

## فیزیولوژی غلظت ادرار: یک به روز رسانی

### مقدمه

کلیه پستانداران، اسمولالیت پلاسماي خون را تقريباً ثابت نگه می دارد و غلظت سدیم پلاسماي خون را با استفاده از مکانیسم هایی تقريباً ثابت نگه می دارد که به طور مستقل دفع آب و سدیم را تنظیم می کند. از آنجا که بسیاری از پستانداران دسترسی مداوم به آب ندارند، قابلیت تغییر دفع آب می تواند برای بقا ضروری باشد. از آنجا که سدیم و آنیونهای آن، ترکیبات اسمزی اصلی پلاسماي خون هستند و غلظت های پایدار الکترولیت نیز ضروری می باشند، دفع آب باید توسط مکانیسمهایی تنظیم شود که آن را از دفع سدیم جدا می کند. مکانیسم تغلیظ ادرار، نقش اساسی را در تنظیم دفع آب و سدیم ایفا می کند. هنگامی که مصرف آب برای رقیق نمودن پلاسماي خون به اندازه کافی بزرگ باشد، ادرار رقیق تر از پلاسماي خون تولید می شود. هنگامی که مصرف آب آنقدر کوچک است که پلاسماي خون تغلیظ می شود، ادرار غلیظ تر از پلاسماي خون تولید می شود. در هر دو مورد، میزان دفع املاح ادراری کل و سرعت دفع ادراری سدیم کوچک هستند و به طور معمول در محدوده باریک متغیر می باشند.

در تضاد با دفع املاح، اسمولالیت ادرار به طور گسترده ای در پاسخ به تغییرات در میزان مصرف آب متغیر است. پس از چند ساعت بدون مصرف آب، مانند خواب شبانه، اسمولالیت ادرار انسان ممکن است به  $1,200 \text{ mOsm/kg}$  ~  $\text{H}_2\text{O}$  ، در حدود 4 برابر اسمولالیت پلاسما ( $290 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$ ) افزایش یابد. در مقابل، اسمولالیت ادرار ممکن است به سرعت پس از مصرف مقدار زیادی از آب کاهش یابد، مانند آنچه معمولاً در صبحانه رخ می دهد، اسمولالیت ادرار انسان (و دیگر پستانداران) ممکن است تقريباً به  $50 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$  کاهش یابد. اکثر مطالعات فیزیولوژیک مربوط به ساز و کار تغلیظ ادرار در گونه ها (چونندگان، خرگوش) انجام شده است که می توانند به

حداکثر اسمولیت‌های ادرار بالاتر از انسان برسند. به عنوان مثال، خرگوش‌ها می‌توانند تا  $1,400 \text{ mOsm/kg}$   $\text{H}_2\text{O}$ ، موش‌های صحرایی تا  $3,000 \text{ mOsm/kg}$   $\text{H}_2\text{O}$ ، موش‌ها و همسترها تا  $4,000 \text{ mOsm/kg}$   $\text{H}_2\text{O}$ ، و نوعی جانور جونده تا  $7,600 \text{ mOsm/kg}$   $\text{H}_2\text{O}$  (که در [1] بررسی شده است) تغلیظ شود.

همه کلیه‌های پستانداران یک گرادیان اسمزی را حفظ می‌کنند که از مرز کورتیو-مدولاری به نوک مدولا (نوک برآمدگی) افزایش می‌یابد. این گرادیان اسمزی حتی در ادرار پایدار می‌شود، اگر چه دامنه آن نسبت به آنتی دیورسیس کاهش می‌یابد [2؛ 3].  $\text{NaCl}$  یکی از ترکیبات عمده گرادیان اسمزی در بخش مدولای بیرونی است، در حالی که  $\text{NaCl}$  و اوره، اجزای تشکیل دهنده اصلی در مدولا درونی هستند [2؛ 3]. این قشر، تقریباً هم‌نوا با پلاسماست، در حالی که نوک مغزی (برآمدگی) نوک داخلی، هیپرتونیک به پلاسماست، و دارای اسمولالیت‌های مشابه با ادرار در طول آنتی دیورسیس است [4]. سدیم و پتاسیم که با آنیون‌های یک ظرفیتی همراه می‌شود و اوره، املاح عمده ادراری هستند؛ اوره به طور معمول املاح ادراری غالب در طول آنتی دیورسیس قوی است [2؛ 3].

مکانیسم‌های کنترل مستقل دفع آب و سدیم عمدتاً در مدولا کلیه گنجانده شده‌اند. بخش‌های نفرون مدولاری و موجی در روابط آناتومیک پیچیده اما خاص، از نظر پیکربندی سه بعدی و از نظر اینکه کدام بخش‌ها به کدام بخش‌ها متصل می‌شوند مرتب می‌شوند. تولید ادرار غلیظ شده شامل فعل و انفعالات پیچیده در میان بخش‌های نفرون مدولاری [5؛ 6] و عروق خونی می‌شود. در مدولای بیرونی، اندام‌های صعودی ضخیم از حلقه‌های  $\text{Henle}$  به طور فعال در  $\text{NaCl}$  دوباره جذب می‌شوند. این مورد برای دو نقش حیاتی به کار گرفته می‌شود: رقیق شدن مایع مجرای؛ و فراهم نمودن  $\text{NaCl}$  برای افزایش اسمولالیت‌های میان بافتی مدولاری، پارس رکتا، اندام نزولی، عروق و جمع‌آوری مجاری. هر دو بخش نفرون و مجراها در یک پیکربندی مخالف مرتب می‌شوند و در نتیجه تولید یک شیب اسمولالیت‌های مدولاری در امتداد محور کورتیکو-مدولاری تسهیل می‌شود. در مدولا داخلی، اسمولالیت‌های هم‌چنان رو به افزایش می‌گذارد، اگر چه منبع اثر تغلیظ مورد بحث است. پذیرفته‌ترین مکانیسم، بازجذب غیر فعال  $\text{NaCl}$  باقی‌مانده، در اضافه ترشح، از اندام‌های نازک و صعودی حلقه‌های  $\text{Henle}$  [7؛ 8] می‌باشد.

مطالعات توبول تزریقی، پایه و اساس بسیاری از نظریه ها در مورد چگونگی تولید ادرار غلیظ شده را ارائه نموده اند (که در [1] بررسی شده است). شبیه سازی بسیاری از پروتئین ها که واسطه نقل و انتقال اوره، سدیم و آب در بخش های نفرون هستند که برای غلظت ادراری و رقت مهم هستند، بینش های اضافی به مکانیزم تغلیظ ادرار (شکل 1) را فراهم نموده است. به طور کلی، پروتئین های نقل و انتقال اوره، سدیم، و آب به شدت خاص هستند و به نظر می رسد اساس مولکولی برای کشیدن حلال را از بین می برند؛ این به طور خاص نشان می دهد که ضرایب انعکاس باید 1 باشند [1]. برای بررسی دقیق این خصوصیات نقل و انتقال، خواننده به [1] ارجاع داده می شود.

## ویژگی های کلی مکانیسم تغلیظ

### ضرب جریان مخالف

ضرب جریان مخالف به فرایندی اشاره می کند که به واسطه آن یک تفاوت اسمولالیتیه کوچک، در هر سطح از مدولای بیرونی، بین جریان های سیال در اندام های صعودی و نزولی حلقه های Henle، در پیکربندی جریان مخالف برای ایجاد یک تفاوت اسمولالیتیه محوری بزرگ ضرب می شود. این تفاوت محوری غالباً به عنوان شیب اسمولالیتیه کورتیو-مدولاری ارجاع داده می شود، زیرا در امتداد محور کورتیکو-مدولاری توزیع می شود. شکل 2، اصل ضرب جریان مخالف را نشان می دهد. پانل های شکل، یک شماتیک از یک حلقه کوتاه Henle را نشان می دهد. کانال سمت چپ نشان دهنده اندام نزولی است در حالی که کانال سمت راست نشان دهنده اندام صعودی ضخیم است. مانع نفوذ ناپذیر-آب، دو کانال را جدا می کند. فلش های عمودی، جریان رو به پایین و کانال سمت چپ و جریان رو به بالای کانال سمت راست را نشان می دهد. فلش های افقی (با جهت-چپ)، نقل و انتقال فعال املاح کانال را کانال راست به چپ نشان می دهد. اسمولالیتیه مایع موضوعی توسط شماره های درون کانال ها نشان داده می شود. پانل های پی در پی نشان دهنده دوره فرآیند ضرب است.

حلقه شماتیک با مایع ایزومولار در سراسر (پانل A از شکل 2) شروع می شود. در پانل B، املاح کافی توسط یک مکانیسم انتقال فعال برای ایجاد یک تفاوت اسمولالیتیه  $20 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$  بین جریان های صعودی و نزولی در

هر سطح پمپاژ می شود. این تفاوت اسمولالیتة کوچک، که در عرض جریان قرار دارد، "اثر تک" ارجاع داده می شود. مقادیر اسمولالیتة بعد از همرفت مایع از نیمه راه املاح به سمت پایین کانال چپ و نیمه راه به سمت بالای کانال سمت راست در پنل C نشان داده شده است. در پانل D، یک تفاوت اسمولالیتة  $20 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$  دوباره توسط مکانیزم انتقال فعال ایجاد شده است و مایع مجرای نزدیک خمش حلقه به اسمولالیتة بالاتر از پانل A رسیده است. یک اسمولالیتة به تدریج بالاتر در خمش حلقه توسط تکرار های پی در پی این فرایند به دست می آید. یک تفاوت اسمولالیتة بزرگ در امتداد جهت جریان تولید می شود، همانطور که در پانل E نشان داده شده است که در آن اسمولالیتة در قوس حلقه تقریباً  $300 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$  بالاتر از اسمولالیتة مایع ورودی به حلقه است. بنابراین، یک تفاوت  $20 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$ ، "اثر تک"، از نظر محوری در طول حلقه با فرآیند ضرب جریان مخالف ضرب شده است.

در حلقه های کوتاه Henle، فرآیند ضرب جریان مخالف شبیه به فرایند نشان داده شده در شکل 2 است. مایع لوله ای در حال ظهور از پایان توبول پروگزیمال و ورودی به مدولای بیرونی، هم نوا با پلاسما است (حدود  $290 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$ ). این مایع لوله هنگام عبور از طریق توبول پروگزیمال مستقیم (پارس رکتا) و روی اندام نزولی نازک حلقه Henle تغلیظ می شود. اسمولالیتی مایع لوله ای به اسمولالیتة حدود دو برابر پلاسمای خون در خم حلقه Henle می رسد. سپس این مایع هنگام جریان به سمت بالای اندام صعودی ضخیم مدولاری از حلقه Henle رقیق می شود، به طوری که مایع لوله ای در حال ظهور از این بخش نفرون هایپو-اسموتیک تا پلاسما است. اندام صعودی ضخیم تقریباً نفوذ ناپذیر به آب است و هیچ پروتئین آکوپورین در این بخش نفرون تشخیص داده نشده است (بررسی در [1]). اندام صعودی ضخیم نفوذپذیری کمی به  $\text{NaCl}$  دارد، اما با اشتیاق،  $\text{NaCl}$  را از لومن لوله ای به فضای میان بافتی مدولاری با یک مکانیسم نقل و انتقال فعال انتقال می دهد.

### تبادل جریان مخالف

جریان خون به مدولا، نزولی و صعودی، در یک پیکربندی جریان-مخالف متصل شده توسط یک شبکه مویرگی مرتب می شود. شریان های مستقیم کلیه، تعادل اسمزی را از طریق ترکیبی از جذب آب و ترشح املاح به دست می

آورند، زیرا آنها آزادانه به آب، اوره و سدیم نفوذپذیر هستند [9]. شریان های مستقیم نزولی کلیه، آب را آزاد می کنند و املاح را جذب می کنند و در عین حال که شریان های مستقیم صعودی کلیه آب را به دست می آورند و املاح را آزاد می کنند. تبادل آب و املاح بین شریان های مستقیم نزولی و صعودی کلیه و بافت میان بافتی اطراف "تبادل جریان مخالف" ارجاع داده می شود.

تبادل جریان مخالف باید بسیار کارآمد باشد تا یک ادرار غلیظ تولید شود زیرا مایع هیپوتونیک حمل شده به مدولا و مایع هیپرتونیک حمل شده دور از مدولا، هر یک تمایل به اتلاف کار ضرب جریان مخالف دارند. بنابراین، جریان شارش یافته از طریق شریان های مستقیم کلیه باید به نزدیکی تعادل اسمزی با بافت میان بافتی پیرامون در هر سطح مدولاری برسند و به منظور به حداقل رساندن کار هدر رفته، مایع ورودی به قشر از شریان های مستقیم صعودی کلیه باید به اسمولالیتیه نزدیک به اسمولیتیه پلاسمای خون برسد. شرایطی که باعث کاهش جریان خون مدولا می شوند، مانند کاهش حجم، بهبود توانایی تغلیظ ادرار و بهره وری تبادل جریان مخالف با میسر نمودن زمان بیشتری برای آزادسازی خون در شریان های مستقیم کلیه صعودی به املاح و دستیابی به تعادل اسمزی می باشند [9]. در مقابل، شرایطی که جریان خون مدولا را افزایش می دهند، مانند ادرار اسمزی، موجب کاهش توانایی در تغلیظ ادرار و اختلال در بهره وری تبادل جریان مخالف می شوند [9]. برای در نظر گرفتن مفصل تر تبادل جریان مخالف، خواننده به [10] ارجاع داده می شود.

### مکانیسم تغلیظ ادرار: تاریخچه و تئوری

#### بررسی اجمالی

می توانیم تاریخچه مفهومی مکانیسم تغلیظ را به سه دوره تقسیم کنیم. دوره اول (1942-1971) توسط یک مطالعه انجام شده توسط Kuhn و Ryffel [11] راه اندازی شد که پیشنهاد نمودند که تولید یک ادرار غلیظ به ضرب جریان مخالف یک "اثر تک" منجر می شود. Kuhn و Ryffel [11] یک دستگاه کاری ساخت که اصول ضرب جریان مخالف را به طور نمونه نشان می داد. این دوره اول شاهد توسعه بیشتر تئوری فرضیه ضرب جریان مخالف و تولید شواهد تجربی بود که از این فرضیه به عنوان توضیحی برای مکانیزم تغلیظ ادرار مدولای بیرونی [12]

پشتیبانی می کند. [13 14] به طور خاص، نقل و انتقال فعال NaCl از اندام صعودی ضخیم حلقه های Henle به عنوان منبع اثر تک مدولاری بیرونی شناخته شد.

دوره دوم (1972-1992) با انتشار به طور همزمان دو مقاله اصلی، یکی توسط Kokko and Rector و دیگری توسط Stephenson آغاز شد، با این پیشنهاد که یک "مکانیسم منفعل"، اثر تنها برای ضرب جریان مخالف را در مدولا درونی [7, 8] فراهم می کند. با توجه به فرضیه مکانیزم منفعل، یک جریان خالص از املاح از اندام های نازک صعودی از اوره Henle مطلوب فرامخاطی مطلوب و محتویات NaCl حاصل می شود؛ این گرادیان ها از جدایی اوره و NaCl نشای می شوند که توسط مکانیزم تغلیظ مدولاری بیرونی بوجود می آیند.

اگر چه مجموعه بزرگی از شواهد تجربی در ابتدا به نظر می رسید که از مکانیسم غیر فعال حمایت می نمود، سازاری یافته ها از چند مطالعه بعدی با این فرضیه دشوار است [15-17]. علاوه بر این، هنگامی که نفوذپذیری های فرامخاطی اندازه گیری شده در مدل های ریاضی گنجانده شدند، این مدل ها موفق به پیش بینی اثر تغلیظ مدولاری قابل توجه درونی نشدند [18-20]. اختلاف بین اثر تغلیظ مدولاری درونی بسیار موثر و نتایج سازگار منفی از مطالعات مدل سازی ریاضی در طول بیش از سه دهه همچنان استوار است. این اختلاف به تحریک تدوین چندین مدل بسیار پیچیده ریاضی (به ویژه، [21]) و تحقیقات در مورد خواص نقل و انتقال توبول های کلیوی از مدولا داخلی کمک کرده است، اما هیچ مطالعه مدل، این اختلاف را برای رضایت عمومی طراحان حل و فصل ننموده است. آغاز دوره سوم اندیشه مفهومی در سال 1993 در نظر گرفته می شود، زیرا فرضیه های جدید برای مکانیزم مدولاری تغلیظ درونی توجه جدی را دریافت کردند. در سال 1993، یک نقش کلیدی برای حرکت پاپیلا توسط Knepper و همکارانش [22 16] ارائه شده است. در سال 1994، اصل ضرب جریان مخالف "هدایت شده به طور خارجی"، به عنوان مثال، توسط تولید خالص ذرات اسمزی فعال در درون شبکه توسط Jen and Stephenson [23] در نظر گرفته شد. در حدود همان زمان، اندازه گیری های تجربی در توبول های تزریقی از نوعی جانور جونده، که می تواند ادرار بسیار غلیظ را تولید کند، شواهدی را ارائه نمود که یک مکانیسم غیر فعال، که در اصل ارائه شده است، می تواند مکانیسم تغلیظ ادرار مدولاری داخلی [24] را توضیح دهد. مطالعات اخیر به دنبال توسعه بیشتر فرضیه های

مربوط به تولید بالقوه ذرات اسمزی فعال به خصوص لاکتات [25؛ 26]، و حرکت حلقوی پاپیلای بودند [27]. در سال 2004، فرضیه های مربوط به مکانیسم غیر فعال با توجه به شواهد تجربی تجدید نظر شدند که عدم وجود پروتئین های نقل و انتقال اوره قابل توجه را در حلقه Henle که به عمق مدولا داخلی [28] می رسد نشان می دهد. به تازگی، Pannabecker و همکاران [5] پیشنهاد کردند که ترتیبات فضایی حلقه قسمت های فرعی Henle و شناسایی سیستم های مخالف متعدد در مدولا داخلی، همراه با مدل ریاضی اولیه آنها بیشترین همخوانی را با مکانیزم جدایی املاح و ترکیب املاح برای مکانیزم تغلیظ ادرار مدولاری داخلی دارند.

### مکانیسم تغلیظ ادرار در مدولای بیرونی

اعتقاد بر این است که مکانیسم تغلیظ ادرار به شرح زیر در مدولای بیرونی کار می کند. NaCl به طور فعال از مایع لوله ای اندام های صعودی ضخیم حلقه های Henle به بافت میان بافتی اطراف آن توسط Na-K-2CL نقل و انتقال کننده-همزمان NKCC2 / BSC1 در غشای پلاسمایی آپیکال و Na-K-ATPase در غشای پلاسمای بازولیترا ل نقل و انتقال می شود. این بازجذب فعال NaCl موجب افزایش اسمولالیتیه مایع میان بافتی می شود و بازجذب اسمزی آب از مایع لوله ای اندام های نزولی و مجراهای جمع آوری را ارتقا می دهد. به دلیل بازجذب مایع از اندام های نزولی حلقه های Henle، مایع ارائه شده به اندام های صعودی دارای غلظت بالایی از NaCl است که به نفع نقل و انتقال فرامخاطی NaCl از مایع اندام صعودی است. (همچنین ممکن است مقداری نفوذ NaCl به مایع اندام نزولی وجود داشته باشد.) بازجذب NaCl موجب رقیق شدن مایع لوله ای اندام صعودی ضخیمی شود، به طوری که در هر سطح مدولاری، اسمولالیتیه مایع کمتر از لوله و رگ های دیگر است، و به طوری که مایع تحویل داده شده به قشر نسبت به پلاسمای خون رقیق است. علاوه بر این مایع اندام صعودی که وارد قشر می شود که بیشتر توسط بازجذب فعال NaCl از قشر اندام صعودی ضخیم رقیق شده، به طوری که اسمولالیتیه آن کمتر از اسمولالیتیه پلاسمای خون است. در حضور واسوپرسین (هورمون ضد ادرار)، مجراهای جمع آوری قشری بسیار نفوذ پذیر به آب هستند و آب کافی برای بازگرداندن مایع به همنوایی با پلاسمای خون دوباره جذب می شود. این بازجذب آب قشری تا حد زیادی بار واقع در مکانیسم تغلیظ ادرار را توسط مایعی که از طریق کانالهای جمع آوری دوباره وارد مدولا می

شود کاهش می دهد. در صورت عدم وجود وازوپرسین، سیستم مجرای جمع کننده کلی، دارای نفوذ پذیری محدود به آب است، و حتی اگر مقداری آب دوباره با توجه به گرادیان بسیار بزرگ فشار اسمزی جذب شود، مایعی که نسبت به پلاسما رقیق توسط کانال های جمع آوری به مرز مدولای بیرونی و درونی تحویل داده می شود.

این فرمول مفهومی مدرن مکانیسم تغلیظ ادرار مدولاری بیرونی (که بسیار شبیه به پیشنهاد Hargitay و Kuhn است، همانطور که توسط Kuhn و Ramel [29؛ 30] اصلاح شده است) توسط مطالعات مدل سازی ریاضی اخیر با استفاده از پارامتر های سازگار با توبول تزریقی و آزمایشات سوراخ های ریز پشتیبانی شده است (بررسی در [1]). به طور خاص، گرادیان های بیرونی مدولاری اسمزی پیش بینی شده توسط شبیه سازی ریاضی [31؛ 32] [34] [33] سازگار با گرادیان های گزارش شده در آزمایشات برش بافت هستند که در آن اسمولالیتیه توسط یک ضریب 2-3 افزایش می یابد.

### فرضیه مکانیزم منفعل برای مدولا داخلی

در تضاد با مدولای بیرونی، با نقل و انتقال NaCl فعال از اندام های صعودی ضخیم تولیدکننده اثر تک، آزمایشات توبول تزریقی جدا شده خرگوش در اندام های نازک و صعودی، هیچ نقل و انتقال فعال NaCl [13 35] را نشان نداد. در عوض، اندام های نازک صعودی دارای تراوایی های نسبتا بالا به سدیم و اوره بودش در حالی که غیر قابل نفوذ به آب [36] هم بود. در مقابل، اندام داخلی مدولاری نزولی نازک بسیار نفوذ پذیر به آب است، اما دارای تراوایی های اوره و سدیم کم است [37؛ 38]. علاوه بر این، مشخص شده است که اعمال اوره موجب افزایش غلظت ادرار حداکثر در موش و انسان محروم از پروتئین می شود [39]، و شواهد از برخی از گونه ها نشان داده است که با غلظت شبیه به غلظت NaCl [3] اوره تمایل به تجمع در مدولا درونی دارد. چندین مدل مکانیزم تغلیظ مدولاری داخلی منتشر شد که موفق به کسب پذیرش عمومی شدند (در [1] بررسی شده است).

در سال 1972، دو مقاله مستقل، یکی توسط Kokko و Rector و یکی توسط Stephenson (در همان موضوع *Kidney International* دیده می شود)، پیشنهاد نمودن که اثر تک در مدولا داخلی، از "مکانیزم منفعل" ناشی می شود [7؛ 8]. غلظت اوره جمع آوری مایع مجرا با جذب فعال NaCl از اندام صعودی ضخیم و جذب آب پس از



آن از مجاری قشری و جمع آوری بیرونی مدولاری افزایش می یابد. در ترمینال IMCD بسیار نفوذ پذیر به اوره، اوره با گرادیان پایین غلظت خود به فضای میان بافتی مدولاری داخلی نفوذ می کند؛ اوره در مدولا درونی توسط تبادل جریان مخالف در شریان های مستقیم کلیه به دام می افتد. سیالات ورودی به اندام های نازک صعودی دارای غلظت بالای NaCl نسبت به اوره هستند و فرض می شود که اندام های نازک صعودی دارای نفوذپذیری NaCl بالا نسبت به اوره هستند. علاوه بر این، با توجه به تجمع داخلی بافت میان بافتی مدولاری اوره، غلظت NaCl در اندام های نازک صعودی بیش از غلظت NaCl در میان بافتی است و در نتیجه NaCl با گرادیان پایین غلظت خود به فضای میان بافتی پخش می شوند. اگر نفوذپذیری اوره اندام نازک صعودی به اندازه کافی پایین باشد، میزان جریان NaCl از اندام های نازک صعودی بیش از نرخ هجوم اوره خواهد بود که موجب رقت مایع اندام نازک صعودی و جریان نسبتاً رقیق مایع اندام نازک صعودی در هر سطح و در اندام صعودی ضخیم می شود. بنابراین، مایع رقیق از مدولا داخلی در صورت نیاز توسط موازنه جرم، حذف می شود و اسمولالیت بافت میان بافتی به تدریج در طول لوله مدولا داخلی افزایش می یابد. آب از اندام نزولی نازک توسط اسمولالیت بالا، کشیده خواهد شد و در نتیجه غلظت NaCl از جریان اندام نزولی که وارد اندام های نازک صعودی می شود بالا می رود. علاوه بر این، اسمولالیت بالا از شبکه میان بافتی مدولاری داخلی، آب را از IMCD نفوذ پذیر به آب می کشد و غلظت اوره را در مجرای جمع آوری مایع بالا می برد؛ تجمع NaCl در درون به حفظ یک گرادیان غلظت اوره فرامخاطی مطلوب برای بازجذب اوره از ترمینال IMCD تمایل دارد.

مسائل متعددی در ارتباط با بحث مناسب در مورد این مکانیزم منفعل وجود دارند. اولاً، این فرآیند باید به عنوان یک فرایند حالت پایدار مستمر تصور شود، حتی با اینکه در بالا در مد گام به گام توضیح داده شده است. دوم، گرچه مکانیسم "منفعل" است، به جداسازی اوره و NaCl که توسط بازجذب فعال NaCl با اندام صعودی ضخیم تثبیت می شود بستگی دارد. جریان های از هم جدا با غلظت بالا از NaCl (در حلقه های Henle) و اوره (در مجراهای جمع آوری) یک منبع انرژی بالقوه است که برای تاثیرگذاری بر نقل و انتقال خالص املاح اندام های نازک صعودی استفاده می شود. بنابراین، هیچ تخطی از قوانین ترمودینامیک وجود ندارد. سوماً، توضیحات بالا نسبتاً آزادانه از NaCl و اوره

به عنوان املاح دارای جایگاه برابر صحبت می کند، اما NaCl تقریباً به طور کامل به یون Na و Cl جدا می شود، به طوری که هر مولکول NaCl تقریباً دارای دو برابر اثر اسمزی هر مولکول اوره است. توصیفات رسمی ریاضی باید این تمایز را نشان دهند. چهارم، فرضیه مکانیزم منفعل بسیار شبیه به مکانیزم تغلیظ ادرار مدولاری بیرونی است و به جذب املاح خالص از اندام های نازک صعودی برای رقیق نمودن مایع اندام نازک صعودی و افزایش اسمولالیتیه در شریان های مستقیم کلیه و کانالهای جمع آوری بستگی دارد. بنابراین، تولید مقدار کمی از ادرار به شدت غلیظ توسط یک مقدار بزرگتر از جریان کمی رقیق در اندام های نازک صعودی متعادل می شود. اگر چه گرادیان اسمولالیتیه در امتداد مدولا داخلی به تبادل جریان مخالف بستگی دارد، به خصوص بین شریان های مستقیم تبادل نزولی و صعودی کلیه، تعادل در جریان های مخالف ناقص است. از این رو اسمولالیتیه دست یافتنی ادرار توسط اثر اتلاف جریان های صعودی محدود می شود که به طور مختصر نسبت به جریان های نزولی غلیظ است.

فرضیه مکانیزم منفعل، که در بالا توضیح داده شد، دقیقاً از فرمول Kokko و Rector [7] پیروی می کند، که از ایده های کلیدی در یک مطالعه تجربی توسط Kokko [38] استفاده نمود. Kokko و Rector [7] برای این ایده که بازجذب اوره IMCD به گرادیان اسمولالیتیه مدولاری داخلی کمک می کند از Niesel و Rosenbleck [40] تقدیر نمودند. Kokko و Rector یک مدل مفهومی از فرضیه مکانیزم منفعل را ارائه نمودند، و با وجود اینکه این مورد با مجموعه ای قابل قبول از شارهای املاح، غلظت ها، و نرخ های جریان سیال که سازگار با الزامات موازنه جرم هستند همراه شد، نشان نمی دهد که حلقه اندازه گیری شده تراوایی های Henle با این فرضیه سازگار هستند و ارائه آنها شامل یک راه حل ریاضی نبود. فرمول Stephenson از فرضیه مکانیزم منفعل [8] این فرض هسته مرکزی بسیار موثر را معرفی نمود و شامل راه حل ریاضی می شود، اما حاوی مصالحه ریاضی ویژگی های نقل و انتقال لوله ای با این فرضیه نمی شوند.

در سال های اخیر، شبیه سازی ریاضی مکانیزم تغلیظ ادرار به طور فزاینده ای در ارائه معماری مدولاری [18؛ 21؛ 43-41] و نقل و انتقال لوله ای [44-46] جامع و پیچیده شده است. این تکامل، یک نتیجه از کامپیوترهای سریع

و افزایش ظرفیت محاسباتی، افزایش دانش تجربی، و شکست پایدار شبیه سازی های نشاندهنده گرادیان غلظت قابل توجه مدولاری درونی است.

مطالعات انجام شده توسط Dantzler, Pannabecker، و همکاران، که با استفاده از برچسب گذاری ایمونوهیستوشیمی و بازسازی به کمک کامپیوتر انجام شد، جزئیات جدیدی را در مورد معماری عملکردی مدولا داخلی موش نشان داده است (بررسی های اخیر را ببینید [5]). به طور خاص، یافته های آنها نشان می دهد که اندام نازک نزولی (DTLها) از حلقه های Henle دوار در چند میلی متر اول IM دارای آکوپورین 1- (AQP-1) قابل توجهی می شود، در حالی که DTLهای حلقه های دوار زیر چند میلیمتر اول دارای سه زیربخش کاربردی قابل تشخیص هستند: 40٪ بالاتر از این DTLها، بیانگر AQP-1 هستند، در حالی که 60 درصد پایین تر اینگونه نیست؛ علاوه بر این، 165 میکرون تقریبی نهایی بیانگر CLC-K1 است، زیرا اندام های نازک صعودی به هم پیوسته را نشان می دهد (شکل 4).

Layton و همکاران [28] به تازگی دو فرضیه تقریباً مرتبط با مکانیزم منفعل را پیشنهاد داده اند؛ این فرضیه توسط مفاهیم از مطالعات اخیر در موش ها توسط Pannabecker و همکاران [47؛ 48] گرفته شد. یک فرضیه به طور مستقیم مبتنی بر اصول مکانیسم غیر فعال است: فرض شد که اندام های نازک از حلقه های Henle دارای تراوایی های اوره پایین هستند زیرا برچسب های قابل توجه برای پروتئین های نقل و انتقال اوره در حلقه های رسیده به عمق در مدولا داخلی [28] پیدا شد. یک فرضیه خلاقانه تر دوم، یک حلقه بسیار بالای اوره از تراوایی های اوره Henle را فرض نمود، اما نفوذپذیری NaCl و نفوذ آب صفر در اندام نزولی نازک رسیده به عمق مدولا داخلی را محدود نمود. بنابراین در عمیق ترین بخش از مدولا درونی، غلظت اوره مایع لوله ای در حلقه های Henle تقریباً با غلظت اوره میان بافتی محلی متعادل می شود؛ اسمولالیتیه مایع اندام نزولی نازک توسط ترشح اوره افزایش می یابد؛ و باز جذب قابل توجه NaCl در بخش پیش خمش و اندام اولیه نازک صعودی رخ می دهد. نقش حلقه کاهش دهنده جمعیت Henle در هر دو فرضیه تاکید شده است که موجب تسهیل بازجذب NaCl توزیع شده فضایی در امتداد مدولا درونی، از بخش های پیش خمش و اندام های نازک صعودی اولیه می شود. یکی از جنبه های متمایز

هر دو فرضیه، تاکید بر بازجذب NaCl از IMCDs به عنوان یک فرایند نقل و انتقال فعال مهم است که NaCl را از اوره مایع لوله ای جدا می کند و به طور غیر مستقیم بازجذب آب و اوره را از مجاری جمع آوری هدایت می کند. شبیه سازی های رایانه ای برای هر دو فرضیه جریان ادرار، غلظت ها، و اسمولیت ه های سازگار با ادرار از موش ها را پیش بینی کرد. فرضیه اول دارای وابستگی حیاتی به حلقه پایین تراوایی های اوره Henle است و تحت این انتقاد قرار دارد که نقل و انتقال اوره ممکن است به جای فرامخاطی بودن، فراسلولی باشند: این فرضیه به آزمایشات قطعی تر برای تعیین خواص نقل و انتقال اوره در موش صحرایی بستگی دارد. فرضیه دوم می تواند به درک مکانیزم تغلیظ ادرار نوعی جانور جونده کوچک کمک نماید که در آن تراوایی های اوره حلقه بالا اندازه گیری شده است [24].

### جایگزین های مکانیسم منفعل

جایگزین ها برای فرضیه مکانیزم منفعل اصلی در سه دسته قرار می گیرند. اول، بسیاری از مطالعات شبیه سازی تلاش کرده اند تا نشان دهند که یک نمایش بهتر از آناتومی مدولاری و یا نقل و انتقال فرامخاطی برای بهره برداری موثر از مکانیسم های غیر فعال مورد نیاز است. دوم، تعدادی از مکانیسم های حالت پایدار شامل یک اثر واحد تولید شده در هر دو مجرای جمع آوری و یا اندام نزولی نازک پیشنهاد شده است. سوم، چند فرضیه ارائه شده است که به انقباضات شامل دیوار لگن، و تاثیر آنها بر پاپیلا بستگی دارد. بحث مفصل از گزینه های حالت پایدار شامل کانالهای جمع آوری و یا اندام نزولی نازک را می توان در [1] یافت.

Schmidt-Nielsen یک فرضیه را پیشنهاد نمود که وابسته به انقباضات شامل دیوار لگن است: چرخه انقباض-آرامش، فشارهای منفی را در شبکه درون بافتی ایجاد می کند که برای نقل و انتقال آب، در بیشتر از املاح، از سیستم مجرای جمع کننده [49] ایجاد می کند. بر اساس این فرضیه، موج فشرده سازی، فشار هیدرواستاتیک را در مجرای جمع آوری لومن افزایش می دهد و موجب ارتقای یک شار آب در سلول های مجرای جمع آوری می شود. جریان آب از طریق کانال های آب آکوپورین توسط فشار بدون شار املاح متناسب ناشی می شود. بنابراین، مایع باقی مانده در مجرا نسبت به محتویات جمع آوری سلولهای بافت میان بافتی و اطراف آن تغلیظ می شود. پس از عبور موج کرم وار، مجاری جمع آوری دچار فروپاشی می شوند. پاپیلای، که به طور گذرا توسط موج تنگ و

طولانی می شوند، محدود می شود و فشار هیدرواستاتیک منفی در درون بافت الاستیک توسعه می یابد که غنی از گلیکان گلی کوزامین و اسید هیالورونیک است. آب از سلول های مجرای جمع کننده (از طریق آکوپورین ها) توسط فشار منفی خارج می شود و وارد شریان های مستقیم کلیه می شود که در طول فاز استراحت و آرامش دوباره باز می شود و ماده دوباره جذب شده را به سمت قشر حمل می کند. به نظر می رسد این فرضیه هیچ نقشی برای حلقه های طولانی Henle و یا نقش ویژه ای در تولید ادرار غلیظ [39] ندارد و گرادیان بالای NaCl تولید شده در پاپیلا را توضیح نمی دهد [3؛ 50].

Knepper و همکارانش [27] اخیراً فرض کردند که اسید هیالورونیک که به وفور در بافت میان بافتی مدولاری درونی موش یافت می شود، می تواند به عنوان یک مبدل مکانیکی-اسموتیک عمل نماید- یعنی ویژگی های ویسکو الاستیک ذاتی اسید هیالورونیک را می توان برای تبدیل مکانیکی کار پاپیلاری به کار اسمزی مورد استفاده قرار داد که می تواند برای تغلیظ ادرار مورد استفاده قرار گیرد. آنها سه مکانیزم تغلیظ متمایز ناشی از حرکات حرکت حلقوی را پیشنهاد نمودند. (1) فعالیت سدیم میان بافتی در فاز انقباض از طریق تثبیت کاتیونها با جفت خود با بار منفی ثابت در اسید هیالورونیک کاهش می یابد. این به غلظت NaCl کاهش یافته در مایع منجر می شود که می تواند از میان بافتی بیان شود، و اینکه سیال نسبتاً رقیق وارد شریان های مستقیم صعودی کلیه می شود. آب در فاز آرامش از اندام های نزولی نازک (2) به عنوان یک نتیجه از کاهش فشار میان بافتی (16؛ 22) قبل از توسط Knepper و همکارانش پیشنهاد شده) و (3) به عنوان یک نتیجه از نیروهای الاستیک اعمال شده توسط گسترش ماتریس میان بافتی الاستیک ناشی از اسید هیالورونیک جذب می شود. اگر آب دوباره بسیار جذب شود، بدون املاح متناسب، آنگاه مایع لوله ای اندام نزولی نسبت به به جریان های دیگر غلیظ می شود.

این فرضیه ها که بر انقباضات کرم وار بستگی دارد شامل چرخه های پیچیده، بسیار هماهنگ، با ترکیب حیاتی فشار، سرعت جریان، تراوایی، تطبیقات، و فرکانس حرکت حلقوی می شوند. علاوه بر این، به نظر می رسد تعیین کفایت این فرضیه ها نیاز به یک دانش جامع از خواص فیزیکی مغز داخلی کلیوی و نمایش انرژی ورودی از انقباضات، به علاوه هر منابع انرژی مهار شده باید به اندازه کافی برای کار اسمزی در نظر گرفته شوند. بنابراین

ارزیابی این فرضیه، چه با استفاده از مدل های ریاضی و یا آزمایش، یک چالش فنی دلهره آور را پیش رو قرار می دهد.

## نقش مجرای جمع کننده

### نقل و انتقال آب

مجرای جمع آوری، تحت تاثیر وازوپرسین، بخش نفرون است که با تنظیم بازجذب آب، مسئول کنترل دفع آب است. ضرب جریان مخالف در حلقه های Henle گرادیان کورتیکو-مدولاری اسمزی لازم برای جذب مجدد آب را تولید می کند و تبادل جریان مخالف در شریان های مستقیم کلیه، اثر اتلاف جریان عروقی را به حداقل می رساند. با این حال، دفع آب به جزء ساختاری دیگر، سیستم مجرای جمع کننده، نیاز دارد که در قشر شروع می شود و در نوک پاپیلاری پایان می رسد. در صورت عدم وجود وازوپرسین، تمام بخش های مجرای جمع کننده تقریباً نفوذ ناپذیر به آب هستند، به جز برای ترمینال IMCD، که دارای یک نفوذ آب در حد متوسط و حتی در صورت عدم وجود وازوپرسین [51؛ 52] است. دفع ادرار رقیق نیاز به این ندارد که آب زیادی جذب شود و املاح بسیاری در امتداد مجرای جمع کننده ترشح یابند، زیرا مایعی که اندام صعودی ضخیم را ترک می کند و وارد مجرای جمع کننده قشر می شود، نسبت به پلاسما رقیق است.

در حضور واسوپرسین، مجرای جمع کننده کلی به شدت نفوذ پذیر به آب می شود. این مورد به شرح زیر رخ می دهد. هنگامی که اسمولالیت پلاسمای خون بالا است، به عنوان مثال، توسط محرومیت از آب، پذیرنده های اسموی هیپوتالاموس، که می تواند به معنی افزایش  $2 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$  باشد، موجب تحریک ترشح وازوپرسین از غده هیپوفیز خلفی می شود. واسوپرسین به گیرنده های  $V_2$  در غشای پلاسمایی بازولترال سلول های اصلی مجرای جمع آوری و سلول های IMCD متصل می شود. این اتصال موجب تحریک سیکلاز آدنیلی برای تولید cAMP می شود که به نوبه خود پروتئین کیناز A، فسفات آکواپورین 2 (AQP2) در سرین های 256، 261، 264 و 269 درج های کانال های آب AQP2 به غشای پلاسمایی آپیکال را فعال می کند و جذب آب را در سراسر مجرای جمع آوری افزایش می دهد (بررسی شده در [53-56] و [57]). مکانیسم اصلی که توسط آن وازوپرسین به طور حاد

بازجذب آب را تنظیم می نماید، با ترافیک منظم AQP2 بین وزیکول های زیر آپیکال و غشای پلاسمایی آپیکال می باشد (بررسی شده در [57]). این "فرضیه شاتل غشاء" که در اصل توسط Wade و همکارانش [58] پیشرفت داده شد، پیشنهاد می کند که کانال های آب در کیسه ها ذخیره شوند و به صورت اکزوتیک به غشای پلاسمایی آپیکال در پاسخ به وازوپرسین وارد شوند. پس از شبیه سازی AQP2، فرضیه شاتل تجربی در مدولای داخلی موش تایید شد (در [57] بررسی شده است). مطالعات بعدی، نقش پروتئین های هدف قرار دادن کیسه ها (سیستم SNAP / SNARE)، چند مسیر انتقال سیگنال که در تنظیم ترافیک AQP2 (درج و بازیابی AQP2) درگیر هستند، و نقش اسکلت سلولی را روشن کرده اند (در [57] بررسی شده است).

در حضور وازوپرسین، آب در کانالهای جمع آوری در یک نرخ به اندازه کافی بالا برای جمع آوری مایع مجرای لوله ای در نزدیکی تعادل اسمزی با شبکه میان بافتی مدولاری هیپراسموتیک جذب می شود؛ آب دوباره جذب شده از طریق شریان های مستقیم کلیه صعودی به گردش خون سیستمیک بازگشت پیدا می کند. مقدار زیادی از آب از مجراهای جمع آوری در قشر و مدولای بیرونی بازجذب میشود. اگر چه مدولای درونی دارای یک اسمولالیتیه بالاتر از مدولای بیرونی است، نقش آن در بازجذب آب مهم است تنها زمانی که حداکثر حفاظت از آب مورد نیاز است. IMCD در طول دیورز از آنتی دیورسیس، با توجه به تفاوت های بزرگ اسمولالیتیه ادرار در طول فرامخاطی [59] مجدداً آب را بیشتر جذب می کند.

## نقل و انتقال اوره

اوره نقش ویژه ای در مکانیسم تغلیظ ادرار ایفا می کند. اهمیت اوره از سال 1934 توسط Gamble و همکارانش با توصیف "صرفه جویی در آب در عملکرد کلیه منتسب به اوره" توصیف می شود [39]. بسیاری از مطالعات نشان می دهند که حداکثر توانایی تغلیظ ادرار در پستانداران محروم از پروتئین و یا دچار سوء تغذیه کاهش می یابد و تزریق اوره موجب بازیابی قدرت تغلیظ ادرار می شود (در [1] بررسی شده است). به تازگی، یک موش بیمار UT- A1 / UT-A3 [17]، یک موش بیمار UT-A2 [60]، و یک موش بیمار UT-B [61-63] برای داشتن تغلیظ ادرار

نقص نشان داده شدند. بنابراین، یک اثر به دست آمده از اوره یا ناقل های اوره باید نقشی را در هر راه حلی برای این پرسش پیدا کند که چگونه مدولای داخلی موجب تغلیظ ادرار می شود.

IMCD اولیه دارای نفوذ پذیری اوره کم است که از وازوپرسین [51؛ 52] تحت تاثیر قرار نمی گیرد. در مقابل، IMCD ترمینال دارای نفوذپذیری اوره پایه بالاتر از بخش های دیگر از مجرای جمع کننده است. هم وازوپرسین یا نوای هایپبر می توانند نفوذپذیری اوره را با ضریب 4-6 افزایش دهند و با هم می توانند نفوذپذیری اوره را با ضریب 10 افزایش دهند (در [1] بررسی شده است). در دهه 1980، سه گروه نشان دادند که وازوپرسین می تواند نفوذپذیری منفعل اوره در IMCDs جدا شده موش صحرایی را افزایش دهد [52؛ 64؛ 65]. در سال 1987، یک فرایند نقل و انتقال آسان اوره و یا حامل واسطه خاص برای اولین بار در IMCDs ترمینال موش و خرگوش [52] ارائه شد. مطالعات فیزیولوژیک بعدی، ویژگی های عملکردی برای ناقل اوره وازوپرسین-تنظیم شده را شناسایی نمودند (در [1] بررسی شده است). تا به امروز، دو ژن ناقل اوره در پستانداران کلون شده اند: ژن UT-A (Sc14A2) ایزوفرم های cDNA پروتئین 6 و 9 را کدگذاری می کند؛ ژن UT-B (Sc14A1)، 2 ایزوفرم پروتئین [66] را کدگذاری می کند که در [1] بررسی شده است.

UT-A1 در غشای پلاسمایی آپیکال IMCD [67-69] بیان می شود. نقل و انتقال اوره توسط UT-A1 توسط وازوپرسین تحریک می شود و در آن زمان به طور پایدار در سلول های UT-A1-MDCK [70] بیان می شود و توسط cAMP زمانی که در تخمک Xenopus [71-75] بیان می شود. UT-A3 نیز در IMCD بیان می شود و در مطالعات مختلف هر دو غشاء پلازما بازولترال و آپیکال [76-78] شناسایی شده است. نقل و انتقال اوره توسط UT-A3 توسط مکمل های cAMP تحریک می شود زمانی که در سلول های MDCK، سلول های کلیه جنینی انسان (HEK) 293، و یا Xenopusocytes در 4 مطالعات بیان شوند [73؛ 79-81] اما نه در یک پنجم [82]. UT-A2، اولین ناقل اوره که باید شبیه سازی شود [83]، در اندام نزولی نازک بیان می شود [68؛ 69؛ 84]. نقل و انتقال اوره توسط UT-A2 به مکمل های cAMP تحریک نمی شود، زمانی که در هر دو تخمک Xenopus و یا سلول های HEK-293 بیان می شود (در [1] بررسی شده است).



همچنین UT-B، آنتی ژن گروه خونی Kidd (در انسان) است و در ابتدا از یک خط سلول اریثروئید انسان [85] و پس از آن از جوندگان کلون شد (در [1] بررسی شده است). پروتئین UT-B و نقل و انتقال اوره-phloretin-inhibitable در حال حاضر در شریان های نزولی مستقیم کلیه (در [1] بررسی شده است) حاضر می باشند. مطالعات متعدد اخیر بررسی کرده اند که آیا UT-B، فقط اوره را نقل و انتقال می نماید، و یا هر دوی آب و اوره [61؛ 86؛ 87]. سلول های قرمز خون از موش بیمار UT-B / AQP1 نشان می دهد که UT-B می تواند به عنوان یک کانال آب عمل کند. با این حال، مقدار آب منتقل شده در شرایط فیزیولوژیک از طریق UT-B (در مقایسه با AQP1) کوچک است و احتمالاً از نظر فیزیولوژیکی برای مکانیزم تغلیظ ادرار [62] قابل توجه نیست.

### تنظیم سریع نقل و انتقال تسهیل شده اوره در IMCD

IMCD موش تزریقی، روش اصلی برای بررسی تنظیم سریع نقل و انتقال اوره است. در حالی که این روش داده های کاربردی فیزیولوژیکی مربوطه را فراهم می کند، نمی توان تعیین کرد که کدام ایزوفرم ناقل اوره مسئول برای یک اثر کاربردی خاص در IMCDs ترمینال موش است، زیرا هر دوی UT-A1 و UT-A3 در این بخش نفرون بیان می شوند. مطالعات اخیر نشان می دهد که وازوپرسین هر دوی فسفوریلاسیون و تجمع غشای پلاسمایی آپیکال هر دوی UT-A1 و UT-A3 را در تعلیقات تازه جدا شده از IMCDs موش صحرایی افزایش می دهد [78؛ 88]. فسفوریلات های واسوپرسین UT-A1 در سرین های 486 و 499 [89]. جهش هر دوی باقی مانده های سرین موجب حذف تحریک وازوپرسین تجمع غشای پلاسمایی آپیکال UT-A1 و نقل و انتقال اوره می شود [89]. این محل در UT-A3 که توسط وازوپرسین، فسفوریله می شود مشخص نشده است، به جز اینکه هیچ یک از دو محل اجماع PKA درگیر نشوند [80]. UT-A1 از طریق اسنایپین در IMCD موش به دستگاه های SNARE ارتباط دارد و این تعامل می تواند از نظر عملکردی برای نقل و انتقال اوره [75] مهم باشد.

با افزایش اسمولالیت، یا با اضافه کردن NaCl یا مانیتول، به مقادیر فیزیولوژیکی بالا که در طول آنتی دیورسیس رخ می دهد به شدت موجب افزایش نفوذپذیری اوره در IMCDs ترمینال موش، حتی در صورت عدم وجود وازوپرسین [90-92] می شود که نشان می دهد اسمولیت به بسیار بالا، یک فعال کننده مستقل از نقل و انتقال اوره است. افزایش

اسمولالیت به حضور وازوپرسین دارای یک اثر تحریکی افزودنی روی نفوذ پذیری اوره [90-93] است. نفوذ پذیری اوره با تحریک اسمولیت به بسیار بالا توسط طهر اوره و فلوریتین [91] مهار می شود. مطالعات سینتیک نشان می دهند که اسمولیت به بسیار بالا، مثل وازوپرسین، موجب افزایش نفوذ پذیری اوره با افزایش  $V_{max}$  می شود [91]. با این حال، اسمولیت به بسیار بالا از طریق افزایش در فعال شدن PKC و کلسیم داخل سلولی [94؛ 95] موجب تحریک نفوذ پذیری اوره می شود. در حالی که وازوپرسین موجب تحریک نفوذ پذیری اوره از طریق افزایش سیکلاز آدنیل می شود. [96]. اسمولالیت به بسیار بالا مثل وازوپرسین، موجب افزایش فسفوریلاسیون و تجمع غشای پلاسمایی از UT-A1 و UT-A3 [78؛ 88؛ 97؛ 98] می شود.

### تنظیم طولانی مدت ناقل های اوره

#### واسوپرسین

تجویز وازوپرسین به موش های Brattleboro (که فاقد وازوپرسین هستند و مبتلا به دیابت بی مزه اصلی می باشند) به مدت 5 روز، فراوانی پروتئین UT-A1 را در مدولای درونی کاهش می دهد [99؛ 100]. با این حال، 12 روز پس از تجویز وازوپرسین UT-A1 فراوانی پروتئین [100] را افزایش می دهد. این افزایش تاخیر یافته در فراوانی پروتئین UT-A1 مطابق با دوره زمانی برای افزایش محتوای اوره مدولاری داخلی پس از تجویز وازوپرسین در موش Brattleboro [101] است. سرکوب سطوح وازوپرسین درون زا تا دو هفته از دیورز آب در موش های سالم، فراوانی پروتئین UT-A1 را کاهش می دهد [100]. تجزیه و تحلیل پروموتور UT-A1 می تواند این دوره زمانی را توضیح دهد زیرا KB 1.3 که شبیه سازی شده است شامل یک عنصر پاسخ cAMP (CRE) نمی شود و cAMP موجب افزایش فعالیت پروموتور [102؛ 103] نمی شود. با این حال، عنصر تقویت کننده نیروی ارتجاعی (TonE) موجود در پروموتور I و اسمولالیت به بسیار بالا موجب افزایش فعالیت پروموتور می شود [102؛ 103]. بنابراین، وازوپرسین ممکن است در ابتدا به طور مستقیم موجب افزایش رونویسی ناقل همزمان Na-K-2CL، NKCC2 / BSC1 در اندام صعودی ضخیم [104 105] شود؛ افزایش باز جذب NaCl موجب افزایش اسمولالیت به داخلی مدولا می شود که پس از آن رونویسی UT-A1 را افزایش خواهد داد.

## بسته شدن ژنتیک ناقل های اوره

انسان های مبتلا به افت ژنتیکی UT-B (آنتی ژن Kidd) قادر به تغلیظ ادرار خود بالاتر از 800 mOsm/kg  $H_2O$ , حتی پس از محرومیت از آب در طول شب و تجویز وازوپرسین اگزوزن نمی باشند [106]. موش های بدون UT-B نیز به طور خفیف توانایی تغلیظ ادرار را که توسط بارگذاری اوره بهبود یافته است کاهش می دهند [61؛ 107]. فراوانی های UT-A1 و UT-A3 در موش UT-B بدون تغییر باقی می ماند، اما فراوانی پروتئین UT-A2 افزایش می یابد [63]. تنظیم بالای UT-A2 تا حدی موجب جبران افت بازیافت اوره از طریق UT-B می شود و در نتیجه به فنوتیپ خفیف مشاهده شده در انسان های فاقد آنتی ژن Kidd / UT-B و در موش UT-B کمک می کنند. پیش بینی شده است که عدم وجود UT-B نیز (توسط مطالعات مدل سازی ریاضی) به کاهش بهره وری به دام انداختن املاح کوچک در مدولای کلیه و در نتیجه کاهش توانایی تغلیظ ادرار و بهره وری تبادل جریان مخالف منجر می شود [108-110]. بنابراین، بیان پروتئین UT-B در شریان های مستقیم کلیه نزولی و / یا سلول های قرمز خون برای تولید ادرار حداکثر غلیظ لازم است (در [1] بررسی شده است).

موش های UT-A1 / UT-A3، توانایی تغلیظ ادرار و محتوای درونی اوره میان بافتی مدولاری را کاهش می دهد و فاقد نقل و انتقال اوره تحریک شده-واژوپرسین و یا فلوریتین-قابل ممانعت در IMCDs آنهاست [17]. با این حال، هنگامی که این موش ها با یک رژیم غذایی کم پروتئین تغذیه می شوند، آنها قادر به تغلیظ ادرار خود تقریباً به اندازه موش نوع وحشی [17] هستند که از فرضیه نقل و انتقال اوره IMCD پشتیبانی می کند که از طریق جلوگیری از اوره ناشی از دیورز اسموتیک منجر به قدرت تغلیظ ادرار می شود [111]. محتوای اوره بافت مدولاری داخلی به طور قابل توجهی پس از محدودیت آب کاهش یافت، اما هیچ تفاوت قابل اندازه گیری در مقدار NaCl بین موش UT-A1 / UT-A3 و موش نوع وحشی [17] وجود نداشت. در حالی که این یافته دوم در ابتدا به صورت ناسازگار با پیش بینی های مکانیزم منفعل [112؛ 113] تفسیر شد، تجزیه و تحلیل اخیر مدل سازی ریاضی این داده ها نتیجه می گیرد که نتایج یافت شده در موش های UT-A1 / UT-A3 دقیقاً آن چیزی بود که برای مکانیزم منفعل پیش بینی می شود [5].

## بازیافت اوره

مدولای داخلی شامل چند مسیر بازیافت اوره می شود که به غلظت بالای میان بافتی اوره کمک می کند [111]؛ [114]؛ [115]. مسیر عمده بازیافت اوره، بازجذب از IMCD ترمینال است که به واسطه UT-A1 و UT-A3، و ترشح به اندام نزولی نازک واسطه و به ویژه، اندام نازک صعودی صورت می گیرد (شکل 3، خط 1). در مدولای درونی، مجراهای جمع آوری و اندام های نازک صعودی تقریباً به هم پیوسته هستند [47؛ 48؛ 116؛ 117]. اوره که به اندام های نازک صعودی ترشح می شود، از طریق چند بخش نفرون دارای تراوایی های اوره بسیار پایین حمل می شود، تا زمانی که IMCD ترمینال نفوذ پذیر به اوره برسد.

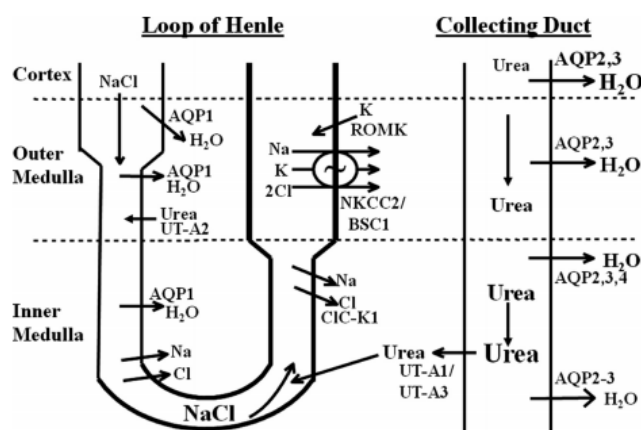
دو مسیر بازیافت اوره دیگر (شکل 3، خطوط 2 و 3) در مدولا [115] وجود دارند. یکی شامل بازجذب اوره از IMCDs ترمینال از طریق شریان های مستقیم کلیه صعودی و ترشح به اندام نزولی نازک از نفرون لوپ کوتاه [118]، با میانجیگری UT-A2 [84]، و یا به شریان های مستقیم نزولی کلیه، با میانجیگری UT-B می شود. دیگری شامل بازجذب اوره از قشر اندام صعودی ضخیم و ترشح به لوله مستقیم پروگزیمال [115] می شود. تمام سه مسیر بازیافت اوره، زیان اوره را از مدولای داخلی که در آن افزایش اسمولالیتیه میان بافتی [115] مورد نیاز است محدود می کند.

علاوه بر نقش اوره در مکانیسم تغلیظ ادرار، اوره، منبع اصلی برای دفع ضایعات نیتروژنی و مقدار زیادی از اوره که باید روزانه دفع شوند. توانایی کلیه برای تغلیظ اوره، نیاز به ترشح آب را به سادگی به دفع ضایعات نیتروژنی کاهش می دهد. غلظت اوره میان بافتی بالا نیز در خدمت اوره تعادل اسموتیک در جمع آوری لومن مجرا قرار می گیرد. اگر اوره میان بافتی برای جبران اثر اسمزی اوره مجرای به مقصد دفع شدن در دسترس نباشد [17، 111]، غلظت NaCl میان بافتی باید بسیار بالاتر باشد.

## خلاصه

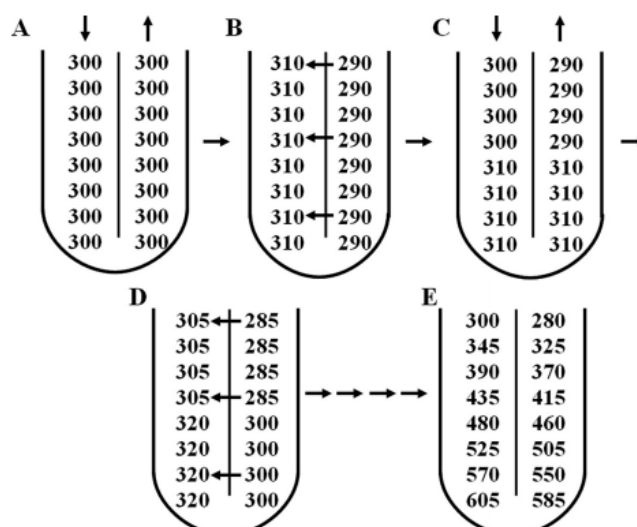
مدولای کلیه ادرار غلیظ را از طریق تولید یک گرادیان اسمزی گسترش یافته از مرز کورتیکو-مدولاری به نوک مدولاری داخلی تولید می کند. این گرادیان در مدولای خارجی توسط ضرب جریان مخالف تفاوت فرامخاطی نسبتاً کوچک در فشار اسمزی تولید می شود. این تفاوت کوچک، به نام یک اثر واحد، ناشی از بازجذب فعال  $\text{NaCl}$  از اندام صعودی ضخیم است که موجب رقیق شدن اندام جریان صعودی نسبت به جریان در رگ ها و سایر لوله ها می شود. در مدولای درونی، گرادیان نیز ممکن است با ضرب جریان مخالف از یک اثر واحد تولید شود، اما اثر تک به طور قطع مشخص نشده است. اگرچه این مکانیسم غیر فعال، پیشنهاد شده توسط Kokko و Rector [7] و Stephenson [8] در سال 1972، گسترده ترین فرضیه پذیرفته شده برای اثر تک مدولاری داخلی باقی مانده است، بسیاری از شواهد از مطالعات لوله ها و ریزسوراخ های تزریقی، بی نتیجه یا متغیر با مکانیسم غیر فعال بوده است. زمانی که پارامترهای نقل و انتقال فرامخاطی اندازه گیری شده در شبیه سازی ریاضی استفاده می شود، علاوه بر این، مکانیسم غیر فعال شده پشتیبانی نمی شود.

با این وجود، پیشرفت های مهم اخیر در درک ما از اجزای کلیدی مکانیزم تغلیظ ادرار وجود داشته است. به طور خاص، شناسایی و تعیین محل پروتئین نقل و انتقال کلیدی برای آب، اوره و سدیم، روشن سازی نقش و مقررات اسمولیت های حفاظتی-اسمو، وضوح بهتر روابط آناتومیکی در مدولا، و بهبود در مدل سازی ریاضی مکانیسم تغلیظ ادرار صورت گرفته است. ادامه تحقیق تجربی از نقل و انتقال فرامخاطی و تنظیم آن، در حیوانات نرمال و در موش های بیمار، و ترکیب اطلاعات منجر به شبیه سازی ریاضی، می توانند به طور کامل به روشن نمودن مکانیزم تغلیظ ادرار مدولاری داخلی کمک نمایند.



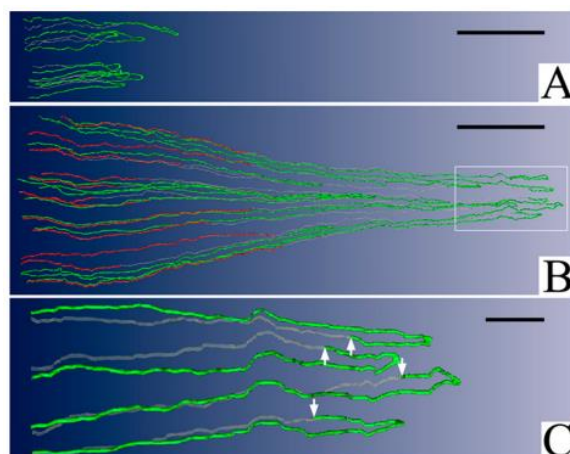
## شکل 1

هویت های مولکولی و مکان سدیم، اوره و پروتئین های نقل و انتقال آب برای غلظت ادرار در مدولای درونی در فرضیه مکانیزم منفعل [7؛ 8]. مناطق عمده کلیه در سمت چپ نشان داده شده اند. NaCl به طور فعال در سراسر اندام صعودی ضخیم غشاء پلازما آپیکال آن Na-K-2CL ناقل-همزمان (NKCC2 / BSC1) و غشای بازولترال سدیم / K-ATPase می شود (نمایش داده نشده است). پتاسیم از طریق یک کانال غشای پلاسمایی آپیکال، ROMK بازیافت می شود. آب در بخش اندام نزولی کانال های آب AQP1 در هر دو غشاء پلازما آپیکال و بازولترال بازجذب می شود. آب در غشاء رأسی از مجرای جمع کننده شده توسط کانال های آب AQP2 در حضور وازوپرسین بازجذب می شود. آب در غشاء پلاسمای بازولترال توسط کانال های آب AQP3 در مدولاری قشر و مجراهای جمع آوری بیرونی و توسط هر دوی کانال های آب AQP3 و AQP4 در مدولاری مجرای جمع آوری داخلی (IMCD) بازجذب می شود. اوره به داخل لومن مجرای جمع آوری (توسط بازجذب آب) می رسد تا زمانی IMCD ترمینال که در آن توسط نقل و انتقال اوره UT-A1 و UT-A3 جذب صورت می گیرد، غلیظ شده باشد. با توجه به فرضیه مکانیزم منفعل (متن را ببینید)، مایعی که وارد اندام های نازک صعودی از اندام نزولی نازک به هم پیوسته می شود دارای NaCl بالاتر و غلظت اوره کمتر از بافت میان بافتی مدولاری داخلی است که منجر به بازجذب NaCl منفعل و رقت مایع در اندام های نازک صعودی می شود. اختصارات: AQP، آکوپورین UT، نقل و انتقال اوره.



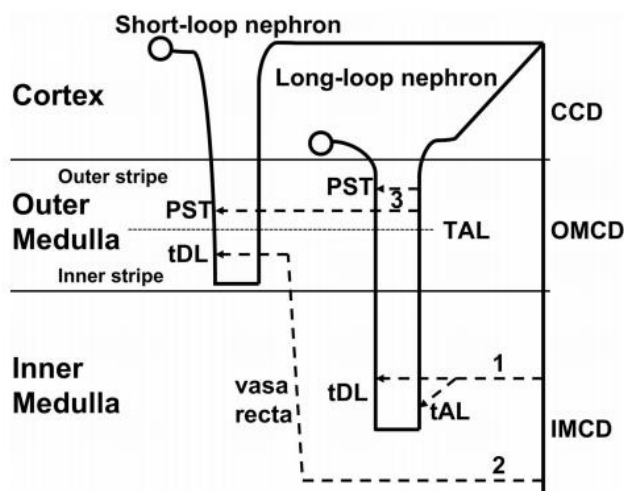
## شکل 2

ضرب جریان مخالف از یک اثر تک در یک نمودار حلقه Henle در مدولای بیرونی. پنل A: این فرآیند با مایع ایزومولار در سراسر هر دو اندام آغاز می شود. پنل B: انتقال املاح فعال یک گرادیان عرضی  $20 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$  (اثر تک) را در سراسر مرز جداکننده اندام برقرار می کند. پنل C: مایع در نیمه راه به سمت پایین اندام نزولی و بالای اندام صعودی جریان پیدا می کند. پنل D: نقل و انتقال فعال مجدداً گرادیان عرضی را برقرار می کند. توجه داشته باشید که مایع مجرای نزدیک خم حلقه به یک اسمولالیتیه بالاتر از مایع حلقه خم در پنل B می رسد. پنل E: زمانی که فرآیندها در C و D تکرار می شوند، خم حلقه به یک اسمولالیتیه به تدریج بالاتر می رسد به طوری که گرادیان اسمزی محوری نهایی به مراتب بیش از گرادیان تولید شده عرضی  $20 \text{ mOsm/kg H}_2\text{O}$  در هر سطح می شود.



## شکل 3

مسیرهای بازیافت اوره در مدولا. نمودار، نفرون لوپ طولانی (سمت راست) و یک نفرون کوتاه لوپ (سمت چپ) را نشان می دهد. خطوط نقطه چین با برچسب 1، 2، و 3، مسیر بازیافت اوره را نشان می دهد. اختصارات: PST، توبول پروگزیمال راست؛ TDL، اندام نزولی نازک حلقه Henle. TAL، اندام های نازک صعودی حلقه Henle. TAL، اندام صعودی ضخیم حلقه Henle و IMCD، مجرای جمع آوری مدولاری داخلی.



شکل 4

بازسازی حلقه های Henle از مدولای داخلی موش (IM). رنگ قرمز، نشانگر بیان آکوپورین 1-(AQP1)؛ سبز، CLC-K1؛ خاکستری، هر دوی AQP1 و CLC-K1 غیر قابل کشف هستند. A: حلقه هایی که در اولین میلیمتر فراتر از مدولای بیرونی می چرخند. اندام های نازک نزولی (DTLS) فاقد AQP1 قابل تشخیص هستند. CLC-K1 در طول بخش ها و اندام نازک صعودی (ATLS) بیان می شود. B: حلقه هایی به نوبه خود فراتر از اولین میلی متر IM می چرخند. DTL ها، AQP-1 را در امتداد اولیه  $\sim 40\%$  بیان می کنند؛ CLC-K1 در امتداد بخش های پیش خمش و ATLS بیان می شود. C: بزرگنمایی مناطق نزدیک خم کادر در B. بیان CLC-K1، به طور متوسط، قبل از خم حلقه (فلش)  $\sim 165$  میکرومتر آغاز می شود. میله های مقیاس: 500 میکرومتر (A و B) 100 میکرومتر (C). شکل تکثیر شده از مرجع [26] و با اجازه از انجمن فیزیولوژیک آمریکا استفاده شده است



## REFERENCES

1. Sands JM, Layton HE. The urine concentrating mechanism and urea transporters. In: Alpern RJ, Hebert SC, editors. *The kidney: physiology and pathophysiology*. San Diego: Academic Press; 2008. p. 1143-78.
2. Knepper MA, Stephenson JL. Urinary concentrating and diluting processes. In: Andreoli TE, Hoffman JF, Fanestil DD, Schultz SG, editors. *Physiology of membrane disorders*. New York: Plenum; 1986. p. 713-26.
3. Hai MA, Thomas S. The time-course of changes in renal tissue composition during lysine vasopressin infusion in the rat. *Pflügers Arch*. 1969;310:297-319.
4. Knepper MA. Measurement of osmolality in kidney slices using vapor pressure osmometry. *Kidney Int*. 1982;21:653-5.
5. Pannabecker TL, Dantzler WH, Layton HE, Layton AT. Role of three-dimensional architecture in the urine concentrating mechanism of the rat renal inner medulla. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;295:F1271-85.
6. Kriz W. Der architektonische und funktionelle Aufbau der Rattenrinne. *Z Zellforsch*. 1967;82:495-535.
7. Kokko JP, Rector FC. Countercurrent multiplication system without active transport in inner medulla. *Kidney Int*. 1972;2:214-23.
8. Stephenson JL. Concentration of urine in a central core model of the renal counterflow system. *Kidney Int*. 1972;2:85-94.
9. Zimmerhackl BL, Robertson CR, Jamison RL. The medullary microcirculation. *Kidney Int*. 1987;31:641-7.
10. Pallone TL, Turner MR, Edwards A, Jamison RL. Countercurrent exchange in the renal medulla. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003;284:R1153-75.
11. Kuhn W, Ryffel K. Herstellung Konzentrierter Lösungen aus Verdünnten Durch Blosser Membranwirkung: Ein Modellversuch zur Funktion der Niere. *Hoppe-Seylers Z Physiol Chem*. 1942;276:145-78.
12. Gottschalk CW, Mylle M. Micropuncture study of the mammalian urinary concentrating mechanism: evidence for the countercurrent hypothesis. *Am J Physiol*. 1959;196:927-36.
13. Rocha AS, Kokko JP. Sodium chloride and water transport in the medullary thick ascending limb of Henle. Evidence for active chloride transport. *J Clin Invest*. 1973;52:612-23.
14. Ullrich KJ, Schmidt-Nielsen B, O'Dell R, Pehling G, Gottschalk CW, Lassiter WE, et al. Micropuncture study of composition of proximal and distal tubular fluid in rat kidney. *Am J Physiol*. 1963;204:527-31.
15. Jamison RL, Kriz W. Urinary concentrating mechanism. Structure and function. New York: Oxford University Press; 1982.
16. Chou C-L, Knepper MA, Layton HE. Urinary concentrating mechanism: the role of the inner medulla. *Semin Nephrol*. 1993;13:168-81.
17. Fenton RA, Chou C-L, Stewart GS, Smith CP, Knepper MA. Urinary concentrating defect in mice with selective deletion of phloretin-sensitive urea transporters in the renal collecting duct. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:7469-74.
18. Layton HE, Knepper MA, Chou C-L. Permeability criteria for effective function of passive countercurrent multiplier. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1996;270:F9-20.
19. Moore LC, Marsh DJ. How descending limb of Henle's loop permeability affects hypertonic urine formation. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1980;239:F57-71.
20. Wexler AS, Kalaba RE, Marsh DJ. Passive, one-dimensional countercurrent models do not simulate hypertonic urine formation. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1987;253:F1020-30.
21. Wexler AS, Kalaba RE, Marsh DJ. Three-dimensional anatomy and renal concentrating mechanism. I. Modelling results. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1991;260:F368-83.
22. Knepper MA, Chou C-L, Layton HE. How is urine concentrated by the renal inner medulla? *Contrib Nephrol*. 1993;102:144-60.
23. Jen JF, Stephenson JL. Externally driven countercurrent multiplication in a mathematical model of the urinary concentrating mechanism of the renal inner medulla. *Bull Math Biol*. 1994;56:491-514.
24. Chou C-L, Knepper MA. In vitro perfusion of chinchilla thin limb segments: urea and NaCl permeabilities. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1993;264:F337-43.
25. Thomas SR. Inner medullary lactate production and accumulation: a vasa recta model. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000;279:F468-81.
26. Hervy S, Thomas SR. Inner medullary lactate production and urine-concentrating mechanism: a flat medullary model. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003;284:F65-81.
27. Knepper MA, Saidel GM, Hascall VC, Dwyer T. Concentration of solutes in the renal inner medulla: interstitial hyaluronan as a mechano-osmotic transducer. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003;284:F433-46.
28. Layton AT, Pannabecker TL, Dantzler WH, Layton HE. Two modes for concentrating urine in rat inner medulla. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004;287:F816-39.
29. Hargitay B, Kuhn W. Das Multiplikationsprinzip als Grundlage der Harnkonzentrierung in der Niere. *Z Elektrochem*. 1951;55:539-58.
30. Kuhn W, Ramel A. Aktiver Salztransport als möglicher (und wahrscheinlicher) Einzeleffekt bei der

- Harnkonzentrierung in der Niere. *Helv Chim Acta*. 1959;42:628-60.
31. Layton AT, Layton HE. A region-based mathematical model of the urine concentrating mechanism in the rat outer medulla. I. Formulation and base-case results. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;289:F1346-66.
  32. Layton AT, Layton HE. A region-based mathematical model of the urine concentrating mechanism in the rat outer medulla. II. Parameter sensitivity and tubular inhomogeneity. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;289:F1367-81.
  33. de Rouffignac C. The urinary concentrating mechanism. In: Kinne RKH, editor. *Urinary concentrating mechanisms*. Vol 2. Comparative physiology. Basel: Karger; 1990. p. 31-102.
  34. Macri P, Breton S, Marsolais M, Lapointe JY, Laprade R. Hypertonicity decreases basolateral  $K^+$  and  $Cl^-$  conductances in rabbit proximal convoluted tubule. *J Membr Biol*. 1997;155:229-37.
  35. Morgan T, Berliner RW. Permeability of the loop of Henle, vasa recta, and collecting duct to water, urea, and sodium. *Am J Physiol*. 1968;215:108-15.
  36. Imai M, Kokko JP. Sodium, chloride, urea, and water transport in the thin ascending limb of Henle. *J Clin Invest*. 1974;53:393-402.
  37. Kokko JP. Sodium chloride and water transport in the descending limb of Henle. *J Clin Invest*. 1970;49:1838-46.
  38. Kokko JP. Urea transport in the proximal tubule and the descending limb of Henle. *J Clin Invest*. 1972;51:1999-2008.
  39. Gamble JL, McKhann CF, Butler AM, Tuthill E. An economy of water in renal function referable to urea. *Am J Physiol*. 1934;109:139-54.
  40. Niesel W, Röskenbleck H. Konzentrierung von Lösungen unterschiedlicher Zusammensetzung durch alleinige Gegenstromdiffusion und Gegenstromosmose als möglicher Mechanismus der Harnkonzentrierung. *Pflügers Arch*. 1965;283:230-41.
  41. Layton HE, Davies JM. Distributed solute and water reabsorption in a central core model of the renal medulla. *Math Biosci*. 1993;116:169-96.
  42. Wang X, Wexler AS, Marsh DJ. The effect of solution non-ideality on membrane transport in three-dimensional models of the renal concentrating mechanism. *Bull Math Biol*. 1994;56:515-46.
  43. Thomas SR. Cycles and separations in a model of the renal medulla. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1998;275:F671-90.
  44. Stephenson JL, Zhang Y, Eftekhari A, Tewarson RP. Electrolyte transport in a central core model of the renal medulla. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1989;253:F982-97.
  45. Stephenson JL, Zhang Y, Tewarson RP. Electrolyte, urea, and water transport in a two-nephron central core model of the renal medulla. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1989;257:F388-413.
  46. Thomas SR, Wexler AS. Inner medullary external osmotic driving force in a 3D model of the renal concentrating mechanism. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1995;269:F159-71.
  47. Pannabecker TL, Dantzler WH. Three-dimensional lateral and vertical relationships of inner medullary loops of Henle and collecting ducts. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004;287:F767-74.
  48. Pannabecker TL, Abbott DE, Dantzler WH. Three-dimensional functional reconstruction of inner medullary thin limbs of Henle's loop. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004;286:F38-45.
  49. Schmidt-Nielsen B. The renal concentrating mechanism in insects and mammals: a new hypothesis involving hydrostatic pressures. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 1995;268:R1087-100.
  50. Tomita K, Pisano JJ, Knepper MA. Control of sodium and potassium transport in the cortical collecting duct of the rat. Effects of bradykinin, vasopressin, and deoxycorticosterone. *J Clin Invest*. 1985;76:132-6.
  51. Sands JM, Knepper MA. Urea permeability of mammalian inner medullary collecting duct system and papillary surface epithelium. *J Clin Invest*. 1987;79:138-47.
  52. Sands JM, Nonoguchi H, Knepper MA. Vasopressin effects on urea and  $H_2O$  transport in inner medullary collecting duct subsegments. *Am J Physiol Renal Physiol*. 1987;253:F823-32.
  53. Hoffert JD, Fenton RA, Moeller HB, Simons B, Tchapyjnikov D, McDill BW, et al. Vasopressin-stimulated increase in phosphorylation at Ser269 potentiates plasma membrane retention of aquaporin-2. *J Biol Chem*. 2008;283:24617-27.
  54. Hoffert JD, Pisitkun T, Wang GH, Shen RF, Knepper MA. Dynamics of aquaporin-2 serine-261 phosphorylation in response to short-term vasopressin treatment in collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;292:F691-700.
  55. Hoffert JD, Pisitkun T, Wang G, Shen R-F, Knepper MA. Quantitative phosphoproteomics of vasopressin-sensitive renal cells: regulation of aquaporin-2 phosphorylation at two sites. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:7159-64.
  56. Fenton RA, Moeller HB, Hoffert JD, Yu MJ, Nielsen S, Knepper MA. Acute regulation of aquaporin-2 phosphorylation at Ser-264 by vasopressin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:3134-9.
  57. Nielsen S, Frokiaer J, Marples D, Kwon ED, Agre P, Knepper M. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev*. 2002;82:205-44.
  58. Wade JB, Stetson DL, Lewis SA. ADH action: evidence for a membrane shuttle mechanism. *Ann N Y Acad Sci*. 1981;372:106-17.
  59. Jamison RL, Buerkert J, Lacy FB. A micropuncture study of collecting tubule function in rats with hereditary diabetes insipidus. *J Clin Invest*. 1971;50:2444-52.
  60. Uchida S, Sohara E, Rai T, Ikawa M, Okabe M, Sasaki S. Impaired urea accumulation in the inner medulla



- of mice lacking the urea transporter UT-A2. *Mol Cell Biol.* 2005;25:7357-63.
61. Yang B, Bankir L, Gillespie A, Epstein CJ, Verkman AS. Urea-selective concentrating defect in transgenic mice lacking urea transporter UT-B. *J Biol Chem.* 2002;277:10633-7.
62. Yang B, Verkman AS. Analysis of double knockout mice lacking aquaporin-1 and urea transporter UT-B. *J Biol Chem.* 2002;277:36782-6.
63. Klein JD, Sands JM, Qian L, Wang X, Yang B. Up-regulation of urea transporter UT-A2 and water channels AQP2 and AQP3 in mice lacking urea transporter UT-B. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:1161-7.
64. Rocha AS, Kudo LH. Water, urea, sodium, chloride, and potassium transport in the in vitro perfused papillary collecting duct. *Kidney Int.* 1982;22:485-91.
65. Kondo Y, Imai M. Effects of glutaraldehyde fixation on renal tubular function. I. Preservation of vasopressin-stimulated water and urea pathways in rat papillary collecting duct. *Pflügers Arch.* 1987;408:479-83.
66. Stewart GS, Graham C, Cattell S, Smith TPL, Simmons NL, Smith CP. UT-B is expressed in bovine rumen: potential role in ruminal urea transport. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;289:R605-12.
67. Bagnasco SM, Peng T, Janecz MG, Karakashian A, Sands JM. Cloning and characterization of the human urea transporter UT-A1 and mapping of the human *Slc14a2* gene. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001;281:F400-6.
68. Nielsen S, Terris J, Smith CP, Hediger MA, Ecelbarger CA, Knepper MA. Cellular and subcellular localization of the vasopressin-regulated urea transporter in rat kidney. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93:5495-500.
69. Kim Y-H, Kim D-U, Han K-H, Jung J-Y, Sands JM, Knepper MA, et al. Expression of urea transporters in the developing rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002;282:F530-40.
70. Fröhlich O, Klein JD, Smith PM, Sands JM, Gunn RB. Urea transport in MDCK cells that are stably transfected with UT-A1. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004;286:C1264-70.
71. Shayakul C, Steel A, Hediger MA. Molecular cloning and characterization of the vasopressin-regulated urea transporter of rat kidney collecting ducts. *J Clin Invest.* 1996;98:2580-7.
72. Promeneur D, Rousset G, Bankir L, Bailly P, Cartron JP, Ripoche P, et al. Evidence for distinct vascular and tubular urea transporters in the rat kidney. *J Am Soc Nephrol.* 1996;7:852-60.
73. Fenton RA, Stewart GS, Carpenter B, Howorth A, Potter EA, Cooper GJ, et al. Characterization of the mouse urea transporters UT-A1 and UT-A2. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002;283:F817-25.
74. Chen G, Fröhlich O, Yang Y, Klein JD, Sands JM. Loss of N-linked glycosylation reduces urea transporter UT-A1 response to vasopressin. *J Biol Chem.* 2006;281:27436-42.
75. Mistry AC, Mallick R, Fröhlich O, Klein JD, Rehm A, Chen G, et al. The UT-A1 urea transporter interacts with snapin, a snare-associated protein. *J Biol Chem.* 2007;282:30097-106.
76. Terris JM, Knepper MA, Wade JB. UT-A3: localization and characterization of an additional urea transporter isoform in the IMCD. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001;280:F325-32.
77. Stewart GS, Fenton RA, Wang W, Kwon TH, White SJ, Collins VM, et al. The basolateral expression of mUT-A3 in the mouse kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;286:F979-87.
78. Blount MA, Klein JD, Martin CF, Tchapyjnikov D, Sands JM. Forskolin stimulates phosphorylation and membrane accumulation of UT-A3. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;293:F1308-13.
79. Karakashian A, Timmer RT, Klein JD, Gunn RB, Sands JM, Bagnasco SM. Cloning and characterization of two new mRNA isoforms of the rat renal urea transporter: UT-A3 and UT-A4. *J Am Soc Nephrol.* 1999;10:230-7.
80. Smith CP, Potter EA, Fenton RA, Stewart GS. Characterization of a human colonic cDNA encoding a structurally novel urea transporter, UT-A6. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004;287:C1087-93.
81. Stewart GS, King SL, Potter EA, Smith CP. Acute regulation of the urea transporter mUT-A3 expressed in a MDCK cell line. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292:F1157-63.
82. Shayakul C, Tsukaguchi H, Berger UV, Hediger MA. Molecular characterization of a novel urea transporter from kidney inner medullary collecting ducts. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001;280:F487-94.
83. You G, Smith CP, Kanai Y, Lee W-S, Stelzner M, Hediger MA. Cloning and characterization of the vasopressin-regulated urea transporter. *Nature.* 1993;365:844-7.
84. Wade JB, Lee AJ, Liu J, Ecelbarger CA, Mitchell C, Bradford AD, et al. UT-A2: a 55 kDa urea transporter protein in thin descending limb of Henle's loop whose abundance is regulated by vasopressin. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2000;278:F52-62.
85. Olives B, Neau P, Bailly P, Hediger MA, Rousset G, Cartron JP, et al. Cloning and functional expression of a urea transporter from human bone marrow cells. *J Biol Chem.* 1994;269:31649-52.
86. Yang BX, Verkman AS. Urea transporter UT3 functions as an efficient water channel—direct evidence for a common water/urea pathway. *J Biol Chem.* 1998;273:9369-72.
87. Sidoux-Walter F, Lucien N, Olivès B, Gobin R, Rousset G, Kamsteeg EJ, et al. At physiological expression levels the Kidd blood group/urea transporter protein is not a water channel. *J Biol Chem.* 1999;274:30228-35.
88. Zhang C, Sands JM, Klein JD. Vasopressin rapidly increases the phosphorylation of the UT-A1 urea transporter activity in rat IMCDs through PKA. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002;282:F85-90.

89. Blount MA, Mistry AC, Froehlich O, Price SR, Chen G, Sands JM, et al. Phosphorylation of UT-A1 urea transporter at serines 486 and 499 is important for vasopressin-regulated activity and membrane accumulation. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008;295:F295-9.
90. Sands JM, Schrader DC. An independent effect of osmolality on urea transport in rat terminal IMCDs. *J Clin Invest.* 1991;88:137-42.
91. Gillin AG, Sands JM. Characteristics of osmolality-stimulated urea transport in rat IMCD. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1992;262:F1061-7.
92. Kudo LH, César KR, Ping WC, Rocha AS. Effect of peritubular hypertonicity on water and urea transport of inner medullary collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1992;262:F338-47.
93. Chou C-L, Sands JM, Nonoguchi H, Knepper MA. Concentration dependence of urea and thiourea transport pathway in rat inner medullary collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1990;258:F486-94.
94. Gillin AG, Star RA, Sands JM. Osmolality-stimulated urea transport in rat terminal IMCD: role of intracellular calcium. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1993;265:F272-7.
95. Kato A, Klein JD, Zhang C, Sands JM. Angiotensin II increases vasopressin-stimulated facilitated urea permeability in rat terminal IMCDs. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2000;279:F835-40.
96. Star RA, Nonoguchi H, Balaban R, Knepper MA. Calcium and cyclic adenosine monophosphate as second messengers for vasopressin in the rat inner medullary collecting duct. *J Clin Invest.* 1988;81:1879-88.
97. Blessing NW, Blount MA, Sands JM, Martin CF, Klein JD. Urea transporters UT-A1 and UT-A3 accumulate in the plasma membrane in response to increased hypertonicity. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008;295:F1336-41.
98. Klein JD, Froehlich O, Blount MA, Martin CF, Smith TD, Sands JM. Vasopressin increases plasma membrane accumulation of urea transporter UT-A1 in rat inner medullary collecting ducts. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:2680-6.
99. Terris J, Ecelbarger CA, Sands JM, Knepper MA. Long-term regulation of collecting duct urea transporter proteins in rat. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:729-36.
100. Kim D-U, Sands JM, Klein JD. Role of vasopressin in diabetes mellitus-induced changes in medullary transport proteins involved in urine concentration in Brattleboro rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;286:F760-6.
101. Harrington AR, Valtin H. Impaired urinary concentration after vasopressin and its gradual correction in hypothalamic diabetes insipidus. *J Clin Invest.* 1968;47:502-10.
102. Nakayama Y, Naruse M, Karakashian A, Peng T, Sands JM, Bagnasco SM. Cloning of the rat Slc14a2 gene and genomic organization of the UT-A urea transporter. *Biochim Biophys Acta.* 2001;1518:19-26.
103. Nakayama Y, Peng T, Sands JM, Bagnasco SM. The TonE/TonEBP pathway mediates tonicity-responsive regulation of UT-A urea transporter expression. *J Biol Chem.* 2000;275:38275-80.
104. Yasui M, Zelenin SM, Celsi G, Aperia A. Adenylate cyclase-coupled vasopressin receptor activates AQP2 promoter via a dual effect on CRE and AP1 elements. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1997;272:F443-50.
105. Igarashi P, Whyte DA, Nagami GT. Cloning and kidney cell-specific activity of the promoter of the murine renal Na-K-Cl cotransporter gene. *J Biol Chem.* 1996;271:9666-74.
106. Sands JM, Gargus JJ, Fröhlich O, Gunn RB, Kokko JP. Urinary concentrating ability in patients with Jk(a-b) blood type who lack carrier-mediated urea transport. *J Am Soc Nephrol.* 1992;2:1689-96.
107. Bankir L, Chen K, Yang B. Lack of UT-B in vasa recta and red blood cells prevents urea-induced improvement of urinary concentrating ability. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;286:F144-51.
108. Layton AT. Role of UTB urea transporters in the urine concentrating mechanism of the rat kidney. *Bull Math Biol.* 2007;69:887-929.
109. Edwards A, Pallone TL. Facilitated transport in vasa recta: theoretical effects on solute exchange in the medullary microcirculation. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1997;272:F505-14.
110. Edwards A, Pallone TL. A multiunit model of solute and water removal by inner medullary vasa recta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1998;274:H1202-10.
111. Berliner RW, Levinsky NG, Davidson DG, Eden M. Dilution and concentration of the urine and the action of antidiuretic hormone. *Am J Med.* 1958;24:730-44.
112. Fenton RA, Knepper MA. Urea and renal function in the 21st century: insights from knockout mice. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:679-88.
113. Sands JM. Critical role of urea in the urine-concentrating mechanism. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:670-1.
114. Lassiter WE, Gottschalk CW, Mylle M. Micropuncture study of net transtubular movement of water and urea in nondiuretic mammalian kidney. *Am J Physiol.* 1961;200:1139-46.
115. Knepper MA, Roch-Ramel F. Pathways of urea transport in the mammalian kidney. *Kidney Int.* 1987;31:629-33.
116. Lemley KV, Kriz W. Cycles and separations: the histotopography of the urinary concentrating process. *Kidney Int.* 1987;31:538-48.
117. Pannabecker TL, Dantzler WH. Three-dimensional architecture of inner medullary vasa recta. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2006;290:F1355-66.
118. Valtin H. Structural and functional heterogeneity of mammalian nephrons. *Am J Physiol Renal Physiol.* 1977;233:F491-501.