

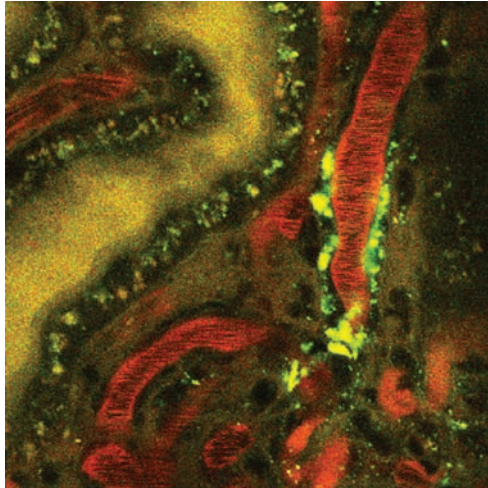
Studia Physiologica

16/2012



Rosivall László

A juxtaglomeruláris apparátus  
A vese agyának felépítése és működése



*Studia Physiologica*  
Fasciculus 16

**A juxtaglomeruláris apparátus (JGA)  
A vese agyának felépítése és működése**

*Rosivall László*

**„Van a világon valami, ami értékesebb, mint az anyagi élvezetek, mint a vagyon, értékesebb magánál az egészségnél is: ez a tudomány odaadó szolgálata”.** Bármilyen elkötelezett és gyümölcsöző is e szolgálat, az elért eredmények sohasem tekinthetők egyetlen ember érdemének. *(A szerző)*

**Augustin Thierry, 1795-1856**

*Studia Physiologica*  
Fasciculus 16

# **A juxtaglomeruláris apparátus (JGA) A vese agyának felépítése és működése**

*Rosivall László*



A kötet megjelenését a Semmelweis Egyetem Piramis Projekt (TÁMOP-4.2.3/08/1/KMR-2008-0003) és a Studia Physiologica Alapítvány támogatása tette lehetővé

Sorozatszerkesztő: *Nagy Zoltán*

Nyelvi lektor: *Garami László*

Címlapkép: Glomerulusfiltráció vizualizálása élő állatban (Ref. 41)

© *Rosivall László, 2012*

© *Semmelweis Kiadó, 2012*

**ISSN 1219-2791**

**ISBN 978-963-331-209-4**

A könyv szerzői jogi oltalom és kizárólagos kiadói felhasználási jog alatt áll. Bármely részének vagy egészének mindennemű többszörözése kizárólag a sorozatszerkesztő, a szerző és a kiadó előzetes írásbeli engedélye alapján jogszerű.

	Semmelweis Kiadó
	1089 Budapest, Nagyvárad tér 4.
	<a href="http://www.semmelweiskiado.hu">www.semmelweiskiado.hu</a>

Felelős kiadó: dr. Tánkos László igazgató

Tördelőszerkesztő: Békésy János

Borítóterv: Tánkos László

SKD: 362

Nyomda: Akaprint Kft.

## Bevezetés

A vese – amely nem csak *kiválasztó*, de életfontosságú anyagokat *szintetizáló* és *hormonális* szabályozási feladatokat is ellátó szerv – működésének megfelelően bonyolult szerkezetű, ezen kívül csodákra is képes. Ami a kánai menyegzőn évezredekkel ezelőtt megtörtént, azt ez a szerv rendszeresen véghezviszi, csak ellenkező irányban, ahogy ezt minden vörösbort fogyasztó tanúsíthatja. A vese, ugyan nem szigorúan tudományos értelemben, de talán még a központi idegrendszerénél is fontosabb szervünk. Ezt bizonyítja az a megfigyelés, hogy miközben nem ritka a szürkeállománnyal alig rendelkező, de kitűnő életminőséggel élő ember, addig manapság nemigen fordul elő olyan, vese nélküli embertársunk, akinek életminősége irigylésre méltó lenne. A vese működésének és felépítésének számos finom részlete – a kiterjedt kutatások ellenére – még ma sem ismert teljes mélységében.

E monográfia tárgya a *juxtaglomeruláris apparátus*, amely a vesében található néhány száz sejtből álló képlet. Morfológiai és funkcionális részletei az orvos-biológus szakemberek többsége számára is alig ismertek, annak ellenére, hogy a genetikai adottságoktól függően mintegy 0,3-1,8 millió található belőle egy-egy vesében. Ráadásul olyan fontos, alapélettani jelenségek szabályozásában vesz részt, mint a glomeruláris filtráció, a vérnyomás, a folyadékfelvétel, valamint a víz- és sóürítés. Számos betegség, például a hipertónia és a diabetes patomechanizmusában is jelentős szerepet játszik.

Jómagam, a renális mikrocirkuláció iránt különösen érdeklődő kutatóként, az intrarenális keringés szabályozásának tanulmányozása közben figyeltem fel rá. Ma már hajlok arra, hogy a nephron irányítóközpontjának, agyának nevezem; nem ok nélkül. Ha elolvassák e rövid monográfiát, remélem, egyetértenek majd velem.

Az elmúlt években, sőt inkább már évtizedekben, a juxtaglomeruláris apparátus számos olyan felépítési és működési sajátosságát tártuk fel, amelyek megváltoztatták az e szervecskével kapcsolatos elképzeléseket és kutatási területeket. E szervecske működésének leírásában, megismerésében magyar tudósok korábban is úttörő szerepet játszottak, és ma is számosan és eredményesen részt vesznek benne.

Vizsgálatának több mint 100 éves történetével és legújabb eredményeinek bemutatásával érdekes és izgalmas világot kívánok feltárni az olvasó előtt. A juxtaglomeruláris apparátus, mely a vaszkuláris és tubuláris elemeknek különleges felépítésű és működésű egysége, régóta foglalkoztatja mindazokat, akik a veseműködés szabályozási mechanizmusait kívánják megismerni. Golgi 1889-es fénymikroszkópos vizsgálatokon alapuló leírásával kezdődő, és még ma is tartó kutatása során felismerték, hogy a vesezővet e parányi része szerepet játszik a vesevéráramlás, a glomeruláris hemodinamika, a renin-angiotenzin rendszer, a vérnyomás, valamint a só- és vízürítés szabályozásában. A kutatók sokáig úgy gondolták, hogy a juxtaglomeruláris apparátusnak stabil intersticiális miliője van, így ideális közeget biztosít a glomeruláris filtrációt szabályozó tubuloglomeruláris feedback bonyolult mechanizmusának a macula densától a renin tartalmú granulált sejtekig haladó humorális jel átviteléhez. Ezt az elképzelést az a megfigyelés is támogatta, miszerint a juxtaglomeruláris apparátus interstíciumában található

extraglomeruláris mezangiális sejtek számtalan nyúlvánnyal, és ennek következtében kivételesen nagy sejtfelszínnel rendelkeznek, mely elősegíti a mediátor koncentráció változásának érzékelését a tubuloglomeruláris feedback szabályozási mechanizmusának aktiválódásakor. Sokáig azt is feltételezték, hogy a humorális mediátor az angiotenzin II.

A juxtaglomeruláris apparátus stabil intersticiális folyadékterével kapcsolatban felvetettük, hogy már egyszerű morfológiai megfontolások alapján is aligha elképzelhető, hogy a szervecske kúp alakú extraglomeruláris mezangiális terét három csőszerű képződmény: az afferens és az efferens arteriola, a disztális tubulus a macula densával úgy zárja le, illetve be, hogy annak intersticiális folyadéka ne közlekedjék többé-kevésbé szabadon a vese interstíciumával. Különböző kísérleti módszerek felhasználásával sikerült bizonyítékokat találnunk arra, hogy kételkedésünk jogos volt. Bizonyítottuk, hogy a juxtaglomeruláris apparátus nem zárt, stabil egységként viselkedik, és jelentős intersticiális folyadékmozgás jellemzi. Kimutattuk, hogy a helyi nyomáskülönbségeknek megfelelően folyadék áramlik a juxtaglomeruláris interstíciumba az afferens arteriolából az általunk leírt fenestrált endotheliumon, a glomerulusból a „mezangiális fá”-n, illetve a vizeletúrból a speciális elhelyezkedésű, általunk feltárt filtrációs réseken keresztül. E folyadékáramlás morfológiai alapjait nemcsak különböző kísérleti emlőállatokon, de amphiumában (halgöte), sőt emberben is igazoltuk, bizonyítva ezzel a jelenség ősi, általános jellegét, jelentőségét.

Mindezek alapján leírtunk egy, a glomeruláris filtráció szabályozásában résztvevő vaszkulo-vaszkuláris (feed forward) mechanizmust, melynek működése amphiumában, mikropunkciós technika felhasználásával igazolást nyert.

Kimutattuk, hogy az afferens arteriola fenestrált endothel borított területének kiterjedése függ a renin-angiotenzin rendszer aktivitásától. Ezért az életkor, a stressz és számos betegség, illetve farmakológiai beavatkozás alapvetően befolyásolja a fenestrált endothelium területének nagyságát. Atomerő mikroszkópiával láthatóvá tettük az endothel sejt fenestrációját, illetve annak változását, és kimutattuk, hogy szabályozásában szerepet játszik az angiotenzin, a vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF) és a mitogén aktiválta protein (MAP) kináz rendszer.

Újabbán, modern imaging technika alkalmazásával, multifoton lézermikroszkópiával élő állatban is sikerült láthatóvá tennünk a fenestrumokat és igazolnunk szerepüket a filtrációban és a reninválasztásban. Azt korábban is tudtuk, hogy az afferens arteriola falában képződő renin egy része az ér lumenébe kerül, de ennek mechanizmusát, morfológiai alapját nem ismertük, hiszen a renin túl nagy molekula ahhoz, hogy a zárt endothel rétegen keresztül könnyedén átjuthasson.

Kísérleteinkkel bizonyítottuk, hogy az afferens arteriola felépítésében és működésében is két egymástól jól elkülöníthető szakaszból áll, melyek határvonala az életkortól, a renin-angiotenzin rendszer aktuális állapotától függően változik. Ebből következően például a renin-angiotenzin rendszer aktivitását befolyásoló gyógyszereket szedő magas vérnyomású vagy cukorbeteg veséjében található több millió nephron, illetve afferens arteriola szerkezete – a gyógyszer szedése közben, illetve hatására – jelentősen megváltozik.

A lézermikroszkópos eljárások in vivo alkalmazásával a glomeruláris hemodinamika, az intersticiális folyadékáramlás és az endotheliális permeabilitás korábban nem ismert, és szinte elképzelhetetlen részleteit és dinamizmusát sikerült feltárnunk, láthatóvá tennünk. Ezek az eredmények felvetik számos alapélettani folyamat újragondolásának és újrvizsgálásának szükségességét, így például a renális filtrációét, az intersticiális folyadékmozgását, a renin-szekrécióét, stb.

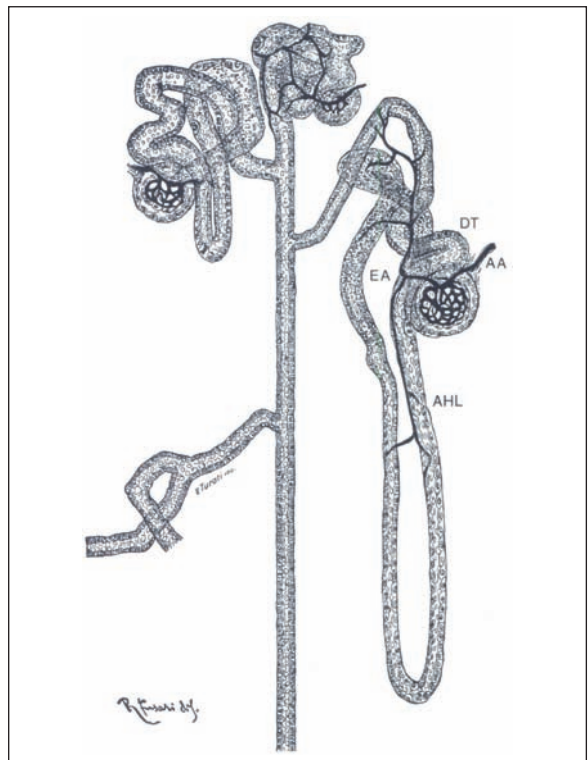
A legfontosabb megfigyeléseket – színes képekkel illusztrálva – a kapcsolódó ismereteket és összefüggéseket a nem kifejezetten szakember számára is érthető formában, de helyszűke miatt a teljesség igénye nélkül próbálom az alábbiakban összefoglalni. A fejezetek a megfigyelések időbeli sorrendjét követik, ami egyben logikai összefüggést, vonalvezetést is jelent. Hogy az egyes részek önmagukban is könnyen érthetők legyenek, szükségszerűen kisebb ismétlések, átfedések is előfordulnak.

## A juxtaglomeruláris apparátus irodalmi és történelmi áttekintése

Golgi (1) fénymikroszkópjával már 1889-ben felismerte és leírta, hogy a tubulus, mely eredése után kanyarulataival és hosszú egyenes szakaszaival igen messze kerül a saját glomerulusától, a disztális szakaszon visszatér, és szoros kapcsolatba kerül ugyanazon glomerulus vaszkuláris pólusával (1. ábra). Feltételezte, hogy a vese vaszkuláris és tubuláris elemeinek e következetes kapcsolata szabályozási mechanizmusok alapjául szolgál. Peter néhány év múlva (1907, 1909) már e kapcsolat általános előfordulását hangsúlyoz-

### 1. ábra: Golgi 1889-ben megjelent cikkének rajza, mely macska vese három nephronjának tubulovaszkuláris kapcsolatait ábrázolja

A jobb oldalon a juxtamedulláris nephronon világosan látszik, amint a felszálló Henle-kacs (AHL) visszakanyarodik a saját szülői glomerulusához, és azt azon a helyen érinti, ahol az afferens arteriola (AA) be, illetve az efferens arteriola (EA) pedig kilép. Ugyancsak feltűnő, hogy az afferens arteriola a glomerulustól proximálisan is kapcsolatban van a disztális tubulussal. Jólval hosszabb felületen érintkezik egymással az efferens arteriola és a Henle kacs felszálló ága, miközben bennük az áramlás ellentétes irányú. (Ref. 1)





ta, és megállapította, hogy a kontaktus a tubulus felszálló vastag szegmentumának és a disztális kanyarulatos részének átmenete körül található (2, 3). Ezt az állítást csak napjaink modern technikájával, az elektronmikroszkóppal sikerült végérvényesen igazolnia Kriznek és Kaisslingnek (1978), amikor kimutatták az „átmeneti” epithel sejtek létezését (4).

A kutatók azt is korán észrevették, hogy az afferens arteriola falában, a disztális, azaz a glomerulus felé eső végén a jellegzetes simaizomsejtek helyett eltérő, szabálytalan formájú sejtek találhatóak. Ruyter (1925), aki ezeket *epithelioid sejtek*-nek nevezte el, és a simaizomsejtekből származtatva feltételezte, hogy a glomeruláris véráramlás szabályozásában játszanak szerepet úgy, hogy duzzadásukkal vagy zsugorodásukkal változtatják az afferens arteriola átmérőjét (5). Oberling (1927) emberi vesében megfigyelte, hogy ezek a sejtek fukszinofil granulomokat tartalmaznak (6). Okkels (1929) hasonló granuláris sejteket talált békában (7, 8). Ezek vizsgálatára Péterfivel (1929) elvégezték talán a világ első élettani kísérletét izolált juxtaglomeruláris apparátuson, amikor mechanikusan ingerelték a glomerulus vaszkuláris elemeit. A glomeruláris kapillárisok nem reagáltak az ingerre, a glomeruluson kívül található erek azonban a mechanikus inger hatására összehúzódtak (9). Ebből arra következtettek, hogy a juxtaglomeruláris apparátus szerepet játszhat a lokális véráramlás szabályozásában.

Zimmerman (1933) írta le elsőként azt a speciális epithel sejtcsoportot, amely a Henle-kacs felszálló vastag szegmentumában található, és amelyet *macula densa*-nak nevezett (10). Ugyanebben az időben Goormaghtigh (1932) és Zimmerman (1933) egymástól függetlenül fedezte fel a disztális tubulus, az afferens és az efferens arteriola által határolt térben rétegesen elhelyezkedő sejtcsoportot (10, 11). Mindezek együttesét Goormaghtigh (1937) később *juxtaglomeruláris apparátus*-nak (JGA) nevezte, és a következő hipotézist fogalmazta meg: „*A macula densa egy érzékelő helyként szolgálhat... automatikusan regulálhatja a glomeruláris keringést... az elhaladó vizelet fizikokémiai állapotának megfelelően...*” (12). Később Goormaghtigh (1945) azt is megfigyelte, hogy ischaemiás vesében nő a granuláris sejtek száma. Kitért és részletes morfológiai megfigyelései alapján egy bonyolult, de meglepően igaz elméletet állított fel a juxtaglomeruláris apparátus vesekeringés szabályozásában betöltött szerepének részleteiről (13). Feltételezte, hogy egy *plazma protein* (később  $\alpha_2$ -globulinként azonosították) diffundál az afferens arteriola endotheljén keresztül a juxtaglomeruláris apparátus interstíciumába, amelyet az endokrin sejtek által elválasztott „*renartrine*” (azóta reninként azonosították, granuláris epithelioid sejtek szekretálják) aktivál. Az aktiválódás eredménye egy vazóaktív anyag (ma mint angiotenzin II ismert), amely azután közvetlenül hat a környező simaizomsejtekre. Ez a hipotézis most már nem csak lokális véráramlási szabályozó szerepet biztosított a juxtaglomeruláris apparátusnak, hanem lehetőséget adott arra is, hogy úgy szemléljék, mint egy, a szervezet egésze számára fontos, a só-víz háztartást, a vérnyomás szabályozást, stb. befolyásoló endokrin szervet.

Hársing (1957) elsőként, állatkísérletesen is igazolta Goormaghtigh-sejtését, hogy a JGA valóban részt vesz a glomeruláris filtráció (GFR) szabályozásában (14, 15). Vizsgálatában kutyákon diuretikumok adásával megváltoztatta a primer vizelet, a disztális tubuláris folyadék ozmotikus koncentrációját, és mérte a glomeruláris filtráció változását. „*Glomerulo-tubuláris egyensúlynak*” nevezte el a jelenséget, amelyet Thureau (1964)

után ma „*tubuloglomeruláris feedback mechanizmusként*” ismerünk (16). Ezek szerint, ha a macula densa fokozott ozmotikus/nátriumterhelést érzékel az előtte elhaladó tubuláris folyadékban, akkor az érzékelő szervben elindul egy bonyolult folyamat, amelynek végeredményeként az afferens arteriola összehúzódik, nő az ellenállása, és a GFR, illetve a disztális tubuláris ozmotikus/nátriumterhelés csökken.

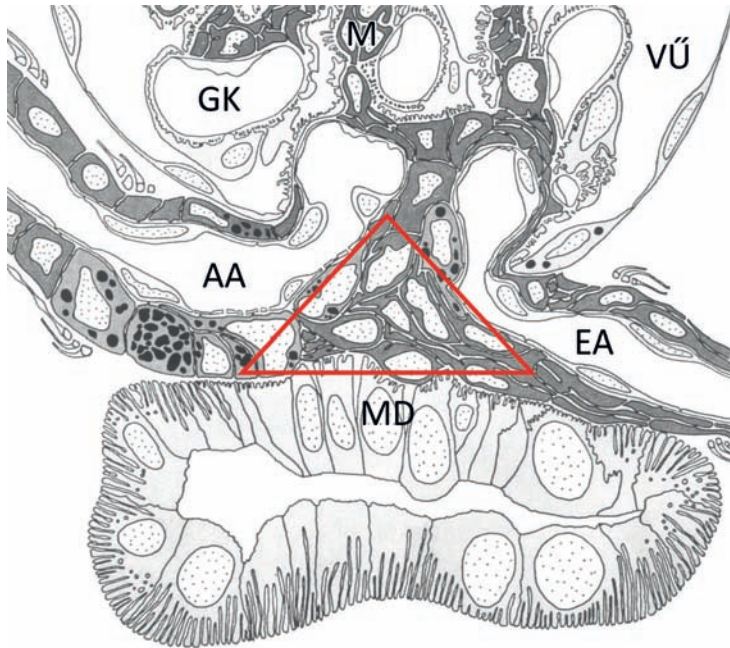
Thurau, aki többek között a Magyar Tudományos Akadémiának is tiszteletbeli tagja, és személyesen jól ismerte Hársingot, illetve idevonatkozó munkáit – amelyről szóló publikációkat többször kézbe is kapta – nem akarta megosztani a „dicsőséget”. Sohasem hivatkozott az őt 7 évvel megelőző, a „*vasfüggönyön túl*” dolgozó Hársing és munkatársai által az Acta Physiologica Hungarica-ban közölt munkákra. Áttörést jelentett, amikor több mint 30 évvel később a 90-es évek elején Hársing 1957-es cikkeinek másolatát a világ mintegy félszáz, e témával foglalkozó laboratóriumának megküldtem. A következő évben a washingtoni tubuloglomeruláris feedback mechanizmus szimpóziumot az elnök, L.G. Navar (USA, Birmingham, Alabama) már a következőképpen nyitotta meg: „*Ahogy Hársing és munkatársai 1957-ben Budapesten felismerték és bizonyították...*”

## **A juxtaglomeruláris apparátus felépítése és működése**

A juxtaglomeruláris apparátus (JGA) a disztális tubulus speciális sejtcsoportjából, a macula densából (MD), az afferens arteriola (AA) renintermelő granuláris vagy epithelioid sejteiből, a Goormaghtigh-sejtekből (extraglomeruláris mezangium vagy lacis) és az efferens arteriolának (EA) a területet határoló szakaszából áll (17, 18) (2. ábra).

A macula densa a kortikális, vastag, felszálló tubulus specializálódott sejtcsoportja, amely a tubulusnak és a hozzátartozó nephron afferens és efferens arteriolájának érintkezési helyén található. A macula densa sejteinek bazális része döntő többségben az extraglomeruláris sejtek felé néz. Kisebbik és változó nagyságú része az afferens és efferens arteriolát érinti. A macula densa és a Goormaghtigh-sejtek között nem mutatnak ki közvetlen kapcsolatot. A macula densa sejteji felépítésükben, biokémiai aktivitásukban és működésükben is különböznek a környező tubulussejtektől. Magasabbak, és a luminalis felszínüket nem fedi Tamm–Horsfall-fehérje, de mikrobolyhok borítják. A macula densa sejtek között „gap junction”-ok találhatók, éppen úgy, mint a többi disztális tubuláris sejt között. Ellentétben a környező tubuláris sejtekkel, nem adnak egymásba nyúló kitüremkedéseket, kivéve a bazális részükön. Így a MD sejtek közötti intercelluláris tér többé-kevésbé közvetlen összeköttetést biztosít a tubuláris üreg és az extraglomeruláris interstícium között (19). Ugyanakkor a laterális sejtmembránon bolyhokat képez, amelyek nemritkán érintkeznek a szomszédos sejt bolyhaival, dezmosomát képezve. Az intercelluláris tér a sejtek működésétől függően változó nagyságú. Korábban megfigyelték, hogy az egyébként a gyűjtőcsatornához hasonló széles intercelluláris rés furosemid hatására például beszűkül (20).

A macula densa sejtek működéséről az elmúlt években sok új információ látott napvilágot és számos kitűnő összefoglaló született, több, ma már Amerikában élő és kutató korábbi munkatársam részvételével (21-24).



**2. ábra: A juxtaglomeruláris apparátus**

Ebben a metszési síkban úgy tűnik, mintha az afferens arteriola (AA), az efferens arteriola (EA) és a disztális tubulus, illetve a macula densa (MD) által határolt extraglomeruláris mezangiális sejtek területe a környezetétől szigorúan elzárta lenne. Ezt jelzi a piros háromszög. Ebből azonban nem következik, hogy az extraglomeruláris kúp alakú térbeli szövetrész valóban a többi síkban is független a környező renális interstíciumtól. GK: glomeruláris kapilláris, M: mezangium, VÚ: vizeletűr. (Ref. 18)

A macula densa egyik fő feladata a tubulus felszálló, vastag szegmentumában áramló folyadék összetételének, illetve az összetétel változásának követése, érzékelése, illetve ezen keresztül a vese vizeletkiválasztó és vérnyomásreguláló működésének szabályozása. Élettani körülmények között az úgynevezett effektív glomeruláris filtrációs nyomás (a membrán két oldalán mérhető hidrosztatikus és az ozmotikus nyomások eredője) növekedése fokozza a vizeletűrbe időegység alatt kikerülő folyadék mennyiségét. Ennek következtében a folyadék áramlási sebessége nő a tubulusban, és csökken az úgynevezett „kontaktidő”, illetve relatíve a reabszorpció, azaz a tubulusból aktív mechanizmussal és/vagy passzívan visszakerülő anyag mennyisége. Ez a tubuláris folyadék NaCl, illetve ozmoláris koncentrációjának növekedéséhez vezet, ami a macula densa apikális felszínén elhelyezkedő  $1\text{Na}^+-1\text{K}^+-2\text{Cl}^-$  kotranszporter, a  $\text{H}^+/\text{Na}^+-\text{K}^+$  antiporter, a  $\text{K}^+$ -csatorna és a  $\text{Na}^+-\text{H}^+$  antiporter aktivitásának befolyásolása révén hat a macula densa sejtekből a környező sejtek felé kiáramló, anyagukat tekintve még ma is kutatott, biztosan eddig nem azonosított szignálmolekulákra (21-26). Eredetileg az angiotenzinről feltételezték, hogy jelátvivő molekula, ma már azonban csak moduláló szerepet tulajdonítanak a lokálisan jelenlevő angiotenzinnek (26). Később az adenzin, az ATP, illetve az arachidon sav és bomlástermékeinek fontosságát mutatták ki (21-23). Az ATP szerepét elsősorban az afferens arteriola átmérőjének szűkítésében és következményes GFR csökkenésben bizonyították. Az afferens arteriola átmérőjének „finomhangolásában”, a túlzott afferens

arterioláris vazokonstrikció megelőzésében a macula densa sejtek által termelt NO játszik fő szerepet (27-30). A nemrég leírt bazolaterális PGE<sub>2</sub>-felszabadulás a juxtaglomeruláris sejtek renin-szekréciójának fokozása révén vesz részt a folyamatban.

Legújabban kimutatták, hogy a tubulusok falát borító epithel sejtek üregi felszínén egy-egy csilló (cilia) található. Ez alól a MD sejtek sem kivételek. Valószínű, hogy a MD ciliái, mechanoreceptorként érzékelve a tubuláris áramlást, szerepet játszanak a tubuloglomeruláris feedback mechanizmus aktivációjában. Ennek bizonyítására jelenleg folynak kísérletek Peti-Peterdi János laboratóriumában a Dél-Kaliforniai Egyetemen, ahol a Péterfi és Okkels által 1929-ben végzett kísérleteket ismétlik, csak nem izolált béka glomerulus-juxtaglomeruláris apparátus preparátumán, hanem egérén, és olyan nagyteljesítményű, modern képalkotó technikák alkalmazásával, amelyek segítségével nemcsak az afferens arteriola összehúzódását, de az intracelluláris kalcium felszabadulást és a ciliumokat is vizualizálni lehet (31).

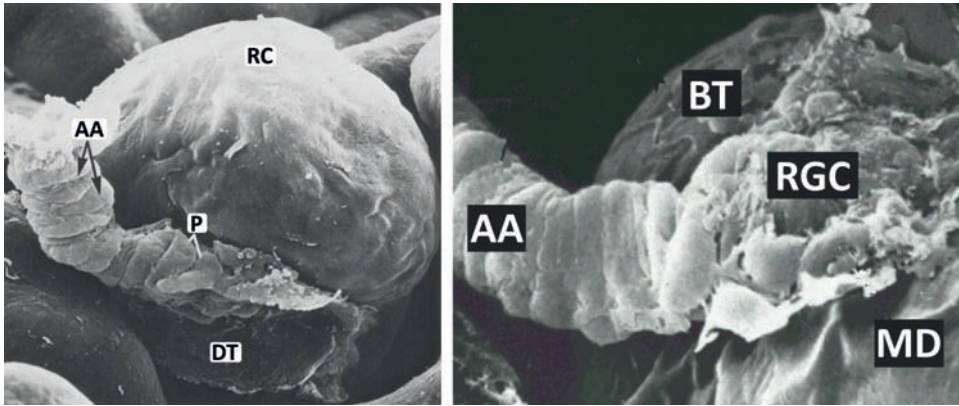
A világon számos kutatólaboratórium foglalkozik jelenleg is azzal, hogy feltárják, hogy a tubuláris folyadékáramlási sebesség, a tubuláris ozmolalitás változás, a következményes macula densa sejtterefogat változás, valamint a macula densa sejtek környékén található tubuláris sejtek sejtterefogat és ionháztartás változásai hogyan, és pontosan milyen jelátviteli úton keresztül befolyásolják a tubuloglomeruláris feedback mechanizmust, az afferens arteriola ellenállás változását és a reninkiráramlást.

A JGA-t, mint működési egységet tágabban is lehet értelmezni. A már részletezett morfológiai jellegzetességeken kívül például Barajas és mtsai megerősítették Golgi korai megfigyelését, hogy a disztális tubulus egyik szakasza általában szorosan kapcsolódik az afferens arteriolához (32). Ezen a területen a tubulussejtek kallikreint is tartalmaznak. Az érszűkítő hatású renin-angiotenzin és az értágító kallikrein-kinin rendszerek e közeli térbeli elhelyezkedésének funkcionális jelentősége lehet.

### *Az afferens arteriola felépítésben és működésben eltérő két szakasza*

A juxtaglomeruláris granuláris sejtek az afferens arteriola disztális szakaszán, a simaizomsejteket felváltva, csoportosan helyezkednek el (3. ábra). A sejtek száma felnőtt emberben, alapállapotban alig néhány (általában 4–6), de ez a renin-angiotenzin rendszer állapotától függően változik (33, 34). Hosszan tartó szomjazás, nátriumhiányos táplálék, vagy a renin-angiotenzin rendszer hatását gátló gyógyszerek (angiotenzin konvertáló enzimblokkoló (CEI), angiotenzin II receptorgátló) szedésének hatására a simaizomsejtek renin-granulumot tartalmazó sejtekké alakulnak. Az átalakulás során a sejtben egyre több renin granulum jelenik meg. Kezdetben a miozinstok és kötőhelyeik maradékai együtt fordulnak elő a granulumokkal. A teljesen érett granulált sejtekben immunhisztokémiai módszerrel miozint nem tudunk kimutatni (17, 33, 35, 36).

A renin tartalmú sejtek száma az egyedfejlődés során is jelentősen változik. Születéskor mind az emberben, mind a kísérleti emlősállatokban a renin tartalmú sejtek száma igen magas. Az afferens arteriola gyakran teljes hosszában renin-pozitivitást mutat, amely az idő múltával gyorsan csökken (36).



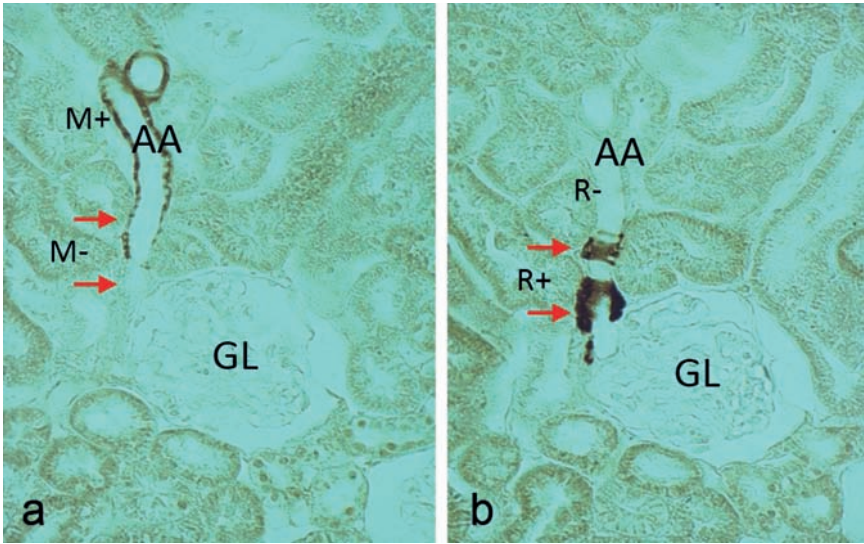
**3. ábra: Az afferens arteriola (AA) és a juxtaglomeruláris szakasza, és a juxtaglomeruláris apparátus úgynevezett macerált készítménye**

Jól láthatók az arteriola proximális részét alkotó, gyűrű alakú simaizomsejtek, illetve az ezeket juxtaglomerulárisan felváltó, eltérő formájú renin-granulált sejtek (RGC). Jobb oldalon az AA és a RGC nagyított képe. RC: glomerulus, BT: Bownan-tok, P: pericita, DT: disztális tubulus, MD: macula densa (SEM) (Ref. 59).

Méréseink szerint az afferens arteriola renin-pozitív/miozin-negatív szakaszának hossza az egyes nephronokban különböző (34). Alapállapotban, patkányban ez mintegy 30–50  $\mu\text{m}$  a glomerulustól az áramlással ellentétes irányba mérve. Erős reninszekréciónál azonban e hossz akár 120–140  $\mu\text{m}$  is lehet. Hogy a renin-pozitív sejtekben összehúzódni képes rostok találhatók-e, abban a kutatók nem értenek egyet. Kísérleteinkben kimutattuk, hogy a sejtekben a renin granulumok számának növekedésével arányosan csökken a miozin festődés, illetve, hogy a teljesen átalakult sejtekben már nem látható miozin pozitivitás (33) (4. ábra). A teljesen érett, kifejlődött epithelioid sejtekben már hely sem jut az összehúzódásra képes rostoknak, hiszen a granulumok teljes mértékben kitöltik a sejt plazmát. Ezért jogosnak tűnik a feltételezés, hogy ezek, a granulumokkal teli és a simaizomsejtekre jellemző szabályos gyűrű alakú formájukat elvesztő sejtek, a vaszkuláris ellenállás szabályozásában nem játszhatnak az afferens arteriola miozin-pozitív/renin-negatív szakaszával összevethető mértékű szerepet. Izolált glomeruláris-juxtaglomeruláris apparátuson konfokális mikroszkóppal nyomkövetve a MD ingerlésekor létrejövő afferens arterioláris intracelluláris kalcium felszabadulást és a következményes vazokonstriktiót, jól megfigyelhető, hogy az arteriola disztális szakaszán, a glomerulushoz közel nincs egységes aktiválódás, sejtösszehúzódás.

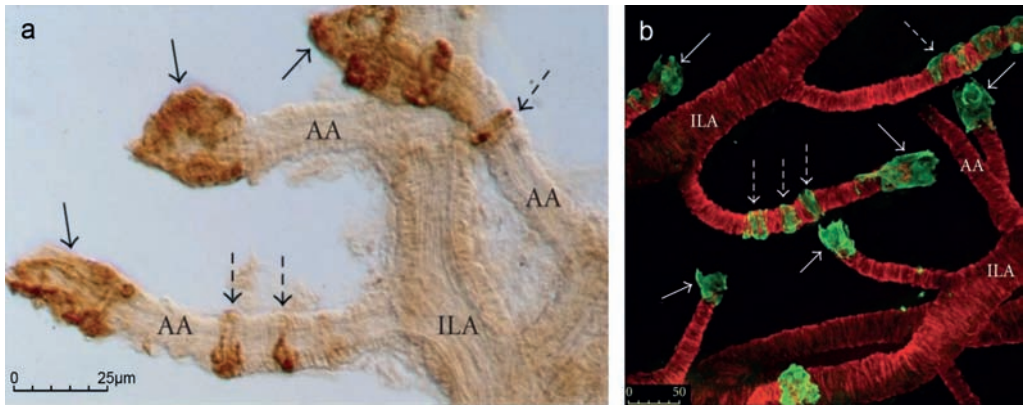
Az immunfestett szövetpreparátumon (4. ábra) és a Casellas-féle ér preparátumán is látható a renin-tartalmú és a simaizom tartalmú szegmensek szakaszos elhelyezkedése (37) (5. ábra).

A Casellas féle juxtamedulláris nephron preparátumon fénymikroszkóppal vizsgálva korábban gyakran leírták összehúzódást az afferens arteriola disztális szakaszán is (38). Ezek a vizsgálatok megerősítik azt az elképzelést, hogy az intraglomeruláris mezangiális sejtek egy körülírt csoportja – az ér glomerulusba lépésénél paraarterioláris/gyűrű alakú



**4 ábra: Az ábrán az afferens arteriola (AA) és a glomerulus (GL) látható (patkány vese, stimulált renin-angiotenzin rendszer)**

Ugyanazon nehrón vékonymetszetein különböző immunfestés történt: a) miozin (M), b) renin (R). Jól látható, hogy az arteriola proximális része miozin-pozitív (M+), a disztális pedig renin-pozitív (R+) Ugyanazon szakasz nem tartalmazza mind a két festéket GL: glomerulus, M-: miozin-negatív, R-: renin-negatív (Ref. 34).

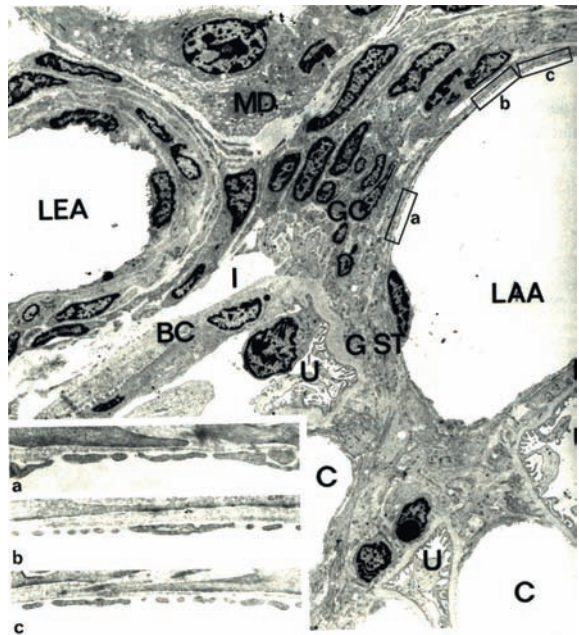


**5. ábra. Renin elhelyezkedése az afferens arteriolában**

Jól látszik, hogy patkány vese izolált afferens arterioláiban (AA) a captopril kezelésre fokozott mértékben megjelenő renin (a: barna, b: zöld) elhelyezkedése jellegzetes. Az arteriolák disztális végén juxtaglomerulárisan halmozott (folyamatos vonalú nyilak), proximálisan gyűrűszerű (szaggatott vonalú nyilak). ILA: interlobuláris artéria (Ref. 37).

**6. ábra: Patkány juxtaglomeruláris apparátus elektronmikroszkópos képe**

Az afferens arteriola extraglomeruláris mezangiális sejtek felé néző endothel-jének kinagyított részein (a, b, c) meglepő módon a glomeruláris kapillárisokra emlékeztető fenesztráció látszik. MD: macula densa, LEA: efferens arteriola lumene, LAA: afferens arteriola lumene, I: intersticiális tér, BC: Bowman-tok, GST: glomeruláris szár, U: vizeletúr, GO: Goormaghtigh-sejtek (extraglomeruláris mezangium) (Ref. 39).



ban elhelyezkedve – résztvesz az ellenállás változtatásában, és így a glomeruláris nyomás szabályozásában.

A granulás sejtek számos nyúlvánnyal rendelkeznek, és a sejtek, illetve nyúlványaik között gap junctionok találhatóak, tehát ugyanolyan módon kapcsolódnak a környező sejtekhez, mint a simaizomsejtek és a Goormaghtigh-sejtek (17, 33).

Megfigyeléseink szerint az afferens arteriola disztális szakaszát fenesztrált endothel borítja (39-41) (6. ábra). Ez a fenesztráció formáját és átmérőjét tekintve megfelel a glomeruláris kapillárisban találhatóak. Működéséről kimutattuk, hogy a ferritin szemcsék a normális körülményekre jellemző jelentős hidrosztatikus nyomásgradiensnek megfelelően az afferens arteriolából másodperceken belül átjutnak e pórusokon, és megjelennek a JGA intersticiumban (42). Ezzel megdőlt az a korábbi nézet, hogy a sem vér-, sem nyirok-kapillárisokat nem tartalmazó JGA intersticiuma zárt, lassú folyadékcsere-lődésű terület.

Az endotheliális fenesztráció szerepet játszik a glomeruláris véráramlást szabályozó mechanizmusban (lásd később). Befolyásolja a renin szekréció folyamatát is, hiszen közvetlen összeköttetést biztosít a granulált sejtek és a plazma között.

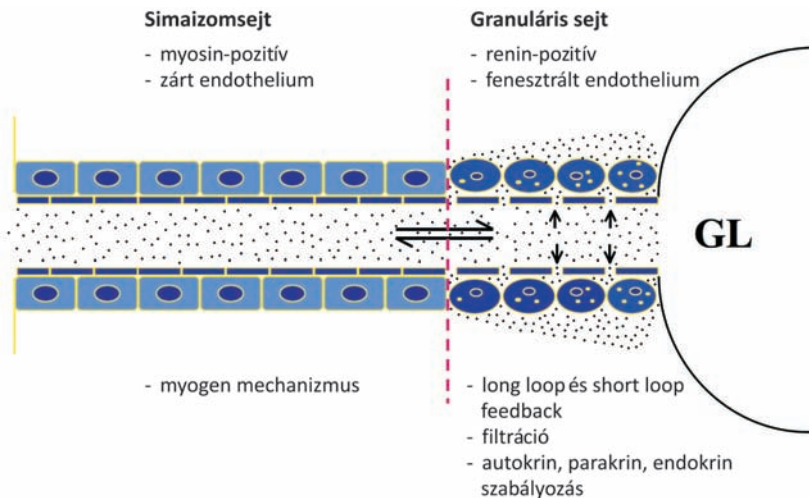
Az extraglomeruláris mezangiális sejtek az afferens és az efferens arteriola, és a macula densa közötti területen találhatóak. Jellemző rájuk a rendkívül kiterjedt nyúlványrendszer, amelynek következtében a sejtek igen nagy felülettel rendelkeznek (43). A nyúlványok és a sejtek között igen gyakoriak a gap junctionok. A sejtekről elhelyezkedésük miatt feltételezik, hogy részei a tubuloglomeruláris feedback mechanizmusnak, és részt vesznek a macula densától az effektor sejtekig (az afferens arteriola simaizomrétegéig) terjedő jelátvitelben.

A JGA beidegzését kiterjedten tanulmányozták (44, 45). Az arteriolákat a terminális idegvégződések sűrű hálójá veszi körül. Különösen érvényes ez az afferens arteriolára, ahol a szimpatikus rostok közismerten szerepet játszanak a granuláris sejtek reninszekréciójának szabályozásában. A macula densa sejtek többsége nem kerül kapcsolatba idegvégződéssel, a Goormaghtigh-sejtek területén pedig idegvégződést egyáltalán nem mutattak ki (16).

Az afferens arteriola tehát nem egységes szerkezetű ér. Amíg a proximális szakasza gyűrű alakú miozin tartalmú sejteket tartalmaz, amelyet zárt rétegben fenesztrációt nem tartalmazó endothel sejt borít, addig a disztális szakaszon, változó hosszúságban, miozint nem tartalmazó renin-pozitív (granuláris) sejtek találhatóak, amelyeket fenesztrált (permeabilis) endothelium fed (7. ábra).

### *A glomerulus és felépítésének újabban felismert sajátosságai*

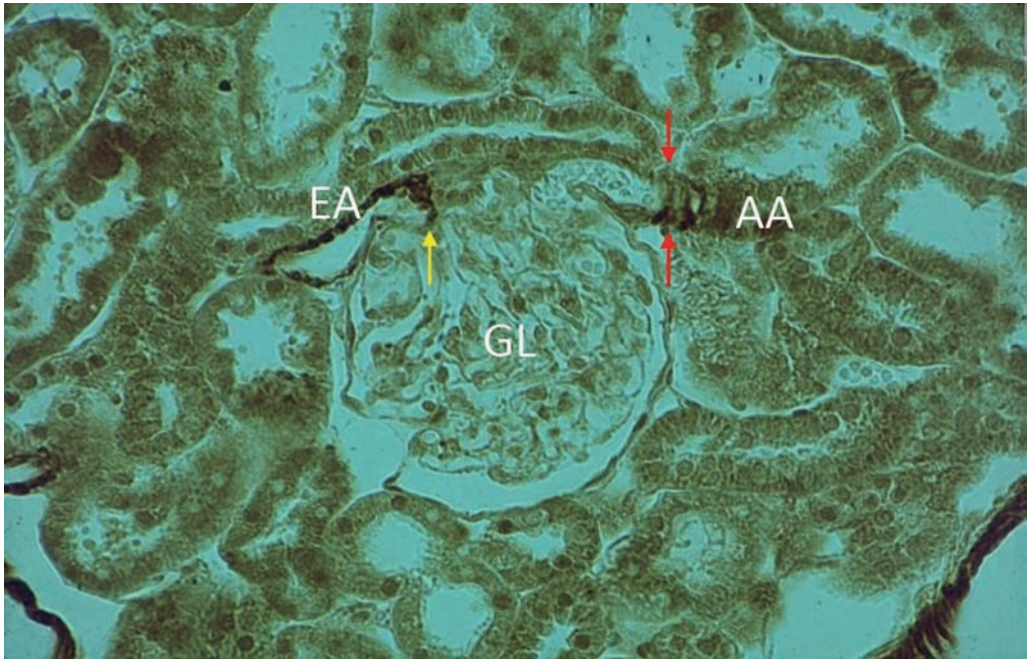
A glomerulus egy specializálódott mezangiumhoz kötött kapillárisgomolyag, amelyet a tubulus vak tasak formában teljesen körülvesz (19, 20, 46). A vak tasaknak a kapillárisokat fedő epitheliális sejtekből álló rétege, a Bowman-tok viszcerális lemeze. Ez a lemez az afferens arteriola – érgomolyag átmenetnél visszahajlik, és úgynevezett parietális lemezt képezve befedi a glomerulust, majd a proximális tubulusban folytatódik. A parietális és a viszcerális lemez között található a vizeletúr. A gyakorlatilag gömb alakú glomerulus átmérője emberben kb. 200  $\mu\text{m}$ . Az afferens arteriola az ún. vaszkuláris pólusnál éri el a glomerulust, amelyen belül 5–7 alapágra oszlik. Ezek az ágak lebenykét alkotva futnak a glomerulus vizeletpólusa felé. A vizeletpólusnál az efferens kapillárisok (egy vagy ket-



**7. ábra: Az afferens arteriola két különböző szakasza**

Amíg a proximális szakaszt simaizomsejtek és nem fenesztrált endothel jellemzi, addig a disztális szakasz miozint nem tartalmazó granuláris, azaz renin-tartalmú sejtekből áll, amelyet permeábilis, azaz fenesztrált endothelium (nyilak) borít. Az ér üregében lévő vízszintes nyíl a két szakasz változó határvonalát (arányát) jelzi. A fekete szemcsék a ferritin molekulák megoszlását mutatják. Az eltérő felépítettségű érszakaszok működése is különbözik (Ref. 75).





**8. ábra: Az afferens és az efferens arteriolák juxtaglomeruláris szakaszára jellemző myozintartalom összehasonlítása**

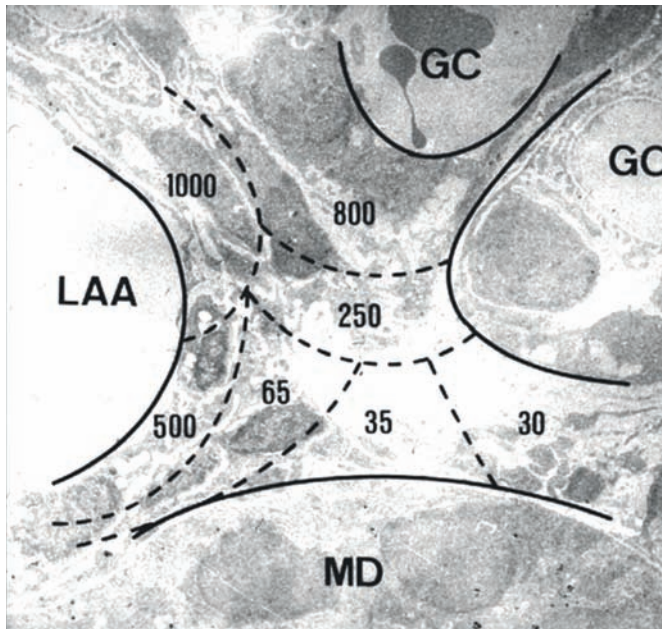
Amíg az afferens arteriola (AA) juxtaglomeruláris vége miozin negatív, az efferens arteriola (EA) már a glomeruluson belüli eredésénél erős festődést mutat, ami jelentős mennyiségű miozinra, azaz összehúzódó képességre utal az alacsony hidrosztatikus nyomású érben. (GL) glomerulus (Taugner, R.).

tő) visszafordulva egyesülnek, és végül egyetlen efferens arteriolát képezve elhagyják a glomerulust. Feltűnő, hogy amíg az afferens arteriola glomerulushoz közeli, illetve glomeruluson belüli szakaszán alig, vagy egyáltalán nem látható miozin pozitivitás, addig a kimenő efferens arteriola fala vastag és erős miozin festődést mutat. Ennek, a már korábban is megfigyelt szinte gyűrű, „párna”-szerű képletnek a hemodinamikai szabályozásban betöltött szerepe még ma sem tisztázott (47) (8. ábra). Az érlebenykéken belül, illetve között, számos anasztomózis található. A lebenyekék vázát a mezangium adja, amely a bejövő afferens és a kimenő efferens arteriola között futva (glomerulusszár) elhagyja a glomerulust, és a juxtaglomeruláris apparátus extraglomeruláris mezangiumát képezi.

A kapillárisokat bazális membrán veszi körül, kivéve ott, ahol a mezangium érintkezik a kapillárisal, legtöbbször az endothelsejt magjánál lévő részen. A mezangiális sejtek szabálytalan formájú, nyúlványszerű részekon kontraktilis elemeket tartalmazó, fagocitózisra és pinocitózisra képes sejtek. A mezangiális sejtek között úgynevezett mezangiális mátrix található, amely sok fibronektint és kevesebb laminint tartalmaz (19). A mezangium nephritisekben betöltött patogenetikai szerepét régóta vizsgálják. Ennek részeként kimutatták, hogy a mezangiális sejtek felveszik a keringésbe került nyomjelző dózisu ferritin partikulumokat, és sejtről-sejtre adogatva eljuttatják az extraglomeruláris mezangium területére (48, 49). E vizsgálatokban feltételezték egy elektronmikroszkóppal

azonosított mezangiális csatornarendszer létezését is, amely az ellenanyagok (IgG, IgA) mozgásteréül is szolgálna. E krónikus vizsgálatokban a ferritin kijutása a glomerulusból az extraglomeruláris térbe igen hosszú ideig tartott. Az extraglomeruláris maximális ferritin koncentráció patkányban a beadást követő 14. napon, míg egérben a 3. napon volt megfigyelhető. Saját vizsgálatainkban a nyomjelző dózisu ferritint a folyadékáramlás kimutatására használtuk. Megfigyeltük, hogy a ferritin részecskék a veseerek feletti aortába történő beadás után 15 perc múlva leölt állatokban már megtalálhatók az extraglomeruláris mezangium interstíciumában. A szemcsék megjelenésének, illetve elhelyezkedésének mintázatából és abszolút számából arra következtettünk, hogy a glomerulusból a mezangiális fán keresztül jelentős mennyiségű folyadékáramlás történik (42), (9. ábra és 10. ábra).

Az epithelsejtek, az elhelyezkedéstől függően, jellegzetes morfológiai sajátosságokkal rendelkeznek. A vizcerális podociták – amelyek az utóbbi évek egyik legjobban kutatott vese-sejt típusai – mag körüli része benyúlik a vizeletürbe, míg a sejt hosszú nyúlványai körülölelik a kapillárisokat. Az elsődleges nyúlványok ún. másodlagos nyúlványokat (lábnyúlványokat) bocsátanak ki, amelyek a kapilláris hosszanti tengelye irányában rendeződnek és interdigitalizálódnak. A köztük levő rést, amelynek hossza 300–500 nm, szélessége 20–30 nm, filtrációs résnek nevezzük. Ezek a rések egy kb.



**9. ábra: Az aortába adott neutralizált nyomjelző dózisu ferritin szemcsék megoszlása a juxta-glomeruláris apparátus interstíciumában a beadást követő 15. percben**

Az azonos szemcsesűrűségű területeket fekete vonalak határolják. A számok az adott területen található ferritin részecskék tényleges mennyiségét jelzik. Ezek megszámlálása az elektronmikroszkópos képek felnagyított fotóin szabad szemmel történt. Jól érzékelhető, hogy a JGA interstíciumába a ferritin az afferens arteriolából és a glomerulusból érkezik LAA: afferens arteriola lumene, GC: glomerularis kapillaris, MD: macula densa (Ref. 42).

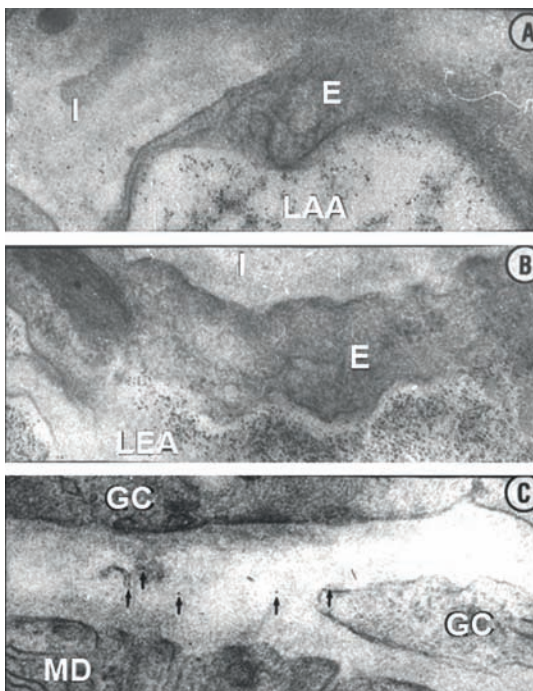
**10. ábra: A ferritin szemcsék megoszlása az afferens, az efferens arteriolában és a JGA területén**

A) Az afferens arteriola interstíciumában jelentős mennyiségű ferritin mutatható ki.

B) Az efferens arteriola lumenében hasonlóan óriási mennyiségű ferritin szemcsé látható, de az interstíciumban egyetlenegy sem található.

C) A JGA interstíciumában a MD sejtekhez közeli területre eljutott ferritin szemcséket nyilak jelzik.

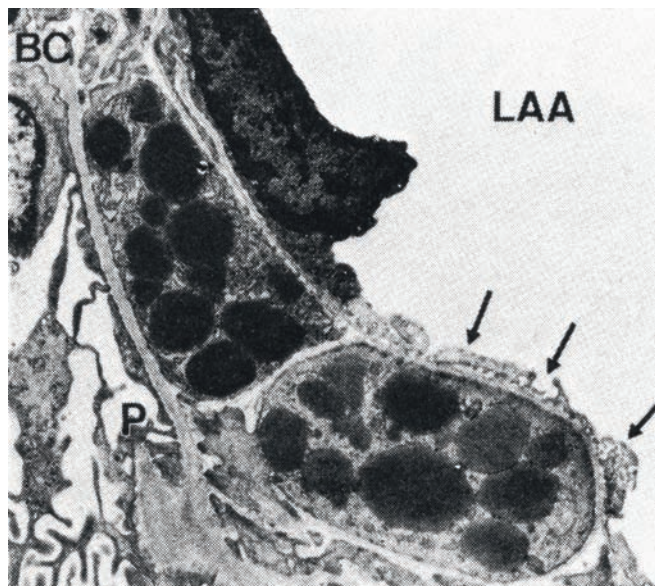
I: interstícium, E: endothelium, LAA: afferens arteriola ürege, LEA: efferens arteriola ürege, GC: Goormaghtigh-sejtek



4 nm vastag diafragmával zártak. A diafragma kétoldról, a lábnyúlványtól indul ki, és középen megvastagodásként találkozik, mintegy cipzár benyomását keltve (20, 46). Az ismeretek e terület működésének szabályzásáról az utóbbi években robbanásszerűen növekedtek (50-53).

A podociták vizeletür felé néző felszínét, mintegy 15–80 nm vastagságban, az ún. vastag glikokalix fedi, amelyben szialinsav-csoportokat sikerült kimutatni. A bevonat a diafragma felett is megtalálható. Feltételezhető, hogy a glomeruláris szűrőfunkció szabályzásában az eddigi elképzeléseinkhez képest sokkal nagyobb a jelentősége. E réteg jelentős  $\text{Na}^+$ -kötő képessége és változó fiziko-kémiai sajátossága következtében számos kutató figyelmének középpontjába került. Lehet, hogy a magas só diéta vérnyomást növelő és vesét károsító hatásának is ez az egyik támadáspontja. A megfigyelés új hipertónia mechanizmus lehetőségét is felveti (54). A podociták igen fejlett Golgi-apparátust, sima és durva felszínű endoplazmatikus retikulumot, sok lizoszómát és mitokondriumot tartalmaznak (46, 55, 56). Legújabban a podociták által lezárt, elkülönült teret, annak szabályozását, sőt a viscerális podociták in vivo mobilitását is sikerült láthatóvá tenni a kutatóknak (57, 58).

Saját morfológiai eredményeinkből kitűnik, hogy a Bowman-tok parietális lemeze azon a területen, ahol az afferens arteriola renin-granulált sejtjeit fedi, úgy viselkedik, mint a viscerális lemez, azaz a lemezt fedő epithel sejtek, ahelyett, hogy szorosan zárt lapos réteget képeznének, lábnyúlványokat és filtrációs réseket mutatnak (11. ábra). Meglepő megfigyelésünk az is, hogy a vizeletür rendszeresen betüremkedik az extraglomeruláris mezangiumba (12. ábra). Ilyenkor a vizeletür és az extraglomeruláris mezangiális sejtek



**11. ábra: Renintartalmú granulált sejteket határoló struktúrák**

A granuláris sejteket az afferens arteriola (LAA) felől fenestrált endothelium (nyilak), a glomerulus ürege felől a lábnyúlványokat és filtrációs réseket képező parietális podociták (P) határolják. Ez a sajátos struktúra arra utal, hogy a granuláris sejtek felszíne a glomeruláris filtrátummal és a keringő plazmával is közvetlenül érintkezik (Ref. 17).

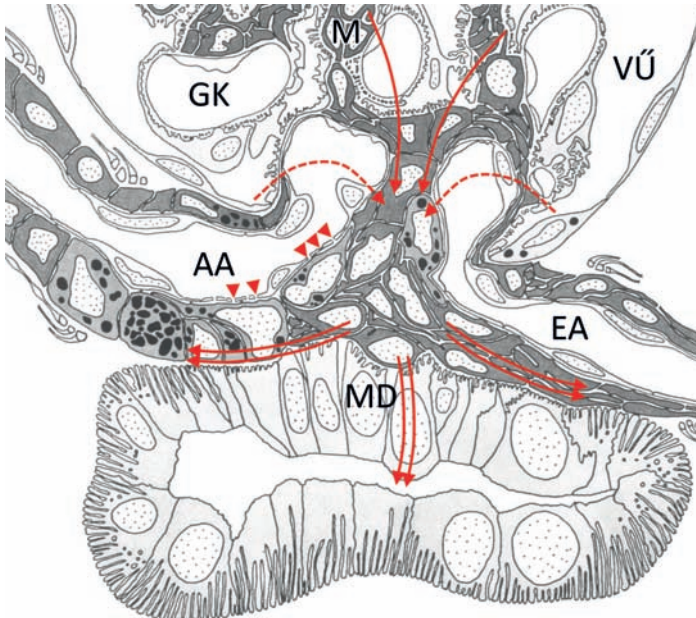
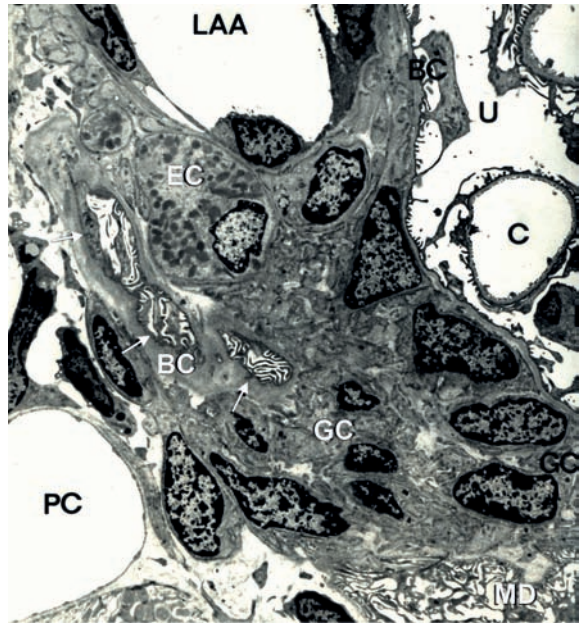
között ugyancsak lábnyúlványokat és filtrációs réseket találunk, jelezve, hogy ha a két tér között nyomáskülönbség áll fenn, akkor folyadékáramlásra kerülhet sor (18, 34, 35, 36, 39, 40, 42). A juxtaglomeruláris apparátus intersticiális terében uralkodó hidrosztatikus nyomást nem ismerjük, de feltételezhetjük, hogy közel áll a veseszövet állományában mért 5-6 Hgmm-es nyomáshoz. Ezzel szemben a vizeletürben jelentős, mintegy 20 Hgmm-es nyomás uralkodik. Ehhez még hozzájárul az interstícium és a vizeletür ozmotikus koncentrációjának különbségéből (kb. 18 Hgmm, 8 Hgmm) fakadó szívó erő (kb. 10 Hgmm) is (59). Ezért joggal feltételezhetjük, hogy a glomerulusból a JGA intersticiumába nemcsak a mezangiális „fán” keresztül, de a vizeletürből is kerül folyadék (13. ábra).

## **A juxtaglomeruláris apparátus szerepe a renális hemodinamika szabályozásában**

A JGA az intrarenális és a keringő renin-angiotenzin rendszer fő anatómiai alapja, és a só- és folyadékháztartás, illetve a szisztémás vérnyomás szabályozás egyik központja. A JGA alapvető szerepet játszik a glomeruláris és peritubuláris kapillárisok hidrosztatikus nyomásának, a glomeruláris filtrációnak és véráramlásnak az optimalizálásában (17, 18, 60).

**12. ábra: Juxtaglomerularis apparatus extraglomerularis mezangiális területe**

Patkány extraglomerularis mezangiális sejtei között látható a vizeletűr betüremkedése, melynek basalis lemezét lábnyúlványokat tartalmazó podociták fedik (nyíl). A szerkezet arra utal, hogy megfelelő nyomás gradiens esetén a vizeletűrből folyadék kerülhet az extraglomerularis mezangiális térbe (GC). LAA: afferens arteriola lumene, C: glomerularis kapillaris, U: vizeletűr, PC: peritubularis kapillaris, BC: Bowman-tok, EC: epithelioid sejt (Ref. 39).



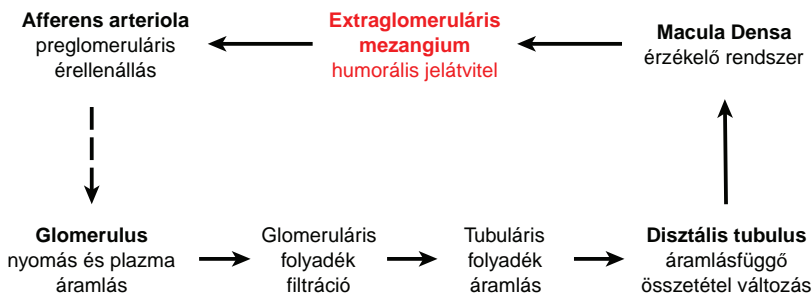
**13. ábra: A juxtaglomerularis apparatus intersticiumának folyadék háztartása**

A piros nyilak a glomerulusból, a szaggatott nyilak a vizeletűrből, a nyílhegyek pedig az arteriolából érkező folyadékot jelzik. A kettős vonalú nyilak renalis intersticium felé elvezető áramlás irányát mutatják. GK: glomerularis kapillaris, AA: afferens arteriola, EA: efferens arteriola, M: glomerularis mezangium, MD: macula densa, VÚ: vizelet űr

Az intrarenális szabályzó mechanizmusok feladata, hogy az extrarenális hemodinamikai változásokhoz alkalmazkodva, a renális vaszkuláris rezisztencia változtatásával az intrarenális hemodinamikai viszonyokat a só- és folyadékháztartás, valamint a szisztémás nyomás aktuális állapotának és pillanatnyi feladatának megfelelően változtassa, beállítsa. A vesén belüli mechanizmusok az érfali simaizomsejtek és az endothel, az epitheliális elemek és mezangiális sejtek térben és időben összehangolt, bonyolult interakciói. A renális ellenállásváltozás az extrarenális eredetű nyomás- és áramlásváltozás ellen hatva stabilizálja a glomeruláris filtrációs rátát és a renális véráramlást. E mechanizmusok összessége „a vese autoregulációja”-ként ismert. A perfúziós nyomás változása során létrejövő arteriola átmérő változása a vese autoregulációjának legtöbbet vizsgált jelensége (60-64). Autoreguláció nem csak az afferens arteriola perfúziós nyomás változásával, de a véna renálisban vagy az uréterben uralkodó nyomás emelkedésével, a plazma kolloid ozmotikus nyomásának emelkedésével is kiváltható (65). A renális érelenállás autoregulatív változásai a vaszkuláris simaizomtónus aktív változásának-változtatásának eredményeként jönnek létre. Az utóbbi idők vizsgálati eredményei szerint az értónus autoregulatív komponensét feszültségfüggő kalciumcsatornák mediálják. Ennek megfelelően a mechanizmus kalciumcsatorna-blokkolókkal befolyásolható (66). A létrejövő átmérőváltozásban két mechanizmus játszik fő szerepet: a miogén és a tubuloglomeruláris feedback mechanizmus.

A miogén-elmélet nem elégséges az autoregulációt érintő minden kérdés megválaszolására (26, 59). Ennek alapján nem érthető többek között az sem, hogy miként igazodik az áramlás (a preglomeruláris arteriolában) a tubulusok metabolikus igényeihez. Ezekre a kérdésekre ad magyarázatot a *tubuloglomeruláris feedback mechanizmus* elmélet, amelyet számos anatómiai megfigyelés alapoz meg. Ezek szerint a vesében léteznek olyan struktúrák, amelyek topográfiai viszonyaiknál fogva ideálisak a disztális tubulus és az afferens arteriola közötti információcserére. A juxtaglomeruláris apparátus különleges helyzeténél fogva megteremti a lehetőséget arra, hogy az arteriola mellett elhelyezkedő macula densa a disztális tubuláris folyadék összetételét érzékelje, és ennek jelét valamilyen módon a környező arterioláknak is továbbadja. Ez a negatív visszacsatoló/jelző rendszer anatómiai alapja, amely minden nephronban működik, és egyensúlyt tarthat fenn a GFR-t (és peritubuláris áramlást) szabályzó hemodinamikai tényezők és a metabolikus oldalról meghatározott tubuláris reabszorpció között (18, 20).

Ha a szervezetben az artériás nyomás emelkedése növeli a vesén átáramló vér mennyiségét, a glomeruláris nyomást és a GFR-t, akkor ennek nyomán átmenetileg nő a tubulusba kerülő folyadék és az oldott anyag mennyisége, és gyorsul a tubuláris áramlás. A gyorsuló áthaladás miatt nő a tubuláris folyadék NaCl-koncentrációja és ozmolalitása. A macula densa sejtei érzékelik az ozmolalitás és/vagy a NaCl koncentráció emelkedését, és az afferens arteriola konstriktóját váltják ki. Ennek eredményeként a vese véráramlás (RBF) és a GFR közelít az eredeti értékhez. Az artériás nyomás csökkenése fordított irányban hat, és az afferens arteriola dilatációját idézi elő. A tubuloglomeruláris feedback hipotézis jól magyarázza azokat a vaszkuláris reakciókat is, amelyeknél a disztális tubuláris folyadék összetételének megváltozása a tubuláris reabszorpció változása következményeként alakul ki (21-23, 26.)



**14. ábra: A klasszikus tubuloglomeruláris (negatív, „long loop”) feedback mechanizmus sémás folyamatábrája**

A glomeruláris filtráció változása számos és bonyolult lépésen keresztül az afferens arteriola ellenállását úgy változtatja, hogy az meggátolja a filtráció további növekedését vagy csökkenését. A pirossal jelzett rész – a korábban nem vizsgált – JGA folyadékgyensúlyának a humorális mediátor koncentrációjára gyakorolt hatására utal.

E mechanizmus klasszikus sémáját mutatja a 14. ábra. Felismerve a szokásos sémás ábrázolási és következőképpen gondolkodási pontatlanságot, ezt az ábrát, illetve a mechanizmus vizsgálatát kiegészítettük a juxtaglomeruláris apparátuson keresztüli humorális jelátvitellel. Ez lehetőséget adott arra, hogy felhívjuk a figyelmet, hogy a humorális mediátor koncentrációja nemcsak a termelődésének nagyságától, de a termelődés helyén végbemenő folyadékmozgástól és -mennyiségtől is függ. Ez utóbbi felveti a JGA intersticiális folyadékháztartás-szabályozásának szerepét, hiszen a JGA intersticiumban jelenlevő folyadék mennyiségének változása alapvetően befolyásolhatja a humorális mediátor pillanatnyi koncentrációját (41).

A tubuloglomeruláris feedback reakciója, illetve érzékenysége változtatható. Az extracelluláris folyadéktér csökkenése az érzékenységet fokozza, míg a folyadéktér expanziója csökkenti azt. Az érzékenység szabályozásának egyik jól ismert mechanizmusa a renin-angiotenzin rendszer aktivációja (26, 67).

A macula densa az érzékelő terület, a Henle-kacs felszálló szárának végénél helyezkedik el. A felszálló vastag tubuláris szakasz a víz számára impermeabilis, és a nátrium reabszorpciója a felszálló szakasz mentén igen aktív. Ennek következtében a macula densa sejtjeit elérő tubuláris folyadék hipotóniás. A felszálló vastag szegmentum transzportfolyamatainak természetéből fakadóan, ha a proximális területen gyorsul az áramlás (növekszik a GFR), a felszálló vastag szegmentumtól disztálisan az áramlás, a nátrium koncentráció és az ozmolalitás is emelkedik. Individuális (szuperficiális, illetve juxtaglomeruláris) nephronok mikroperfúziójával kimutatható, hogy a Henle-kacs lumenális áramlásának fokozódása kiváltja az afferens arteriola konstriktióját és az adott glomerulus filtrációjának csökkenését (68). Ez a kapcsolt áramlás- és ozmolalitás-változás teszi lehetővé, hogy a macula densa érzékelje és továbbítsa a fokozódó folyadékáramlás, azaz a megnövekedett GFR jelét. Ez idő szerint nincs egyetértés abban, hogy a macula densa pontosan melyik oldott anyag (anyagok) koncentrációját érzékeli. A kutatók egy része szerint a szenzor aktivációját valamely meghatározott anyag ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) koncentrációja váltja ki. Mások szerint a feedback válasz nagysága nem a nátrium vagy a

klorid koncentrációjától, hanem az oldott anyagok teljes koncentrációjától (a folyadék ozmolalitásától) függ.

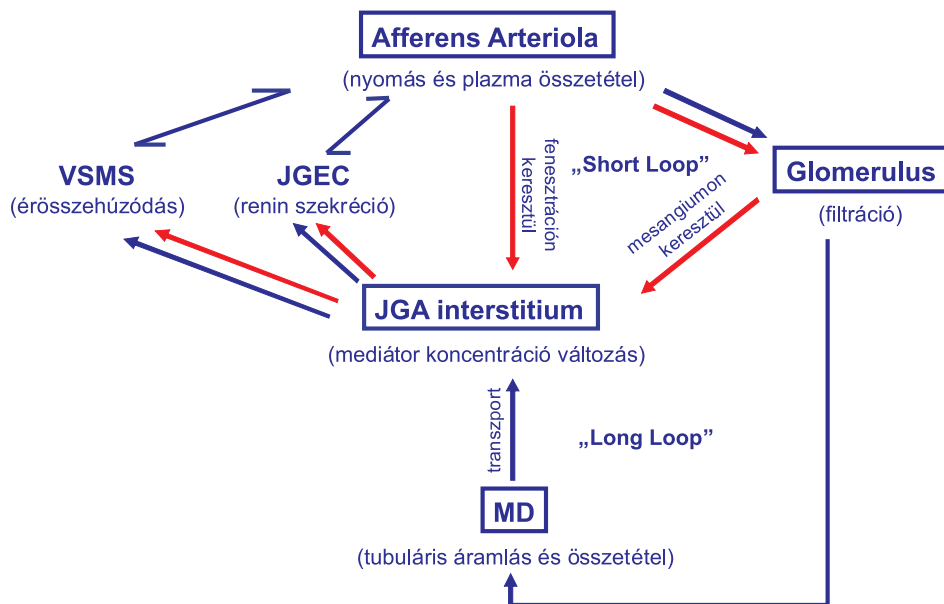
A szenzor aktivációját követő jelátviteli mechanizmusokat intenzíven kutatják. Az utóbbi időben derült fény arra, hogy a macula densa sejtjeiben  $1\text{Na}^+ - 1\text{K}^+ - 2\text{Cl}^-$  csere-mechanizmus működik, amely diuretikumokra (Furosemid) érzékeny, hasonlóan a Henle-kacs felszálló vastag szegmentumához. Úgy tűnik, a macula densa cytosol  $\text{Ca}^{2+}$ -koncentrációjának emelkedése az afferens arteriola vazokonstriktióját váltja ki, míg a macula densa sejtben a cAMP akkumulációja a feedback mechanizmus érzékenységet csökkenti. Lehetséges, hogy a macula densa sejtek valamilyen purinerg (adenozin, ATP) vagy arachidonsav-metabolit fokozott képzésével váltják ki a konstriktiót. Újkeletű megfigyelés, hogy a macula densa sejtjei NO-termelésre képesek. A macula densa sejtek és az érfali simaizomsejt közötti végső transzmitter ismeretlen. A korai vizsgálatok azt sugallták, hogy az effektor szerepét a lokálisan képződő angiotenzin-II tölti be (20). Azóta számos vizsgálat erősítette meg, hogy a renin-angiotenzin rendszer aktivitása modulálja a feedback érzékenységet (26), de közvetlenül nem mediálja a tubuloglomeruláris feedback választ. A teoretikus effektor feltehetően vaszkuláris simaizomsejt-kontrakcióra vezető (purinerg) receptor által mediált kalciumszignált vált ki az afferens arteriolában és valószínűleg az interlobuláris arteriolában is (21-25, 64, 66).

A nemrég kifejlesztett in vitro JGA preparátum lehetővé teszi a JGA környezeti befolyásoktól mentes tanulmányozását. A multifoton lézermikroszkópia alkalmazásával az izolált JGA működését, azaz a tubuloglomeruláris feedback mechanizmust annak teljes térbeli integritásának megőrzése mellett különböző síkokban láthatóvá tehetjük, illetve különböző fluoreszcens festékek alkalmazásával a renin szekréciót, a folyadékok sejtek közötti áramlását, a filtrációt nagyfelbontású időbeli és térbeli nyomonkövetéssel (69). A módszer továbbfejlesztésével nemrég élő állatban is sikerült vizualizálnunk a korábban in vitro tett morfológiai megfigyeléseinket és azok funkcionális következményeit (41). Vizsgálataink igazolták korábbi feltevéseinket, és újabb provokatív eredményekre vezettek.

### *A „short-loop”/vaszkulo-vaszkuláris mechanizmus*

A JGA és az extraglomeruláris mezangium területén sem nyirokerek, sem kapillárisok nem figyelhetők meg (17, 70-74). Ezért feltételezték, hogy az extraglomeruláris mezangium zárt, stabil intersticiális folyadéktérrel rendelkezik, így a tubuloglomeruláris feedback jelátviteléhez ideális feltételt biztosít. Megfigyeléseink szerint azonban az afferens arteriola terminális (a JGA-hoz közeli) szakaszán az endothel fenesztráltságot mutat, csakúgy, mint a glomeruláris vagy a peritubuláris kapillárisok endotheliuma, és ennek megfelelően az endothelium folyadék számára könnyen átjárható (34-36). Mikropunkciós technikával mért mikronyomás adatok szerint az effektív filtrációs nyomás az afferens arteriola lumenéből, illetve a Bowman-tok üregéből kifelé, az extraglomeruláris interstícium felé mutat (59). Ezért folyadékáramlás volt valószínűsíthető a késői afferens arteriola és a Bowman-tok felől a JGA interstíciuma felé. Ez lehetővé teszi, hogy az afferens arteriola hemodinamikai változásai és ennek nyomán a megváltozott intersticiális folyadékáram-





**15. ábra: A „short loop” tubuloglomeruláris feedback és illeszkedése a „klasszikus” tubuloglomeruláris feedback mechanizmushoz**

A „short loop” mechanizmust a vaszkuláris, míg a „long loop” választ a tubuláris folyadékáramlás és összetétel, illetve nyomásváltozás indítja el. Az utóbbi esetben a válasz kialakulása később következik be. Az effektor szár a két mechanizmus esetén közös. VSMS: simaizomszövet; JGEC: juxtaglomeruláris epithel (renin tartalmú) sejt; MD: macula densa (Ref. 18).

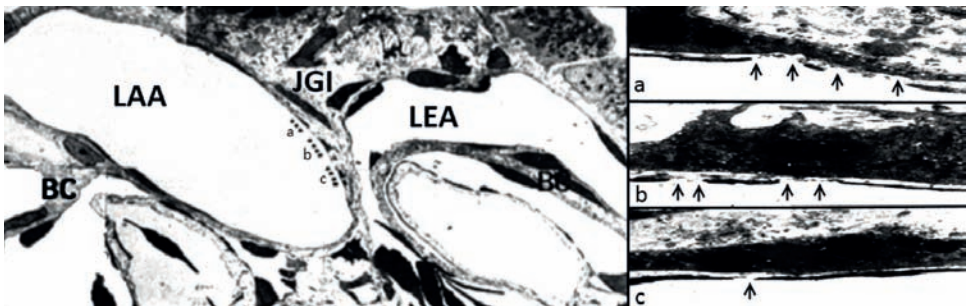
lás/mennyiség módosítsa a tubuloglomeruláris feedback működése közben e területen felszabaduló humorális mediátorának koncentrációját (42). Más szóval a JGA, illetve az extraglomeruláris mezangium intersticiális folyadékterének összetétele mind a disztális tubuláris áramlástól és összetételtől, mind pedig az afferens arteriola hemodinamikai viszonyaitól függ. A két változás összeadódva, együttesen alakítja ki a létrejövő választ, az afferens arteriola kontrakciós állapotának szabályozását. A klasszikus, „long loop” tubuloglomeruláris jelátviteli mechanizmus tehát a „short loop” tubuloglomeruláris mechanizmussal egészül ki, és alkotnak egységes szabályzó rendszert (75) (14–15. ábra). Amíg a klasszikus feedback mechanizmus aktiválódása esetén a tubuláris jel (nyomás, ionösszetétel) változását követően mintegy 15-20 másodperc múlva jön létre az afferens arteriola ellenállás növekedése, a glomeruláris kapilláris nyomás csökkenése, addig a „short loop” feedback mechanizmus esetén a nyomás és az ellenállás változás közötti idő igen rövid, néhány másodperc. Ennek az oka az, hogy effektív filtrációs nyomásváltozás következtében kialakuló folyadékmozgás és mediátorhígulás szinte azonnal létrejön.

A „short loop” feedback mechanizmus létezésének bizonyítása emlősállatban mai eszközeinkkel aligha lehetséges, hiszen ehhez ki kellene mutatnunk, hogy ha az afferens arteriolában változtatjuk például a kolloid ozmotikus nyomást, akkor ennek hatására – szinte azonnal – megváltozik a glomeruláris kapilláris ellenállás. Azonban, ha változtatjuk a kolloid ozmotikus nyomást az afferens arteriolában, úgy következményként az

efferens arteriola kolloid ozmotikus nyomása is változik, illetve az ugyanazt a nephront körülvevő peritubuláris kapillárisokban is változnak a nyomásviszonyok. Ráadásul ismert, hogy a nephron körüli intersticiális ozmotikus nyomás befolyásolja a klasszikus tubuloglomeruláris feedback érzékenységet. Ezért kísérleti emlőállatban nem lehet eldönteni, hogy a létrejött glomeruláris kapilláris ellenállásváltozás kialakulásának mi a mechanizmusa. Létezik azonban egy olyan állat, az amphiuma (halgöte), amelyről korábban bizonyították, hogy rendelkezik a klasszikus feedback mechanizmussal, ugyanakkor az efferens arteriola nem ad kapillárist a szülői nephron köré, hanem közvetlenül torkollik a vénás rendszerbe. Ezen az állaton sikerült kimutatnunk, hogy az afferens arteriola endotheliuma fenesztrált, és az afferens arteriolában az ozmotikus koncentrációváltozás reverzibilis módon megváltoztatja a glomeruláris ellenállást (16. és 17. ábra), bizonyítva, hogy amphiumában működik a „short loop” tubuloglomeruláris vagy a feed forward mechanizmus (18). Hogy vajon ez a mechanizmus emlősben, illetve emberben is így működik-e, azt nem tudjuk, de a morfológiai azonosságok, illetve szabályozási hasonlóságok valószínűsítik; a bizonyítás azonban még várat magára.

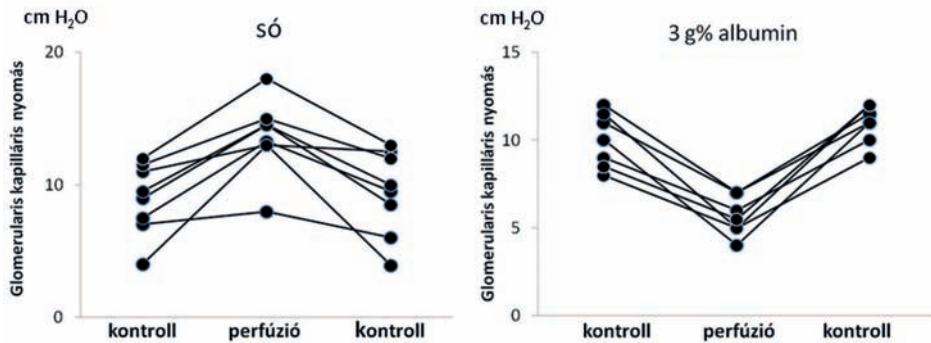
## A juxtaglomeruláris afferens arteriola endotheliumának fenesztrációja

Az endotheliális fenesztráció „felfedezése” a véletlen műve volt. Jelentős mennyiségű mikropunkciós vizsgálat és az intrarenális renin-angiotenzin rendszerre (RAS) vonatkozó érdekes felismerések után érdeklődni kezdtem az intrarenális RAS morfológiája iránt (26, 75-79). Így jutottam a Heidelbergi Egyetemre Roland Taugnerhez, aki akkor a juxtaglomeruláris apparátus legnagyobb morfológiai szakértőjének számított. Ott a tudatlanok kíváncsiságával vettem észre az elektronmikroszkópos képeken azt, amire a mindennapi diagnosztikai munkát végzők korábban még sohasem figyeltek fel, vagy



**16. ábra: A halgöte juxtaglomeruláris apparátusa**

Az afferens arteriola disztális részén az endothel a kísérletes emlőállatokhoz és az emberhez hasonlóan fenesztrált. Ez a megfigyelés, e renális morfológiai sajátosság fejlődésánál az ősi eredetre utal. LAA: afferens arteriola lumene, a, b, c: az AA-t borító és a juxtaglomeruláris interstícium (JGI) fele néző endothelium, amelynek felnagyított képe (jobb oldalt) fenesztrációt mutat (nyilak).



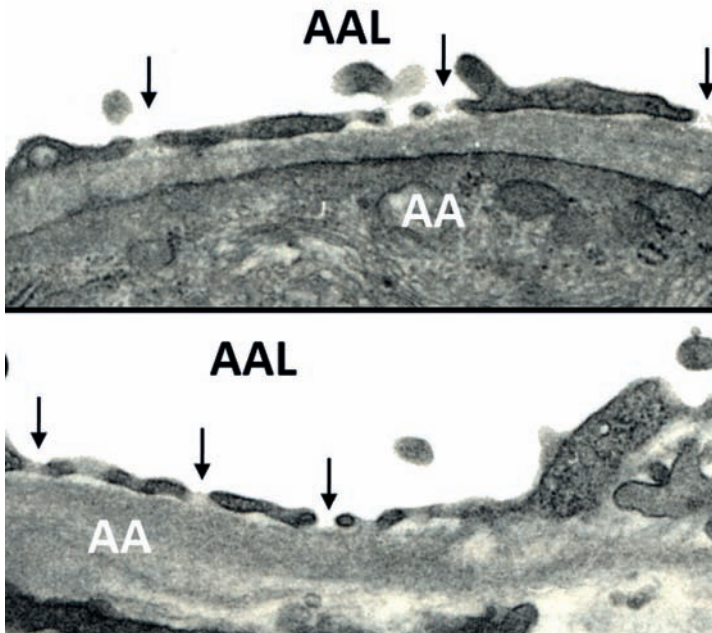
**17. ábra: A „short loop” feedback mechanizmus halgöte vesében**

Az afferens arteriola plazma ozmotikus koncentrációjának változtatása szinte azonnal, reverzibilis módon az afferens arterioláris ellenállás (glomeruláris kapilláris nyomás) eltérését indukálja. A plazma hígítása só infúzióval, a kolloid ozmotikus nyomás változtatása albumin oldatnak mikroperfúziós/punkciós módszerrel közvetlenül a mikroerekbe juttatásával történt.

legalábbis nem írták le. Wilhelm Kriz az egyik leghíresebb, még ma is élő veseanatómus kezdetben nem is akarta elhinni, hogy a fenesztráció valóban létezik. Később azonban nem csak elhitte, de a Nemzetközi Nephrologiai Társaság tokiói kongresszusán tartott felkért előadásomat követően „udvariasságból” a glomeruláris hemodinamikával foglalkozó elismert nemzetközi laboratóriumoknak megküldött egy szép, színes diát a glomerulus anatómiájáról, amelyen már jelezve volt az afferens arteriola fenesztrációja. Számos nemzetközi összejövetelen vettem részt, ahol az előadó levetítette az ábrát megköszönve Kriznek a nagylelkűségét.

Az afferens arteriola endotheliuma a disztális (juxtaglomeruláris) szakaszon különbözik az arteriolát a proximális, azaz a glomerulustól távolabb eső szakaszon bélelő endothelium szerkezetétől (34-36). A juxtaglomeruláris arteriola szakasz endotheliuma nem szorosan záró réteget képez, mint ahogy általában a hormontermelő szervek arterioláiban; a réteg „lyukacsos”, azaz fenesztrált (75) (6. ábra). A fenesztrumok átmérője különböző, és mintegy 50-250 nanométer között változik (18. ábra). A fenesztrumok az epithelioid, illetve az extraglomeruláris mezangiális sejtek felé néznek. Patkányban, alapállapotban a fenesztrált endothelium mintegy 600  $\mu\text{m}^2$ -es területet borít. A pórusok szerkezetük alapján az intraglomeruláris endothelium fenesztrációjához hasonlíthatnak, azaz diafragmával nem rendelkeznek. Ennek megfelelően az afferens arteriola disztális része szerkezetileg megegyezik a glomerulus kapilláris centrolobuláris részének felépítésével (39).

A fenesztrumok előfordulása nem korlátozódik csak egyetlen fajra; ez általános jelenség. A kísérletes emlőállatokon (patkány, mókuscickány, egér) kívül kimutattuk emberben (19. ábra), sőt az amphiumában (halgöte) (16. ábra) is (39-42). A fenesztrumok filogenetikai korai megjelenése, azaz ősi jelenléte funkcionális fontosságra utal. A fenesztrumok szerepet játszhatnak számos élettani és kórélettani folyamatban, mint például a renin szekréció, a renális hemodinamika szabályozása, a gyulladásozó folyamatok, érlelmeszesedés stb. Már morfológiai megjelenésük alapján is feltételezhető, hogy a glomeruláris kapilláris fenesztrációjához hasonlóan rajtuk keresztül folyadék filtráló-

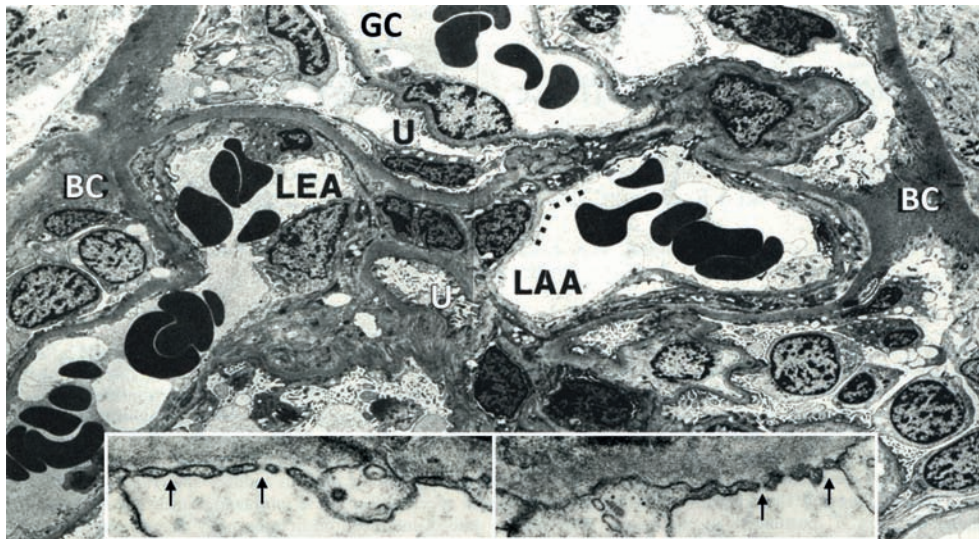


**18. ábra: Patkány és mókuscickány afferens arteriola disztális végét borító fenesztrált endothelium keresztmetszeti elektronmikroszkópos képe**

Jól látszik, hogy a diaphragma nélküli fenesztrumok egyenetlen nagyságúak éppen úgy, mint ahogyan az a glomeruláris kapillárisokra is jellemző. AA: afferens arteriola, AAL: afferens arteriola lumene, a nyilak az egyes fenesztrumokra mutatnak (Ref. 39).

dik. Ezen feltételezést igazoltuk nyomjelző dózisu neutralizált ferritin szemcsék adásával. A ferritin szemcséknek az artéria renálisok feletti aorta szakaszba történő beadását követően 15 perc múlva a szemcséket már ki tudtuk mutatni nem csak a fenesztrált aorta szakasz falának sejt közötti állományában, de a JGA interstíciumában is (9. ábra). Ez utóbbi helyen a szemcsék sűrűségének elhelyezkedése arra utalt, hogy azok nemcsak a fenesztrált endothelen keresztül jutnak a JGA interstíciumába, de a mezangiális sejtek hálózatának („mezangiális fa”) sejt közötti állományán és a glomeruláris száron át is átkerülnek a glomerulusból az extraglomeruláris területre (42). Vizsgálatainkban az efferens arteriolában nem találtunk fenesztrált endothelt, és a ferritin szemcséket sem tudtuk kimutatni az érfalban, illetve az ér körüli szövetben, még akkor sem, ha az ér üregében az afferens arterioláét meghaladó ferritin koncentrációt láttunk (10. ábra).

D. Casellas, az INSERM-ben (Montpellier) dolgozó barátom, nem akarta elhinni a fenesztráció létezését. Ezért egerek (Münich-Wistar) veséjében egyszerű ragasztószalaggal kiszakítva a felszíni glomerulusokat, szkennig elektronmikroszkópia számára hozzáférhetővé tette a JGA apparátust. Vizsgálataival megerősítette eredményeinket, hogy az afferens arteriola disztális szakaszának endotheliuma nem megkülönböztethető a glomeruláris kapilláris belső felszínétől (20. ábra). Ez igen meglepő, hiszen az arteriola a kapillárishoz képest magas nyomású érszakasz (kb. 40-60 Hgmm), amelyre általában nem jellemző a filtrációt lehetővé tevő endothelium, kivéve az endokrin szerveket.



**19. ábra: Human glomerulus keresztmetszeti elektronmikroszkópos képe az arteriolákban, számos vörösvértesttel**

Jól látszik, hogy az afferens arteriola disztális, extraglomeruláris mezangialis sejtek felé néző részét (pontozott rész kinagyítva) fenesztrált endothel borítja. E sejteket határoló Bowman-tok parietalis podocitái lábnyúlványokat és filtrációs réseket képeznek. Mindkét képlet folyadékmozgás anatómiai alapjául szolgálhat. LAA: afferens arteriola lumene, LEA: efferens arteriola lumene, BC: Bowman-tok, U: vizeletűr, a nyilak a fenesztrumokat jelzik (Ref. 40).

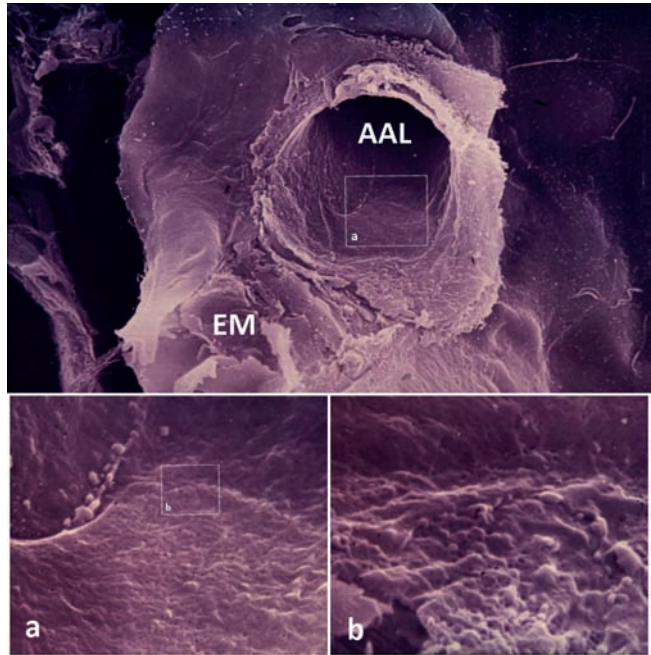
### *A fenesztráció/endotheliális nanocsatorna kimutatása atomerő mikroszkóppal*

Az atomerő mikroszkópia (AEM) új lehetőség arra, hogy a nanométeres tartományban is részletgazdag és igen jó minőségű képet nyerjünk különböző felszínekről, így például a sejtmembránról (80). A módszer lényege, hogy egy nanoméretű szilikon vagy szilikon-nitrit tûhegy mechanikusan végigpásztázza a vizsgálandó felszínt. A hegy térbeli mozgását a rávetített lézerefény visszaverődésének változásai alapján számítógépes szoftver rögzíti, majd ebből háromdimenziós képet készít, amellyel nemcsak a membrán fehérjeláncainak térbeli nyúlványait láthatjuk, de a fenesztrációt is különböző mélységben vizualizálhatjuk.

Tekintettel a glomeruláris endothel tenyésztés nehézségeire, az endotheliális fenesztráció morfológiai jellemzésének és kialakulási szabályozásának tanulmányozására human umbilikális véna primer endotheliális sejtenyésztését is (HUVEC) használtuk (86). A fenesztrumok mérete AEM módszerrel mérve ugyanabba a tartományba esett, mint amit a fenesztráció eredeti leírásakor in vitro az afferens arteriolában elektronmikroszkóppal láttunk. Az AEM technika lehetővé tette, hogy meghatározzuk az átmérő mérete szerinti eloszlást. Kiderült, hogy a leggyakoribb a 100-200 nm alatti átmérőjű szájadék, és a 400-500 nm-es szájadékok csak elvétve fordulnak elő. A szájadékok borította összes felületben a nagyobb átmérőjű nyílások még alacsony számuk ellenére is jelentősen közrejátszanak. Számításaink szerint ebben a preparátumban az endothel sejtek felületének kb. 0,2%-át fedi fenesztra. Az AEM azt is lehetővé tette, hogy a fenesztrációt ne síkbeli

**20. ábra: Patkány afferens arteriola disztális végét borító fenesztrált endothelium szkennung elektronmikroszkópos képe**

A kép olyan, mintha egy glomerulus kapilláris endotheljáról készült volna. A leszakított glomerulus helyén jól látszanak az extraglomeruláris mezangiális sejtek (EM) és az afferens arteriola szájadéka a lumennel (AAL). Az a és b: a négyzettel jelzett területek nagyításai. Jól kivehetők a fenesztrumok az egyenetlen felszínen (Ref. 46).



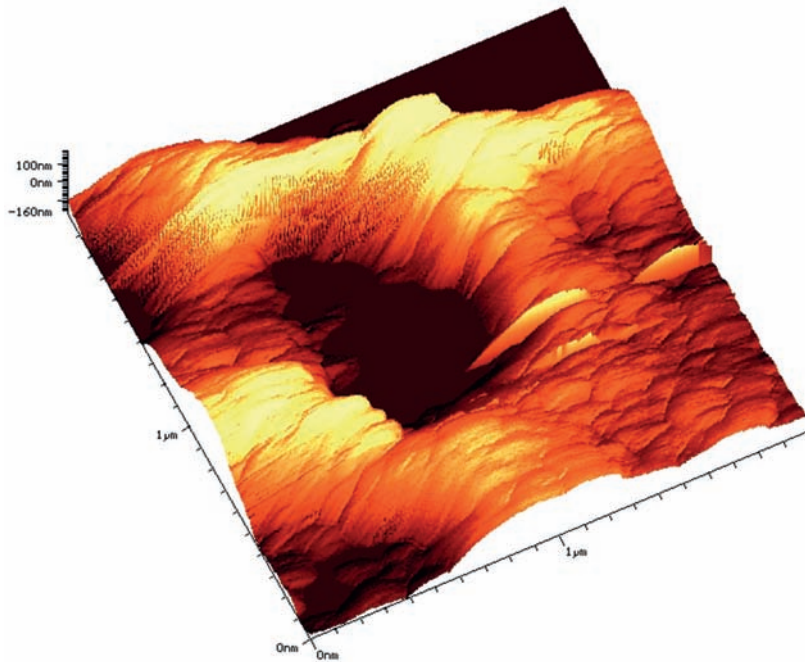
képződményként vizsgáljuk, hanem a valóságnak megfelelően nanocsatornákként tanulmányozzuk. Az endotheliális nanocsatornák nagy nagyítással jellegzetes formájúak. A felszíni bejárati nyílás felhányt szélű, ovális vagy körhöz közelálló (21. ábra). Ha a csatornákat mélyebb rétegekbe követjük, kiderül, hogy azok tölcser formájúak (22. ábra).

A technikából következik, hogy a csatorna csak mintegy 100-150 nm mélységig tehető láthatóvá, azaz a túlsó szájadék ugyanabban a preparátumban nem tanulmányozható. Részletesebb elemzés azt is kimutatta, hogy a HUVEC sejtek fenesztrációja különbözik az afferens arterioláétól, mert diafragmát tartalmaz. Elektronmikroszkópos eredményeink arra utalnak, hogy itt a „csatornák” caveolák összszenyülésével keletkező, bonyolult hálózatok lehetnek, amelyek ugyancsak hozzájárulhatnak a sejtréteg különböző ingerekkel kiváltható permeabilitás növekedéséhez (86).

*Endotheliális fenesztráció kimutatása/láthatóvá tétele élő állat afferens arteriolájában multifoton lézermikroszkópiával*

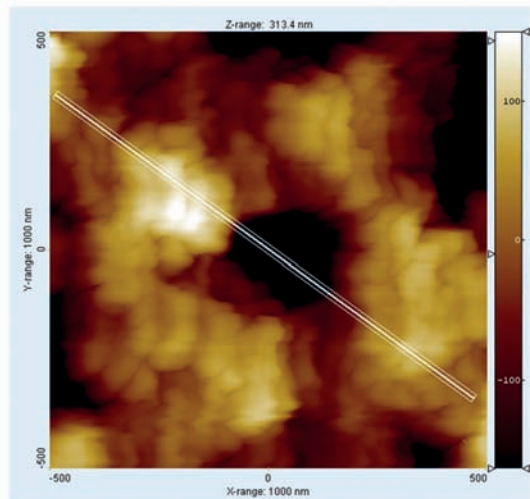
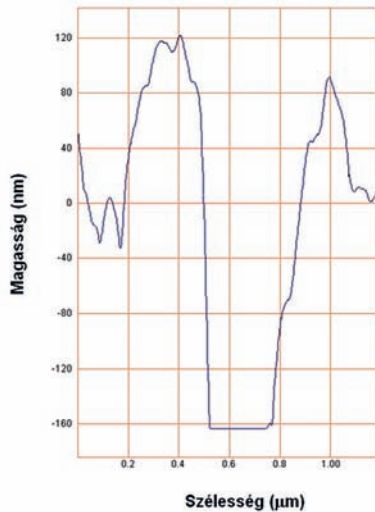
A modern multifoton lézermikroszkópiával vizsgálhatjuk intakt, élő szövetek morfológiáját, illetve élettani folyamatok valósidejű történéseit. Vesében a multifoton lézer  $\approx 200\text{-}300\ \mu\text{m}$  mélységig képes behatolni, amely már alkalmas felszíni glomerulusok, a JGA és az afferens arteriola fenesztrátumainak tanulmányozására is (41, 69).

Egérben és patkányban a vesét a gerincoszlop melletti metszésen keresztül előbuktatuk, és a vese felszínét multifoton lézermikroszkóppal vizsgáltuk. A renint szupravitalisan quinacrine-nal, az endothelt lucifer-sárgával, a plazmát 70kDa dextran-rhodamine B-vel jelöltük. Megfelelő hullámhosszú lézerefény hatására a fluoreszkáló festékek láthatóvá



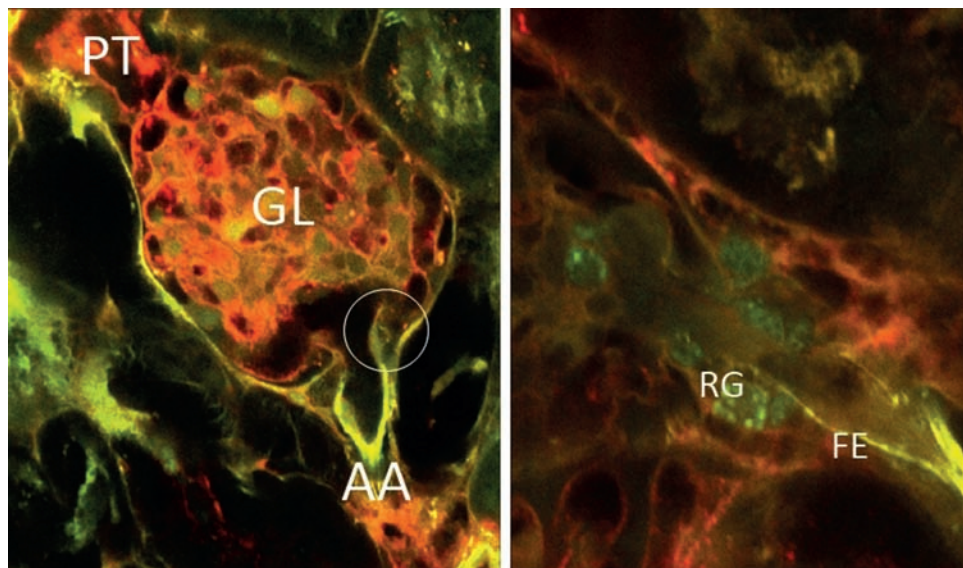
**21. ábra: Endotheliális csatorna bejáratának (fenesztrum) nagy felbontású (2x2 μm felület) sejtfelszíni képe atomerő mikroszkóppal**

Jól látható a csatorna nyílása, a szájadékok körül található kiemelkedés, a felhányt szél.



**22. ábra: Egy endotheliális csatorna atomerő mikroszkópos mélységi adatai és felülnézeti képe, 1×1 μm-es felületen**

A csatornáról a mélységi „oldalnézeti” kép a fehér, átlós vonal metszési síkja mentén készült. Jól látható a csatorna nyílása körüli kiemelkedés, valamint a csatorna tölcészerű, egyre szűkülő lefutása is.



**23. ábra: Az afferens arteriola (AA) és a glomerulus (GL) multifoton lézermikroszkópos képe élő állatban**

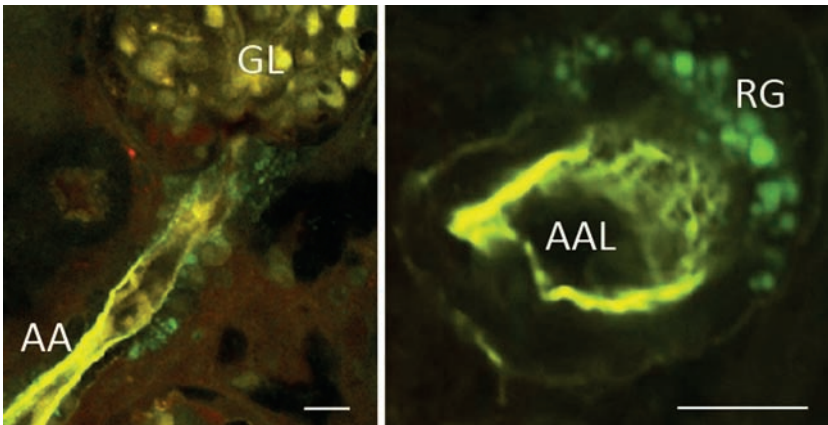
Az arteriola endotheliuma (sárga) élesen kirajzolódik. A körrel jelölt, és felnagyított juxtaglomeruláris szakaszon (jobb oldal), ahol számos renin granulum is látható (zöld: RG) az endothel festése halványul, majd szaggatott, illetve alig kivehető, azaz fenesztrált (FE), PT: proximális tubulus (Ref. 41).

tették élő állatban a keringő vörösvértesteket, a renin granulumokat és az endothel szerkezetét München-Wistar patkányokban, ahol a vese felszínén is található glomerulusok. Patkányban éles metszéssel eltávolítottuk a bab alakú vese kéregállományának mintegy 0,5 mm-es rétegét, így a vérzés-csillapodás után a felszínre került glomerulusokat ugyancsak képesek voltunk tanulmányozni. A festékek beadása után az afferens arteriola sárgán festődő endothel fala éles vonalként látszott a proximális renin-negatív érszakaszon (23. ábra). Ahol azonban az afferens arteriola falának külső és belső felszíne körül megjelentek a renin-granulumok, az éles sárga csík elmosódottá, szaggatottá vált (24. ábra). Nagyobb nagyítással jól látszott, hogy az elmosódottság a lyukacsos/fenesztrált szerkezet következménye volt. A fenesztráció, illetve az ugyancsak jól látható renin granulumok egymáshoz viszonyított mérete, elhelyezkedése helyenként figyelemreméltóan mutatta az elképzelésünk realitását, azt, hogy a renin granulumok az általunk leírt endotheliális csatornán keresztül kerülhetnek a keringésbe (31, 41). Az élő állatban végzett mérések ismét szoros korrelációt mutattak a renin-pozitív és a fenesztrált endothellel rendelkező érszakaszok hossza között.

### *Fenesztráció és a renin-angiotenzin rendszer*

Az afferens arteriola fenesztrációjának elhelyezkedése nem független a renin granulált sejtektől (40-43). Kísérleteinkben az afferens arteriola fenesztrált endothellel borított szakaszának hossza és a renin-pozitív szakasz hossza között szövettani és élőállatban végzett mérések alapján szigorú korrelációt találtunk (36, 41) (25. ábra). Más-





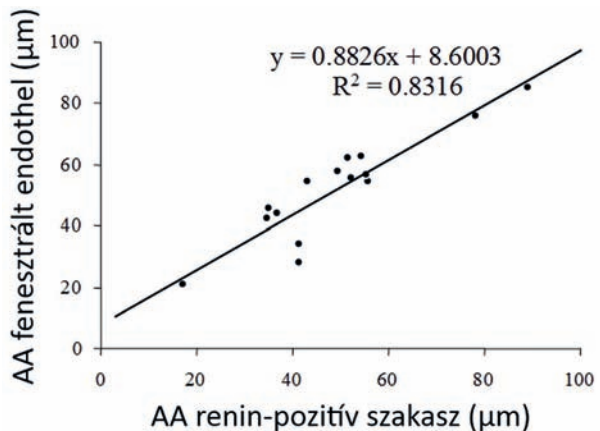
**24. ábra: Az afferens arteriola juxtaglomeruláris végének multifoton lézermikroszkópos hosszanti képe élő állatban, az endothel felszínre fókuszálva**

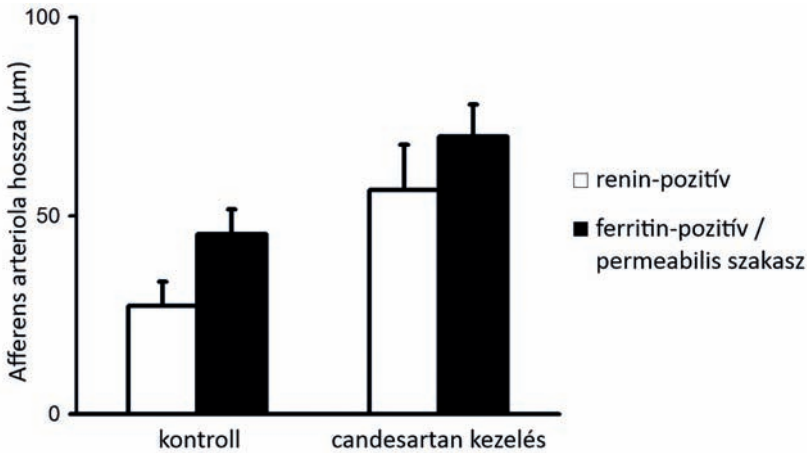
Jól láthatók a fenesztrumok, amelyek átmérője meg is mérhető. Ugyancsak jól látható a sárgán festődő endothelium fenesztráltsága a disztális szakaszon, illetve a körülötte lévő granulált epithelioid sejtek renin szemcséi (zöld). Jobb oldalon, a keresztmetszeti képen az egyes fenesztrumok is kivehetők a renin granulomok (RG) közelében. GL: glomerulus, AA: afferens arteriola, AAL: afferens arteriola lumene, fehér vonal: 20  $\mu\text{m}$ .

képpen fogalmazva: fenesztráció ott alakul ki, ahol az ér falában renin termelődik. Ez az összefüggés akkor is megmaradt, amikor a RAS aktivitását patkányokban AT1 receptor blokkolóval, vagy CEI gátló kezeléssel fokoztuk; nem csak a renin-pozitív szakasz nőtt szignifikánsan, de a ferritin pozitív/permeábilis, azaz fenesztráltságot mutató szakasz is arányosan változott (26. ábra) (36). Ezért joggal feltételezhetjük, hogy emberben is változik az afferens arteriola szerkezete azokban a betegségekben (pl. diabeteses állapotban, amikor nő a renin aktivitás, vagy hipertóniásokban), amelyekben AT1 vagy CEI blokkolót szednek terápiaként. Ez az átalakulás eddigi kísérleti eredményeink alapján feltételezhetően éppen úgy reverzibilis, mint ahogy a renin granulált szakasz is vissza-

**25. ábra: Korreláció patkány vese afferens arteriola renin pozitív és fenesztrált endotheliumot tartalmazó szakasza között, élő állatban, multifoton videometriával nyert adatok alapján**

A szoros korreláció arra utal, hogy a renin-angiotenzin rendszer és a fenesztráció kialakulása között kapcsolat lehet (Ref. 41).



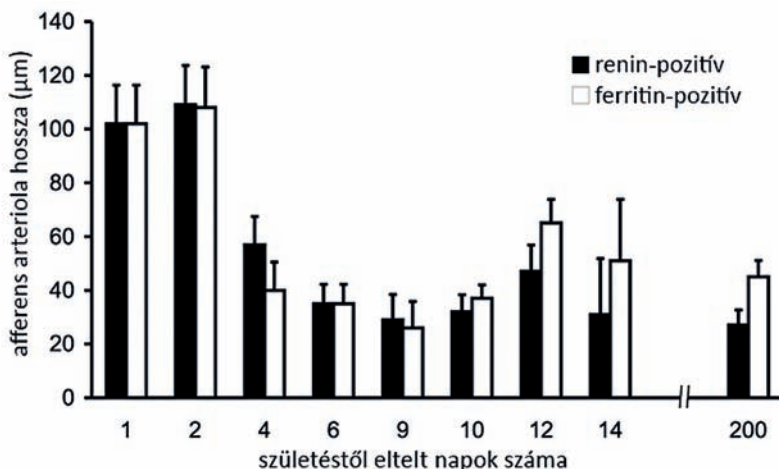


**26. ábra:** Az afferens arteriola renin pozitív és fenesztrált endothelium (ferritin pozitív) szakaszának hossza alapállapotban és angiotenzin receptor (AT<sub>1</sub>) blokkoló (candesartan) kezelés után, patkányban

Jól látható, hogy a renin–angiotenzin rendszer aktivitásának változása befolyásolja az afferens arteriola két eltérő szakaszának egymáshoz viszonyított arányát (Ref. 36).

alakulhat simaizomzatú szakasszá, vagy fordítva. Ismert, hogy újszülöttekben a renális arteriális rendszer fala szinte teljes hosszában renin-pozitív (80–83). Ezért vizsgáltuk újszülött patkányokban a ferritin permeabilitást, illetve a fenesztráltságot. Azt találtuk, hogy ahol az egész afferens arteriola renin-pozitív, ott az arteriola teljes hosszában ugyancsak kimutatható a fenesztrációra jellemző fokozott endotheliális permeabilitás. A születés utáni napok számának, azaz a kornak a növekedésével arányosan csökkent mind a renin-pozitív szakasz, mind a fenesztráltságot mutató afferens arterioláris szakasz hossza (27. ábra). Ezek az adatok arra utalnak, hogy a renin és a fenesztráció megjelenése összefügg (36).

Az irodalomból ismert, hogy a renin az afferens arteriolából nemcsak az interstíciumba kerül, de bejut a keringő vérbe is (84). Ennek megfelelően az afferens arteriola vérének a renin koncentrációja alacsonyabb, mint az efferens arteriolában mért renin koncentráció érték. Eddig nehéz volt belátni, hogy a relatíve nagy renin molekula (~40 kD) hogyan juthat át az arteriola falát befedő, zárt réteget képező endothelen keresztül. Eredményeink magyarázatot adhatnak erre a kérdésre, hiszen a fenesztráció lehetőséget biztosít a renin keringésbe kerüléséhez (11. ábra), ugyanakkor közvetlen kapcsolatot teremt a keringő plazma és a renin granulált sejtek felszíne között is. Tehát a renin szekréciót befolyásoló plazma összetevők a granulált sejtek membránjával érintkezve közvetlenül fejthetik ki hatásukat a szekréciójukra. A Bowman-tok parietális lemezén található, és a renin granulált sejtek felé néző, illetve az azokat borító filtrációs rések azt is lehetővé teszik, hogy a vizelet összetevők is közvetlen kapcsolatba kerüljenek a granulált sejtekkel. Hogy mindezeknek mi a pontos fiziológiai következménye, illetve a patofiziológiai folyamatokban betöltött szerepe, az egyelőre nem világos. Ezekre a kérdésekre további vizsgálatoknak kell választ adniuk.



**27. ábra: Az afferens arteriola renin pozitív és fenezstrált endothelium (ferritin pozitív) szakaszának hossza a születés utáni napokban kéthetes korig, illetve felnőtt állatban (200 napos)**

Újszülöttben általában az afferens arteriola teljes hosszában renin pozitív és fenezstrált endotheliumot tartalmaz, de patkányban néhány napon belül eléri a felnőtt állatra jellemző értéket (Ref. 36).

## A fenezstrált endothelium permeabilitása

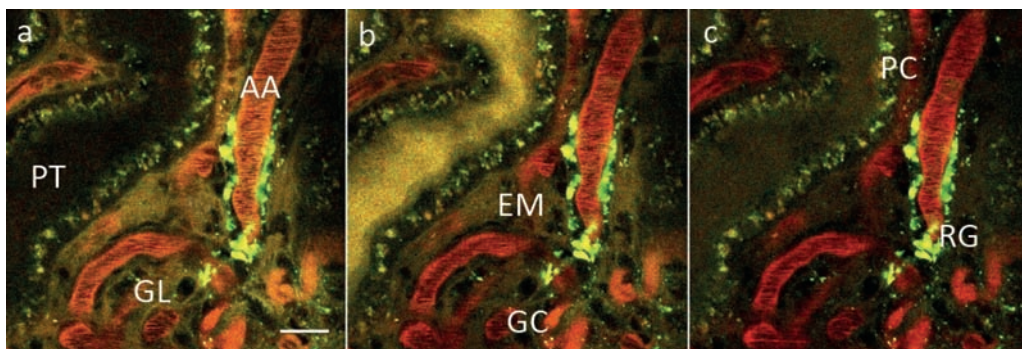
A fenezstrumok működésének jellemzésére nemcsak a fenezstrumok számának nyomonkövetése adhat felvilágosítást, de fontos lehet a fenezstrumok permeabilitásának meghatározása, illetve változásának kimutatása is. Annak bizonyítására, hogy az afferens arteriola folyadék számára átjárható, korábban nyomjelző dózisú neutralizált ferritin szemcséket használtunk. A ferritint az aortába adtuk, és a veseszövetben elektronmikroszkóppal lokalizáltuk (41). Így sikerült korán kimutatnunk, hogy a fenezstrált endothel nem csak morfológiailag tűnik filtrációs membránnak, de úgy is viselkedik. A permeabilitás mértékét 40kD-os jelzett dextransz molekula segítségével a HUVEC sejteken in vitro is meghatároztuk. A vizsgálat során a sejteket úgynevezett „Boyden-kamrában” (85) tenyésztettük. Ebben a rendszerben egy membrán két kamrára osztja a tenyésztőedény üregét. A sejteket a membránon tenyésztettük addig, amíg hiány nélkül befedték azt, ezáltal a zárt, konfluens sejtréteg lett a két kamrát elválasztó réteg. A sejtek feletti kamrába adtuk a jelzett dextransz, majd a sejtek alatti kamrában lévő folyadék dextransz koncentrációjának változásából kiszámoltuk a permeabilitást. A permeabilitás kezelés nélkül konfluens sejtenyészetben  $13,2 \times 10^{-6}$  cm/sec  $\pm$   $0,5 \times 10^{-6}$ -nak adódott. Ezt a permeabilitás értéket a  $10^{-7}$  M angiotenzin II, illetve 100 ng/ml VEGF már 45, illetve 15 percen belül jelentősen megemelte, és ez a hatás még 48 óra után is kimutatható volt. A permeabilitás fokozódás AT1 receptor blokkolóval, illetve VEGFR-2 (VEGF tirozinkináz receptor) gátlóval kivédhető volt (86). Ugyanakkor mindkét anyag jelenlétében 48 óra kezelést követően, az AEM vizsgálat alapján, a sejt felszíni nyílások száma nőtt. Ez még akkor is érdekes megfigyelés, ha nem lehetünk benne biztosak, hogy az afferens arteriola fenezstrumai hasonlóan szabályozódnak.

*A fenesztrált endothélen keresztüli filtráció kimutatása/láthatóvá tétele élő állatban – állandó és jelentős filtráció az afferens arteriolából az interstíciumba*

Élő állat intakt nephronjában multifoton lézermikroszkópia segítségével elsőként detektáltuk az afferens arteriola fenesztrált endotheljén keresztüli filtrációt, és ezt összehasonlítottuk a glomeruláris filtráció értékével (41).

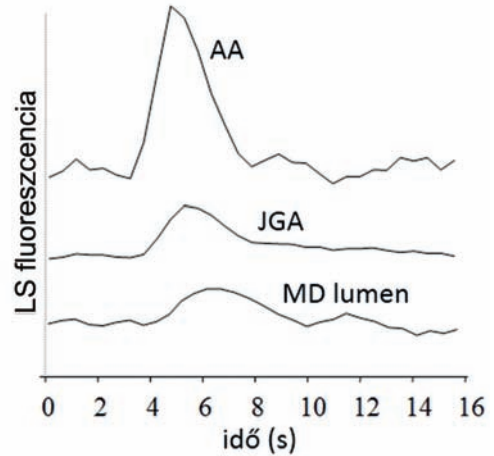
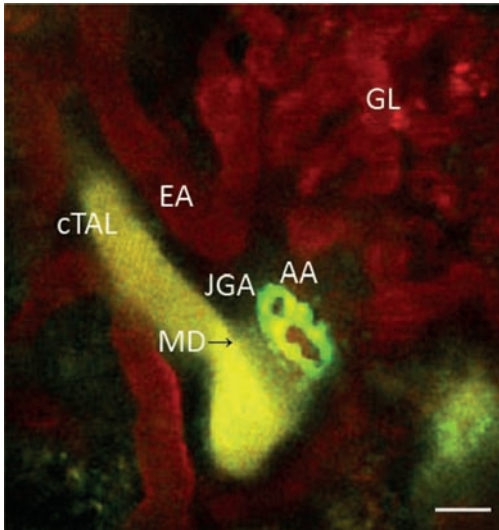
Az intravénás lucifer-sárga (LS) bolus femorális vénába történő beadását követően a festék mintegy 5 másodpercen belül megjelenik az afferens arteriolában és a glomerulusban, és azután a Bowman térbe, majd a korai proximális tubulusba filtrálódik. Az eseményeket videofilmre rögzítve követni tudtuk az LS festék fluoreszcens intenzitásának változását a JGA területén. Az LS afferens arteriolának a lumenben való megjelenésével egy időben LS fluoreszcenciát detektáltunk a JGA interstíciumában éppen úgy, mint a disztális, glomerulushoz közeli afferens arteriola körül. Az LS fluoreszcens „hullám” a JGA-ból minden irányban terjedt, és 5 másodpercen belül a JGA interstíciumából kimosódott. A JGA interstíciumában található maximális fluoreszcens intenzitás közel 20%-a volt az afferens arteriolában található maximumnak (17,9 +/- 3,5). A fluoreszcens festék megoszlása a disztális afferens arteriola szakasz mentén az interstíciumban heterogén volt. A glomeruláris vaszkuláris pólushoz legközelebb eső részen mutatta a legnagyobb aktivitást, míg a fluoreszcencia az afferens arteriola proximális szegmentje körül minimális volt (28. ábra). Az intenzív fluoreszcencia festődést mutató szegmentum hossza korrelált a quinacrine-nal jelzett renin pozitív szakasz hosszával (25. ábra).

Az LS-hoz hasonlóan a magas molekulásúlyú (10 és 40kDa) dextran-rhodamine konjugátum a plazmából ugyancsak bekerült a JGA interstíciumába. Érdekes, hogy a dextran-rhodamine fluoreszcens intenzitás a JGA-ban oszcilláló jellegű volt, hasonlóan a Bowman kapszulához. Az oszcilláció ugyanazt a fázist és ciklus időt mutatta mindkét helyen. Két komponensből állt: lassúból (1/40-50s) és gyorsból (1/5-10s).



**28. ábra: Élő állatban végzett multifoton lézermikroszkópos videometriás felvétel 3 különböző állapotban**

a: a sárga festék szinte egyszerre jelenik meg az afferens arteriola disztális renin granulált szakaszán az éren belül és kívül (!). A JGA extraglomeruláris mezangialis területén és a glomeruláris kapillárisban; b: a glomerulusból a proximális tubulusba jut a festék; c: a festék már kimosódott a rendszerből. AA: afferens arteriola, PT: proximális tubulus, GL: glomerulus, EM: extraglomerularis mezangium, PC: peritubularis kapillaris, RG: renin-granulált sejt. Fehér vonal: 20  $\mu$ m (Ref 41).

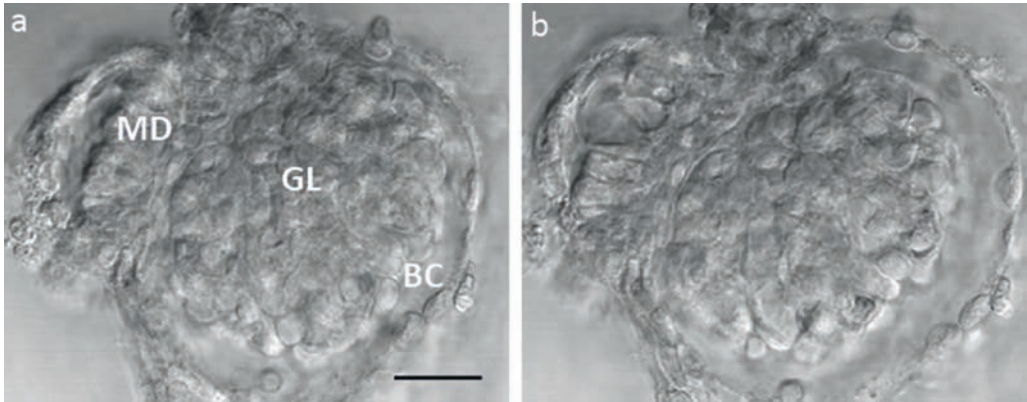


**29. ábra: JGA és disztális tubulus közötti folyadékmozgás kimutatása multifoton lézer mikroszkópiás módszerrel**

A juxtaglomeruláris apparátus (JGA) interstíciumában, a macula densa (MD) területén és a MD-tubuláris szakaszán megjelenik a folyadékmozgást jelző sárga festék. Az egyes területeken a festék intenzitás változásának időbeli lefolyása (jobb oldal) jelzi, hogy a festődés szinte egyszerre zajlik, arra utalva, hogy az afferens arteriolából folyadék kerülhet a juxtaglomeruláris apparátus interstíciumán keresztül a MD-tubuláris szakaszába. Fehér vonalak: 20  $\mu$ m GL: glomerulus, EA: efferens arteriola, AA: afferens arteriola, JGA: juxtaglomerularis apparátus, MD: macula densa, cTAL: disztális tubulus, LS: lucifer sárga (Ref. 41).

Az LS bolus injekciót követően a sárga festék nemcsak a JGA interstíciumában jelent meg, de a macula densa tubuláris lumenében is. A festék megjelenése specifikusan a macula densához kötődött. Nem volt látható a tubuláris áramlással ellentétes irányban sem, jelezve, hogy nem a glomeruláris filtrációból származik, azaz nem a proximális tubulus felől érkezik. A maximális festék intenzitás a MD lumenben 2-5 s-mal később jelent meg, mint az afferens arteriolában és a JGA-ban (29. ábra). A glomeruluson keresztül filtrált festék intratubuláris megjelenése sokkal később következett be (30-50s).

Elsőként sikerült tehát kimutatnunk, illetve élő állatban vizualizálnunk és kvantifikálnunk az afferens arteriolából a fenestrált endothelen keresztüli folyadékfiltrációt. Adataink szerint az afferens arteriolából folyamatosan kiáramló folyadékmennyiség alapállapotban a glomeruláris filtrátumnak mintegy 20%-a. Az arteriolából az interstíciumba való jelentős mennyiségű folyadék kiáramlásának, illetve e folyamatnak az angiotenzin rendszer aktuális aktivitásától való függésének mi a fiziológiás jelentősége, illetve a betegségek kialakulásában való esetleges szerepe, az egyelőre tisztázatlan, illetve beláthatatlan.



**30. ábra: Perfundált izolált glomerulus a juxtaglomeruláris apparátussal**

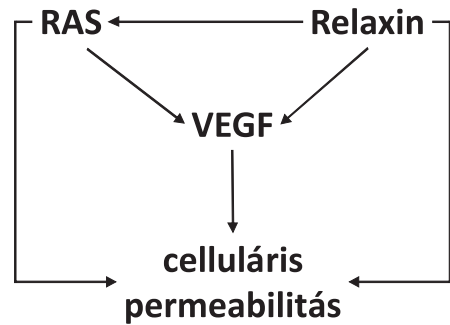
Az intraglomeruláris nyomás emelése (jobb oldal) hatására nem csak a vizeletür tágul ki, de a MD sejtek és a köztük lévő rések, és a hozzá kapcsolódó tubulus szakasz ürege is, jelezve a fokozott folyadékáramlást a glomerulusból a JGA-n keresztül a tubulusba. MD: macula densa, GL: glomerulus BC: Bowman tok. Fehér vonal: 20  $\mu\text{m}$  (Ref. 41).

*Macula densa területén történő folyadékáramlás vizsgálata in vitro  
– a JGA interstíciumának folyadékégyensúlya*

Az előzőekből következik, hogy a juxtaglomeruláris apparátus intersticiális folyadék-egyensúlya igen dinamikus. Folyadék érkezik az afferens arteriolából és a glomerulusból is. A folyadéknak azonban kiutat is kell találnia; az egyik ilyen lehetőség a juxtaglomeruláris apparátusból a macula densán keresztüli folyadék kiáramlás a tubulusba.

Izolált és perfundált patkány JGA preparátumon multifoton lézer mikroszkópiával vizsgáltuk a MD területén történő folyadékáramlást úgy, hogy az afferens arteriolán keresztül perfúziós folyadékot infundáltunk a glomerulusba. A proximális tubulust pipettával leszorítottuk, így megnöveltük a Bowman-kapszula hidrosztatikus nyomását, miközben az afferens arteriola perfúziót 50 Hgmm-en tartottuk. Jelentős volumennövekedést tapasztaltunk a Bowman kapszulában és a JGA interstíciumban, amelyet a MD sejtek térfogatának mintegy 60%-os emelkedése, és a disztális tubuláris szakasz tágulása követett. A MD sejt volumennövekedése mellett az extraglomeruláris mezangium és a MD intercelluláris területe szintén jelentősen kitágult, különösen a MD plakk közepén. Mindezek a változások reverzibilisek voltak (30. ábra). Ez megerősítette a korábbi provokatív in vivo megfigyelésünket, miszerint a közismert macula densán keresztüli disztális tubuláris aktív ion-transzportot követő folyadékáramlás (a paracelluláris résen a juxtaglomeruláris interstíciumba) mellett egy ellentétes irányú folyadékmozgás is létezik (41).

**31. ábra: Az angiotenzin, VEGF és relaxin szerepe az endotheliális permeabilitás szabályozásában**  
 A VEGF az endotheliális permeabilitás szabályozásában, növekedésében központi szerepet játszik. Az angiotenzin és a relaxin akár önmagában vagy akár közvetve, a VEGF expressziójának fokozásán keresztül megnöveli a permeabilitást (Ref. 75).



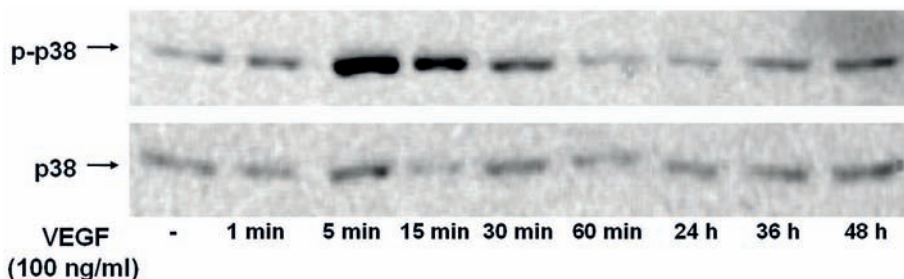
## A fenesztráció kialakulásának szabályozása

Fenesztrált endothelium a szervezetben csak speciális helyeken, mint például a glomerulusban található (87). A fenesztráció jelenléte az afferens arteriola disztális szakaszán még ennél is különösebb, mert nemcsak egy magasnyomású (40-60 Hgmm) érszakaszról, de ráadásul még egy ősi, már az amphiumában is jelenlévő képződményről van szó. A fenesztráció jelentős élettani szabályozó mechanizmusok morfológiai alapja, ezért kialakulása, szabályozásának megismerése fontos.

A fenesztrált endothelium közelében található epithel sejtek nagy mennyiségű vaszkuláris endotheliális növekedési faktort (VEGF) expresszálnak, ezért úgy gondolták, hogy a VEGF lehet a felelős a fenesztrációk kialakulásáért (88). Ezt már állatkísérletben és in vitro sejttenyészetben igazolták (89, 90). A VEGF, bár a szervezetben általában alacsony expressziót mutat, a vesében a glomeruláris podocitákban, a disztális tubulusokban és az erek simaizomzatában erősen expresszálódik (91). Mindezek alapján feltételezve, hogy a VEGF fontos regulátora az afferens arteriola endotheliális nanocsatornák megjelenésének, tanulmányoztuk in vitro, primer endothel sejttenyészetben a VEGF hatását a sejtréteg morfológiájára, a csatornák kialakulására, illetve a konfluens sejtréteg permeabilitására.

A VEGF hatásáért három tirozin kináz receptor felelős; közülük a VEGFR-2 rendelkezik a legjelentősebb jelátviteli aktivitással. Ezzel szemben a VEGFR-1 főként negatív szabályozó szerepet tölt be, elhalászva a VEGF-et a VEGFR-2 elől (92). A VEGFR-3 szerepe az endothel működésben kevésbé tanulmányozott. Elsősorban a nyirokerekben fordul elő, de megtalálható a glomerulus endothelen is (92). Munkánkban a VEGFR-2 szerepét vizsgáltuk (86).

A VEGF expresszióját számos, a JGA-val kapcsolatos szabályozó anyag befolyásolja. Az angiotenzin II fokozza a VEGF elválasztást podocitákban és mezangiális sejtekben (93). Relaxin, az inzulin család egyik tagja, hasonló hatással rendelkezik (94, 95). Ugyanakkor a relaxin fokozza a renin szekréciót decíduális sejtekben. (96). A születés előtti trimeszterben jelentősen megnő a relaxin koncentráció. Ez talán magyarázata lehet a vesében születéskor található, minden érszakaszra kiterjedő renin-pozitivitásnak (81, 82).



**32. ábra: A VEGF hatása a p38 MAP kináz aktivációjára**

A Western blot módszerrel készült képen látható, hogy a VEGF rövid időn belül aktiválja a p38 MAP kináz útvonalat. Ez az aktiváció idővel gyengül, de még két nappal a kezelés után is kimutatható, jelezve, hogy a p38 aktivációnak a hosszú távon kialakuló hatások létrejöttében is szerepe van.

E megfontolások alapján dolgoztuk ki a fenesztráció szabályozásának egy lehetséges sémáját (31. ábra).

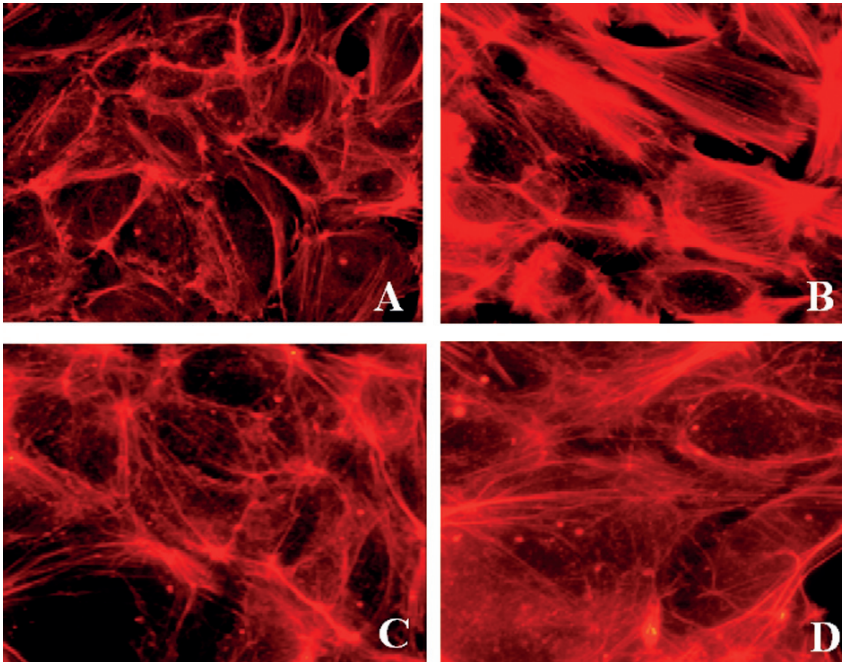
*A p38 és a citoszkeleton szerepe az endothel sejtek fenesztrációjában és permeabilitásában in vitro*

Korábban kimutattuk, hogy a rövidtávú VEGF kezelés hatására átrendeződött az endothel sejtváza. Míg nyugvó sejtekben a főként aktin alkotta váz a sejtmembrán közelében, gyűrűszerűen helyezkedik el, addig VEGF hatására egymással párhuzamos, hosszanti lefutású, vastagabb aktin rostok, úgynevezett stresszrostok jelentek meg a sejt citoplazmájában. Ezzel egy időben az endothel sejt-sejt kapcsolatok fellazultak, azaz a jellegzetes sejtadhéziós molekula, a VE-cadherin mennyisége csökkent, és jelentősen nőtt a permeabilitás. Ilyen rövid idő alatt viszont még nem történt szignifikáns növekedés a sejt felszíni nyílások számában, ezért a rövid távú permeabilitás növekedés az endothel sejt-sejt kapcsolatok megnyílásának a következménye. A VEGF-hez hasonlóan az angiotenzin II (Ang II) is fokozta a permeabilitást. Azt is kimutattuk, hogy mindkét kezelés megnövelte az intracelluláris jelátviteli fehérjék egyik típusának, a p38 MAP kináznak az aktivációját, bár ez a hatás a VEGF esetében jóval erőteljesebb, közel duplája az Ang II kezelés során megfigyeltnek (32. ábra). Továbbá a VEGF esetében a p38 MAP kináz aktivációját gátló SB203580-val sikerült megőrizni a sejtréteg zártságát, és kivédeni a stresszrost kialakulást (33. ábra) és a permeabilitás növekedést (34. ábra).

Míg élő állatban, a VEGF beadását követően 10 perc múlva már kimutatható az endothel fenesztrálódása (88), addig in vitro körülmények között ez a folyamat VEGF hatására közel két napig tart (89). Ezért endothel sejtenyészeten megvizsgáltuk a krónikus VEGF és Ang II kezelések hatását is az endothel funkcióra és morfológiára.

A HUVEC sejtréteg krónikus kezelése VEGF-el vagy Ang II-vel jelentősen megnövelte a sejtréteg permeabilitását. A növekedés a kezeletlen sejtréteghez viszonyítva 32%-os volt a VEGF kezelés, és 24%-os az Ang II kezelés során. Ez a hatás a VEGFR-2, illetve az AT1 aktivációjától függött, mivel a receptor blokkoló (ZM323881 a VEGFR-2 esetében, illetve candesartan az AT1 esetében) előkezelések csökkentették a permeabilitás foko-





**33. ábra: A p38 gátlása megakadályozza a VEGF indukálta stresszrostok kialakulását**

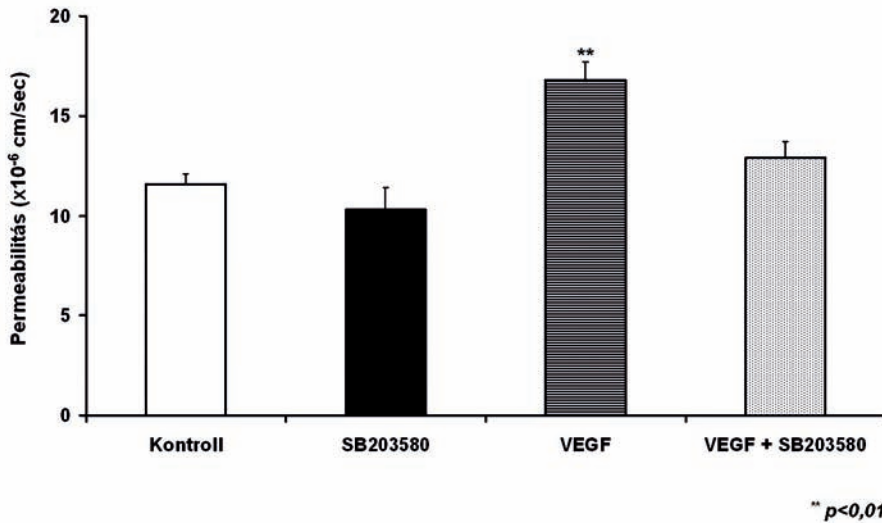
Az immunfluoreszcens mikroszkópiával készült képeken a HUVEC sejtekben található, sejtvázat alkotó, a sejtek alakját meghatározó aktin rostok láthatók, rhodaminnal (piros) konjugált phalloidinnel festve. Nyugvó, kezeletlen sejtekben alapvetően sejtmembrán közeli aktin rostok láthatók (A), amely zárt, egymással szorosan kapcsolódó sejttrégre jellemző. Ehhez hasonló a kép, ha a sejteket a p38 gátlószerrel kezeljük (C). VEGF kezeléskor rövid időn belül a sejtek hossz tengelyével párhuzamos lefutású aktin stresszrostok alakultak ki (B), amelyek befolyásolva a sejtek alakját, a sejttréget megnyílasát eredményezhetik. Ez a VEGF hatás p38 gátlószer előkezeléssel kivédhető (D).

zódását. A VEGF, illetve Ang II kezelést követő permeabilitás változást jellemeztük az endothel sejttréteg elektromos impedanciájának változásával (ECIS) is (97). A módszer nagy érzékenysége mellett a változások valós idejű nyomonkövetését is lehetővé teszi. A permeabilitás (ellenállás) a kezelés második napján kezdett jelentősen változni (35. ábra).

A permeabilitás növekedés jelentős morfológiai változásokkal járt. Mind a VEGF, mind az Ang II kezelés hatására megnőtt a caveolák és vesiculák száma, sőt e vesiculák összeolvadásával, egybenyíásával vesiculo-vacuolaris csatornák jöttek létre (36. ábra). Az AEM eredmények alapján jelentősen megnőtt a sejt felszíni nyílások száma is.

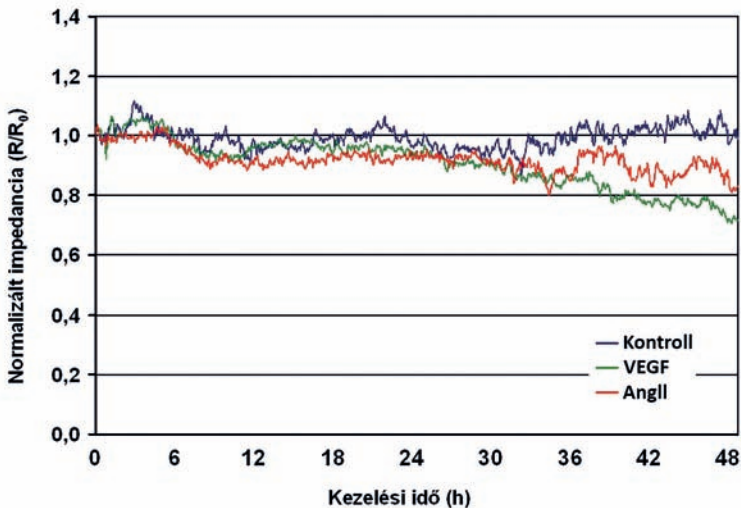
A VEGFR-2 gátló ZM323881, illetve AT1 blokkoló candesartan meggátolta a kezeléseket követő morfológiai és funkcionális változásokat.

Máj eredetű szinuszoidális endothel sejtek fenesztrációjának vizsgálatakor kimutatták, hogy az aktin citoskeleton átrendeződésének, az aktin filamentumok szerkezetének jelentősége van a fenesztrátumok kialakulásában (98). Az aktin polimerizációját szabályozó latrunculin vagy cytochalasin B kezelés fokozta a szinuszoidális endothel fenesztrációját (99). Ezek a fenesztrátumok a glomerulushoz hasonlóan nem tartalmaz-



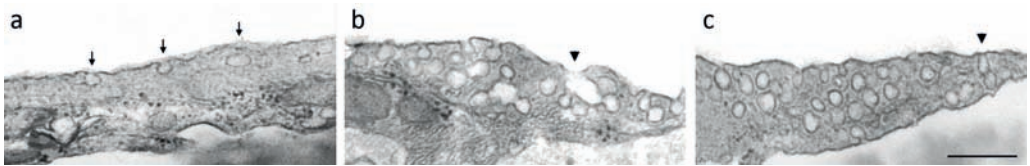
### 34. ábra: A p38 gátlása megakadályozza a VEGF által indukált permeabilitás növekedést

A hosszú távú VEGF kezelés jelentős, közel 50%-os permeabilitás növekedést okoz. Ez a permeabilitás fokozódás kivédhető p38 MAP kináz specifikus gátlószereinek (SB203580) alkalmazásával.



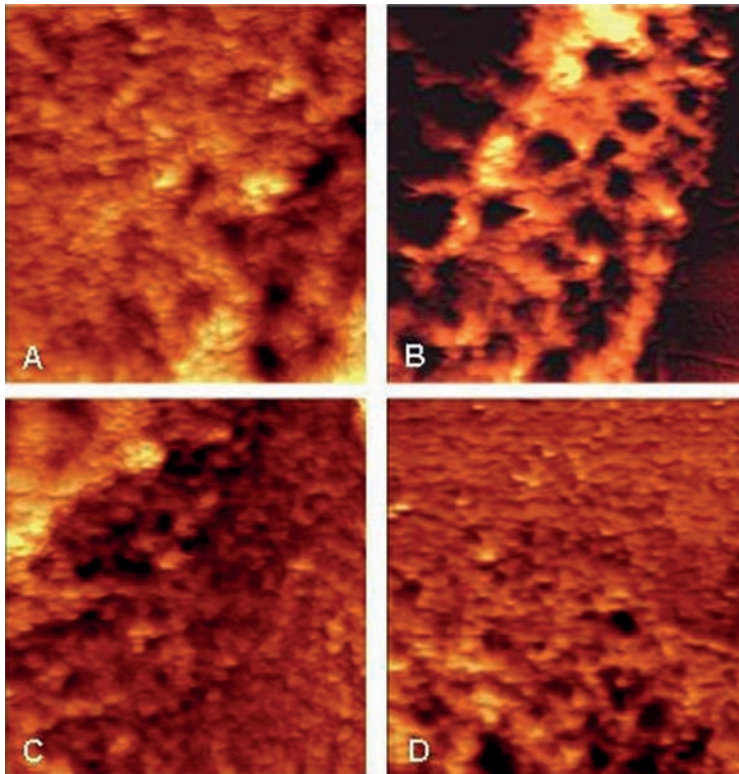
### 35. ábra: A VEGF és az Ang II hatása az endothel sejtréteg ellenállására

Az endotheliális permeabilitás jól jellemezhető a sejtréteg ellenállásának a mérésével. A folyamatos, 48 órás mérés során jelentős eltérés alakult ki a különböző módon kezelt sejtrétegek ellenállás értékei között. Az Ang II és VEGF-kezelt sejtréteg ellenállása jelentősen csökkent (azaz nőtt a permeabilitása) a második napra, közel 40 óra kezelés után (Ref. 86).



**36. ábra: A VEGF és az Ang II hatása az endothel sejtréteg morfológiájára**

A transzmissziós elektronmikroszkóppal készült képeken látható, hogy mind az Ang II (B), mind a VEGF (C) kezelés hatására megnőtt a vesiculák, caveolák száma a sejtfelszínen és a citoplazmában is. Egyes vesiculák egymásba olvadva csatornaszerű hálózatot, vesiculo-vacuoláris rendszert hoztak létre. Ezek az újonnan kialakuló struktúrák kapcsolatot teremtve a két sejtfelszín között szerepet játszanak a permeabilitás fokozásában (Ref. 86).

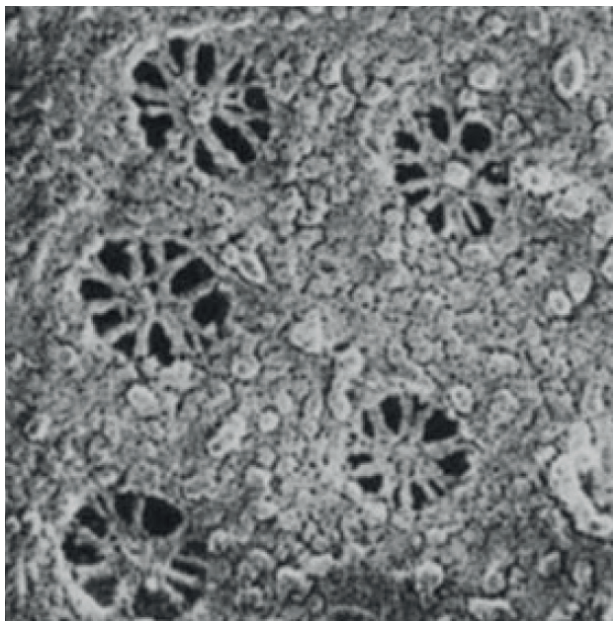


**37. ábra: A p38 gátlása megakadályozza a VEGF kezelés hatására kialakuló sejtfelszíni nyílások fokozódását**

Az atomerő mikroszkópos vizsgálatok alapján a HUVEC sejtfelszín nyugvó állapotban nem, vagy alig tartalmaz bemélyedéseket (A), hasonlóan a csupán gátlószerrel kezelt sejtfelszínhez (C). Ezzel szemben VEGF kezelt sejtfelszínen nagy számú, újonnan kialakult bemélyedés látható (B). Ha a VEGF kezelés előtt gátoljuk a p38 MAP kinázt, a sejtfelszín sima, bemélyedés-mentes marad (D).

**38. ábra: A endotheliális fenesztrációk nyílásában található diaphragma pásztázó elektronmikroszkópos képe**

Patkány veséből származó peritubuláris kapillárisról készült képen jól látható a PV-1 fehérje alkotta diaphragma kerékküllőre emlékeztető szerkezete, ami a fenesztrátum nyílását kisebb átmérőjű lyukakra osztja (120000x nagyítás). (Ref. 106).



nak diafragmát, míg a nyílás körül egy aktin-miozin gyűrű található, amely különböző intracelluláris jelátvivők hatására (pl.  $\text{Ca}^{2+}$ , szerotonin, alkohol, stb.) szabályozza a nyílás átmérőjét (100-102). A citoszkeleton szerepét a glomeruláris fenesztráció kialakulásában és fenntartásában igazolja Andrews 1981-es vizsgálata (103), amelyben megfigyelte, hogy a veséből izolált, ex vivo inkubált glomerulusokban 2 nap után az endothel megvastagodott, a fenesztrátumok eltűntek, és ezen felül a podocita lábnyúlványok is leépültek. Ez a leépülés az aktin polimerizációt szabályozó cytochalasin kezeléssel kivédhető volt.

Ezen eredmények alapján feltételeztük, hogy a VEGF és az Ang II olyan jelátviteli utakon keresztül szabályozhatja a sejt felszíni nyílások megjelenését, amelyek hatással vannak az aktin citoszkeleton állapotára is. A p38 MAP kinázról korábban kimutattuk, hogy szabályozza az endothel sejtek aktin sejt vázát. Ismert, hogy aktivációja során foszforilálja a 27 kDa méretű hő sokk fehérjét (HSP27), amely többek között kötődik az aktin struktúrákhoz, és stabilizálja azt. Amennyiben a HSP27 foszforilálódik pl. a p38 MAP kináz hatására, kötődése az aktinhoz csökken, ezáltal az aktin sejt váz átrendeződhet (104).

Feltételezésünket megerősítette, hogy a VEGF és az Ang II p38 aktivációt fokozó hatása HUVEC-en még két nap után is kimutatható. Az Ang II kezelés aktiváló hatása összehasonlítva a VEGF-el jelentősebb. A p38 MAP kináz gátlásakor elmaradt a VEGF, illetve Ang II kezelést követő permeabilitás fokozódás, és a sejt felszíni nyílások száma sem növekedett (37. ábra).

## *A diaphragma és a PV-1 fehérje szerepe az endothel sejtek fenesztrációjában*

Ismereteink szerint a diafragmát alkotó PV-1 az egyetlen olyan fehérje, amely köthető a fenesztrátumokhoz, ugyanakkor ez a fehérje előfordul a caveolák nyílásaiban is (105), míg hiányzik a máj és a vese glomerulus érett fenesztrátumaiból (38. ábra). Mivel a PV-1 jelen van a fenesztráció kialakulásának korai fázisában, mind a vesében, mind a májban (106, 107), feltételezhető, hogy a PV-1 ezekben a szervekben a fenesztrációk kialakulásában, megjelenésében játszhat szerepet. Fenesztrátumok és transzendotheliális csatornák megjelenését mutatták ki protein kináz C agonista, forbol-mirisztát-acetát (PMA) kezelés hatására, ami elmaradt, ha a PV-1 megjelenését gátolták RNS interferenciával (siRNS) (108). Mások azt is megfigyelték, hogy azokban a fenesztrátumokban, amelyekben diaphragma (PV-1) található, a nyílások átmérője rögzített, nem annyira változatos, mint az afferens arteriolában vagy a glomerulusokban lévő fenesztrátumok átmérője. Az üres fenesztrátum nyílás egyrészt nagyobb permeabilitást biztosít, másrészt átmérője dinamikusan szabályozható, ami a permeabilitás finomhangolását teszi lehetővé ezeken a helyeken. Ezt az elgondolást máj eredetű endothel sejtek diaphragma mentes fenesztrátumain már sikerült igazolni (109).

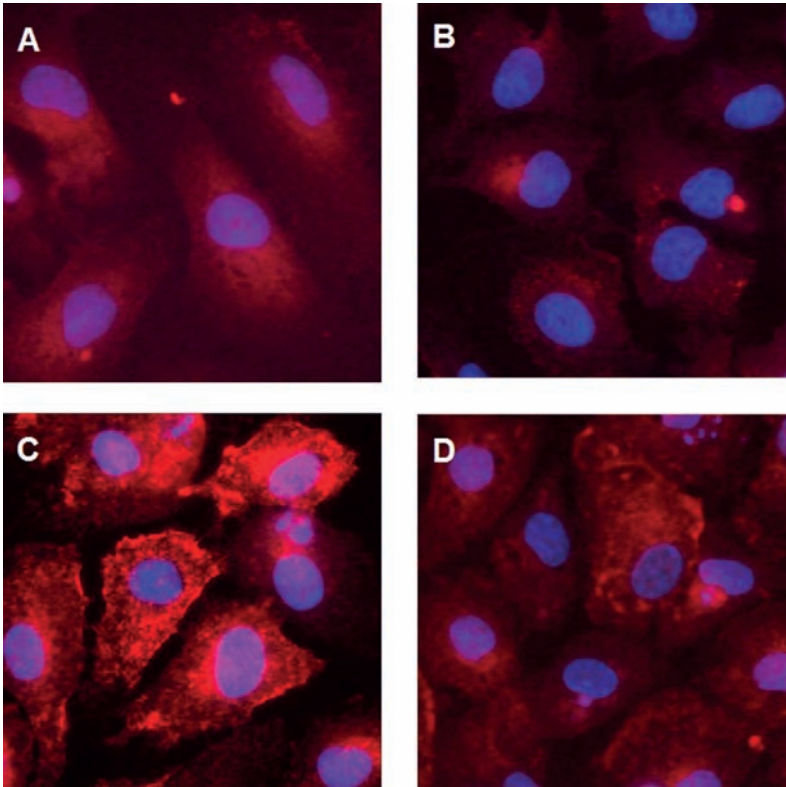
Munkánk során kimutattuk, hogy a PV-1 expresszióját mind a VEGF, mind az Ang II fokozza, és a szabályozásban, hasonlóan a morfológiai és permeabilitás változásokhoz, szerepet játszik a p38 MAP kináz útvonal, valamint a VEGFR-2 és az AT1 receptorok aktivációja. Figyelembe véve, hogy a permeabilitás növekedés, a sejt felszíni nyílások és vesiculo-vacuoláris csatornák megjelenése, és a PV-1 expresszió fokozódása egy időben, azonos szabályozó mechanizmusok révén alakul ki, azt jelzi, hogy ezek a jelenségek összefüggnek egymással, és a morfológiai és génexpresszióbeli változások lehetnek felelősek a megnövekedett permeabilitásért (86).

A PV-1 jelen van a diafragmás fenesztrátumokban és a legújabb eredmények alapján az embrionális vese glomeruláris fenesztrációiban is, de születés után az érett glomerulusból már hiányzik (106). A PV-1 alkotta diaphragma viszont újra megjelenhet a glomerulus fenesztrációiban egyes vesebetegségek során (pl. transzplantációs glomerulopátia vagy Thy1 glomerulonephritis) (106, 110).

A p38 MAP kináz útvonal mellett, a kis G-fehérjék családjába tartozó, a sejt váz szerkezetét, formáját befolyásoló Rho jelátviteli fehérjéről is ismert, hogy szabályozza az aktin citoszkeleton állapotát. A VEGF endothel sejtekben pedig aktiválja a Rho/Rho-kináz útvonalat, ami egyrészt aktin stresszrostok kialakulásához vezet, másrészt foszforilálva a miozin könnyűláncot, fokozza az aktin-miozin komplex működését, megnövelve a sejten belüli kontrakciót, ami sejtalkalak megváltozásához, és a sejt-sejt kapcsolatok fellazulásához vezethet (111).

A Rho-kináz szerepét specifikus gátlószerével, Y27632-vel vizsgáltuk. A gátlószer már rövid távon is csökkentette a VEGF permeabilitást fokozó hatását, ami a 48 órás kezeléseknél még hangsúlyosabb lett. Ezen felül a Rho-kináz gátlása kivédte a VEGF PV-1 expressziót fokozó hatását is.

Az afferens arteriolára és a glomerulusokra jellemző diaphragma-mentes fenesztrációk kialakulásának részletei még napjainkig sem tisztáztak. Hogy lehetséges, hogy a VEGF,



**39. ábra: A retinsav hatása a VEGF által fokozott PV-1 expresszióra**

Az immunfluoreszcens mikroszkópiával készült képeken a HUVEC sejteket PV-1 fehérjére jelöltük (piros). Ez a jelölés nyugvó, kezeletlen sejteken gyenge, alig kimutatható (A), alacsony PV-1 fehérje mennyiségre utalva. Ehhez hasonló képet kaptunk a csak retinsavval kezelt sejtek esetében (B) is. Ezzel szemben a hosszú távú VEGF kezelés után jelerősödés látható, ami fokozott sejt felszíni PV-1 mennyiségre utal (C). Ezt a fokozódást a VEGF kezelést megelőző retinsav kezelés látványosan gátolta (D).

amely a szervezet többi részén diafragmás fenesztrátumokat hoz létre, itt diafragma mentes fenesztrációt produkál? Kriz szerint a vesében tapasztalható folyamatos, nagyon magas koncentrációjú VEGF expozíció felelős a diafragma mentes fenesztrációk megjelenésért (112), míg mások szerint egy, még nem azonosított hatás okozhatja a diafragmák eltűnését.

Érdekes megfigyelés, hogy patkányokban Thy1 glomerulonephritis (GN) során újra megjelenik a diafragma a glomerulus fenesztrátumaiban (106). Régebb óta ismert, hogy a Thy1 GN kialakulására, lefolyására a retinsav jótékony hatással van. Csökkent az albuminuria és a vérnyomás, javult a GFR (113). Az endothel sejteket, a fenesztrátumokat azonban nem vizsgálták. A glomerulus sejtjei saját, endogén retinsav termelő rendszerrel rendelkeznek, a glomerulusban megtalálhatóak a retinsav termeléséhez szükséges enzimek, a retinsavat felismerő receptor típusok. Ezeknek a fehérjéknek a szintje ugyanakkor a Thy1 GN kialakulásakor, a betegség első 3-5 napjában jelentősen lecsökken, azaz a glomerulus saját retinsav termelése sérül (114). E korábbi eredmények alapján

feltételeztük, hogy a retinsavnak szerepe lehet a fenesztrációk kialakulásában, a PV-1 expressziójában, valamint a permeabilitás szabályozásában.

Vizsgálataink alapján a retinsav már önmagában is csökkenti az endothel sejtréteg alap permeabilitását, és VEGF-el közösen alkalmazva kivédi a VEGF permeabilitást és PV-1 expressziót fokozó hatását (39. ábra). A retinsav ezt a gátló hatást a VEGF válaszáért felelős VEGFR-2 receptor fehérje szintjének csökkenésén keresztül fejti ki.

Annak tisztázására, hogy a HUVEC sejtrétegen megfigyelt mechanizmusok mennyire játszanak szerepet a glomerulus és az afferens arteriola fenesztrátumainak a kialakulásában, további in vivo állatkísérletek vagy glomerulus eredetű endothel sejteken in vitro végzett kísérletek szükségesek.

## Összefoglalás és következtetések

A filogenetikailag ősi képződmény, a juxtaglomeruláris apparátus, jelentős szerepet játszik a só-víz háztartás és a vérnyomás szabályozásában és számos betegség patomechanizmusában. Ennek ellenére működésének számos részlete még tisztázatlan.

A juxtaglomeruláris apparátus sem nyirok-, sem vérkapillárisokat nem tartalmaz, ezért korábban feltételezték, hogy stabil intersticiális milióvel rendelkezik, és így ideális közeget biztosít a macula densától az afferens arterioláig haladó humorális jelátvitelhez a tubuloglomeruláris feedback mechanizmus aktivációjában. E feltételezés cáfolatára különböző modern funkcionális és morfológiai módszereket – a mikropunkciótól az atomerő mikroszkópiáig, a molekuláris biológiai mérésektől az in vivo multifoton lézermikroszkópos imaging technikáig – komplex módon alkalmazva vizsgáltuk a juxtaglomeruláris apparátus működését és szerkezetét in vitro és in vivo. Kimutattuk, hogy 1. az afferens arteriola disztális szakaszát bélelő endothelium más arteriolákra nem jellemző módon fenesztrált, 2. a Bowman-kapszulának a renin tartalmú sejtek felé néző parietális epitheliális sejtjei filtrációs réseket képeznek, 3. a vizeletúr több helyen betüremkedik a juxtaglomeruláris intersticiumba úgy, hogy e zsákszerű képződményeket is filtrációs rések borítják. Igazoltuk, hogy az afferens arteriola fenesztráltsága nem korlátozódik egyetlen fajra; általános jelenség. Kísérletes emlőszállatokon (patkány, mókuscickány, egér) kívül emberben, sőt amphiumában (halgöte) is kimutattuk.

Az általunk leírt, új szerkezeti sajátosságok alapján feltételeztük, hogy az eddigi elképzelésekkel ellentétben a juxtaglomeruláris apparátus nem zárt egységként viselkedik, hanem jelentős intersticiális folyadékmozgással rendelkezik.

Atomerő mikroszkópiával sikerült az endothel sejtek plazmáján csatornaszerűen keresztül haladó, membránnal bélelt fenesztrumok részleteit, és annak különböző beavatkozásokra történő számbeli és formai változásait láthatóvá tennünk. Megfigyeltük, hogy a HUVEC felszíni bemélyedései kissé felhányt széllel, a felszín felől szűkülő tölcser formájában jelennek meg. Átlagos átmérőjük mintegy 60-200 nm. Ez az adat jó egyezést mutat az elektronmikroszkópos technikával mért átmérővel.

Az afferens arteriola fenesztrációjának elhelyezkedése nem független a renin tartalmú sejtektől. Az afferens arteriola fenesztrált endothellel borított szakaszának hossza és renin-pozitív szakaszának hossza között szoros pozitív korrelációt találtunk mind in vitro, mind pedig in vivo mérésekkel.

Amennyiben a renin-angiotenzin rendszer aktivitását AT1 receptor blokkolóval vagy konvertáló enzim gátló kezeléssel fokoztuk, úgy nemcsak a renin-pozitív szakasz, de a ferritin-pozitív/fenesztrált/permeábilis szakasz hossza is arányosan változott.

Újszülött patkányban, ahol a renális arteriális rendszer fala szinte teljes hosszában renin pozitivitást mutat, ugyancsak kimutatható volt a fenesztrációra jellemző fokozott endotheliális permeabilitás. A születés után mind a renin-pozitív szakasz, mind a fenesztráltságot mutató afferens arterioláris szakasz napról-napra csökkent.



Élő állatban is sikerült láthatóvá tennünk az elektronmikroszkópos vizsgálat alapján korábban leírt mikromorfológiai sajátosságokat. Az in vivo megfigyelések és funkcionális méréseink megerősítik, hogy a preglomeruláris arteriola felépítését és funkcióját tekintve nem egységes. Az afferens arteriola két szakaszból áll: 1. a disztális rész, amely renint nem tartalmaz, lumenét zárt endothelium borítja és falában erőteljes miozin pozitivitás mutatható ki, 2. a proximális rész, amelynek fala renin-pozitív, miozin-negatív és az üregét fedő endothelium fenesztrált. Az utóbbi szakasz igen permeábilis, így az arteriolából a nyomáskülönbségnek megfelelően folyadék kerül a juxtaglomeruláris apparátus interstíciumába, amely nemcsak a tubuloglomeruláris feedback mechanizmust és a glomeruláris filtrációt, hanem a renin háztartást is befolyásolja.

Az afferens arteriola fenesztrációjával magyarázatot adtunk arra is, hogy a renin hogyan szekretálódhat az interstíciumon kívül az afferens arteriola lumenébe. A renin tartalmú sejtekről kimutattuk, hogy egyik oldalról a Bowman-tok parietális lemezén található filtrációs réseken keresztül közvetlen kapcsolatba kerülnek a vizelet ürrel, az arteriola lumen felületén található endotheliális nanocsatornákon keresztül pedig a keringő plazmával. A nyomásviszonyok és folyadékmozgások iránya arra utal, hogy a JGA interstíciumába is jelentős mennyiségű renin kerülhet.

Igazoltuk, hogy az afferens arteriolában áramló plazma egy része nem kerül a glomerulusba, hanem az interstíciumba filtrálódik a renin-pozitív AA szakasz fenesztrált endotheliumán keresztül. A JGA interstíciumában található legnagyobb fluoreszcens intenzitás közel 20%-a az afferens arteriola üregében mért maximumnak.

A JGA területén a folyadékmozgás dinamikus, és a JGA funkciójának és az aktuális hemodinamikai történéseknek megfelelően változik. A JGA-ba három helyről kerülhet folyadék: 1. az afferens arteriolából, 2. az extraglomeruláris mezangiumba türemkedő Bowman-kapszulából, 3. a peritubuláris kapillárisokból. A döntő azonban az afferens arteriolából történő filtráció.

Az arterioláris filtráció intenzitása szoros korrelációt mutatott a quinacrine-nal jelzett renin-pozitív szakasz hosszával élő állapotban is. A fenesztrumok átmérője in vivo mintegy 20%-kal nagyobbaknak adódtak.

A filtráció követésére használt festék injekcióját követően a fluoreszcencia nemcsak a JGA interstíciumában vált láthatóvá, de a macula densát tartalmazó tubulus szakasz lumenében is, messze megelőzve a glomeruláris filtráció következményeként a disztális tubulusba érkező festék megjelenését. Izolált, perfundált JGA-preparátumban a proximális tubulus leszorítását követően pedig jelentős és reverzibilis volumennövekedés jött létre a Bowman-kapszulában, a JGA interstíciumában és a macula densában. A macula densa sejtek térfogata mintegy 60%-kal nőtt, miközben a hozzátartozó tubulus szakasz kitért. Sikerült igazolnunk tehát, hogy a JGA interstíciumából folyadék áramlik a macula densa tubuláris szakaszának lumenébe.

A juxtaglomeruláris apparátus újonnan feltárt morfológiai sajátosságainak kialakulási mechanizmusait vizsgálva megállapítottuk, hogy számos bonyolult rendszer – angiotenzin, VEGF, MAP-kináz, retinsav – együttesen biztosítja a működéshez szükséges aktuális struktúrát.

A juxtaglomeruláris apparátus feltárt morfológiai és funkcionális sajátosságai alapján leírtuk az új, glomeruláris filtrációt szabályozó „short loop” (vaszkulo-vaszkuláris, feed forward) mechanizmust.

A kutatásaink során számos, eddig nem ismert vesefelépítési és -működési jellegzetességet tártunk fel, új szabályozási mechanizmusokat írtunk le, illetve javasoltunk, amelyek további kérdéseket vetnek fel, és új kutatási irányokat jelölnek ki.

### *Jövőbeli kutatási irányok*

A monográfiában összefoglalt kutatási eredmények lehetővé tették, hogy a juxtaglomeruláris apparátussal és az afferens arteriolával kapcsolatos számos eddig fel nem ismert, vagy rosszul értelmezett összefüggést tisztázzunk, és új szabályozási mechanizmusokat írjunk le. Az új eredmények és megfigyelések azonban újabb kérdéseket és kutatási irányokat is felvetnek. Ezek közül az alábbiakban néhányat megemlítek.

Az élő állatban kimutatott fiziológiásan is jelen lévő, jelentős mennyiségű afferens arterioláris filtráció elkerülhetetlenül teszi a veseműködésről, a vesén belüli kompartmentek közötti folyadékáramlásról, -mozgásról alkotott nézeteink újragondolását. Újra kell értelmeznünk a vesében lezajló filtrációt, illetve meg kell határoznunk az arteriolás filtráció élettani jelentőségét és kórélettani következményét. Az elmúlt évtizedben tanúi voltunk annak, hogy miként változott meg egycsapásra a hipertonia patomechanizmusával és öröklődésével kapcsolatos elképzelésünk, amikor kiderült, hogy a vesében található glomerulusok száma különbözik attól, amit eddig több, mint fél évszázadon keresztül hirdettünk. Amióta tudjuk, hogy a normál populációban a glomerulusok száma 300-1700 ezer/vese között változik, azóta még a napi gyógyszeradagolás gyakorlatát is át kell gondolnunk, különösen a gerontológiai esetekben. Ugyanígy kiderülhet, hogy az általunk kimutatott afferens arterioláris filtráció – amelynek mértékét számos, a renin-angiotenzin rendszer aktivitását megváltoztató orvosi beavatkozás befolyásolja – megváltoztathatja a különböző renális parenchimális betegségek patomechanizmusával kapcsolatos elképzeléseinket. Vizsgálunk kell, hogy mi a jelentősége/szerepe ennek az arterioláris filtrációnak élettani körülmények között, illetve különböző betegségekben. Fel kell tárunk, hogy azoknak a gyógyszereknek, amelyek befolyásolják az arteriola szerkezetét és következményesen a filtrációt, változik-e ezáltal a hatásuk.

A glomeruláris filtráció szabályozásában részt vevő „short loop” mechanizmus részleteit és a mindennapi életben való szerepét ugyancsak meg kell ismernünk. Nem tudjuk, hogy milyen arányban működik együtt a tubuloglomeruláris feedback mechanizmussal. Nem tudjuk, hogy a renin-angiotenzin rendszer miként hat rá, illetve a pórusok számának növekedése hogyan befolyásolja a mechanizmust.

A leírt megfigyelések még bizonyos reninfüggő hipertóniák mechanizmusának magyarázatát is megváltoztathatják. Tisztázni kell, hogy a reninválasztásban és a reninnek a keringésbe kerülésében pontosan milyen szerepe van a fenesztrációnak. Lehet-e esetleg a fenesztrumokon keresztül, célzottan nanomedicinákat eljuttatni a renin granulált sejtekhez. Lehet-e ez egy új megközelítése a hipertónia patomechanizmusának és terápiájának.

Természetesen a fenti előrejelzés a közvetlen jövőre szól. Az orvosi és biológiai tudományok olyan gyorsan fejlődnek, hogy lehetetlen megjósolni a jövőt éppen úgy, mint ahogy például 100 éve, ismeretek hiányában, aligha tudták volna elképzelni, hogy mobiltelefonok, számítógépek lesznek, alapvetően megváltoztatva az emberi életvitel és fejlődés lehetőségeit. Abban azonban biztosak lehetünk, hogy a fejlődés nem áll meg, sőt ismereteink gyarapodásával egyre gyorsul. Eljön majd az idő, amikor az ember az afferens arteriolája endotheliális fenesztrációjának méretét éppen úgy előre megrendelheti, mint a kívánatos glomerulus számát, telomerjeinek hosszúságát, nem is beszélve egyéb méreteiről. Vajon ehhez is 100 év kell, vagy csak 50? Ki mondja meg?

### *Általános tanulságok*

A kutató munkája közben nemcsak a vizsgálat tárgyával kapcsolatban szerez új ismereteket, tapasztalatokat. Ezek közül a teljesség és fontossági sorrend nélkül hadd osszak meg néhányat a kedves olvasóval, hálából. Hogyha már idáig eljutott az olvasásban, azaz igen nagy munkát végzett, legyen belőle valami kézzelfogható haszna is.

A biológiai rendszerekben nem érvényesül az a fizikai, vagy politikai törvényszerűség, hogy minél nagyobb a kérdéses tömeg, annál nagyobb az erő, illetve a várható hatás. Néhány molekula vagy sejt igen nagy, akár végzetes hatású is lehet.

Csak a kezdők hihetik, hogy a kutatóknak félniük kell, mert egyre kevesebb lesz a megoldandó kérdés. Minél többet dolgozunk, minél jobban nő az ismereteink mennyisége, annál jobban átérezzük az alapvető ismeretelméleti törvény igazságát, hogy míg a tudásunk, illetve az ismeret mindenkor véges, addig az ismeretlen mindig végtelen. Azért, mert valaki már vizsgált egy tudományos kérdést, nem kell azt hinnünk, hogy ott már nincs keresnivalónk, hiszen a legegyszerűbb kérdések is a végtelenségig tágíthatók.

Ritka, hogy az eredmény valóban a hipotézisünket támasztja alá, mert az élet, hol bonyolultabb, hol pedig egyszerűbb, mint az váránk. A negatív eredmény is fontos, sőt bizonyos szempontok szerint igen pozitív.

A biológus- és az orvoskutatók között van egy jelentős különbség; míg a biológus egy légy szárnyának vizsgálatával boldogan eltölt akár egy egész életet, addig az orvosok még egy patkányon is az élet nagy kérdései megoldásáért harcolnak, mindig a betegségek patomechanizmusait, új gyógyítási eszközöket, a társadalom, illetve a betegek számára fontos dolgokat keresik; a kivétel erősíti a szabályt.

A mai, általánosan jellemző, kis kutatócsoportok rendszer feloldhatatlanul ellentétben van a specializálódásból, ismeretek bővüléséből következő, szükségszerűen növekvő együttműködési igényekkel. A kis csoportok közötti elkerülhetetlen harc a dicsőségért és egyben a megélhetésért, a tudományos támogatottságért, nemcsak a kutatókat, de még az eredményeket is deformálhatja, tehát veszélyes, nem fenntartható. Az új, minden területen egyre mélyülő képzés és tudás parancsolóan követeli a nagy kutatóközösségek kiépítését. Ma már nem ritka, hogy egy-egy genetikai probléma megoldásában, az eredmények közlésében akár több száz neves kutató, szakember is közösen vesz részt. Hogy ezek után miként történik majd a kutatók egyéni értékelése, támogathatóságának

mérése, az nem nyilvánvaló, azt a jövőn, a kutatás fenntartható fejlődésén dolgozóknak kell megoldaniuk.

Végezetül utoljára, de nem utolsósorban az élet-, az egyed- és a törzspejlődéstani évtizedes kutatások alapján leszűrhetem az örök tanulságot, hogy az élet gyorsan elszáll, de az apparátus – még ha juxtaglomeruláris is – marad.

## Köszönetnyilvánítás

A kutatásban szerencse és segítség nélkül nehéz lenne eredményeket elérni. Mindkettőben bőven volt részem. Hálás vagyok a sorsnak, hogy mindig, minden területen a szerencsések közé számíthattam magam. Köszönöm csodálatos szüleimnek, feleségemnek és gyermekeimnek, tanárainak, hogy mindig, mindenben segítettek, támogattak. Tisztelettel és szeretettel említem *Hársing László* profeszor urat, aki elindított és több mint 25 éven keresztül atyai gondoskodással támogatott. Csak a szerencse lehet az oka annak, hogy már 1979-ben közel egy évet tölthettem a Bergeni Egyetem Élettani Intézetében, a kiváló *Knut Aukland* profeszornál, majd 1981-től családommal együtt több évet *Gabriel L. Navar* intézetében a Birmingham Alabamai Egyetemen, később pedig *Roland Taugner* (Heidelbergi Egyetem), *Berry B. Brenner* és *Barbara Ballerman* professzoroknál (Harvard Egyetem). Valamennyiüktől sokat tanulhattam, mindnyájan maradandó hatást gyakoroltak rám, és befolyásolták sorsomat. Végezetül álljon itt azoknak a fiatal kollégáimnak neve, akik részben vagy egészben vezetésemmel szerezték PhD-fokozatukat, és akiknek munkája közvetlenül vagy közvetve, de összefüggésben van a monográfia tárgyával:

*Ender Ferenc*: A kísérletes anasztomózis gyógyulását segítő tényezők. (Kandidátusi értekezés), 1994, *Györfi Adrienne*: A szájíüregi neurogén gyulladás pathomechanizmusának vizsgálata patkányban. (Kandidátusi értekezés), 1995, *Vásárhelyi Barna*: A Na/K-ATP-áz enzim vizsgálata egészséges és beteg gyermekekben. 1998, *Peti Peterdi János*: A gyomorfal vérkeringésének hemodinamika viszonyai – Tanulmányok egy új patkánymodellen. 1998, *Vörös Péter*: Az anyagcsere-egyensúly és a vérnyomás jelentősége a diabeteses nephropathia pathogenezisében. 1998, *Hamar Péter*: A vese transzplantátum krónikus kilökődésének mechanizmusa. 1999, *Haris Ágnes*: A transztubuláris kálium grádiens (TTKG) jelentősége és alkalmazása vesebetegségekben. 1999, *Kovács Gábor*: Növekedési hormonok szerepe az uraemias zavar kezelésében. 1999, *Tóth-Heyn Péter*: A renális kallikrein-kinin rendszer szerepe az újszülött vese hemodinamikai szabályozásában. 1999, *Zsembery Ákos*: Az intracelluláris pH homeosztázisának szabályozása az intrahepatikus epeutak hámsejtjeiben. 1999, *Mózes Miklós*: A TGF- $\beta$ , BMP-7 és HIV renális hatása transzgenikus állatokban. 2000, *Mucsi István*: A TGF- $\beta$  intracelluláris jelátviteli mechanizmusa. 2000, *Rázga Zsolt*: Az intrarenális renin-angiotenzin rendszer morfológiai sajátosságai. 2000, *Huszár Tamás*: A mitogén aktiválta protein kináz kaszkádok szerepe az angiotenzin II intracelluláris jelátvitelében. 2001, *Jakab Gábor*: A calcitonin gene-related peptid (CGRP) szerepe a stressz-fekély és mikrocirkulációs zavarok kialakulásában. 2001, *Antus Balázs*: Az androgének szerepe a krónikus allograft nephropathia kialakulásában. 2002, *Hably Csilla*: A nitrogén monoxid szerepe a perctérfogat megoszlásában és az intrarenális vérkeringés szabályozásában különböző mértékű só- és vízfelvétel esetén. 2002, *Kovács Gergely*: Regulation of the apical Na-2Cl-K cotransporter in macula densa. 2003, *Lengyel Zoltán*: A nephropathia diabetica korai stádiumának kialakulásával összefüggő tényezők vizsgálata. 2006, *Masszi András*: A transforming growth factor- $\beta$ -indukálta epithelialis-mesenchymalis transzformáció intracelluláris szabályozása: a

RhoA G-protein és a  $\beta$ -catenin szerepe. 2006, *Terebessy Tamás*: Az angiotenzin II hatására bekövetkező „paradox” renin transzkripció fokozódás intracelluláris jelátvittele. 2006, *Kökény Gábor*: Molecular mechanisms of chronic experimental inflammatory renal diseases. 2007, *Sebe Attila*: Intracellular signaling pathways regulating alpha-smooth muscle actin expression in renal tubular cells during epithelial-mesenchymal transition. 2007, *Komlósi Péter*: Macula densa-dependent and non-macula densa-dependent signaling in the juxtaglomerular apparatus. 2008, *Sipos Arnold*: Advances in renal (patho)physiology using multifoton microscopy. 2009, *Dolgos Szilveszter*: Bone mineral density and associated changes after kidney transplantation. 2010, *Zóber Tamás Gábor*: Az angiotenzin II 1-es altípusú receptor (AT<sub>1</sub>R) vizsgálata pozitron emissziós tomográfiával. 2010.

Ők nem csak tanultak tőlem, de tanítottak is engem, és hozzájárultak az eredmények alakulásához.

## Összefoglalás

A szerző röviden áttekinti a juxtaglomeruláris apparátus felfedezésének érdekes történetét, illetve felépítésének és működésének molekuláris szintig terjedő részleteit. Leírja e filogenetikailag ősi szervecskével kapcsolatos új felfedezéseit, szép példát mutatva az élő szervezetre jellemző szoros morfológiai és funkcionális korrelációra. Górcső alá veszi a juxtaglomeruláris apparátussal kapcsolatos téves elképzeléseket, és bemutatja a háttérükben álló elméleti és gyakorlati kutatási nehézségeket. Ismerteti a legmodernebb módszerek – mint például az atomerő, illetve az in vivo multifoton lézermikroszkópia – felhasználásával feltárt, korábban fel nem ismerhető jelenségeket és kapcsolatokat, és felhívja a figyelmet arra, hogy ezek számos tankönyvi adatot, elfogadott elképzelést megkérdőjeleznek. Összefüggést keres az új és provokatív elméleti kutatási eredmények és a klinikai farmakológiai beavatkozások következményei között. Rávilágít arra, hogy a juxtaglomeruláris apparátus nemcsak résztvevője a só-vízháztartás és vérnyomás szabályozásnak, de szerepet játszhat jelentős népbetegségek patomechanizmusában is. Elemzi a jelenlegi kutatási irányokat, és kísérletet tesz a várható tudományos felfedezések előrejelzésére. Végezetül ismertet néhány – kutatói pályafutásából leszűrhető – általános tanulságot is.

# Irodalom

- [1] Golgi C.: Annotazioni intorno all'Istoria dei reni dell'uomo e di altri mammiferi e sull'Istogenesi dei canalicoli uriniferi. *Atti R Acad Naz Lincei Rediconti* 5: 324-342, 1889.
- [2] Peter K: Über die Nierenkanälchen des Menschen und einiger Säugetiere. *Anat. Anz.* 30: 117-127, 1907
- [3] Peter K: Untersuchungen über Bau und Entwicklung der Niere. Jena: Fischer, 1909 und 1927
- [4] Kriz W, Kaissling B: Anatomical and ultrastructural studies upon heterogeneity of nephrons in the rabbit kidney. *Proc. Int. Congr. Nephrol 7th Montreal*, 217-223, 1978
- [5] Ruyter JC: Über einen Merkwürdigen Abschnitt der vasa Afferentia in der Mäuseniere. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 2: 242-248, 1925
- [6] Oberling C: L'existence d'une housse neuro-musculaire au niveau des artères glomérulaires de l'homme. *C. R. Acad. Sci.* 184: 1200-1202, 1927
- [7] Okkels H: Sur l'existence d'une spécialisation morphologique au niveau du pôle vasculaire du glomérule renal chez la grenouille. *C. R. Acad. Sci.* 188: 193-195, 1929
- [8] Okkels H: Morphologie particulière du pôle vasculaire du glomérule renal chez la grenouille. *Bull. Histol. Appl.* 6: 113-118, 1929
- [9] Okkels H, Péterfi T: Beobachtungen über die Glomerulusgefäße der Froschniere. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 9: 327-331, 1929
- [10] Zimmermann KW: Über den Bau des Glomerulus der Säugenniere. *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* 32: 176-278, 1933
- [11] Goormaghtigh N: Les segments neuro-myo-artériels, juxtaglomérulaire du rein. *Arch. Biol.* 43: 575-591, 1932
- [12] Goormaghtigh N: L'appareil neuro-myo-arteriel juxtaglomérulaire du rein; ses réactions en pathologie et ses rapports avec le tube urinaire. *Compt. Rend. Soc. de Biol.* 124: 293-296, 1937
- [13] Goormaghtigh N: Facts in favour of an endocrine function of the renal arterioles. *J. Path. Bact.* 57: 392-393, 1945
- [14] Hársing L, Fonyódi S, László K, Takács G. Effect of hypertonic infusions on renal haemodynamics. *Acta Physiol Hung.* 1957;12(4): 351- 361.
- [15] Hársing L, Fonyódi S, Kabát M et al. Effect of phlorizin and of mercurial diuretics on renal haemodynamics. *Acta Physiol Hung.* 12(4): 363-371, 1957
- [16] Thureau K: Renal hemodynamics. *Am J. Med.* 36: 698-719, 1964
- [17] Taugner R, Hackenthal E, eds. Morphology of the Juxtaglomerular Apparatus. In: *The Juxtaglomerular Apparatus: Structure and Function*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 5-41, 1989
- [18] Rosivall L: Juxtaglomerular apparatus: morphological and functional correlations, *Nephrology, Hypertension, Dialysis, Transplantation*, szerk. Andreoli T. E., Ritz E., Rosivall L., Hungarian Kidney Foundation, Budapest, pp 45-54, 2005, második, átdolgozott kiadás, 2006
- [19] Hebert SC, Reilly RF, Kriz W: Structural-Functional Relationships in the Kidney. In: Schrier RW, (ed.). *Diseases of the Kidney and Urinary Tract*. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia, pp 3-59, 2001
- [20] Schnerman J, Briggs J: Function of the Juxtaglomerular Apparatus: Local Control of Glomerular Hemodynamics. In: Seldin DW, Giebisch G (eds.). *The Kidney*. Raven Press New York, pp 669-697, 1985
- [21] Bell PD, Lapointe JY, Peti-Peterdi J: Macula densa cell signaling. *Annu Rev Physiol.* 65: 481-500, 2003
- [22] Komlosi P, Bell PD, Zhang ZR. Tubuloglomerular feedback mechanisms in nephron segments beyond the macula densa. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 18(1):57-62, 2009
- [23] Peti-Peterdi J, Harris RC Macula densa sensing and signaling mechanisms of renin release. *J Am Soc Nephrol.* 21(7):1093-6, 2010



- [24] Kovacs G, Komlosi P, Fuson A, Peti-Peterdi J, Rosivall L, Bell PD: Neuronal nitric oxide synthase: its role and regulation in macula densa cells. *J Am Soc Nephrol.* 14 (10):2 475-83, 2003
- [25] Komlosi P, Frische S, Fuson AL, Fintha A, Zsembery A, Peti-Peterdi J, Bell PD.Characterization of basolateral chloride/bicarbonate exchange in macula densa cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 288(2):F380-6, 2005
- [26] Navar L.G., Rosivall L.: Contribution of the renin-angiotensin system to the control of intrarenal hemodynamics. *Kidney Int.* 25(6):857-868, 1984
- [27] Osswald H, Hermes HH, Nabakowski G. Role of adenosine in signal transmission of tubuloglomerular feedback. *Kidney Int Suppl* 12: S136–S142, 1982.
- [28] Brown R, Ollerstam A, Johansson B, Skott O, Gebre-Medhin S, Fredholm B, Persson AE. Abolished tubuloglomerular feedback and increased plasma renin in adenosine A1 receptor-deficient mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281: R1362–R1367, 2001.
- [29] Lai EY, Patzak A, Steege A, Mrowka R, Brown R, Spielmann N, Persson PB, Fredholm BB, Persson AE. Contribution of adenosine receptors in the control of arteriolar tone and adenosine-angiotensin II interaction. *Kidney Int* 70: 690–698, 2006
- [30] Carlstrom M, Wilcox CS, Welch WJ. Adenosine A(2A) receptor activation attenuates tubuloglomerular feedback responses by stimulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol -Renal Physiol* 300, F457-F464, 2011
- [31] Sipos A, Vargas S, Peti-Peterdi J.: Direct demonstration of tubular fluid flow sensing by macula densa cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 299:F1087-93, 2010
- [32] Barajas L: The juxtaglomerular apparatus: anatomical considerations in feedback control of glomerular filtration rate. *Fed Proc.* 40: 78-86, 1981
- [33] Taugner R, Rosivall L, Bührle CP, Gröschel-Steward U: Myosin content and vasoconstrictive ability of the proximal and distal (renin positive) segments of the preglomerular arteriole. *Cell Tissue Res.* 248 (3): 579-588, 1987
- [34] Rosivall L.: Morphology and function of the distal part of the afferent arteriole. *Kidney Int.* 38: Suppl. 30 pp. S10-S15, 1990
- [35] Rosivall L, Rázga Zs, Mirzahosseini S, Tornóci L: Endothelial permeability of the afferent arteriole and its changes as the results of alteration in the activity of renin – angiotensin system. *J. Am. Soc. Nephrol.* 10(Suppl. 11): 172-177, 1999
- [36] Rosivall L, Peti-Peterdi J, Rázga Zs, Fintha A, Bodor Cs, MirzaHosseini S: Renin-angiotensin system affects endothelial morphology and permeability of renal afferent arteriole. *Acta Physiologica Hungarica*, 94 (1-2, Guest Editor L. Rosivall): 7-17, 2007.
- [37] Casellas D. Methods for imaging Renin-synthesizing, -storing, and -secreting cells. *Int J Hypertens.* (PMC) pii: 298747, 2010
- [38] Casellas D, Moore LC. The juxtamedullary nephron preparation. *Methods Mol Med.* 86:413-27, 2003
- [39] Rosivall L, Taugner R: The morphological basis of fluid balance in the interstitium of the juxtaglomerular apparatus. *Cell Tissue Res.* 243(3):525-533, 1986
- [40] Rosivall L, Rázga Zs, Ormos J: Morphological characterization of human juxtaglomerular apparatus. *Kidney Int.* 32: S9-S12, 1991
- [41] Rosivall L, MirzaHosseini S, Toma I, Sípós A, Peti-Peterdi J: Fluid flow in the juxtaglomerular interstitium visualized in vivo. *AJP: Renal Physiology*, 291: F1241-1247, 2006
- [42] Rosivall L, Taugner R: Fluid balance in the interstitium of the Goomarghtigh cell field. in: *Juxtaglomerular apparatus and tubuloglomerular feedback mechanism.* eds.: A.E.G. Persson and U.Boberg. Fernström Foundation Series, Elsevier Science Publisher, Amsterdam, Vol. 11 pp. 39-50, 1988
- [43] Spanidis A, Wunsch H, Kaissling B, Kriz W.Three-dimensional shape of a Goormaghtigh cell and its contact with a granular cell in the rabbit kidney. *Anat Embryol (Berl).* 165(2):239-52, 1982
- [44] Pupilli C, Gomez RA, Tuttle JB, Peach MJ, Carey RM. Spatial association of renin-containing cells and nerve fibers in developing rat kidney. *Pediatr Nephrol.* Nov;5(6):690-5, 1991

- [45] Liu L, Barajas L. The rat renal nerves during development. *Anatomy and Embryology*. 188(4):345–361, 1993
- [46] Rosivall L.: A glomerulusok morfológiája. *NEPHROLOGIA, Elmélet és klinikum, dialízis, transzplantáció*, szerk. Rosivall L., Kiss I., *Medintel Kiadó* Budapest, pp 12-18, 2003.
- [47] Rosivall L., Casellas D.: A vese vérellátása. *NEPHROLOGIA, Elmélet és klinikum, dialízis, transzplantáció*, szerk. Rosivall L., Kiss I., *Medintel Kiadó* Budapest, pp 5-11, 2003.
- [48] Makino H, Hironaka K, Shikata K, Nagake Y, Kumagai I, Kashihara N, Ota Z: Mesangial matrices act as mesangial channels to the juxtaglomerular zone. *Nephron* 66:181-188, 1994
- [49] Lee S, Vernier RL: Immunoelectron microscopy of the glomerular mesangial uptake and transport of aggregated human albumin in the mouse. *Lab Invest* 42:44-48, 1988
- [50] Welsh GI, Saleem MA. Nephhrin-signature molecule of the glomerular podocyte? *J Pathol*. 220(3):328-37, 2010
- [51] Relle M, Cash H, Brochhausen C, Strand D, Menke J, Galle PR, Schwarting A. New perspectives on the renal slit diaphragm protein podocin. *Mod Pathol*. 24(8):1101-10, 2011
- [52] Babayeva S, Zilber Y, Torban E. Planar cell polarity pathway regulates actin rearrangement, cell shape, motility, and nephrin distribution in podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol*. 300(2):F549-60, 2011
- [53] Kim EY, Suh JM, Chiu YH, Dryer SE. Regulation of podocyte BK(Ca) channels by synaptopodin, Rho, and actin microfilaments. *Am J Physiol Renal Physiol*. 299(3):F594-604, 2010
- [54] Oberleithner H, Peters W, Kusche-Vihrog K, Korte S, Schillers H, Kliche K, Oberleithner K. Salt overload damages the glycocalyx sodium barrier of vascular endothelium. *Pflugers Arch*. 462:519-528, 2011
- [55] Jeansson M, Haraldsson B. Morphological and functional evidence for an important role of the endothelial cell glycocalyx in the glomerular barrier. *Am J Physiol Renal Physiol* 290: F111–F116, 2006.
- [56] Singh A, Satchell SC, Neal CR, McKenzie EA, Tooke JE, Mathieson PW. Glomerular endothelial glycocalyx constitutes a barrier to protein permeability. *J Am Soc Nephrol* 18: 2885–2893, 2007.
- [57] Neal CR, Crook H, Bell E, Harper SJ, Bates DO. Three-dimensional reconstruction of glomeruli by electron microscopy reveals a distinct restrictive urinary subpodocyte space. *J Am Soc Nephrol* 16: 1223–1235, 2005
- [58] Salmon AH, Toma I, Sipos A, Muston PR, Harper SJ, Bates DO, Neal CR, Peti-Peterdi J. Evidence for restriction of fluid and solute movement across the glomerular capillary wall by the subpodocyte space. *Am J Physiol Renal Physiol*. 293(6):F1777-86, 2007
- [59] Navar L.G., Evan A.P., Rosivall L.: Microcirculation of the Kidneys. in: *Physiology and Pharmacology of Microcirculation* ed. by Mortillaro N.A., Academic press, New York, Vol. 1, pp. 394-488, 1983.
- [60] Rosivall L.: Vesekeringés és glomerularis hemodinamika. *NEPHROLOGIA, Elmélet és klinikum, dialízis, transzplantáció*, szerk. Rosivall L., Kiss I., *Medintel Kiadó* Budapest, pp 43-65, 2003.
- [61] Hope A., Clausen G., Rosivall L.: Total and local renal blood flow and filtration in the rat during reduced renal arterial blood pressure. *Acta Phys. Scand*. 113(4):455-463, 1981.
- [62] Rosivall L., Youngblood P., Navar L.G.: Renal autoregulatory efficiency during angiotensin converting enzyme inhibition in dogs on a low sodium diet. *Renal Physiol*. 9(1-2):18-28, 1986.
- [63] Dautzenberg M, Keilhoff G, Just A. Modulation of the Myogenic Response in Renal Blood Flow Autoregulation by NO Depends on eNOS, but not nNOS or iNOS. *J Physiol*. 589(Pt 19):4731-4744, 2011
- [64] Cupples WA, Braam B. *Am J Physiol Renal Physiol*. Assessment of renal autoregulation. 292(4):F1105-23, 2007
- [65] Szabó Gy, Pósch E., Rosivall L., Fazekas Á., Hársing L.: Renal blood flow during ureteral obstruction measured with <sup>133</sup>Xe wash out, <sup>86</sup>Rb uptake techniques and with an electromagnetic flowmeter. *Pflügers Arch*. 367(1):33-36, 1976.

- [66] Hayashi K, Wakino S, Sugano N, Ozawa Y, Homma K, Saruta T. Ca<sup>2+</sup> channel subtypes and pharmacology in the kidney. *16;100(3):342-53*, 2007
- [67] Seeliger E, Wronski T, Ladwig M, Dobrowolski L, Vogel T, Godes M, Persson PB, Flemming B. The renin-angiotensin system and the third mechanism of renal blood flow autoregulation. *Am J Physiol Renal Physiol.* 296(6):F1334-45. 2009
- [68] Sipos A, Vargas S, Peti-Peterdi J. Direct demonstration of tubular fluid flow sensing by macula densa cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 299: F1087-93, 2010.
- [69] Peti-Peterdi J, Toma I, Sipos A, Vargas SL. Multiphoton imaging of renal regulatory mechanisms. *Physiology (Bethesda).* 24:88-96, 2009.
- [70] Barajas L, Latta H: A three-dimensional study of juxtaglomerular apparatus in the rat. *Lab. Invest.* 12: 257-269, 1963
- [71] Bucher O, Reale E: Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung der juxtaglomerulären Spezialeinrichtungen der Niere. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 54: 167-181, 1961
- [72] Faarup P: On the morphology of the juxtaglomerular apparatus. *Acta Anat.* 60: 20-38, 1965
- [73] Thones W: Zur Feinstruktur der Macula Densa im Nephron der Maus. *Z. Zellforsch.* 55: 486-499, 1961
- [74] Oberling C, Hatt PY: Etude de l'appareil juxtaglomerulaire du rats au microscope électronique. *Ann. Anat. Pathol.* 5: 441-474, 1960
- [75] Rosivall L., Peti Peterdi J.: Heterogeneity of the Afferent Arteriole – Correlations between Morphology and Function. *Nephrol Dial Transplant*, 21 (10): 2703-7, 2006.
- [76] Rosivall L, Rinder DF, Champion J, Khosla MC, Navar LG, Oparil S: Intrarenal angiotensin I conversion at normal and reduced renal blood flow in the dog. *Am J Physiol.* 1983 Sep; 245 (3): F408-15.
- [77] Rosivall L, Navar LG: Effects on renal hemodynamics of intra-arterial infusions of angiotensins I and II. *Am J Physiol.* 1983 Aug; 245 (2): F181-7.
- [78] Rosivall L, Narkates AJ, Oparil S, Navar LG: De novo intrarenal formation of angiotensin II during control and enhanced renin secretion. *Am J Physiol.* 1987 Jun; 252 (6 Pt 2): F1118-23.
- [79] Bührle CP, Rosivall L, Taugner R: Intrarenal generation of angiotensin II evaluated by an electrophysiological technique. *Am J Physiol.* 1987 Apr; 252 (4 Pt 2): F635-44.
- [80] Binnig G, Quate C.F. and Gerber C. Atomic Force Microscope. *Phys. Rev. Lett.* 56, 930–933 (1986)
- [81] Gomez RA, Chevalier RL, Sturgill BC, et al. Maturation of the intrarenal renin distribution in Wistar-Kyoto rats. *J Hypertens.* 1986; 4:s31–s33.
- [82] Sequeira Lopez ML, Pentz ES, Robert B, et al. Embryonic origin and lineage of juxtaglomerular cells. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001; 281: F345–F356.
- [83] Sequeira Lopez ML, Pentz ES, Nomasa T, et al. Renin cells are precursors for multiple cell types that switch to the renin phenotype when homeostasis is threatened. *Dev Cell.* 2004; 6: 719–728.
- [84] Leyssac PP: Micropuncture study of renin release at the single nephron level: Evidence for some release directly into the circulating blood. *Renal Physiol.* 1: 61-73, 1979
- [85] Boyden S. The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes. *J Exp Med* 115:453-66, 1962
- [86] Bodor C, Nagy JP, Végh B, Németh A, Jenei A, MirzaHosseini S, Sebe A, Rosivall L. Angiotensin II increases the permeability and PV-1 expression of endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 302:C267-C276, 2012.
- [87] Jorgensen F. The Ultrastructure of the Normal Human Glomerulus. Copenhagen, Denmark: *Munksgaard*, 1966.
- [88] Breier G, Albrecht U, Sterrer S, Risau W. Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation. *Development* 114: 521–532, 1992.
- [89] Roberts WG, Palade GE. Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor. *J Cell Sci* 108: 2369–2379, 1995.

- [90] Esser S, Wolburg K, Wolburg H, Breier G, Kurzchalia T, Risau W. Vascular endothelial growth factor induces endothelial fenestrations in vitro. *J Cell Biol* 140: 947–959, 1998.
- [91] Brown LF, Berse B, Tognazzi K, Manseau EJ, Van de Water L, Senger DR, Dvorak HF, Rosen S. Vascular permeability factor mRNA and protein expression in human kidney. *Kidney Int* 42: 1457–1461, 1992.
- [92] Shibuya M, Claesson-Welsh L. Signal transduction by VEGF receptors in regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Exp Cell Res* 312:549-60, 2006.
- [93] Rizkalla B, Forbes JM, Cooper ME et al. Increased renal vascular endothelial growth factor and angiopoietins by angiotensin II infusion is mediated by both AT1 and AT2 receptors. *J Am Soc Nephrol* 14: 3061–3071, 2003.
- [94] Unemori EN, Erikson ME, Rocco SE et al. Relaxin stimulates expression of vascular endothelial growth factor in normal human endometrial cells in vitro and is associated with menometrorrhagia in women. *Human Reproduction* 14: 800–806, 1999.
- [95] Unemori EN, Lewis M, Constant J et al. Relaxin induces vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis selectively at wound sites. *Wound Repair Regen* 8: 361, 2000.
- [96] Poisner AM, Thraillkill K, Poisner R et al. Relaxin stimulates the synthesis and release of prorenin from human decidual cells: evidence for autocrine/paracrine regulation. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 1765–1767, 1990.
- [97] Tiruppathi C, Malik A B, Del Vecchio P J, Keese C R, Giaever I. Electrical method for detection of endothelial cell shape change in real time: Assessment of endothelial barrier function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89: 7919–7923, 1992.
- [98] Nagai T, Yokomori H, Yoshimura K, Fujimaki K, Nomura M, Hibi T, Oda M. Actin filaments around endothelial fenestrae in rat hepatic sinusoidal endothelial cells. *Med Electron Microsc* 37:252-5, 2004.
- [99] Braet F, De Zanger R, Jans D, Spector I, Wisse E. Microfilament-disrupting agent latrunculin A induces and increased number of fenestrae in rat liver sinusoidal endothelial cells: comparison with cytochalasin B. *Hepatology* 24:627-35, 1996.
- [100] Oda M, Kazemoto S, Kaneko H, Yokomori H, Ishii K, Tsukada N, Watanabe N, Suematsu M, Tsuchiya M. Involvement of Ca<sup>++</sup>-calmodulin-actomyosin system in the contractility of hepatic sinusoidal endothelial fenestrae. *Cells of the Hepatic Sinusoid* 4 p. 174–178, 1993.
- [101] Wisse E, Van Dierendonck JH, De Zanger RB, Fraser R, McCuskey RS. On the role of the liver endothelial filter in the transport of particulate fat (chylomicrons and their remnants) to parenchymal cells and the influence of certain hormones on the endothelial fenestrae. *Communications of Liver Cells* p. 195–200, 1980.
- [102] Charels K, De Zanger R, Van Bossuyt H, Van Der Smissen P, Wisse E. Influence of acute alcohol administration on endothelial fenestrae of rat livers: An in vivo and in vitro scanning electron microscopic study. *Cells of the Hepatic Sinusoid* 1 p. 497–502, 1986.
- [103] Andrews PM. Investigations of cytoplasmic contractile and cytoskeletal elements in the kidney glomerulus. *Kidney Int* 20: 549–562, 1981.
- [104] Miron T, Vancompernelle K, Vandekerckhove J, Wilchek M, Geiger B. A 25-kD inhibitor of actin polymerization is a low molecular mass heat shock protein. *J Cell Biol* 114:255-61, 1991.
- [105] Stan RV, Kubitzka M, Palade GE. PV-1 is a component of the fenestral and stomatal diaphragms in fenestrated endothelia. *Proc Natl Acad Sci* 96: 13203–13207, 1999.
- [106] Bearer EL, Orc L. Endothelial Fenestral Diaphragms: a quick-freeze, deep-etch study. *The Journal of Cell Biology*, 100: 418-428, 1984.
- [107] Ichimura K, Stan RV, Kurihara H, Sakai T. Glomerular endothelial cells form diaphragms during development and pathologic conditions. *J Am Soc Nephrol* 19: 1463–1471, 2008.
- [108] Bankston PW, Pino RM. The development of the sinusoids of fetal rat liver: morphology of endothelial cells, Kupffer cells, and the transmural migration of blood cells into the sinusoids. *Am J Anat* 159: 1–15, 1980.
- [109] Stan RV, Tkachenko E, Niesman IR. PV1 is a key structural component for the formation of the stomatal and fenestral diaphragms. *Mol Biol Cell* 15: 3615–3630, 2004.

- [110] Gatmaitan Z, Varticovski L, Ling L, Mikkelsen R, Steffan AM, Arias IM. Studies on fenestral contraction in rat liver endothelial cells in culture. *Am J Pathol* 148:2027-41, 1996.
- [111] Yamamoto I, Horita S, Takahashi T, Tanabe K, Fuchinoue S, Teraoka S, Hattori M, Yamaguchi Y. Glomerular expression of plasmalemmal vesicle-associated protein-1 in patients with transplant glomerulopathy. *Am J Transplant* 7: 1954–1960, 2007.
- [112] Sun H, Breslin JW, Zhu J, Yuan SY, Wu MH. Rho and ROCK signaling in VEGF-induced microvascular endothelial hyperpermeability. *Microcirculation* 13:237-47, 2006.
- [113] Kriz W. Fenestrated glomerular capillaries are unique. *J Am Soc Nephrol* 19:1439-40, 2008.
- [114] Wagner J, Dechow C, Morath C, Lehrke I, Amann K, Waldherr R, Floege J, Ritz E. Retinoic acid reduces glomerular injury in a rat model of glomerular damage. *J Am Soc Nephrol* 11:1479-87, 2000.
- [115] Liebler S, Uberschär B, Kübert H, Brems S, Schnitger A, Tsukada M, Zouboulis CC, Ritz E, Wagner J. The renal retinoid system: time-dependent activation in experimental glomerulonephritis. *Am J Physiol Renal Physiol* 286: F458-65, 2004.

Dr. Rosivall László Budapesten született 1949-ben. 1973-ban szerzett orvosi diplomát (summa cum laude) a Semmelweis Orvostudományi Egyetemen. 1980-ban kandidátusi, 1987-ben pedig a tudományok doktora (akadémiai doktori) címet szerzett. 1994/95-ben a Semmelweis Egyetem rektora volt. Jelenleg a Kórélettani Intézet igazgatója, a Semmelweis Egyetem Elméleti Orvostudományok Doktori Iskolájának vezetője. Az Európai Tudományos és Művészeti Akadémia rendes tagja, a Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem díszdoktora. A bergeni, az alabamai, a dél-kaliforniai, a Harvard, a montpellier-i, a heidelbergi, a Tulane Egyetemek korábbi vendégkutatója, vendégprofesszora. A Magyar Vese Alapítvány és a Nemzetközi Nephrologiai Iskola alapítója. Nephrologiai PhD programjában eddig 41 PhD végzett, ebből 26-nak ő volt a témavezetője. Ezenkívül irányításával 2 kandidátusi disszertáció is született.

Érdeklődési területe a veseműködés és a vérnyomás-szabályozás élet- és kórélettana, a molekuláris szinttől a betegekig terjed. Többek között új modellt dolgozott ki az intrarenalis mikrocirkuláció felépítésére. Nevéhez fűződik a glomeruláris filtrációt szabályozó „short-loop” mechanizmus leírása. A gyomorfal mikrocirkulációjának vizsgálatára először alkalmazta a mikropunciót, és mérte meg a kettős kapilláris rendszerben a filtrációs és a reszorpciós erőket. Elsőként ismerte fel és írta le az endothelialis nanocsatornákat a renalis afferens arteriola distalis szakaszán kísérleti emlőslátokban, illetve emberben. Imaging technikával élő állatban először tette láthatóvá e nanocsatornákat, és mutatta ki, hogy a filtráció ezeken keresztül már a glomerulus előtt is jelentős. Kutatási eredményei alapján újraértelmezte a juxtaglomeruláris apparatus morfológiáját és funkcionális jelentőségét.

A Nemzetközi Kórélettani Társaság kincstárnoka, a Nemzetközi Nephrologiai Társaság, valamint a Vesealapítványok Nemzetközi Szövetség vezetőségi tagja. A Magyar Hypertonia Társaság Tudományos Bizottságának elnöke, az Élettani Társaság és a Nephrologiai Társaság vezetőségi tagja.

Szerkesztő Bizottsági tagja 10 nemzetközi és 5 hazai tudományos folyóiratnak. Az International Nephrology és az Acta Physiologica Hungarica társszerkesztője.

Az Egészségügyi Tudományos Tanács Nephrologia, Hypertonia, Pulmonológiai Bizottság elnöke, MTA Doktori Bizottság tagja, számos nemzetközi és hazai kongresszus szervező és/vagy tudományos elnöke, Magyar Ösztöndíj Bizottság Orvos- és Egészségtudományi Szakkollégium elnöke, Nemzeti Fenntartható Fejlődési Tanács tagja és a Szociális és Egészségügyi Munkabizottság elnöke. Korábban az OTKA Élettani Bizottság tagja, titkára, elnöke, kollégiumi tagja.

Számos elismerésben részesült. Többek között: Fazekas Mihály érem, Jendrassik-díj, Miniszteri dicséret, Kiváló diákköri vezető, Széchenyi-ösztöndíj, Gömöri Pál emlékérem, SOTE PhD Iskola emlékérem, Magyar Egészségügyi Társaság emlékérem, Vanderbilt Egyetem „Dean Medal”, Nemzetközi Nephrologiai Társaság elnöki külön diploma, Kiváló PhD oktatói díj, Török Eszter emlékérem, Hans Selye Visiting Professori elismerés, Magyar Nephrologiai Társaság Korányi Sándor-díj, Debreceni Egyetem Nephrologiai Tanszék elismerő oklevél, OTKA Ipolyi Arnold-díj.

Eredeti közleményeinek száma 135 (ebből magyar nyelvű: 32), összes impakt faktor: 287, összes idézettség: 1838. Szerkesztett egy nemzetközi, egy hazai szakkönyvet és két nemzetközi folyóirat szupplementumot. Összesen 53 tudományos, 15 tankönyvi és 7 egyetemi jegyzet fejezetet írt. Szabadalmainak száma 2.

A kiadvány megjelenését a TÁMOP-4.2.3/08/1/KMR-2008-0003  
Semmelweis Egyetem Piramis Projekt támogatta



**Semmelweis Egyetem  
PIRAMIS PROJEKT**

Tudományos ismeretterjesztés és tehetséggondozás  
a tudásalapú társadalomért



Nemzeti Fejlesztési Ügynökség  
www.ujszechenyiterv.gov.hu  
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.