

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. K. Wilms

**Die elektrische Leitfähigkeit als Maß für die
Konzentriertheit des menschlichen Urins**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg
vorgelegt von
Eva Gazinski
aus Würzburg

Würzburg, Januar 2004

Referent: Prof. Dr. med. F. Boege
Korreferent: Prof. Dr. med. F. Jakob
Dekan: Prof. Dr. med. S. Silbernagl

Tag der mündlichen Prüfung: 28.05.2004

Die Promovendin ist Ärztin im Praktikum

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Warum ist die Konzentriertheit des Harns von medizinischem Interesse ?	1
1.2. Durch welche Analyten und Messverfahren kann die Harnkonzentriertheit im medizinischen Labor erfasst werden ?	2
1.3. Aufgabenstellung und methodischer Ansatz der Arbeit	4
2. Methoden und Messungen	6
2.1. Messgeräte	6
2.2. Messungen	7
3. Resultate	9
3.1. Korrelation zwischen Konzentrationen typischer Harninhaltsstoffe und Osmolalität, spezifischem Gewicht (anhand Spindel- und Teststreifenmessung) und Konduktivität	9
3.1.1. Osmolalität	10
3.1.2. Spezifisches Gewicht gemessen mit der Spindel	12
3.1.3. Spezifisches Gewicht gemessen mit dem Teststreifen	14
3.1.4. Konduktivität	16
3.1.5. Algorithmen	19
3.2. Gültigkeit der bisherigen Ergebnisse für komplexe Harnproben	20
3.2.1. Osmolalität	21
3.2.2. Spezifisches Gewicht	22
3.2.3. Konduktivität	23
3.3. Vergleich von Osmolalität, spezifischem Gewicht und Konduktivität mit der etablierten Surrogatgröße Urinkreatinin	24
3.3.1. Osmolalität	25
3.3.2. Spezifisches Gewicht	26
3.3.3. Konduktivität	27
4. Diskussion	28
4.1. Vergleichende Wertung der Messverfahren	28
4.2. Ist Harnkreatinin durch Harnkonduktivität ersetzbar ?	36
5. Zusammenfassung und Schlussfolgerung	37
6. Literaturverzeichnis	38
7. Bildanhang	43
8. Liste der Abkürzungen	50

1. Einleitung

1.1 Warum ist die Konzentriertheit des Harns von medizinischem Interesse?

Bei der Austarierung des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes im menschlichen Körper übernimmt die Niere eine entscheidende Rolle. Hormonreguliert vermag sie je nach Bedarf einen hochkonzentrierten oder verdünnten Urin auszuschütten. Auf diese Weise wird die für den Menschen benötigte Osmolalität von 287 mosmol/kg Wasser $\pm 2\%$ ¹⁾ im Plasma aufrecht erhalten. Das bewerkstelligt die Niere hauptsächlich durch die Ausscheidung osmotisch aktiver Substanzen, vorwiegend Natrium. In geringerem Maße sind auch Kalium, andere Elektrolyte und Harnstoff an dem Prozess der Harnkonzentration beteiligt. Innerhalb von 24 Stunden scheidet eine gesunde Niere bis zu 600 mosmol osmotisch aktive Substanzen in einem Mindestvolumen von 500 ml aus. Andererseits kann die Diurese z.B. zur Vermeidung einer Hyponatriämie bis auf 0,1 l/min ¹⁾ abfallen und ein hochverdünnter Harn ausgeschieden werden.

Verschiedene pathologische Prozesse, wie das akute und chronische Nierenversagen, gehen zunächst mit einer Änderung der renalen Konzentrationskapazität und schließlich mit einem Versagen der Harnkonzentrationsfähigkeit einher. Bei einem geringen Abfall der GFR erhöht sich als erstes die Natriumexkretionsrate jedes einzelnen Nephrons. Sinkt bei einem Patienten jedoch die GFR unter 20 ml/min, ist es der Niere zwar noch möglich den Urin zu verdünnen, die Fähigkeit ihn zu konzentrieren, d.h. die Konzentrationskapazität ist jedoch stark eingeschränkt. Bis schließlich bei einer GFR unter 10 ml/min ²⁾ kein Natrium mehr ausgeschieden werden kann, was zu gefährlichen Komplikationen, wie dem Anstieg des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens und zur Hypertension führt.

Deshalb spielt die Beurteilung der Konzentrationsfähigkeit der Niere eine prominente Rolle in der Diagnostik renaler Erkrankungen. Sie dient nicht nur der Einschätzung des Schädigungsgrades der Niere, sondern auch der Diagnostik prärenalier Erkrankungen und Vorgänge: Diagnosestellung und Verlaufsbeobachtung bei Diabetes insipidus, Kontrolle des Wasser- und Elektrolytverlustes und damit des Hydrationszustandes ³⁾.

Zur Abgrenzung eines renalen Konzentrierungsdefektes von einer osmotisch (z.B. bei Diabetes mellitus) oder pharmakologisch bedingten Polyurie ist die quantitative Erfassung der renalen Konzentrationskapazität ebenfalls von Bedeutung.

Schließlich ist die Konzentriertheit des Harns eine wichtige Referenzgröße für die medizinische Beurteilung der Harnkonzentration vieler Analyten und Kenngrößen, sowie auch der mit dem Harn ausgeschiedenen Proteine, Enzyme und Metabolite. Ohne eine solche Referenzgröße ist die Harnkonzentration dieser Analyten aufgrund diuresebedingter Schwankungen *quo ad* prärenal Vorgänge kaum beurteilbar und es muss stattdessen auf die Beurteilung der insgesamt ausgeschiedenen Tagesmengen zurückgegriffen werden. Das wirft jedoch in der medizinischen Praxis nahezu unüberwindliche logistische und präanalytische Probleme auf (Harnsammlung, Stabilisierung des Analyten, usw.).

1.2 Durch welche Analyten und Messverfahren kann die Harn-Konzentriertheit im medizinischen Labor erfasst werden ?

Die Konzentriertheit des Harns entspricht der summarischen Konzentration aller darin gelösten Moleküle. Es handelt sich somit also nicht um einen Analyten, sondern um eine Sammlung vieler verschiedener Analyten, deren Zusammensetzung wechselt. Deshalb kann die Konzentriertheit des Harns nicht direkt gemessen, sondern nur durch die Messung von repräsentativen Stellvertreteranalyten („Surrogat-Parameter“) abgebildet werden. Der am besten etablierte und am weitesten akzeptierte dieser Surrogatparameter ist die Harnosmolalität. Zu ihrer Messung stehen mehrere Methoden bereit: Dampfdruckosmometrie, Kolloid-osmotische Druckosmometrie und Gefrierpunktniedrigungosmometrie (Kryoskopie).

Die letztgenannte Methode ist verfahrenstechnisch am einfachsten und deshalb in der medizinischen Routinediagnostik am gebräuchlichsten. Sie beruht darauf, dass die Temperatur des Gefrierpunktes einer Lösung gemessen wird, um anhand der Gefrierpunkte bekannter Standardlösungen (z.B. Aqua dest. $-1,86\text{ }^{\circ}\text{C}$) auf die Konzentration der gelösten osmotisch wirksamen Partikel zu schließen⁴⁾.

Diese Untersuchung ist jedoch an ein eigenes dediziertes Gerät gebunden und benötigt somit einen separaten Arbeitsplatz. Sie ist schlecht automatisierbar und kann nur unter hohen Kosten in klinisch-chemischen Analyseautomaten integriert werden. Zudem wird die Durchführbarkeit im Klinik- und Laboralltag durch eine Messdauer von nahezu zehn Minuten pro Messung erschwert. Aufgrund dieser Handhabungsnachteile ist die Osmometrie für Routine- und Reihenuntersuchungen ungeeignet, und kommt nur für spezielle Fragestellungen zum Einsatz.

In der breiten Routineanwendung wird die Konzentriertheit des Harns stattdessen anhand des spezifischen Harngewichts beurteilt ⁵⁾. Auch hierfür stehen mehrere Messverfahren bereit. Das klassische Verfahren beruht auf dem Massenverdrängungsmodell des Archimedes von Syracus. Üblicherweise misst man die Eintauchtiefe einer geeichten Schwimmspindel in ein mit Urin gefülltes Zylinderglas. Diese Methode ist aufgrund des physikalischen Messverfahrens von grundlegender Richtigkeit. Aber sie ist zeit- und raumgreifend, unhygienisch, nicht automatisierbar und - da die Auswertung nach Augenmaß durchgeführt wird – inhärent inpräzise. Deshalb hat sich im medizinischen Routinelabor ein weniger direktes, chemisches Verfahren durchgesetzt, das die Bindung gelöster Ionen an einen Ionentauscher mit einem Farbumschlag koppelt. Diese Methode kann als semiquantitatives trockenchemisches Verfahren mit anderen Messmethoden auf einen Reagenzienträger implementiert werden. Solche „Harnteststreifen“ stellen das derzeit allgemein gebräuchliche basale Reihenuntersuchungsinstrument für Harnuntersuchungen dar ⁶⁾. Dementsprechend gilt der Sicherung ihrer Qualität eine besondere Aufmerksamkeit ⁷⁾. Ein weiterer Surrogatparameter für die Konzentriertheit des Harns ist die Konzentration von Kreatinin im Harn. Hierbei wird von der (unzutreffenden) Annahme ausgegangen, dass alle menschlichen Individuen über eine vergleichbare Muskelmasse verfügen und deshalb im Rahmen eines vergleichbaren muskulären Energiestoffwechsels täglich eine vergleichbare Menge Kreatinin produzieren, die dann mit vergleichbarer Rate in ein variables Harnvolumen eingebracht wird. In der heutigen medizinischen Praxis wird die Harnkonzentration des Kreatinins zwar als Referenzgröße zur Quantifizierung anderer

Harnanalyte, besonders Proteine ⁸⁾ (Albumin, IgG und α_1 – Mikroglobuline) verwendet, nicht jedoch für die Beurteilung der renalen Diurese selbst.

Ein vierter prinzipiell geeigneter Surrogatparameter für die Harnkonzentriertheit wäre die elektrische Leitfähigkeit des Harns. Diese Größe sollte mit der Elektrolytkonzentration korrelieren und kann durch eine einfache physikalische Messanordnung schnell und ökonomisch erfasst werden. Dieser verhältnismäßig elegante Ansatz gehört bei der „*Prüfung und Überwachung von Trink-, Fluß-, Betriebs- und Abwässern, von Speisewasser, Dampfkondensat und Ölen...*“ zu den Standardmethoden ⁹⁾, wurde in der medizinischen Praxis jedoch bisher nicht berücksichtigt.

1.3 Aufgabenstellung und methodischer Ansatz dieser Arbeit

Durch die jüngste Einführung der Durchflußzytometrie in der Harnanalytik konnte die nicht invasive Beurteilung der renalen Pathologie gegenüber der bisher üblichen trockenchemischen Analytik wesentlich verbessert werden. Mittlerweile stehen automatisierte Urinflowzytometer zur Verfügung, die bis zu 100 Urinalysen in einer Stunde abarbeiten können und durchaus routinetauglich sind ¹⁰⁾. In diesen Geräten wird die Leitfähigkeit des Harns durch zwei Elektroden an jedem Ende der Zählkammer gemessen ¹¹⁾. Bisher dient diese Messung jedoch lediglich der Kontrolle und Validierung gleichzeitig durchgeführter impedanzgestützter Zellzählungen. Eine medizinische Interpretation der Leitfähigkeitsmesswerte erfolgte bisher nur ansatzweise ^{12) 13)}.

In der vorliegenden Arbeit stellen sich drei Fragen:

- 1.) Kann die elektrische Leitfähigkeit des Harns, die sozusagen als Abfallprodukt moderner durchflußzytometrischer Harnanalysen anfällt, zur Beurteilung der Harnkonzentriertheit und der renalen Diurese herangezogen werden ?
- 2.) Welche der typischerweise im Harn gelösten Stoffe werden durch diese Messung erfasst?
- 3.) Inwiefern ist die Aussagekraft dieser Messgröße mit den etablierten Methoden zur Bestimmung der Harnkonzentration vergleichbar?

Die Arbeit unterteilt sich in drei Abschnitte: Als erstes werden die derzeit gebräuchlichen Messmethoden zur Beurteilung der Harnkonzentration, d.h. Osmometrie und spezifisches Gewicht mittels Schwimmspindel und Teststreifen mit der elektrischen Leitfähigkeit verglichen. Hierbei dienen synthetische wässrige Lösungen als Testsystem, welche die medizinisch relevanten osmotisch aktiven Harnbestandteile Natrium, Kalium, Chlorid, Glucose, Albumin und Harnstoff in definierten Konzentrationsabstufungen enthalten. Durch Regressionsanalyse dieser Daten werden einerseits die verschiedenen Verfahren hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit beurteilt. Andererseits werden anhand dieser Regressionsdaten Algorithmen entwickelt, die den Zusammenhang zwischen elektrischer Leitfähigkeit und Konzentration der verschiedenen Osmolyte beschreiben.

Im zweiten Teil der Arbeit werden diese Erkenntnisse auf die klinische Situation übertragen. In Harnproben stationärer und ambulanter Patienten werden die Hauptosmolyte einzeln quantitativ gemessen, um mit Hilfe der oben genannten Algorithmen die theoretisch zu erwartenden Werte der elektrischen Leitfähigkeit vorzuberechnen. Durch den Vergleich der Erwartungswerte mit der tatsächlich gemessenen Leitfähigkeit kann dann bestimmt werden, ob die im ersten Teil der Arbeit, anhand der Untersuchung synthetischer wässriger Lösungen gezogenen Schlüsse und Ergebnisse auch für die komplexe Situation menschlicher Harnproben gültig sind.

Im dritten Teil der Arbeit werden die Messwerte der elektrischen Leitfähigkeit, Osmolalität und spezifisches Gewicht (Spindelmessung) der gängigen Surrogatgröße Harnkreatinin gegenübergestellt, um zu beurteilen ob diese Parameter gleichwertig einsetzbar sind.

2. Methoden und Messungen

2.1. Messgeräte:

- Mikroprozessor-Taschen-Konduktormeter Modell LF96 und 4 - Elektroden-Leitfähigkeitsmeßzelle Modell TetraCon 96 (Wissenschaftlich-Technischen-Werkstätten GmbH, Weilheim)
- Osmometer Automatik Nr. 38671 (Knauer, Berlin)
- Teststreifen Combur 10 Test M (Roche Diagnostik, Mannheim)
- Zur Auswertung der Teststreifen: Miditron M (Boehringer, Mannheim)
- Spindel und 25 ml Standzylinder zur Messung des spezifischen Gewichts
- Digital pH-Meter (Wissenschaftlich-Technischen-Werkstätten GmbH, Weilheim)
- Flammenphotometer AFM 5051 (Eppendorf Gerätebau, Netheler und Hinz GmbH, Hamburg)
- Hitachi 717 Automatic Analyzer (Bohringer, Mannheim)
- Sysmex Model UF-100 (Sysmex GmbH Deutschland, Norderstedt)

2.2. Messungen:

Testlösungen mit definierten Konzentrationen von NaCl (50 mmol/l, 100 mmol/l, 150 mmol/l, 200 mmol/l, 300 mmol/l, 400 mmol/l, 500 mmol/l, 600 mmol/l, 800 mmol/l, 1000 mmol/l), KCl (10 mmol/l, 20 mmol/l, 50 mmol/l, 100 mmol/l, 150 mmol/l, 200 mmol/l, 250 mmol/l), D-Glucose (5 mmol/l, 50 mmol/l, 100 mmol/l, 200 mmol/l, 300 mmol/l, 400 mmol/l, 600 mmol/l, 800 mmol/l) und Harnstoff (100 mmol/l, 200 mmol/l, 300 mmol/l, 400 mmol/l, 500 mmol/l, 600 mmol/l, 700 mmol/l, 800 mmol/l, 900 mmol/l, 1 mol/l) wurden durch Einwiegen und Lösung der Salze in destilliertem Wasser hergestellt. Die Trockensubstanzen kamen aus kommerziellen Quellen und hatten den höchsten verfügbaren Reinheitsgrad. Definierte Humanalbuminlösungen (10 mg/dl, 50 mg/dl, 100 mg/dl, 200 mg/dl, 500 mg/dl, 1000 mg/dl, 1500 mg/dl, 2000 mg/dl) wurden durch Verdünnung einer Human-Albumin Kabi 20 % Infusionslösung (Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen) hergestellt.

Alle Lösungen wurden der Osmolalitätsmessung mittels Gefrierpunktniedrigung, der Messung des spezifischen Gewichtes mit der Spindel und dem Teststreifen, und der Konduktivitätsmessung durch die oben beschriebenen Geräte unterzogen. Weiterhin wurde in der Humanalbuminlösung der pH-Wert mit einer handelsüblichen Messkette bestimmt. Er betrug 8,5 in der 50 mg/dl-Lösung und 7,0 in der 1500 mg/dl-Lösung. Diese Lösungen wurden dann mittels HCl (Merck KGaA, Darmstadt) auf einen pH von 3,5 titriert. Desweiteren erfolgte die Titration der 50 mg/dl Albuminlösung auf einen pH-Wert von 10,85 und der 1500 mg/dl Albuminlösung auf einen pH von 10,4 mittels NaOH (Merck KGaA, Darmstadt). Die Konduktivität dieser Humanalbuminlösungen unterschiedlicher pH-Stufen wurde ebenfalls gemessen.

In einem zweiten Ansatz wurde bei 50 Mittelstrahlurinproben, je 25 ml, von stationären und ambulanten Patienten die Osmolalität mittels Osmometer, das spezifische Gewicht mittels Spindel, die Konduktivität mit Sysmex UF-100 und die Natrium- und Kaliumkonzentration mit dem Flammenabsorptionsphotometer gemessen. Desweiteren wurde die Harnstoff- und Glucosekonzentration mit dem Hitachi Automatic Analyzer durch Standardmethoden ermittelt. Die Reagenzienhersteller sind in 2.1. aufgelistet. Bei Harnstoffkonzentrationen über 450 mg/dl wurden die Urinproben mit 4 Vol. Aqua dest.

vorverdünnt und der Messwert anschließend mit dem Verdünnungsfaktor 5 multipliziert.

Weiterhin wurden bei 45 Mittelstrahlurinproben (je 25 ml) von stationären und ambulanten Patienten die Osmolalität mittels Gefrierpunktsmometer, das spezifische Gewicht mit der Spindel und die Konduktivität mit Sysmex UF-100 gemessen. Desweiteren wurde bei diesen Harnproben der Kreatiningehalt mit Hitachi Automatic Analyzer (Jaffe Methode) bestimmt. Proben mit Kreatininwerten über 80 mg/dl wurden mit Aqua dest., wie oben beschrieben, vorverdünnt.

3. Resultate

3.1. Korrelationen zwischen Konzentrationen typischer Harninhaltsstoffe und Osmolalität, spezifischem Gewicht (anhand Spindel- und Teststreifenmessung) und Konduktivität

Dem Problem der Erfassung der Konzentriertheit wässriger Lösungen von Elektrolyt- und Osmolytgemischen haben wir uns zunächst grundlegend genähert. Definierte Verdünnungsreihen der wesentlichen Einflussgrößen, Elektrolyte, Glucose, Albumin und Harnstoff wurden aus Reinsubstanzen in wässriger Lösung hergestellt. Die verwendeten Konzentrationen waren für Natriumchlorid 0 bis 1000 mmol/l, für Kaliumchlorid 0 bis 250 mmol/l, für Glucose 0 bis 800 mmol/l, für Albumin 0 bis 294,1 mmol/l (bzw. 0 mg/dl bis 2000 mg/dl) und für Harnstoff 0 bis 1000 mmol/l. Diese Lösungen wurden mit etablierten Routinemethoden zur Erfassung der Konzentriertheit des Harns gemessen (spezifisches Gewicht mit Spindel und Teststreifen, sowie Osmolalität durch Gefrierpunkterniedrigung). Vergleichend wurde der zu prüfende Parameter *elektrische Leitfähigkeit* mit einem handelsüblichen Leitfähigkeitsmessgerät bestimmt.

3. 1. 1. Osmolalität

Zunächst wurde der individuelle Einfluss von Elektrolyten, Glucose, Albumin und Harnstoff auf die Osmolalität, gemessen durch Gefrierpunktniedrigung, überprüft. Abbildung 1. zeigt die Rohdaten, Tabelle 1. gibt die wesentlichen Ergebnisse der Korrelations- und Regressionsanalyse wieder.

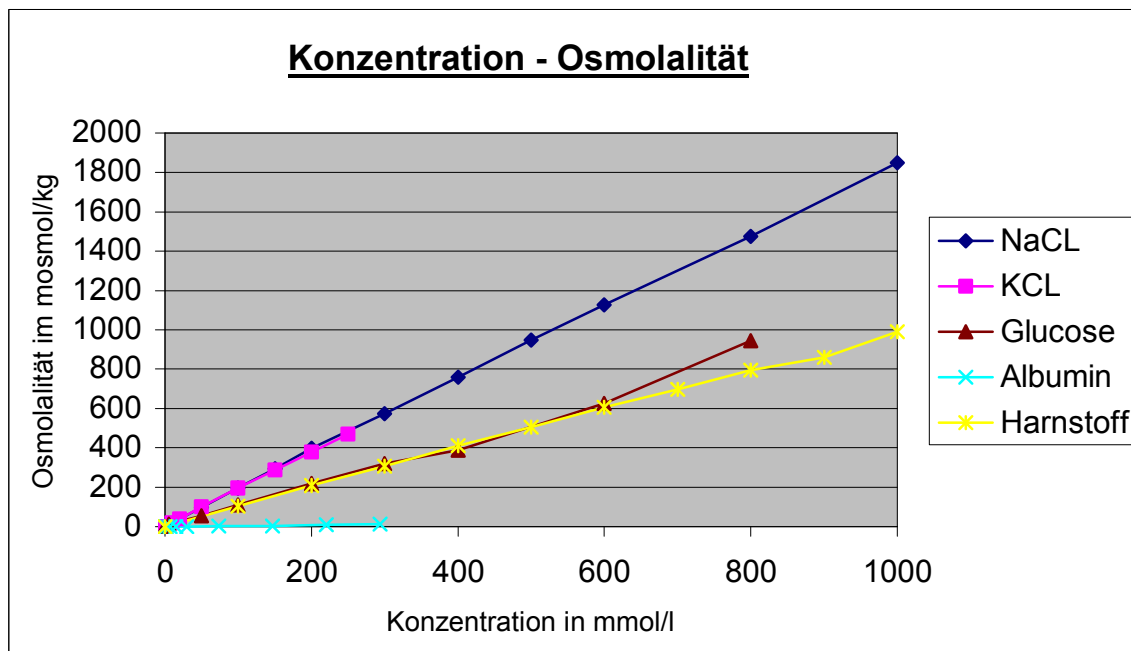


Abbildung 1. Zusammenhang zwischen Osmolalität und Stoffkonzentration definierter Lösungen

	Korrelationstyp	Korrelationskoeffizient r	Steigung der Regressionsgerade
NaCl	Positiv linear	0,999	1,84
KCl	Positiv linear	0,999	1,88
Glucose	Positiv linear	0,995	1,12
Albumin	nicht erkennbar	---	---
Harnstoff	Positiv linear	0,999	0,97

Tabelle 1. Vergleich von Korrelations- und Regressionsdaten bei der Messung der Osmolalität

Elektrolyte: Natrium und Kalium sind mit einem Anteil von ca. 96 % die häufigsten Kationen im Urin. Diese Elektrolyte wurden im Versuch mit Chlorid als Gegenion eingesetzt. Wie in Abbildung 1. zu erkennen, besteht ein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration der beiden Elektrolyte und der Osmolalität der Lösung. Aus Tabelle 1. ist eine hochsignifikante lineare Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten von nahezu eins für die gewählten Elektrolytenpaare ersichtlich. Man kann annehmen, dass NaCl und KCl unter den Versuchsbedingungen vollständig dissoziiert sind, jedes Ion eine Hydroxylgruppe bindet, und deshalb ein Mol NaCl oder KCl zwei Osmol entspricht. Bei dieser doppelten osmotischen Wirksamkeit würde man eine Steigung von 2 erwarten. Die Steigung der Regressionsgerade von NaCl beträgt jedoch tatsächlich 1,84 und die von KCl 1,88. Dementsprechend kann man aus den Steigungen ableiten, dass sich Natriumkationen mit 0,92 osmol/mol und Kaliumkationen mit 0,94 osmol/mol auf die Gesamtosmolalität auswirken.

Glucose: In Tabelle 1. stellt sich der Zusammenhang zwischen Glucosekonzentration und Osmolalität mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,995 hochsignifikant dar. Insgesamt wirkt sich Glucose relativ zur Konzentration leicht überproportional auf die Osmolalität aus. (Siehe Abbildung 1.)

Albumin: Die in Abbildung 1. gezeigten Rohdaten belegen, dass die Steigung der Regressionsgerade lediglich 0 beträgt. Folglich hat Albumin einen gegenüber den Elektrolyten vernachlässigbaren Einfluss auf die Osmolalität.

Harnstoff: Aus Tabelle 1. ist eine deutlich positiv lineare Korrelation zwischen der Harnstoffkonzentration und der Osmolalität ersichtlich. Desweiteren kann man aus der Steigung der Regressionsgerade ableiten, dass die osmotische Wirkung des Harnstoffes sich mit 0,97 osmol/mol in etwa proportional zur molaren Konzentration verhält. (Siehe Abbildung 1.)

3. 1. 2. Spezifisches Gewicht gemessen mit der Spindel

Die Messung des relativen spezifischen Gewichtes von Harnproben mittels Volumenverdrängungsspindel ist das historisch etablierte Verfahren für die Bestimmung der osmotischen Arbeit der Niere. Wie oben beschrieben, haben wir diese Messmethode an wässrigen Standardlösungen der wesentlichen Elektrolyte, Glucose, Albumin und Harnstoff erprobt. Die Stoffmengenkonzentrationen wurden hierbei durch die Transformation $\text{mg/ml} + 1000$ in Erwartungswerte für das spezifische Gewicht umgerechnet. Abbildung 2. zeigt den Vergleich der Rohdaten mit den Erwartungswerten, Tabelle 2. gibt die Schlüsseldaten der Korrelations- und Regressionsanalyse wieder.

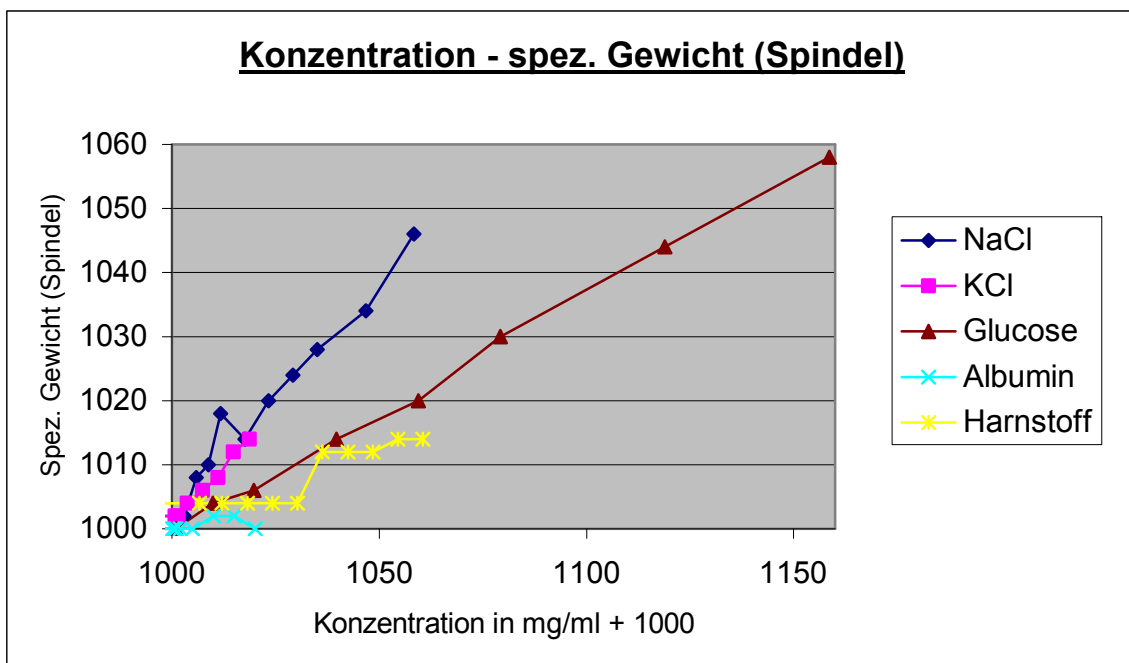


Abbildung 2. Vergleich zwischen spez. Gewicht und definierten Harninhaltsstoffkonzentrationen.

	Korrelationstyp	Korrelationskoeffizient r	Steigung der Regressionsgerade
NaCl	positiv linear	0,980	0,72
KCl	positiv linear	0,993	0,71
Glucose	positiv linear	0,999	0,37
Albumin	nicht erkennbar	0,503	---
Harnstoff	positiv linear	0,930	0,28

Tabelle 2. Signifikante Korrelation- und Regressionsdaten bei den Messungen des spezifischen Gewichtes

Elektrolyte : In Tabelle 2. ist eine hochsignifikante Korrelation zwischen NaCl bzw. KCl und dem spezifischen Gewicht (Spindel) zu erkennen. Aus der Steigung der Regressionsgeraden wird deutlich, dass beide Salze im spezifischen Gewicht leicht unterrepräsentiert sind und etwa 72 % des Erwartungswertes annehmen. Desweiteren ist der Natriumchlorideinfluss auf das spezifische Gewicht stärker als der von Kaliumchlorid. Dies wirkt sich im klinisch relevanten Bereich (Ausscheidung von Natrium: 40 – 220 mmol/24h bzw. 0,92 – 5,0 mg/ml in 24h und Kalium 30 –120 mmol/24h bzw. 1,2 – 4,8 mg/ml in 24h ¹⁴⁾) jedoch nicht aus.

Glucose: In Tabelle 2. erkennt man eine hochsignifikante Korrelation zwischen dem spezifischen Gewicht und den gemessenen Glucosekonzentrationen. Zudem kann man der Steigung der Regressionsgeraden entnehmen, dass Glucose zu 37 % durch das spezifische Gewicht der Spindelmessung erfasst wird.

Albumin: Aus Tabelle 2. ist keine signifikante Korrelation zwischen spezifischem Gewicht und der Stoffmengenkonzentration der untersuchten Albuminlösungen ersichtlich. Folglich wirken sich Änderungen der Albuminkonzentration im klinisch relevanten Bereich nicht auf das spezifische Gewicht aus.

Harnstoff: Betrachtet man als letzte Komponente das diureseabhängige Endprodukt des Aminosäurestoffwechsels, so ist ein hochsignifikanter Korrelationskoeffizient zwischen Harnstoffkonzentration und spezifischem Gewicht erkennbar.

Die Regressionsgerade dieser Modellösung steigt jedoch mit 28 %, siehe Tabelle 2., nur geringfügig und dabei annähernd treppenförmig. Daraus wird erkennbar, dass im spezifischen Gewicht der Harnstoff verglichen mit den vorher untersuchten Stoffgruppen deutlich unterrepräsentiert wird.

3. 1. 3. Spezifisches Gewicht gemessen mit dem Teststreifen

In einer dritten Versuchsreihe beobachten wir den Einfluss von Elektrolyten, Harnstoff, Glucose und Albumin auf die Messung des spezifischen Gewichtes anhand der Teststreifenmethode. Der chemische Mechanismus dieser Methode beruht auf einer kationenabhängigen Protonenfreisetzung, die zu einer pH - Änderung führt. Dies bewirkt einen Farbumschlag des Indikators Bromthymolblau von blau über blaugrün nach gelb ¹⁵⁾.

Abbildung 3. zeigt die Rohdaten bezogen auf die Erwartungswerte. Die Schlüsseldaten der Korrelationsanalyse findet man in Tabelle 3.

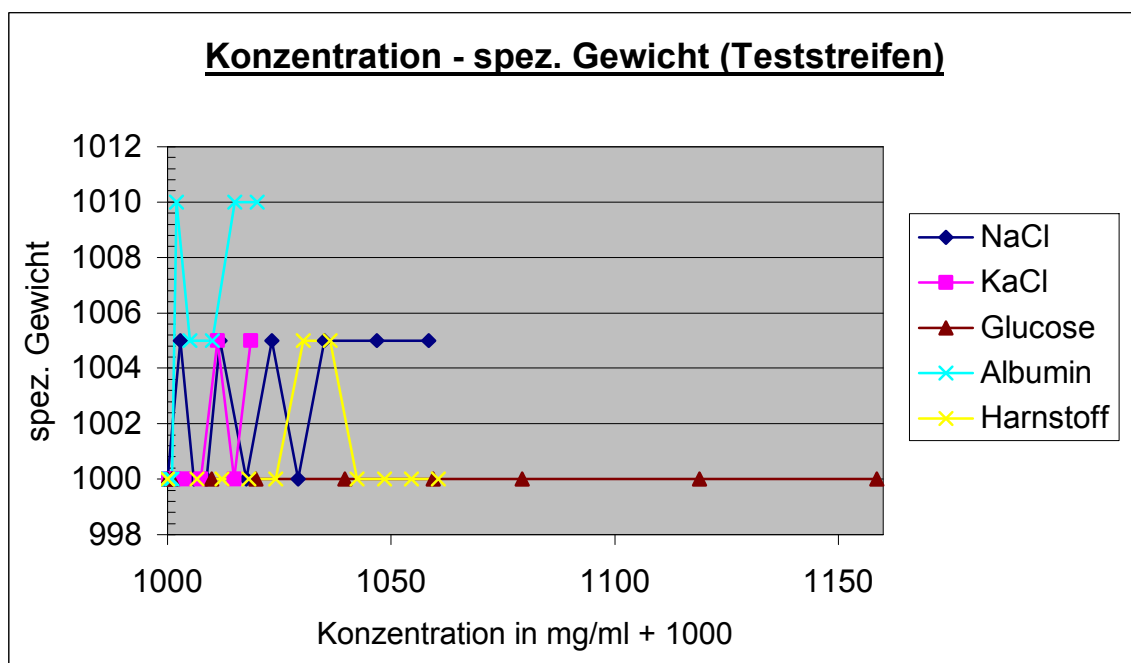


Abbildung 3. Ergebnisse des Teststreifens bei verschiedenen Analytkonzentrationen

	Korrelationstyp	Korrelationskoeffizient r	Steigung der Regressionsgerade
NaCl	Nicht linear	0,259	Wurde aufgrund zu geringer Korrelationen nicht berechnet
KCL	Nicht linear	0,672	-
Glucose	Nicht linear	0,000	-
Albumin	Nicht linear	0,311	-
Harnstoff	Nicht linear	0,309	-

Tabelle 3. Wichtigste Beziehungsreferenzen bei der Messung des spezifischen Gewichtes mit dem Teststreifen.

Aus Tabelle 3. ist ersichtlich, dass die Ergebnisse der Teststreifenmessung nicht signifikant mit den Elektrolyt-, Glucose-, Albumin- und Harnstoffkonzentrationen korrelieren. Im weiteren ergab die Teststreifenmessung eindeutig abweichende Werte zur Messung des spezifischen Gewichtes mit der Spindel. Somit ist fraglich ob, der Teststreifen a.) das spezifische Gewicht erfasst und b.) zur Bestimmung der Konzentriertheit des Harns und zur Beurteilung der osmotischen Arbeit der Niere geeignet ist.

3. 1. 4. Konduktivität

Um die Frage zu beantworten, ob sich diese Methode eignet, die Konzentriertheit von Harnproben und die osmotische Arbeit der Niere abzuschätzen wurde in der folgenden Messreihe die elektrische Leitfähigkeit in wässrigen Lösungen steigender Elektrolyt-, Glucose-, Albumin- und Harnstoffkonzentrationen beobachtet. In einem Vorversuch konnte zunächst ausgeschlossen werden, dass die Konduktivität der Humanalbuminlösung durch pH-Schwankungen beeinflusst wird. (Siehe Bildanhang Abbildung 12., Abb. 13., Abb. 14., Abb. 15.) Abbildung 4. zeigt die Rohdaten in Bezug auf die Konzentrationswerte.

Um die Ergebnisse der Glucose-, Albumin- und Harnstofflösungen genauer analysieren zu können, wurde in Abbildung 5. der Bereich zwischen 0 und 600 μ Siemens gespreizt. Tabelle 4. gibt die Schlüsseldaten der Korrelations- und Regressionsanalyse wieder.

In Unkenntnis der exakten elektrischen Ionenaktivität und des Dissoziationsgerades der untersuchten Stoffe konnten in der Regressionsanalyse keine Erwartungswerte angesetzt werden. Der Bezug erfolgte auf die Stoffmengenkonzentration in mmol/l.

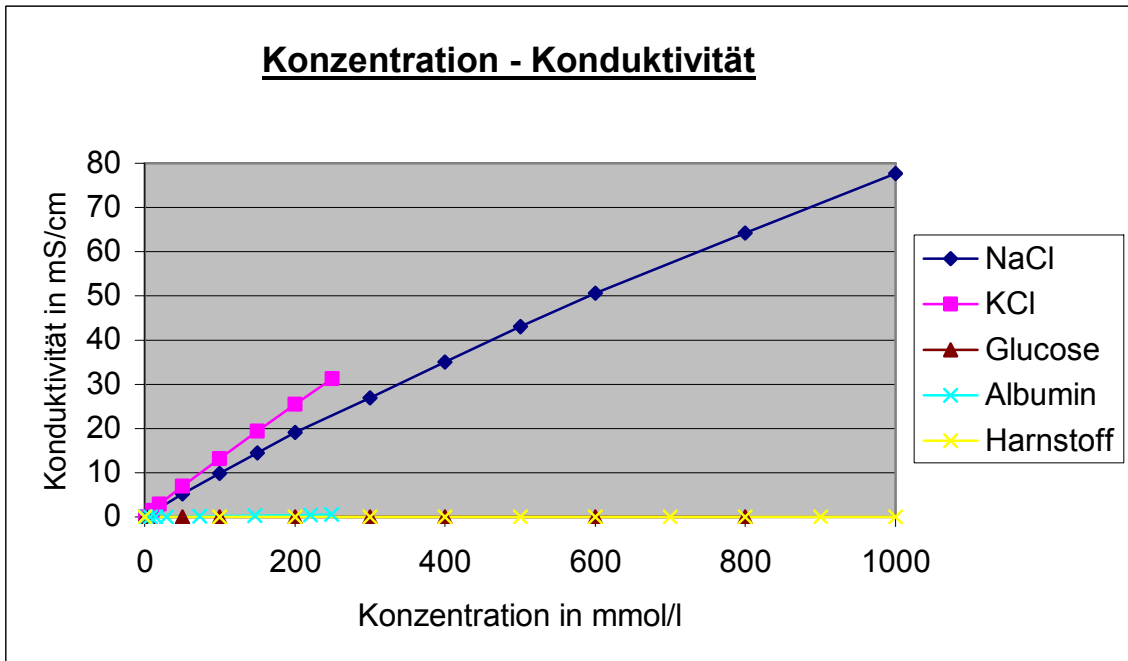


Abbildung 4. Zusammenhang zwischen Konzentration und Konduktivität definierter Stoffkonzentrationen

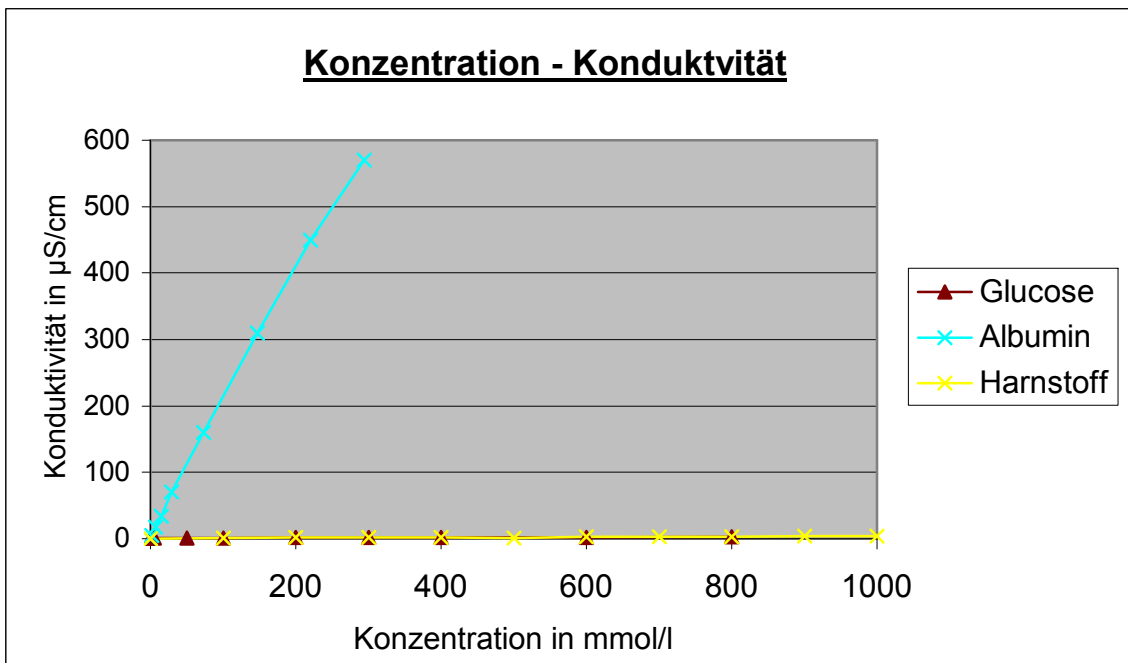


Abbildung 5. Gespreizte Darstellung im µSiemensbereich für Albumin, Glucose und Harnstoff.

	Korrelationstyp	Korrelationskoeffizient r	Steigung der Regressionsgerade
NaCl	Positiv linear	0,998	0,07
KCl	Positiv linear	0,999	0,12
Glucose	Nicht erkennbar	0,575	---
Albumin	Positiv linear	0,999	0,00
Harnstoff	Nicht erkennbar	0,674	---

Tabelle 4. Korrelations- und Regressionsanalyse bei der Messung der elektrischen Leitfähigkeit.

Elektrolyte: In Tabelle 4. stellt sich die Korrelation zwischen der Stoffmengenkonzentration einzelner Elektrolyte und der elektrischen Leitfähigkeit der Lösungen hochsignifikant dar.

Aus Abbildung 4. kann man ableiten, dass die Regressionsgerade für NaCl eine Steigung von 0,07 und für KCl eine Steigung von 0,12 aufweist. Ebenfalls ist zu erkennen, dass die Konduktivität bei gleicher Stoffmengenkonzentration der Elektrolyte für KCl höher liegt als für NaCl. Diese Überrepräsentation von KCl in der Konduktivität sollte jedoch bei der Analyse von Harnproben keine gravierende Rolle spielen, da hier Kalium gegenüber Natrium in einer 10-fach geringeren Konzentration vorliegt.

Glucose: In Abbildung 4. und 5. ist deutlich zu sehen, dass die Glucosekonzentration keinen Einfluss auf die elektrische Leitfähigkeit ausübt.

Albumin: Wie in Abbildung 5. zu erkennen, besteht zwar eine lineare Korrelation zwischen der elektrischen Leitfähigkeit und der Albuminkonzentration. Jedoch ist diese so gering, dass sich daraus auch in pathologischen Konzentrationsbereichen nur ein vernachlässigbarer Einfluss auf die Harnkonduktivität ergeben dürfte. So steigt die Konduktivität bei Humanalbuminkonzentrationen von 294,1 mmol/l (entspricht 2000 mg/dl) nur auf 570 μ Siemens an.

Harnstoff: Wie in Abbildung 5. und Tabelle 4. dargestellt, wird die elektrische Leitfähigkeit durch Harnstoff nicht beeinflusst.

3. 1. 5. Algorithmen

Aus den bisher gezeigten Daten können Vorhersagen abgeleitet werden in welchem Maße die Konzentrationen der einzelnen Stoffkomponenten einer Harnprobe das Messergebnis der drei evaluierten Messmethoden zur Erfassung der Konzentriertheit beeinflussen.

- I. Osmolalität [O]** = $0,92 \cdot [\text{Natrium}]^a + 0,93 \cdot [\text{Kalium}]^a + 1,8 \cdot [\text{Chlorid}]^a + 1,12 \cdot [\text{Glucose}]^a + 0,973 \cdot [\text{Harnstoff}]^a + 0,042 \cdot [\text{Albumin}]^a$
- II. Spezifisches Gewicht [S]** = $0,361 \cdot [\text{Natrium}]^b + 0,355 \cdot [\text{Kalium}]^b + 0,716 \cdot [\text{Chlorid}]^b + 0,369 \cdot [\text{Glucose}]^b + 0,238 \cdot [\text{Harnstoff}]^b$
- III. Konduktivität [K]** = $0,0388 \cdot [\text{Natrium}]^a + 0,0626 \cdot [\text{Kalium}]^a + 0,1014 \cdot [\text{Chlorid}]^a$

In der folgenden Experimentalserie haben wir diese Algorithmen verwendet, um die Validität unserer Daten bei der Analyse von komplexen Harnproben zu überprüfen.

^{a)} [] = Konzentration in mmol/l

^{b)} [] = Konzentration in mg/ml + 1000

3.2. Gültigkeit der bisherigen modellhaften Ergebnisse für die Untersuchung tatsächlicher Harnproben

Um die Relevanz der untersuchten Verfahren für die klinische Diagnostik beurteilen zu können, musste die Übertragbarkeit der bisherigen Ergebnisse auf Urinproben bestätigt werden. Dazu wurden bei 50 Mittelstrahlurinproben stationärer und ambulanter Patienten die Elektrolyt-, Glucose- und Harnstoffkonzentrationen gemessen. Die Stoffkonzentrationen im Urin verwendeten wir, um mit Hilfe der oben genannten Algorithmen Erwartungswerte für die Osmolalität, das spezifische Gewicht und die Konduktivität zu berechnen. Im weiteren unterzogen wir dieselben Proben der direkten Messung der drei zu untersuchenden Verfahren. Hierbei wurde die Teststreifenmessung des spezifischen Gewichts aufgrund der schlechten Korrelationen ausgeschlossen. Schließlich konnten die gemessenen Werte den errechneten Erwartungswerten gegenübergestellt werden.

Abbildung 6., 7. und 8. stellen die errechneten und gemessenen Daten mit Hilfe einer Regressionsgeraden dar. Tabelle 6. gibt die Korrelationskoeffizienten und die Steigung der Regressionsgerade zwischen den Ergebnissen wieder.

3. 2. 1. Osmolalität

Wie in Tabelle 5. dargestellt, besteht eine hochsignifikante Korrelation zwischen nach der Formel in 3.1.5. berechneten und direkt gemessenen Werten für die Osmolalität (Korrelationskoeffizient 0,97) im Urin.

Abbildung 6. demonstriert die geringe Streuung der einzelnen Datenpunkte.

Die Steigung der Regressionsgeraden beträgt bei dieser Messung eins. Bezüglich der Osmolalität sind die Ergebnisse des Rohversuches dementsprechend zu 100 % auf Harnproben übertragbar.

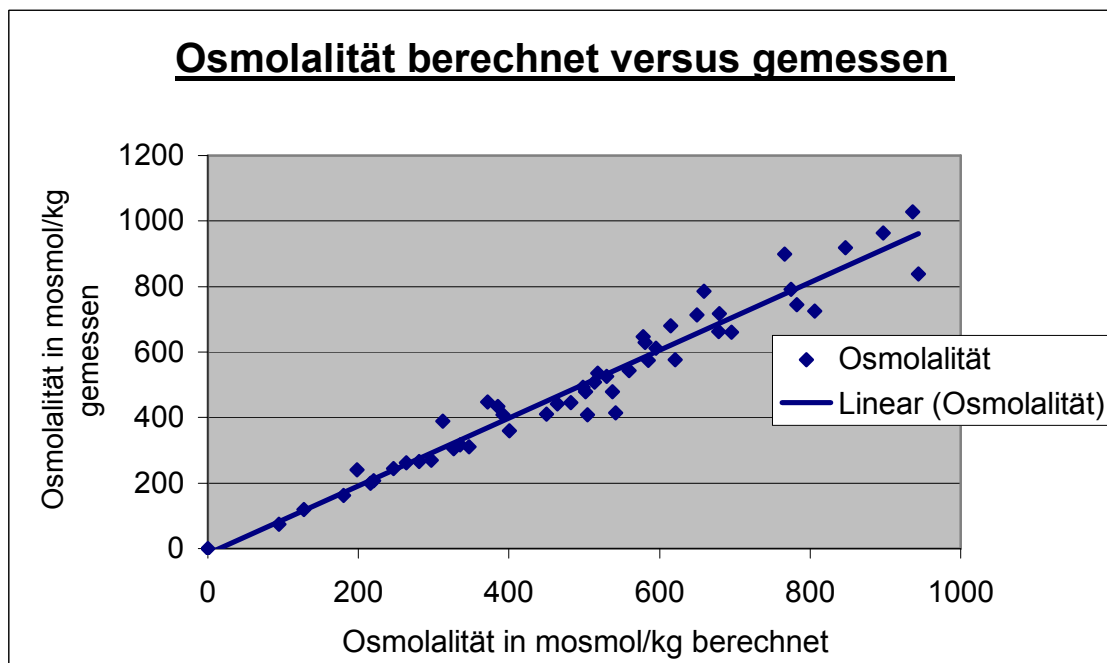


Abbildung 6. Überschneidungspunkte der gemessenen und berechneten Werte

3. 2. 2. Spezifisches Gewicht

In Tabelle 5. erkennt man ebenfalls eine signifikante Korrelation zwischen mit der Spindel gemessenem spezifischen Gewicht und den berechneten Erwartungswerten. Jedoch ist diese Korrelation geringer als bei der Osmolalität. Das kann auf der größeren Streuung der Messdaten beruhen. Siehe Abbildung 7.

Desweiteren liegen die mit der Spindel gemessenen Ergebnisse durchweg höher als die berechneten Erwartungswerte. Dies spiegelt sich auch deutlich in der Steigung der Regressionsgeraden, Tabelle 6., wieder.

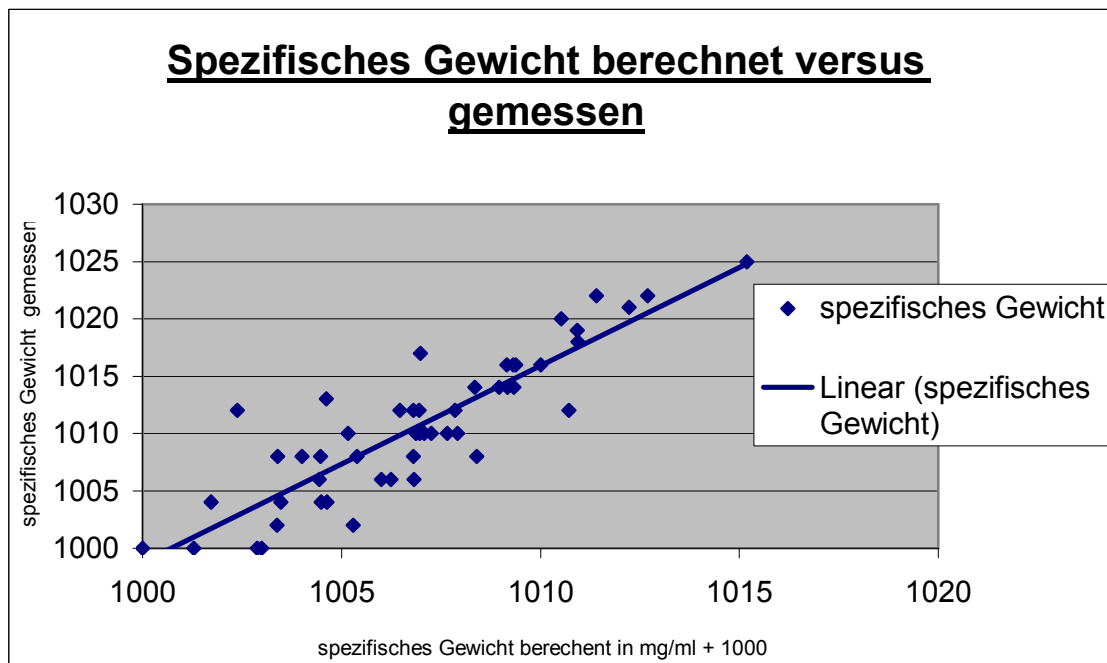


Abbildung 7. Kreuzpunkte des berechneten und direkt gemessenen spezifischen Gewichts

3. 2. 3. Konduktivität

Wie aus Tabelle 5. ersichtlich, korrelieren die bei diesem Parameter errechneten Erwartungswerte und Messergebnisse mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,982 am engsten. Die Daten weisen im Vergleich zu den etablierten Verfahren die geringste Streubreite auf. (Siehe Abbildung 8.)

Jedoch stellt sich die Steigung der Regressionsgeraden aufgrund der durchschnittlich niedrigeren Leitfähigkeit des Harns gegenüber einer Natriumchlorid- oder Kaliumchloridlösung nur mit 0,75 dar.

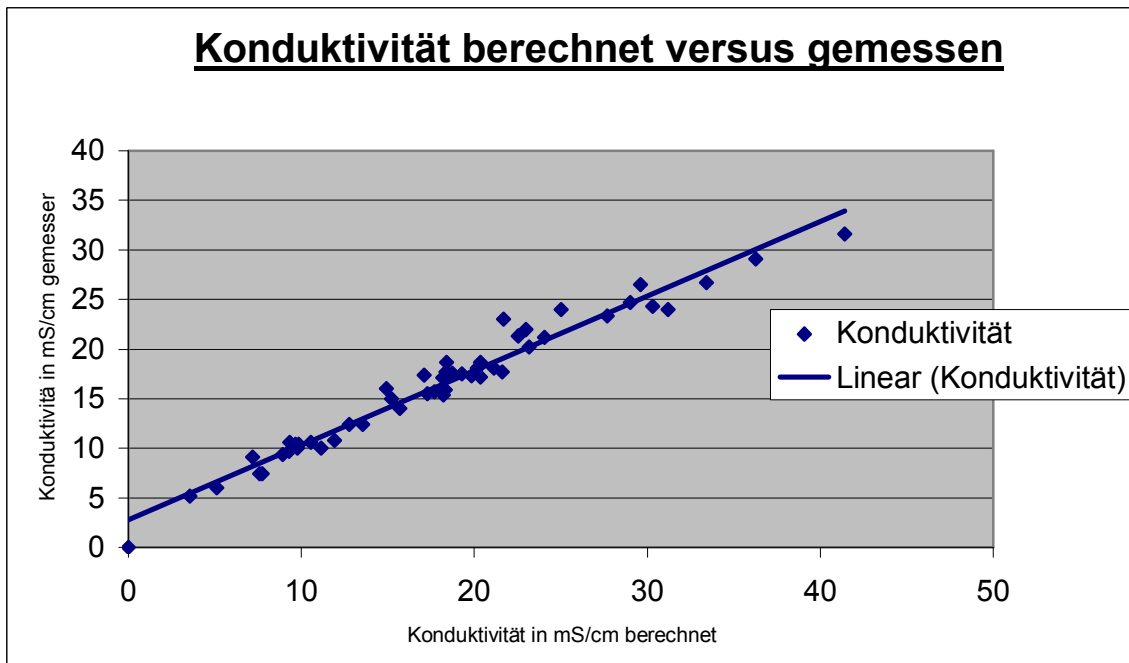


Abbildung 8. Vergleich der gemessenen und berechneten Konduktivitätsergebnisse

	Korrelationskoeffizient r	Steigung der Regressionsgerade
Osmolalität	0,972	1,037
Spezifisches Gewicht	0,878	1,716
Konduktivität	0,982	0,752

Tabelle 5. Korrelations- und Regressionsdaten der berechneten mit den gemessenen Daten

3.3. Vergleich von Osmolalität, spezifischem Gewicht und Konduktivität mit der etablierten Surrogatgröße Urinkreatinin

Um die Aussagekraft der untersuchten Messmethoden besser einschätzen zu können, haben wir sie schließlich dem etablierten Parameter Urinkreatinin (Normwert des Morgenurins: Männer 40 – 278 mg/dl; Frauen 29 – 226 mg/dl; jeweils altersabhängig¹⁶⁾) gegenübergestellt. Dieser dient üblicherweise als Referenzgröße quantitativer Harnanalysen⁸⁾.

In 45 Harnproben wurde die Kreatininkonzentration gemessen. Dieselben Proben unterzogen wir der Messung der Osmolalität, des spezifischen Gewichts mit der Spindel und der Konduktivität.

Den Vergleich zwischen Urinkreatininkonzentration und den genannten Messverfahren zeigen die folgenden Diagramme. (Abb. 9., Abb. 10., Abb. 11.)

Tabelle 7. gibt die Ergebnisse der Korrelations- und Regressionsanalyse wieder.

3.3.1. Osmolalität

In Tabelle 6. zeigt sich eine Korrelation von 0,853 zwischen der Konzentration des Harnkreatinin und der im Harn gemessenen Osmolalität. Wie aus Abbildung 10. ersichtlich, beträgt die Steigung der Regressionsgeraden 3,498. Dies beruht auf der großen numerischen Spannweite (0-1200) der Osmolalität und der dazu wesentlich kleineren bei der Kreatininkonzentration (0-250).

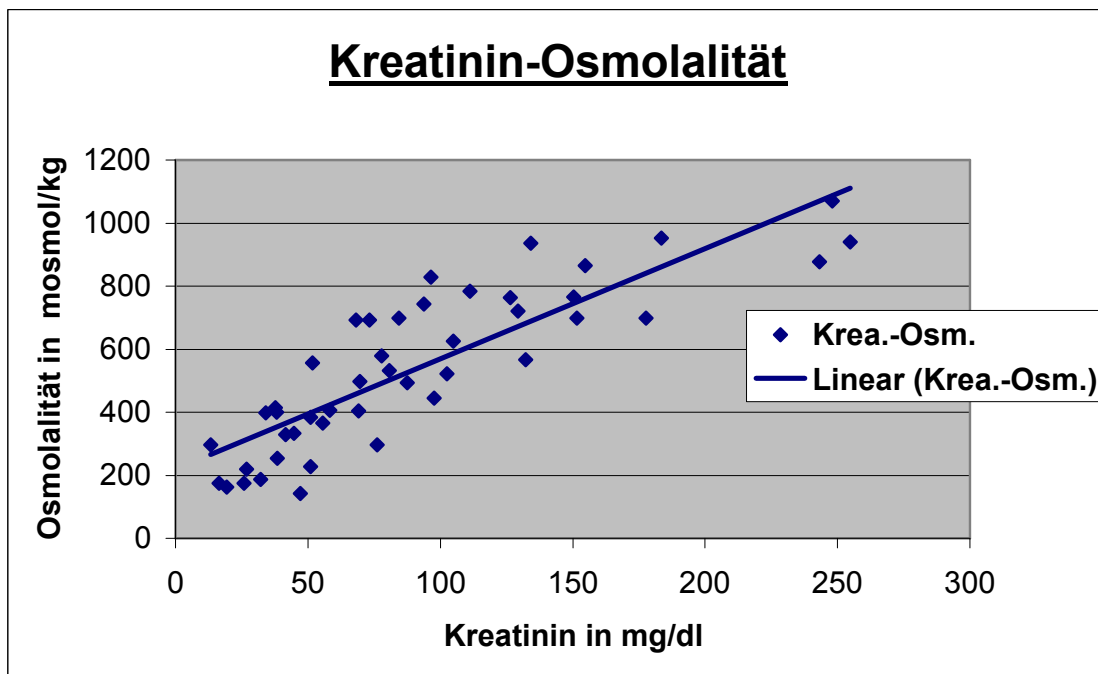


Abbildung 10. Urinkreatinin verglichen mit der Osmolalität

3. 3. 2. Spezifisches Gewicht

Wie in Tabelle 6. erkennbar, besteht ebenfalls eine signifikante Korrelation zwischen Kreatinkonzentration und spezifischem Harngewicht. Der Korrelationskoeffizient (0,782) ist jedoch geringer als beim Vergleich mit der Osmolalität. Deutlich breiter stellt sich in Abb.11. auch die Streuung der Messergebnisse dar.

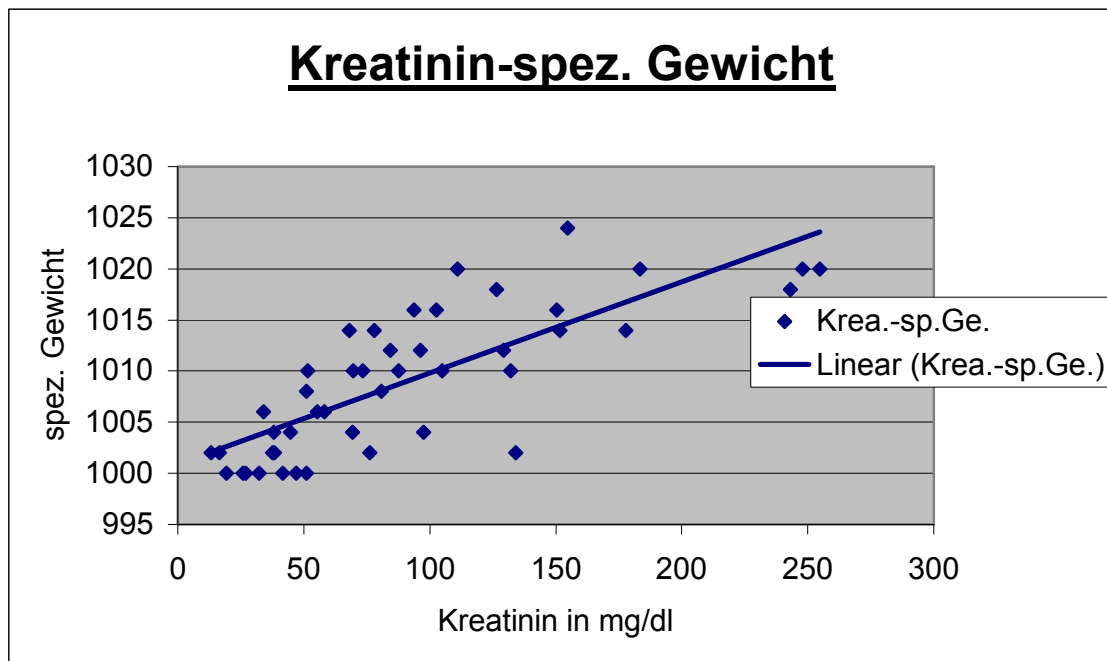


Abbildung 11. Vergleich der Harnkreatininkonzentration mit dem spezifischen Gewicht

3. 3. 3. Konduktivität

Wie in Abbildung 12. dargestellt, ist die Korrelation von Harnkreatinin und Harnkonduktivität linear. Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,829 und ist mit dem zwischen Harnkreatinin und Osmolalität, siehe Tabelle 6. vergleichbar.

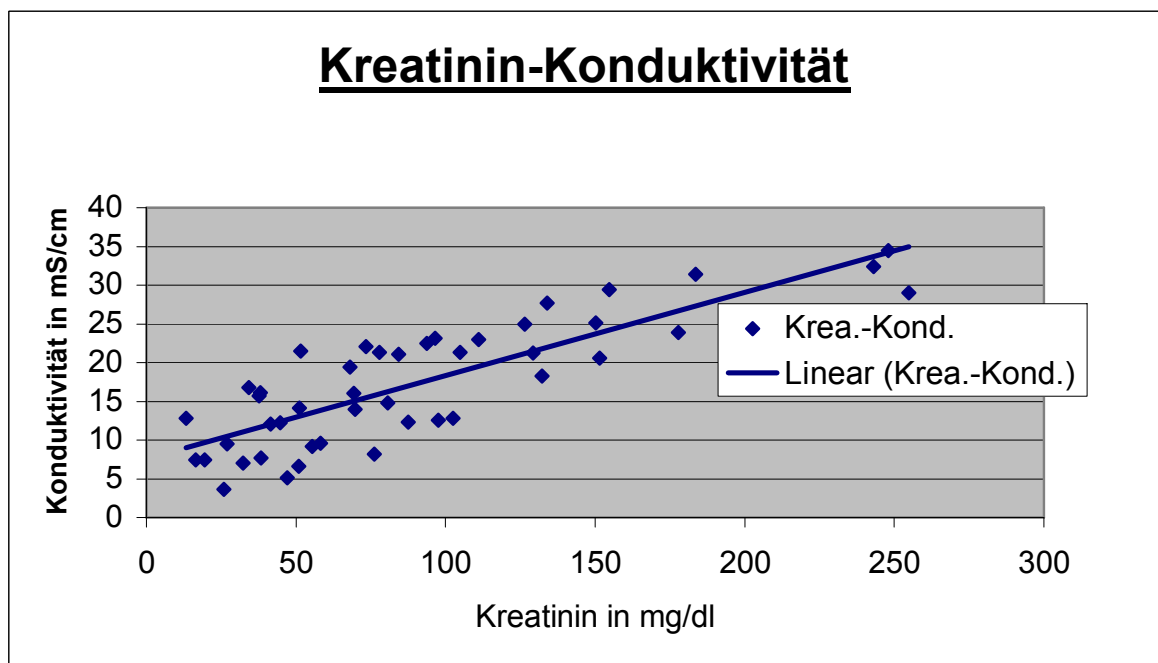


Abbildung 12. Zusammenhang zwischen Harnkreatinin und Konduktivität

	Korrelationskoeffizient	Steigung der Regressionsgerade
Osmolalität-Kreatinin	0,853	3,498
Spez. Gewicht-Kreatinin	0,782	0,089
Konduktivität-Kreatinin	0,829	0,108

Tabelle 6. Korrelations- und Regressionsdaten beim Vergleich des Kreatinins mit Osmolalität, spez. Gewicht und Konduktivität

4. Diskussion

Die Ziele der durchgeführten Untersuchungen waren:

- 1) anhand eines Rohversuches darzustellen, welche Stoffparameter in welchem Ausmaß durch gängige Messmethoden und durch die elektrische Leitfähigkeit erfasst werden,
 - 2) zu prüfen, ob diese Ergebnisse auf komplexe Harnproben übertragbar sind und
 - 3) einen Vergleich mit der Surrogatgröße Harnkreatinin aufzuzeigen,
- um letztendlich die geeignetste Messgröße zur Beurteilung der osmotischen Arbeit der Niere vorstellen zu können.

4.1. Vergleichende Wertung der Messverfahren

Osmolalität : Die bei diesen Untersuchungen mit dem Osmometer bestimmte Osmolalität beschreibt die Stoffmenge eines gelösten Stoffes in Mol pro Kilogramm Lösungsmittel. Die ihr verwandte Osmolarität beschreibt die Stoffmengenkonzentration oder molare Konzentration des gelösten Stoffes pro Volumen und ist seit PENNEY und WALTERS zur Beurteilung des Konzentrierungsvermögens der Niere indiziert ¹⁷⁾. Mittlerweile gilt sie als Goldstandard in der Beurteilung der Harnkonzentration ⁵⁾.

Für die im Harn gelösten, osmotisch aktiven Stoffgruppen Natrium, Kalium, Chlorid, Glucose und Harnstoff zeigt sich in 3.1.1. eine signifikante Korrelation zwischen molarer Konzentration und osmotischer Wirksamkeit. Hierbei ist die Glucose, wie in Tabelle 7. verdeutlicht, überproportional osmotisch wirksam (1,121 osmol/mol).

Die Elektrolyte haben dagegen eine etwa proportionale osmotische Wirksamkeit zur molaren Konzentration und werden durch die Osmometrie nahezu stoffmengenäquivalent erfasst. Dasselbe gilt für den Harnstoff.

Albumin jedoch wird trotz seiner hohen molaren Masse (68 kg/mol) deutlich unterrepräsentiert und nicht stoffmengenäquivalent dargestellt.

Die Ergebnisse des Modellversuches sind, wie in 3.2.1. aufgezeigt, vollständig auf Harnproben ambulanter und stationärer Patienten übertragbar. Glucose beeinflusst die Osmolalität aufgrund ihrer osmotischen Wirksamkeit am stärksten, während sich Elektrolyte und Harnstoff stoffmengenäquivalent darstellen. Somit bestätigen sich die früheren Erkenntnisse von COLUMBO J.P. und RICHTERICH R., die zudem noch Ammoniak als Einflussfaktor werten ¹⁸⁾. Im weiteren zählen auch Ketone zu den Einflussparametern der Osmolalität ¹⁹⁾.

Bei der Untersuchung der Osmolalität mit dem Osmometer ist eine Differenzierung der hier aufgezeigten Harnanalyte jedoch nicht möglich. Glucose und Harnstoff im Urin werden dementsprechend zu deutlichen Fehlerquellen. Deshalb kann dieses Messverfahren keine Aussage darüber treffen, ob die Niere ihre osmotische Arbeit im Rahmen der Austarierung des Elektrolyt- und Wasserhaushaltes leistet, d.h. der Harn hyper- oder hypoton ist, wenn man eine Glucosurie und einen erhöhten Harnstoffgehalt nicht vorher ausschließt. Damit bestätigt sich die gängige Lehrmeinung: *„Die Osmometrie kann eine Wasserdiurese (Osmolalität < 150 mosmol/kg Wasser) und die osmotische Diurese, angemessen durch die Erhöhung der Natriumkonzentration im Urin; unangemessen durch Auftreten von Glucose und Harnstoff, beweisen. Die Differenzierung der osmotischen Diuresen ist jedoch nicht möglich.“* ¹⁾

Für die genaue Diagnostik wäre es höchst sinnvoll, die im Urin osmotisch wirksamen Größen unterscheiden zu können. Dies gilt besonders bei einer pathologischen Wasserdiurese und verminderten Natriumkonzentrationen, wie beim primären Diabetes insipidus, bei dem die Diagnose bisher hauptsächlich über die Osmometrie gestellt wird ²⁰⁾. Aber auch bei chronischen Polynephritiden, polyzystischer Niere, akut tubulären Nekrosen etc. und sich oft daraus entwickelndem nephrogenen Diabetes insipidus ist die Erkennung des chemischen Stoffes der zur Polyurie führt sinnvoll.

Spezifisches Gewicht (Spindel): Das spezifische Gewicht oder auch die relative Dichte wird definiert als die Masse-Dichte, in diesem Fall des Urins (kg/l), im Vergleich zur Masse-Dichte (kg/l) von Wasser ²¹⁾. Sie ist abhängig von der Anzahl und der Masse der gelösten Teilchen und von der Temperatur. Im Modellversuch zeigen die untersuchten Harninhaltsstoffe NaCl, KCl, Glucose und Harnstoff hochsignifikante Korrelationen zwischen Stoffkonzentrationen und spezifischem Gewicht. Hierbei werden NaCl und KCl mit ca. 70 % ihrer Masse am treffendsten repräsentiert, während Glucose und Harnstoff mit 37 % bzw. 23 % repräsentiert werden. Im klinisch relevanten Bereich kann sowohl Glucose (Normalbefund Glucosekonzentration in 1350 ml/die < 15 mg/dl) ²²⁾, als auch Harnstoff (je nach Ernährung in 1350 ml/die 1,7- 8,3 mmol/l bzw. 10 mg/ml-50 mg/ml) ²²⁾ die Aussagekraft dieser Methode einschränken.

Insgesamt wurden bei diesem Modellversuch die Salze gegenüber den polaren Substanzen jedoch ungefähr um den Faktor zwei überrepräsentiert.

Hingegen hat Albumin, wie in Tabelle 7. dargestellt, keinen Einfluss auf das spezifische Gewicht. Dieses Ergebnis steht in einem gewissen Widerspruch zu den Beobachtungen von MILLER R.B., die besagen, dass ein Proteinanstieg von 10 g/l zu einer Erhöhung um drei Einheiten im spezifischen Gewicht führt. Zu einer weiteren Differenz gegenüber MILLERs Schlussfolgerungen kommen wir auch bei den Glucosemessungen. Sein Ergebnis: „*Glucose in einer Konzentration von 10 g/l erhöht das spezifische Gewicht um 0.004,*“ ²³⁾ konnte im Modellversuch mit synthetischen Glukoselösungen nicht bestätigt werden.

Die Untersuchung der Urinproben ergab zwar eine signifikante Korrelation zwischen spezifischem Gewicht des Harns und errechneten Erwartungswerten, jedoch lagen die Ergebnisse der Spindelmessung der Harnproben durchweg deutlich höher als das im voraus berechnete spezifische Gewicht. Wir nehmen an, dass 70 % der Messwerte in tatsächlichen Harnproben von Größen beeinflusst wurden, die im Modellversuch nicht repräsentiert waren. Solche Stoffe könnten z.B. Phosphate und Carbonate, aber auch Uromucoide sein. Eine weitere Erklärung könnten die Ergebnisse von PRADELLA M. bieten, der über die Massenverteilung der Stoffe im Harn postuliert: „...*das Gewicht (Masse) der gelösten Partikel wird hauptsächlich gebildet durch Harnstoff (73%),*

Chlorid (5.4%), Natrium(5.1%), Kalium(2.4%), Phosphate(2,0%), Säuren(1,7%) und Sulfate (1,3%)“²⁴⁾.

Die Ablesegenauigkeit bei der Spindelmessung dürfte ebenfalls die Resultate verfälschen.

Obwohl in diesen Versuchen für die Konzentriertheit des Harns wesentliche Komponenten erfasst wurden, können wir die im Modellversuch ermittelten Ergebnisse nicht eins zu eins auf tatsächliche Harnproben übertragen. Diese Diskrepanz und der verfälschende Einfluss von Glucose, Harnstoff und weiteren Harnkomponenten stellen sowohl Validität, als auch Reliabilität des spezifischen Harngewichtes als Parameter zur Beurteilung der renalen Diuresefähigkeit in Frage.

Ein weiteres Problem stellt der zeitliche und technische Aufwand der Spindelmessung dar. Genau 10 ml der zu untersuchenden Lösung müssen in ein Zylinderglas gefüllt werden, das auf einer geraden Ebene steht. Die Spindel wird dann von Hand in die Testlösung gelassen. Es bedarf circa einer Minute bis sich die Spindel eingependelt hat und man den genauen Wert des spezifischen Gewichtes ablesen kann.

Somit ist diese Methode äußerst unpraktikabel im Laboralltag.

Spezifisches Gewicht (Teststreifen): Aufgrund der Kostengünstigkeit, einfachen Handhabung und schnellen Auswertung von 10 Messgrößen (Granulozyten, Erythrozyten, Nitrit, Proteine, Glucose, Ketonkörper, pH-Wert, spezifisches Gewicht, Bilirubin, Urobilogen, Ascorbinsäure)²⁵⁾ findet die Teststreifenanalytik im Klinik- und Praxisalltag großen Zuspruch. Die häufigste Herangehensweise beim Screening von Harnproben ist die Kombination von Teststreifen und Urinflowzytometrie. Entweder werden beide Methoden verwendet oder der Teststreifen für Analyte bzw. die UFC für Partikel²⁶⁾ benutzt. Zur Erfassung der Harnkonzentration hat sich jedoch noch kein schnell arbeitendes Messverfahren etabliert.

Die Problematik des Teststreifens beruht auf dem chemischen Mechanismus dieser Untersuchungsmethode. Sie besteht aus zwei Komponenten, dem Kationenaustauscher (freie Kationen im Urin werden gegen Protonen ausgetauscht) und dem daraus

folgenden Umschlag des pH-Indikators. Bei einem pH-Abfall verfärbt sich der Indikator von blau (SG=1.000) nach gelb (SG=1.030) ²⁷⁾. Deshalb kann nur Urin mit einem pH-Wert zwischen 7.0-7.5 mit dem Teststreifen korrekt beurteilt werden ²⁸⁾. Das bedeutet, dass die Resultate nicht auf der Messung des spezifischen Gewichtes (der Masse-Dichte im vgl. zu Wasser) beruhen, sondern auf der Kationenkonzentration und der Pufferkapazität des Urins ²⁹⁾.

Die Elektrolytkonzentration spiegelt sich in der Versuchsreihe der einzelnen Rohlösungen nicht wieder. Diese Beobachtung stimmt mit den Aussagen von KUTTERS D. ³⁰⁾ Harnprobenanalyse überein. Die von ihm berechnete Korrelation zwischen Teststreifen und Kationenkonzentration r beträgt 0,47, während sich die Korrelation zwischen Leitfähigkeit und Kationenkonzentration mit $r = 0,76$ ausprägt. Auch HOFMANN W., MILLER B. und GUDER W.G., deren Korrelationskoeffizienten zwischen Teststreifenergebnissen und Kationenkonzentrationen $r = 0,537$ (bei Normalpersonen) und $r = 0,370$ (bei stationären Patienten) ³¹⁾ bestätigen das Ergebnis:

- 1) die relevanten Kationenkonzentrationen werden von dieser Messmethode unbefriedigend dargestellt und
- 2) die hier untersuchten polaren Substanzen werden nicht durch das „spezifische Gewicht“ des Teststreifens erfasst.

Da der Teststreifen, wie aus Tabelle 3. ersichtlich, keine osmotisch aktiven Parameter misst, haben wir ihn nicht der weiterführenden Kontrolluntersuchung an tatsächlichen Harnproben unterzogen.

Somit ist der Teststreifen im Vergleich zu den geprüften Messmethoden am wenigsten aussagekräftig und sein Ergebnis sollte im Klinikalltag nicht zur Beurteilung der osmotischen Arbeit der Niere verwendet werden.

Konduktivität : Aufgrund der Verbreitung der Urinflowzytometrie als neue automatische Messmöglichkeit von Harnsedimenten ^{32) 33) 34) 35)} steht erstmals die elektrische Leitfähigkeit in einem Routinegerät zur Verfügung. Sie wird zwischen zwei Elektroden in der Durchflusszelle des Urinzytometers gemessen und bedarf keines zusätzlichen Instrumentariums oder Untersuchers.

In Tabelle 7. ist zu erkennen, dass die Konduktivität im wesentlichen vom Elektrolytgehalt der Rohlösung bestimmt wird. Polare Substanzen wie Glucose und Harnstoff beeinflussen die elektrische Leitfähigkeit hingegen nicht. Ebenso kann auch die Leitfähigkeit von Albumin im klinisch relevanten Bereich vernachlässigt werden. Die Ergebnisse der synthetischen Lösungen lassen sich außerdem im Vergleich zu den anderen Messmethoden nahezu zu 100 % auf Harnproben übertragen.

Dementsprechend beeinflussen in komplexen Harnproben nur Elektrolyte die Konduktivität. Somit können wir die Gedanken von HANNEMANN-POHL K. bestätigen: Die elektrische Leitfähigkeit *„erfasst die im Urin gelösten Ionen. Wenn man davon ausgehen kann, dass die Elektrolytausscheidung in einem einigermaßen konstanten Verhältnis zu den nicht ionisch gelösten Bestandteilen des Urins steht, ist sie wie die Osmolalität oder die Dichte interpretierbar. Tauchen allerdings zusätzliche, nicht zur Leitfähigkeit beitragende Substanzen im Urin auf - und hier muss besonders an Glucose gedacht werden - so bleibt die Leitfähigkeit hiervon unbeeinflusst.“* ³⁶⁾

Jedoch lagen die Konduktivitätsmessungen der Rohlösungen um 25 % höher als die der Harnproben. Das könnte bedeuten, dass die Höhe der Konduktivität von Sysmex UF-100 um ein Viertel niedriger erfasst wird als vom im Modellversuch verwendeten Taschenkonduktormeter.

Um die Validität dieses neuen Messwertes zu veranschaulichen haben andere Arbeitsgruppen die Korrelation zwischen Konduktivität und Osmolalität bzw. Konduktivität und spezifischem Gewicht bestimmt. KOURI T. erreichte eine signifikante Korrelation von 0,84 zwischen Konduktivität und Osmolalität der teststreifennegativen Harnproben ³⁷⁾, DE KEIJZER einen Korrelationskoeffizienten $r = 0,64$ ($p = 0,001$) ¹³⁾ und LANGLIOS R.M. eine Korrelation von $r = 0,541$ ($p = 0,001$) ³⁸⁾ zwischen Konduktivität und spezifischem Gewicht, gemessen mit dem Teststreifen.

Diese Ergebnisse erlauben es, die Reliabilität der Konduktivität mit der Osmolalität zu vergleichen. Wohingegen die niedrigen Korrelationen bei der Messung mit dem Teststreifen dessen mangelhafte Aussagekraft bestätigen.

Da Elektrolyte durch die elektrische Leitfähigkeit sehr gut erfasst werden, wohingegen Störgrößen wie Glucose und Harnstoff nicht wahrgenommen werden, kann man das Harnkonzentrationsvermögen und die damit einhergehende Nierenfunktion, sowie den Elektrolythaushalt präzise beobachten.

In der Sportmedizin findet die Konduktivität bereits zur Beurteilung des Hydrationszustandes Verwendung³⁹⁾.

Zur hinweisenden Diagnostik könnte die Konduktivität z.B. bei Patienten mit akut tubulären Nekrosen, Natriumverlust von über 30 mmol/l⁴⁰⁾ oder Volumenmangelsyndrom, Natriumausscheidung unter 10 mmol/l, verwendet werden. Ebenfalls würde die Konduktivität beim Kaliumverlust durch die Niere ansteigen. Enthält der Urin mehr als 10 mmol/l ist die Niere für eine Hypokaliämie verantwortlich. Hält sich die renale Kaliumausscheidung unter 10 mmol/l, würde man die Ursache der Hypokaliämie eher dem Gastrointestinaltrakt zuordnen⁴⁰⁾.

Eine sinnvolle Anwendung könnte die Konduktivität desweiteren bei der Beurteilung der Niereninsuffizienz von Diabetikern finden, da die Konduktivität sowohl von der Glucose als auch vom Albumin unbeeinflusst bleibt.

Tabelle 7. zeigt eine Übersicht der verschiedenen Messverfahren zur Beurteilung der Harnkonzentrationskapazität unter Berücksichtigung der Hauptkomponenten des physiologisch gelösten Stoffgemisches im Harn. Als Maß für die relative Repräsentation des jeweiligen Stoffes wurde die Steigung der Regressionsgeraden gewählt.

Striche deuten das Fehlen eines linearen Zusammenhangs zwischen Stoffmengenkonzentration und dem jeweiligen Messwert an.

	NaCl	KCl	Glucose	Harnstoff	Albumin
Osmolalität (osmol/mol)	1,84	1,86	1,121	0,973	0,042
Spezifisches Gewicht (Spindel)	0,72	0,711	0,370	0,238	-
Spezifisches Gewicht (Teststreifen)	-	-	-	-	-
Konduktivität (Scm ⁻¹ /mol)	0,0776	0,1252	-	-	0,002

Tabelle 7. Vergleichende Wertung der Messverfahren anhand der Steigungen der Regressionsgeraden.

4.2. Ist Harnkreatinin durch Harnkonduktivität ersetzbar ?

Sowohl die berechneten Korrelationen zwischen Osmolalität und Urinkreatinin ($r = 0,85$), als auch zwischen Konduktivität und Kreatinin im Harn ($r = 0,83$) stellen sich in unseren Messungen hochsignifikant dar.

Eine weit geringere Übereinstimmung dieser Messparameter findet sich jedoch bei KOURI T., der eine Korrelation von $r = 0,68$ ³⁷⁾ zwischen Osmolalität und Urinkreatinin, und KAVUKCU S. der nur eine Korrelation von $r = 0,36$; ($P = 0,01$) ⁴¹⁾ erreichte.

Annähernd bestätigt fanden wir jedoch unsere Ergebnisse ($r = 0,72$) zwischen spezifischem Gewicht und Kreatinin bei MOORE R. ($r = 0,79$; $P = 0,001$) ⁴²⁾ und CARRIERI M. ($r = 0,82$; $P = 0,001$) ⁴³⁾.

Demzufolge sind Osmolalität, Konduktivität und Urinkreatinin ähnlich präzise Surrogatparameter. Der Konduktivität sollte aufgrund ihrer Praktikabilität jedoch der Vorzug gewährt werden.

Während das spezifische Gewicht bei unseren Messungen einen geringeren Zusammenhang mit dem Urinkreatinin aufweist und deswegen keine Verwendung als Behelfsgröße finden sollte.

5. Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Es ist in obenstehender Tabelle deutlich zu erkennen, dass zwischen den drei untersuchten Ansätzen (Osmometrie, spezifisches Gewicht und elektrische Leitfähigkeit) grundlegende Unterschiede hinsichtlich der Lösungskomponenten bestehen, die durch diese Verfahren erfasst werden können. Die Osmometrie erfasst Elektrolyte (NaCl, KCl) und polare Substanzen (Glucose und Harnstoff) gleichermaßen und konzentrationsproportional. Dagegen werden bei der Messung des spezifischen Gewichtes die Elektrolyte gegenüber den polaren Substanzen etwa um den Faktor zwei überrepräsentiert. Es sei darauf hingewiesen, dass nur die Spindelmessung geeignete Messwerte für das spezifische Gewicht liefert, während das Messsignal der Teststreifenmethode nicht in einer vorhersehbaren Weise mit den hier untersuchten Analyten korreliert. Die elektrische Leitfähigkeit schließlich erfasst lediglich Elektrolyte. Der Einfluss polarer Substanzen ist hier vernachlässigbar.

Abschließend sei darauf hingewiesen, dass Albumin (als Hauptvertreter der Harnproteine) in keinem der Messverfahren einen signifikanten Beitrag zum Messsignal leistet.

Will man nun die osmotische Arbeit der Niere im Rahmen des Wasser- und Elektrolythaushaltes oder in Bezug auf die Pathologie der Niere beurteilen, so bietet sich weiterhin die Osmolalität als Methode der ersten Wahl an. Dabei sollte man an die Fehlerquellen Glucose und Harnstoff denken.

Zeiteffizienter wird der neue Parameter Harnkonduktivität gemessen. Dieser kann auch gleichermaßen wie Kreatinin im Urin als Surrogatparameter Verwendung finden.

6. Literaturverzeichnis

¹⁾ Thomas L: Labor und Diagnose. TH-Books Verlagsgesellschaft mbH Frankfurt/Main, 5:307-310, 1998

²⁾ Smith AF, Beckett GJ, Walker SW, Rae PWH: Lecture Notes on Clinical Biochemistry; Blackwell Science Ltd, 2:159, 1998

³⁾ Armstrong LE, Soto JE, Hacker FT, Casa DJ, Kavouras SA, Maresh CM: Urinary indices during dehydration, exercise, and rehydration. Int J Sport Nutr, 8:345-355, 1998

⁴⁾ Burtis CA., Ashwood ER: Tietz Textbook of clinical chemistry. WB Saunders Company Philadelphia, 3:1067-1068, 1999

⁵⁾ Chadha V, Garg U, Alon US: Measurement of urinary concentration: a critical appraisal of methodologies. Pediatr Nephrol, 16:374-382, 2001

⁶⁾ Gambke B, Kouri T, Kutter D, Nagel D, Vukovich T, Wefers A: Multicentre evaluation of the urina analyser Miditron junior. Scand J Clin Lab Invest, 57:605-611, 1997

⁷⁾ Guder WG, Boisson RC, Fogazzi G, Galimany R, Kouri T, Malakhov VN, Plebani M: External quality assessment of urine analysis in Europe, Results of a round table discussion diuring the Symposium "From Uroscopy to Molecular Analysis." W Seon, Germany, September 18-20, 1999. In Clinica Chemica Acta, 297:275-284, 2000

⁸⁾ Brenner BM: Brenner and Rector`s The Kidney Vol II. WB Saunders Company Philadelphia, 5:1152-1155, 1996

⁹⁾ Stöckl M, Winterling KH: Elektrische Messtechniken. Teubner Stuttgart, 7:223, 1982

- ¹⁰⁾ Györy AZ, Hawkins T, Ross M, McLennan J, Ibels L: Clinical value of urine microscopy by manual and automated methods. *Laboratory Hematology*, 4:211-216, 1998
- ¹¹⁾ Fenili D, Pirovano B: The automation of sediment urinalysis using a new urin flow cytometer (UF-100). *Clin Chem Lab Med*, 36(12):909-917, 1998
- ¹²⁾ Fenili D: UF-100 Evaluation Experience. In *The European Workshop Book*, 1:33-40, 1997
- ¹³⁾ de Keijzer MH, Brandts RW: Flow Cytometry and the Urin Laboratory: Field Evaluation of Sysmex UF-100. *Sysmex J Int*, 7 :117-122, 1997
- ¹⁴⁾ Gärtner: *Medizinische Laboruntersuchung Selbstverlag Labor Dr. Gärtner, Weingarten*, 11 :448, 1995
- ¹⁵⁾ Roche Diagnostics GmbH; Beipackinformation des Combur 10 Test M
- ¹⁶⁾ Mazzachi BC, Peake MJ, Ehrhardt V: Reference Range and Method Comparison Studies for Enzymatic and Jaffa Creatinine Assays in Plasma and Serum and Early Morning Urin. *Clin Lab*, 46:53-55, 2000
- ¹⁷⁾ Penney MD, Walters G: Are osmolarity measurements clinically useful? *Ann Clin Biochem*, 24:566-571, 1987
- ¹⁸⁾ Colombo JP, Richterich R: *Die einfache Urinuntersuchung. Laborreihe 1. Bern*, 1:40-52, 1977
- ¹⁹⁾ Burtis CA, Ashwood ER: *Tietz Textbook of clinical chemistry. WB Saunders Company Philadelphia*, 3:1256, 1999

- ²⁰⁾ Kovacs L, Nemethova V, Gucalova Y, Lethotska V, Cintala J, Michajlovskij N, Michalickova J, Lichardus B: Simple diagnosis of diabetes insipidus and antidiuretic hormon excess. *Exp Clin Endocrinol*, 85:228-234, 1985
- ²¹⁾ Greiling H, Gessner AM: *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie*. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 3:742-743, 1994
- ²²⁾ Thomas L: *Labor und Diagnose*. TH-Books Verlagsgesellschaft mbH Frankfurt/Main, 5:1400, 1998
- ²³⁾ Massry SG: *Textbook of Nephrology*. William and Wilkins Baltimore, 2:196-242, 1989
- ²⁴⁾ Pradella M, Dorizzi RM, Rigolo F: Relativ density of urin: methods and clinical significance. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 26:195-242, 1988
- ²⁵⁾ Hofmann W, Edel HH, Guder WG, Ivandic M, Scherberich JE: Harnuntersuchung zur differenzierten Diagnostik einer Proteinurie. *Deutsches Ärzteblatt*, 12: 605-613, 2001
- ²⁶⁾ Delanghe JR, Kouri TT, Huber AR, Hannemann-Pohl K, Guder WG, Lun A; Sinha P, Stamminger G, Beier L: The role of automated urine particle flow cytometry in clinical practice. *Clin Chim Acta*, 301:1-18, 2000
- ²⁷⁾ Kutter D, Holtzmer M: Erprobung eines Teststreifens zur Bestimmung des „spezifischen Gewichtes“ des Harns. *Z. med. Labor.-Diagn.*, 25:329-333, 1984
- ²⁸⁾ Dörner K, Campos R, Börnsen S: Further Evaluation of the SG Test Strip for Estimation of Urinary Osmolality. *J Clin Chem Clin Biochem*, 22:419-425, 1984

- ²⁹⁾ D. Kutter: The urin test strip of the future. *Clinica Chemica Acta*, 297:298 – 304, 2000
- ³⁰⁾ Kutter D, Humbel R, Holtzmer M: Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Harns mit einem Teststreifen. Bericht über eine klinische Erprobung. In: *Die Bestimmung des spezifischen Gewichtes in der Harnroutine*. Miles GmbH 1982
- ³¹⁾ Hofmann W, Miller B, Guder WG: Spezifisches Gewicht, Leitfähigkeit, Dichte und Osmolalität im Harn. Vergleich bei Normalpersonen, stationären Patienten und Intensivpatienten. *J Lab Med*, 20:697-697, 1996
- ³²⁾ Nakamoto H: Automated Urinalysis. *Sysmex Journal International*, 6:168-172, 1996
- ³³⁾ Ben-Ezra J, Bork L, McPherson RA: Evaluation of the sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer. *Clin Chem*, 44:92-95, 1998
- ³⁴⁾ Hannemann-Pohl K: Neue Aspekte der mechanisierten Analytik des Harnsedimentes. *J Lab Med*, 22:609-634, 1998
- ³⁵⁾ Hannemann-Pohl K, Kampf SC: Automation of urine sediment examination: a comparison of the Sysmex UF-100 automated flow cytometer with routine manual diagnosis (microscopy, test strips and bacterial culture). *Clin Chem Lab Med*, 37:753-764, 1999
- ³⁶⁾ Hannemann-Pohl K, Kampf SC: Der Durchfluß-Partikel-Analysator UF-100: Abschätzung von Referenzbereichen für Gesunde. *J Lab Med*, 22:383-391, 1998
- ³⁷⁾ Kouri TT, Kähkönen U, Malminiemi K, Vuento R, Rowan RM: Evaluation of Sysmex UF-Urine Flow Cytometer versus Chamber Counting of supravivally stained specimens and conventional bacterial cultures. *Am J Clin Pathol*, 112:25-35, 1999

- ³⁸⁾ Langlios MR, Delanghe JR, Steyaert SR, Everert KC, De Buyzere ML: Automated Flow Cytometry compared with an Automated Dipstick Reader for Urinalysis. *Clin Chem*, 45:118-112, 1999
- ³⁹⁾ Shirreffs SM, Maughan RJ: Urine osmolality and conductivity as indices of hydration status in athletes in the heat. *Med Sci Sports Exerc*, 30:1598-1602, 1998
- ⁴⁰⁾ Kaplan LA, Pesce AJ: *Clinical Chemistry Mosby St Louis*, 3:496, 1996
- ⁴¹⁾ Kavukcu S, Turkmen M, Soylu A, Kuralay F: Could conductivity be used as a parameter in urinalysis? *J Pak Med Assoc*, 48:238-240, 1998
- ⁴²⁾ Moore RR, Hirata-Dulas CA, Kasiske BL, Use of urine specific gravity to improve screening for albuminuria. *Kidney Int*, 52:240-243, 1997
- ⁴³⁾ Carrieri M, Trevisan A, Bartolucci GB: Adjustment to concentration-dilution of spot urine samples: correlation between specific gravity and creatinin. *Int Arch Occup Environ Health*, 74:63-67, 2001

7. Bildanhang

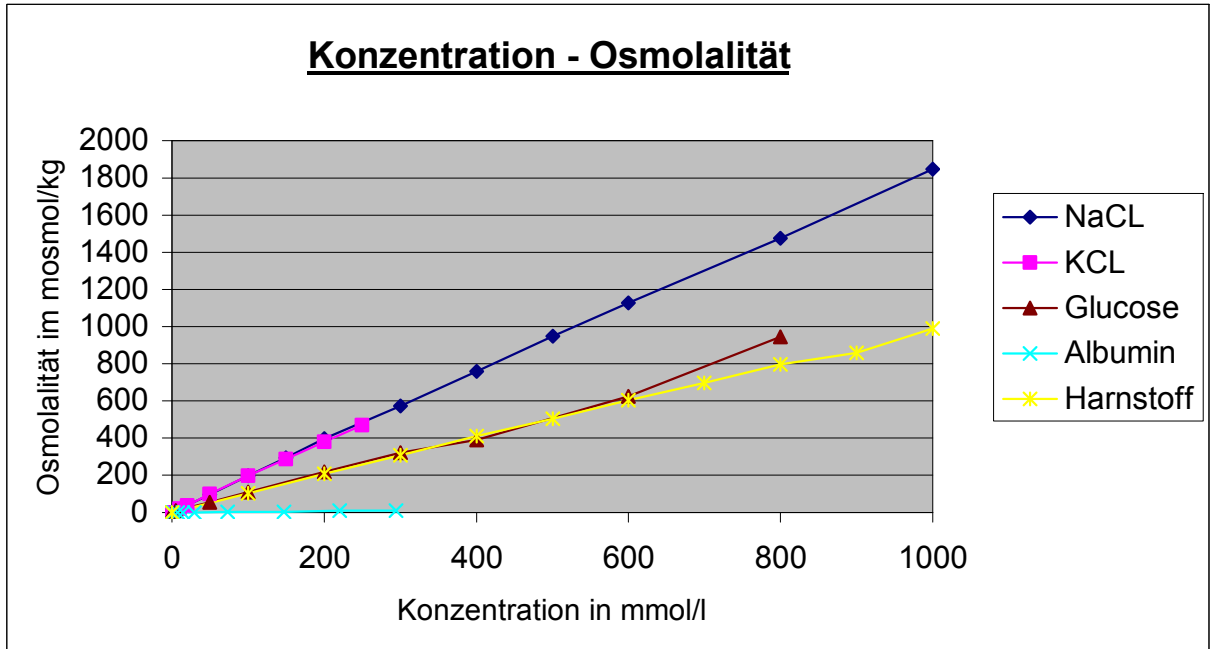


Abbildung 1. Zusammenhang zwischen Osmolalität und Stoffkonzentration definierter Lösungen

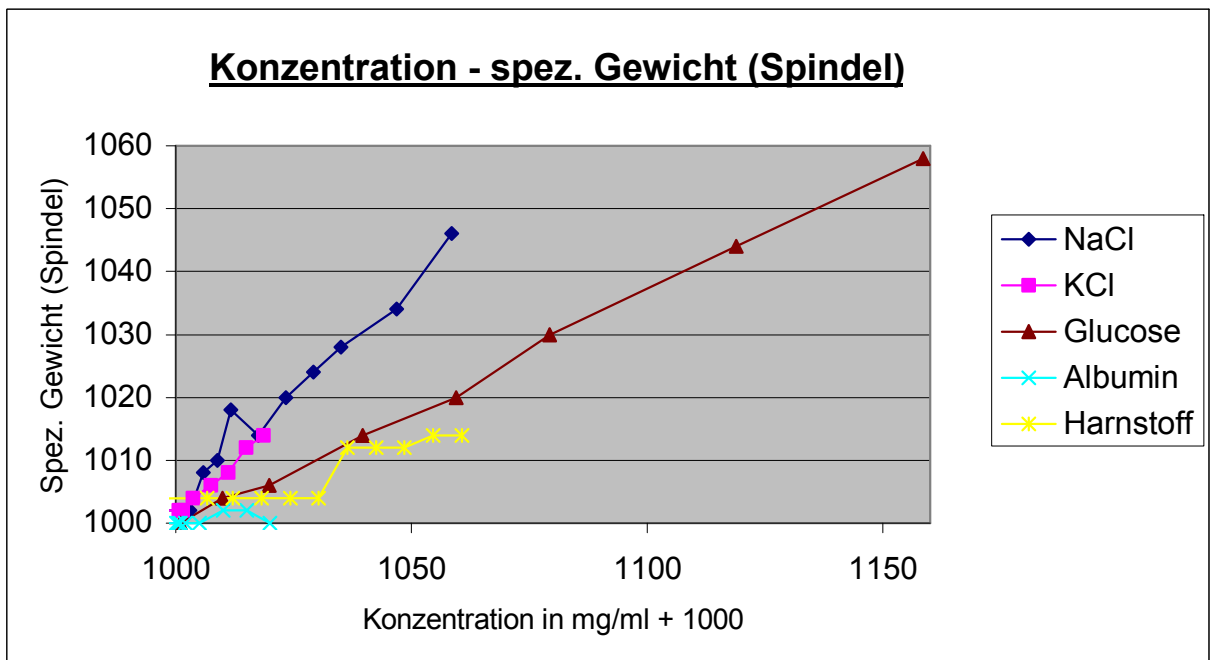


Abbildung 2. Vergleich zwischen spezifischem Gewicht und definierten Harninhaltsstoffen.

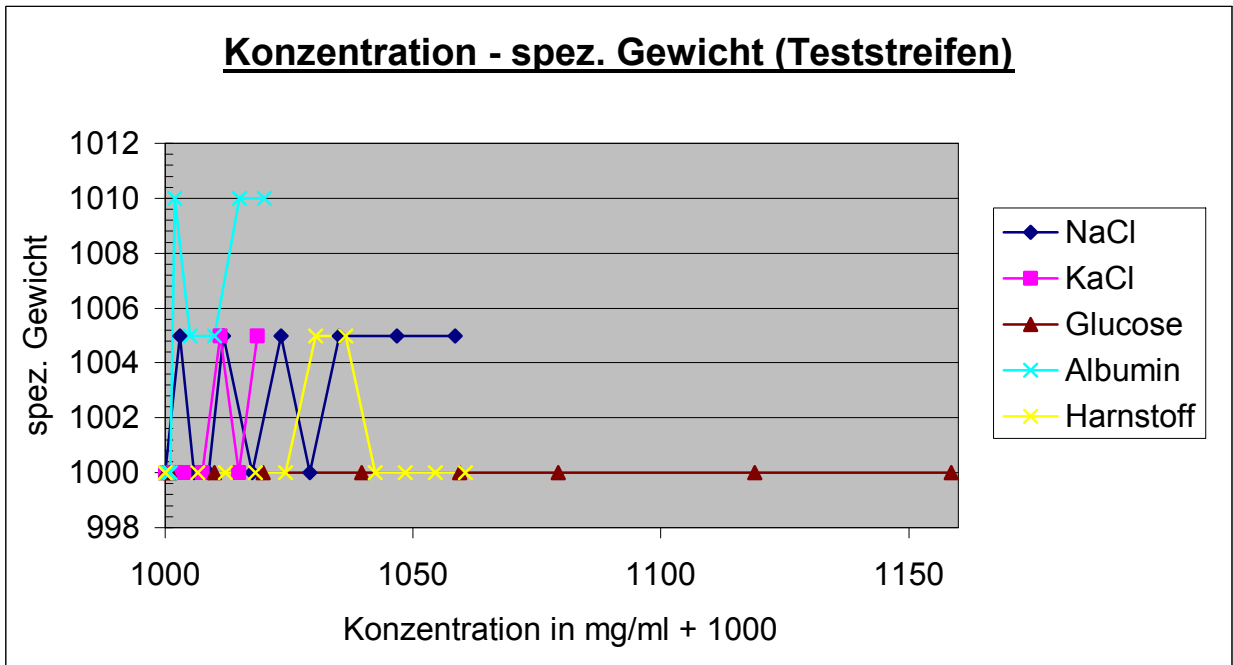


Abbildung 3. Ergebnisse des Teststreifens bei verschiedenen Analytkonzentrationen

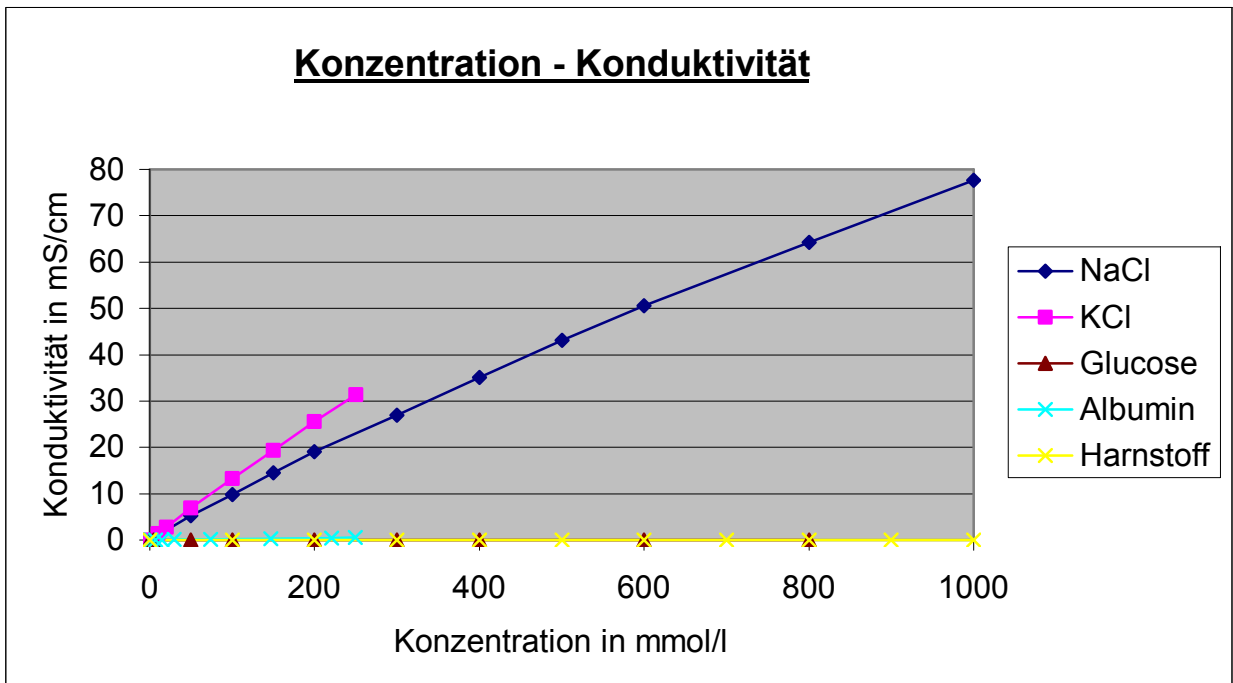


Abbildung 4. Zusammenhang zwischen Konzentration und Konduktivität definierter Lösungen

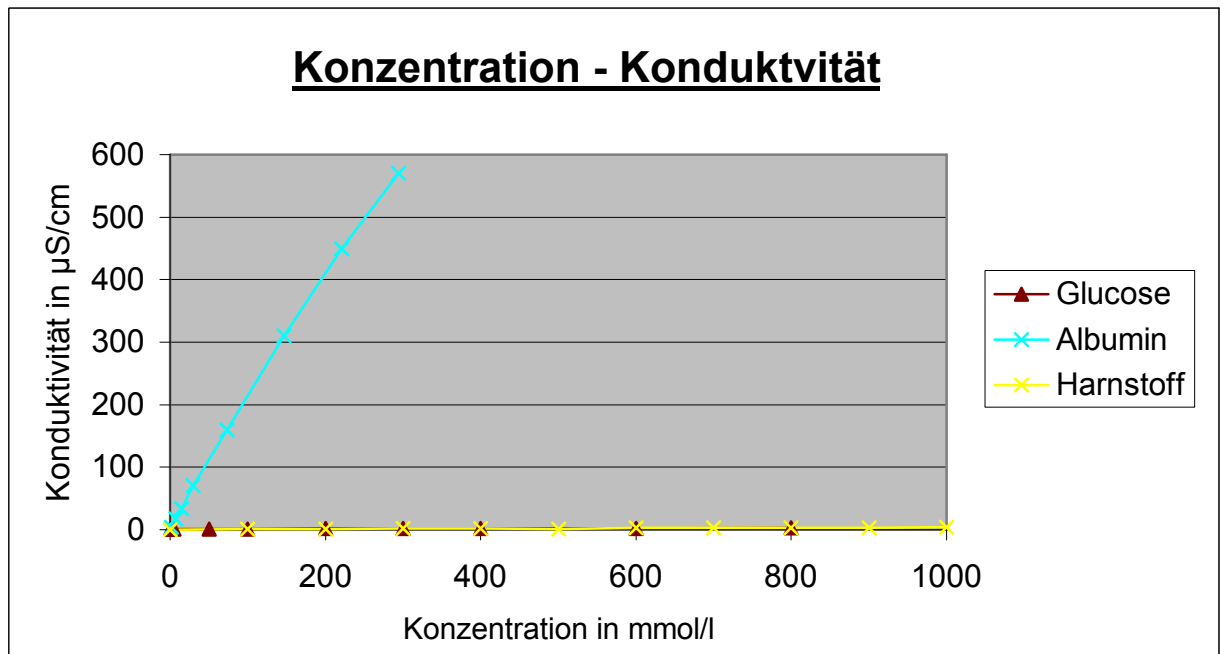


Abbildung 5. Gespreizte Darstellung im μ Siemensbereich für Albumin, Glucose und Harnstoff

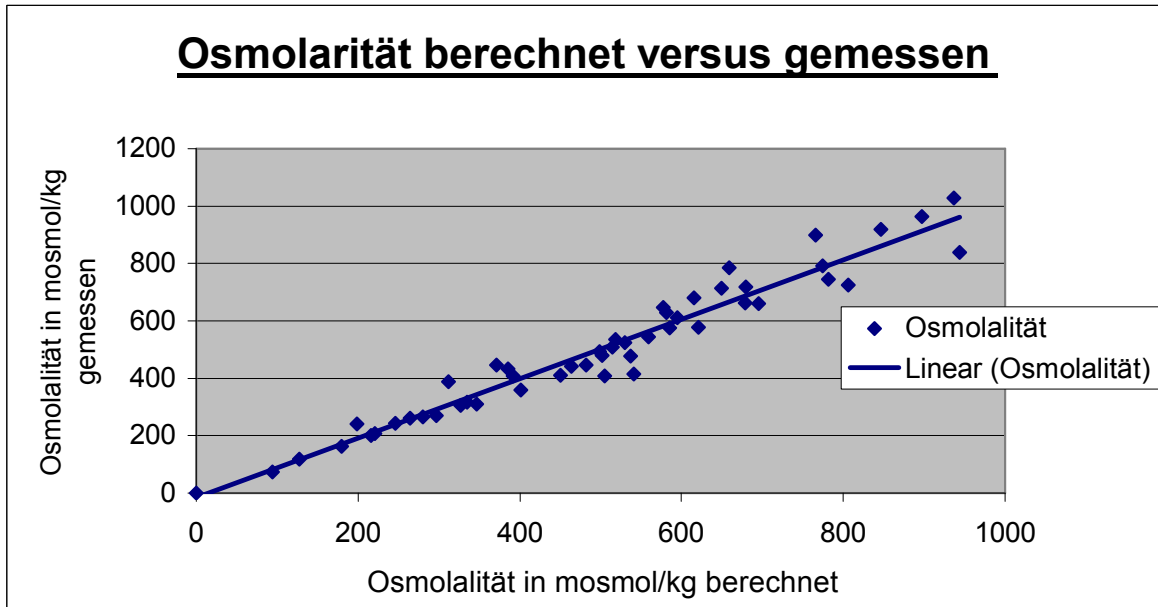


Abbildung 6. Überschneidungspunkte der gemessenen und berechneten Werte

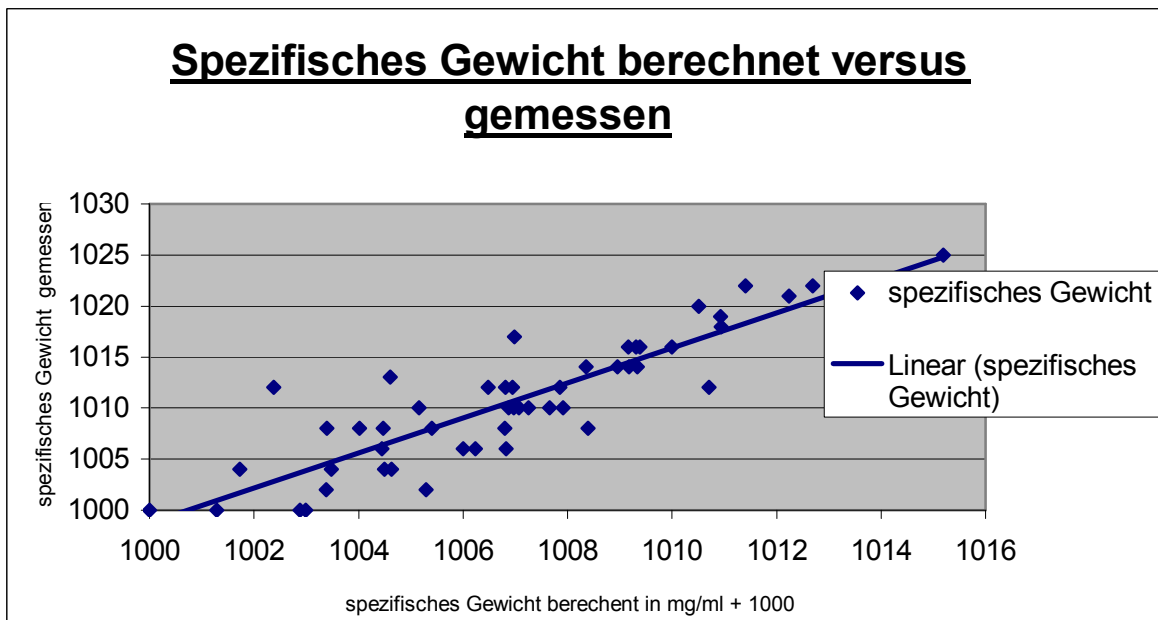


Abbildung 7. Vergleich der gemessenen und berechneten Daten des spezifischen Gewichtes

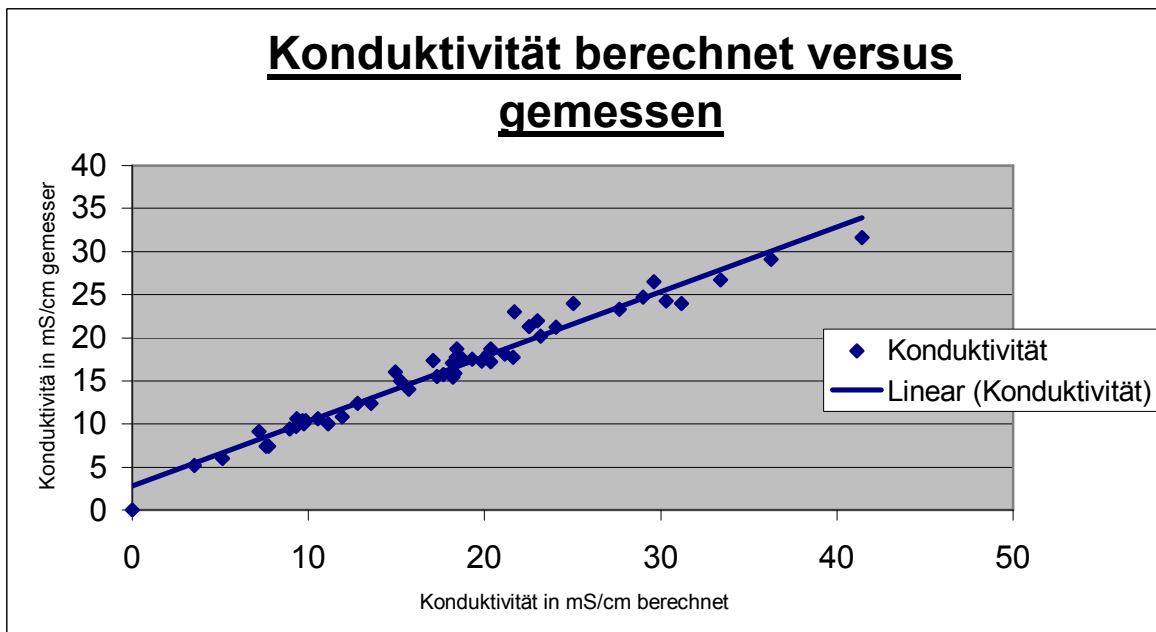


Abbildung 8. Überschneidung der gemessenen und berechneten Werte der elektrischen Leitfähigkeit

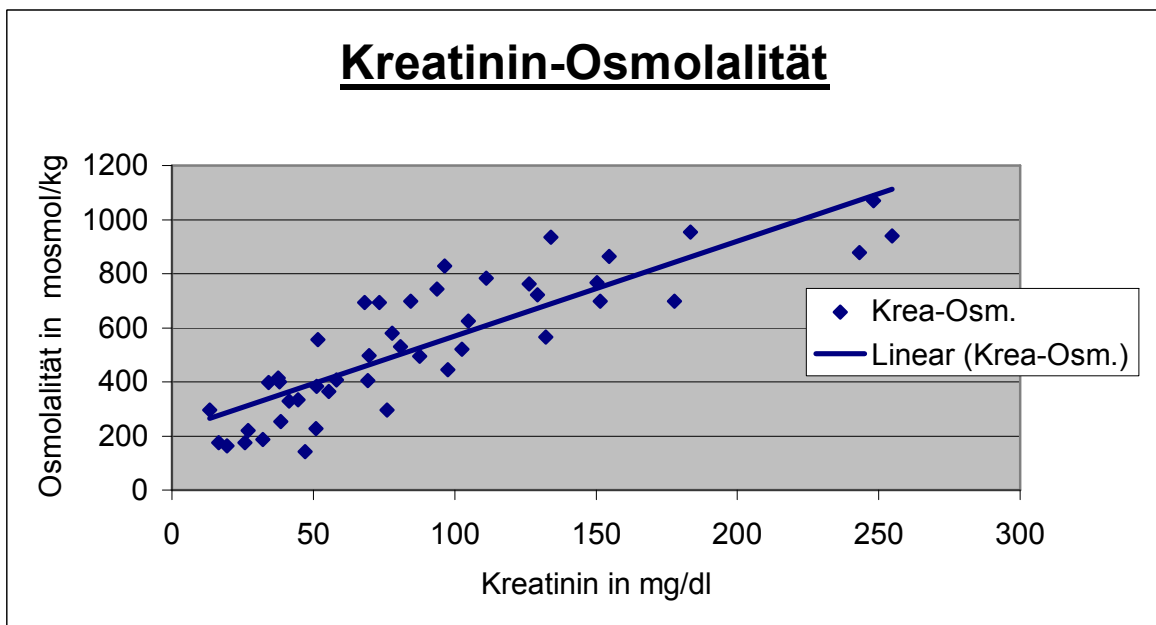


Abbildung 10. Darstellung des Urinkreatinins im Vergleich mit der Höhe der Osmolalität

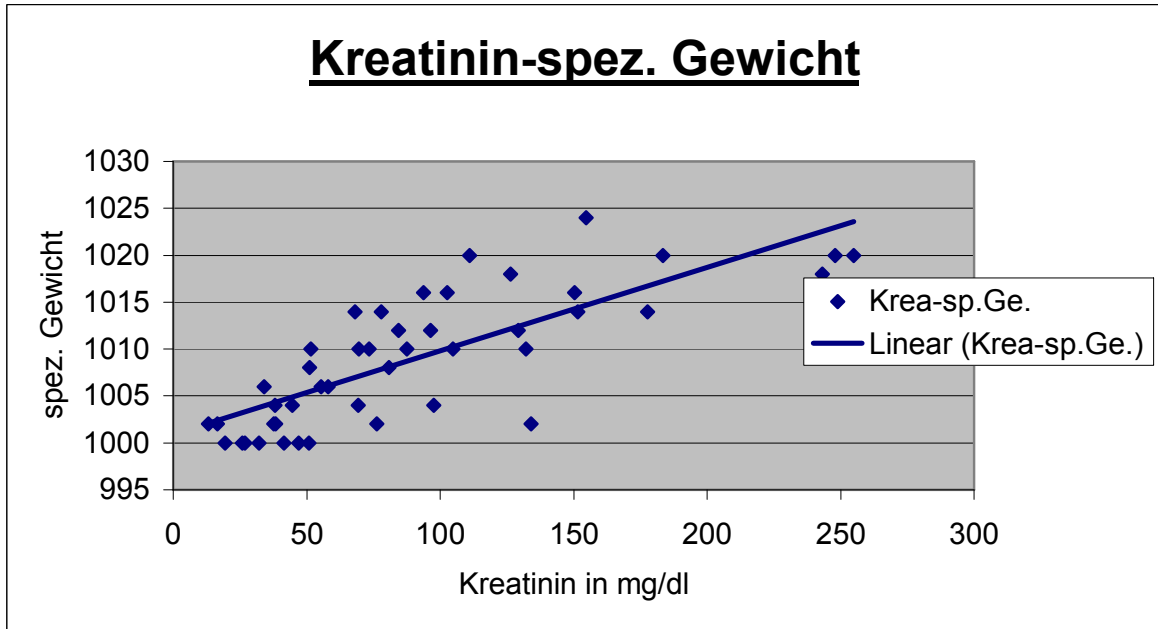


Abbildung 11. Vergleich der Harnkreatininkonzentrationen mit dem spezifischen Gewicht

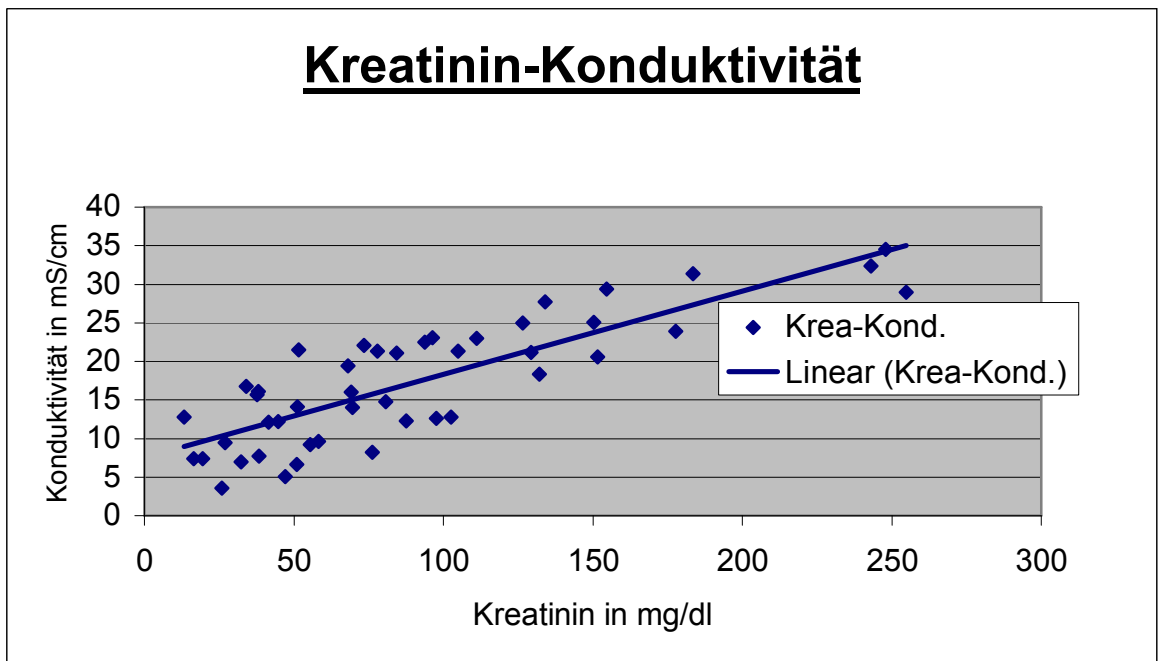


Abbildung 12. Zusammenhang zwischen Harnkreatinin und Konduktivität

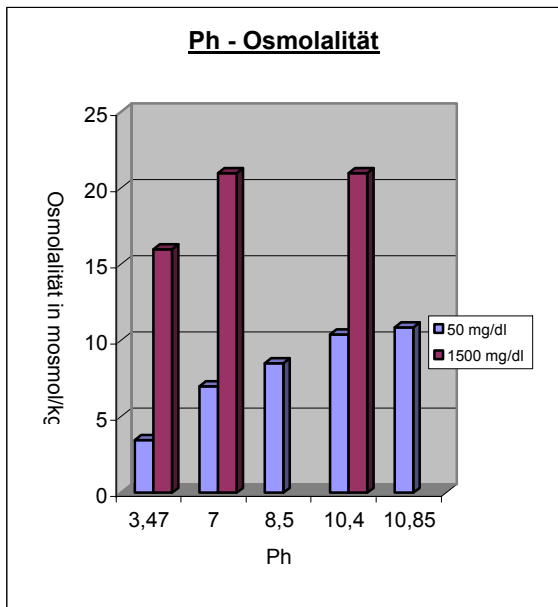


Abbildung 12. ^{d)}

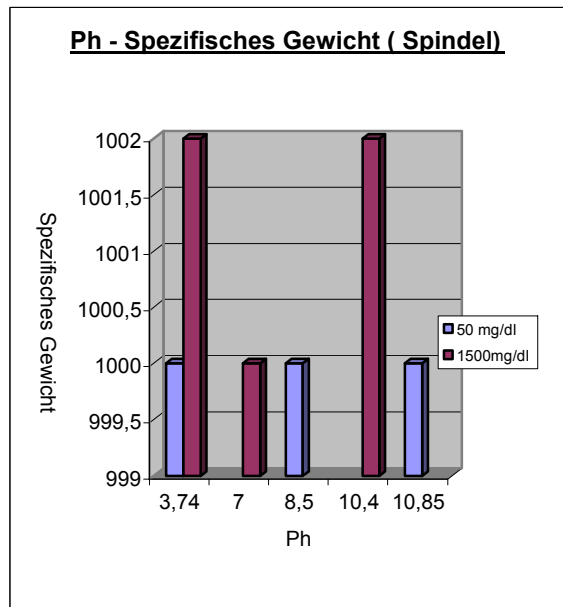


Abbildung 13. ^{d)}

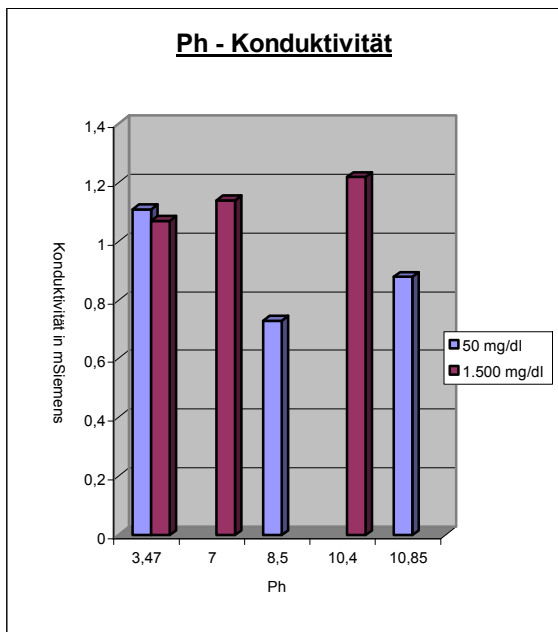


Abbildung 14. ^{d)}

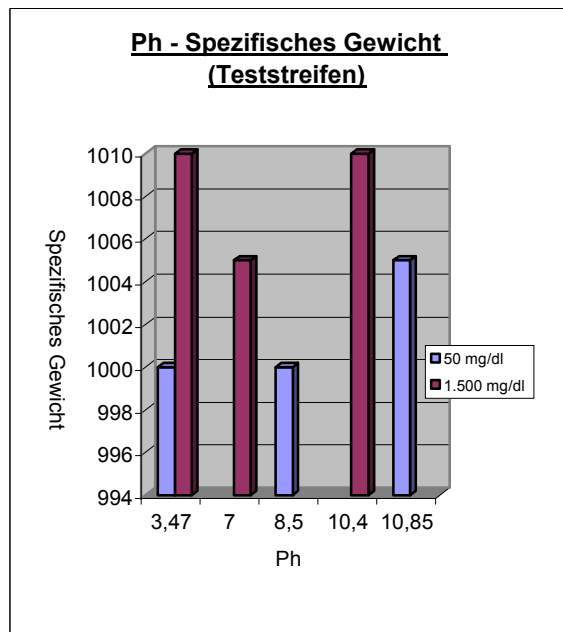


Abbildung 15. ^{d)}

^{d)} Ausschluß des Einflusses unterschiedlicher pH-Werte auf Osmolalität, spezifisches Gewicht (Spindel und Teststreifen) und Konduktivität bei Albuminlösungen mit der Konzentration 50mg/dl und 1500 mg/dl

8. Liste der Abkürzungen

GFR	:	glomeruläre Filtraionsrate
NaCl	:	Natriumchlorid
KCl	:	Kaliumchlorid
r	:	Korrelationskoeffizient nach Spearman mit $-1 \leq r \leq 1$
Aqua dest.	:	Aqua destillata

Danksagung

An erster Stelle gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. Boege für die Bereitstellung des Themas, für Ratschläge und Ideen und nicht zuletzt für die gesamte aufmerksame Betreuung. Prof. Dr. Jakob danke ich für die Übernahme des Zweitkorrektors.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern des Zentrallabors der Medizinischen Poliklinik, die immer offen waren für meine Fragen und ohne deren Anleitung ich mich in der Bedienung der Messgeräte nicht zurechtgefunden hätte.

Ebenso möchte ich den Mitarbeitern des wissenschaftlichen Labors der Poliklinik danken.

Dank sei auch besonders meinen Eltern und Freunden für die vielseitige Unterstützung und Geduld.

Lebenslauf

Name und Vorname: Gazinski, Eva Natalie
Geburtsdatum und Ort: 26.12.1976 in Stettin
Staatsangehörigkeit : deutsch
Konfession: römisch-katholisch
Familienstand: ledig
Eltern: Gertrud Gazinski, Dipl. Philologin
Andreas Gazinski, Dipl. Ingenieur
Geschwister: Alexandra Gazinski, in Ausbildung zur MTA
Ausbildung: Juli 1983 bis Juni 1987 Grundschule in Marl und
Veitshöchheim
September 1987 bis Juni 1996 Friedrich-Koenig-Gymnasium
in Würzburg
1996 Abitur am Friedrich-Koenig-Gymnasium in
Würzburg
November 1996 Aufnahme des Studiums der Humanmedizin
an der bayerischen Julius-Maximilian-Universität Würzburg
März 2000 Erstes medizinisches Staatsexamen
September 2002 Zweites medizinisches Staatsexamen
November 2003 Drittes medizinisches Staatsexamen
an der Julius-Maximilian-Universität Würzburg