

A RENINSZEKRÉCIÓ VIZSGÁLATA MULTIFOTON-MIKROSZKÓPPAL A VESE AKUT ÉS KRÓNIKUS KÓRFOLYAMATAIBAN

Prókai Ágnes

klinikai orvos, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
prokaiagnes@yahoo.com

Himer Leonóra

posztdoktor, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
himemori@gmail.com

Berta Nóra

orvostanhallgató, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
bertanora88@gmail.com

Kosik Anna

orvostanhallgató, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
anna.kosik4@gmail.com

Vannay Ádám

kutatólabor-vezető, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
vannay.adam@med.semmelweis-univ.hu

Kis-Petik Katalin

egyetemi tanársegéd, Semmelweis Egyetem
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet
kispetik@gmail.com

Szabó J. Attila

egyetemi docens, kutatócsoport-vezető,
Semmelweis Egyetem I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
szabo.attila@med.semmelweis-univ.hu

Bevezetés

A renin mint a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS) sebességmeghatározója fontos szerepet játszik szervezetünk só- és vízháztartásának, valamint vérnyomásának szabályozásában. Ezen túl a renin a lokális RAAS részeként releváns lehet a gyulladásban, trófikus és profibrotikus hatásokban is. Ám a sejtek, melyek termelik, tárolják és felszabadítják a renint, jelenleg még nem teljesen körüljártak.

A vesetranszplantáció jelenleg a végállapotú veseelégtelenség egyetlen definitív terápiás megoldása. Az allograftvesztés okai sokat változtak a modern immunosuppresszívumok bevezetése óta; az egyéves veseallograft-túlélés jelentősen javult a jobb rezsimek következtében, ellenben a krónikus allograft nefropátia (CAN) még mindig a veseallograftvesztés legfőbb okaként szerepel (Cecka – Terasaki, 1995). A CAN karakterizálható a vese intersticiuma, a glomerulusok és az erek progresszív szklerózi-

sával, ami végső soron fibriogenezishez és graftvesztéshez vezet (Liu *et al.*, JASN, 2010). Habár a CAN következtében kialakuló rejekciót tradicionálisan a kismértékű allojenikus szövetre adott válaszok ismétlődésének tartjuk, számos bizonyíték indikálja, hogy alloantigén független faktorok szintén hozzájárulhatnak a patogeneziséhez (Fellström – Larsson, 1993). Ezek magukban foglalnak számos determinánst, melyek között a calcineurin inhibitorok (CNI) nefrotoxikus hatása jelentős és egyben módosítható faktor.

A CAN kifejlődésében a CNI-nefrotoxicitás jelentős szerepet játszik, ennek ellenére a háttérben meghúzódó patomechanizmus még mindig nem teljes mértékben feltárt. Az akutan kialakuló nefropátia, úgy tűnik, az afferens arteriola vazokonstriktójából fakadó veseáramlás csökkenésének következményeként alakul ki. Másrészt, az intrarenális RAAS aktivációja, megnöveli az endothelin-1 felszabadulását valamint a NO és a NO szintetáz diszregulációját eredményezi. Ezen felül a transzformáló növekedési faktor beta-1 növekedése, a nagyobb számban előforduló apoptózis, a gyulladással mediátorok stimulációja, a megnövekedett veleszületett immunitás és az endoplazmatikus retikulum stresszállapotának szerepét feltételezték krónikus CNI-nefropátia patogenezisében (Bennett, 1996). Következésképpen tubuláris károsodásra, intersticiális fibrózisra és arteriopátiára jellemző hisztológiai kép fejlődik ki, amelyet a vese funkciójának csökkenése kísér.

A renin szerepe a CNI-nefropátia inicializálásában, később fenntartásában ezidáig nem állt a vizsgálatok középpontjában. Tudott azonban, hogy CNI-vel kezelt patkányok juxtaglomeruláris apparátusában

(JGA) hipertrófia jön létre (Ryffel *et al.*, 1994). Kimutatták továbbá, hogy a JGA-sejtek kifejezik azon calcineurin izoformákat, amelyek Cyclosporin A-val (CyA) történő gátlása szignifikánsan stimulálja tenyésztett granuláris sejtekből a renin felszabadulását (Madsen *et al.*, 2010). *In vivo* további megerősítést nyert ez a vizsgálati eredmény, amikor CyA-kezelt patkányok afferens arteriola reninjének recruitmentját tapasztalták, ami jelentős haemodinamikai változást okozott a vese mikrovaskulaturájában (Norling *et al.*, 1996). Hasonló megfigyeléseket írtak le Tacrolimus (Tac) kapcsolatban is, adminisztrációja nagyban megnövelte a plazma renin-aktivitást (Andoh *et al.*, 1997). Fontos azonban megjegyezni, hogy minden tanulmány csupán a JGA renintermelésre fókuszált; a RAAS más lokalizációit nem vette figyelembe. Függetlenül a renin eredetétől a triggerelt termelés és szekréció végső következménye a transzformáló növekedési faktor beta és a bazális fibroblaszt növekedési faktor által inicializált mátrixfehérjék akkumulációja (Rajnoch *et al.*, 2005).

Végül, de nem utolsósorban, bizonyítékok egész sora demonstrálta a RAAS regulációjában jelen lévő jelentős nemi különbséget; az androgének pozitívan modulálják ezt a rendszert; rövid távon direkt vazokonstriktós hatásuknál fogva, valamint az extracelluláris folyadékterefogat vesekontrolljának megváltoztatása által, míg hosszú távon az apoptózis, a gyulladás és a fibrózis által súlyosbítják a posztisztkémiai periódust (Komukai *et al.*, 2010). Nőstényekben az ösztrogén kompenzálja ezeket a hatásokat, habár nem a RAAS gátlása, hanem a potens vazodilatáns NO által (Komukai *et al.*, 2010). A renin szabályozásának ne-

mek közötti különbsége CNI-nefrototoxicitás esetén ez idáig nem került vizsgálatra.

Mindezek alapján célkitűzésünk a következő volt: megvizsgálni, vajon a CNI legalább részben a lokális RAAS inicializálásán keresztül fejti-e ki nefrotikus hatását, különös tekintettel az összekötő szegmensben vagy a gyűjtőcsatornában.

Módszerek

A CNI-nefropátia in vivo modellje • Minden erőfeszítést megtettünk, hogy az állatok diszkomfortját és fájdalmát minimalizáljuk. Az egerek standard körülmények között voltak tartva, hőmérséklet- kontrollált ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) szobákban, világos és sötét periódusok alternálásával kísérve. Az akut kísérletek általános anesztéziában történtek. Minden protokollt a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottsága engedélyezett.

A kísérletek első szériájában kéthetes, hím C57 black 6 egerek ($n=15$) három csoportba lettek besorolva: kontrollállatok, egy nap kétszer $0,075 \text{ mg/kg/nap}$ Tac-cal kezelt és 2 mg/kg/nap CyA-val kezelt egerek. Háromhetes adminisztrációt követően az állatok képpalkotása történt, vagy további feldolgozás céljából harvestelésük.

Vesefunkciós paraméterek • Szérum és vizelet vesefunkciós paramétereket (vér urea nitrogén, kreatinin, nátrium, kálium, albumin) határozunk meg kereskedelmi forgalomban elérhető kitek segítségével.

Hisztológiai analízis • A paraffin vesemetszetek hematoxin/eosin, perjódsav-Schiff- és Masson-reagenssel voltak megfestve. A mintákat kódoltuk, és fénymikroszkóppal 0-tól 4-ig terjedő skálán a tubuláris károsodást, a tubulo-intersticiális fibrózis mértékét és az intersticiális beszűrődést ítéltük meg semi-quantitatívan.

Multifoton excitációs mikroszkópia • A multifoton excitációs mikroszkópia egy *state of the art* fluoreszcens képpalkotó módszer, amely ideális a szövet mély optikai szelektálásához (Peti-Peterdi et al., 2009; Peti-Peterdi 2012). Képes ultraérzékeny, mennyiségi képpalkotás kivitelezésére, valamint a szervek funkciójának feltérképezésére egészségesben és betegben olyan idő- és térbeli felbontással, amelyre más képpalkotó eszközök nem nyújtanak lehetőséget. A sejtbeli változók vizualizálása, például a citoszolikus kalcium, pH, sejt-sejt kommunikáció és szignál propagáció, a JGA-ban történő intersticiális folyadékáramlás, a tubuloglomeruláris *feedback* valósidejű képpalkotása, továbbá a glomeruláris filtráció, permeabilitás, koncentráció, hígítás szépen vizualizálható. Mi több, e minimálisan invazív eszköz felhasználásával lehetséges *in vivo* a vesefunkciók mennyiségi meghatározása, magába foglalva az intrarenális RAAS aktivitását, a renin felszabadulásának mechanizmusát és a vazoreguláció kontrollját.

Az állatok altatása intraperitoneálisan Ketamine és Xylazine kombinációjával történt ($800 \mu\text{l/kg}$ és $200 \mu\text{l/kg}$), majd homotermikus műtéti asztalra helyeztük őket, és hőmérsékletüket egy elektromos melegítő padon 37°C körül tartottuk. Megfelelő anesztéziát követően az állatokat Betadinal fertőtlenítettük, majd nyakuknál és bal dorzális oldalukon leborotváltuk. Ezt követően mm-es bemetszés történt a nyaki régióban, hogy elérhetővé tegyük a tracheát és karotiszt. Miután óvatosan feltártuk a tracheát, majd kanüláltuk a karotiszt, biztosítva a stabil légzést, valamint a festék bejutásának útját is megoldottá tettük így. Ekkor a baloldali metszésen a vesét finoman kiemeltük és a mikroszkóp munkafe-

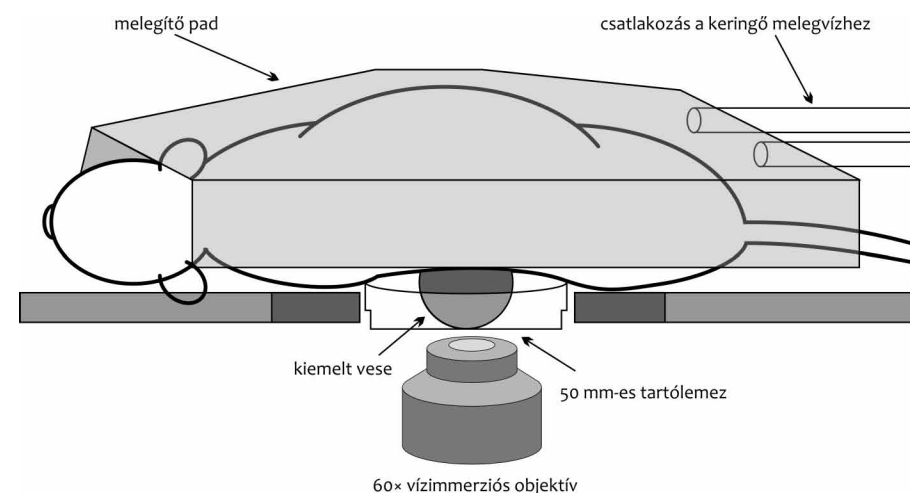
lületére, fedőlemezre helyeztük. A vesét folyamatosan $0,9\%$ -os sóoldatban áztattuk a képpalkotás során (1. ábra).

Ezt követően a Femto 2D invert magas szenzitivitású galvanoscanner-alapú multifoton mikroszkópprendszerrel (Femtonics Ltd., Bp.) képeket készítettünk. A kétfotonos excitációt az impulzusüzemű Mai Tai DeepSee titán-zafir lézer (Spectra-Physics Inc., Irvine, CA) biztosítja, a képek felvételéhez 820 nm és 720 nm -es hullámhosszú fényt használtunk. Az *in vivo* vesemérésekben az Olympus $60\times$ glycerin immerziós objektív (numerikus apertúra: 1,3) bizonyult legalkalmasabbnak. A fluoreszcens fotonokat nagy érzékenységgű fotoelektron-sokszorozók (PMT) detektálják epifluoreszcens elrendezésben két spektrális tartományban (zöld: $490\text{--}560 \text{ nm}$ és piros: $600\text{--}700 \text{ nm}$). A veseszövetben el tudtuk érni a $100 \mu\text{m}$ mikrométeres maximális mélységet.

A méréshez és az adatok feldolgozásához a Matlab-alapú MES-szoftvert (Femtonics Ltd.), a képfeldolgozáshoz az Image J szoftvert használtuk.

A fluoreszcens festékek befecskendezése a karotison keresztül történik egy bolus salsol kísérletében. Hetven kDa rodamin dextran (piros) szolgálja a vaszkulátúra, és quinacrin (zöld) a savas granulomok, így a renint tartalmazó granulomok megfestését is. A Hoechst hivatott a magok kiemelésére (kék).

FACS-analízis • Három hét elteltével az állatok harvestelése történt, veséiket kivettük és FACS™ Permeabilizing Solution 2 ($10\times$) (Perm2)-vel 10 percig, szobahőn (RT) permeabilizáltuk. A permeabilizálást követően a sejtek PBS-sel mosódtak, és renin, illetve AQP2-antitestekkel inkubálódtak. Ezt követően a sejtek Perm2-vel mosódtak, és a megfelelő másodlagos antitestek kerültek rájuk fél óráig, RT-n a sötétben. A negatív kontrollok csupán másodlagos antitesttel voltak inkubálva. Mindezek után a sejteket Perm2-vel mostuk át, lecentrifugáltuk őket ($800g/RT/perc$), majd ismét felvettük őket PBS-be. A citometriás analízis FACSaria citométerrel történt. A *forward* és a *side* mintának megfelelően identifikáltuk az ép sejtpopulációt.



1. ábra • Sematikus ábra a multifoton mikroszkópiának a vese kórállapotaiban való használatához

Tízezer sejtet gyűjtöttünk össze, és a belőlük származó adatok kerültek analízisre.

Statisztikai analízis • Az adatokat STATISTICA.6 szoftverrel analizáltuk. Az adatok átlag \pm SEM voltak ábrázolva. A normál eloszlást Kolmogorov–Smirnov-teszttel ellenőriztük. Az összehasonlításokat ANOVA használatával végeztük, és Fisher-féle poszt-hoc teszttel tettük. A p értéket akkor fogadtuk el szignifikánsnak, ha $<0,05$.

Eredmények

A savas granulomokat megfestő quinacrin kirajzolta a renin jelenlétét, egyrészt a JGA-ban (2/1 A ábra), másrészt a granuláris szerkezetet mutatva a gyűjtőcsatorna bazolaterális oldalán és némelyik sejt, feltételezhetően principális sejt citoszóljában és apikális felszínén is (2/1 B ábra). Összességében a renin, klasszikus szekréciós helyén, a JGA-n túl, jelentős mennyiségben termelődik és szekretálódik az összekötő és gyűjtőcsatornában is.

A multifoton technika beállítását és a renin vizualizálása lehetőségének bizonyítását követően kísérleti felállításunknak megfelelően három vizsgált csoportban vizualizáltuk a renin mennyiségét, termelődését, szekrécióját (2/2 ábra). A kontrollcsoport JGA-jában csupán néhány granuláris, renin szekretáló sejtet találtunk, és gyűjtőcsatornájukban alig, ha egyáltalán volt granuláció látható. Ezzel szemben a Tac-kezelt csoport megnövekedett számú granuláris sejtet mutatott, amik vizuálisan differenciálódtak renintermelő sejtekké, és ami vizsgálatunk szempontjából még fontosabb volt, hogy a gyűjtőcsatornában is fokozott granuláció volt megfigyelhető. A CyA-kezelt csoport hasonló képet mutatott, mindkét általunk vizsgált lokalizációban a kontrollcsoportokhoz képest szignifikánsan megnőtt a renin jelenléte.

Áramlási citometriával elkülönítettük a fentebb vizsgált képleteket, AQP2-t használtunk a principális sejtek kiszekreléséhez, ezzel el tudtuk választani ezt a sejtpopulációt a vesében található minden más sejtől. Ezt követően a két sejtpopuláción belüli renintermelő sejteket szeparáltuk. A 3/1 A ábra mutatja, hogy míg kontrollállatok principális sejtjeinek csupán 2%-a termelt és szekretált renint, addig ez háromhetes immunoszipresszáns kezelést követően már szignifikánsan, ennek a háromszorosára nőtt mindkét kezelt csoportban. A renintartalom hasonlóan alakult a JGA esetében is (3/1 B ábra).

A renin közvetlen hatásainak egyikeként multifoton technikánkkal képesek voltunk vizsgálni az érátmérők változását. A 3/2 ábra jól demonstrálja, miszerint a kontrollállatok megközelítőleg 7 μm -es átmérője közel 2 μm -t csökkent, vagyis a megnövekedett reninszekréció ilyen fokú kontrakciót hozott létre mindkét vizsgált csoportban.

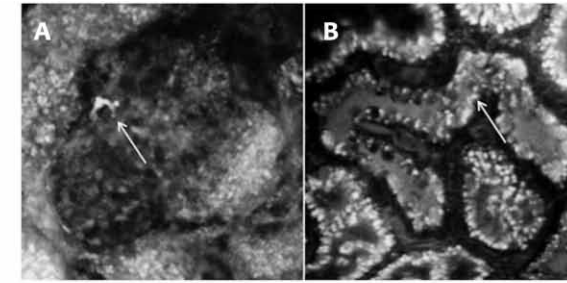
Ez az érkontrakció jelentős mértékű hipoxiát eredményezett, aminek a következménye lehet makroszkopikusan köteges megjelenésű elköötőszövetesedés inicializációja. A 3/2 ábra ezen változásokat mutatja, miszerint kontrollállatok veséjének Masson-festése nem mutatott fibrotikus elváltozást (3/2 A ábra), míg a két kezelt csoportban fellelhető volt a köteges, erek mellett futó kollagénrostok kék színben való festődése (3/2 B, C ábra).

Utolsó lépésként a vese funkcionális változását vizsgáltuk. A kontroll szérum kreatininszinthez képest mind a CyA-, mind a Tac-kezelt csoportban szignifikánsan megnőtt ezen vesefunkciós paraméter szintje (3/3 ábra).

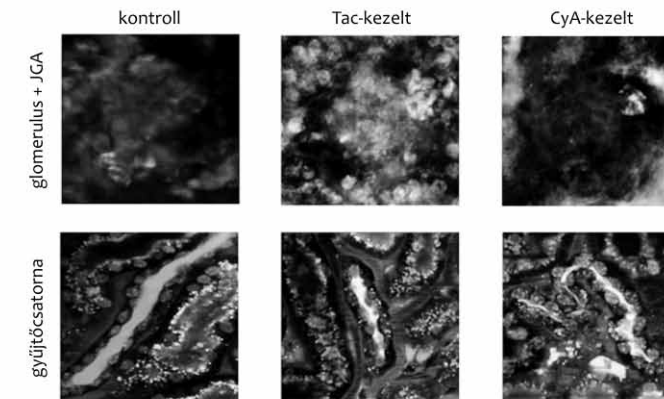
Megbeszélés

Mindezek alapján elmondhatjuk, hogy a kalcineurin inhibitorok károsító hatással bír-

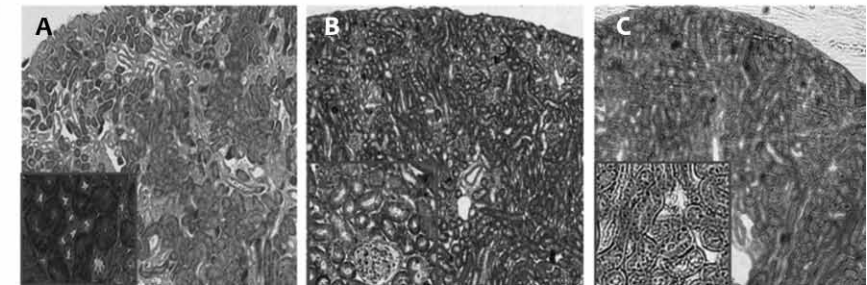
1.



2.



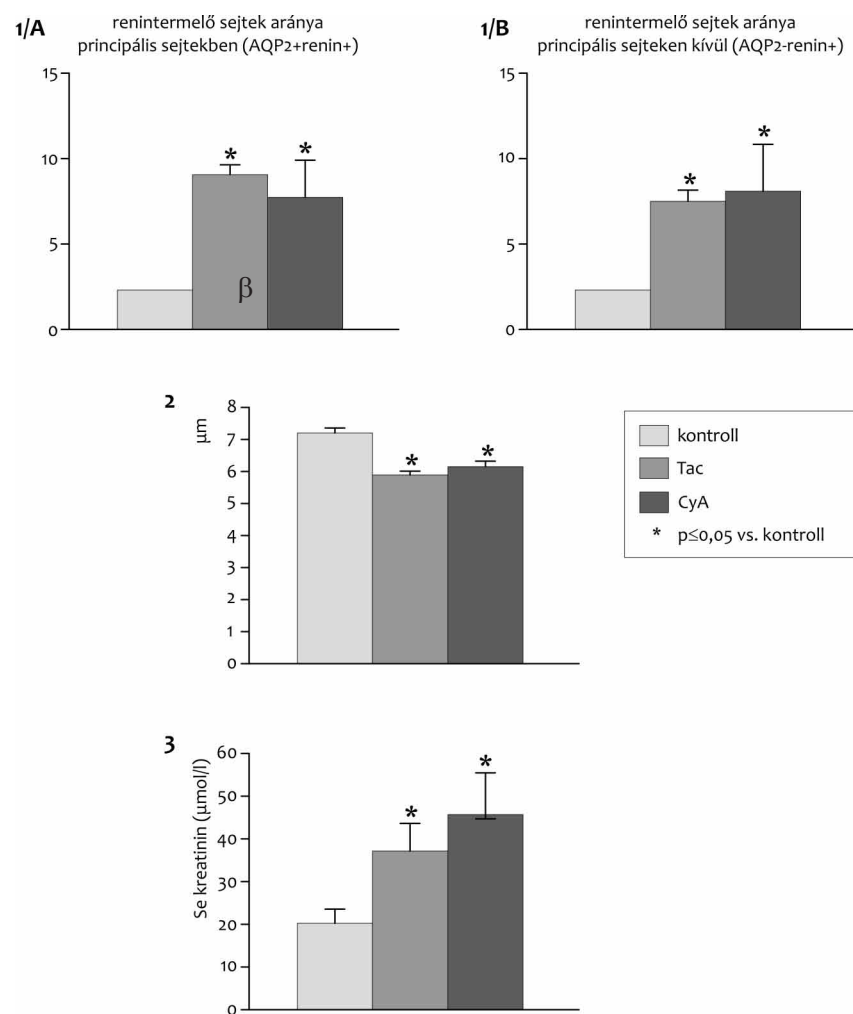
3.



2. ábra • 1.) A renin termelődésének és szekréciójának két ismert lokalizációjának multifoton mikroszkópiával való vizualizálása – A: juxtaglomeruláris apparátus (JGA) granuláris sejtjei (nyíl); B: gyűjtőcsatorna principális sejtjei.

2.) Multifoton mikroszkópiával a három vizsgált csoportban megjelenő renin. Kontrollállatok JGA- és gyűjtőcsatornájában granuláció alig figyelhető meg, ellenben a két kalcineurin inhibitor (CNI) kezelt csoportban mind a JGA-ban, mind a gyűjtőcsatornában szignifikánsan nagyobb mennyiségben termelődött a renin, és került szekrécióra.

3.) Masson-festést elvégezve kontrollállatok veséje nem mutatott fibrotikus elváltozást (A), míg a két kezelt csoportban előfordult a köteges, erek mellett futó kollagén rostok kék színben való festődése (B, C).



3. ábra • 1.) Áramlási citometriával különválasztottuk az AQP2-pozitív (principális sejtek) és -negatív sejteket, valamint azon belül is a renintermelő sejteket, illetve az azt nem termelőket. A kontrollcsoport élesen elkülönült a két CNI-kezelttől, míg az előbbi esetén a sejtek csupán 2%-a termelt renint mindkét lokalizációban, addig a két immunszupprimált csoport ennek az ötszörös mennyiségében fejezte ki a renint.

2.) Multifoton mikroszkópiával a három vizsgált csoport érátmérőit elemeztük. Kontrollállatok 7 µm-es átlagos átmérője közel 2 µm-t csökkent, vagyis a megnövekedett reninszekréció ilyen fokú kontrakciót hozott létre mindkét vizsgált csoportban.

3.) A vese funkcionális változását vizsgáltuk. Kontrollállatok szérumban kreatininszintjéhez képest mind a két CNI-kezelt csoportban szignifikánsan megnőtt e vesefunkciós paraméter szintje.

nak a vesére, ami összefüggésbe hozható a megnövekedett reninaktivációval, nemcsak a JGA-ban, de a gyűjtőcsatornában is, ami ezidáig nem volt ismert az irodalomban. A fokozott renintermelődés a nagyobb sejtpopulációt magába foglaló gyűjtőcsatorna lokalizációban vazokonstriktiót, következményes hipoxiát és így fibrogenezist indukál, s ezek eredőjeként a vesefunkció romlik.

A CAN számos kaszkádot, regulációs faktort magába foglaló, komplex folyamat, ám a pontos patomechanizmusa még mindig nem ismert. Vannak alloantigén-függő és -független faktorok, amelyek közül mi a CNI-nefrotoxicitást vettük górcső alá. A legegyszerűbb faktor modellünkben a hipoxia volt. Az oxigén részleges hiánya minden vesesejtben a citrátciklus zavarát eredményezi, következményesen a szukcinát akkumulálódik, és kilép a mitokondriumból a citoplazmába, majd az extracelluláris térbe (Peti-Peterdi 2010). A szukcinát GPR91 receptorán keresztül autokrin és parakrin módon triggereli számos mestergén transzkripcióját, köztük a RAAS sebességmeghatározó lépését is, a renintermelést. Minthogy az összekötő szegmensben és a gyűjtőcsatornában is nagy mennyiségben található a GPR91-receptor (Robben et al., 2009), az általa triggerelt és itt termelődő renin, amit diabéteszes modellben már leírtak (Toma et al., 2008; Vargas et al., 2009), egyike lehet a legfontosabb, a hipoxiát jelezni hivatott jelátvivőknek. A renin az angiotenzin II-n keresztül tovább fokozza a vazokonstriktiót, s egy későbbi lépésben profibrotikus útvonalakat indít be, melyeket a renin (P)RR-án történő aktiváció további fokozott működésre serkent (Nguyen 2002).

A renin CNI-nefrotoxicitásban betöltött központi szerepére utal az is, hogy RAAS-in-

hibíciót alkalmazva a CNI-nefrotoxicitás kivédéséről, de legalábbis javulásáról számolnak be. A RAAS-inhibíciót követően az intersticiális fibrózis sokkal kevésbé volt kifejezett azokban a patkányokban, amelyek a fibrogenikus citokin overexpresszió, pl. TGF-beta, PDGF és IL-6 miatt Tac-nefrotoxicitást mutattak (Deniz et al., 2006). Ez további bizonyítást nyert egy tanulmányban, melyben 5/6 subtotális nefrektómia modellben a RAAS gátlása az IL-2-gátlással együtt sokkal effektívebb volt a progresszív glomeruloszklerózis kifejlődésének kivédésében, mint egy monoterápiás kezelés (Hamar et al., 1999). Munkacsoportunk is leírta, ACE-gátlást követően a profibrotikus útvonalak közül számos tag mRNS szintje szignifikánsan csökken, míg az angiotenzinogén mRNS szintje kompenzatórikusan megnő (Szabó et al., 2000). Látni kell viszont, hogy a direkt reningátlást mint a CNI-nefrotoxicitás kivédésének terápiás eszközt illetően az irodalom teljes mértékben hiányos.

Összességében elmondhatjuk, hogy bevezettük és elindítottuk a multifoton fluoreszcens mikroszkópia metodikáját a magyar nefrológiai alaputatásban. A juxtaglomeruláris apparátus mellett a gyűjtőcsatornában is sikerült megjeleníteni a renin termelődését és szekrécióját. A kalcineurin inhibitor CyA és Tac fokozta a juxtaglomeruláris és gyűjtőcsatorna reninszekrécióját. Ezzel akut és krónikus reninhatásokat is kiváltva rontják a vese működését. Így a renin gátlása terápiás lehetőség lehet az immunszuppresszívumok okozta nefrotoxicitás mind akut, mind krónikus következményeinek csökkentésében.

Kulcsszavak: multifoton-mikroszkópia, veseműködés, renin, calcineurin, juxtaglomeruláris apparátus

IRODALOM

- Andoh, T. F. – Burdman, E. A. – Bennett, W. M. (1997): Nephrotoxicity of Immunosuppressive Drugs: Experimental and Clinical Observations. *Seminars in Nephrology*. 17, 34–45.
- Bennett, W. M. (1996): Insights into Chronic Cyclosporine Nephrotoxicity. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 34, 515–519.
- Cecka, J. M. – Terasaki, P. I. (1995): The UNOS Scientific Renal Transplant Registry. *United Network for Organ Sharing. Clinical Transplants*. 1–18.
- Deniz, H. – Ögütmen, B. – Cakalagaoglu, F. – Tuğlular, S. – Ozener, C. – Akoğlu, E. (2006): Inhibition of the Renin Angiotensin System Decreases Fibrogenic Cytokine Expression in Tacrolimus Nephrotoxicity In Rats. *Transplantation Proceedings*, 38, 483–486.
- Fellström, B. C. – Larsson, E. (1993): Pathogenesis and Treatment Perspectives of Chronic Graft Rejection (CVR). *Immunology Reviews*. 134, 83–98.
- Hamar P. – Peti-Peterdi J. – Rázga Z. – Kovács G. – Heemann, U. – Rosivall L. (1999): Coinhibition of Immune and Renin-Angiotensin Systems Reduces the Pace of Glomerulosclerosis in the Rat Remnant Kidney. *Transplantation Proceedings*. 11, 234–238.
- Kang, J. J. – Toma I. – Sipos A. – Meer, E. J. – Vargas, S. L. – Peti-Peterdi J. (2008): The Collecting Duct Is the Major Source of Prorenin in Diabetes. *Hypertension*. 51, 1597–1604.
- Komukai, K. – Mochizuki, S. – Yoshimura, M. (2010): Gender and the Renin-angiotensin-aldosterone System. *Fundamentals of Clinical Pharmacology*. 24, 687–698.
- Li, Y. (2010): New Insights into Epithelial-mesenchymal Transition in Kidney Fibrosis. *Journal of the American Society of Nephrology*. 21, 212–222.
- Madsen, K. – Friis, U. G. – Gooch, J. L. – Hansen, P. B. – Holmgaard, L. – Skøtt, O. – Jensen, B. L. (2010): Inhibition of Calcineurin Phosphatase Promotes Exocytosis of Renin from Juxtaglomerular Cells. *Kidney International*. 77, 110–117.
- Nguyen, G. – Delarue, F. – Burcklé, C. – Bouzahir, L. – Giller, T. – Sraer, J. D. (2002): Pivotal Role of the Renin/Prorenin Receptor in Angiotensin II Production and Cellular Responses to Renin. *The Journal of Clinical Investigation*. 109, 1417–1427.
- Norling, L. L. – Tufro-Mcreddie, A. – Ariel Gomez, R. – Moore, L. C. – Kaskel, F. J. (1996): Accumulation of Acidic Renin Isoforms in Kidneys of Cyclosporine-A-treated Rats. *Journal of the American Society of Nephrology*. 7, 331–337.
- Peti-Peterdi J. (2010): High Glucose and Renin Release: The Role of Succinate and GPR91. *Kidney International*. 78, 1214–1247.
- Peti-Peterdi J. – Burford, J. L. – Hackl, M. J. (2012): The First Decade of Using Multiphoton Microscopy for High-Power Kidney Imaging. *American Journal of Physiology – Renal Physiology*. 302, 227–233.
- Peti-Peterdi J. – Toma I. – Sipos A. – Vargas, S. L. (2009): Multiphoton Imaging of Renal Regulatory Mechanisms. *Physiology (Bethesda)*. 24, 88–96.
- Prokai A. – Peti-Peterdi J. (2010): Recent Advances in Tissue (Pro)Renin Imaging. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*. 2, 1227–1233.
- Rajnoch J. – Lodererova, A. – Szabo A. – Honsova, E. – Vannay A. – Bloudickova, S. – Matl I. – Viklicky, O. (2005): Regulators of Angiogenesis in Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Normotensive and Hypertensive Rats: Effect of Tacrolimus. *Transplant Proceedings*. 37, 352–354.
- Robben, J. H. – Fenton, R. A. – Vargas, S. L. – Schweer, H. – Peti-Peterdi J. – Deen, P. M. – Milligan, G. (2009): Localization of the Succinate Receptor in the Distal Nephron and Its Signaling in Polarized MDCK Cells. *Kidney International*. 76, 1258–1267.
- Ryffel, B. – Weber, E. – Mihatsch, M. J. (1994): Nephrotoxicity of Immunosuppressants in Rats: Comparison of Macrolides with Cyclosporin. *Nephron Experimental Nephrology*. 2, 324–333.
- Shihab, F. S. – Bennett, W. M. – Tanner, A. M. – Andoh, T. F. (1997): Mechanism of Fibrosis in Experimental Tacrolimus Nephrotoxicity. *Transpl.* 64, 1829–1837.
- Szabo A. – Lutz J. – Schleimer K. – Antus B. – Hamar P. – Philipp, T. – Heemann, U. (2000): Effect of Angiotensin-converting Enzyme Inhibition on Growth Factor mRNA in Chronic Renal Allograft Rejection in the Rat. *Kidney Intern.* 57, 982–991.
- Toma I. – Kang, J. J. – Sipos A. – Vargas, S. L. – Bansal, E. – Hanner F. – Meer, E. – Peti-Peterdi J. (2008): Succinate Receptor GPR91 Provides a Direct Link between High Glucose Levels and Renin Release in Murine and Rabbit Kidney. *The Journal of Clinical Investigation*. 118, 2526–2534.
- Turner, J. M. – Bauer, C. – Abramowitz, M. K. – Melamed, M. L. – Hostetter, T. H. (2012): Treatment of Chronic Kidney Disease. *Kidney Intern.* 81, 351–362.
- Vargas, S. L. – Toma, I. – Kang, J. J. – Meer, E. J. – Peti-Peterdi J. (2009): Activation of the Succinate Receptor GPR91 in Macula Densa Cells Causes Renin Release. *Journal of the American Society of Nephrology*. 20, 1002–1011.

ÚJ DINAMIKUS KÉPALKOTÓ ELJÁRÁS

Osváth Szabolcs

egyetemi adjunktus,
Semmelweis Egyetem Biofizikai Intézet
osvath.szabolcs@med.semmelweis-univ.hu

Szigeti Krisztián

egyetemi tanársegéd, laborvezető,
Semmelweis Egyetem Biofizikai Intézet
Nanobiotechnológiai és In Vivo Képpalkotó Központ
szigeti.krisztian@med.semmelweis-univ.hu

Az elmúlt évtizedben paradigmaváltás zajlott le az orvosi képalkotásban. Új szemléletmód fejlődött ki, amely a funkcionális képalkotás szerepét hangsúlyozza az anatómiai struktúrára pusztán ábrázolásával szemben. Az élettani folyamatok megjelenítését célzó törekvések mára már több, elterjedten használt diagnosztikus képalkotási módszer kidolgozásához vezettek, mint például a pozitronemissziós tomográfia (PET), a fotonemissziós számított tomográfia (SPECT) vagy a funkcionális mágneses rezonancia képalkotás (fMRI). Meglepő módon, a radiológia legregébbi és még mindmáig leggyakrabban használt módszere, a röntgenképpalkotás, Conrad Röntgen óta az anatómiai pillanatképek varázsában él. Az alapvetően mozgó és élő szervezetet röntgen-pillanatfelvételek alapján próbálja megérteni és morfológiai elváltozásait detektálni.

Az elmúlt években a Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetében egy új röntgenképpalkotó módszert fejlesztettünk ki, amely alapvetően más szemlélettel igyekszik új utakat nyitni a funkcionális képalkotásban. A szabadalmaztatás alatt álló eljárás a jelenleg is használt képalkotó rendszerek módosításával képes az élő szervezetek élettani folyamatairól árulkodó belső mozgásokat megjeleníteni.

A röntgenradiográfia röntgensugarakat használ a rejtett anatómiai részletek megjelenítéséhez. A kép készítéséhez a páciens röntgensugarakkal világítja át, és a páciens testén átmenő sugarak által kirajzolt árnyékképet rögzítik. Az árnyékkép megmutatja, miként oszlik meg a páciensen belül a röntgenelnyelő-képesség, más néven röntgendenzitás, kirajzolva az anatómiai részleteket. A kép felvétele közben történő mozgások a képen elmosódást eredményeznek, amelyet mozgási műtermékek neveztek el. A Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetében kifejlesztett technika alapfogolata az, hogy a „mozgási műtermék” valójában nem egy nem kívánt zavar, hanem olyan jel, amely hasznos információt tartalmaz a páciensen belüli mozgásokról, amelyet érdemes kinyerni és a diagnózis szolgálatába állítani.

A röntgenkép rögzítéséhez fotografikus filmet vagy elektronikus röntgendetektort exponálnak a helyes expozícióhoz szükséges ideig. Az elektronikus detektorok lehetővé teszik a képek digitális tárolását és számítógépes feldolgozását, ezért egyre inkább kiszorítják a fotografikus film használatát.

A röntgenképpalkotás nagy kihívása, hogy a páciens egészségének minél kisebb kockázataival – vagyis minél kisebb röntgendózis