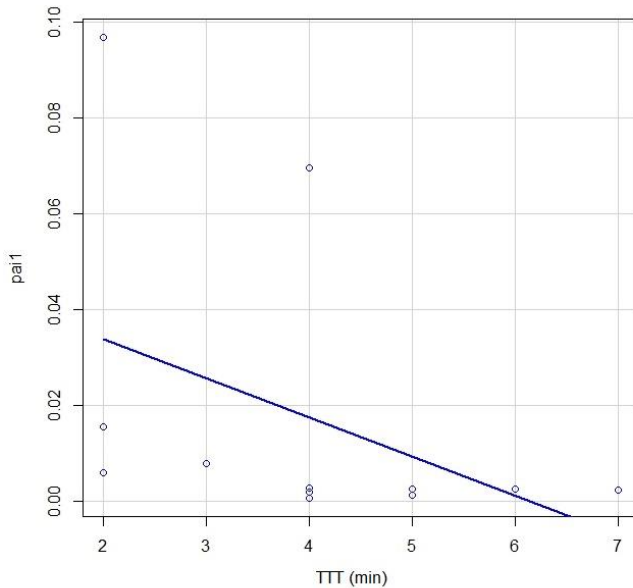
18 pav. Koreliacija tarp TGFβ1 ir šlapimo albumino koncentracijos, kai į skaičiavimus neįtraukti abipusės hidronefrozės ir ureterohidronefrozės atvejai (n = 16). Mėlyna tiesė sudaryta mažiausių kvadratų principu.



19 pav. Koreliacija tarp VEGFA ir šlapimo albumino koncentracijos, kai į skaičiavimus neįtraukti abipusės hidronefrozės ir ureterohidronefrozės atvejai (n = 16). Mėlyna tiesė sudaryta mažiausių kvadratų principu.



20 pav. Koreliacija tarp TIMP1 raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir $\text{u}\beta\text{2-M}$ ir kreatinino šlapime santykio, kai į skaičiavimus neįtraukti abipusės hidronefrozės ir ureterohidronefrozės atvejai ($n = 16$). Mėlyna tiesė sudaryta mažiausių kvadratų principu.



21 pav. Koreliacija tarp PAI1 šlapimtakio striktūros audinyje ir TTT ($n = 12$).

5. REZULTATŲ APITARIMAS

5.1. Echoskopijos suleidus diuretiko efektyvumo rezultatų aptarimas

Svarbu pabrėžti, kad šios darbo dalies tiriamųjų grupė galėtų būti apibūdinta kaip tokia, kurioje yra tiek tiriamųjų, kuriems hidronefrozę gydyti indikuotina chirurginiu būdu, tiek tų, kuriems jis nereikalingas. Pagrindinis tikslas buvo nustatyti, kaip pasirinktas tyrimo metodas padeda šias dvi grupes atskirti. Taip pat šios tyrimo dalies tiriamieji buvo įtraukti retrospektyviai, kai hidronefrožė buvo diagnozuota skirtingomis aplinkybėmis: vieniems ji diagnozuota atsitiktinai atlikus inkstų echoskopiją, kitiems – kai atsirado simptomų, dar kitiems buvo nustatyta prenataliai ir šie pacientai vėliau periodiškai stebėti. Remiantis literatūra, hidronefrožės eigą geriausiai padeda suprasti prospektyviniai tyrimai (197–200).

Inkstų echoskopinis tyrimas suleidus diuretiko yra greitas, pigus ir paprastas tyrimas, kuris galėtų būti naudojamas kaip vienas iš alternatyvių tyrimų vertinant obstrukciją, kai šio tyrimo rezultatas interpretuojamas kartu su ligonio anamneze ir klinikiniais ligos požymiais. Pavyko rasti vieną anksčiau atliktą studiją, kurioje panašiu principu buvo siekiama rasti koreliaciją tarp inksto funkcijos ir inksto ilgio po diuretiko injekcijos, ir ši koreliacija buvo reikšminga (201). Taip pat apžvelgę savo rezultatus galėtume kelti hipotezę, kad reakcija į furozemidą galėtų būti tiriama ir kaip požymis, kuris galėtų būti naudojamas kaip pakaitinis matas vertinti DIF. Šios tyrimo dalies trūkumas yra tai, kad duomenys surinkti retrospektyviai ir imtis nedidelė. Taip pat indikacijos, ar operuoti hidronefrožę, ne visada buvo pagrįstos tuo pačiu principu (inkstų scintigrafija nebuvo atlikta visiems tirimiesiems). Dėl to šioje tyrimo dalyje nebuvo galima suskaičiuoti, kokia koreliacija būtų tarp atsako į diuretiko injekciją ir DIF. Retrospektyviai vertinant duomenis indikacijos operacijai buvo didėjantis inkstų kolektorikos išsiplėtimas, blogėjanti inksto diferencinė funkcija atliekant bent dvi iš eilės inkstų scintigrafijas arba atsiradę simptomai, kaip antai šono skausmas arba pielonefritas. Echoskopinis inkstų kolektorikos vertinimas 30 minučių po diuretiko suleidimo taip pat buvo atliktas kai kuriems tiriamiesiems, tačiau duomenų geriau įvertinti diuretiko poveikį šiuo laiko momentu neužteko ir, mūsų nuomone, išliekantis išsiplėtimas po 1 valandos nuo diuretiko suleidimo yra labiau informatyvus. Ilgesnis laikas tarp diuretiko suleidimo ir inkstų kolektorikos vertinimo echoskopu padeda geriau atmesti klaidingai teigiamą rezultatą. Žvelgiant į mūsų duomenis matyti, kad net tais atvejais, kai inkstų kolektorikos išsiplėtimo prieš diuretiko suleidimą nebuvo, ji atsirado po jo praėjus net 1 valandai. Panašiai diskutuoja ir Rundstedt bei kt.,

kad radionuklido pasišalinimo pusperiodis atliekant MAG3 skenavimą 40 minučių po diuretiko injekcijos yra jautresnis būdas nustatyti obstrukciją nei tas, kai pasišalinimo pusperiodžiu laikoma standartinė 20 minučių riba (202). Remiantis šiuo straipsniu panašu, kad prasminga palaukti, kol tikrai visas perteklinis šlapimas, susidaręs suleidus diuretiko, išbėgs iš sveikų inkstų kolektorikos, o tai gali užtrukti valandą ir ilgiau turint galvoje, kad furozemido veikimo pikas prasideda praėjus 30 minučių po jo injekcijos į veną (203). Tai gali paaiškinti reiškinį, kai buvo matomas tam tikros dalies inkstų, kurie įtraukimo momentu buvo vertinami kaip sveiki, kolektorikos išsiplėtimas nuo diuretiko suleidimo praėjus 1 valandai. Logistinės regresijos modelis parodė, kad reikšmingi rizikos faktoriai operaciniam gydymui buvo APD 1 valanda po diuretiko suleidimo ir parenchimos sklerozė. Hidronefrotinio inksto ir priešingos pusės inksto atsakas į diuretiką nebuvo rizikos veiksniai operacijai, tačiau jų *p* reikšmės buvo arti pasirinkto statistinio reikšmingumo lygmens. Apie tai galėtų būti kalbama kitose studijose. Mums taip pat pavyko nustatyti, kad tarp APD prieš furozemido suleidimą ir APD padidėjimo po jo buvo neigiama koreliacija. Šis rezultatas galėjo būti nulemtas to, kad į tyrimą buvo įtraukta daug vyresnio amžiaus vaikų, kuriems buvo hidronefrozė. Taip pat pastebėta, kad tuo atveju, kai fiksuotas sveiko inksto APD išsiplėtimas suleidus diuretiko, jis buvo statistiškai didesnis nei hidronefrotinio inksto išsiplėtimo pokytis. Taip pat pavyko pastebėti, kad tų inkstų, kurių parenchima nebuvo aprašyta kaip paveikta sklerozės, APD išsiplėtimas buvo didesnis suleidus diuretiko, nei tų, kurių parenchima buvo vertinta kaip apimta sklerozės, tačiau tai nebuvo statistiškai reikšminga. 10–17 metų grupėje APD tiek prieš diuretiko suleidimą, tiek po jo buvo statistiškai reikšmingai didesnis operuotų pacientų grupėje, dėl to diuretiko panaudojimas atliekant inkstų echoskopiją šioje amžiaus grupėje nedavė jokios papildomos naudos, palyginti su echoskopiniu tyrimu nesuleidus diuretiko. Šios tyrimo dalies tikslas buvo palyginti echoskopinio tyrimo efektyvumą su echoskopinio tyrimo, atliekamo suleidus diuretiko, efektyvumu nustatant, kam reikalinga operacija, tačiau, remdamiesi šios tyrimo dalies duomenimis, negalėjome echoskopijos suleidus diuretiko rezultato palyginti su inkstų scintigrafijos rezultatu.

Echoskopinis tyrimas suleidus diuretiko, taip pat derinant jį su inkstų parenchimos vertinimu gali būti gera alternatyva prognozuojant, kuriais atvejais chirurginis gydymas bus reikalingas, ypač tiriant ligonius ambulatoriškai, kai nėra greitos galimybės atlikti inkstų scintigrafiją arba kai tėvai nenori tyrimo, kai patiriama apšvita, arba bendros nejautros mažam vaikui.

5.2. Šlapimo biocheminių žymenų efektyvumo prognozuojant operacinį gydymą ir inkstų scintigrafijos rodiklius rezultatų aptarimas

Šios tyrimo dalies rezultatai parodė, kad APD ir vidurinės parenchimos dalies santykis gali būti reikšmingas šlapimtakio obstrukciją padedantis prognozuoti dydis. Jo specifiškumas buvo 91 % ir jautrumas 69 % prognozuojant operaciją. Kai buvo pridėti šlapimo biocheminiai žymenys (uAlb, u β 2-M ir uNGAL), specifiškumas padidėjo iki 93 %, o jautrumas liko 69 %. Šis padidėjimas nebuvo statistiškai reikšmingas. Mūsų rezultatai, kaip ir keletu tyrimų, aprašytų literatūros apžvalgoje, parodė, kad kai uNGAL koncentracijos šlapime įvertis naudotas vienas, jis nebuvo reikšmingas diagnozuojant šlapimtakio obstrukciją arba prognozuojant chirurginį gydymą, tačiau uNGAL/Cr santykio medianų skirtumas buvo arti reikšmingumo lygmens, kai jos buvo palygintos tarp tiriamųjų, kuriems buvo obstrukcija, ir padidėjusio TTT grupės, kai buvo obstrukcija ir normalus TTT, ir grupės, kurios nariams neaptikta obstrukcijos atliekant scintigrafiją. Iš rezultatų galima daryti išvadą, kad šlapimo u β 2-M/Cr santykis – vienintelis iš mūsų tirtų, kuris reikšmingai prognozavo pailgėjusį TTT kartu su obstrukcine kreive scintigrafijoje, kai šios charakteristikos būdingos bent vienam iš dviejų to paties paciento inkstų. Tai svarbus radinys, nes ankstyvų inkstų pažeidimo žymenų paieškos esant hidronefrozei leido nustatyti, kad pailgėjęs radionuklido žievės perėjimo laikas (> 3 minutės) atliekant Tc-99m MAG3 inksto skenavimą gali būti reikšmingas ankstyvo inksto pažeidimo požymis esant obstrukcijai, o tai vienokiu ar kitokiu atveju delsiant ir neoperuojant paciento lemia inksto funkcijos mažėjimą (204).

Kai tiriamieji buvo suskirstyti į dvi amžiaus gupes – jaunesni nei šešerių metų ir vyresni nei šešerių metų, nustatyta, kad buvo reikšmingas skirtumas tarp uAlb, uAlb/Cr santykio ir u β 2-M šlapime medianų, kai jos buvo palygintos amžiaus grupėse tarp operuotų ir neoperuotų tiriamųjų. Nė vienas iš šlapimo žymenų nebuvo statistiškai reikšmingas operuotų ir neoperuotų pacientų, vyresnių nei šešerių metų, grupėje. Šie skirtumai tarp amžiaus grupių gali būti aiškinami tuo, kad galbūt įtakos tam turi skirtingi šlapimtakio obstrukcijos mechanizmai, kai vyresniems vaikams hidronefrozę dažnai pasireiškia dėl papildomos kraujagyslės, kryžiuojančios pieloureterinį segmentą, kas sukelia epizodiškai atsirandančią hidronefrozę. Veikiant obstrukciją sukeliančiam veiksniai ne ištiesai, o epizodiškai, inksto funkcijos pažeidimas atsiranda per ilgesnį laiką, vaikui labiau paaugus (193). Suminis APD ir vidurinės inksto dalies parenchimos storio santykis reikšmingai skyrėsi tarp operuotų ir neoperuotų tiriamųjų ir tai nepriklausė nuo amžiaus. Šios tyrimo dalies trūkumai yra santykinai maža ir nehomogeniška amžiaus

atžvilgiu imtis, taip pat amžiaus medianos skirtumai tarp kontrolinės ir tiriamosios grupių.

Šlapimo žymenų reikšmė priklausė nuo to, kaip formulavome išeities taškus, kitaip tariant, ar domino, kaip šlapimo žymenys prognozavo scintigrafijos rodiklius ar operaciją. Dalis imties tiriamųjų, kuriems buvo atlikta operacija ir kuriems atlikus inkstų scintigrafiją nustatyti inkstų pažeidimą dėl obstrukcijos rodantys pokyčiai, iš dalies sutampa, tačiau šios tiriamųjų grupės nėra tapačios, nes kai kurie operuoti dėl šlapimtakio obstrukcijos pacientai nebuvo tirti atliekant inkstų scintigrafiją ir ne visi pacientai, kuriems atliekant scintigrafiją buvo nustatyta patologinių pokyčių, kaip antai obstrukcinė kreivė ar pailgėjęs TTT, buvo operuoti stebėjimo laikotarpiu, nes neužteko indikacijų operacijai vertinant tai, kad echoskopiskai inksto kolektorikos išsiplėtimas buvo saikingas, atitinkantis SFU 3 laipsnį ir pacientams nepasireiškė jokie obstrukcijos simptomai. Remiantis mūsų rezultatais galima teigti, kad APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykis kartu su uAlb, u β 2-M ir uNGAL gali padėti prognozuoti patologinius inkstų scintigrafijos rodiklius, turint galvoje, kad scintigrafija yra aukso standartas diagnozuoti šlapimtakio obstrukciją, inksto funkcijos pažeidimą ir priimti sprendimą dėl chirurginio gydymo. Atliekant biocheminį šlapimo tyrimą būtų galima išvengti venos kateterizavimo, apšvitos, bendros nejautos, tam nereikia specialios įrangos atlikti scintigrafijai. Mūsų rezultatai pagrindžia, kad tolesni šlapimo proteomo tyrimai tikslingi siekiant sukurti kuo tikslesnius neinvazinius šlapimo takų obstrukcijos tyrimo būdus (19–22).

5.3. Su randėjimu susijusių veiksnių šlapimtakio striktūros audinyje raiškos nustatymo reikšmė striktūros etiologijos supratimui

Remiantis atlikta literatūros apžvalga, galima daryti išvadą, kad šlapimtakio striktūros vystymosi patogenezė labai susijusi su randėjimu, apoptozės ir lėtesnės ląstelių diferenciacijos patologiniais procesais.

Šios tyrimo dalies tikslas buvo patyrinėti keletą su randėjimu susijusių veiksnių, kurie, kaip žinoma, dalyvauja bendruosiuose randėjimo procesuose įvairiuose žmogaus organizmo audiniuose, ir aptarti šių veiksnių dalyvavimą anksčiau aprašytuose šlapimtakio striktūros patogenezės procesuose.

Atlikus literatūros apžvalgą nustatyta, kad *CTGF*, *MMPI*, *PAI-1* raiškos šlapimtakio striktūros audinyje tyrimų per pastaruosius 10 metų neatlikta. Nepaisant to šie genai buvo pasirinkti, nes jie dažnai aprašomi kaip vieni pagrindinių randėjimo veiksnių kituose audiniuose, pavyzdžiui, širdies (205). Sisteminėje apžvalgoje ir eksperimentiniuose tyrimuose analizuota

genų raiška šlapimtakio audinyje ir inkstuose, paveiktuose obstrukcijos. Vertinant tokių tyrimų svarbą obstrukcijos diagnostikai lieka daug painiavos. Minėtoje sisteminėje analizėje apžvelgta 10 straipsnių rezultatai. Iškirta 15 genų, kurių santykinė raiška buvo pakitusi įgimtos šlapimtakio striktūros audinyje. Genai, kurių santykinė raiška įvardijama kaip padidėjusi, buvo: *ET1*, *ACTA2*, *MCP-1*, *TGFβ1*, *NFKB1*, *IL-6*, *HIF1A*, *SI00A1*, *SYP*, ir šešių genų: *ADM*, *NOS2*, *EGF*, *PDGFRA*, *UCHL1*, *NGFR*, santykinė raiška buvo sumažėjusi. Šie genai yra HIF-1 signalinio kelio veiksniai, dalyvaujantys kraujagyslių vystymesi, signalinių receptorių aktyvumo agonistai ir veiksniai, dalyvauntys Ras signalinėje sistemoje. Gali būti, kad tarp minėtų veiksnių yra ryšys su kitais genais, kurie yra susiję su hipoksija, pertekliniu randinio audinio susidarymu ir uždegimu vystantis PUJO (206).

Kalbant apie *MMP* šlapimtakio audinyje raiškos tyrimus – pavyko rasti kelis su tuo susijusius straipsnius. *MMP9* raiška buvo sumažėjusi, o *TIMP1* – padidėjusi PUJO audinyje, kai operacijos metu buvo didesnis hidronefrozės laipsnis. Buvo lyginami šlapimtakiai, pašalinti esant SFU3 ir SFU4 hidronefrozės laipsniui (28). *MMP2* taip pat buvo aprašytas kaip vienas iš šlapimo takų randėjimo žymenų. Šio geno raiškos sumažėjimas arba visiškas raiškos nebuvimas lėmė mažesnę inkstų fibrozę inkstų obstrukcijos modelyje, kai buvo tirtos *MMP2* geno neturinčios ir heterozigotinės pelės, o tai rodo, kad *MMP2* raiška yra svarbi randėjimui, atsiradus inkstų parenchimos spaudimui (207).

Mūsų rezultatai parodė, kad santykinė *CTGF* raiška šlapimtakio striktūros audinyje buvo reikšmingai didesnė nei kontrolinės grupės tiriamųjų audinyje, o tai rodo galimą šio geno reikšmę šlapimtakio striktūros formavimuisi. Tiriant pelių modelius nustatyta, kad *CTGF* yra vienas iš pagrindinių jungiamojo audinio vystymąsi reguliuojančių veiksnių. Jo išjungimas pelių genome lėmė pelių jauniklių mirtį iš karto po gimimo dėl sunkios chondrodizplazijos (208). Taip pat nustatyta, kad *CTGF* gali veikti agonistiškai kartu su *TGFβ* audinių faktoriais, kurie yra vieni iš esminių randėjimą reguliuojančių veiksnių (209).

Tačiau verta paminėti, kad tarp visų šių tyrimų radome tik vieną, kai atlikus polimerazių grandininę reakciją buvo nustatyta, kad *TGFβ1* iRNR kiekis žmogaus šlapimtakio striktūros audinyje buvo didesnis nei tirtame kontroliniame sveiko šlapimtakio audinyje (182). Nors mūsų atlikto tyrimo *TGFβ1* santykinės raiškos rezultatai nepaantrino prieš tai pacituoto straipsnio rezultatų, kai buvo lyginta šio veiksnio raiška šlapimtakio striktūros audinyje ir kontrolinės grupės audinyje, tačiau nustatėme reikšmingą koreliaciją tarp hidronefrotinio inksto APD ir santykinės *TGFβ1* raiškos šlapimtakio striktūros audinyje, kas gali būti interpretuojama kaip

požymis, kad *TGFβ1* dalyvauja įgimtos šlapimtakio striktūros formavimosi procese ir didesnė jo raiška yra susijusi su didesniu inksto kolektorikos išsiplėtimu. Kitas tyrimas parodė, kad imunohistocheminė *TGFβ3* raiška taip pat buvo didesnė šlapimtakio striktūros audinyje nei kad kontrolei naudotame audinyje (183). Eksperimentiniai tyrimai taip pat parodė, kad dirbtinai sukūrus šlapimtakio obstrukciją šlapimtakio striktūros audinyje padaugėja *TGFβ* mRNR. Esant šioms aplinkybėms toks radinys gali būti paaiškintas tuo, kad įvykus greitai obstrukcijai aktyvuojama raumeninių skaidulų ir kolageno sintezė (184, 210).

Mums taip pat pavyko rasti vieną tyrimą, kuriame buvo aprašomas imunohistocheminės *VEGF* raiškos palyginimas šlapimtakio striktūros ir kontroliniame audinyje. Šiuo tyrimu nebuvo nustatyta *VEGF* būdinga dažo reakcija nei šlapimtakio striktūros, nei kontroliniame audinyje (211). Mūsų tyrimo taip pat nebuvo rasta reikšmingo *VEGF* santykinės raiškos skirtumo šlapimtakio striktūros ir kontroliniame audinyje.

Šios tyrimo dalies trūkumas yra tai, kad buvo tirta maža imtis, skyrėsi pacientų amžiaus medianos tarp tiriamosios ir kontrolinės grupių. Nors statistiniai skaičiavimai ir buvo įmanomi, norint tiksliau sužinoti skirtumus tarp tirtųjų randėjimo veiksnių santykinės raiškos šlapimtakio striktūros ir kontroliniame audinyje reikėtų didesnės tiriamojo audinio mėginių imties. Kitą trūkumą galima būtų įvardyti kaip mažą ir santykinai nevienalytę kontrolinę grupę, nes 5 PUJ buvo paimitos iš pašalinto inksto naviko preparato, o viena iš dvigubos sistemos inksto, šalinant viršutinę inksto dalį. Nė vienas iš tirtų kontrolinės grupės preparatų neturėjo makroskopinių spindžio susiaurėjimo požymių, tačiau net ir nesant vizualiai matomos striktūros santykinės raiškos rezultatai gali būti paveikti to, kad pacientams, kurių inkstai buvo pašalinti dėl inksto naviko, buvo taikoma priešoperacinė chemoterapija, o kalbant apie šlapimtakį, išeinantį iš dvigubo inksto viršutinės dalies, gali būti jo sienelės vystymosi sutrikimas, palyginti su normaliu šlapimtakium (27).

Apibendrinant šios tyrimo dalies radinius galima svarstyti prielaidą, kad *CTGF* santykinės raiškos padidėjimas PUJO audinyje, palyginti su kontroliniu audiniu, ir rodo *CTGF* kaip vieno iš pagrindinių su randėjimu susijusių veiksnių dalyvavimą šlapimtakio striktūros formavimosi patogenezėje. Žinant pagrindines patogenetines grandis ir jų veiksmus, dalyvaujančius įgimtos striktūros patogenezėje, galima kelti mintį apie naujų šlapimo takų randėjimą stabdančių gydymo metodų kūrimą. Tolesni tyrimai turi būti atlikti siekiant pakartoti gautus rezultatus.

5.4. Echoskopinių rodiklių ir su randėjimu susijusių veiksnių santykinės raiškos įgimtos šlapimtakio striktūros audinyje ryšys

Ši tyrimo dalis gana unikali, nes pavyko rasti tik vieną publikaciją, kurios tikslas buvo panašus į šios darbo dalies tikslą – nustatyti, kaip su randėjimu susijusių veiksnių raiška šlapimtakio striktūros audinyje koreliuoja su pooperacinėmis išėtimis. Reis ir kt. aprašė, kad ištyrus 16 PUJO audinio mėginių buvo nustatyta, jog *MMP9* didesnė ir *TIMP1* mažesnė raiška buvo gero pooperacinio rezultato požymis, kai gerais pooperaciniais rezultatais buvo laikomi obstrukcinės kreivės išnykimas, gerėjanti diferencinė inksto funkcija ir mažėjantis išsiplėtimas kartojant UG po operacijos (28). Mūsų tyrimo atveju nenustatytos reikšmingos koreliacijos su pooperaciniais echoskopijos tyrimo rodikliais ar jų pokyčiu, tačiau nustatyta stipri teigiama koreliacija tarp *TGFβ1* santykinės raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir APD prieš operaciją. Didesnė santykinė *TGFβ1* raiška gali būti susijusi su reikšmingesne mechanine obstrukcija dėl rando, tokią prielaidą galima daryti atsižvelgiant į tai kad, *TGFβ1* literatūroje apibūdinamas kaip vienas iš pagrindinių randėjimą veikiančių faktorių žmogaus organizme (187). Šios tyrimo dalies trūkumai – maža tiriamųjų imtis ir pooperaciniai rezultatai vertinti tik remiantis echoskopinio tyrimo duomenimis, nes visais atvejais, stebint teigiamą dinamiką po operacijos, inkstų scintigrafijai indikacijų atlikti nebuvo nė vienu atveju. Tirtųjų su randėjimu susijusių veiksnių santykinė raiška taip pat galėjo priklausyti nuo paimtos medžiagos kiekio, kuris įvairiais atvejais galėjo šiek tiek skirtis. Nors tiriamųjų grupė pagal amžių nebuvo homogeniška, tačiau santykinės su randėjimu susijusių veiksnių koreliacijos ryšio su pacientų amžiumi biopsijos paėmimo metu nenustatėme.

5.5. Su randėjimu susijusių genų raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir obstrukcijos biocheminių žymenų ir inkstų scintigrafijos rodiklių ryšys

Atlikus literatūros apžvalgą nustatyta, kad nebuvo publikuotas nė vienas koreliacijos tarp šlapimtakio striktūros audinių faktorių raiškos ir šlapimo biocheminių žymenų koncentracijos tyrimas. Mūsų tyrimo metu buvo nustatyta neigiama koreliacija tarp uAlb koncentracijos ir *TGFβ1* santykinės raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ($\rho = -0,45$, $p = 0,047$). Remiantis anksčiau mūsų tyrime pateiktais duomenimis, uAlb koncentracija buvo reikšmingai didesnė operuotų dėl obstrukcijos ligonių šlapime, tačiau galima manyti, kad pačioje operuotų dėl obstrukcijos ligonių grupėje didėjant obstrukcijos laipsniui šlapimo albumino,

patenkančio iš pažeisto inksto į šlapimo pūslę, šlapime mažėja mažėjant šlapimo nutekėjimui iš pažeisto inksto arba mažėjant pažeisto inksto diurezei. Taip pat nustatyta reikšminga neigiama koreliacija tarp uAlb ir Vegfa ($\rho = -0,575$, $p = 0,008$). Jos reikšmė taip pat diskutuotina. Analogiška koreliacija, mūsų duomenimis, nepublikuota. Onions ir kt. aprašė eksperimentinį tyrimą su pelėmis, kai *VEGFC* raiškos suaktyvinimas inkstų glomeruluose sumažino šlapimo albumino koncentraciją. Autorių teigimu, *VEGFA* turi atvirkštinį efektą glomerulų pralaidumui ir uAlb koncentraciją padidina. Remiantis šiais duomenimis galima daryti dvi prielaidas. *VEGFA* taip pat galbūt dalyvauja vystantis įgimtai šlapimtakio striktūrai (nors lygindami *VEGFA* raišką šlapimtakio striktūros ir kontroliniame audinyje skirtumo nenustatėme ($p = 0,18$), tačiau kontrolinės grupės tiramųjų imtis buvo maža ir sąlyginai nehomogeniška, be to, kontrolinės grupės tiramųjų amžiaus mediana skyrėsi nuo striktūros grupės amžiaus medianos), dėl to galima diskutuoti, kad *VEGFA* raiška šlapimtakio striktūros audinyje atspindi šio veiksnio dalyvavimą šlapimtakio striktūros patogenezėje, dėl to koreliuoja su šlapimo obstrukcijos žymeniu uAlb arba *VEGFA* raiška yra organospecifinė ir tiek raiška šlapimtakio striktūros audinyje, tiek to paties inksto glomeruluose koreliuoja tarpusavyje, dėl to yra ir koreliacija tarp *VEGFA* santykinės raiškos šlapimtakio audinyje ir uAlb. Mūsų atveju uAlb neigiamai koreliavo su *VEGFA* santykinė raiška šlapimtakio audinyje. Taip pat, homogenizavę tiramųjų grupę – iš jų pašalinę vezikoureterinių jungčių atvejus ir du abipusės hidronefrozės atvejus nustatėme, kad atsirado statistiškai reikšminga koreliacija tarp uβ2-M ir kreatinino šlapime santykio ir *TIMP1* raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ($\rho = 0,56$, $p = 0,03$). Iš mūsų anksčiau aprašytų rezultatų žinome, kad uβ2-M ir kreatinino šlapime santykis reikšmingai prognozavo pailgėjusį TTT (ankstyvą inksto pažeidimo dėl obstrukcijos požymį) ir buvo reikšmingas inksto obstrukcijos žymuo. O Reis ir kt. rezultatai parodė, kad *TIMP1* raiška buvo padidėjusi PUJO audinyje, kai operacijos metu buvo didesnis hidronefrozės laipsnis. Buvo lyginami šlapimtakiai, pašalinti esant SFU3 ir SFU4 hidronefrozės laipsniui operacijos metu (28). Remiantis šiais duomenimis galima kelti prielaidą, kad *Timp1* taip pat gali būti vienas iš veiksnių, dalyvaujančių šlapimtakio striktūros vystymosi procese.

Vienintelis tyrimas, kuriame buvo analizuojama *PAII* reikšmė esant dirbtinai sukeltai šlapimtakio obstrukcijai gyvūnų tyrimuose, nustatyta, kad *TIMP1* ir *PAII* yra faktoriai, dalyvaujantys inkstų tubulointerstinio randėjimo procese (213).

Mūsų skaičiavimai parodė, kad santykinė *PAII* raiška šlapimtakio striktūros audinyje nebuvo reikšmingai didesnė nei kontroliniame audinyje, tačiau nustatyta reikšminga neigiama koreliacija tarp *PAII* santykinės raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir TTT, kurio pailgėjimas yra laikomas ankstyvu inksto pažeidimo požymiu, esant įgimtai šlapimo takų obstrukcijai. Remiantis viena iš šlapimtakio pūslytės šakojimosi teorijų, AngII yra įvardijamas kaip vienas iš ši procesą skatinančių veiksnių. *PAII* taip pat yra apibūdinamas kaip vienas iš faktorių, veikiančių AngII endotelio ląstelėse (214).

Ar gali būti ryšys tarp santykinės *PAII* raiškos šlapimtakio striktūros audinyje ir AngII (kaip šlapimtakio embriogenezėje svarbaus faktoriaus), taip pat galėtų būti patyrinėta ateities tyrimuose. *PAII* yra apibūdinamas ir kaip veiksnys, kuris dalyvauja ekstraląstelinio matrikso struktūros palaikymo ir remodeliacijos procese, taip pat pasižymi tuo, kad slopina ekstraląstelinio matrikso metaloproteinazes (215).

Tačiau šios paskutinės tyrimo dalies trūkumas yra maža imtis, o tai didina atsitiktinės koreliacijos tikimybę.

IŠVADOS

1. Diuretikų naudojimas tiriant pacientą dėl įgimtos hidronefrozės gali padėti tiksliau nustatyti atvejus, kuriais reikia operacijos, tačiau jo vertė turėtų būti patikrinta perspektyviniame tyrime.
2. Suminis APD ir vidurinės inksto parenchimos dalies storio santykis su biocheminiais šlapimo žymenimis tiksliau prognozavo pailgėjusį TTT ir sumažėjusią hidronefrotinio inksto diferencinę funkciją nei APD ir vidurinės inksto parenchimos dalies storio santykis jį vertinant atskirai. Suminis APD ir vidurinės inksto parenchimos dalies storio santykis su biocheminiais šlapimo žymenimis statistiškai reikšmingai geriau prognozavo operacinį gydymą nei APD.
3. Nustatytas reikšmingas su randėjimu susijusio *CTGF* geno raiškos skirtumas pažeistame striktūros ir kai nėra striktūros požymių šlapimtakio audinyje.
4. Nustatyta reikšminga *TFGβ1* koreliacija su APD prieš operaciją ir reikšmingos *TGFβ1*, *VEGFA*, *TIMP1* ir *PAII* koreliacijos su šlapimo takų biocheminių obstrukcijos žymenų ir inkstų scintigrafijos rodikliais.

REKOMENDACIJOS

1. Nesant galimybės atlikti inkstų scintigrafiją, siekiant išvengti apšvitos, periferinės venos kateterizavimo ar bendros nejautos atliekant inkstų scintigrafiją, pradinį hidronefrotinio inksto pažeidimą galima įtarti, nustatčius padidėjusį šlapimo β 2-M ir kreatinino santykį, o sumažėjusią diferencinę funkciją kompleksiskai vertinant APD ir vidurinės parenchimos dalies storio santykį su kartu atliktais uAlb, u β 2-M ir uNGAL tyrimais.
2. Tolesnių perspektyvinių tyrimų vykdymas, paantrinant gautus rezultatus homogeniškesnėje pagal tiriamųjų amžių kohortoje.
3. Įgimtos ir įgytos striktūros ir audinio be striktūros didesnės apimties palyginamieji tyrimai leistų nustatyti patogenetinius skirtumus tarp šių dviejų procesų ir su randėjimu susijusių veiksnių dalyvavimą juose.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Rishor-Olney CR, Hinson MR. Obstructive Uropathy. In Treasure Island (FL); 2022.
2. Krajewski W, Wojciechowska J, Dembowski J, Zdrojowy R, Szydelko T. Hydronephrosis in the course of ureteropelvic junction obstruction: An underestimated problem? Current opinions on the pathogenesis, diagnosis and treatment. *Adv Clin Exp Med Off organ Wroclaw Med Univ.* 2017 Aug;26(5):857–64.
3. Bilge I. Symptomatology and Clinic of Hydronephrosis Associated With Uretero Pelvic Junction Anomalies. *Front Pediatr.* 2020;8:520.
4. Bingham G, Rentea RM. Posterior Urethral Valve. In Treasure Island (FL); 2022.
5. Ezel Çelakil M, Ekinci Z, Bozkaya Yücel B, Mutlu N, Günlemez A, Bek K. Outcome of posterior urethral valve in 64 children: a single center's 22-year experience. *Minerva Urol Nefrol.* 2019 Dec;71(6):651–6.
6. Carlström M. Hydronephrosis and risk of later development of hypertension. *Acta Paediatr.* 2019 Jan;108(1):50–7.
7. Koff S. The search for the definition and effective diagnosis of upper urinary tract obstruction: the Whitaker test then and now, Whitaker et al. 2018. *J Pediatr Urol.* 2019 Feb;15(1):27–8.
8. Kumar M, Singh SK, Arora S, Mittal V, Patidar N, Sureka SK, et al. Follow-up imaging after pediatric pyeloplasty. *Indian J Urol.* 2016;32(3):221–6.
9. Kohata E, Kimata T, Onuma C, Yamanouchi S, Tsuji S, Ohashi A, et al. Natural course of isolated mild congenital hydronephrosis: A 2-year prospective study at a single center in Japan. *Int J Urol Off J Japanese Urol Assoc.* 2019 Jun;26(6):643–7.
10. Yalçinkaya F, Özçakar ZB. Management of antenatal hydronephrosis. *Pediatr Nephrol.* 2020 Dec;35(12):2231–9.
11. Noyan A, Parmaksiz G, Dursun H, Ezer SS, Anarat R, Cengiz N. Urinary NGAL, KIM-1 and L-FABP concentrations in antenatal hydronephrosis. *J Pediatr Urol.* 2015 Oct;11(5):249.e1-6.
12. Agard H, Massanyi E, Albertson M, Anderson M, Alam M, Lyden E, et al. The different elements of the Urinary Tract Dilation (UTD) Classification System and their capacity to predict findings on mercaptoacetyltriglycine (MAG3) diuretic renography. *J Pediatr Urol.* 2020;16(5):686-e1.
13. Passerotti CC, Kalish LA, Chow J, Passerotti AMAMS, Recabal P, Cendron M, et al. The predictive value of the first postnatal ultrasound in children with antenatal hydronephrosis. *J Pediatr Urol.* 2011 Apr;7(2):128–36.
14. Schaeffer AJ, Cartwright PC, Lau GA, Ebert MD, Fino NF, Nkoy FL, et al. Utilization of Radiographic Imaging for Infant

- Hydronephrosis over the First 12 Months of Life. *Adv Urol.* 2020;2020:2108362.
15. Kohno M, Ogawa T, Kojima Y, Sakoda A, Johnin K, Sugita Y, et al. Pediatric congenital hydronephrosis (ureteropelvic junction obstruction): Medical management guide. *Int J Urol Off J Japanese Urol Assoc.* 2020 May;27(5):369–76.
 16. Ucar AK, Kurugoglu S. Urinary ultrasound and other imaging for Ureteropelvic Junction Type Hydronephrosis (UPJHN). *Front Pediatr.* 2020;8.
 17. Berte N, Vrillon I, Larmure O, Gomola V, Ayav C, Mazeaud C, et al. Long-term renal outcome in infants with congenital lower urinary tract obstruction. *Prog en Urol J l'Association Fr d'urologie la Soc Fr d'urologie.* 2018 Oct;28(12):596–602.
 18. Faure A, London K, Smith GHH. Early mercaptoacetyl triglycine (MAG-3) diuretic renography results after pyeloplasty. *BJU Int.* 2016 Nov;118(5):790–6.
 19. Devarakonda CK V, Shearier ER, Hu C, Grady J, Balsbaugh JL, Makari JH, et al. A novel urinary biomarker protein panel to identify children with ureteropelvic junction obstruction - A pilot study. *J Pediatr Urol.* 2020 Aug;16(4):466.e1-466.e9.
 20. Chen H, Lin H, Xu M, Xu G, Fang X, He L, et al. Quantitative Urinary Proteome Reveals Potential Biomarkers for Ureteropelvic Junction Obstruction. *Proteomics Clin Appl.* 2019 Jul;13(4):e1800101.
 21. Froehlich JW, Kostel SA, Cho PS, Briscoe AC, Steen H, Vaezzadeh AR, et al. Urinary Proteomics Yield Pathological Insights for Ureteropelvic Junction Obstruction. *Mol Cell Proteomics.* 2016 Aug;15(8):2607–15.
 22. Paraboschi I, Mantica G, Dalton NR, Turner C, Garriboli M. Urinary biomarkers in pelvic-ureteric junction obstruction: a systematic review. *Transl Androl Urol.* 2020 Apr;9(2):722–42.
 23. Pande T, Dey SK, Chand K, Kinra P. Influence of Interstitial Cells of Cajal in Congenital Ureteropelvic Junction Obstruction. *J Indian Assoc Pediatr Surg.* 2020;25(4):231–5.
 24. Babu R, Vittalraj P, Sundaram S, Pothankulankara Manjusha M, Ramanan V, Sai V. A Rapid Special Staining Technique for Identification of Normal Ureter by Frozen Section in Children With Ureteropelvic Junction Obstruction. *Pediatr Dev Pathol Off J Soc Pediatr Pathol Paediatr Pathol Soc.* 2019;22(6):558–65.
 25. Inugala A, Reddy RK, Rao BN, Reddy SP, Othuluru R, Kanniyam L, et al. Immunohistochemistry in Ureteropelvic Junction Obstruction and Its Correlation to Postoperative Outcome. *J Indian Assoc Pediatr Surg.* 2017;22(3):129–33.
 26. Kiratli PO, Orhan D, Gedik GK, Tekgul S. Relation between radionuclide imaging and pathologic findings of ureteropelvic

- junction obstruction in neonatal hydronephrosis. *Scand J Urol Nephrol.* 2008;42(3):249–56.
27. Senkul T, Kucukodaci Z, Iseri C, Karademir K, Erden D, Baloglu H, et al. The smooth muscle ratio at the renal pelvis in adults: does it predict surgical outcome? *Urol Int.* 2004;73(3):248–51.
 28. Reis ST, Leite KRM, Viana NI, Lopes RI, Moura CM, Ivanovic RF, et al. MMP9 overexpression is associated with good surgical outcome in children with UPJO: Preliminary results. *BMC Urol.* 2016 Jul;16(1):44.
 29. Blyth B, Snyder HM, Duckett JW. Antenatal diagnosis and subsequent management of hydronephrosis. *J Urol.* 1993 Apr;149(4):693–8.
 30. Robyr R, Benachi A, Daikha-Dahmane F, Martinovich J, Dumez Y, Ville Y. Correlation between ultrasound and anatomical findings in fetuses with lower urinary tract obstruction in the first half of pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005 May;25(5):478–82.
 31. Green CA, Adams JC, Goodnight WH, Odibo AO, Bromley B, Jelovsek JE, et al. Frequency and prediction of persistent urinary tract dilation in third trimester and postnatal urinary tract dilation in infants following diagnosis in second trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2022 Apr;59(4):522–31.
 32. Barbosa JABA, Chow JS, Benson CB, Yorioka MA, Bull AS, Retik AB, et al. Postnatal longitudinal evaluation of children diagnosed with prenatal hydronephrosis: insights in natural history and referral pattern. *Prenat Diagn.* 2012 Dec;32(13):1242–9.
 33. Arora M, Prasad A, Kulshreshtha R, Baijal A. Significance of third trimester ultrasound in detecting congenital abnormalities of kidney and urinary tract—a prospective study. *J Pediatr Urol.* 2019 Aug;15(4):334–40.
 34. Merlini E, Spina P. Primary non-refluxing megaureters. *J Pediatr Urol.* 2005 Dec;1(6):409–17.
 35. Dekirmendjian A, Braga LH. Primary Non-refluxing Megaureter: Analysis of Risk Factors for Spontaneous Resolution and Surgical Intervention. *Front Pediatr.* 2019;7:126.
 36. Shokeir AA, Nijman RJ. Primary megaureter: current trends in diagnosis and treatment. *BJU Int.* 2000 Nov;86(7):861–8.
 37. Mendelsohn C. Using mouse models to understand normal and abnormal urogenital tract development. *Organogenesis.* 2009 Jan;5(1):306–14.
 38. Haque F, Kaku Y, Fujimura S, Ohmori T, Adelstein RS, Nishinakamura R. Non-muscle myosin II deletion in the developing kidney causes ureter-bladder misconnection and apical extrusion of the nephric duct lineage epithelia. *Dev Biol.* 2017 Jul;427(1):121–30.

39. Mackie GG, Stephens FD. Duplex kidneys: a correlation of renal dysplasia with position of the ureteral orifice. *J Urol.* 1975 Aug;114(2):274–80.
40. Haraguchi R, Matsumaru D, Nakagata N, Miyagawa S, Suzuki K, Kitazawa S, et al. The hedgehog signal induced modulation of bone morphogenetic protein signaling: an essential signaling relay for urinary tract morphogenesis. *PLoS One.* 2012;7(7):e42245.
41. Yosypiv I V. A new role for the renin-angiotensin system in the development of the ureteric bud and renal collecting system. *Keio J Med.* 2008 Dec;57(4):184–9.
42. Pedersen A, Skjong C, Shawlot W. Lim 1 is required for nephric duct extension and ureteric bud morphogenesis. *Dev Biol.* 2005 Dec;288(2):571–81.
43. Avanoglu A, Tiryaki S. Embryology and Morphological (Mal)Development of UPJ. *Front Pediatr.* 2020;8:137.
44. Fogelgren B, Polgar N, Lui VH, Lee AJ, Tamashiro K-KA, Napoli JA, et al. Urothelial Defects from Targeted Inactivation of Exocyst Sec10 in Mice Cause Ureteropelvic Junction Obstructions. *PLoS One.* 2015;10(6):e0129346.
45. Lee AJ, Polgar N, Napoli JA, Lui VH, Tamashiro K-K, Fujimoto BA, et al. Fibroproliferative response to urothelial failure obliterates the ureter lumen in a mouse model of prenatal congenital obstructive nephropathy. *Sci Rep.* 2016 Aug;6:31137.
46. Fujita H, Hamazaki Y, Noda Y, Oshima M, Minato N. Claudin-4 deficiency results in urothelial hyperplasia and lethal hydronephrosis. *PLoS One.* 2012;7(12):e52272.
47. Trowe M-O, Airik R, Weiss A-C, Farin HF, Foik AB, Bettenhausen E, et al. Canonical Wnt signaling regulates smooth muscle precursor development in the mouse ureter. *Development.* 2012 Sep;139(17):3099–108.
48. Airik R, Trowe M-O, Foik A, Farin HF, Petry M, Schuster-Gossler K, et al. Hydroureteronephrosis due to loss of Sox9-regulated smooth muscle cell differentiation of the ureteric mesenchyme. *Hum Mol Genet.* 2010 Dec;19(24):4918–29.
49. Mamo TM, Wittern AB, Kleppa M-J, Bohnenpoll T, Weiss A-C, Kispert A. BMP4 uses several different effector pathways to regulate proliferation and differentiation in the epithelial and mesenchymal tissue compartments of the developing mouse ureter. *Hum Mol Genet.* 2017 Sep;26(18):3553–63.
50. Wang GJ, Brenner-Anantharam A, Vaughan ED, Herzlinger D. Antagonism of BMP4 signaling disrupts smooth muscle investment of the ureter and ureteropelvic junction. *J Urol.* 2009 Jan;181(1):401–7.
51. Tripathi P, Wang Y, Casey AM, Chen F. Absence of canonical Smad signaling in ureteral and bladder mesenchyme causes ureteropelvic

- junction obstruction. *J Am Soc Nephrol*. 2012 Apr;23(4):618–28.
52. Noel S, Arend LJ, Bandapalle S, Reddy SP, Rabb H. Kidney epithelium specific deletion of kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) causes hydronephrosis in mice. *BMC Nephrol*. 2016 Aug;17(1):110.
 53. Caubit X, Lye CM, Martin E, Coré N, Long DA, Vola C, et al. Teashirt 3 is necessary for ureteral smooth muscle differentiation downstream of SHH and BMP4. *Development*. 2008 Oct;135(19):3301–10.
 54. Yan J, Zhang L, Xu J, Sultana N, Hu J, Cai X, et al. Smad4 regulates ureteral smooth muscle cell differentiation during mouse embryogenesis. *PLoS One*. 2014;9(8):e104503.
 55. Cain JE, Islam E, Haxho F, Blake J, Rosenblum ND. GLI3 repressor controls functional development of the mouse ureter. *J Clin Invest*. 2011 Mar;121(3):1199–206.
 56. Zhou L, Meng Y, Lei T, Zhao D, Su J, Zhao X, et al. UT-B-deficient mice develop renal dysfunction and structural damage. *BMC Nephrol*. 2012 Jan;13:6.
 57. Ampawong S, Klincomhum A, Likitsuntonwong W, Singha O, Ketjareon T, Panavechkijkul Y, et al. Expression of aquaporin-1, -2 and -4 in mice with a spontaneous mutation leading to hydronephrosis. *J Comp Pathol*. 2012 May;146(4):332–7.
 58. Aulbert W, Kemper MJ. Severe antenatally diagnosed renal disorders: background, prognosis and practical approach. *Pediatr Nephrol*. 2016 Apr;31(4):563–74.
 59. Grignon A, Filion R, Filiatrault D, Robitaille P, Homisy Y, Boutin H, et al. Urinary tract dilatation in utero: classification and clinical applications. *Radiology*. 1986 Sep;160(3):645–7.
 60. Ellenbogen PH, Scheible FW, Talner LB, Leopold GR. Sensitivity of gray scale ultrasound in detecting urinary tract obstruction. *AJR Am J Roentgenol*. 1978 Apr;130(4):731–3.
 61. Onen A. An alternative grading system to refine the criteria for severity of hydronephrosis and optimal treatment guidelines in neonates with primary UPJ-type hydronephrosis. *J Pediatr Urol*. 2007 Jun;3(3):200–5.
 62. Riccabona M, Avni FE, Blickman JG, Dacher J-N, Darge K, Lobo ML, et al. Imaging recommendations in paediatric uroradiology: minutes of the ESPR workgroup session on urinary tract infection, fetal hydronephrosis, urinary tract ultrasonography and voiding cystourethrography, Barcelona, Spain, June 2007. *Pediatr Radiol*. 2008 Feb;38(2):138–45.
 63. Capone V, Persico N, Berrettini A, Decramer S, De Marco EA, De Palma D, et al. Definition, diagnosis and management of fetal lower urinary tract obstruction: consensus of the ERKNet CAKUT-Obstructive Uropathy Work Group. *Nat Rev Urol*. 2022

- May;19(5):295–303.
64. Chitty LS, Altman DG. Charts of fetal size: kidney and renal pelvis measurements. *Prenat Diagn.* 2003 Nov;23(11):891–7.
 65. Odibo AO, Marchiano D, Quinones JN, Riesch D, Egan JFX, Macones GA. Mild pyelectasis: evaluating the relationship between gestational age and renal pelvic anterior-posterior diameter. *Prenat Diagn.* 2003 Oct;23(10):824–7.
 66. Fernbach SK, Maizels M, Conway JJ. Ultrasound grading of hydronephrosis: introduction to the system used by the Society for Fetal Urology. *Pediatr Radiol.* 1993;23(6):478–80.
 67. Onen A. Grading of Hydronephrosis: An Ongoing Challenge. *Front Pediatr.* 2020;8:458.
 68. Nguyen HT, Benson CB, Bromley B, Campbell JB, Chow J, Coleman B, et al. Multidisciplinary consensus on the classification of prenatal and postnatal urinary tract dilation (UTD classification system). *J Pediatr Urol.* 2014 Dec;10(6):982–98.
 69. Herthelius M, Axelsson R, Lidfelt K-J. Antenatally detected urinary tract dilatation: a 12-15-year follow-up. *Pediatr Nephrol.* 2020 Nov;35(11):2129–35.
 70. Elmaci AM, Dönmez Mİ. Time to resolution of isolated antenatal hydronephrosis with anteroposterior diameter ≤ 20 mm. *Eur J Pediatr.* 2019 Jun;178(6):823–8.
 71. Timberlake MD, Herndon CDA. Mild to moderate postnatal hydronephrosis--grading systems and management. *Nat Rev Urol.* 2013 Nov;10(11):649–56.
 72. Aksu N, Yavaşcan O, Kangin M, Kara OD, Aydin Y, Erdoğan H, et al. Postnatal management of infants with antenatally detected hydronephrosis. *Pediatr Nephrol.* 2005 Sep;20(9):1253–9.
 73. Arena S, Chimenz R, Antonelli E, Peri FM, Romeo P, Impellizzeri P, et al. A long-term follow-up in conservative management of unilateral ureteropelvic junction obstruction with poor drainage and good renal function. *Eur J Pediatr.* 2018 Dec;177(12):1761–5.
 74. Weitz M, Schmidt M, Laube G. Primary non-surgical management of unilateral ureteropelvic junction obstruction in children: a systematic review. *Pediatr Nephrol.* 2017;32(12):2203–13.
 75. Sarhan OM, El Helaly A, Al Otay AH, Al Ghanbar M, Nakshabandi Z. Prenatally detected, unilateral, high-grade hydronephrosis: Can we predict the natural history? *Can Urol Assoc J = J l'Association des Urol du Canada.* 2018 Mar;12(3):E137–41.
 76. Eskild-Jensen A, Gordon I, Piepsz A, Frøkiaer J. Congenital unilateral hydronephrosis: a review of the impact of diuretic renography on clinical treatment. *J Urol.* 2005 May;173(5):1471–6.
 77. Josephson S. Antenatally detected, unilateral dilatation of the renal pelvis: a critical review. 1. Postnatal non-operative treatment 20 years on--is it safe? *Scand J Urol Nephrol.* 2002;36(4):243–50.

78. Sarin YK. Is it Always Necessary to Treat an Asymptomatic Hydronephrosis Due to Ureteropelvic Junction Obstruction? *Indian J Pediatr* [Internet]. 2017;84(7):531–9. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2346-9>
79. Ulman I, Jayanthi VR, Koff SA. The long-term followup of newborns with severe unilateral hydronephrosis initially treated nonoperatively. *J Urol*. 2000 Sep;164(3 Pt 2):1101–5.
80. Nguyen HT, Herndon CDA, Cooper C, Gatti J, Kirsch A, Kokorowski P, et al. The Society for Fetal Urology consensus statement on the evaluation and management of antenatal hydronephrosis. *J Pediatr Urol*. 2010 Jun;6(3):212–31.
81. Cornford PA, Rickwood AM. Functional results of pyeloplasty in patients with ante-natally diagnosed pelvi-ureteric junction obstruction. *Br J Urol*. 1998 Jan;81(1):152–5.
82. Subramaniam R, Kouriefs C, Dickson AP. Antenatally detected pelvi-ureteric junction obstruction: concerns about conservative management. *BJU Int*. 1999 Aug;84(3):335–8.
83. Tabari AK, Atqiaee K, Mohajerzadeh L, Rouzrokh M, Ghoroubi J, Alam A, et al. Early pyeloplasty versus conservative management of severe ureteropelvic junction obstruction in asymptomatic infants. *J Pediatr Surg*. 2020 Sep;55(9):1936–40.
84. Jiang D, Tang B, Xu M, Lin H, Jin L, He L, et al. Functional and Morphological Outcomes of Pyeloplasty at Different Ages in Prenatally Diagnosed Society of Fetal Urology Grades 3-4 Ureteropelvic Junction Obstruction: Is It Safe to Wait? *Urology*. 2017 Mar;101:45–9.
85. Babu R, Rathish VR, Sai V. Functional outcomes of early versus delayed pyeloplasty in prenatally diagnosed pelvi-ureteric junction obstruction. *J Pediatr Urol*. 2015 Apr;11(2):63.e1-5.
86. Kim S-O, Yu HS, Hwang IS, Hwang EC, Kang TW, Kwon D. Early pyeloplasty for recovery of parenchymal thickness in children with unilateral ureteropelvic junction obstruction. *Urol Int*. 2014;92(4):473–6.
87. Nordenström J, Koutozi G, Holmdahl G, Abrahamsson K, Sixt R, Sjöström S. Changes in differential renal function after pyeloplasty in infants and children. *J Pediatr Urol*. 2020 Jun;16(3):329.e1-329.e8.
88. Lima M, Di Salvo N, Portoraro A, Maffi M, Parente G, Catania VD, et al. Uretero-Pelvic Junction Stenosis: Considerations on the Appropriate Timing of Correction Based on an Infant Population Treated with a Minimally-Invasive Technique. *Child (Basel, Switzerland)*. 2021 Feb;8(2).
89. Matsumoto F, Shimada K, Kawagoe M, Matsui F, Nagahara A. Delayed decrease in differential renal function after successful pyeloplasty in children with unilateral antenatally detected hydronephrosis. *Int J Urol Off J Japanese Urol Assoc*. 2007

- Jun;14(6):488–90.
90. Duong HP, Piepsz A, Khelif K, Collier F, De Man K, Damry N, et al. Transverse comparisons between ultrasound and radionuclide parameters in children with presumed antenatally detected pelvi-ureteric junction obstruction. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;42(6):940–6.
 91. Abadir N, Schmidt M, Laube GF, Weitz M. Imaging in children with unilateral ureteropelvic junction obstruction: time to reduce investigations? *Eur J Pediatr*. 2017 Sep;176(9):1173–9.
 92. Williams CR, Pérez LM, Joseph DB. Accuracy of renal-bladder ultrasonography as a screening method to suggest posterior urethral valves. *J Urol*. 2001 Jun;165(6 Pt 2):2245–7.
 93. Liu HYA, Dhillon HK, Yeung CK, Diamond DA, Duffy PG, Ransley PG. Clinical Outcome and Management of Prenatally Diagnosed Primary Megaureters. *J Urol* [Internet]. 1994;152(2, Part 2):614–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022534717326642>
 94. Gordon I, Piepsz A, Sixt R. Guidelines for standard and diuretic renogram in children. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* [Internet]. 2011;38(6):1175–88. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00259-011-1811-3>
 95. Farrugia M-K, Hitchcock R, Radford A, Burki T, Robb A, Murphy F. British Association of Paediatric Urologists consensus statement on the management of the primary obstructive megaureter. *J Pediatr Urol*. 2014 Feb;10(1):26–33.
 96. Sarhan O, Al Otay A, Al Faddagh A, El Helaly A, Al Hagbani M, Al Ghanbar M, et al. Pyeloplasty in children with low differential renal function: Functional recoverability. *J Pediatr Urol*. 2021 Oct;17(5):658.e1-658.e9.
 97. Menon P, Rao KLN, Bhattacharya A, Mittal BR. Outcome analysis of pediatric pyeloplasty in units with less than 20% differential renal function. *J Pediatr Urol*. 2016 Jun;12(3):171.e1-7.
 98. Reis LO, Ikari O, Zani EL, Moretti TBC, Gugliotta A. Long-Term Results of Anderson-Hynes Pyeloplasty in Children: How Long Follow-Up Is Necessary? *Eur J Pediatr Surg Off J Austrian Assoc Pediatr Surg* . [et al] = *Zeitschrift fur Kinderchirurgie*. 2015 Dec;25(6):509–12.
 99. Cost NG, Prieto JC, Wilcox DT. Screening ultrasound in follow-up after pediatric pyeloplasty. *Urology*. 2010 Jul;76(1):175–9.
 100. Rickard M, Braga LH, Oliveria J-P, Romao R, Demaria J, Lorenzo AJ. Percent improvement in renal pelvis antero-posterior diameter (PI-APD): Prospective validation and further exploration of cut-off values that predict success after pediatric pyeloplasty supporting safe monitoring with ultrasound alone. *J Pediatr Urol*. 2016

- Aug;12(4):228.e1-6.
101. Chung DY, Hong CH, Im YJ, Lee YS, Kim SW, Han SW. Delayed redo pyeloplasty fails to recover lost renal function after failed pyeloplasty: early sonographic changes that correlate with a loss of differential renal function. *Korean J Urol*. 2015 Feb;56(2):157–63.
 102. Gharpure K V, Jindal B, Naredi BK, Krishnamurthy S, Dhanapathi H, Adithan S, et al. Calyx to Parenchymal Ratio (CPR): An unexplored tool and its utility in the follow-up of pyeloplasty. *J Pediatr Urol*. 2021 Apr;17(2):234.e1-234.e7.
 103. Han JH, Song SH, Lee JS, Nam W, Kim SJ, Park S, et al. Best ultrasound parameter for prediction of adverse renal function outcome after pyeloplasty. *Int J Urol Off J Japanese Urol Assoc*. 2020 Sep;27(9):775–82.
 104. Kern AJM, Schlomer BJ, Timberlake MD, Peters CA, Hammer MR, Jacobs MA. Simple visual review of pre- to post-operative renal ultrasound images predicts pyeloplasty success equally as well as geometric measurements: A blinded comparison with a gold standard. *J Pediatr Urol*. 2017 Aug;13(4):401.e1-401.e7.
 105. Imaji R, Dewan PA. Calyx to parenchyma ratio in pelvi-ureteric junction obstruction. *BJU Int*. 2002 Jan;89(1):73–7.
 106. Hamedanchi S, Sedokani A. Color Doppler Ultrasonography in Evaluating the Outcomes of Pyeloplasty in Ureteropelvic Junction Obstruction. *Res reports Urol*. 2020;12:53–9.
 107. Pérez-Etchepare Figueroa EL, Moraleda Mesa T, Hernández Rodríguez RA, Rosell Echevarría MJ, Tejera Carreño P, Luis Yanes MI, et al. The use of urinary osmolality to evaluate postoperative renal function in children with ureteropelvic junction obstruction. *J Pediatr Urol*. 2021 Aug;17(4):513.e1-513.e7.
 108. Hodhod A, Capolicchio J-P, Jednak R, Eid H, El-Doray AE-A, El-Sherbiny M. Is the renal pyramidal thickness a good predictor for pyeloplasty in postnatal hydronephrosis? *J Pediatr Urol*. 2018 Jun;14(3):277.e1-277.e6.
 109. Rickard M, Lorenzo AJ, Braga LH. Renal Parenchyma to Hydronephrosis Area Ratio (PHAR) as a Predictor of Future Surgical Intervention for Infants With High-grade Prenatal Hydronephrosis. *Urology*. 2017 Mar;101:85–9.
 110. Mudrik-Zohar H, Meizner I, Bar-Sever Z, Ben-Meir D, Davidovits M. Prenatal sonographic predictors of postnatal pyeloplasty in fetuses with isolated hydronephrosis. *Prenat Diagn*. 2015 Feb;35(2):142–7.
 111. Dias CS, Silva JMP, Pereira AK, Marino VS, Silva LA, Coelho AM, et al. Diagnostic accuracy of renal pelvic dilatation for detecting surgically managed ureteropelvic junction obstruction. *J Urol*. 2013 Aug;190(2):661–6.
 112. Jiang D, Chen Z, Lin H, Xu M, Geng H. Predictive Factors of Contralateral Operation after Initial Pyeloplasty in Children with

- Antenatally Detected Bilateral Hydronephrosis Due to Ureteropelvic Junction Obstruction. *Urol Int*. 2018;100(3):322–6.
113. Babu R, Sai V. Pelvis/cortex ratio: A sonographic marker of pelvi ureteric junction obstruction in children. *Indian J Urol*. 2010 Oct;26(4):494–6.
114. Ansari MS. Pevis/cortex ratio in pelviureteric junction obstruction. *Indian J Urol*. 2010 Oct;26(4):472–3.
115. Duin LK, Nijhuis JG, Scherjon SA, Vossen M, Willekes C. Comparison of conventional versus three-dimensional ultrasound in fetal renal pelvis measurement and their potential prediction of neonatal uropathies. *J Matern neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2016;29(15):2494–9.
116. DeFreitas MJ, Katsoufis CP, Infante JC, Granda ML, Abitbol CL, Fornoni A. The old becomes new: advances in imaging techniques to assess nephron mass in children. *Pediatr Nephrol*. 2021 Mar;36(3):517–25.
117. Bai K, Hou Y, Zhang Z, Xing X, Zhu W, Zou X, et al. Ability of volume measures of hydronephrosis to predict need for surgery and evaluate renal function in children with ureteropelvic junction obstruction. *Int J Urol Off J Japanese Urol Assoc*. 2022 Mar;29(3):235–41.
118. Cerrolaza JJ, Peters CA, Martin AD, Myers E, Safdar N, Linguraru MG. Quantitative Ultrasound for Measuring Obstructive Severity in Children with Hydronephrosis. *J Urol*. 2016 Apr;195(4 Pt 1):1093–9.
119. de Bessa JJ, Rodrigues CM, Chammas MC, Miranda EP, Gomes CM, Moscardi PR, et al. Diagnostic accuracy of Onen’s Alternative Grading System combined with Doppler evaluation of ureteral jets as an alternative in the diagnosis of obstructive hydronephrosis in children. *PeerJ*. 2018;6:e4791.
120. Papachristou F, Pavlaki A, Printza N. Urinary and serum biomarkers in ureteropelvic junction obstruction: a systematic review. *Biomarkers Biochem Indic Expo response, susceptibility to Chem*. 2014 Nov;19(7):531–40.
121. Merrikhi A, Bahraminia E. Association of urinary transforming growth factor- β 1 with the ureteropelvic junction obstruction. *Adv Biomed Res*. 2014;3:123.
122. Gawłowska-Marciniak A, Niedzielski JK. Evaluation of TGF- β 1, CCL5/RANTES and sFas/Apo-1 urine concentration in children with ureteropelvic junction obstruction. *Arch Med Sci*. 2013 Oct;9(5):888–94.
123. Kostic D, Beozzo GPNS, do Couto SB, Kato AHT, Lima L, Palmeira P, et al. The role of renal biomarkers to predict the need of surgery in congenital urinary tract obstruction in infants. *J Pediatr Urol*. 2019 May;15(3):242.e1-242.e9.

124. Zieg J, Blahova K, Seeman T, Bronsky J, Dvorakova H, Pechova M, et al. Urinary transforming growth factor- β 1 in children with obstructive uropathy. *Nephrology (Carlton)*. 2011 Aug;16(6):595–8.
125. Li ZZ, Zhao ZZ, Wen JG, Xing L, Zhang H, Zhang Y. Early alteration of urinary exosomal aquaporin 1 and transforming growth factor β 1 after release of unilateral pelviureteral junction obstruction. *J Pediatr Surg*. 2012 Aug;47(8):1581–6.
126. Yu L, Zhou L, Li Q, Li S, Luo X, Zhang C, et al. Elevated urinary lipocalin-2, interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 levels in children with congenital ureteropelvic junction obstruction. *J Pediatr Urol*. 2019 Feb;15(1):44.e1-44.e7.
127. Özkuvancı Ü, Dönmez Mİ, Ziyilan O, Oktar T, Küçükgergin C, Çetin B, et al. Can urinary biomarkers detect obstruction defined by renal functional loss in antenatal hydronephrosis? *J Pediatr Urol*. 2020 Dec;16(6):844.e1-844.e7.
128. Amiri R, Hosseini H, Sanaei Z, Shamahmoudi S, Solgi G. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin level (uNGAL) may predict the severity of congenital hydronephrosis in infants. *Am J Clin Exp Immunol*. 2021;10(1):1–7.
129. Fendereski K, Nabighadim A, Seyedtabib M, Daryabari SS, Haghi-Ashtiani MT, Kajbafzadeh A-M. Comparing predictive values of carbohydrate antigen 19-9, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, and kidney injury molecule-1 in 161 patients with ureteropelvic junction obstruction. *Pediatr Nephrol*. 2021 Mar;36(3):631–8.
130. Pavlaki A, Printza N, Farmaki E, Stabouli S, Taparkou A, Sterpi M, et al. The role of urinary NGAL and serum cystatin C in assessing the severity of ureteropelvic junction obstruction in infants. *Pediatr Nephrol*. 2020 Jan;35(1):163–70.
131. İnal S, Altuntaş A, Kidir V, Özorak A, İlgin Y, Sezer MT. Utility of serum creatinine/cystatin C ratio in diagnosis of postrenal acute kidney injury. *J Res Med Sci Off J Isfahan Univ Med Sci*. 2014 Nov;19(11):1086–9.
132. Yiğit D, Taşkınlar H, Avlan D. Can serum Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin and Kidney Injury Molecule-1 help in decision making for surgery in antenatally dedected hydronephrosis. *J Pediatr Urol*. 2021 Feb;17(1):71.e1-71.e7.
133. Karakus S, Oktar T, Kucukgergin C, Kalelioglu I, Seckin S, Atar A, et al. Urinary IP-10, MCP-1, NGAL, Cystatin-C, and KIM-1 Levels in Prenatally Diagnosed Unilateral Hydronephrosis: The Search for an Ideal Biomarker. *Urology*. 2016 Jan;87:185–92.
134. Madsen MG, Nørregaard R, Palmfeldt J, Olsen LH, Frøkiær J, Jørgensen TM. Urinary NGAL, cystatin C, β 2-microglobulin, and osteopontin significance in hydronephrotic children. *Pediatr Nephrol*. 2012 Nov;27(11):2099–106.

135. Gerber C, Harel M, Lynch ML, Herbst KW, Ferrer FA, Shapiro LH. Proximal tubule proteins are significantly elevated in bladder urine of patients with ureteropelvic junction obstruction and may represent novel biomarkers: A pilot study. *J Pediatr Urol.* 2016 Apr;12(2):120.e1-7.
136. Zhi M, Zhang Y, Liu L, Wang H. Diagnostic value of urinary RBP, ALB and AQP2 in neonatal hydronephrosis and the relationship with expression of MCP-1 in the prenatal maternal peripheral blood. *Exp Ther Med.* 2019 Jan;17(1):373–7.
137. Mohammadjafari H, Rafiei A, Mousavi SA, Alaei A, Yeganeh Y. Role of urinary levels of endothelin-1, monocyte chemotactic peptide-1, and N-acetyl glucosaminidase in predicting the severity of obstruction in hydronephrotic neonates. *Korean J Urol.* 2014 Oct;55(10):670–6.
138. Madsen MG, Nørregaard R, Palmfeldt J, Olsen LH, Frøkiær J, Jørgensen TM. Epidermal growth factor and monocyte chemotactic peptide-1: potential biomarkers of urinary tract obstruction in children with hydronephrosis. *J Pediatr Urol.* 2013 Dec;9(6 Pt A):838–45.
139. Bartoli F, Penza R, Aceto G, Niglio F, D'Addato O, Pastore V, et al. Urinary epidermal growth factor, monocyte chemotactic protein-1, and β 2-microglobulin in children with ureteropelvic junction obstruction. *J Pediatr Surg.* 2011 Mar;46(3):530–6.
140. Mohammadjafari H, Rafiei A, Kosaryan M, Yeganeh Y, Hosseinimehr SJ. Determination of the severity of ureteropelvic junction obstruction using urinary epidermal growth factor and kidney injury molecule 1 levels. *Biomark Med.* 2014;8(10):1199–206.
141. Olvera-Posada D, Dayarathna T, Dion M, Alenezi H, Sener A, Denstedt JD, et al. KIM-1 Is a Potential Urinary Biomarker of Obstruction: Results from a Prospective Cohort Study. *J Endourol.* 2017 Feb;31(2):111–8.
142. Alizadeh F, Taefnia AM, Haghani S. Urinary carbohydrate antigen 19-9/creatinine ratio: A non-invasive marker for follow-up of unilateral ureteropelvic junction obstruction in children. *J Pediatr Urol.* 2018 Feb;14(1):62.e1-62.e4.
143. Atar A, Oktar T, Kucukgergin C, Kalelioglu I, Seckin S, Ander H, et al. The roles of serum and urinary carbohydrate antigen 19-9 in the management of patients with antenatal hydronephrosis. *J Pediatr Urol.* 2015 Jun;11(3):133.e1-5.
144. Banerjee I, Tomar V, Yadav SS, Vyas N, Yadav S, Sathian B. Role of Urinary and Serum Carbohydrate Antigen 19-9 as a Biomarker in Diagnosis of Adult Giant Hydronephrosis. *J Clin Diagn Res.* 2016 Sep;10(9):PC08-PC11.
145. Grandaliano G, Gesualdo L, Bartoli F, Ranieri E, Monno R, Leggio

- A, et al. MCP-1 and EGF renal expression and urine excretion in human congenital obstructive nephropathy. *Kidney Int.* 2000 Jul;58(1):182–92.
146. Li Z, Zhao Z, Liu X, Su Z, Shang X, Wen J. Prediction of the outcome of antenatal hydronephrosis: significance of urinary EGF. *Pediatr Nephrol.* 2012 Dec;27(12):2251–9.
147. Taranta-Janusz K, Zalewska-Szajda B, Chojnowska S, Wasilewska A. Urine exoglycosidases are potential markers of renal tubular injury in children with ureteropelvic junction obstruction. *Acta Paediatr.* 2015 Nov;104(11):e518-23.
148. Assadi F, Mazaheri M. Urinary polyomavirus: novel biomarker of congenital ureteropelvic junction obstruction. *J Pediatr Urol.* 2020 Feb;16(1):107.e1-107.e5.
149. Washino S, Hosohata K, Oshima M, Okochi T, Konishi T, Nakamura Y, et al. A Novel Biomarker for Acute Kidney Injury, Vanin-1, for Obstructive Nephropathy: A Prospective Cohort Pilot Study. *Int J Mol Sci.* 2019 Feb;20(4).
150. Begou O, Pavlaki A, Deda O, Bollenbach A, Drabert K, Gika H, et al. Diminished Systemic Amino Acids Metabolome and Lipid Peroxidation in Ureteropelvic Junction Obstruction (UPJO) Infants Requiring Surgery. *J Clin Med.* 2021 Apr;10(7).
151. Taranta-Janusz K, Wasilewska A, Roszkowska R, Michaluk-Skutnik J. Is urine intercellular adhesion molecule-1 a marker of renal disorder in children with ureteropelvic junction obstruction? Biomarkers Biochem Indic Expo response, susceptibility to Chem. 2016;21(2):123–8.
152. Mello MF, Thalita Dos Reis S, Kondo EY, de Bessa Júnior J, Dénes FT, Lopes RI. Urinary extracellular matrix proteins as predictors of the severity of ureteropelvic junction obstruction in children. *J Pediatr Urol.* 2021 Aug;17(4):438.e1-438.e7.
153. Bieniaś B, Sikora P. Selected Metal Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases as Potential Biomarkers for Tubulointerstitial Fibrosis in Children with Unilateral Hydronephrosis. *Dis Markers.* 2020;2020:9520309.
154. Tian F, Gu C, Zhao Z, Li L, Lu S, Li Z. Urinary Emmprin, matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 as potential biomarkers in children with ureteropelvic junction narrowing on conservative treatment. *Nephrology (Carlton).* 2015 Mar;20(3):194–200.
155. Wang Q, Shi Z, Xing X, Deng Y, Li W, Xie T, et al. Matrix Remodeling-Associated Protein 5 in Urinary Exosomes as a Potential Novel Marker of Obstructive Nephropathy in Children With Ureteropelvic Junction Obstruction. *Front Pediatr.* 2020;8:504.
156. Pavlaki A, Begou O, Deda O, Farmaki E, Dotis J, Gika H, et al. Serum-Targeted HILIC-MS Metabolomics-Based Analysis in Infants

- with Ureteropelvic Junction Obstruction. *J Proteome Res.* 2020 Jun;19(6):2294–303.
157. Gupta S, Nicassio L, Junquera GY, Jackson AR, Fuchs M, McLeod D, et al. Impact of successful pediatric ureteropelvic junction obstruction surgery on urinary HIP/PAP and BD-1 levels. *J Pediatr Urol.* 2020 Oct;16(5):592.e1-592.e7.
 158. Li Z, Liu X, Liu S, Gu C, Tian F, Wen J. Urinary heme oxygenase-1 in children with congenital hydronephrosis due to ureteropelvic junction obstruction. Biomarkers Biochem Indic Expo response, susceptibility to Chem. 2012 Aug;17(5):471–6.
 159. Jianguo W, Zhenzhen L, Xianghua L, Zhanzheng Z, Suke S, Suyun W. Serum and urinary procollagen III aminoterminal propeptide as a biomarker of obstructive nephropathy in children. *Clin Chim Acta.* 2014 Jul;434:29–33.
 160. Taranta-Janusz K, Wasilewska A, Dębek W, Fiłonowicz R, Michaluk-Skutnik J. Urinary angiotensinogen as a novel marker of obstructive nephropathy in children. *Acta Paediatr.* 2013 Sep;102(9):e429-33.
 161. Shirazi M, Eslahi A, Sharifi V, Rahimi F, Safarpour A. Evaluation of Caspase 3 Enzyme and TNF-alpha as Biomarkers in Ureteropelvic Junction Obstruction in Children- a preliminary report. *Pakistan J Med Sci.* 2017;33(2):315–9.
 162. Xu Z-M, Li M-J, Tao C. Serum and urinary thioredoxin concentrations are associated with severity of children hydronephrosis. *Clin Chim Acta.* 2017 Mar;466:127–32.
 163. Li X, Liu X, Li J, Song El, Sun N, Liu W, et al. Semaphorin-3A and Netrin-1 predict the development of kidney injury in children with congenital hydronephrosis. *Scand J Clin Lab Invest.* 2018;78(1–2):55–61.
 164. Taha MA, Shokeir AA, Osman HG, Abd El-Aziz AE-AF, Farahat SE. Obstructed versus dilated nonobstructed kidneys in children with congenital ureteropelvic junction narrowing: role of urinary tubular enzymes. *J Urol.* 2007 Aug;178(2):640–6.
 165. Bieniaś B, Sikora P. Potential Novel Biomarkers of Obstructive Nephropathy in Children with Hydronephrosis. *Dis Markers.* 2018;2018:1015726.
 166. Yücel ÖB, Dönmez Mİ, Küçükgergin C, Ziylan O, Seçkin Ş, Oktar T. Urinary biomarkers can identify the need for pyeloplasty in presence of supranormal differential renal function in antenatally diagnosed unilateral hydronephrosis. *J Pediatr Urol.* 2022 Feb;18(1):6–12.
 167. Cost NG, Noh PH, Devarajan P, Ivancic V, Reddy PP, Minevich E, et al. Urinary NGAL levels correlate with differential renal function in patients with ureteropelvic junction obstruction undergoing pyeloplasty. *J Urol.* 2013 Oct;190(4 Suppl):1462–7.

168. Wasilewska A, Taranta-Janusz K, Dębek W, Zoch-Zwierz W, Kuroczycka-Saniutycz E. KIM-1 and NGAL: new markers of obstructive nephropathy. *Pediatr Nephrol.* 2011 Apr;26(4):579–86.
169. Kim DS, Noh JY, Jeong HJ, Kim MJ, Jeon HJ, Han SW. Elastin content of the renal pelvis and ureter determines post-pyeloplasty recovery. *J Urol.* 2005 Mar;173(3):962–6.
170. Hunziker M, O'Donnell A-M, Gosemann J, Alvarez LA, Puri P. Altered anoctamin-1 and tyrosine phosphorylation in congenital ureteropelvic junction obstruction. *J Pediatr Surg.* 2020 Aug;55(8):1621–5.
171. Knerr I, Nyul Z, Miller J, Rösch W, Dötsch J, Repp R, et al. Increased endothelin-1 and decreased adrenomedullin gene expression in the stenotic tissue of congenital pelvi-ureteric junction obstruction in children. *BJU Int.* 2001 May;87(7):667–71.
172. Hosgor M, Karaca I, Ulukus C, Ozer E, Ozkara E, Sam B, et al. Structural changes of smooth muscle in congenital ureteropelvic junction obstruction. *J Pediatr Surg.* 2005 Oct;40(10):1632–6.
173. Bayrak O, Basmaci I, Bozdogan Z, Sen H, Erturhan S, Balat A, et al. Immunohistochemical evaluation of Cajal-like cells and Caveolin-1 levels at ureteropelvic junction obstruction. *Arch Esp Urol.* 2019 Sep;72(7):690–6.
174. Kajbafzadeh A-M, Payabvash S, Salmasi AH, Monajemzadeh M, Tavangar SM. Smooth muscle cell apoptosis and defective neural development in congenital ureteropelvic junction obstruction. *J Urol.* 2006 Aug;176(2):718–23; discussion 723.
175. Hunziker M, O'Donnell A-M, Puri P. Platelet-derived growth factor receptor alpha-positive cells: a new cell type in the human ureteropelvic junction. *Pediatr Res.* 2017 Dec;82(6):1080–7.
176. Özel SK, Emir H, Dervişoğlu S, Akpolat N, Şenel B, Kazez A, et al. The roles of extracellular matrix proteins, apoptosis and c-kit positive cells in the pathogenesis of ureteropelvic junction obstruction. *J Pediatr Urol.* 2010 Apr;6(2):125–9.
177. Chiou Y-Y, Shieh C-C, Cheng H-L, Tang M-J. Intrinsic expression of Th2 cytokines in urothelium of congenital ureteropelvic junction obstruction. *Kidney Int.* 2005 Feb;67(2):638–46.
178. Cutroneo G, Arena S, Anastasi G, Cervellione RM, Grimaldi S, Di Mauro D, et al. Altered cytoskeletal structure of smooth muscle cells in ureteropelvic junction obstruction. *J Urol.* 2011 Jun;185(6):2314–9.
179. Knerr I, Dittrich K, Miller J, Kummer W, Rösch W, Weidner W, et al. Alteration of neuronal and endothelial nitric oxide synthase and neuropeptide Y in congenital ureteropelvic junction obstruction. *Urol Res.* 2001 Apr;29(2):134–40.
180. Yilmaz O, Nese N, Dalgic M, Kesici GP, Genc A, Taneli C, et al. Sonic hedgehog, TBX18, and TSHZ3 proteins involved in

- pyeloureteral motility development are overexpressed in ureteropelvic junction obstruction. An immunohistochemical, histopathological, and clinical comparative study. *Saudi Med J*. 2016 Jul;37(7):737–43.
181. Chen H, Ji H-Y, Yang Y. The Expression of Gli3 and Teashirt3 in the Stenotic Tissue of Congenital Pelvi-Ureteric Junction Obstruction in Children. *Int J Med Sci*. 2016;13(6):412–7.
 182. Yang Y, Zhou X, Gao H, Ji SJ, Wang C. The expression of epidermal growth factor and transforming growth factor-beta1 in the stenotic tissue of congenital pelvi-ureteric junction obstruction in children. *J Pediatr Surg*. 2003 Nov;38(11):1656–60.
 183. Koca O, Kaya C, Ozturk MI, Gunes M, Gumrukcu G, Karaman MI. Analysis of expression of TNF-alpha and TGF-beta3 in intrinsic ureteropelvic junction obstruction. *Bratisl Lek Listy*. 2013;114(9):498–502.
 184. Seremetis GM, Maizels M. TGF-beta mRNA expression in the renal pelvis after experimental and clinical ureteropelvic junction obstruction. *J Urol*. 1996 Jul;156(1):261–6.
 185. Horbelt D, Denkis A, Knaus P. A portrait of Transforming Growth Factor β superfamily signalling: Background matters. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2012;44(3):469–74. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357272511003608>
 186. Samarakoon R, Overstreet JM, Higgins PJ. TGF- β signaling in tissue fibrosis: redox controls, target genes and therapeutic opportunities. *Cell Signal*. 2013 Jan;25(1):264–8.
 187. Chung JY-F, Chan MK-K, Li JS-F, Chan AS-W, Tang PC-T, Leung K-T, et al. TGF- β Signaling: From Tissue Fibrosis to Tumor Microenvironment. *Int J Mol Sci*. 2021 Jul;22(14).
 188. Li Y, Chen Z, Zhang J, Zhang Q, He L, Xu M, et al. Quantitative Proteome of Infant Stenotic Ureters Reveals Extracellular Matrix Organization and Oxidative Stress Dysregulation Underlying Ureteropelvic Junction Obstruction. *Proteomics Clin Appl*. 2020 Nov;14(6):e2000030.
 189. Görmüş U, Kasap M, Akpınar G, Tuğtepe H, Kanlı A, Özel K. Comparative Proteome Analyses of Ureteropelvic Junction Obstruction and Surrounding Ureteral Tissue. *Cells Tissues Organs*. 2020;209(1):2–12.
 190. O'Reilly PH. Diuresis Renography 8 Years Later: An Update. *J Urol* [Internet]. 1986;136(5):993–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002253471745186X>
 191. Ganger MT, Dietz GD, Ewing SJ. A common base method for analysis of qPCR data and the application of simple blocking in qPCR experiments. *BMC Bioinformatics* [Internet]. 2017;18(1):534.

Available from: <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1949-5>

192. Leung VY, Chu WC, Yeung C, Sreedhar B, Liu J, Wong EM, et al. Nomograms of total renal volume, urinary bladder volume and bladder wall thickness index in 3,376 children with a normal urinary tract. *Pediatr Radiol*. 2007 Feb;37(2):181–8.
193. Chen Z, Lin H, Xu M, Xu G, Fang X, He L, et al. The clinical manifestations of intermittent hydronephrosis and their relationship with renal function in pediatric patients. *J Pediatr Urol*. 2020 Aug;16(4):458.e1-458.e6.
194. Cangemi G, Storti S, Cantinotti M, Fortunato A, Emdin M, Bruschetti M, et al. Reference values for urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in pediatric age measured with a fully automated chemiluminescent platform. *Clin Chem Lab Med*. 2013 May;51(5):1101–5.
195. Bethea M, Forman DT. Beta 2-microglobulin: its significance and clinical usefulness. *Ann Clin Lab Sci*. 1990;20(3):163–8.
196. Snyder LM. *Wallach's interpretation of diagnostic tests*. Lippincott Williams & Wilkins; 2019.
197. Koff SA, Campbell K. Nonoperative management of unilateral neonatal hydronephrosis. *J Urol*. 1992;148(2):525–31.
198. Gulur DM, Young JG, Painter DJ, Keeley Jr FX, Timoney AG. How successful is the conservative management of pelvi-ureteric junction obstruction in adults? *BJU Int*. 2009;103(10):1414–6.
199. Malki M, Linton KD, Mackinnon R, Hall J. Conservative management of pelvi-ureteric junction obstruction (PUJO): is it appropriate and if so what duration of follow-up is needed? *BJU Int*. 2012 Aug;110(3):446–8.
200. McCarthy CS, Sarkar SD, Izquierdo G, Dunn EK, Strashun AN, Herskowitz M, et al. Pitfalls and limitations of diuretic renography. *Abdom Imaging*. 1994;19(1):78–81.
201. Akgun V, Battal B, Kocaoglu M, Ozcan E, Akay S, Ilgan S. Sonographic Measurement of Diuretic-Induced Renal Length Changes: Are They Correlated With Renal Function? *J Ultrasound Med*. 2012;31(9):1351–6.
202. von Rundstedt F-C, Scovell JM, Bian SX, Lee D, Mayer WA, Link RE. Percent of Tracer Clearance at 40 Minutes in MAG3 Renal Scans Is More Sensitive Than T(1/2) for Symptomatic Ureteropelvic Junction Obstruction. *Urology*. 2017 May;103:245–50.
203. Ponto LL, Schoenwald RD. Furosemide (frusemide). A pharmacokinetic/pharmacodynamic review (Part I). *Clin Pharmacokinet*. 1990 May;18(5):381–408.
204. Lee JN, Kang J-K, Jeong SY, Lee SM, Cho MH, Ha Y-S, et al. Predictive value of cortical transit time on MAG3 for surgery in antenatally detected unilateral hydronephrosis caused by ureteropelvic junction stenosis. *J Pediatr Urol*. 2018 Feb;14(1):55.e1-

- 55.e6.
205. Ladouceur M, Baron S, Nivet-Antoine V, Maruani G, Soulat G, Pereira H, et al. Role of myocardial collagen degradation and fibrosis in right ventricle dysfunction in transposition of the great arteries after atrial switch. *Int J Cardiol* [Internet]. 2018;258:76–82. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167527317355948>
 206. Isali I, McClellan P, Wong TR, Gupta S, Woo L. A systematic review of underlying genetic factors associated with ureteropelvic junction obstruction in stenotic human tissue. *J Pediatr Urol*. 2022 Aug;
 207. Tveitarås MK, Skogstrand T, Leh S, Helle F, Iversen BM, Chatziantoniou C, et al. Matrix Metalloproteinase-2 Knockout and Heterozygote Mice Are Protected from Hydronephrosis and Kidney Fibrosis after Unilateral Ureteral Obstruction. *PLoS One*. 2015;10(12):e0143390.
 208. Ivkovic S, Yoon BS, Popoff SN, Safadi FF, Libuda DE, Stephenson RC, et al. Connective tissue growth factor coordinates chondrogenesis and angiogenesis during skeletal development. *Development*. 2003 Jun;130(12):2779–91.
 209. Mori T, Kawara S, Shinozaki M, Hayashi N, Kakinuma T, Igarashi A, et al. Role and interaction of connective tissue growth factor with transforming growth factor-beta in persistent fibrosis: A mouse fibrosis model. *J Cell Physiol*. 1999 Oct;181(1):153–9.
 210. Wang HG, Yan XY, Cai YM, Wang HG, Chen JY. The effect of phosphodiesterase isoenzyme 5 inhibitors on ureteropelvic junction obstruction in rabbits. *Urol Int*. 2009;83(3):316–22.
 211. Magyar Z, Schönleber J, Romics M, Hruby E, Nagy B, Sulya B, et al. Expression of VEGF in neonatal urinary obstruction: does expression of VEGF predict hydronephrosis? *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res*. 2015 May;21:1319–23.
 212. Paces-Fessy M, Fabre M, Lesaulnier C, Cereghini S. Hnf1b and Pax2 cooperate to control different pathways in kidney and ureter morphogenesis. *Hum Mol Genet*. 2012 Jul;21(14):3143–55.
 213. Duymelinck C, Dauwe SE, De Greef KE, Ysebaert DK, Verpooten GA, De Broe ME. TIMP-1 gene expression and PAI-1 antigen after unilateral ureteral obstruction in the adult male rat. *Kidney Int*. 2000 Sep;58(3):1186–201.
 214. Vaughan DE, Lazos SA, Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. *J Clin Invest*. 1995 Mar;95(3):995–1001.
 215. Ghosh AK, Vaughan DE. PAI-1 in tissue fibrosis. *J Cell Physiol*. 2012 Feb;227(2):493–507.

216. Koff SA. Problematic ureteropelvic junction obstruction. Vol. 138, The Journal of urology. United States; 1987. p. 390.

PRIEDAI

1 priedas. Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimo atlikti biomedicininį tyrimą kopija.



VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETAS
Viešoji įstaiga, Universiteto g. 3, LT-01513 Vilnius. Duomenys kaupiami ir saugomi Juridinių asmenų registre, kodas 211950810
Fakulteto duomenys: M.K. Čiurlionio g. 21/27, 03101 Vilnius, tel. (8 5) 239 8700, el. p. mf@mf.vu.lt
VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
Komiteto duomenys: M.K. Čiurlionio g. 21/27, 03101 Vilnius, tel. (8 5) 268 6998, el. p. rbtek@mf.vu.lt

LEIDIMAS ATLIKTI BIOMEDICININĮ TYRIMĄ

2018-06-05 Nr.158200-18/6-1044-544

Tyrimo pavadinimas:

Vaikų anomalijų etiologija: genetiniai, profesiniai ir aplinkos rizikos veiksniai

Protokolo Nr.:	AGORA
Versija:	1.1
Data:	2018 03 28
Informuoto asmens sutikimo forma:	1.1 (Mamai) 2018 05 30 1.1 (Tėčiui) 2018 05 30 1.0 (Tėvams) 2018 05 11
Pagrindinis tyrėjas:	Gilvydas Verkauskas
Įstaigos pavadinimas:	Vaikų ligoninė, VšĮ Vilniaus universiteto ligoninė Santaros klinikos
Adresas:	Santariškių g. 7, Vilnius
Leidimas galioja iki:	2028 12 31

Leidimas išduotas Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto posėdžio (protokolas Nr. 158200-2018/6), vykusio 2018 m. birželio 5 d. sprendimu.

Pirmininkas



prof. Saulius Vosylius

2 priedas. Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimo atlikti biomedicininį tyrimą pirmo papildymo kopija.



VILNIAUS UNIVERSITETO
VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS

Biomedicininio tyrimo „Vaikų anomalija etiologija: genetiniai, 2019-04-30 Nr. 2019-LP-22 profesiniai ir aplinkos rizikos veiksniai“
pagrindiniam tyrėjui Gilvydui Verkauskui

Dėl leidimo Nr. 158200-18/6-1044-544 papildymo Nr. I

PRITARIMAS

Vilniaus regioninis biomedicininų tyrimų etikos komitetas susipažino su Jūsų prašymu leisti keisti/papildyti biomedicininio tyrimo „Vaikų anomalija etiologija: genetiniai, profesiniai ir aplinkos rizikos veiksniai“, leidimą Nr. 158200-18/6-1044-544, išduotą 2018-06-05 d. Nutarta pritarti Jūsų prašymui:

- Vadovautis biomedicininio tyrimo protokolu - Nr. AGORA, versija 1.2, data 2019-02-20 d.
- Teikti informuoto asmens sutikimo formą:
 - mamai - versija Nr.1.2, data 2019-02-20 d.;
 - mamai (kontrolinė grupė) versija Nr.1.2, data 2019-02-20 d.;
 - tėvui versija Nr.1.2, data 2019-02-20 d.;
 - tėvui (kontrolinė grupė) versija Nr.1.2, data 2019-02-20 d.;
 - tėvams - versija Nr.1.2, data 2019-02-20 d.;
 - tėvams (kontrolinė grupė) versija Nr.1.2, data 2019-02-20 d..
- Į tyrimą įtraukti tyrėją - gydytoją vaikų chirurgą Vytautą Bilių.

Pirmininkas

prof. dr. (HP) Saulius Vosylius

Viešoji įstaiga
Universiteto g. 3
01513 Vilnius

Duomenys kaupiami ir saugomi
Juridinių asmenų registre
Kodas 211950810

Komiteto duomenys:
M. K. Čiurlionio g. 21, LT-03101 Vilnius
Tel. (8 5) 268 6998, el. p. rbtek@mf.vu.lt
www.mf.vu.lt/content/vrbtek/naujienos

3 priedas. Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimo atlikti biomedicininį tyrimą antro papildymo kopija.



VILNIAUS REGIONINIS BIOMEDICININIŲ TYRIMŲ ETIKOS KOMITETAS
sui generis darinys prie VILNIAUS UNIVERSITETO

Biomedicininio tyrimo „Vaikų anomalijų etiologija: genetiniai, profesiniai ir aplinkos rizikos veiksniai“
pagrindiniam tyrėjui Gilvydai Verkauskui 2019-09-19 Nr. 2019-LP-45

Dėl leidimo Nr. 158200-18/6-1044-544 papildymo Nr. 1

PRITARIMAS

Vilniaus regioninis biomedicininų tyrimų etikos komitetas išnagrinėjo Jūsų prašymą keisti/papildyti biomedicininio tyrimo „*Vaikų anomalijų etiologija: genetiniai, profesiniai ir aplinkos rizikos veiksniai*“, leidimą Nr. 158200-18/6-1044-544, išduotą 2018-06-05 d. Ekspertai pritaria:

- Atnaujintam protokolui (versijos Nr.1.2, data 2019-09-19 d.);

Pirmininkas

prof. dr. (HP) Saulius Vosylius

4 priedas. RT-qPCR naudotų pradmenų sekų sąrašas. Buvo naudotos analogiškos pradmenų banke (angl. *PrimerBank*, <https://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/>) nurodomoms pradmenų sekos.

Genas	Pradmuo	Pradmens seka (5' - → - 3')
<i>TGFβ1</i>	Tiesioginis	CTAATGGTGGAAACCCACAACG
	Atvirkštinis	TATCGCCAGGAATTGTTGCTG
<i>TIMPI</i>	Tiesioginis	CTTCTGCAATTCCGACCTCGT
	Atvirkštinis	ACGCTGGTATAAGGTGGTCTG
<i>VEGFA</i>	Tiesioginis	AGGGCAGAATCATCACGAAGT
	Atvirkštinis	AGGGTCTCGATTGGATGGCA
<i>CTGF</i>	Tiesioginis	AAAAGTGCATCCGTACTIONCCA
	Atvirkštinis	CCGTCGGTACATACTIONCACAG
<i>PAII</i>	Tiesioginis	AGTGGACTTTTCAGAGGTGGA
	Atvirkštinis	GCCGTTGAAGTAGAGGGGCATT
<i>MMPI</i>	Tiesioginis	CTCTGGAGTAATGTCACACCTCT
	Atvirkštinis	TGTTGGTCCACCTTTTCATCTTC
<i>GPI</i>	Tiesioginis	CAAGGACCGCTTCAACCACTT
	Atvirkštinis	CCAGGATGGGTGTGTTTGACC
<i>GADPH</i>	Tiesioginis	ACAACCTTTGGTATCGTGGAAGG
	Atvirkštinis	GCCATCACGCCACAGTTTC

5 priedas. Santykinė su randėjimu susijusių genų raiška šlapimtakio striktūros audinio mėginiuose – 1, kontroliniuose mėginiuose – 0. Geltona spalva pažymėtose eilutėse parodyta santykinė genų raiška VUJ mėginiuose, žalios spalvos eilutėje parodyta santykinė genų raiška PUJ segmente, kai nebuvo obstrukcijos, pašalintame iš dvigubo inksto. Raudona – išskirtys (skaičiuotos $Q1 - IQR \times 1,5$, $Q3 + IQR \times 1,5$, kai $Q1 - 1$ kvartilis, $Q3 - 3$ kvartilis, $IQR -$ interkvartilinis skirtumas).

<i>TGFβ1</i>	<i>TIMPI</i>	<i>PAII</i>	<i>CTGF</i>	<i>VEGFA</i>	<i>MMP1</i>	
1.249552	0.810473	0.051454	0.83401	0.438118	1.023411	1
1.329775	0.821534	0.028248	0.313343	0.475229	2.404299	1
0.675928	0.109396	0.37441	2.156472	0.240757	0.099056	1
0.744272	4.42157	0.237945	0.544827	0.665225	0.660658	1
0.323673	0.321269	0.020418	0.217756	0.550647	0.226065	1
2.179649	2.066757	0.439538	2.302648	0.61882	22.62681	1
0.334772	0.021078	2.789157	0.3213	0.361576	0.318306	1
0.888707	0.012026	3.871375	0.383519	0.195829	0.079218	1
0.617139	0.010881	3.879912	0.087268	0.227358	2.023246	1
0.125155	0.107498	0.617883	0.364478	0.296231		1
0.477988	0.093203	3.225487	0.256707	0.327974		1
0.332824	0.330189	0.317624	0.342734	0.933049		1
0.489783	1.290435	0.108359	0.977259	0.183177		1
0.355881	1.552608	0.100984	0.088433	0.348935	3.605304	1
1.479869	1.081567	0.092594	0.131957	0.995605		1
2.346539	0.869859	0.030842	0.544543	0.808443	0.654711	1
3.050259	0.718284	0.097086	0.346362	1.497571		1
0.654954	0.180639	0.039436	0.907201	0.806579		1
3.545894	1.503128	0.071809	0.472809	1.231594		1
0.207384	0.568865	0.364329	0.458202	0.492681	1.142595	0
0.839906	0.121107	0.196542	1.114007	0.531311	0.02775	0
0.753166	0.506238	0.479218	0.884742	0.681522	0.159419	0
0.736666	2.595325	0.022037	0.266448	0.365595	0.021378	0
2.24297	1.051738	3.608046	2.042173	2.171056	3.120759	0
1.219907	1.156727	1.329828	1.234427	1.757835	1.528099	0

6 priedas. Įvairių inkstų echoskopinio tyrimo rodiklių ir su randėjimu susijusių veiksnių santykinės raiškos šlapimtakio striktūros audinyje koreliacijos. * statistiškai reikšminga koreliacija laikyta, kai $\alpha < 0,05$. APD bei APD ir parenchimos santykio pokyčiai po operacijos buvo apskaičiuoti minėtus dydžius po operacijos padalinus iš atitinkamų dydžių prieš operaciją. SFU pokytis apskaičiuotas SFU laipsnį po operacijos atimant iš SFU laipsnio prieš operaciją.

Echoskopinis rodiklis	<i>CTGF</i> (n = 20)	<i>MMP1</i> (n = 12)	<i>PAII</i> (n = 20)	<i>TGFβ1</i> (n = 20)	<i>TIPM1</i> (n = 20)	<i>VEGFA</i> (n = 20)
APD prieš operaciją	-0,024 p = 0,92	-0,11 p = 0,73	-0,22 p = 0,35	0,64 p = 0,003*	-0,0106 p = 0,97	0,143 p = 0,55
APD po operacijos	0,012 p = 0,94	-0,329 p = 0,3	-0,098 p = 0,68	-0,053 p = 0,82	-0,082 p = 0,73	-0,027 p = 0,91
APD ir parenchimos santykis prieš operaciją	-0,262 p = 0,264	-0,294 p = 0,35	0,00602 p = 0,982	0,22 p = 0,351	-0,26 p = 0,26	-0,092 p = 0,7
APD ir parenchimos santykis po operacijos	-0,0053 p = 0,98	-0,3 p = 0,34	-0,25 p = 0,3	0,056 p = 0,82	-0,085 p = 0,72	-0,035 p = 0,88
APD ir parenchimos santykio pokytis	0,087 p = 0,71	-0,29 p = 0,37	-0,063 p = 0,79	-0,26 p = 0,27	-0,027 p = 0,91	0,0015 p = 0,1
APD pokytis	0,03 p = 0,91	-0,28 p = 0,38	-0,024 p = 0,92	-0,177 p = 0,45	-0,047 p = 0,85	-0,056 p = 0,82
SFU pokytis	-0,071 p = 0,77	0,22 p = 0,493	0,18 p = 0,44	0,04 p = 0,87	0,022 p = 0,93	0,04 p = 0,87

7 priedas. Įvairių šlapimo ir kraujo serumo žymenų ir su randėjimu susijusių veiksnių santykinės raiškos šlapimtakio striktūros audinyje koreliacijos. * statistiškai reikšminga koreliacija laikyta, kai $\alpha < 0,05$, † – artima statistiškai reikšmingai koreliacijai, kai $p [0,05; 0,1)$.

Biocheminis žymuo	<i>CTGF</i> (n = 20)	<i>MMP1</i> (n = 12)	<i>PAII</i> (n = 20)	<i>TGFβ1</i> (n = 20)	<i>TIMP1</i> (n = 20)	<i>VEGFA</i> (n = 20)
uAlb (n = 20)	0,156 p = 0,512	-0,39 p = 0,21	0,272 p = 0,25	-0,45 p = 0,047*	-0,295 p = 0,21	-0,575 p = 0,008*
uAlb/Cr (n = 20)	0,1744361 p = 0,4603	0,07 p = 0,8	0,302 p = 0,195	-0,224 p = 0,34	0,105 p = 0,658	-0,385 p = 0,095†
uβ2-M (n = 19)	0,045 p = 0,855	-0,492 p = 0,124	-0,03 p = 0,91	0,231 p = 0,34	0,297 p = 0,22	-0,24 p = 0,325
uβ2-M /Cr (n = 19)	-0,044 p = 0,86	-0,027 p = 0,95	0,132 p = 0,59	0,342 p = 0,15	0,35 p = 0,141	-0,06 p = 0,81
uNGAL (n = 19)	0,00176 p = 0,99	0,6 p = 0,06†	-0,36 p = 0,13	0,198 p = 0,42	0,276 p = 0,25	-0,148 p = 0,55
uNGAL/Cr (n = 19)	0,023 p = 0,9261	0,555 p = 0,08†	-0,144 p = 0,56	0,29 p = 0,23	0,315 p = 0,19	-0,194 p = 0,43
Cistatinas c kraujo serume (n = 16)	0,046 p = 0,87	0,33 p = 0,43	0,478 p = 0,06†	0,146 p = 0,59	-0,04 P = 0,88	0,012 p = 0,97

8 priedas. Hidronefrotinio inksto scintigrafijos rodiklių koreliacija su randėjimo veiksniais šlapimtakio striktūros audinyje. * statistiškai reikšminga koreliacija laikyta, kai $\alpha < 0,05$.

	<i>CTGF</i> (n = 12)	<i>MMP1</i> (n = 6)	<i>PAII</i> (n = 12)	<i>TGFβ1</i> (n = 12)	<i>TIMP1</i> (n = 12)	<i>VEGFA</i> (n = 12)
DIF (n = 12)	-0,105 p = 0,75	0,036 p = 0,96	0,105 p = 0,75	-0,224 p = 0,49	0,042 p = 0,904	0,24 p = 0,46
TTT (n = 12)	-0,151 p = 0,64	–	-0,629 p = 0,03*	0,45 p = 0,15	0,32 p = 0,3	0,33 p = 0,3

SUMMARY

ABBREVIATIONS AND DEFINITIONS

- AGS** – alternative grading system
- APD** – anterior posterior diameter of renal pelvis (grading system of hydronephrosis)
- AUC** – area under the curve
- CI** – confidence interval
- Cr** – creatinine
- CTGF** – connective tissue growth factor
- DRF** – differential renal function
- GADFPH** – Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
- GPI** – Glucose-6-phosphate isomerase
- mRNA** – messenger ribonucleic acid
- OU** – obstructive uropathy
- PAI1** – plasmin activator inhibitor
- PUJ** – pieloureteral junction
- PUJO** – pieloureteral junction obstruction
- RSS** – radionculide renal scan
- RT-qPCR** – reverse transcription quantitative polymerase chain reaction
- ROC** – receiver operating characteristic
- SFU** – society for fetal urology
- Tc-99m MAG3** – mercaptoacetyltriglycine labeled by technetium-99m isotope
- TGFβ1** – transforming growth factor beta 1
- TIMP** – tissue inhibitor of metalloproteinases
- TTT** – tissue transit time
- uAlb** – urinary albumin
- uβ2-M** – urinary β2 microglobulin
- US** – ultrasonography
- uNGAL** – urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin
- UTD** – urinary tract dilatation system
- VEGF** – vascular endothelial growth factor
- VUJO** – vesicoureteral junction obstruction

1. INTRODUCTION

1.1. Research problem

Obstructive uropathies (OU) constitute a group of urinary tract diseases caused by urine drainage impairment from any level of the urinary tract. With respect to the etiology, OUs can be classified either as functional or mechanical, as well as congenital or acquired. This dissertation targets the study of congenital OUs. Depending on the site of obstruction, congenital OUs can manifest as hydronephrosis or ureterohydronephrosis unilaterally or bilaterally, as well megabladder in the case of infravesical obstruction (1). Congenital OUs can lead to various consequences which are largely influenced by the etiology and the site of obstruction. In the case of suprav vesical obstruction, symptoms may vary from complete absence in the early course of obstruction to recurrent urinary tract infections, pain, growth arrest, anemia and hypertension (3). In addition to this, infravesical obstruction with bilateral ureterohydronephrosis may lead to significant deterioration of the renal function and incontinence due to overextended bladder (4,5). Undiagnosed pyeloureteral junction obstruction (PUJO) may result in intermittent abdominal and loin pain, palpable lump, general sickness, vomiting, hematuria, arterial hypertension, or failure of one or both kidneys (2,3,6).

Koff suggested the definition for obstruction that “any restriction to urinary outflow, that left untreated will cause progressive renal deterioration” (216). Consensual diagnosis of obstruction has to be confirmed by the kidney function deterioration or finding indirect markers which may help to predict progressing renal damage. Early elimination of obstruction provides a chance to preserve kidney function, while an ongoing obstruction results in the progressive loss of kidney function. Therefore, the goal of research in OUs is the early diagnosis of obstruction using harmless tools (8–10). In terms of the follow-up and diagnosis of OUs, ultrasound evaluation (US) is the tool of choice which is advantageous for its accessibility and noninvasiveness. US serves well to delineate the urinary tract anatomy and to detect hydronephrosis at any stage. However, the remaining disadvantage of US is that this tool is not always sufficient to determine the cause of hydronephrosis and its obstructive potential; therefore, it necessitates additional radiological and functional studies (11–13).

The amount of additional functional and visualizing diagnostic methods is associated with the degree of urinary tract dilatation and its dynamics. The

simple detection of increasing dilatation on serial UEs is frequently interpreted as an indirect sign of obstruction (14). Nevertheless, the remaining borderline sensitivity and specificity of the recommended studies together with the risks associated with general anesthesia and exposure to radiation stimulates research for minimally invasive OU evaluation methods.

1.2. Relevance of the study

Irrespective of the progress in the medical science, there is still no perfect method to diagnose congenital obstruction and to predict the effectiveness of surgical intervention. Apart from US, the radionuclide renal scan (RRS), magnetic resonance tomography, computed tomography, cystography and endoscopic studies are also important in OU diagnosis (12,15–17). All aforementioned methods are relatively effective, however, they are invasive: radiation exposure, peripheral vein catheterization, small children require general anesthesia (13,15). Expensive equipment and pediatric radiological expertise is also required. Usually, several methods are employed to convince the surgeon and the parents regarding the necessity of a surgery.

The optimization of timing and the duration of the follow-up is relevant before the procedure and after it. The choice of noninvasive and harmless methods suggested by different researchers is still excessively variable to be standardized in the workup of OUs (8,15,18).

Main categories of noninvasive and minimally invasive diagnostic methods utilized in the diagnosis of OUs could be mainly grouped to either US modifications, or biochemical and molecular blood and urine analysis. Herthelius et al. in their study of the long-term hydronephrosis follow-up showed that a further follow-up was unnecessary when APD (anterior posterior diameter) was <7 mm in newborns because, in this patient group, OU was highly unlikely (69). The follow-up becomes relevant when the APD diameter in a newborn is more than 7 mm and especially when APD is >20 mm (70). According to the results of other researches, when the degree of hydronephrosis was evaluated as Society for fetal urology (SFU) grade 4, the progression of hydronephrosis was present in 33% of the cases, whereas, when it was Urinary tract dilatation (UTD) grade 3, hydronephrosis progressed in 50% of the cases (13,73).

Considering pathogenetic studies, there is also a scarcity of data concerning the role of PUJO tissue analysis in the better understanding of the etiopathogenesis of obstructive uropathy and how it can predict the postoperative course. Better understanding of the PUJO tissue molecular

characteristics may give better insight into the etiopathogenesis of PUJO and useful information regarding the prediction of postoperative results.

1.3. Aims of the study

To determine the effectiveness of noninvasive, minimally invasive and molecular diagnostic methods in the prediction of surgery and OU development.

1.4. Objectives of the study

1. To identify the supplementary benefit of diuretic for US in the identification of operative cases due to obstructive congenital hydronephrosis.
2. To identify whether biochemical urinary markers (urinary albumin (uAlb), urinary beta 2 microglobulin (u β M-2), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (uNGAL)) together with US offered superior efficacy in the prediction of radionuclide renal scan findings and operative cases of congenital hydronephrosis than US alone.
3. To identify differential expression of fibrosis-related genes in obstructive PUJ and non-obstructive ureteral tissue.
4. To identify the relation between the expression of fibrosis-related genes in obstructive ureteral tissue, perioperative ultrasound findings and urinary obstruction biomarkers.

1.5. Novelty and practical significance of the study

1. Prospective design of the study;
2. Novel ultrasonographic index investigated;
3. Clinical applicability of the studied parameters;
4. Supplementary evidence on the role of urinary biomarkers in the diagnosis of obstruction;
5. Combination of ultrasonographic and biochemical parameters in the diagnostic paradigm;
6. Additional scientific knowledge considering the expression of fibrosis-related genes in congenital ureteral stricture.

1.6. Statements to be defended

1. Diuretic enhanced US is superior to the regular US in the diagnosis of pyeloureteral obstruction.
2. APD and midparenchymal thickness ratio improves the prediction of surgical management and RRS findings.
3. uAlb, urinary Cr, uNGAL, u β 2-M detection improves the US ability to predict RRS results.
4. Fibrosis related genes are differentially expressed in obstructing ureteral segments comparing to the healthy ones.

2. MATERIALS AND METHODS

The research was conducted from 2018 until 2022 at Vilnius University Santaros Klinikos, the Center of Pediatric Surgery Orthopedics and Traumatology, the Department of Pediatric Surgery. The study was approved by Vilnius Regional Bioethics Committee (Nr. 158200-18/6-1044-544, the date of approval is 05 June 2018; also, two updates (20 February 2019 and 19 September 2019) were obtained. The data for the retrospective analysis was retrieved from the database of the Pediatric Surgery Department. During the study period, all the patients whose diagnosis was unilateral or bilateral hydro- or ureterohydronephrosis and the patients of the control group who were counseled due to an unrelated cause and had no signs of urinary tract obstruction on ultrasound were prospectively included in the study. All the samples of urine were analyzed at Vilnius University Santaros Klinikos, the Center of Laboratory Medicine (analysis was done by medical biologist Laima Gogelienė), whereas the molecular analysis of strictured ureteral tissue was carried out by the scientists of Vilnius University Life Science Center (P. Barasa and R. Žilinskaitė-Tamašauskė).

To include patients into the study, informed consent was taken from their parents. The study consisted of the following phases:

1. The evaluation of the efficacy of diuretic enhanced renal ultrasonography in the diagnosis of congenital hydronephrosis based on retrospective data.
2. The collection of prospective data.
3. The investigation of the value of urinary obstruction biomarkers and ultrasound findings to predict renal scan results and operative management.
4. The analysis of expression of fibrosis-related genes in a strictured ureteral tissue and its comparison to their expression in ureteral tissue without obstruction.
5. The analysis of expression of fibrosis-related genes in relation to perioperative ultrasonography findings and urinary obstruction biomarkers.

2.1. Characteristics of the population

2.1.1. Inclusion criteria

Boys and girls 11 years of age or younger in the prospective part of the study and children under 17 years of age (inclusive) in the retrospective part of the study;

Unilateral or bilateral hydro- and ureterohydronephrosis;

The control group patients who had medical appointment not related to the urinary tract anomalies and showed no obvious urinary tract anomalies on ultrasound;

Consent to the research.

2.1.2. Exclusion criteria

Signs of acute disease;

Single kidney or contralateral kidney dysplasia;

Acquired urinary tract obstruction.

2.1.3. Flowchart of the study

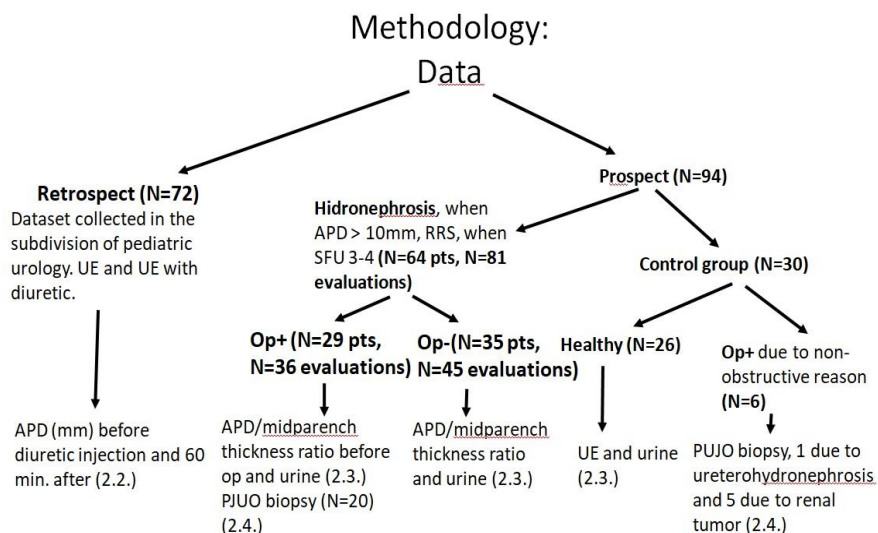


Figure 1. Abbreviations: Op+ – operated, Op- – follow-up, US – ultrasound evaluation, APD – anterior-posterior diameter of renal pelvis

2.2. Evaluation of diuretic enhanced ultrasonography in the diagnosis of pyeloureteral junction obstruction

Retrospective records from the database of the Department of Pediatric surgery were retrieved. The variables of the interest were: patient age at the time of evaluation, APD before diuretic injection and after it. Data of 72 patients were relevant for calculations. The sample consisted of 42 boys and 30 girls, the age ranged from 2 months to 17 years, whereas the age median was 7.07 years. All the patients were examined and treated at Vilnius University Santaros Klinikos from January 2006 until October 2011. Patients were included in the study when APD on ultrasound measured ≥ 10 mm. We generated linear regression to detect APD covariates. One of the significant covariates was the patient's age; therefore, before the analysis of the receiver operating characteristic (ROC) curves, the patients were divided into three age groups in order to eliminate the age influence on APD. The intervals for the age groups were: 0–4, 5–9, and 10–17 years of age. According to the retrospective data, VUR and neurogenic urinary bladder were ruled out in all patients by performing a cystogram. All patients underwent US, thereafter it was repeated 60 minutes following an intravenous furosemide injection of 1 mg/kg when the patient's weight was up to 20 kg, and not more than 20 mg when the patient's weight was >20 kg. Before this work-up, all patients had been asked to drink more water with the objective to achieve normal hydration. APD was measured and recorded before the diuretic injection and 60 minutes after it (Figure 2).

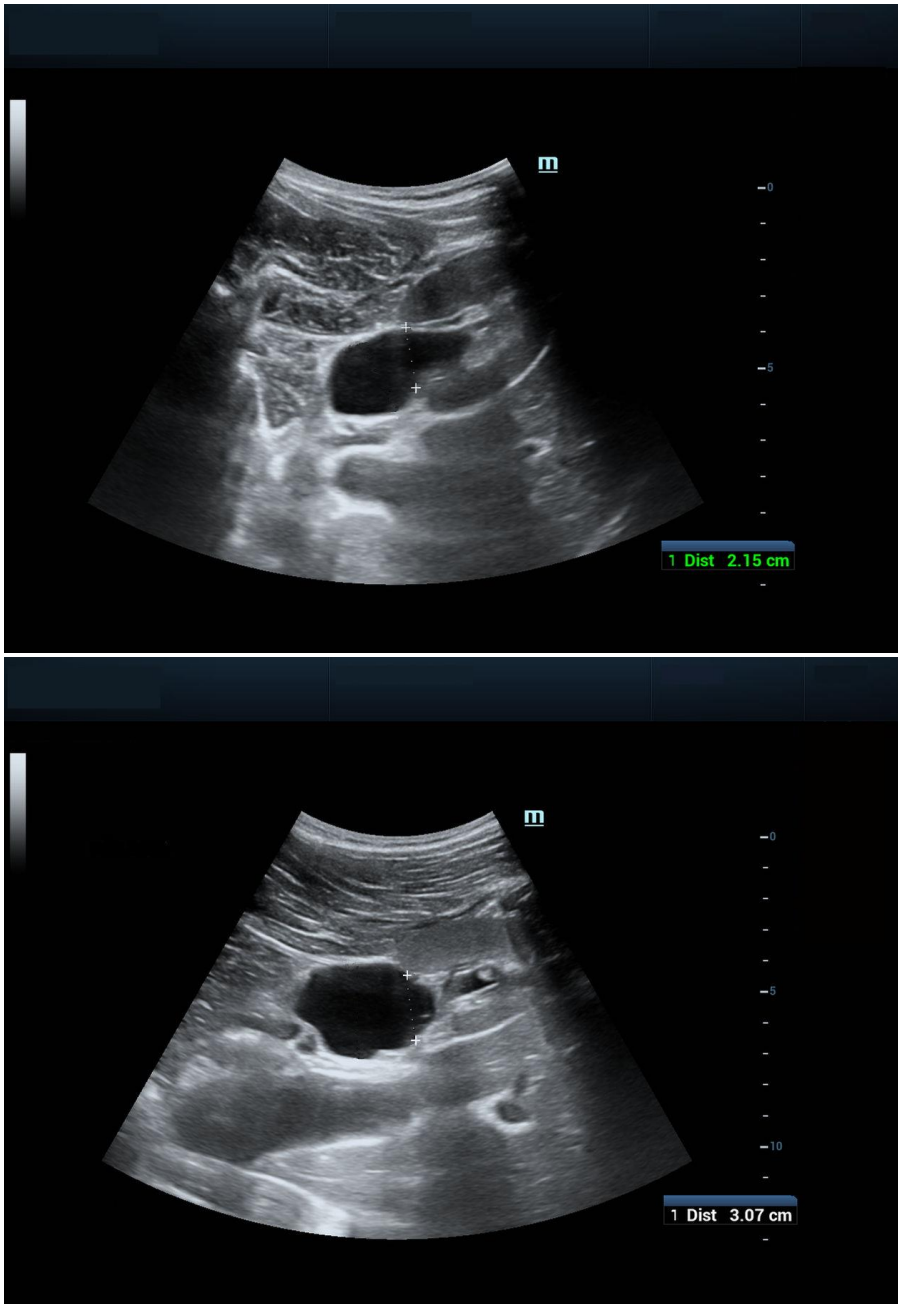


Figure 2. APD measurement before diuretic injection and 60 minutes later
Parenchymal sclerosis was estimated as parenchymal thinning and hyperechogenicity. Indications for operation were the progression of hydronephrosis on serial ultrasound scans, the worsening renal function on the renal scan or prevalence of symptoms (loin pain or acute pyelonephritis).

The analysis of the ultrasound risk factors for pyeloureteroplasty was rendered by R commander 2.5–1 (McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada). The covariates for operative treatment in the logistic regression model were: APD, APD after diuretic injection, and parenchymal thickness of the hydronephrotic kidney. The level of significance was taken as $\alpha < 0.05$. In addition to this, the evaluator was not involved in the decision making of patient treatment. For US, we used *Medison Accuvix XQ* ultrasound device (*Medison Americal, Cypress, California, USA*).

2.3. Evaluation of urine biomarkers combined with ultrasound for the diagnosis of obstruction in pediatric hydronephrosis

64 patients (39 boys and 25 girls), with hydro- or ureterohydronephrosis were prospectively included in the study from February 2019 until February 2021. Both kidneys were evaluated by ultrasound, and urine samples were collected concomitantly either by using urinary collection bags or by voiding on demand into a urine collection container. All urine samples were frozen at -80°C . The degree of hydronephrosis was evaluated by SFU and alternative grading system (AGS) systems. The renal volume, APD, the diameter of the biggest calix, and the middle parenchymal thickness were measured. Each time, US was performed by the same evaluator. For the ultrasound scan, we used a *LOGIQ V2* portable ultrasound device. The patients for whom high grade hydronephrosis (SFU 3–4 or AGS 3–4) on ultrasound had been confirmed were referred to perform RRS. Hence, the patients who were operated upon were those patients who had a confirmed obstruction of the ureter. According to our algorithm, the criteria to diagnose obstruction were: an increase of APD on serial ultrasound scans by 20%, DRF on renal scan $< 40\%$ on the affected side, or a decrease of DRF on serial RRS exceeded 5%, symptoms like loin pain or pyelonephritis attributable to obstruction.

RRS was performed by using the *Infinia2* dual detector visualizing system. Tc-99m MAG3 radionuclide was used referring to F-20 protocol, which means that the evaluation of the renogram type was performed 20 minutes after the radionuclide injection. The DRF, the renogram type, and the tissue transit time (TTT) were the criteria to estimate the renal scan. One second per frame for the first 2 minutes and 15 seconds per frame for the remaining 40 min were used to assess TTT. TTT was assessed as the time from radionuclide appearance in renal parenchyma until the moment when it passes into the collecting system. TTT was estimated by a single evaluator (radiologist R. Komiagiènè). Urine samples were also collected from the

control group of patients. The control group consisted of patients who neither had any urinary tract anomalies in their medical history, nor demonstrated detection on US at the time of inclusion. The urine from the control group patients was collected in the same way either by asking the patients to void on demand, or by sticking urine collecting bags when voluntary voiding was not possible. The urinary samples were frozen at -80°C . Urine analyses were performed in both the observational and the control groups. For the analysis, we used the *Abbot Architect* analyzer. First of all, we selected the ultrasound dimension which had the best efficacy in predicting operative management and then compared its efficacy to the combination of the selected ultrasound dimension with urine biomarkers in the prediction of operative management. We also performed calculations to reveal how the combination of ultrasound with urine biomarkers can predict RRS findings (DRF $<40\%$, TTT >3 minutes, the obstructive curve on the renogram classified as *B* or *D* by *O'Reilly's* classification) (190). The logistic regression method was applied to establish the significant ultrasound and urine biochemical dimensions to predict the surgical management and RRS findings. ROC curves were generated and compared when only ultrasound dimensions were used for the prediction of the aforementioned criteria to ultrasound combined with urine biomarkers. Instead of the commonly used APD, we used the APD and middle parenchymal thickness ratio. When it was evaluated independently from other criteria, it was a significant factor to predict the operative management (Figure 3).

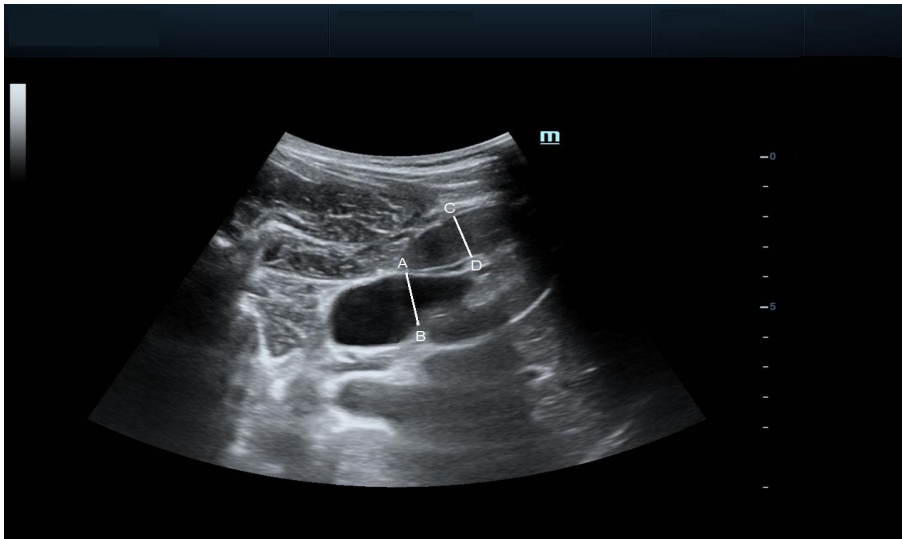


Figure 3. Calculation of APD and midparenchymal thickness ratio. APD and midparenchymal thickness ratio equals to AB/CD

In part of our calculations (to assess the combined efficacy of urine biomarkers with the ultrasound dimension), we used the cumulative APD and midparenchymal thickness ratio which was calculated by adding APD and midparenchymal thickness ratios of both kidneys. This was decided on the presumption that the profile of urine biomarkers can depend on the status of both kidneys regardless of laterality. Kaplan-Meier survival analysis was rendered to demonstrate the proportion of the operated and conservatively managed patients when our created model predicted different outcomes. For these calculations, we used *R* statistical package, Version 4.1.0.

2.3.1. Principles of the compilation of logistic regression model and ROC curves when several different factors were used together to predict a particular outcome

The efficacy of the ultrasound parameter with urine biomarkers was merged by calculating a probability that the created model will predict the outcome of interest. The probability was calculated as follows:

$$z_1 = a_1 + b_1 \cdot uAlb + b_2 \cdot u\beta_2-M + b_3 \cdot uNGAL + b_4 \cdot x$$

Where: z – logit function, a – intercept, $b(1-4)$ – logistic regression coefficients for every independent variable.

$$p = e^z / (1 + e^z),$$

Where: e – the base of the natural logarithm, p – probability of the event of interest (surgical management), z – logit function

To generate the ROC curve, we used binary values (0 – event will not occur, when $p < 0.5$, and 1 – the event will occur, when $p > 0.5$)

This formula was used for the prediction of operative management, prolonged TTT, and reduced DRF.

2.4. Evaluation of the relative expression of fibrosis related factors in obstructed and nonobstructed ureteral stricture

26 patients were included in this part of the study. 18 of them underwent Hynes-Anderson pyeloureteroplasty due to PUJO, 2 patients underwent ureteroneocystostomy due to vesicoureteral junction obstruction (VUJO),

and 6 patients were included as the control group patients, 5 of them had nephroureterectomy due to a renal tumor, and there was one case of heminephroureterectomy due to upper pole ureterohydronephrosis when PUJO demonstrated no evident obstruction. There were 13 boys and 7 girls in the ureteral stricture group. The age median at the time of operation in the ureteral stricture group was 15.2 [9.07;66.2] months. In the control group, the median age of the patients was 60 [35;80.3] months, and this group consisted of 4 girls and 2 boys. All patients included in this part of the study were treated between 2019 and 2021. The ureteral stricture and control ureteral tissue samples in all cases were removed as part of a standard procedure, and the extent of the operation was not changed due to the research (Figure 4).



Figure 4. PUJO at the time of pyeloureteroplasty

The tissue of ureteral stricture upon harvesting was not fixated, and, on dry ice, it was immediately transferred to the center of Pathology of Santaros Klinikos and frozen at -80°C in liquid nitrogen. As it was already mentioned, all patients with congenital ureteral stricture included in the study underwent a renal ultrasound scan, renal scintigraphy, and the analysis of urine biomarker concentration.

When the whole batch of the tissue samples was collected, all the samples were analyzed. RNA was extracted from the tissues. RT-qPCR was

performed to detect fibrosis related tissue factor expression. We analyzed *TGFβ1*, *TIMP1*, *VEGF*, *CTGF*, *PAIL*, *MMP1* expression and the differences regarding this expression between a strictured ureteral tissue and a ureteral tissue without obstruction.

The relative gene expression was calculated by using *GADFPH* and *GPI* as the control genes.

Molecular analysis was performed in the Center of Life Sciences of Vilnius University. RNA expression in the ureteral tissue was performed by gradual defrosting of samples, centrifugation, and Trizol reagent application (*Thermo Fisher*) according to the protocol of the manufacturer. 1 mL of Trizol reagent was consumed for 100 mg of the tissue. The extracted RNA was dissolved in nuclease free water, and the quantity and quality of RNA was evaluated by using a *NanoDrop* device (*Thermo Fisher*).

Complementary DNA (cDNA) was synthesized by using *Maxima H Minus First Strand* cDNA Synthesis Kit (*Thermo Fisher*). Every sample had reverse transcription negative control. RT-qPCR was carried out by using *Luminaris Color HiGreen qPCR Master Mix* (*Thermo Fisher*) with the *Eppendorf realplex4* quantitative analysis PCR device. The geometric mean of the expression of *Gapdh* and *Gpi* genes was used to calculate the relative expression of the aforementioned genes. To calculate the relative expression, we used the *Common Base Method*:

$$Cq(w) = 1/n \sum_{i=1}^n \log_{10}(E) \cdot Cq_i$$

Where: $Cq(w)$ – mean efficiency-weighted value; E – efficiency of the reaction, Cq – threshold qPCR cycle value at which the fluorescence generated within a reaction crosses the fluorescence threshold, $\log(E) \cdot Cq$ – efficiency-weighted Cq value, n – number of technical replicates ($n=2$).

The calculation of the efficiency coefficient was run as follows:

$E = 10^{-1/k}$, when k – relative cDNA quantity increase upon one cycle of RT-qPCR.

Then we used a formula to calculate the difference between the $Cq(w)_g$ value of the gene of interest and the mean efficiency-weighted value of all the reference genes in the sample:

$$\Delta Cq(w) = Cq(w)_g - 1/n \sum_{i=1}^n Cq(w)_{REFi}$$

Where: g – the gene of interest, n – the number of reference genes – REF (we used two reference genes: *Gpi* and *Gadph*).

The values of $\Delta C_q(w)$ were used to calculate the normalized relative expression:

$$R=10^{-\Delta C_q(w)}$$

(191)

In order to detect gene expression differences between the ureteral stricture and the control group tissue, the R values of each ureteral stricture sample were divided by the mean R values of every gene in the control group. These definite values were used in the statistical calculations.

The results were analyzed by using *Microsoft Excel 2003–2007* and R studio package, *Version 1.2.5033*. Outliers were removed prior to analysis. The Wilcoxon test was applied to characterize the relative expression differences between the strictured ureteral tissue and the control ureteral tissue. The level of significance was determined as $\alpha = 0.05$, and 95% CI was applied for the results. The list of primers used in RT-qPGR is presented in Table 1.

Table 1. Primer list used for RT-qPGR. The sequences were derived from PrimerBank <https://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/>

Gene	Primer	Primer sequence (5' - → - 3')
<i>TGFβ1</i>	Forward	CTAATGGTGGAAACCCACAACG
	Reverse	TATCGCCAGGAATTGTTGCTG
<i>TIMP1</i>	Forward	CTTCTGCAATTCCGACCTCGT
	Reverse	ACGCTGGTATAAGGTGGTCTG
<i>VEGFA</i>	Forward	AGGGCAGAATCATCACGAAGT
	Reverse	AGGGTCTCGATTGGATGGCA
<i>CTGF</i>	Forward	AAAAGTGCATCCGTA CTCCCA
	Reverse	CCGTCGGTACATACTCCACAG
<i>PAII</i>	Forward	AGTGGACTTTTCAGAGGTGGA
	Reverse	GCCGTTGAAGTAGAGGGGCATT
<i>MMP1</i>	Forward	CTCTGGAGTAATGTCACACCTCT
	Reverse	TGTTGGTCCACCTTTCATCTTC
<i>GPI</i>	Forward	CAAGGACCGCTTCAACCACTT
	Reverse	CCAGGATGGGTGTGTTTGACC
<i>GADPH</i>	Forward	ACAAC TTTGGTATCGTGGAAAGG
	Reverse	GCCATCACGCCACAGTTTC

2.5. Evaluation of the relationship of fibrosis-related genes in strictured ureteral tissue and perioperative ultrasound findings

We explored whether the relative expression of any gene correlated with such perioperative US data as APD before operation, APD after operation, APD and midparenchymal thickness ratio before and after operation, APD and midparenchymal thickness ratio change after operation, APD change after operation, SFU change after operation. The SFU degree change and APD and midparenchymal thickness ratio change was calculated with regard to the aforementioned relative gene expression in the strictured ureteral tissue and checked the perioperative ultrasound scan findings. The relative change of APD and the midparenchymal thickness ratio was calculated by dividing the value of this variable after the operation by the value of this variable before the operation. The SFU change was calculated by subtracting the SFU degree after operation from the SFU degree before operation. The Spearman correlation test was applied. For the calculations, we used *R* package, Version 4.0.4. The level of significance was assumed when $\alpha = 0.05$.

2.6. Evaluation of the relationship of fibrosis-related genes in strictured ureteral tissue urinary obstruction biomarkers and renal scan findings

With regard to the aforementioned results of the expression of fibrosis-related genes in the strictured ureteral tissue, regarding urinary obstruction biomarkers and renal scan findings, it was calculated whether the relative expression of any single gene correlates with uAlb, uNGAL, u β 2-M (standardized and not standardized by creatinine) and blood serum cistatin C. It was also calculated whether the expression of fibrosis-related genes in the strictured ureteral tissue correlates with such renal scan findings as DRF and TTT. The Spearman correlation test was applied. For the calculations, we used *R* package, Version 4.0.1. The level of significance was assumed when $\alpha = 0.05$.

3. RESULTS

3.1. Diuretic enhanced ultrasonography in the diagnosis of pyeloureteral junction obstruction

3.1.1. Description of the sample

In the observational group, hydronephrosis was unilateral in 61 (84.7%) and bilateral in 11 (15.3%) patients. The total number of hydronephrotic renal units evaluated by ultrasound was 83, and the total number of the estimated renal units was 144. In the case of unilateral hydronephrosis, left hydronephrosis accounted for 49.2% (n = 30), and the right side for 50.8% (n = 31). 28 (39%) patients were operated due to hydronephrosis, and all the operated patients underwent unilateral pyeloureteroplasty, whereas the remaining 44 (61%) patients were followed-up.

3.1.2. Comparison of US parameters between operated and non-operated kidneys

The APD median of all operated patients before diuretic injection was 22 [17; 21.8] mm, and 17 [12.9; 20.5] mm in the conservatively managed patients (p = 0.005). Following the diuretic injection, APD increased to 35.5 [29.2; 39.2] mm in the operated patients, and to 25.8 [19.8; 29] mm in the conservatively managed patients (p <0.001). Because of the wide age interval between the youngest and the oldest patient, we divided the patients into 3 groups of age and compared the respective medians in each group (Table 2).

Table 2. Patients divided into three age groups: 0–4, 5–9 and 10–17 years old (Non-op – non-operated patients, op – operated patients. Quartiles 1 and 3 are provided in square brackets. $\alpha < 0.05$ was considered a level of significance. * – statistically significant difference. Δ APD60=APD after diuretic injection – APD before diuretic injection. The number of patients with hydronephrosis N1=72, bilateral hydronephrosis was present in N2=11, this results in a total of N=83 kidneys with hydronephrosis).

Age (years) N=83	Diuretic status	Op (APD mm)	Non-op (APD mm)	P value
0-4 Op 9 (29%) Non-op 22 (71%)	before	22.0 [18.20; 25.900]	17.5 [13.85; 22.625]	0.1115
	after	29.3 [26.0; 33.000]	23.5 [18.3; 27.675]	0.003886*
	Δ APD60	8.0 [6.200; 9.60]	4.2 [0.025; 6.85]	0.07684
5-9 Op 8 (38%) Non-op 13 (62%)	before	23.0 [14.3; 35.25]	17.8 [13.5; 18.20]	0.1157
	after	39.5 [35.75; 43.7]	26.0 [20.00; 29.0]	0.00285*
	Δ APD60	4 [2.75; 26.4]	8 [4; 11]	0.572
10–17 Op 11 (35%) Non-op 20 (55%)	before	23.40 [19.52; 28.1]	13.75 [10.875; 21.425]	0.01313*
	after	37.15 [32.8; 39.20]	27.55 [20.4; 32.25]	0.003213*
	Δ APD60	12.6 [7; 16.3]	9.35 [6.9; 12.3]	0.1603

3.1.3. Reaction of contralateral kidney to diuretic injection in case of unilateral hydronephrosis

It was also observed that the diuretic injection in some unilateral hydronephrosis patients provoked the dilatation of the contralateral kidney. Also, in some cases, there was no reaction to the diuretic injection of the hydronephrotic kidney. There were 72 patients included and 144 renal units evaluated. The statistics of these events are provided in Table 3.

Table 3. Numbers and overall percentages of the reaction rate to diuretic injection are provided in this table with respect to the presence or absence of hydronephrosis before diuretic injection. CI – 95% confidence interval. Percentage in brackets was calculated by dividing the value of every field by the sum of every column

N=144	Hydronephrosis before diuretic	No hydronephrosis before diuretic	Chi square test	p-value
Response to diuretic	71 (86%)	16 (22%)	51.722	<0.001
No response to diuretic	12 (14%)	45 (74%)		
Odds ratio of response to diuretic when hydronephrosis before diuretic was present	16.4, 95% CI (13.2; 20.5)			

3.1.4. Relationship of the increase of APD after diuretic injection and APD before injection and the increase of APD of contralateral kidney

The Spearman rank correlation test (r_s) showed that there was a significantly negative correlation between APD before the diuretic injection and APD after the diuretic injection ($r_s = -0.47$, $p < 0.001$, Figure 5), and there was also a significant correlation between the increase of the hydronephrotic kidney APD and renal pelvis dilatation on the contralateral initially nonhydronephrotic side when this reaction was present ($r_s = 0.51$, $p = 0.04$). In the case of bilateral hydronephrosis, APD before and after the diuretic

injection did not correlate with contralateral APD before the diuretic injection ($p = 0.63$).

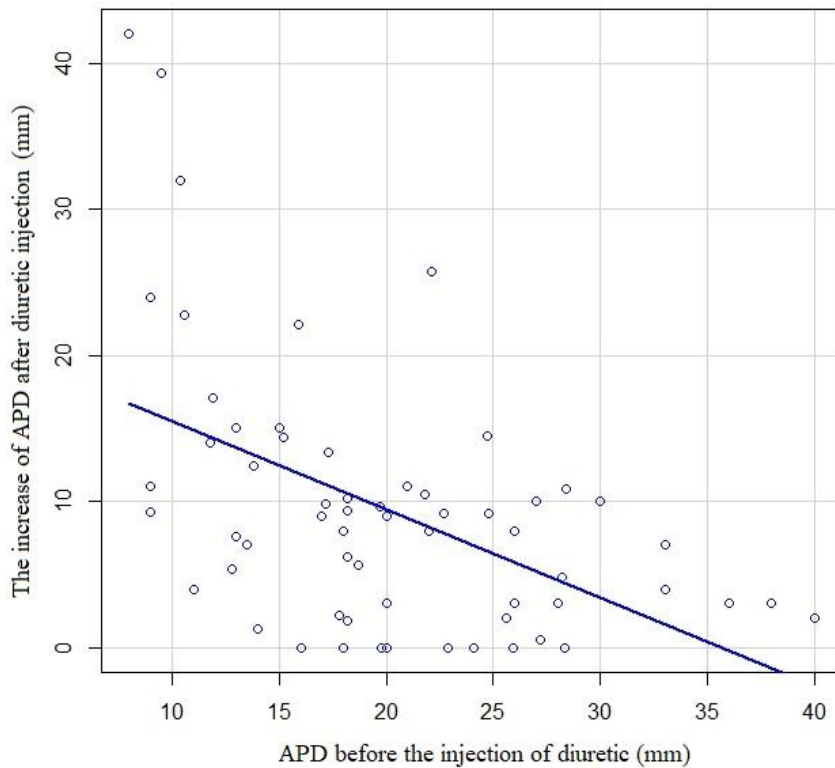


Figure 5. A negative correlation between APD before the diuretic injection and APD after the diuretic injection.

3.1.5. Significant covariates predicting operative management and comparison of APD before diuretic and APD after diuretic in the prediction of operative management in different age groups

The logistic regression model and the stepwise model selection were applied to identify significant covariates (parenchymal status, APD before and after diuretic injection) for surgical management in different age groups: 0–4, 5–9 and 10–17 years old. In the 0–4 year group, significant covariate for operation was APD after diuretic injection ($p = 0.04$), in the 5–9 year group – parenchymal sclerosis ($p = 0.02$) and APD after diuretic injection were probably significant ($p = 0.05$), and in the 10–17 year group – parenchymal sclerosis ($p = 0.02$) was highlighted. The ROC curves of APD before the diuretic injection and after it to predict the operation were compared and

depicted in Figure 6. The APD cutoff values to predict operation are demonstrated in Table 4.

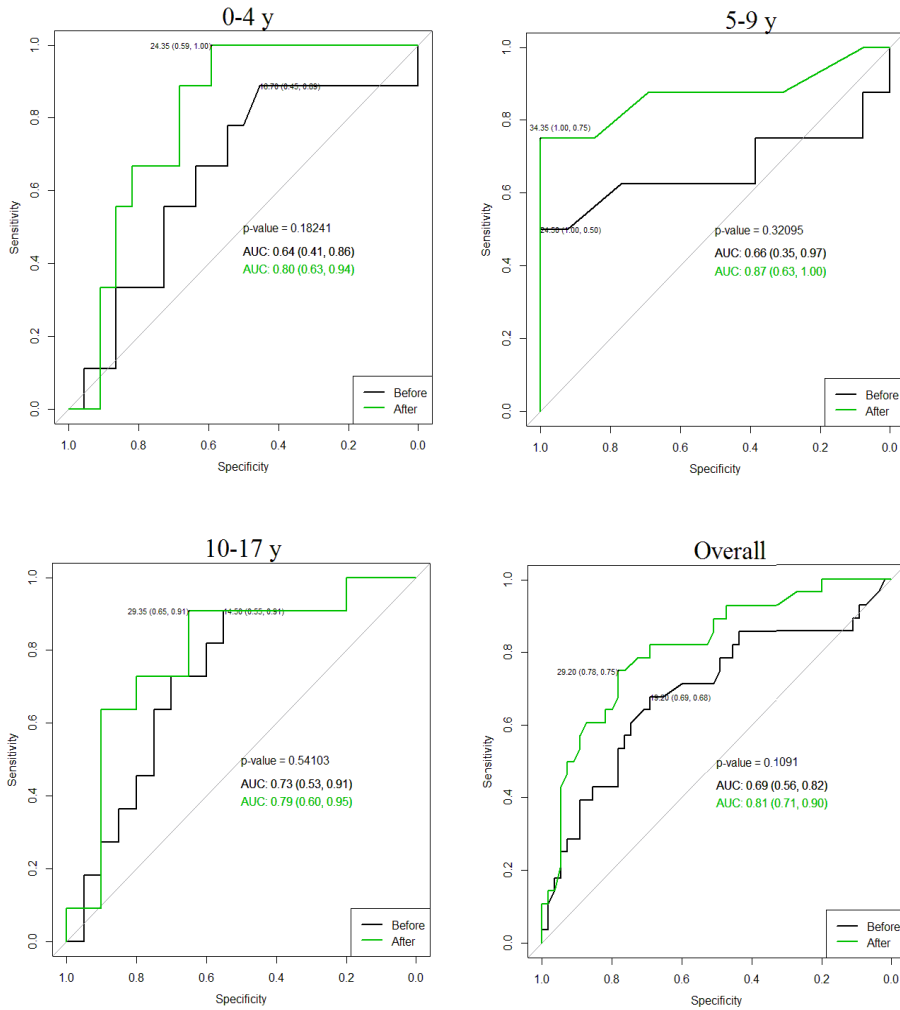


Figure 6. Green ROC curves represent the efficacy of APD after diuretic injection; black curves show APD before diuretic injection to predict surgical management. Separate ROC curves were generated for each age group. y – years; p values indicate whether there was as significant area under the curve (AUC) difference

Table 4. APD cutoff values to predict surgical management. Sensitivity and specificity are given in brackets

Age group (y)	APD before diuretic	APD after diuretic
0–4	16.7 (0.45;0.89)	24.35 (0.59;1)
5–9	24.5 (1;0.5)	34.35 (1;0.75)
10–17	14.5(0.55;0.91)	29.35 (0.65;0.91)
overall	19.20 (0.69;0.68)	29.2 (0.78;0.75)

3.2. Urine biomarkers combined with ultrasound for the prediction of surgical management and renal scan findings

3.2.1. Description of the sample

64 patients (39 boys and 25 girls) with hydronephrosis were prospectively included in the study. 17 out of them were evaluated twice; the median duration between the evaluations was 7.1 [5.8;8.4] months. Therefore, 81 episodes of evaluation were recorded, and 162 renal units were evaluated. The control group consisted of 26 patients (23 boys and 3 girls). The mean age in the group of hydronephrosis at the time of inclusion was 43.7(±45.5) months and 61.2(±4.3) months in the control group. Unilateral hydronephrosis was detected in 56 patients, whereas the bilateral type was detected in 8. The follow-up median was 22.9 [8.6; 31] months. 36 patients had left hydronephrosis, 20 had the right and 8 had the bilateral variation. 40 patients underwent RRS, and 80 renal units were evaluated.

3.2.2. Detection of significant ultrasound parameters for prediction operative management

The logistic regression model and the stepwise model selection demonstrated that significant ultrasound parameters to predict surgical management were midparenchymal thickness ($p=0.014$) and APD ($p=0.0118$) when the model consisted of the following independent variables: the diameter of the biggest calyx, the middle parenchymal thickness, the renal APD, SFU, AGS and the relative renal volume (normalized by the mean volume of the corresponding age group) (124). The biggest calyx diameter, the relative renal volume, and the AGS and SFU grading were not significant covariates in the prediction of surgical management.

3.2.3. APD and middle parenchymal thickness ratio in prediction of operative management

Instead of two separate significant variables, we generated one – APD and the midparenchymal thickness ratio which was also a significant prognostic factor for the operation demonstrating substantial AUC when kidneys were evaluated independently of the contralateral kidney (Figure 7A, Table 5).

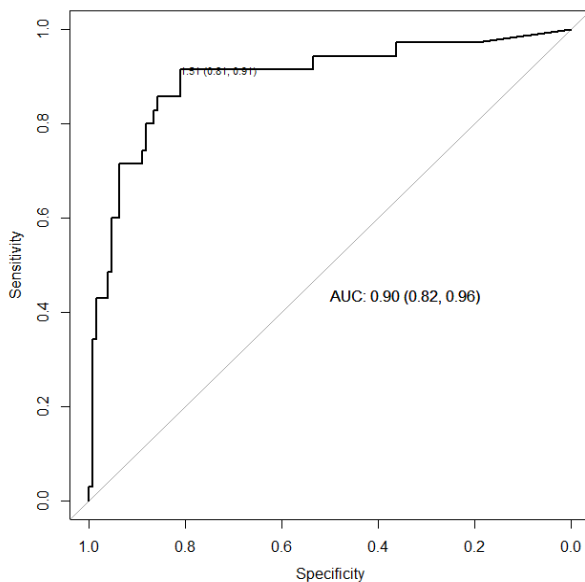


Figure 7A. ROC curve demonstrates the efficacy of APD and the midparenchymal thickness ratio to predict surgical management; the cutoff value for operation was 1.51 ($p < 0.001$). The odds ratio for operation when APD, and the midparenchymal thickness ratio exceeding the cutoff value was 1.97, 95% CI – (1.54; 2.51). N=162 renal units.

APD and the midparenchymal thickness ratio was not different between the age groups when the patients were divided into 0–4, 5–8 and 9–12 year age groups (Kruskal–Wallis test for equal medians, $n = 162$, $p = 0.68$).

3.2.4. APD and middle parenchymal thickness ratio in the prediction of renal scan findings

The ROC curves demonstrated that APD and the midparenchymal thickness ratio occupied significant AUC when it was employed to predict TTT >3 minutes, obstructive curve on renogram and DRF <40% for each kidney (Figure 7B, Table 5).

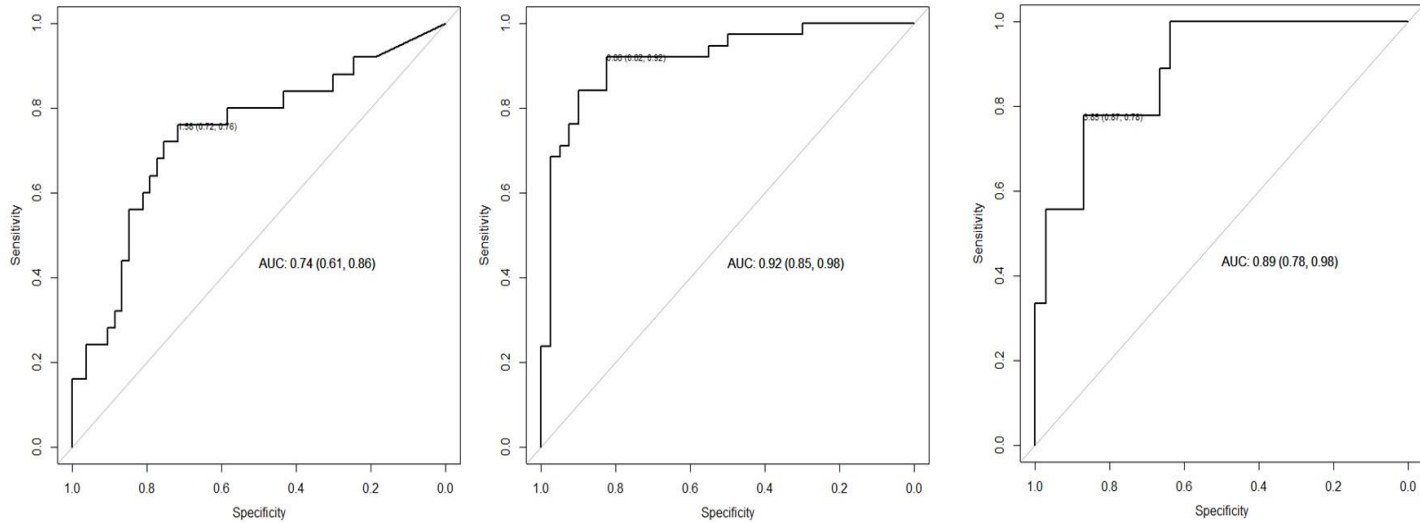


Figure 7B. From left to right: the efficacy of APD and midparenchymal thickness ratio to predict TTT >3 minutes, cutoff value – 1.38; the efficacy of APD and midparenchymal thickness ratio to predict the obstructive curve (B, D types in O’Reilly’s classification), cutoff value – 0.88; the efficacy of APD and midparenchymal thickness ratio to predict DRF <40%, cutoff value – 3.85. N = 80 (renal units)

Table 5. Statistical characteristics of the efficacy of APD and midparenchymal thickness ratio to predict surgical intervention (n = 162) and renal scan findings (n = 80) accounting for each kidney separately. SS – sensitivity, SP – specificity. APD and midparenchymal thickness ratio cutoff value to predict: TTT>3 min – 1.38, obstructive curve – 0.88, DRF <40% – 3.85, surgical intervention – 1.51

N=80* (kidneys) N=162** (kidneys)	TTT >3 min*	Obstructive curve*	DRF <40%*	Surgical intervention**
Characteristics	Values with 95 % CI:			
SS	0.36 (0.18, 0.57)	0.76 (0.60, 0.89)	0.33 (0.07, 0.70)	0.51 (0.34, 0.69)
SP	0.87 (0.75, 0.95)	0.90 (0.76, 0.97)	0.99 (0.92, 1.00)	0.95 (0.90, 0.98)

* calculations were based on the evaluation of 80 renal units when RRS was done; ** calculations were based on the evaluation of 162 renal units (altogether regardless of RRS)

3.2.5. Combination of cumulative APD and midparenchymal thickness ratio with urine obstruction biomarkers to predict operative management

In order to evaluate the risk of surgical management in each patient, we used a cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio and the urine concentrations of the selected biomarkers. ROC curve analysis demonstrated that the cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio was a significant prognostic factor for operation during the follow-up period (cutoff value – 3.32). The mean cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio in the control group was 0.50 (± 0.39) and ranged between 0 (in 7 out of 26 patients) and 1.3. When combining cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio with the urine biomarkers by using logistic regression model and its fitted values to generate the ROC curve, AUC increased in comparison to the AUC of the single cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio; however, it was insignificant ($p = 0.1$) (Figure 8A). When single urine biomarkers were combined with cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio, AUC was not statistically significantly bigger than AUC when ROC was based only on cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio. However, cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio together with the urine biomarkers predicted the surgical intervention better than the APD of the hydronephrotic kidney or the greatest APD in the case of bilateral hydronephrosis (Figure 8B) and also APD and the midparenchymal thickness ratio alone predicted the surgical intervention better than the APD of the hydronephrotic kidney or the greatest APD in the case of bilateral hydronephrosis (Figure 8C).

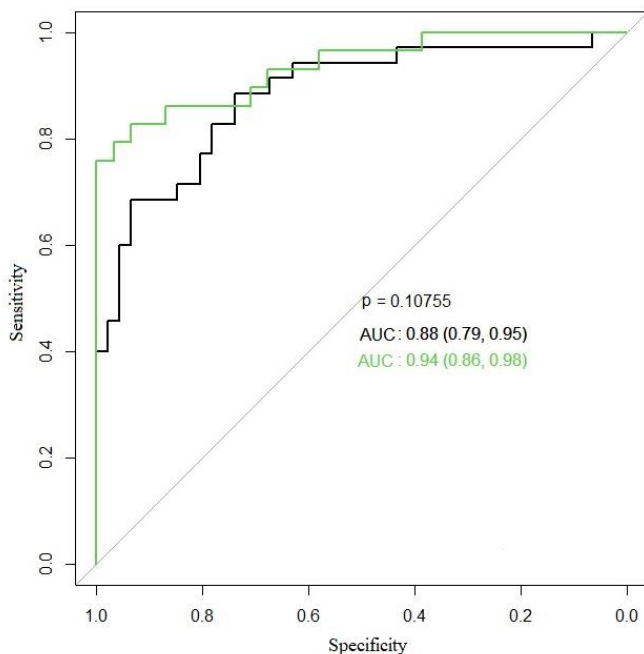


Figure 8A. Comparison of ROC curves. Green curve – the efficacy of cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio together with urine biomarkers to predict surgical intervention; black curve – the efficacy of cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio alone to predict surgery. The cutoff values of urine biomarkers for operation: uNGAL – 2.5 ng/ml, uAlb – 11.5 mg/l, uβ2-M – 0.04 mg/l (the cutoff values were calculated by generating ROC curves to predict operation when each biomarker was evaluated separately). ROC curves to predict operation for separate biomarkers were: uAlb, AUC 0.72 (95% CI 0.62; 0.84), uβ2-M AUC 0.65 (95%CI 0.53; 0.76) and, for uNGAL, the ROC curve was insignificant (n=81).

According to the logistic regression model, the probability that the operation will be needed for each individual case is calculated as follows:

$$z_1 = -5.136 + 0.198 \cdot uAlb + 0.119 \cdot u\beta 2\text{-M} + (-0.046) \cdot uNGAL + 1.218 \cdot x$$

Where: z – logit function, x – cumulative APD/midparenchymal thickness ratio.

$$p = e^{z_1} / (1 + e^{z_1})$$

Where: $p > 0.5$ model predicted operation.

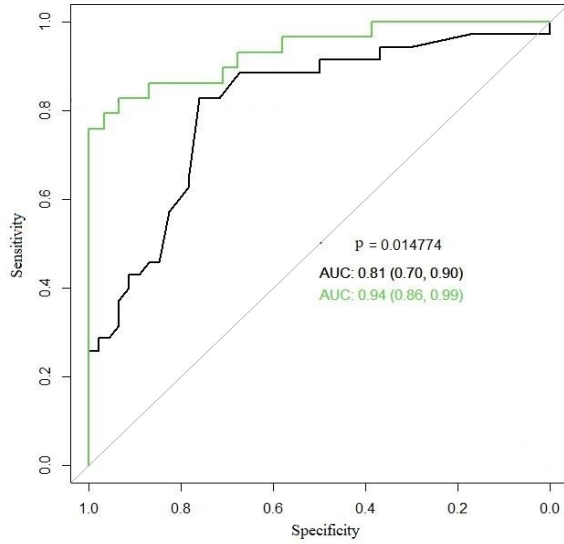


Figure 8B. Green ROC curve – cumulative APD and midparenchymal thickness ratio together with urine biomarkers to predict surgical intervention; black curve – the efficacy of APD to predict surgical intervention when the predictive factor is APD of hydronephrotic kidney or the biggest APD in the case of bilateral hydronephrosis (n=81).

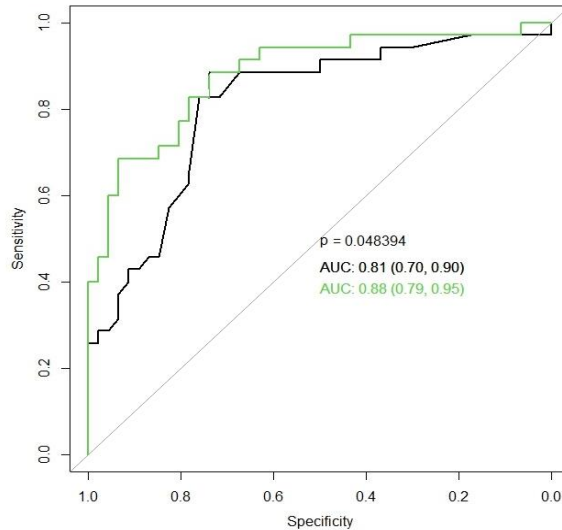


Figure 8C. Green ROC curve – cumulative APD and midparenchymal thickness ratio to predict surgical intervention; black curve – the efficacy of APD to predict surgical intervention when the predictive factor is APD of hydronephrotic kidney or the biggest APD in the case of bilateral hydronephrosis (n=81).

When the patients were classified by age: <6 (n1 = 58) and >6 years old (n2 = 23), the ROC curves (generated by the same means as in Figures 8) were compared in the respective age groups, AUCs were not different in any group (<6 years, p = 0.2, and >6 years, p = 0.23).

3.2.6. Comparison of TTT, urine biomarkers and cumulative APD and midparenchymal thickness ratio operated and non-operated patients between age groups

The efficacy of cumulative APD and midparenchymal thickness ratio together with urine biomarkers to predict surgical management is provided in Table 7, when the patients were categorized into 2 age groups: <6 years and >6 years of age.

Table 6. Comparison of urine biomarkers and cumulative APD and midparenchymal ratio between the operated and nonoperated patients in different age groups. Op+/- refers to the variables applied for operated (+) and nonoperated patients (-), and p values were used to compare the significance of the variable median difference. ‡ – the distribution of increased TTT was compared between age groups >6 and <6 years of age between the operated and nonoperated patients (the Fisher exact test) and the p value under the respective column. It was decided to evaluate two age categories separately as it is known that children with hydronephrosis before 6 years of age are more likely to have PUJO due to stricture, while children after 6 years of age exhibit intermittent hydronephrosis due to aberrant vessel (193). The common number of patients in each group is provided in brackets. * – statistically significant value

N=81 pts	TTT of at least one kidney >3 min‡		uAlb (mg/l)		uAlb/Cr (mg/mmol)		β2-M (mg/l)		β2-M/Cr (mg/mmol)		uNGAL (ng/ml)		uNGAL/Cr (µg/ml)		Cummulative APD/mid-parenchymal ratio	
Medians																
Op+/-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Age†																
<6y (n1=58) Op-21, non-op-37	12 (14)	4 (11)	11	3	3.26	2.72	0.09	0.04	0.055	0.044	4.2	4.4	1.93	4.31	4.37	1.94
P value			<0.001*		0.0484*		0.0039*		0.34		0.671		0.155		<0.001*	
>6y (n2=23) Op-13, non-op-10	3(8)	1 (6)	8	8	1.2	1.15	0.05	0.06	0.01	0.012	2.9	2.0	0.63	0.48	5.02	1.9
P value	0.052	0.6	0.876		0.563		0.446		0.605		0.395		0.671		0.015*	

3.2.7. Cumulative APD and midparenchymal thickness ratio combined with urinary biomarkers in the prediction of renal scan findings

In order to predict renal scan findings, we generated three logistic regression models where the outcome variables were as follows: at least one renal unit on renal scan had TTT >3 minutes; obstructive curve of at least one renal unit; radionuclide elimination halftime (T1/2) >20 minutes on at least one side and DRF <40%. We did not identify any significant covariate for T1/2 when covariates were urine biomarkers. uNGAL and uAlb were not significant in the prediction of increased TTT; however, the u β 2-M/Cr ratio with cumulative APD and midparenchymal thickness ratio were significant in the prediction of TTT>3 minutes. The AUC of cumulative APD and midparenchymal thickness ratio to detect DRF <40% was bigger when cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio was combined with urine biomarkers (Figure 9). We also calculated how the probability of DRF <40% depended on the number of covariates exceeding the cutoff values (when the covariates were: cumulative APD and midparenchymal thickness ratio, uNGAL, u β 2-M, uAlb). We detected that when 0–2 of these covariates were exceeding the cutoff values (n=17), there was one case (5.5%) when DRF <40% when there were 3 factors exceeding the cutoff values (n=18), there were 5 (28%) cases when DRF <40%. When all factors were exceeding the cutoff values (n=4), there were 3 cases (75%), when DRF <40% (p=0.0027, Fisher exact test).

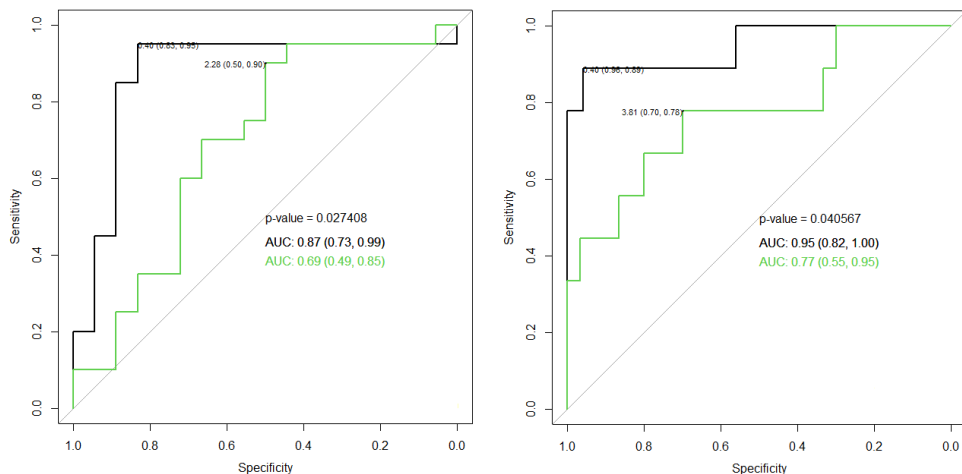


Figure 9. ROC curve on the left shows the efficacy of the cumulative APD midparenchymal thickness ratio (the green curve) to predict TTT >3 minutes, and the black curve shows the efficacy of the cumulative APD midparenchymal

thickness ratio combined with u β 2-M/Cr ratio to predict TTT >3 minutes for at least one renal unit, p = 0.027, u β 2-M/Cr cutoff value – 0.03, and the cutoff value of cumulative APD midparenchymal thickness ratio was 2.28. ROC on the right shows the efficacy of the cumulative APD midparenchymal thickness ratio (the green curve) to predict DRF <40% in comparison to the efficacy of the cumulative APD midparenchymal thickness ratio combined with u β 2-M, uNGAL, uAlb in the logistic regression model to predict DRF <40% (the black curve) with a greater AUC, p = 0.04; the cutoff value of the cumulative APD midparenchymal thickness ratio – 3.81, u β 2-M – 0.04 mg/l, uNGAL – 0.35 ng/ml and uAlb – 4.3 mg/l. N = 40 (cutoff values were calculated as in Figure 8A)

With respect to the logistic regression model, the probability that prolonged TTT will be present in every individual case is calculated by formula:

$$z_2 = -1.521 + 23.712 \cdot u\beta_2\text{-M} + 0.123 \cdot x$$

Where: z – logit function, x – cumulative APD and midparenchymal thickness ratio.

$$p = e^{z^2} / (1 + e^{z^2})$$

Where: p > 0.5 case is classified as having prolonged TTT.

According to the coefficients of the logistic regression model, the probability that DRF is decreased in every individual case is calculated:

$$z_3 = -7.37 + 9.865 \cdot u\beta_2\text{-M} + 0.085 \cdot u\text{Alb} + 0.151 \cdot u\text{NGAL} + 0.52 \cdot x$$

Where: z – logit function, x – cumulative APD and midparenchymal thickness ratio

$$P = e^{z^3} / (1 + e^{z^3})$$

When p > 0.5, the case is classified as having a decreased DRF value.

3.2.8. Concentrations of urine biomarkers with respect to TTT and the renogram curve

Table 7. Kruskal-Wallis test was applied to compare the medians of biomarker concentrations in urine with respect to TTT and the type of the radionuclide evacuation curve. Increased TTT was assumed when at least one kidney showed TTT >3 minutes, the obstructive curve was evaluated as type B or D (referring to O'Reilly's classification). * – obstruction, † – patients, ' – value approaching statistical significance, when α (0.05–0.1). There was no kidney when TTT >3 minutes and the renogram was non-obstructive

N=40 pts	uAlb (mg/l)	uAlb/Cr (mg/mmol)	uNGAL (ng/ml)	uNGAL/Cr (μ g/ml)	u β 2-M (mg/l)	u β 2-M/Cr (mg/mmol)
Parameters						
TTT<3 obs*+ (14 pts†)	7.5	1.78	3.5	0.94	0.05	0.02
TTT>3 su obs+ (20 pts)	3.5	3.22	3.1	1.81	0.05	0.05
TTT<3 obs- (6 pts)	6.5	1.94	2	0.31	0.04	0.01
P value	0.489	0.519	0.292	0.059'	0.446	<0.001*

3.2.9. Comparison of urine biomarker concentrations and US findings between operated, follow-up with hydronephrosis and control group patients

Table 8. Kruskal-Wallis test was applied to compare the median concentrations of urine biomarkers between operated, follow-up and control group patients. The normal values of biomarkers were: uNGAL (median 5.2 [2.5;12.8] ng/ml), uAlb/Cr ratio (<3.39 mg/mmol), β 2-M (<0.3 mg/l) (194–196). *Statistically significant values. † Values approaching significance when α 0.05–0.1.

N=107 Medians	Follow-up (n=45)	Operated (n=36)	Control (n=26)	p values
uAlb (mg/l)	4	9	6	0.001*
uAlb/Cr (mg/mmol)	1.31	3.21	4.225	0.007*
β 2-M (mg/l)	0.04	0.07	0.075	0.02*
β 2-M/Cr (mg/mmol)	0.03	0.03	0.016	0.081†
uNGAL (ng/ml)	3.1	3.1	3.6	0.996
uNGAL/Cr (μ g/mmol)	1.6	1.02	0.73	0.079†

3.3. Expression of fibrosis related factors in obstructed and non-obstructed ureteral tissue

The Wilcoxon rank sum test showed a significant difference of the *CTGF* relative expression in the ureteral stricture tissue and the control group tissue (Figure 10). There was no statistically significant difference between the expression of any fibrosis-related factor between the stricture and the control groups when exceptions were not excluded and 2 VUJO tissue samples and ureteral segment from duplex kidney system were excluded from the stricture group. The expression of fibrosis-related genes in every sample is demonstrated in Figure 11.

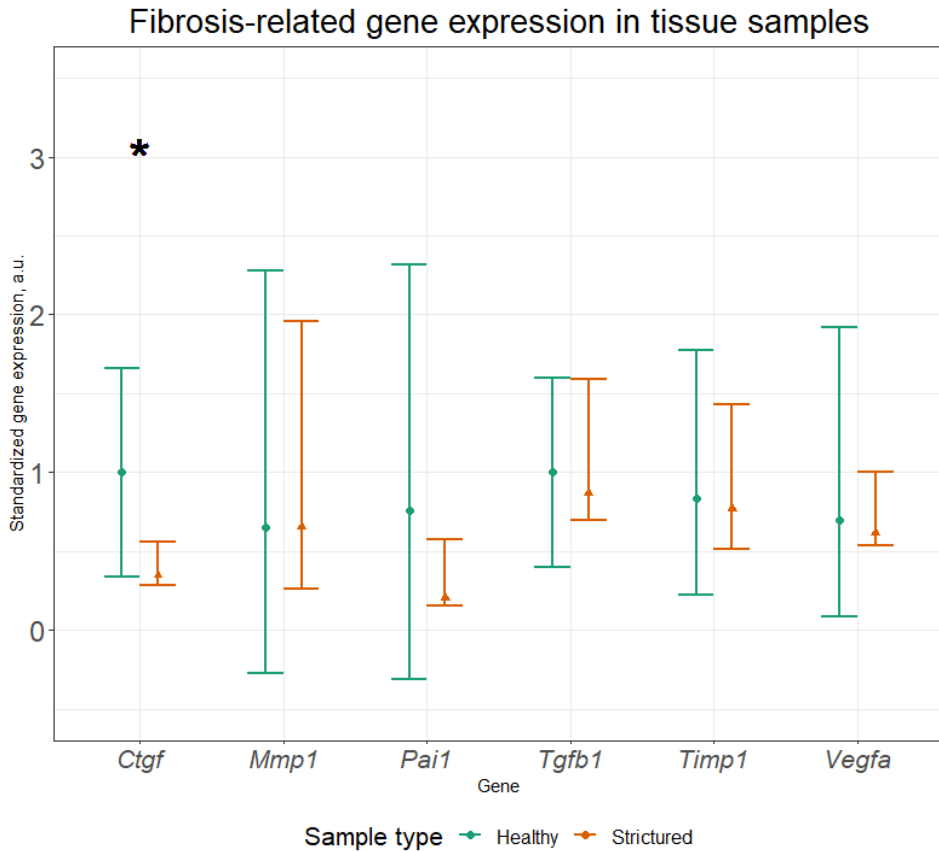


Figure 10. Relative expression of fibrosis-related factors in the ureteral stricture and control tissue. Medians are indicated by dots/triangles and whiskers match 95% CIs for medians. Results were standardized by the expression of the corresponding genes in the control tissue (expression of the gene of interest in all samples divided by the mean expression of the same gene in the control tissue). * – statistically significant difference of the relative expression between the ureteral stricture tissue and the control tissue ($p < 0.05$). The difference of the CTGF relative expression between the compared groups $p=0.03$. The medians were compared by the Wilcoxon sum rank test. The sample size in the control group $n_1=6$, and in the ureteral stricture group $n_2=20$.

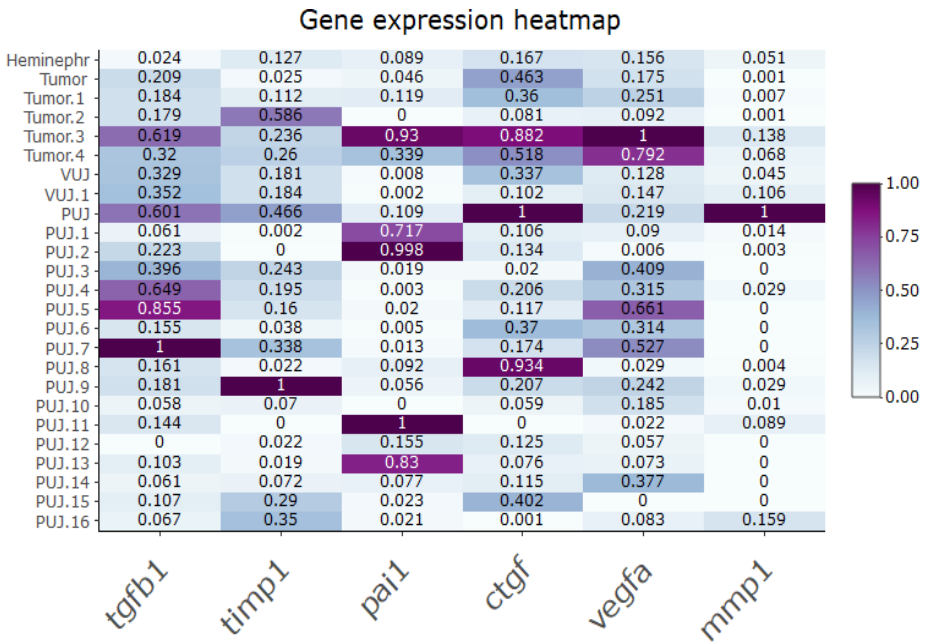


Figure 11. Profile of relative fibrosis-related gene expression in all samples (the four upper rows represent the relative expression of fibrosis-related genes in the control tissue, and the remaining rows show the relative expression in the ureteral stricture tissue) PUJ – pyeloureteral junction with stricture; heminephr – pyeloureteral junction without stricture, removed due to heminephrectomy; Tumor – pyeloureteral junction without stricture, removed at the time of radical nephroureterectomy due to renal tumor; VUJ – vesicoureteral junction with obstruction.

3.4. Relationship of fibrosis related gene expression with postoperative ultrasonography outcomes

18 patients with PUJO and 2 patients with VUJO were included in this part of the study. The median age at the time of operation was 15.2 [9.07,66.2] months, the median duration of the postoperative follow-up was 10.35 [4.26,14.8] months. There was a significant correlation between APD before the operation and *TGFβ1* relative expression in the ureteral stricture tissue ($\rho=0.64$, $p=0.003$). When VUJO tissue samples were excluded from the calculation, the correlation remained significant ($\rho=0.76$, $p=0.0004$) (Figure 12). The linear regression model revealed that when the independent variable was the relative expression of *TGFβ1* in the ureteral stricture tissue and the explanatory variable was APD before the operation,

TGFβ1 was a significant covariate to explain APD before the operation ($p < 0.001$; coefficient of determination $r^2 = 0.106$). To exclude the influence of age, we also calculated whether there was any significant correlation between the patient's age and the expression of fibrosis related factors, and no significant correlation was detected.

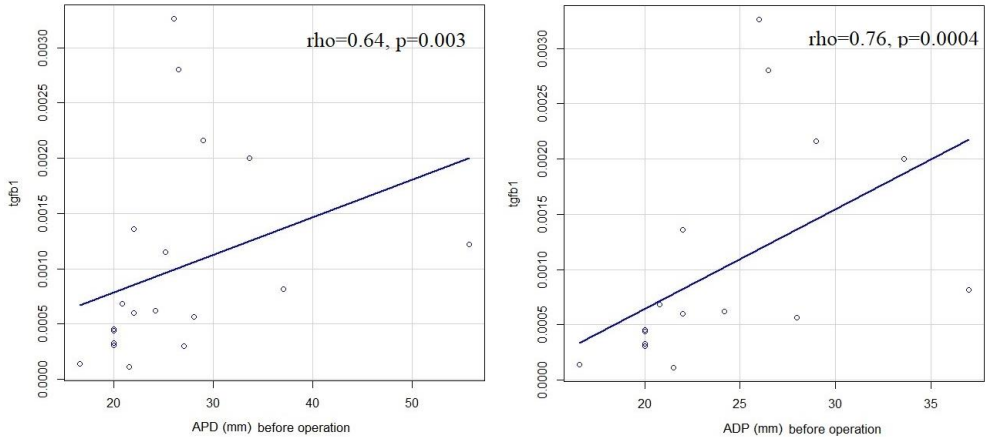


Figure 12. On the left side: correlation between APD before operation and *TGFβ1* relative expression in the ureteral stricture tissue (n=20); on the right side: the same correlation when two cases of VUJO were excluded (n=18). The blue curves were generated by the least squares method

3.5. Relationship between the fibrosis-related gene expression in strictureed ureteral tissue, urine obstruction biomarkers and renal scan findings

We also detected a significant correlation between uAlb concentration and *TGFβ1* relative expression in the ureteral stricture tissue ($\rho = -0.45$, $p = 0.047$) and uAlb concentration and *Vegfa* relative expression in the ureteral stricture tissue ($\rho = -0.575$, $p = 0.008$) when all ureteral stricture tissue samples were included in the calculations (n=20, Figure 12). When both cases of ureterohydronephrosis and both cases of bilateral hydronephrosis were excluded from the calculations (n=16), the correlation between uAlb concentration and *TGFβ1* relative expression in the ureteral stricture tissue was marginally significant ($\rho = -0.46$, $p = 0.05$), and the correlation between uAlb and *VEGFA* relative expression in the ureteral stricture tissue remained significant ($\rho = -0.64$, $p = 0.007$) (Figure 13). After the exclusion of both cases of bilateral hydronephrosis and both cases of ureterohydronephrosis, a new significant correlation was detected: uβ2-M/Cr ratio significantly correlated with *Timp1* relative expression in the strictureed ureteral tissue ($\rho = 0.56$, $p = 0.03$)

(Figure 14). We also identified that there was a significant correlation between Pai1 and TTT on the renal scan ($\rho=0.63$, $p=0.03$) (Figure 15).

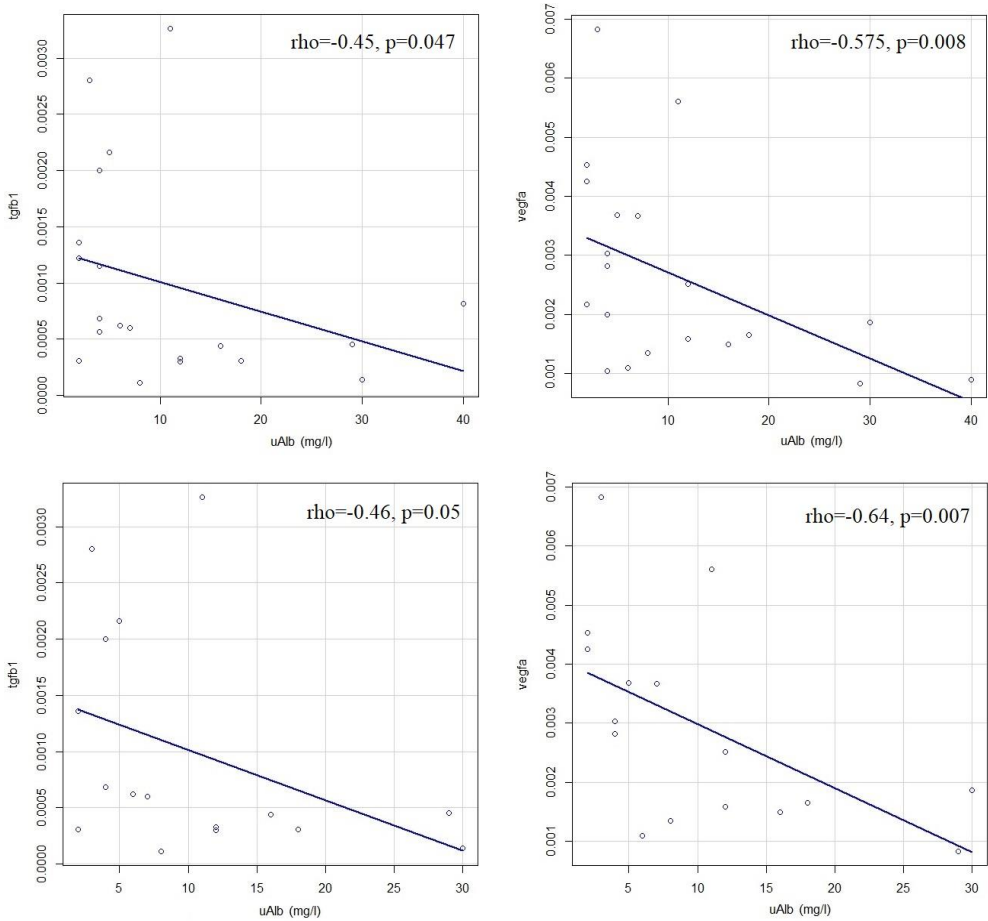


Figure 13. Correlations between TGFβ1, VEGFA and urinary albumin concentration (uAlb). The upper graphs represent calculations when all samples were included ($n=20$), the two lower graphs represent correlations when both cases of bilateral hydronephrosis and both cases of VUJO were excluded from the calculations ($n=16$). The blue curves were generated by the least squares method ($n=20$).

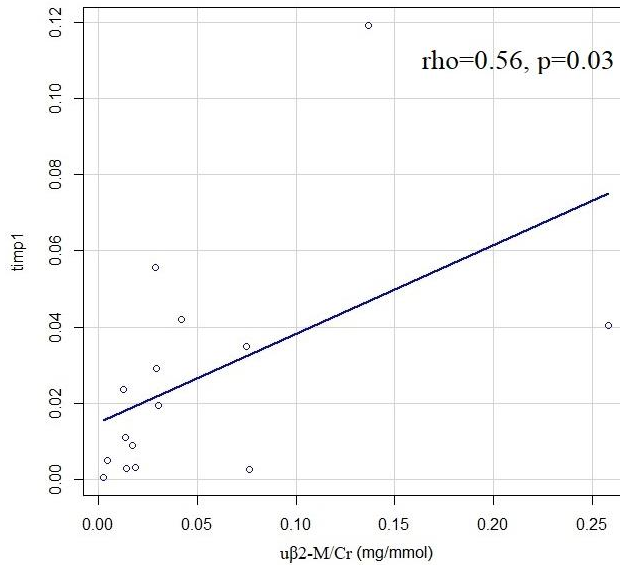


Figure 14. Correlation between TIMP1 relative expression in the strictured ureteral tissue and uβ2-M/Cr when both cases of bilateral hydronephrosis and both cases of ureterohydrpnephrosis were excluded from calculations (n=16). The blue curve was generated by the least squares method

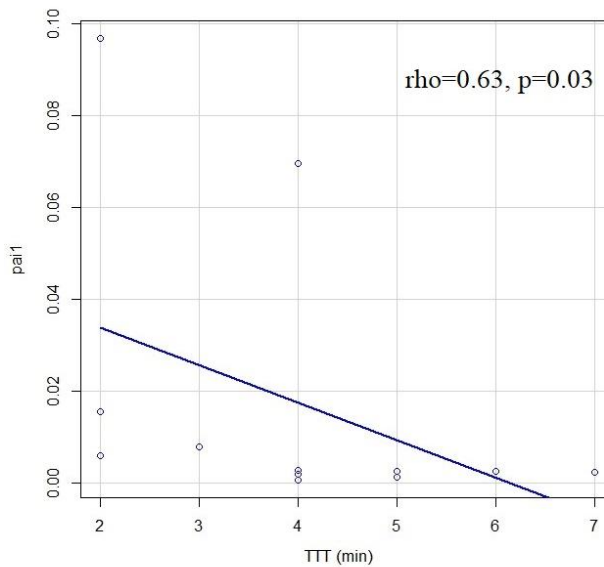


Figure 15. Correlation between relative expression of PAI1 in ureteral stricture tissue TTT scan (n=12)

CONCLUSIONS

1. Diuretic-enhanced ultrasound, used as an additional investigation, may help in the work-up of patients with hydronephrosis; however, its value should be confirmed by prospective studies.
2. Cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio with urinary biomarkers offered better efficacy in the prediction of prolonged TTT and impaired DRF of hydronephrotic kidney than APD and the midparenchymal thickness ratio alone. Cumulative APD and the midparenchymal thickness ratio with urinary biomarkers showed better efficacy in the prediction of operative cases than APD alone.
3. *CTGF* was differentially expressed in the strictured ureteral tissue and the ureteral tissue without obstruction.
4. *TGF β 1* expression in the strictured ureteral tissue correlated with APD before operation and *TGF β 1*, *VEGFA*, *TIMP1* and *PAII* expression in the strictured ureteral tissue correlated with urinary obstruction biomarkers.

RECOMMENDATIONS

1. In order to avoid radiation exposure and peripheral vein catheterization or general anesthesia, the initial damage of hydronephrotic kidney can be predicted with an increased β 2-M and creatinine ratio. A decreased DRF can be suspected by the combined evaluation of APD and the middle parenchymal thickness ratio together with uAlb, u β 2-M and uNGAL concentration in urine.
2. Further prospective studies are necessary to delineate the importance of our findings in a larger and more homogenous group by the age cohort.
3. Molecular studies in a larger cohort are necessary to reveal the role of fibrosis-related genes in the pathogenesis of congenital obstruction.

PUBLIKACIJŲ IR PRANEŠIMŲ SĄRAŠAS

Straipsniai disertacijos tema:

1. Kazlauskas V, Bilius V, Jakutis V, Komiagiene R, Burnyte B, Verkauskas G. Urine Biomarkers Combined with Ultrasound for the Diagnosis of Obstruction in Pediatric Hydronephrosis. *Front Pediatr.* 2022 Jan 6;9:762417. doi: 10.3389/fped.2021.762417. PMID: 35071129; PMCID: PMC8771629.
2. Kazlauskas V, Cekuolis A, Bilius V, Anglickis M, Verkauskas G. Diuretic Enhanced Ultrasonography in the Diagnosis of Pyeloureteral Obstruction. *Medicina (Kaunas).* 2019 Oct 3;55(10):670. doi: 10.3390/medicina55100670. PMID: 31623344; PMCID: PMC6843136.

Straipsniai, iš dalies susiję su disertacijos tema:

3. Capone V, Persico N, Berrettini A, Decramer S, De Marco EA, De Palma D, Familiari A, Feitz W, Herthelius M, Kazlauskas V, Liebau M, Manzoni G, Maternik M, Mosiello G, Schanstra JP, Vande Walle J, Wühl E, Ylinen E, Zurowska A, Schaefer F, Montini G. Definition, diagnosis and management of fetal lower urinary tract obstruction: consensus of the ERKNet CAKUT-Obstructive Uropathy Work Group. *Nat Rev Urol.* 2022 May;19(5):295–303. doi: 10.1038/s41585-022-00563-8. Epub 2022 Feb 8. PMID: 35136187.

Pranešimai disertacijos tema:

1. Ramune Zilinskaite-Tamasauske, Vytis Kazlauskas, Povilas Barasa, Natalija Krestikova, Darius Dasevicius, Vytautas Bilius, Gilvydas Verkauskas. In vitro investigation of gene expression markers in fibrotic ureteral tissue. EUPSA 2022 m. birželio 29–liepos 2 d. Tel Avivas, Izraelis.
2. Ramune Zilinskaite-Tamasauske, Vytis Kazlauskas, Povilas Barasa, Natalija Krestikova, Darius Dasevicius, Vytautas Bilius, Gilvydas Verkauskas. Preliminary results of postoperative ultrasonoscopic outcomes of hydronephrosis in a relationship with fibrosis related gene expression in congenital ureteral obstruction tissue. WOFAPS 2022 m. spalio 12–15 d. Praha, Čekija.


Pranešimai, iš dalies susiję su disertacijos tema:

3. Vytis Kazlauskas, Vytautas Bilius, Gilvydas Verkauskas. Prediction of renal functional outcome in boys with posterior urethral valves. International congress Brain heart and kidney 2020 m., Vilnius, Lietuva

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju savo moksliniam vadovui prof. dr. Gilvydui Verkauskui už įdomios ir klinikinėje praktikoje naudingos mokslinės krypties pasiūlymą bei esminių doktorantūros studijų tikslų akcentavimą, taip pat už pasitikėjimą, suteiktą savarankiškumą atliekant tyrimą, palaikymą ir patarimus. Dėkoju habil. dr. A. Eidukaitei ir L. Gogelienei už pagalbą saugant surinktus šlapimo ir kraujo tyrimus ir vėliau atliekant biocheminius tyrimus. Dėkoju gyd. patologui D. Dasevičiui už šlapimtakių biopsijos audinio paruošimą ir saugojimą, o gyd. R. Žilinskaitei-Tamašauskei ir P. Barasai už atliktus molekulinius šlapimtakių tyrimus bei pagalbą juos interpretuojant. Ačiū recenzentams doc. dr. A. Želviui, dr. K. Ažukaičiui, dr. B. Burnytei ir doc. dr. A. Liubšiui už laiką, skirtą disertacijos peržiūrai, vertingas pastabas ir patarimus. Dėkui dr. V. Biliui už geranorišką pagalbą įtraukiant pacientus į tyrimą, bendradarbiams – už palaikymą ir supratingumą. Savo šeimai ir draugams esu dėkingas už jų visų palaikymą ir įkvėpimą.

CURRICULUM VITAE

<p>Asmeniniai duomenys</p> <p>Vytis Kazlauskas, gimęs 1988-03-17 Adresas A. P. Kavoliuko g. 24–162, Vilnius Telefono numeris + 370 698 13 598 Elektroninio pašto adresas: vytkazl@gmail.com</p> 
<p>Išsilavinimas</p> <p>2018–2022 m. studijos Vilniaus universiteto doktorantūroje. 2012–2017 m. studijos Vilniaus universiteto rezidentūros programoje „Vaikų chirurgija“. 2006–2012 m. medicinos magistro studijos Vilniaus universiteto Medicinos fakultete. 1994–2006 m. Vilniaus „Ryto“ vidurinė mokykla.</p>
<p>Darbo patirtis</p> <p>2017-09 iki dabar gydytojas vaikų chirurgas, Vaikų ligoninė, viešosios įstaigos Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų filialas, Vaikų chirurgijos skyrius ir Priėmimo ir skubios pagalbos skyrius, Santariškių g. 7, LT-08406 Vilnius. 2017-08 iki dabar gydytojas vaikų chirurgas VšĮ Šeškinės poliklinika, Šeškinės g. 24, LT-07156 Vilnius. 2008 m. slaugytojos padėjėjas, VšĮ Mykolo Marcinkevičiaus ligoninė Kauno g. 7, LT-03215 Vilnius</p>
<p>Kvalifikacijos kėlimas</p> <p>2021 m. spalio – stažuotė Radboudumc vaikų ligoninės Vaikų urologijos skyriuje, Nijmegenas, Nyderlandai. 2020 m. <i>ERKNet CAKUT-Obstructive Uropathy Work Group</i>, Heidelbergas, Vokietija. 2019 m. <i>ERKReg User Conference</i>, Heidelbergas, Vokietija. 2019 m. 3-iasis pasaulinis hipospadijų kongresas, Filadelfija. 2018 m. 15-oji Baltijos šalių vaikų chirurgų konferencija (žodinis pranešimas: „Unusual renal tumors in paediatric patients“). 2018 m. <i>Young NOPHO meeting</i>, Vilnius, Lietuva (Skaitytas pranešimas: „Solid tumor surgery in paediatric patients“).</p>

2018 m. 29-as ESPU kongresas, Helsinkis, Suomija.

2017 m. 28-as ESPU kongresas, Barselona, Ispanija (žodinis pranešimas „Intestinal metaplasia is a common feature of severely polypoid bladder exstrophy templates“).

2016 m. spalio–2016 m. gruodis (stažuotė Karališkojoje Mančesterio vaikų ligoninėje vaikų urologijos temomis). Mančesteris, Didžioji Britanija.

2016 m. lapkritis, 16-as kasmetinis mokslinis seminaras. Karališkoji Mančesterio vaikų ligoninė.

2016 m. gegužė, 14-a Baltijos šalių vaikų chirurgų konferencija (žodinis pranešimas „A rare case of superior mesenteric artery syndrome following Ladd’s procedure“).

2015 m. gegužė, Vaisiaus ligų gydymo ir diagnostikos naujovės, Filadelfija, JAV (stebėtojas Filadelfijos vaikų ligoninėje, 2015 m. gegužė).

2015 m. kovas, 8-a Centrinės ir Rytų Europos minimaliai invazinės vaikų chirurgijos konferencija, Segedas, Vengrija.

2014 m. rugsėjis, 13-a Baltijos šalių vaikų chirurgų konferencija, Vilnius (žodinis pranešimas „Calculous cholecystitis and laparoscopic cholecystectomy in children. Our experience with 65 cases“).

2014 m. birželis, EUPSA 2014 kongresas, Dublinas, Airija (stendinis pranešimas „Infantile hemangioma: Predicting proliferation by infrared thermography“; dalyvavimas laparoskopijos mokymuose).

Skaityti pranešimai

Tarptautinėse konferencijose:

- Unusual renal tumors in paediatric patients, 2018 m. The 15th Conference of the Baltic Association of Paediatric Surgeons, Ryga, Latvija.
- Unusual renal tumors in paediatric patients, 2018 m. The 15th Solid tumor surgery in paediatric patients, 2018 m. Young NOPHO meeting Vilnius, Lietuva.
- Intestinal metaplasia is a common feature of severely polypoid bladder exstrophy templates, 2017 m. 28th ESPU congress, Barselona, Ispanija.
- A rare case of superior mesenteric artery syndrome following Ladd’s procedure, 2016 m. gegužė, The 14th Conference of the Baltic Association of Paediatric Surgeons, Tartu, Estija.
- Calculous cholecystitis and laparoscopic cholecystectomy in children. Our experience with 65 cases, 2014 m. rugsėjis, 13th Conference of the Baltic Association of Paediatric Surgeons, Vilnius, Lietuva
- Infantile hemangioma: Predicting proliferation by infrared thermography (stendinis pranešimas), 2014 m. birželis, EUPSA kongresas, Dublinas, Airija.

Taip pat dalyvauta kasmetinėse Lietuvos vaikų chirurgų konferencijose (2012–2017 m.). Jose skaityti pranešimai:

1. „Izoliuotas kiaušintakio užsisukimas su vienušiu hidrosalpinksu“ (2017 m.).
2. „Retas viršutinės pasaito arterijos sindromo atvejis po Ladd operacijos“ (2016 m.).
3. „Didelės nevaisingumo rizikos dažnis vienušio kriptorchizmo atveju“ (2015 m.).
4. „Urogenitalinio sinuso mobilizacija pirmą gyvenimo mėnesį“ (2012 m.)

Svarbiausių per paskutinius penkerius metus skelbtų mokslinių publikacijų sąrašas

1. Strumila A, Kazlauskas V, Pošiūnas G, Verkauskas G, Beiša V. Infantile hemangioma: Predicting proliferation by infrared thermography. *Medicina (Kaunas)*. 2017;53(2):85–89.
2. Bilius V, Verkauskas G, Dasevicius D, Kazlauskas V, Malcius D, Hadziselimovic F. Incidence of High Infertility Risk among Unilateral Cryptorchid Boys. *Urol Int*. 2015;95(2):142–5.
3. Trainavicius K, Kazlauskas V, Gurskas P. Epigastric heteropagus conjoined twins. *Journal of Pediatric Surgery Case Reports*. 2013;1(5):114–7.
4. Kazlauskas V, Verkauskas G. Reconstruction of hydrometrocolpos in the first month of life. *Health sciences*. 2012;22(6):132–5.
5. Bilius V, Steponenaitė-Janoviciene K, Kazlauskas V, Jankauskienė A. Early Surgical Complications after Renal Transplantation in Children. *Health Sciences* 2012;22(6):67–70

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius
El. p. info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt
bookshop.vu.lt, journals.vu.lt
Tiražas 15 egz.