

**Praktikum für Bioinformatiker
Physiologie-Cluster B6**

**Vegetative Regulation III:
Volumenregulation, Niere**

PD Dr. J. Bäurle
Institut für Physiologie

Dr. S. Amasheh
Institut für Klinische Physiologie

Sommersemester 2006

Nierenfunktion

Inhaltsverzeichnis

	Seite	
1	<u>Die Niere: Bau und Funktion</u>	5
1.1	Das Nephron	5
1.2	Funktion der Niere	5
2	<u>Beurteilung der Nierenfunktion</u>	7
2.1	Methoden der Physiologie und Pathophysiologie	7
2.2	Klinische Methoden zur Erfassung der Nierenfunktion	7
3	<u>Clearance-Begriff</u>	8
3.1	Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)	8
3.2	Inulin-Clearance	8
3.3	Kreatinin-Clearance	10
3.4	Messung der filtrierten Stoffmenge (Q)	11
3.5	Harnstoff-Clearance	11
3.6	Renaler Plasmafluß (RPF)	13
3.7	Osmolale Clearance und Freiwasserclearance (C_{H_2O})	14
3.8	Tubuläre Resorption und Sekretion	15
4	<u>Verschiedene Diuresezustände der humanen Niere</u>	16
4.1	Normalzustand = Antidiurese	16
4.2	Wasserdiurese	16
4.3	Osmotische Diurese	17
4.4	Druckdiurese	18
5	<u>Harnstatus</u>	19
5.1	Eiweiß	19
5.2	Glukose	19
5.3	pH	19
5.4	Erythrozyten	19
5.5	Gallenfarbstoffe	20
5.6	Kristalline Sedimente	20
5.7	Bakterien	20

	Seite	
6	<u>Aufgabenteil</u>	21
6.1	Überblick	21
6.2	Praktische Durchführung des Versuchs	21
6.3	Bestimmung von Kreatinin	22
6.4	Bestimmung von Harnstoff	25
6.5	Bestimmung von Na ⁺ und K ⁺ in Plasma und Urin	27
6.6	Bestimmung der Osmolalität in Plasma und Urin	28
7	<u>Harn-Schnelltest</u>	30
8	<u>Zusammenfassung</u>	30
9	<u>Schlussbesprechung</u>	30
10	<u>Abkürzungen</u>	30
	Tabellen	32
	Diagramme	37

Sicherheitsrichtlinien

Das Blut und der Urin der Spender sind aus Sicherheitsgründen als potentiell infektiös anzusehen.

Aus diesem Grunde gelten folgende Sicherheitsbestimmungen für das Nierenpraktikum:

- 1) Während der gesamten Dauer des Praktikums müssen ein Kittel und Handschuhe getragen werden. Kittel und Handschuhe müssen selbst gestellt werden. Taschen, Rucksäcke und nicht benötigte Kleidungsstücke dürfen nicht in die Laborräume mitgenommen werden und können in den Garderobenboxen eingeschlossen werden.
- 2) Blut darf nur von Probanden abgenommen werden, die nicht infektiös sind, z.B. keine Hepatitis, kein AIDS haben. Ausgeschlossen sind auch Probanden, die vor längerer Zeit eine Hepatitis (Gelbsucht) durchgemacht haben, da sie auch noch nach Jahren Virus-träger sein können.
- 3) Blut darf nur unter Anleitung und Aufsicht der Tutoren bzw. des aufsichtführenden Assistenten/Hochschullehrers abgenommen werden.
- 4) Spritzen und Kanülen dürfen nur in den dafür bestimmten jeweiligen Sammelbehältern entsorgt werden.
- 5) Blut, Serum und Urin dürfen nicht mit dem Mund pipettiert werden.
- 6) In den Praktikumsräumen darf weder gegessen noch getrunken noch geraucht werden.
- 7) Probanden dürfen kein Furosemid einnehmen, sofern eine Sulfonamid-Allergie oder Schwangerschaft bekannt ist.
- 8) Bei der Handhabung der Gefahrenstoffe ist die aushängende Gefahrenstoffverordnung zu beachten. Es müssen Handschuhe, ein Kittel und eine Schutzbrille getragen werden!
- 9) Wer diese Richtlinien nicht beachtet, kann nicht am Praktikum teilnehmen.

1 Die Niere: Bau und Funktion

Die Nieren (Gewicht jeweils ≈ 160 g, Länge ≈ 11 cm) liegen hinter der Bauchhöhle (im Retroperitonealraum) links und rechts der Wirbelsäule. Die rechte liegt wegen der darüber liegenden Leber etwas tiefer. Die Nebennieren (Glandulae suprarenales, Gewicht jeweils ≈ 5 g) sind endokrine (hormonproduzierende) Organe.

1.1 Das Nephron

Eine menschliche Niere enthält ungefähr 1 Million Funktionseinheiten, die Nephrone.

Ein Nephron besteht aus folgenden Teilen (siehe Abb.1):

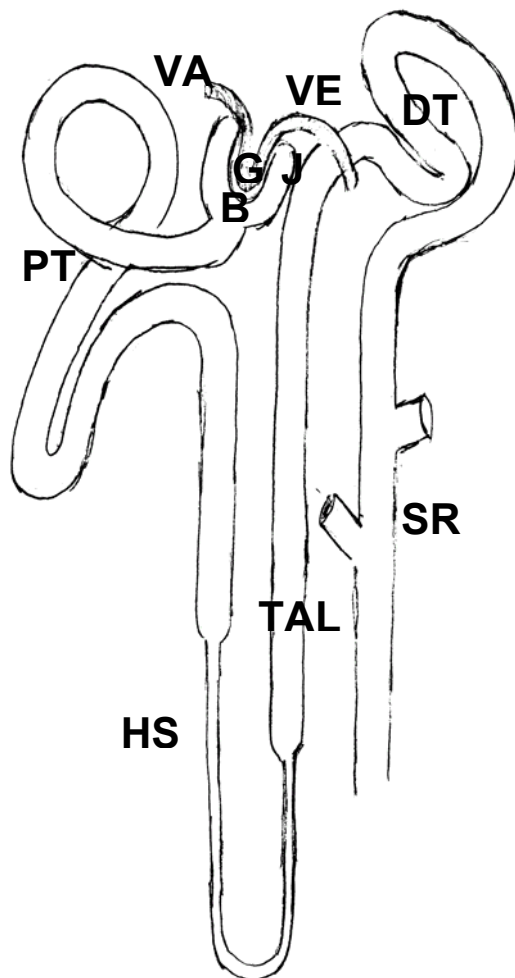


Abb. 1: Das Nephron

- 1 VA = Vas afferens
- 2 VE = Vas efferens
- 3 G = Glomerulus
- 4 B = Bowman-Kapsel
- 5 PT = proximaler Tubulus
- 6 HS = Henle-Schleife
- 7 TAL = dicker, aufsteigender Teil der HS
- 8 DT = distaler Tubulus
- 9 J = juxtaglomerulärer Apparat
- 10 SR = Sammelrohr

Jede der zwei Nieren enthält etwa 1 Million *Nephron*e, die aus Nierenkörperchen (*Malpighi-Körperchen*) und Nierenkanälchen (*Tubuli*) bestehen. Im Nierenkörperchen ist ein Kapillarknäuel (*Glomerulus*), aus dessen Blutplasma der Primärharn in die *Bowman-Kapsel* abfiltriert wird. In den Tubuli wird die Zusammensetzung des Harns durch Resorption aus dem Tubulus und Sekretion in den Tubulus verändert. Anfangsteil (*proximaler Tubulus*), Mittelteil (*Henle-Schleife*) und Endteil (*distaler Tubulus* und *Sammelrohr*) weisen unterschiedliche transepitheliale Transportmechanismen auf. *Spät-distaler Tubulus* und *Sammelrohr* sind Wirkorte für *Adiuretin* (ADH, induziert Wasserresorption (\Rightarrow *Antidiurese*) oder nicht (\Rightarrow *Diurese*)) und Aldosteron (induziert Na^+ -Resorption und K^+ -Sekretion). Mehrere Sammelrohre fließen in ihrem Verlauf zusammen – daher der Name.

1.2 Funktion der Niere

Zu den **Hauptaufgaben** der Niere gehören:

1. **Exkretion:** Ausscheidung von Stoffwechselendprodukten, toxischen Substanzen und Medikamenten.
2. **Regulation des Salz-Wasser-Haushaltes:** Aufrechterhaltung der physiologischen Zusammensetzung und des Volumens der extrazellulären Flüssigkeit.

3. **Konservierung:** Resorption der im Ultrafiltrat auftretenden Kohlenhydrate, Aminosäuren und Fettsäuren.
4. **Endokrine Funktionen:** Bildung bzw. Aktivierung und Abbau von Hormonen. In der Niere gebildete bzw. aus Vorstufen aktivierte Hormone sind unter anderem: Angiotensin (durch Renin), Bradykinin, Prostaglandine, Erythropoetin und $1,25(\text{OH})_2$ -Vitamin D_3 .
5. **Regulation des Säure-Basen-Haushaltes:** Anpassung der Ausscheidung von H^+ , NH_4^+ und Pufferbasen an den Säure-Basen-Status des Körpers.
6. **Beteiligung am Intermediärstoffwechsel:** Die Niere besitzt eine reichhaltige Enzymausstattung und ist über die genannten Aufgaben hinaus beteiligt an der Gluconeogenese und zahlreichen Des- und Transaminierungsvorgängen.

Die **Mechanismen** zur Ausscheidung und Konstanthaltung des "Milieu interieur", über welche die Niere verfügt, sind:

1. Filtration
2. Resorption
3. Sekretion

Treibende Kraft für die Filtration in den Glomeruli ist der Blutdruck. Abgepreßt wird ein nahezu zell- und proteinfreies Ultrafiltrat. Begrenzende Faktoren sind die Permeabilität und Porosität, sowie die negativen Wandladungen des Filters und dementsprechend Molekülgröße und Ladung der Solute. Resorption (Tubulusflüssigkeit → Blut) und Sekretion (Blut → Tubulusflüssigkeit) werden durch aktive und passive Transportmechanismen bewerkstelligt.

Zum Verständnis und zur Beurteilung der Nierenfunktion ist die Kenntnis der Konzentrationen der wichtigsten Elektrolyte (mit Einheit!) in den wichtigsten Kompartimenten des Körpers sowie die Kenntnis der Größe der Flüssigkeitsräume unerlässlich. Die folgende Tabelle (Tab. 1) gibt die wichtigsten Elektrolyte im Serum wieder. Die angegebenen Werte sind die für den Campus Benjamin Franklin ermittelten Normalwerte. Da die Normalwerte von dem verwendeten Meßgerättyp, der Meßtechnik (Ionenselektive Elektrode, Flammenfotometrie oder Blutgasanalysator) und der jeweiligen ortsansässigen Bevölkerung abhängen, hat jedes größere Laborcenter oder Krankenhaus seine eigenen Referenzbereiche.

Elektrolyt	Median	Referenzbereich
Natrium	139	130-149 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$
Kalium	4,37	3,36-5,35 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$
Calcium	2,48	2,24-2,78 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$
Magnesium	0,85	0,72-1,00 $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$
Osmolalität	290	280-309 $\text{mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$

Tabelle 1: Wichtige Elektrolyte im Serum (Campus Benjamin Franklin)

2 Beurteilung der Nierenfunktion

In der Forschung werden zur Aufklärung und Beurteilung der Nierenfunktion invasivere und aussagekräftigere Methoden als in der Klinik eingesetzt, weil in der Klinik dem Erhalt oder der Wiederherstellung der Gesundheit des Patienten absoluter Vorrang gegeben wird.

2.1 Methoden der Physiologie und Pathophysiologie

Die klassische Methode vergangener Zeiten war das Tierexperiment. Zur Aufklärung der Lokalisation und des Mechanismus von Transportvorgängen wurden hierbei am narkotisierten Tier die Methoden der Mikropunktion und der Mikroperfusion benutzt, mit und ohne Verbindung mit der Clearance-Technik (s.u.). Hierzu mußten Mikrotechniken entwickelt werden, da die Volumina der Proben im Bereich von nl und die Mengen im Bereich von nmol bis fmol liegen.

Später wurden dann *in vitro*-Methoden entwickelt, bei denen nach Organentnahme vom Spender mit dem ganzen Organ oder Organteilen gearbeitet wird, z.B. isoliert perfundierte Nieren, isoliert perfundierter Tubulus, isolierte Bürstensaummembranen.

Zelluläre Mechanismen werden heutzutage vorwiegend an Zellkulturen untersucht. Hierbei werden elektrogene Transporter z.B. mittels patch-clamp-Untersuchungen funktionell charakterisiert und mit molekularbiologische Methoden strukturell analysiert, identifiziert und sequenziert.

2.2 Klinische Methoden zur Erfassung der Nierenfunktion

Eine universelle und am Versuchstier von der Physiologie entwickelte nichtinvasive Methode zur globalen Erfassung der Nierenfunktion ist die Clearance-Methode, mit der die glomeruläre Filtrationsrate, der renale Plasmafluß, die globale Resorption und Sekretion quantitativ erfaßt werden können. Hinzu kommen noch semiquantitative Methoden zum Nachweis von pathologischen Harnbestandteilen. Beim Harnstatus untersucht man, ob z.B. eine pathologisch vermehrte Ausscheidung von Eiweiß, Glukose, Erythrocyten, Zelltrümmern, Bakterien usw. vorliegt.

Die folgende Tabelle (Tab. 2) gibt eine Übersicht über die in der Klinik verwendeten quantitativen Nierenfunktionsproben.

Funktion	Spezifischer Test	Klinischer Test
Glomeruläre Filtration	C_{Inulin}	$C_{\text{Kreatinin}}$ [Kreatinin] _{Plasma}
Renaler Plasmafluß	C_{PAH}	
Proximaler Transport	Resorption: $T_m\text{Glukose}$ Sekretion: $T_m\text{PAH}$	
Distaler Transport	Konzentrierungs- und Verdünnungskapazität $\frac{[\text{osmol}]_{\text{U}}}{[\text{osmol}]_{\text{P}}}$, $C_{\text{H}_2\text{O}}$, $T_{\text{H}_2\text{O}}$	früher: maximales und minimales spez. Gewicht des Urins heute besser: Osmolalität des Urins

Tabelle 2: Übersicht über die in der Klinik verwendeten quantitativen Nierenfunktionsproben (Abkürzungen s. S. 30).

3 Clearance-Begriff

Er wurde von van Slyke (1928) anhand der Harnstoff-Clearance entwickelt. Seine Bedeutung für die Analyse von renalen Transportvorgängen und Funktionszuständen wurde vor allem von H.W. Smith (1931) erkannt.

Die Clearance irgendeiner bestimmten Substanz gibt nämlich an, wie die Niere diese Substanz behandelt. Sie drückt aus, wieviel von der betreffenden Substanz die Niere im Verhältnis zur Plasmakonzentration dieses Stoffes ausscheidet:

$$\text{Clearance} = \frac{\text{Konzentration des Stoffes im Harn}}{\text{Konzentration des Stoffes im Plasma}} \cdot \text{Urzeitvolumen (ml}\cdot\text{min}^{-1}\text{)}$$

oder in Worten:

Die Clearance gibt dasjenige Plasmavolumen an, das pro Minute von der Meßsubstanz vollständig gereinigt wird.

Hieraus ergibt sich die Möglichkeit, bestimmte physiologische Parameter mit Hilfe der Clearance von Stoffen mit bestimmten bekannten Eigenschaften zu ermitteln.

3.1 Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)

Die GFR ist direkt nicht meßbar, kann aber über die Clearance eines Stoffes bestimmt werden, für den folgende Kriterien zutreffen:

- a) ungehinderte Filtration
- b) keine tubuläre Resorption
- c) keine tubuläre Sekretion
- d) Substanz darf nicht toxisch sein
- e) kein Abbau oder Neubildung in der Niere
- f) Substanz muß analytisch gut nachweisbar sein

Dies bedeutet, daß die gesamte filtrierte Menge des Stoffes mit dem Urin ausgeschieden wird.

Es gilt: filtrierte Menge = ausgeschiedene Menge

$$\text{GFR} \cdot [\text{X}]_{\text{P}} = [\text{X}]_{\text{U}} \cdot \dot{V}_{\text{U}}$$

$$\text{GFR} = \frac{[\text{X}]_{\text{U}} \cdot \dot{V}_{\text{U}}}{[\text{X}]_{\text{P}}} \quad (\text{ml}\cdot\text{min}^{-1})$$

Als Meßsubstanz werden verwendet: 1) Exogene (zugeführte) Marker wie Inulin, Polyfructosan, Polyethylenglykol, radioaktiv markiertes Vit B12 oder EDTA, Iothalamat und Diethylentriamino-pentaazetat (DPTA). 2) Endogene Marker sind Kreatinin und β_2 -Mikroglobulin.

3.2 Inulin-Clearance

Am zuverlässigsten für die Messung der GFR ist das Inulin. Da Inulin jedoch eine körperfremde Substanz ist, muß man es durch Infusion zuführen. Dabei muß darauf geachtet werden, daß während der Urinsammelperioden die Plasmakonzentration von Inulin konstant gehalten wird. Um dieses zu erreichen, muß man zunächst mit der Infusion einer größeren Menge Inulin beginnen, ehe ein Gleichgewicht zwischen Zufuhr und renaler Ausscheidung (deren Größe man nicht kennt, sondern bestimmen will) erreicht wird und eine Erhaltungsdosis weiter infundiert werden kann. Außerdem muß zur exakten Erfassung des

Urinzeitvolumens ein Blasenkatheter gelegt werden, was stets mit einem Infektionsrisiko behaftet ist. Insgesamt verlangt eine ordentlich durchgeführte Inulin-Clearance einen gewissen apparativen Aufwand und stellt eine Belastung für den immerhin kranken Patienten dar.

Die Inulin-Clearance ist abhängig vom Alter und vom Geschlecht. Sie kann im höheren Alter bis auf die Hälfte der Werte von jungen Erwachsenen abnehmen. Deshalb müssen Medikamente, die über die Niere ausgeschieden werden, bei alten Menschen von vornherein niedriger dosiert werden. Das gleiche gilt für die Gabe von Medikamenten bei eingeschränkter Nierenfunktion. Die Inulin-Clearance ist außerdem von Körpergewicht und Körpergröße abhängig.

Um zu vergleichbaren Normalwerten zu kommen, werden die gemessenen Werte auf die Körperoberfläche bezogen. Die Körperoberfläche läßt sich aus einem Nomogramm ermitteln (Abb.2). Hierzu werden das jeweilige Körpergewicht auf der rechten Skala und die jeweilige Körpergröße auf der linken Skala mit einem Lineal verbunden. Der Schnittpunkt auf der mittleren Skala ergibt die jeweilige Körperoberfläche.

Der Normalwert für die Inulin-Clearance beträgt bei jungen Männern $125 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$ und bei jungen Frauen $110 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$.

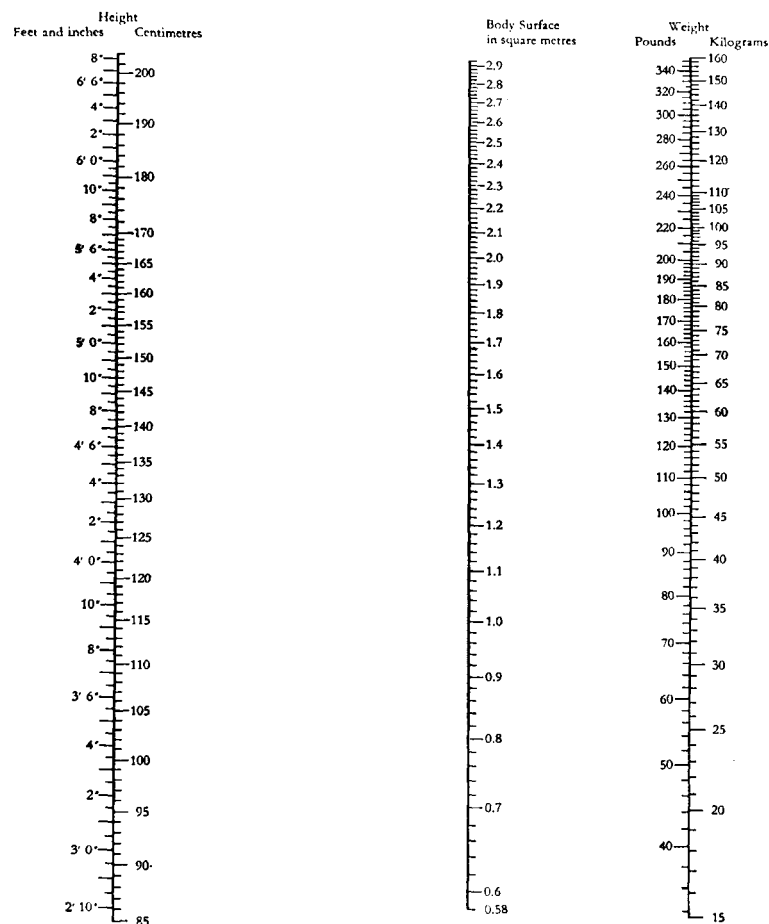


Abb. 2: Nomogramm zur Ermittlung der Körperoberfläche Erwachsener.

Aus: D.L.Maude, *Kidney Physiology and Kidney Disease*. J.B.Lippincott Company, Philadelphia, 1977.

3.3. Kreatinin-Clearance

In der klinischen Routine werden stark vereinfachend folgende Annahmen gemacht:

- 1) Kreatinin wird täglich in etwa konstanter Menge vom Muskel in das Blut abgegeben.
- 2) Der Plasmaspiegel ist bei normaler Ausscheidung nahezu konstant, so daß zu jedem Zeitpunkt während einer 24 stündigen Sammelperiode Blut für die Bestimmung der Plasmakonzentration entnommen werden kann.
- 3) Exogene Faktoren wie Nahrungsaufnahme haben keinen Einfluß auf die Plasmakonzentration.
- 4) Kreatinin wird nur filtriert und nicht sezerniert oder resorbiert.
- 5) Kreatinin kann zuverlässig gemessen werden.

Tatsächlich sind bei Gesunden die Clearancewerte von Inulin und Kreatinin meist aber nicht immer gleich groß (aber nur wenn Kreatinin mit der Jaffé Methode bestimmt wird). Bei genauerer Untersuchung zeigt sich leider, daß alle diese Annahmen nur näherungsweise richtig sind.

In der ambulanten Praxis begnügt man sich in der Regel mit der Bestimmung der Plasma-Kreatinin-Konzentration weil Patienten den 24 h-Urin meist unvollständig sammeln. Zwischen der Plasmakonzentration von Kreatinin und der GFR besteht eine hyperbolische Beziehung (Abb.3). Allerdings kann man wegen des flachen Kurvenabschnitts und der großen interindividuellen Schwankungsbreite im Bereich der normalen Plasma-Kreatinin-Konzentration etwaige Einschränkungen der GFR um weniger als 50% damit nicht erfassen. Im klinisch relevanten Bereich bei einem Verlust von 75% - 90% der GFR steigt die Kurve jedoch sehr steil an. Hier ist das Plasma-Kreatinin ein empfindlicher und praktisch sehr wichtiger Indikator zur Beurteilung des Krankheitsverlaufes. Allerdings wird bei schweren Nierenerkrankungen mit stark eingeschränkter GFR die Höhe der GFR aus der Plasma-Konzentration von Kreatinin meist überschätzt. Kreatinin kann nämlich auch sezerniert werden, insbesondere in Fällen von chronischer Niereninsuffizienz mit erhöhter Plasmakonzentration von Kreatinin. Anstatt der Referenzkurve wird zur Abschätzung der Höhe der GFR auch die nachstehende Formel verwendet, die den Einfluß der Muskelmasse berücksichtigt, welche bei Männern größer ist als bei Frauen und im Alter abnimmt. Sie lautet bei Männern: $\text{Kreatinin Clearance} = (140 - \text{Alter}) \cdot (\text{Körpergewicht in kg}) / 72 \cdot P_{\text{Kreatinin}}$ in mg/dl. Bei Frauen ist der Wert 15% kleiner.

In der Klinik kann bei entsprechendem Verdacht auf eine Nierenerkrankung die Kreatinin-Clearance bestimmt werden, bei der man hofft, kurzfristige Schwankungen der Kreatinin Produktion und Ausscheidung durch eine 24 stündige Sammelperiode ausgleichen und Sammelfehler besser kontrollieren zu können.

Wenn man die Meßdaten akkurat interpretieren will, ist u.a.folgendes zu beachten:

- 1) Fleischzufuhr erhöht kurzfristig den Plasmakreatinin Wert. Daher ist die Fleischzufuhr zu standardisieren, z.B. durch eine vorherige fleischfreie Diät und durch Sammeln unter Nüchternbedingungen.
- 2) Es darf kein schweres Muskeltrauma vorliegen, keine Muskeldystrophie oder Muskelentzündung, keine katabole Situation (z.B. Corticosteroidtherapie) oder schwere vorhergehende körperliche Arbeit (Marathon) vorausgegangen sein.
- 3) Medikamente (z.B. Cimetidine, Trimethoprim), welche die Kreatinin-Sekretion hemmen, täuschen eine zu niedrige Kreatinin-Clearance vor.
- 4) Mit der Jaffé Bestimmung im Plasma interferierende Substanzen wie Ketonkörper, erhöhte Harnsäurekonzentration, die Einnahme von Vitamin C, Cephalosporinen, Antibiotika

u.a. müssen ausgeschlossen werden. Sie täuschen zu hohe Plasmawerte und damit zu niedrige Clearance Werte vor.

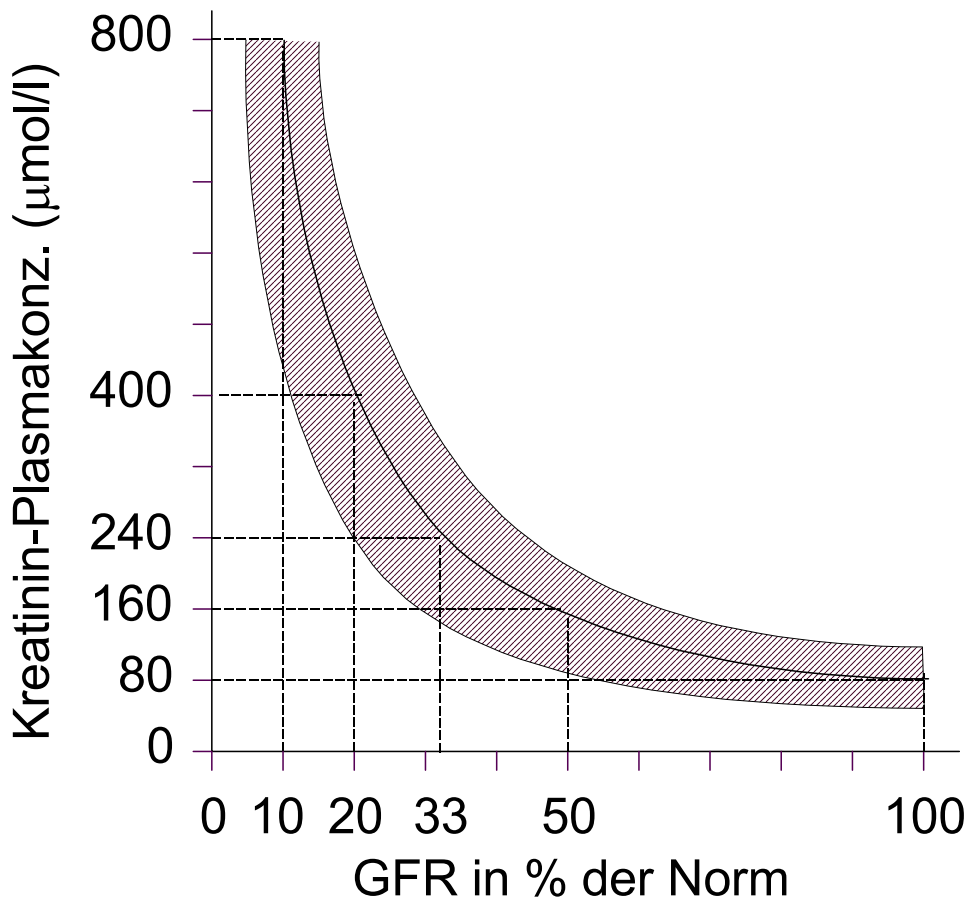


Abb. 3: Beziehung zwischen Plasma-Kreatinin und der GFR. Aus: K. Hierholzer und Fromm, M., Funktion der Niere. in: R.F. Schmidt und G.Thews, Physiologie des Menschen, (26. Auflage), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1995.

3.4 Messung der filtrierte Stoffmenge (Q)

Will man von der GFR (gemessen als C_{in} oder C_{Kr}) auf die filtrierte Wasser- oder Elektrolytmengen schließen, sind folgende Korrekturen zu beachten:

Wassermenge: $\dot{Q}_{H_2O} = GFR \cdot 0,94$

da die zu filtrierende Plasmamenge zu ca. 6 % aus nicht filtrierbaren Proteinen besteht, die nicht in den Bowman'schen Raum übertreten.

Stoffmenge: $\dot{Q}_x = GFR \cdot [X]_P \cdot \text{Donnan Faktor (vgl. S. 23)}$

Der Donnan Faktor beträgt für einwertige Kationen ca. 0,95 und für einwertige Anionen ca. 1,05.

3.5 Harnstoff-Clearance

Im Unterschied zu Kreatinin wird Harnstoff passiv transportiert. Wie bei allen passiv reabsorbierten Substanzen hängt die Größe der Resorption von der Größe der Wasserresorption ab. Je größer die Wasserresorption, desto höher steigt die Konzentration der Substanz wie z.B. Harnstoff in der tubulären Flüssigkeit an. Dadurch steigt der Konzentrati-

onsgradient von der tubulären Flüssigkeit zum Gewebe und Blut an. Mit anderen Worten, der Konzentrationsgradient als die treibende Kraft für die Größe der passiven Resorption von Harnstoff hängt von dem Ausmaß der Wasserresorption ab. Mit abnehmender Wasserresorption kann also weniger Harnstoff rückresorbiert werden und muß daher mehr Harnstoff ausgeschieden werden. Folglich ist die Harnstoff-Clearance abhängig vom Urinfluß (Abb.4). Die Harnstoff-Clearance steigt mit zunehmendem Urinfluß. Dieser Zusammenhang gilt für alle passiv resorbierten Substanzen.

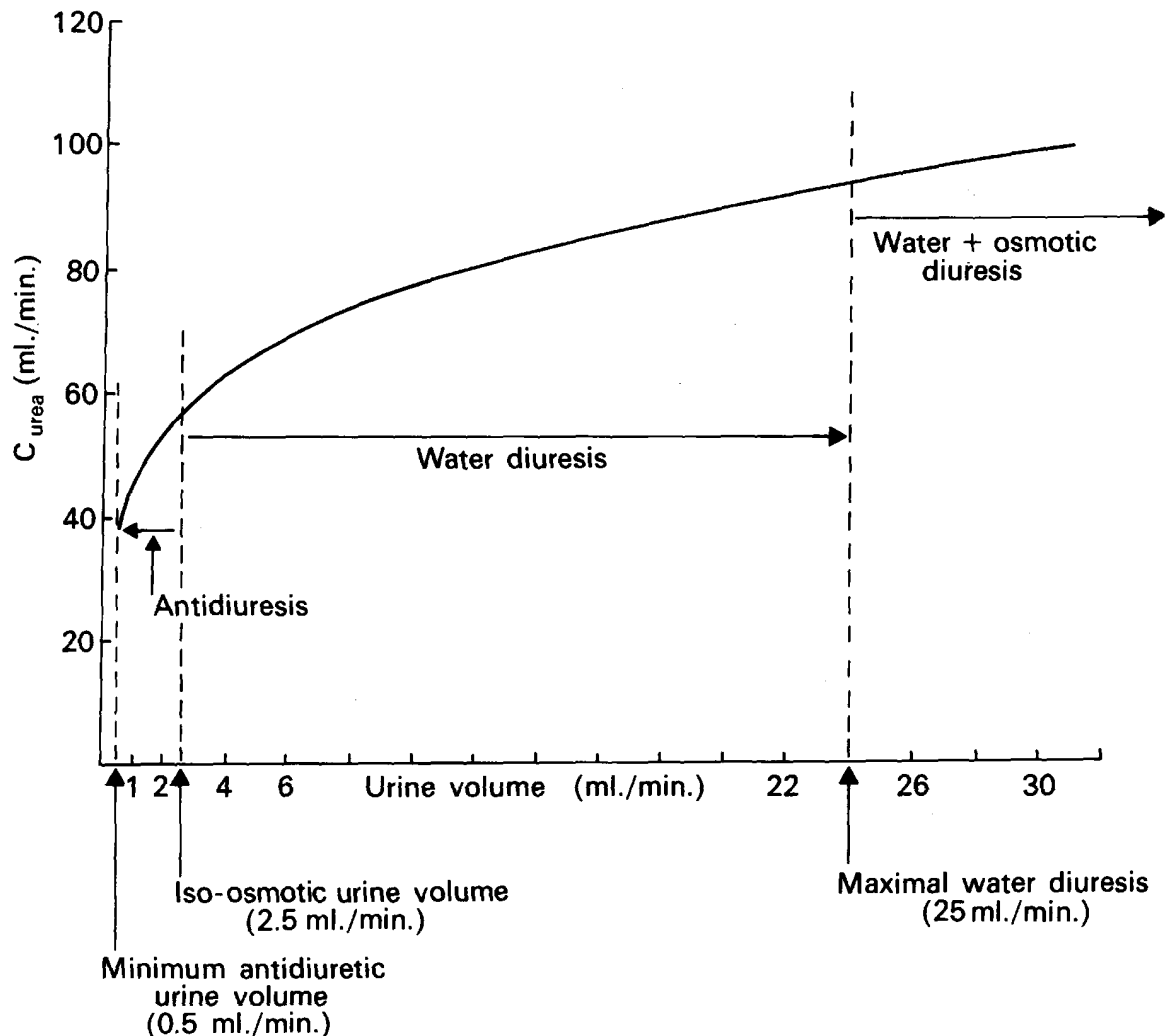


Abb. 4: Beziehung zwischen Harnstoff-Clearance und Urinfluss. Aus: D.L. Maude, *Kidney Physiology & Kidney Disease*. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1977.

Da Harnstoff glomerulär filtrierte wird, steigt seine Plasmakonzentration ebenso wie die von Kreatinin bei Abfall der GFR an. Da Harnstoff ein Endprodukt des Eiweiß- und Aminosäurestoffwechsels ist, hängt die gebildete Harnstoffmenge von der Höhe des endogenen Proteinumsatzes und der Höhe der diätetischen Proteinzufuhr ab. Trotz gesunder Nierenfunktion fällt daher die Serumkonzentration von Harnstoff bei einer eiweißarmen Kost ab und steigt bei gesteigertem Katabolismus von Protein an, z.B. nach schweren Körpertraumen, schweren Verbrennungen, unter Glukokortikoidtherapie, bei Sepsis, bei gastrointestinalen Blutungen etc. (Abb.5). Aus den genannten Gründen ist im Unterschied zu

Kreatinin die Harnstoff-Clearance oder noch einfacher die Plasma-Konzentration von Harnstoff nicht geeignet zur Abschätzung der GFR.

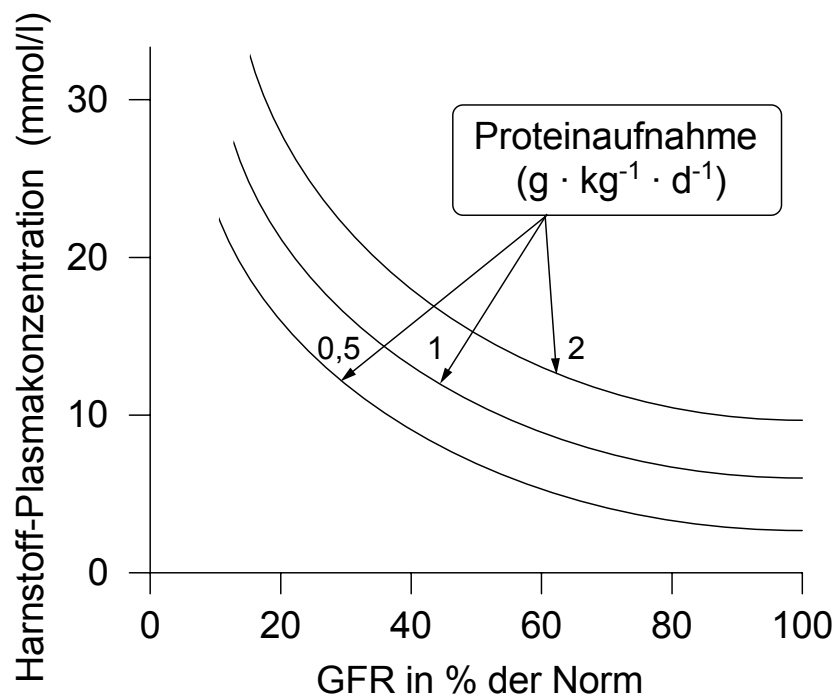


Abb. 5: Beziehung zwischen Harnstoff-Plasmakonzentration und der GFR bei unterschiedlicher Proteinaufnahme. Aus: K. Hierholzer und M. Fromm, Wasser- und Elektrolythaushalt; Physiologie der Niere. in: A. Scheunert und A. Trautmann, Lehrbuch der Veterinär-Physiologie, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1987.

3.6 Renaler Plasmafluß (RPF)

Wie die GFR ist auch die Nierendurchblutung meist nicht direkt meßbar. Sie wird durch die Clearance einer Meßsubstanz bestimmt, für die folgendes zutrifft:

Die in das Nierenparenchym einströmende Plasmamenge wird bei einmaligem Durchfluß vollständig von der Meßsubstanz gereinigt. Dieser Stoff muß daher folgende Anforderungen erfüllen: vollständige Extraktion der Meßsubstanz bei einmaliger Nierenpassage (d.h. Konzentration im abströmenden Venenblut muß 0 sein) durch

- a) Filtration und
- b) vollständige Sekretion bei
- c) fehlender Resorption.

Sind diese Kriterien erfüllt, gilt für die Clearance (als Grenzfall des Fick'schen Prinzips)

in die Nieren einströmende Stoffmenge = ausgeschiedene Stoffmenge

$$\text{RPF} \cdot [\text{X}]_{\text{P}} = [\text{X}]_{\text{U}} \cdot \dot{V}_{\text{U}}$$

$$\text{RPF} = \frac{[\text{X}]_{\text{U}} \cdot \dot{V}_{\text{U}}}{[\text{X}]_{\text{P}}} \quad (\text{ml} \cdot \text{min}^{-1})$$

Als Meßsubstanz eignet sich vor allem die p-Aminohippursäure (PAH).

Merke:

Etwa 10% des durch die Niere fließenden Blutes wird nicht von PAH gereinigt, wahrscheinlich weil es nicht mit den proximalen Tubulusepithelien in Berührung kommt. Die C_{PAH} mißt deshalb den effektiven renalen Plasmadurchfluß (ERPF), der somit um etwa 10% kleiner ist als der totale renale Plasmadurchfluß (TRPF).

Bei Krankheitszuständen, die mit einer Schädigung der Tubulusfunktion einhergehen, kann die normale PAH-Extraktion vermindert sein. Der renale Plasmadurchfluß kann dann unter Beachtung der Extraktion von PAH bestimmt werden nach:

$$RPF = \frac{[X]_U \cdot \dot{V}_U}{[X]_{\text{arteriell}} - [X]_{\text{venös}}} \quad (\text{ml} \cdot \text{min}^{-1})$$

wenn man durch Katheterisierung der Nierenvene Nierenvenenblut gewinnt.

Kennt man den Hämatokrit (Hk), so läßt sich der renale Blutdurchfluß (RBF) berechnen nach:

$$RBF = RPF / (1-Hk).$$

Normalwerte:

$$C_{PAH} = 655 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \quad \text{bei jungen Männern}$$

$$C_{PAH} = 570 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \quad \text{bei jungen Frauen}$$

Filtrationsfraktion (FF)

Bei der Beurteilung pathologischer Prozesse in der Niere ist es wichtig, den prozentualen Anteil des effektiven Plasmadurchflusses zu erkennen, der filtriert wird = Filtrationsfraktion.

$$FF = \frac{C_{\text{Inulin}}}{C_{PAH}} \cdot 100 \quad \text{normal} = 20\%$$

3.7 Osmolare Clearance (C_{osmol}) und Freiwasserclearance ($C_{\text{H}_2\text{O}}$)

In genau der gleichen Weise wie für bestimmte Einzelsubstanzen kann man die Clearance auch für die Gesamtheit der gelösten Teilchen als C_{osmol} berechnen:

$$C_{\text{osmol}} = \frac{\dot{V}_U \cdot [\text{osmol}]_U}{[\text{osmol}]_p} \quad (\text{ml} \cdot \text{min}^{-1})$$

Normalwert beim Menschen: 2- 4 ml · min⁻¹

Die freie Wasserclearance ist definiert als:

$$C_{\text{H}_2\text{O}} = \dot{V}_U - C_{\text{osmol}} \quad (\text{ml} \cdot \text{min}^{-1})$$

Die freie Wasserclearance ist die Menge von Wasser, die aus dem Urin entfernt werden muß oder zu dem Urin hinzugegeben werden muß, um ihn isoosmolal mit dem Plasma zu machen.

Merke: Die freie Wasserclearance ist die einzige Clearance, welche **nicht** nach der allgemeinen Clearance-Formel für Solute berechnet wird.

Die C_{osmol} gibt zusammen mit der Clearance des freien Wassers $C_{\text{H}_2\text{O}}$ Auskunft über den Diuresezustand der Nieren.

Vier Rechenbeispiele sollen den Begriff $C_{\text{H}_2\text{O}}$ verdeutlichen. Für die Plasmaosmolalität wird als Normalwert zur Vereinfachung $300 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ eingesetzt.

- (1) Wenn bei **Wasserdiurese** ein hypoosmotischer Urin mit $100 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ H}_2\text{O}$ und einem $\dot{V}_U = 10 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ gebildet wird, dann ist $C_{\text{H}_2\text{O}} = 6,7 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.
- (2) Bei einem isotonen Urin und einem $\dot{V}_U = 1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ist $C_{\text{H}_2\text{O}} = 0$, da $\dot{V}_U = 1 \text{ ml}$ und $U_{\text{osmol}} = P_{\text{osmol}}$ sind.
- (3) Bei einer **osmotischen Diurese** mit isotonem Urin und einem $\dot{V}_U = 15 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ist $C_{\text{osmol}} = 15 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ und $C_{\text{H}_2\text{O}} = 0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.
- (4) Bei einer **Antidiurese** mit einem hyperosmotischen Urin von $900 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ und einem $\dot{V}_U = 1,0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ist $C_{\text{H}_2\text{O}} = -2 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

3.8 Tubuläre Resorption und Sekretion

Die Resorptionsrate des proximalen Tubulus kann mit Glukose getestet werden. Die resorbierte Menge entspricht der Differenz zwischen filtrierter und ausgeschiedener Menge.

$$T_{\text{Glukose}} = (C_{\text{In}} \cdot [\text{Glukose}]_{\text{P}}) - (\dot{V}_U \cdot [\text{Glukose}]_{\text{U}})$$

Durch Infusion von Glukose wird die Plasmakonzentration solange erhöht, bis T_{Glukose} einen maximalen Wert erreicht hat = $T_{\text{m (Glukose)}}$.

Normalwert:

$$T_{\text{m (Glukose)}} = 1,9 \text{ mmol} \cdot \text{min}^{-1} \quad \text{bei Männern}$$

$$T_{\text{m (Glukose)}} = 1,5 \text{ mmol} \cdot \text{min}^{-1} \quad \text{bei Frauen}$$

Die Sekretionsrate kann analog mit PAH bestimmt werden. Es gilt:

$$T_{\text{PAH}} = ([\text{PAH}]_{\text{U}} \cdot \dot{V}_U) - ([\text{PAH}]_{\text{P}} \cdot C_{\text{Inulin}})$$

und bei Erhöhung der Plasma-PAH-Konzentration, bis ein konstanter maximaler Wert erreicht wird $\rightarrow T_{\text{PAH}} = T_{\text{mPAH}}$.

Normalwert:

$$T_{\text{m(PAH)}} = 0,41 \text{ mmol} \cdot \text{min}^{-1} \quad \text{bei Männern}$$

$$T_{\text{m(PAH)}} = 0,36 \text{ mmol} \cdot \text{min}^{-1} \quad \text{bei Frauen}$$

Die prozentuale tubuläre Resorption bzw. Sekretion kann aus den gleichzeitig bestimmten Clearance-Werten der Meßsubstanz und von Inulin errechnet werden = **Clearance-Quotient** = C_x/C_{Inulin} .

Clearance-Quotient = 1: Dies besagt, daß die Meßsubstanz nur durch glomeruläre Filtration ausgeschieden wird (bzw. sich Resorption und Sekretion dann die Waage halten).

Clearance-Quotient > 1: Dies besagt, daß von der Meßsubstanz mehr ausgeschieden wird, als durch Filtration erklärt werden kann, d.h. die Substanz muß auch sezerniert wor-

den sein. So besagt z.B. $C_{PAH}/C_{Inulin} = 5$, daß die Clearance von PAH 5 x größer ist als die von Inulin. Setzt man die filtrierte PAH-Menge = 100%, so müssen durch Sekretion weitere 400% PAH ausgeschieden worden sein (Beispiel PAH).

Clearance-Quotient < 1: Dies besagt, daß die Meßsubstanz (freie Filtration vorausgesetzt) im Nettoeffekt resorbiert wurde. Ist z.B. $C_x/C_{Inulin} = 0,5$, so besagt dies, daß 50% der Filtrationsmenge X resorbiert wurde.

Merke:

Es gibt Substanzen, die sowohl filtriert als auch sezerniert und resorbiert werden (Beispiel K^+).

4 Verschiedene Diuresezustände der humanen Niere

4.1 Normalzustand = Antidiurese

Beim Übergang des Lebens vom Wasser auf das Land wurde es notwendig, daß die Endprodukte des Stoffwechsels mit einer möglichst geringen Wassermenge ausgeschieden werden. Diese beträgt ca. 1 - 1,5 l/24 h. Um alle Stoffwechselendprodukte ausscheiden zu können, muß der Urin gegenüber dem Plasma konzentriert werden (Plasmaosmolalität = 290 mosmol·kg⁻¹). Dies wird durch den Gegenstrommechanismus im Nierenmark bewerkstelligt. Die maximale osmotische Konzentration des menschlichen Urins beträgt ca. 1200 mosmol·kg⁻¹. Normalerweise scheiden wir einen Urin von ca. 900-1000 mosmol·kg⁻¹ aus.

4.2 Wasserdiurese

Trinkt man z.B. 1,5 l Wasser, so wird das Plasma leicht hypoosmolal. Diese Änderung der Osmolalität ist der adäquate Reiz für die Osmorezeptoren im Hypothalamus (N. supraopticus und möglicherweise auch N. paraventricularis). Im oben genannten Fall wird die Rate der Nervenimpulse, die vom Hypothalamus zum Hypophysenhinterlappen (HHL) laufen, erniedrigt und dadurch die Ausschüttung von Antidiuretischem Hormon (ADH) vermindert. ADH wird im Nucleus supraopticus gebildet und gelangt durch Nervenfasern in den Hypophysenhinterlappen, wo es gespeichert wird. Nach Wassergabe dauert es einige Zeit, bis eine Diurese eintritt, da das Wasser resorbiert und das bereits im Blut kreisende ADH abgebaut werden muß. Die Halbwertszeit des ADH im Plasma ist 7 ½ Minuten. Bei Fehlen von ADH findet man die Wasserpermeabilität der distalen Tubuli und der Sammelrohre stark erniedrigt. Da nur 12-15% des Ultrafiltrats in das ADH-empfindliche Segment gelangen, ist dies zugleich die theoretische Obergrenze für eine maximale Wasserdiurese, nämlich ein Urinzeitvolumen von maximal 15% der GFR. Die Resorption von Soluten, vor allem von NaCl, läuft im Gegenstromsystem fast unverändert weiter. Das in das distale Konvolut aus dem aufsteigenden Schleifenschenkel bereits hypoosmolal einfließende Glomerulumfiltrat wird durch NaCl-Resorption ohne gleichzeitige Wasserresorption noch stärker hypoosmolal. Zusammengefaßt ergibt sich also bei der Wasserdiurese folgendes Bild:

\dot{V}_U	Anstieg bis maximal 15% der GFR ca. 18 ml/min
$[osmol]_U$	Abfall bis 100 mosmol/kg
C_{osmol}	praktisch unverändert bei 2-4 ml/min
C_{H_2O}	Anstieg auf positive Werte

4.3 Osmotische Diurese

Definition: Unter einer osmotischen Diurese versteht man die Mehrausscheidung von Flüssigkeit und Soluten, die durch das Vorhandensein von osmotisch wirksamen Substanzen im Tubulussystem bedingt ist. Die osmotisch wirksamen Substanzen können körpereigene und körperfremde Stoffe sein. Beispiele für körpereigene Stoffe sind Glukose oder Harnstoff, die bei einer Erkrankung vermehrt ausgeschieden und/oder vermindert resorbiert werden; aber auch Solute wie z.B. NaCl, dessen Resorption durch Diuretika (z.B. Furosemid, Benzothiodiazine) gehemmt wird. Körperfremde Stoffe, welche eine osmotische Diurese auslösen, sind dadurch charakterisiert, daß sie nur schwer resorbiert werden können und osmotisch wirksam sind, z.B. Mannit, das therapeutisch zur Auslösung einer osmotischen Diurese gegeben wird. Ein anderes Beispiel sind sog. Plasmaexpander, wenn diese filtriert werden und im Tubuluslumen Wasser binden. Durch die vermehrte Ausscheidung von osmotisch wirksamen Substanzen wird ein vermehrtes Volumen von Wasser osmotisch gebunden und ausgeschieden. Das Urinvolumen kann dabei 15% der gleichzeitigen GFR übersteigen.

Eigenschaften eines osmotischen Diuretikums: Im Prinzip kann zur Auslösung einer osmotischen Diurese jede Substanz benutzt werden, die in das Ultrafiltrat übertritt und in der Tubulusflüssigkeit osmotisch Wasser bindet. *Pitts* hat die Anforderungen, die an ein osmotisches Diuretikum zu stellen sind, wie folgt bezeichnet:

- (1) Verteilung ausschließlich in der extrazellulären Flüssigkeit,
- (2) kein Abbau im Stoffwechsel des Körpers,
- (3) freie Filtrierbarkeit in den Glomeruli,
- (4) keine Resorption im Nephron,
- (5) wenn möglich, Resorption aus dem Darm nach oraler Verabreichung und
- (6) keine toxischen Nebenwirkungen.

Für die Auslösung einer therapeutischen osmotischen Diurese kann Mannitol (= Mannit, ein pflanzlicher 6-wertiger Zuckeralkohol) verwendet werden, das gegenüber Stoffen wie Harnstoff und Glukose den Vorteil hat, praktisch nicht in die Zellen einzudringen. Da Mannit bei oraler Verabreichung nur unvollständig resorbiert und dann noch abgebaut wird, muß es intravenös verabreicht werden.

Mannitol wird nahezu frei filtriert und im Nephron bei freiem Fluß und normaler Permeabilität des Tubulusepithels praktisch nicht resorbiert. Sowohl beim Menschen als auch bei Versuchstieren ist die Mannit-Clearance nur um etwa 10% niedriger als die gleichzeitig gemessene Inulin-Clearance. Da das filtrierte Mannitol nicht resorbiert werden kann, bindet es osmotisch Tubulusflüssigkeit (TF), mit der es durch die Nierenkanälchen in die Sammelrohre und von dort in die ableitenden Harnwege abfließt.

Mechanismus der osmotischen Diurese: Durch die Resorption von NaCl und NaHCO₃ im proximalen Konvolut strömt Wasser aus dem Tubuluslumen zurück in den interstitiellen Raum. Dadurch steigt die Mannitkonzentration in der Tubulusflüssigkeit stromabwärts an. Da proximal die Tubulusflüssigkeit isoosmolal bleibt, nimmt die NaCl-Konzentration im Lumen entsprechend ab. Im Gegensatz zum Durstzustand und zur Wasserdiurese entsteht also bei der osmotischen Diurese schon proximal eine transtubuläre Natriumkonzentrationsdifferenz, gegen welche die Natriumionen resorbiert werden müssen. Bei einer Konzentrationsdifferenz von 35 mmol·l⁻¹ (d.h. Na⁺_{Plasma} = 139 und Na⁺_{TF} = 104 mmol·l⁻¹) si-stiert die Nettoresorption.

Man hat sich vorzustellen, daß jetzt von den Natriumpumpen pro Zeiteinheit gerade soviel Natrium aus dem Lumen heraustransportiert wird, wie passiv wieder zurückläuft. Aus Messungen am Ende des proximalen Konvoluts läßt sich ablesen, daß die proximale Flüs-

sigkeitsresorption bei der Mannitoldiurese gestört ist und als Folge davon ein größeres Flüssigkeitsvolumen nach distal abfließt. Es kommt zur Überschwemmung der distalen Nephronabschnitte. Auch in den distalen Tubuli und in den Sammelrohren ist die Resorption von Natrium und Flüssigkeit gehemmt, da Mannitol die Tubuluswand in keinem Nephronabschnitt in nennenswertem Maß durchdringen kann. Bei dem vermehrten Flüssigkeitsangebot von proximal her kommt es zu einem Anstieg des Urinzeitvolumens.

Zusammengefaßt wird die osmotische Diurese durch folgende Größen charakterisiert:

\dot{V}_U	Anstieg, u.U. drastisch und über 15% der GFR
$[\text{osmol}]_U$	Abfall bis auf maximal plasmaitone Werte
C_{osmol}	Zunahme
$C_{\text{H}_2\text{O}}$	Abnahme der Negativität bis maximal 0

4.4 Druckdiurese

Der Mechanismus dieser Diureseform erklärt sich aus der Funktion des Gegenstromsystems: Steigt der arterielle Blutdruck über Normalwerte an, so kommt es zu einer druckpassiven Mehrdurchblutung des Nierenmarks.

Die Nierenrindendurchblutung und die GFR unterliegen zwar der "Autoregulation" (d.h. relative Konstanz der Stromstärke bei Änderungen des arteriellen Drucks zwischen 80-180 mmHg). Die Markdurchblutung ist aber nicht so stark autoreguliert.

Durch die Markmehrdurchblutung werden osmotisch wirksame Teilchen ausgewaschen, das Nierenmark verliert einen Teil seiner Hyperosmolalität. Als Folge davon wird eine größere Menge eines nur gering konzentrierten Urins ausgeschieden.

Der Diuresezustand eines Patienten oder einer Versuchsperson läßt sich durch die in Tab. 3 angegebenen Parameter gut ermitteln:

	\dot{V}_U ml·min ⁻¹	$[\text{osmol}]_U$ mosm·kg ⁻¹	$[\text{osmol}]_P$ mosm·kg ⁻¹	C_{osmol} ml·min ⁻¹	$C_{\text{H}_2\text{O}}$ ml·min ⁻¹
Normal-Zustand (Antidiurese)	1	900	300	3	-2
Wasser-Diurese	10	100	300	3,3	6,7
Osmotische Diurese	15	300	300	15	0

Tabelle 3: Vergleich verschiedener Diureseformen

5 Harnstatus

Zur Untersuchung der normalen oder gestörten Funktion der Niere und der nachgeordneten Harnwege gehört auch die Untersuchung des Urins. Im sogenannten Harnstatus wird das Aussehen des Harns beurteilt und geprüft, ob bestimmte Substanzen oder Zellen nachweisbar sind, die normalerweise nicht oder nur in Spuren vorkommen. Da mit dem Urin auch Substanzen ausgeschieden werden, die aus anderen Organen stammen, erfaßt man beim Harnstatus natürlich nicht nur Erkrankungen der Niere, sondern auch Erkrankungen anderer Organe, z.B. des endokrinen Pankreas (Glukose) oder der Leber (Gallenfarbstoffe).

5.1 Eiweiß

Eiweiß wird in Spuren immer im Urin ausgeschieden, wobei die Obergrenze bei etwa 100 mg/24 h liegt. Diese geringe Menge ist mit den üblichen klinischen Routinemethoden nicht zu erfassen. Das Eiweiß stammt etwa zur Hälfte von filtriertem und nicht komplett reabsorbiertem Eiweiß. Die andere Hälfte stammt aus den Tubuluszellen, die Spuren von Protein abgeben können. Bei Nierenerkrankungen können täglich Mengen zwischen 5-10 g/24 h ausgeschieden werden. Diese lassen sich dann leicht mit den üblichen gröberen Nachweismethoden erfassen, z.B. mit den Schnelltest-Methoden mittels Teststreifen. Die Nachweisgrenze der Teststreifenmethode reicht aber nicht aus, um pathologische "Mikroalbuminurien" im Bereich von 20-150 mg/l nachzuweisen.

5.2 Glukose

Glukose wird normalerweise bei Vorliegen einer normalen Plasmaglukosekonzentration fast vollständig resorbiert und nicht im Urin ausgeschieden. Erst bei Überschreiten des tubulären Transportmaximums wird Glukose im Urin ausgeschieden. Erhöhte Glukosekonzentration im Blut und eine Glukoseausscheidung im Urin findet man beim Diabetes mellitus (Zuckerkrankheit). Eine erhöhte Glukosekonzentration im Blut kann auch ausnahmsweise durch extreme Hyperalimentation bedingt sein, z.B. durch das Aufnehmen großer Mengen einer Glukose-reichen Mahlzeit nach vorheriger maximaler körperlicher Arbeit (z.B. nach dem Marathonlauf, Skilanglauf, Höhenbergsteigen). Wegen der Häufigkeit der Zuckerkrankheit und der Dringlichkeit ihrer frühzeitigen Erkennung wird bei Untersuchung des Urins immer geprüft, ob eine Glukosurie (Glukoseausscheidung) nachweisbar ist. Bei Vorliegen einer diabetischen Stoffwechsellage sind dann auch Ketonkörper im Urin nachweisbar, die ebenfalls mit dem üblichen Schnelltest erfaßt werden können.

5.3 pH

Bei normaler gemischter Kost werden mit dem Urin mehr saure als alkalische Valenzen ausgeschieden. Der Urin ist daher üblicherweise sauer bis neutral. Nur bei vegetarischer Ernährung kann der Urin auch alkalisch sein. Bei Besiedlung der Harnwege mit Bakterien (Harnwegsinfekt) ändert sich der pH-Wert des Urins und tendiert zum Alkalischen. Zum Ausschluß eines Harnwegsinfektes gehört daher routinemäßig auch die Untersuchung des pH-Wertes. Dies wird meist ergänzt durch den Nachweis von Nitriten, die bei Harnwegsinfekt dann, unabhängig von der Art der Ernährung, vermehrt anfallen. Ebenfalls vermehrt ist dann die Anwesenheit von Leukocyten, die mit einem Schnelltest nachweisbar sind.

5.4 Erythrocyten

Erythrocyten werden üblicherweise nur in Spuren ausgeschieden. In einem Sediment von frisch gelassenem Morgenurin findet man bei mittlerer Vergrößerung allenfalls einen Erythrocyten pro 2-3 Gesichtsfeldern (10 fach Objektiv). Bei entzündlichen Erkrankungen

der Niere und der Blase, bei Blasensteinen und Nieren- sowie Blasentumoren findet man eine erhöhte Ausscheidung von Erythrocyten, die sich mit einem Schnelltest erfassen läßt.

5.5 Gallenfarbstoffe

Zum Harnstatus gehört auch die Prüfung auf Gallenfarbstoffe, z.B. Urobilinogen, Bilirubin. Dies ist sehr wichtig bei Lebererkrankungen, soll aber nicht weiter ausgeführt werden, da hier die Beurteilung der Nierenfunktion im Vordergrund steht.

5.6 Kristalline Sedimente

Frisch gelassener Urin ist normalerweise klar. Beim Erkalten können jedoch kristalline Sedimente ausfallen, die sich bei alleiniger Inspektion als Trübungen bemerkbar machen, z.B. bei saurem Urin Harnsäurekristalle, bei alkalischem Urin Calcium-Phosphat Verbindungen. Die Differenzierung der Kristallformen ist mittels mikroskopischer Untersuchung des Sediments und mit Lösungsversuchen nach Zugabe von Laugen und Säuren möglich. Dies wird später in der Klinischen Chemie und der Urologie ausführlich dargestellt.

5.7 Bakterien

Bei Gesunden ist der Urin steril, d.h., er enthält keine Bakterien. Ein keimarmer Urin kann durch katheterisieren oder suprapubische Blasenpunktionen gewonnen werden. In der klinischen Routine begnügt man sich oft mit dem sogenannten "Mittelstrahlurin" (s. Seite 26). Bei Verdacht auf Vorliegen eines Harnwegsinfektes wird das Urinsediment auf Bakterien untersucht, die mikroskopisch und nach Anzucht auf Kulturmedium identifiziert, sowie auf ihre Empfindlichkeit gegen Antibiotika getestet werden können.

6 Aufgabenteil

6.1 Überblick

Die gesunden, freiwilligen Versuchspersonen erhalten:

VP 1 1 l Wasser als Tee (hypoton)

VP 2 1 l isotonisches Elektrolytgetränk (als Gemüsesuppe)

VP 3 1 Tablette Furosemid (Lasix® à 40 mg mit einem Becher Tee, ca. 100 ml).

Es werden drei Studentengruppen gebildet. Jede Gruppe untersucht je eine der Versuchspersonen. Es werden folgende Aufgaben gestellt:

- 1) Bestimmung der Kreatinin-Clearance
- 2) Bestimmung der Harnstoff-Clearance
- 3) Bestimmung der osmolalen Clearance und Freiwasser-Clearance
- 4) Bestimmung der filtrierten und ausgeschiedenen Na^+ - und K^+ -Menge sowie der prozentualen Na^+ - und K^+ -Resorption
- 5) Untersuchung des Urins auf Eiweiß, Glukose u.a. pathologische Bestandteile (Harnstatus)

Für die Aufgaben (1) bis (4) werden folgende Größen in Plasma und Urin gemessen: Kreatinin, Harnstoff, Na^+ , K^+ , Osmolalität sowie das Urinzeitvolumen. Für Aufgabe (5) wird der Urin mit Teststäbchen semiquantitativ untersucht. Am Ende des Praktikums erfolgt eine Schlußbesprechung, bei der die wichtigsten Daten der drei Versuchspersonen verglichen und besprochen werden.

6.2 Praktische Durchführung des Versuchs

a) Die drei Versuchspersonen entleeren die Blase vollständig. Der Urin wird verworfen. Diese Entleerung ist der Zeitpunkt 0 unserer Untersuchung. Von diesem Zeitpunkt an wird die Urinproduktion regelmäßig alle 30 min gemessen. Der gesamte, in den folgenden 2 Stunden produzierte Urin wird getrennt für die Messungen gesammelt. Die Urinvolumina werden in Tab. 10 auf Seite 33 eingetragen.

b) Nach der ersten Blasenleerung wird die Blutabnahme durchgeführt (s.u.).

c) Zum Zeitpunkt $t = 30$ min folgt die zweite Blasenentleerung (antidiuretischer Urin). Unmittelbar nach der Blasenentleerung wird die VP gewogen (1. Wägung). Das Gewicht wird in Tab. 7 (auf Seite 31) eingetragen und mit Hilfe des Nomogramms auf Seite 6 der Skripte bei bekannter Körpergröße die Körperoberfläche ermittelt.

d) Unmittelbar danach erhalten:

VP 1: 1 l verdünnten Tee in etwa 10 min zu trinken.

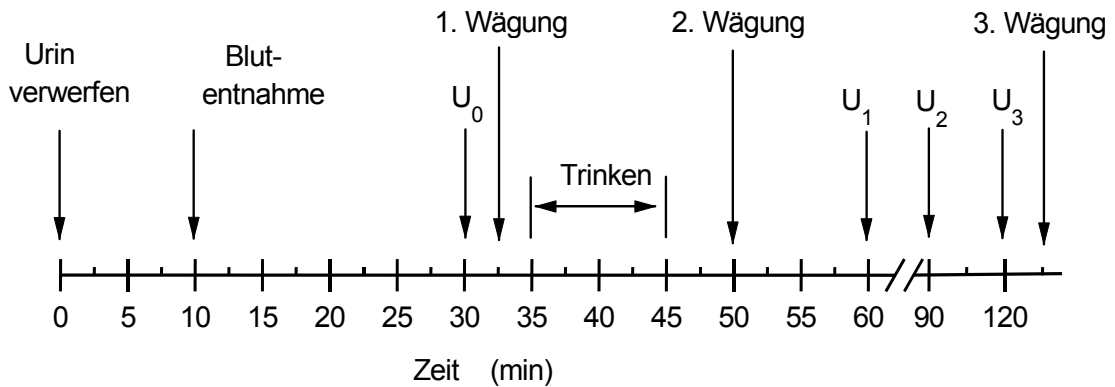
VP 2: 1 l isotonisches Elektrolytgetränk in etwa 10 min zu trinken.

VP 3: 1 Tablette Furosemid a 40 mg mit 100 ml Tee verabreicht.

e) Anschließend folgt die 2. Wägung der VP.

f) Die Versuchspersonen entleeren in 30-minütigem Abstand nun noch 3 mal die Blase und sammeln den Urin vollständig. Von jeder Versuchsperson erhalten wir somit insge-

samt 5 Urinproben. Nach der letzten Blasenentleerung werden die VP's nochmals gewogen (3. Wägung). Der gesamte Versuchsablauf ist in einem Flußdiagramm in der untenstehenden Abb. 6 wiedergegeben.



von $U_0 - U_3$ und Plasma werden Kreatinin, Harnstoff, Na, K, sowie die Osmolalität bestimmt

Abb. 6. Flußdiagramm vom Versuchsablauf

g) Die Urinproben werden beschriftet entsprechend der Zeitperioden bei $t=30$ min, d.h. antidiuretischer Urin mit U_0 , nachfolgend bei $t=60$ min mit U_1 usw. bis U_3 . In jeder Urinprobe werden, ebenso wie im Plasma der Blutprobe, Kreatinin, Harnstoff, Na^+ , K^+ und die Osmolalität bestimmt. Die Meßergebnisse werden in die Tabellen 8 - 11 (auf Seite 32 - 34) eingetragen. Es werden die jeweiligen Clearancewerte und der Prozentsatz der Na^+ - und K^+ -Resorption berechnet. Von einem Aliquot des antidiuretischen Urins (U_0) wird ein ausführlicher Harnstatus erstellt. Außerdem prüft jede(r) Studierende den eigenen Urin auf die Anwesenheit von Eiweiß und Glucose.

h) Blutentnahme: Von jeder der drei Versuchspersonen wird eine Blutprobe entnommen. Das Blut wird unter Zugabe einer geringen Menge von Heparin-Ca ungerinnbar gemacht (ca. 20 - 50 IE/ml). Die Blutentnahme (10 ml) erfolgt in Anwesenheit des aufsichtführenden Assistenten/Hochschullehrers. Sie wird von einem Tutor durchgeführt. Zu Übungszwecken kann sie unter Anleitung durch den Tutor auch von einem Studenten vorgenommen werden.

Zur Gewinnung von Plasma wird das Blut ca. 10 min bei ca. 3000 UPM zentrifugiert, das Plasma mit Pipetten abgenommen und in Plastikröhrchen überführt. Die Plasmaröhrchen werden beschriftet mit der Nummer der Versuchsperson (1-Tee, 2-isotone Suppe, 3-Furosemid).

6.3 Bestimmung von Kreatinin

Prinzip: Die am häufigsten verwendete Methode zur Bestimmung von Kreatinin beruht auf der Jaffé-Reaktion: Hierbei bildet Kreatinin in alkalischer Lösung mit Pikrinsäure eine gelb-orange gefärbte Verbindung, die stark pH abhängig ist und deren Farbintensität der Konzentration von Kreatinin proportional ist. Diese Reaktion ist nicht Kreatinin-spezifisch und erfasst auch noch andere sog. "Chromogene". Hierzu gehören verschiedene Proteine. So stört z.B. Hämoglobin in hämolytischem Blut. Trotz dieser Einschränkungen hat die Kreatininbestimmung mit der Jaffé-Methode den Vorzug, annähernd gleiche Clearance-Werte wie die Inulin-clearance zu geben. Leider ist dieser Test für eine manuelle Bestimmung nicht mehr im Handel, sondern nur noch für Großautomaten verfügbar. Deshalb müssen wir im Praktikum mit einer modifizierten Bestimmung arbeiten, welche nur das spezifische Kreatinin erfasst.

Das Prinzip der Modifikation von Slot, Heinegard und Tiderstrom ist, die durch Kreatinin entstandene Färbung durch Säurezusatz zu zerstören, wobei das Farbrea-genz des wahren" Kreatinins stärker bzw. schneller zerfällt als das Farbrea-genz der anderen "Chromogene". Die Differenz der gemessenen Farbintensität bei 500 nm 60 und 120 Sekunden nach Säurezusatz ist der jeweiligen "wahren" Kreatinin-Konzentration proportional.

Praktische Durchführung:

Reagenzien:

Es wird ein im Handel befindliches System verwendet.

Natriumhydroxid: 0.16 M NaOH (R1)

Kreatinin-Farbrea-genz: 4 mM Pikrinsäure (R2)

Kreatinin-Standard: 265 µmol/l Kreatinin in 0,02 N Salzsäure

Aqua bidest H₂O

Sicherheitsmaßnahmen:

NaOH und das Säurereagenz sind ätzend, das Kreatinin Farbrea-genz gesundheitsschädlich. Ein Kontakt mit den Augen und der Haut ist unbedingt zu meiden Beim Arbeiten muß mit einer Schutzbrille, Handschuhen und einem Kittel gearbeitet werden. Bei einem Kontakt mit den Augen und der Haut sofort mit reichlich Wasser ausspülen, kontaminierte Kleidung wechseln und einen Arzt aufsuchen.

Durchführung:

Benötigt werden:

- 7 Kunststoff-Küvetten
- 4 Eppendorf-Gefäße
- eine 50 µl Pipette
- eine 1000 µl Pipette
- eine Uhr mit Sekundenzeiger
- Aqua – Bidest (Flasche mit „b.d.“ beschriftet)
- Krea – Standard-Lösung (265 µmol/l, steht im Kühlschrank, bitte erfragen, wenn benötigt)
- Krea – Lösung (Flasche mit „Krea“ beschriftet)
- 0,9%ige Na-Cl-Lösung
- Photometer (Messung bei 500 nm)

Messung von Küvette Nr. 1 ist nur zum Eichen des Photometers notwendig. Nach dem Mischen wird die Küvette in das Photometer gestellt und ca. 2 Minuten gewartet, bis der Wert konstant bleibt.

Nun wird die Taste „Set-Ref.“ am Gerät gedrückt: Das Photometer ist geeicht.

Weitere Messungen werden nach folgendem Schema durchgeführt:

Küvetten Nummer	Probe	Mixen mit	Reagenz	Messung 1	Messung 2
1	50 µl Bidest	+	1000 µl Krea-Lsg.	-	-
2	50 µl Standard Lösung	+	1000 µl Krea-Lsg.	nach 60 sec.	nach 120 sec.
3	50 µl Plasma (unverdünnt)	+	1000 µl Krea-Lsg.	nach 60 sec.	nach 120 sec.
4	50 µl U ₀ (verdünnt*)	+	1000 µl Krea-Lsg.	nach 60 sec.	nach 120 sec.
5	50 µl U ₁ (verdünnt*)	+	1000 µl Krea-Lsg.	nach 60 sec.	nach 120 sec.
6	50 µl U ₂ (verdünnt*)	+	1000 µl Krea-Lsg.	nach 60 sec.	nach 120 sec.
7	50 µl U ₃ (verdünnt*)	+	1000 µl Krea-Lsg.	nach 60 sec.	nach 120 sec.

*) Der Urin muss 1:1 mit 0,9%iger Na-Cl-Lösung verdünnt werden! Dazu also 4x jeweils in einem Plastikröhrchen 50µl Urin mit 50µl NaCl-Lösung mischen und von dieser Lösung 50µl als Probe im Versuch verwenden !!

Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 einzutragen

Die Kreatininkonzentration wird anschließend mit folgender Formel berechnet:

$$[\text{Kreatinin}] = \frac{(E1 \text{ Probe} - E2 \text{ Probe})}{(E1 \text{ Standard} - E2 \text{ Standard})} \times \text{Konzentration der Standardlösung} \times F$$

Konzentration der Standardlösung = 265 µmol/l

F = Verdünnungsfaktor (bei Plasma = 1 (unverdünnt) ; bei Urin = 2)

Anschließend wird die Kreatinin-Clearance als Maß für die glomeruläre Filtrationsrate in Tab. 10 (Seite 33) mit der nachfolgenden Formel berechnet:

$$C_{\text{Kreatinin}} = U_{\text{Kreatinin}} / P_{\text{Kreatinin}} \cdot \dot{V}_U \quad (\text{ml} / \text{min})$$

Der ermittelte Wert von Kreatinin in ml/min wird anschließend mit Hilfe des Nomogramms (Abb.2, Seite 6) auf die normierte Körperoberfläche von 1,73 m² umgerechnet und das Ergebnis in Tab. 10 eingetragen.

Der Normalbereich für die Kreatinin-Clearance Werte bezogen auf die Körperoberfläche sind bei

Männern 98 – 156 ml / min · 1,73 m²

Frauen 95 – 160 ml / min · 1,73 m²

Kreatinin Normalwerte:

Serum: Männer 80 – 124 µmol/l, Frauen 71 – 106 µmol/l

Urin: Männer 9,7 – 24,7 mmol/24 h, Frauen 7,9 – 14,1 mmol/24 h

6.4 Bestimmung von Harnstoff (Colorimetrische Urease-Methode)

Prinzip:

Harnstoff wird durch Urease in Ammoniak und Kohlendioxid gespalten. Danach reagiert Ammoniak mit alkalischem Hypochlorit und Salicylat in Gegenwart von Natriumnitroprussiat unter der Bildung eines grünen Farbstoffes. Die Konzentration von Ammoniak ist direkt proportional zur Zunahme der Absorption bei 570 nm.

Reagenzien:

Es wird ein im Handel befindliches Testsystem verwendet. Es hat folgende Zusammensetzung:

RGT1: Phosphatpuffer mit Natrium-Salicylat und Natrium-Nitroprussiat, EDTA

RGT2: Phosphatpuffer mit Natriumhypochlorit (alkalische Lösung).

ENZ: Urease-Puffer

STD: Harnstoff Standard: Konzentration 10,7 mmol/l mit Benzoesäure zur Konservierung.

Sicherheitsmaßnahmen:

Alkalische Hypochlorit Lösung ist stark ätzend. Bei Kontakt können irreversible Schäden entstehen. Bei Kontakt mit den Augen und anderen Körperteilen sofort mit reichlich Wasser spülen und einen Arzt aufsuchen. Nitroprussiat-Lösung reizt die Augen, die Atemwege und die Haut. Das in der Urease Puffer Lösung enthaltene Natriumazid ist toxisch. Es kann mit Blei und Kupfer explosive Verbindungen eingehen. Daher bei der Entsorgung reichlich mit Wasser verdünnen.

Bei der Arbeit müssen eine Schutzbrille, Handschuhe und ein Kittel getragen werden. Kontaminierte Kleidung ist sofort zu wechseln.

Interferenz und Fehlerquellen:

Es stören folgende Substanzen:

Fluorid- und Ammoniak-Heparin als Antikoagulantien und im Tabakrauch.

Eine Reihe von Medikamenten wie Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamide, Chlorpromazin, Imipramine u.a.

Bakterielle Verunreinigungen vermeiden. Urease Reagenz gekühlt bei 2-8° C aufbewahren. Einmalröhrchen und Einmalküvetten verwenden.

Praktische Durchführung:

Benötigt werden:

- 7 Kunststoff-Küvetten
- 4 Einmal-Plastikröhrchen
- eine 50 µl Pipette
- eine 1000 µl Pipette
- eine Uhr
- Aqua – Bidest (Flasche mit „b.d.“ beschriftet)
- Urea – Standard-Lösung (steht im Kühlschrank, bitte erfragen, wenn benötigt)
- Urea – Lösung (Flasche mit „Urea“ beschriftet; Inhalt: RGT1 + ENZ)
- RGT2-Lösung (Flasche mit „RGT2“ beschriftet)
- Photometer (Messung bei 570 nm)

Die Analysen werden als Doppelbestimmung in Einmal-Reagenzröhrchen nach dem Schema der nachfolgenden Tab.6a angesetzt. Die Reihenfolge der Proben ist zweck-

mäßigerweise: 1. Leerwert, 2. Standard, 3. Plasma, 4./5./6./7.:verdünnte Urinproben $U_0 - U_3$.

Die erste Messung mit der Küvette Nr. 1 ist nur zum Eichen des Photometers notwendig. Diese Küvette wird in das auf 570nm eingestellte Photometer eingesetzt und über die Taste „Set-Ref.“ wird das Photometer geeicht.

Küvetten Nr.	Probe	mixen mit	Reagenz	Inkubation	mixen mit	Inkubation	Messen
1	50 µl Bidest	+	1000 µl Urea	5 Minuten	1000 µl RGT2	10 Minuten	-
2	50 µl Standard Lsg	+	1000 µl Urea	5 Minuten	1000 µl RGT2	10 Minuten	bei 570nm
3	50 µl Plasma (unverdünnt)	+	1000 µl Urea	5 Minuten	1000 µl RGT2	10 Minuten	bei 570nm
4	50 µl U_0 (verdünnt*)	+	1000 µl Urea	5 Minuten	1000 µl RGT2	10 Minuten	bei 570nm
5	50 µl U_1 (verdünnt*)	+	1000 µl Urea	5 Minuten	1000 µl RGT2	10 Minuten	bei 570nm
6	50 µl U_2 (verdünnt*)	+	1000 µl Urea	5 Minuten	1000 µl RGT2	10 Minuten	bei 570nm
7	50 µl U_3 (verdünnt*)	+	1000 µl Urea	5 Minuten	1000 µl RGT2	10 Minuten	bei 570nm

*) Der Urin wird je nach gemessenem Urinzeitvolumen folgendermaßen mit Aqua bidest. („b.d.“) verdünnt:

$V_U > 10$ ml/min = 1:5

$V_U = 6-10$ ml/min = 1:10

$V_U = 2,5-10$ ml/min = 1:20

$V_U < 2,5$ ml/min = 1:50

Tabelle 6a: Pipettierschema zur Bestimmung der Harnstoff - Konzentration

Verdünnungsschema (Einmal-Plastikröhrchen):

$\dot{V}_U > 10$ ml/min 1:5	$\dot{V}_U = 6 - 10$ ml/min 1:10	$\dot{V}_U > 2,5 - 6$ ml/min 1:20	$\dot{V}_{UU} < 2,5$ ml/min 1:50
500 µl H_2O	1000 µl H_2O	1000 µl H_2O	5000 µl H_2O
100 µl entnehmen	100 µl entnehmen	50 µl entnehmen	100 µl entnehmen
100 µl Urin zugeben	100 µl Urin zugeben	50 µl Urin zugeben	100 µl Urin zugeben

Tabelle 6b: Probenverdünnung bei Harnstoff-Analyse.

Nach Verdünnung mit Parafilm verschließen und gut schütteln. Messung: Extinktion der Probe (ΔE_{Probe}) und des Standards (ΔE_{STD}) gegen den Reagenzienleerwert messen. Die Ergebnisse werden in Tab. 9 eingetragen.

Berechnung:

$$\Delta E_{\text{Probe}} / \Delta E_{\text{STD}} \times F \times \text{Konzentration der Standardlösung} = \dots\dots\dots \text{mmol/l Harnstoff}$$

E = Extinktion
 F = Verdünnungsfaktor
 = 1 für Plasma
 = 5 bis 50 für Urin

Standardkonzentration = 13,3 mmol/l

Der Harnstoff Normalwert im Plasma liegt mit dieser Methode bei 2,5 – 6,4 mmol/l. Die Harnstoffausscheidung im Urin beträgt normalerweise 443 – 710 mmol/24 h.

Die Ergebnisse werden in Tab. 9 (Seite 32) eingetragen. Mit diesen Werten wird die Harnstoff-Clearance berechnet und in Tab. 10 (Seite 33) eingetragen.

Die Reagenzienabfälle müssen in Sammelbehälter entleert werden. Keinesfalls in das Wasserleitungssystem gießen!

6.5 Bestimmung von Na⁺ und K⁺ in Plasma und Urin

Prinzip:

Für die Bestimmung von Na⁺ oder K⁺ stehen zwei Methoden zur Verfügung: Die Flammenfotometrie und die Messung mit ionenselektiven Elektroden. Bei der Flammenfotometrie wird die Gesamtkonzentration von Na⁺ oder K⁺ im Gesamtvolumen der Probe bestimmt. Bei der Messung mit ionenselektiven Elektroden (ISE) wird die Aktivität von Na⁺ und K⁺ in der wässrigen Phase der Probe bestimmt. ISE Messungen liefern daher in normalem Plasma ca. 7 % höhere Werte, weil der Volumenanteil der nichtwässrigen Phase (Proteine und Lipide) ca. 7% beträgt. Bei pathologischen Änderungen mit einem zu hohen Protein- und/oder Lipidgehalt der Probe erhält man mit einer flammenfotometrischen Messung zu niedrige Na⁺- und K⁺- Werte. Da die Normalwerte im Serum früher mit der flammenfotometrischen Methode etabliert wurden, gilt diese bis heute als die Referenzmethode. Um zu vermeiden, daß der Arzt sich verschiedene Normalbereiche von Na⁺ und K⁺ für verschiedene Meßmethoden merken muß, werden ISE-Geräte so geeicht, daß die gemessenen Werte von Na⁺ und K⁺ im normalen Serum den flammenfotometrisch gemessenen Werten entsprechen. Als Probengut wird in der Flammenfotometrie üblicherweise Serum oder Plasma eingesetzt. Die ISE Geräte können darüber hinaus auch in Vollblut messen, was klinisch von Vorteil ist.

Durchführung: Messung des Na⁺ /K⁺ Gehaltes mit einem Labor-Analysegerät

- a) Verdünnung des Plasmas: keine
- b) Verdünnung des Urins: prinzipiell keine; da Gerät jedoch auf Plasma geeicht ist, kann es sein, dass ein zu bestimmender Wert nicht angezeigt wird. Dann bitte nach folgendem Schema vorgehen:

Zur K⁺-Bestimmung:

Falls K⁺ zu hoch ist, 1:10 Verdünnung mit H₂O_{bidest},
 anschliessend Messergebnis mit 10 multiplizieren.

Zur Na⁺-Bestimmung:

Falls Na⁺ zu niedrig ist, 100µl 1M NaCl zu 1ml Urin pipettieren.

Die Na⁺-Konzentration errechnet sich dann als:

Messergebnis x 1,1 - 100

Die Ergebnisse der Analyse von Urin- und Plasmaproben werden in die Tab. 11 (Seite 34) eingetragen.

Auswertung der Elektrolyt-Bestimmungen:

Aus V_U , $[X]_P$ und $[X]_U$ sollen bei Annahme einer normalen GFR ($120 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$) die folgenden Größen berechnet und in Tab.11 auf Seite 34 eingetragen werden:

$$\text{a) } \text{filtrierte Menge} = \text{GFR} \cdot [X]_P \cdot B \cdot E \quad (\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1})$$

GFR : $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ B = Donnan-Faktor: 0,95 für Kationen, 1,05 Anionen
 E = Eiweiß-Korrektur
 für X^+ : 1,05
 für X^- : 1,05
 d.h. Korrekturfaktor = K insgesamt:
 für Kationen 1,00; für Anionen 1,10

$[X]_{U,P}$: $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot 10^{-3}$ (Umrechnung von l in ml)

\dot{V}_U : $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$

$$\text{b) } \text{ausgeschiedene Menge} = \dot{V}_U \cdot [X]_U \quad (\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1})$$

$$\text{c) } \text{resorbierte Menge} = (\text{GFR} \cdot [X]_P \cdot K) - (\dot{V}_U \cdot [X]_U) \quad (\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1})$$

[filtriert] - [ausgeschieden]

6.6 Bestimmung der Osmolalität in Plasma und Urin

Vorbemerkung:

Anstelle von Angaben wie $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ oder $\text{g} \%$ sind folgende Konzentrationsangaben zu wählen:

$$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}, \text{osmol} \cdot \text{l}^{-1}, \text{osmol} \cdot \text{kg Lösungsmittel}^{-1}$$

Beachte den Unterschied zwischen Molarität und Molalität.

1 molar bedeutet: 1 mol in 1 l Lösung.

Nachteil dieser Angabe: Das Volumen einer Lösung ist temperaturabhängig, somit auch die Molarität.

1 molal bedeutet: 1 mol + 1 kg Lösungsmittel.

Bei stark verdünnten Lösungen sind Molarität und Molalität praktisch gleich, der Unterschied nimmt zu mit steigendem Volumen des zu lösenden Stoffes.

Im Plasma z.B. sind deshalb Molarität und Molalität infolge des hohen spezifischen Volumens der Proteine nicht gleich groß. Während die Begriffe von Molarität und Molalität immer auf undissoziierte Substanz bezogen sind, gibt die Osmolarität bzw. Osmolalität die molare Konzentration aller in der Lösung osmotisch aktiven Moleküle an. Es ist ein Osmol = $1 \text{ mol} \cdot n$, wobei n die Anzahl der Teilchen ist, in die ein Molekül der undissoziierten Substanz bei Dissoziation zerfällt. Dementsprechend ergeben

$$\begin{aligned} 1 \text{ mol Harnstoff} &= 1 \text{ osmol} \\ 1 \text{ mol NaCl} &= 2 \text{ osmol} \\ 1 \text{ mol CaCl}_2 &= 3 \text{ osmol} \end{aligned}$$

Messung der Osmolalität:

Prinzip:

Die Osmolalität einer Lösung kann durch Messung der Gefrierpunktserniedrigung, d.h. des Temperaturunterschiedes zwischen dem Gefrierpunkt des reinen Lösungsmittels und dem

der Lösung ermittelt werden. Aus der praktischen Anwendung beim Salzstreuen im Winter ist bekannt, daß eine Salzlösung erst bei tieferer Temperatur gefriert als reines Wasser.

Je konzentrierter eine Lösung ist, desto tiefer ist die Temperatur, bei der die Lösung gefriert, d.h.

$$\Delta T = K \cdot c \quad \text{und} \quad c = \frac{\Delta T}{K}$$

Der Proportionalitätsfaktor K heißt kryoskopische Konstante und beträgt $1,86^\circ\text{C}\cdot\text{osmol}^{-1}\cdot\text{kg}$, d.h. eine 1-osmolale Lösung gefriert bei $-1,86^\circ\text{C}$. Überlege, bei welcher Temperatur Plasma gefriert. (Osmolalität des Plasmas = $300 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)

Praktisch wird die Messung so durchgeführt, daß man die Probe auf -10° bis -15°C unterkühlt und dann mit einem Vibrator das Gefrieren einleitet. Während der Dauer des Gefrierens stellt sich die Temperatur von destilliertem Wasser konstant auf 0°C ein, da zunächst die bei der Überführung in den festen Aggregatzustand freiwerdende Wärme ein Absinken der Temperatur verhindert. Nach vollständiger Durchfrierung sinkt die Temperatur dann weiter.

Bei Lösungen liegt infolge der Gefrierpunktserniedrigung die Gefriertemperatur niedriger als beim reinen Lösungsmittel. Nach Eichung des Gerätes mit Lösungen bekannter Osmolalität kann auf der Skala in $\text{mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ abgelesen werden. Zur Verdeutlichung ist dieser Vorgang in Form eines Temperatur-Zeit-Diagramms in der folgenden Abbildung dargestellt (Abb.7).

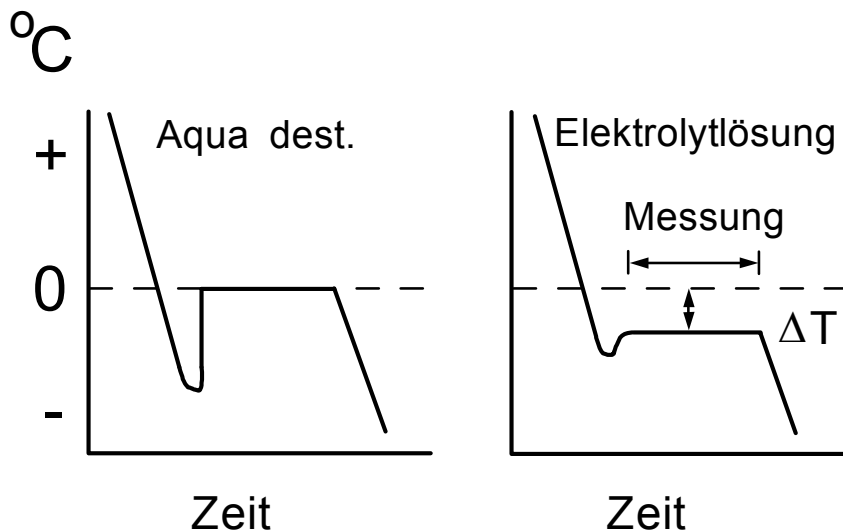


Abb. 7: Temperatur-Zeit-Diagramm bei der Osmometrie.

Merke:

Lösungen, die den gleichen Gefrierpunkt haben, sind isoosmolal, sie sind jedoch nicht immer auch isoton.

Die Ergebnisse sind in Tab.10 auf Seite 30 einzutragen. Anschließend wird aus den Meßwerten C_{osmol} und $C_{\text{H}_2\text{O}}$ berechnet und in Tab.10 eingetragen.

7 Harn-Schnelltest

Von dem frisch gelassenen Mittelstrahlurin der Testperson wird ein ausführlicher Harnstatus mittels der Schnelltest-Methode mit Teststreifen durchgeführt. Es wird das Aussehen des Urins beurteilt, ob er klar oder getrübt ist oder eine besondere Farbe (z.B. durch Beimengung von Hämoglobin oder Gallenfarbstoffen) aufweist. Dann wird mit Teststreifen (Combur-9-Test) auf Eiweiß, Glukose, Ketone, pH, Leukocyten, Nitrite und Erythrocyten geprüft. Mit erfaßt, aber nicht weiter besprochen, werden der Test auf Urobilinogen und Bilirubin, der auf den Teststreifen mit vorhanden ist. Die Ergebnisse sind in Tabelle 12 am Ende der Skripte einzutragen.

Außerdem untersucht jeder Student seinen eigenen Mittelstrahlurin. Aus Kostengründen werden nur drei besonders wichtige Tests im Kurzstatus (Combur-Test) durchgeführt: auf Eiweiß, Glukose und den pH-Wert. Hierzu werden andere Teststreifen benutzt als für den besonders ausführlichen obigen Harnstatus.

Praktische Durchführung:

1. Mittelstrahlurin ist der mittlere (2. Strahl) von drei Urinportionen. Zunächst wird nach Freilegen der Urethralöffnung ein erster Urinstrahl verworfen. Der nächste (zweite) Urinstrahl wird kurz gesammelt und der Resturin wieder verworfen. Bei Verdacht auf Vorliegen eines Harn-/Nierenwegsinfektes muß die Urethralöffnung zuvor gesäubert werden.
2. Teststreifen kurz in Urin tauchen. Den überschüssigen Urin am Gefäßrand abstreifen. Ablesen der Ergebnisse nach 60 Sekunden, Leukocyten erst nach 100-120 Sekunden. Farbänderungen nach Ablauf dieser Zeit sind diagnostisch nicht verwertbar. Die Teststreifendose muß sofort nach der Entnahme wieder verschlossen und trocken aufbewahrt werden.

8 Zusammenfassung

Schließlich sind die wichtigsten Werte der VP der jeweiligen Arbeitsgruppe in Tab.10 auf Seite 33 einzutragen. Anschließend werden auch die Werte der VP der anderen Arbeitsgruppen vom Tutor erfragt und zusammen mit den Werten der eigenen VP in die Abb. 8 - 11 auf den Seiten 36 - 37 eingetragen.

9 Schlussbesprechung

Am Ende des Praktikums wird eine gemeinsame Schlußbesprechung aller Gruppen durchgeführt, in der die Daten der verschiedenen VPs untereinander verglichen und die verschiedenen Diuresezustände bewertet werden.

10 Abkürzungen

Nierenphysiologie

ADH	=	Antidiuretisches Hormon, Adiuretin, Vasopressin
B	=	Donnan-Faktor
C_{H_2O}	=	Freie Wasserclearance ($ml \cdot min^{-1}$)
C_X	=	Clearance des Stoffes X ($ml \cdot min^{-1}$)
ERPF	=	effektiver renaler Plasmafluß ($ml \cdot min^{-1}$)
FF	=	Filtrationsfraktion (GFR / RPF)
GFR	=	glomeruläre Filtrationsrate ($ml \cdot min^{-1}$)
ISE	=	ionenselektive Elektrode

Q_x	=	filtrierte Stoffmenge des Stoffes X
RBF	=	renaler Blutfluß ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)
RPF	=	renaler Plasmafluß ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)
TF	=	Tubulusflüssigkeit
T_m	=	Maximum der tubulären Transportrate ($\text{mmol} \cdot \text{min}^{-1}$)
TRPF	=	totaler renaler Plasmafluß ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)
\dot{V}_U	=	Urinzeitvolumen ($\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$)
$[X]_P$	=	Konzentration des Stoffes X im Plasma ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)
$[X]_U$	=	Konzentration des Stoffes X im Urin ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)

Photometrie

c	=	Konzentration ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$)
d	=	Schichtdicke der Küvette (cm)
ε	=	molarer Extinktionskoeffizient ($\text{l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) z.B. für NADH (340 nm) $\varepsilon = 6,3$
F	=	Verdünnungsfaktor
V	=	Testvolumen (ml)
v	=	Probenvolumen (ml)
ΔE	=	Extinktionsdifferenz

Tabelle 7: Körpergewicht (kg), (1 ml = 1 g)

	VP 1 Wasser	VP 2 Isotone Elektrolytlösung	VP 3 Furosemid
Gewicht vor Getränk [kg] (1. Wägung)			
Gewicht nach Getränk [kg] (2. Wägung)			
IST-Gewichtszunahme [kg]			
SOLL-Gewichtszunahme [kg]	1,0	1,0	0,1
Gewicht nach letzter Blasen- leerung (U ₃) [kg] (3. Wägung)			
IST-Gewichtsänderung (von 2. zur 3. Wägung in 2h) [kg]			
Urinausscheidung in 2 h insgesamt (U ₁ -U ₃) [ml]			
Ausscheidung in % der aufgenommenen Menge			

Körpergröße: m

Körperoberfläche: m²

Geschlecht:

Tabelle 8: Kreatinin-Meßwerte

Probe	Verdünnungs- faktor F	Extinktion		Konzentration $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$
		1	2	
Standard	---			265
Plasma	---			
Urin 0				
Urin 1				
Urin 2				
Urin 3				

Tabelle 9: Harnstoff-Meßwerte

Probe	Analysen- verdünnung	Extinktion	Konzentration $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$
Standard	---		13,3
Plasma	---		
Urin 0			
Urin 1			
Urin 2			
Urin 3			

Tabelle 10: Protokolltabelle zur Kreatinin-, Harnstoff- und Osmolalitätsbestimmung

VP:

Geschlecht:

Größe	Urinzeitvolumen		[Kreatinin]	$C_{\text{Kreatinin}}$	[Harnstoff]	$C_{\text{Harnstoff}}$	Osmola- lität	C_{osmol}	$C_{\text{H}_2\text{O}}$
	ml/30min	ml/min							
Plasma	---	---		---		---		---	---
Urin 0									
Urin 1									
Urin 2									
Urin 3									
Mittelwert	--	--	--		--	--	--	--	--

Tabelle 11: Protokolltabelle zur Na⁺- K⁺- und Osmolalitätsbestimmung Datum: 200...

VP Nr.	Na ⁺				K ⁺			
	Konz. (mmol/l)	filtrierte Menge (mmol/min)	ausgesch. Menge	resorb. Menge (%)	Konz. (mmol/l)	filtrierte Menge (mmol/min)	ausgesch. Menge	resorb. Menge (%)
Urin 0								
Urin 1								
Urin 2								
Urin 3								
Plasma						-----	-----	-----

Tabelle 12: Harn-Schnelltest

normal ← | → pathologisch

Farbe	goldgelb	o	farblos	o	zitronengelb	o	orange	o	rot	o
			braun	o	grünlich	o	milchig	o	blau	o
Leukozyten	neg.	o	ca.10-25 µl	o	ca.75 µl	o	ca.500 µl	o		
Nitrit	neg.	o	pos.	o						
pH	5	o	6	o	7	o	7,5	o	8	o
									9	o
Eiweiß	neg.	o	0,3 g/l	o	1 g/l	o	5 g/l	o		
Glukose	neg.	o	0,5 g/l	o	1 g/l	o	3 g/l	o	10 g/l	o
Ketonkörper	neg.	o	+	o	++	o	+++	o		
Urobilinogen	neg.	o	10 mg/l	o	40 mg/l	o	80 mg/l	o	120 mg/l	o
Bilirubin	neg.	o	+	o	++	o	+++	o		
Blut (Ery)	neg.	o	5-10 µl	o	ca.50 µl	o	ca.250 µl	o		

Abb. 8: Urinzeitvolumen

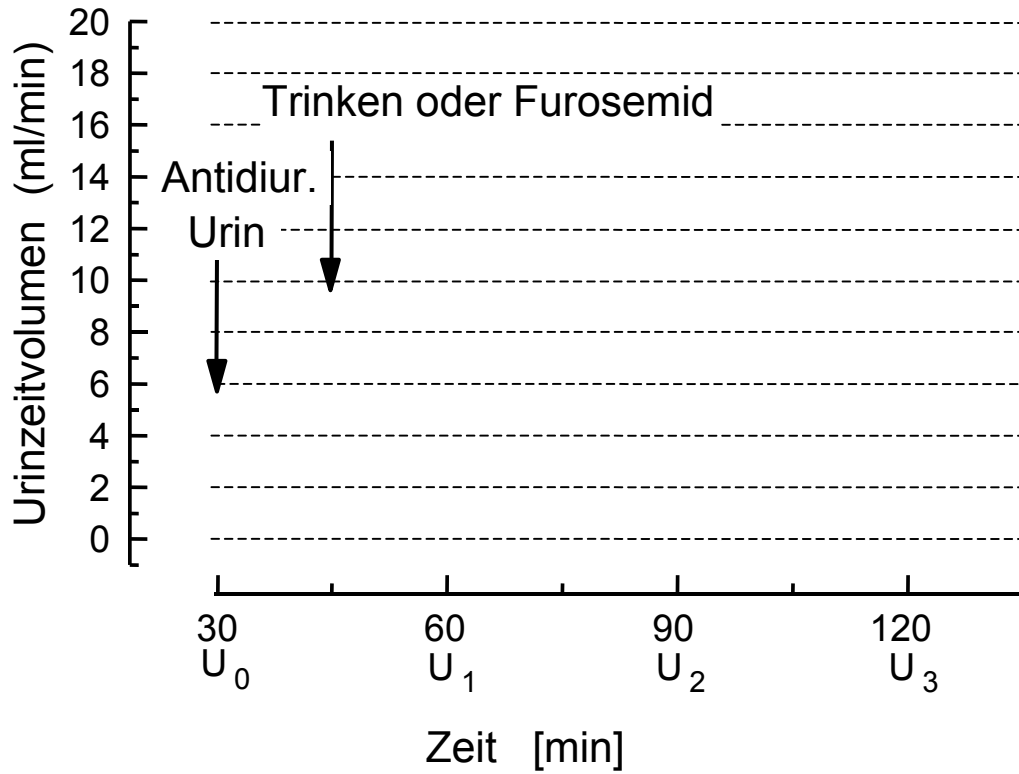


Abb. 9: Kreatinin-Clearance

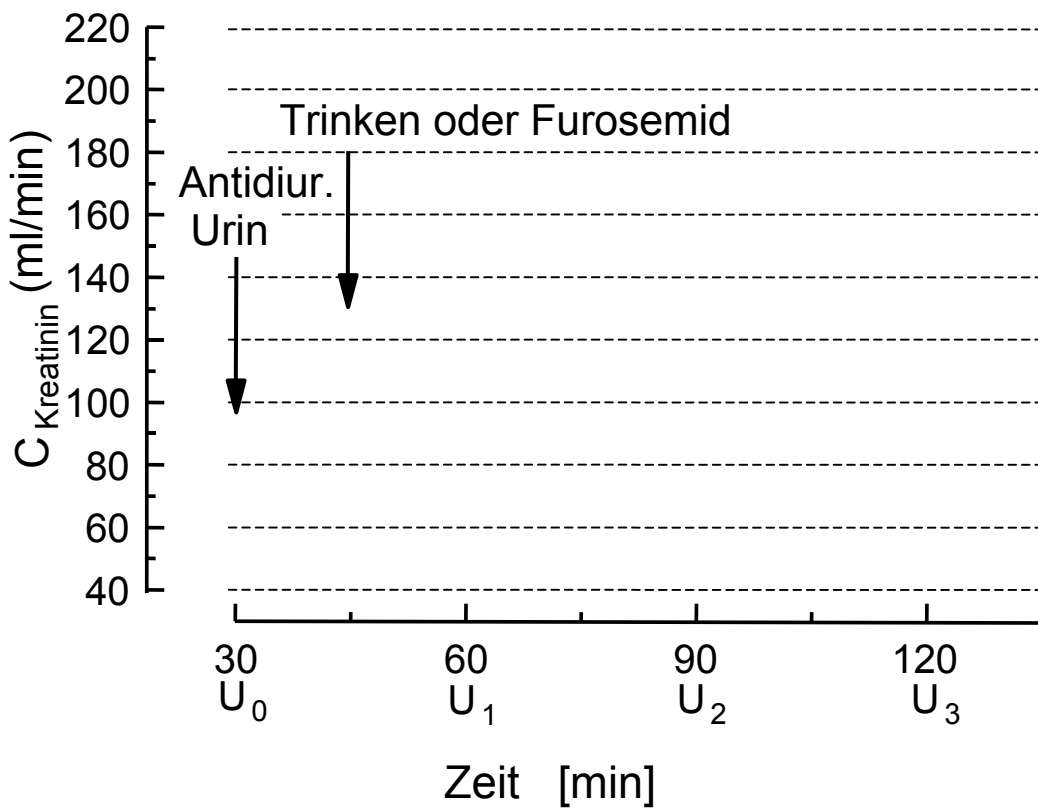


Abb. 10: Harnstoff-Clearance

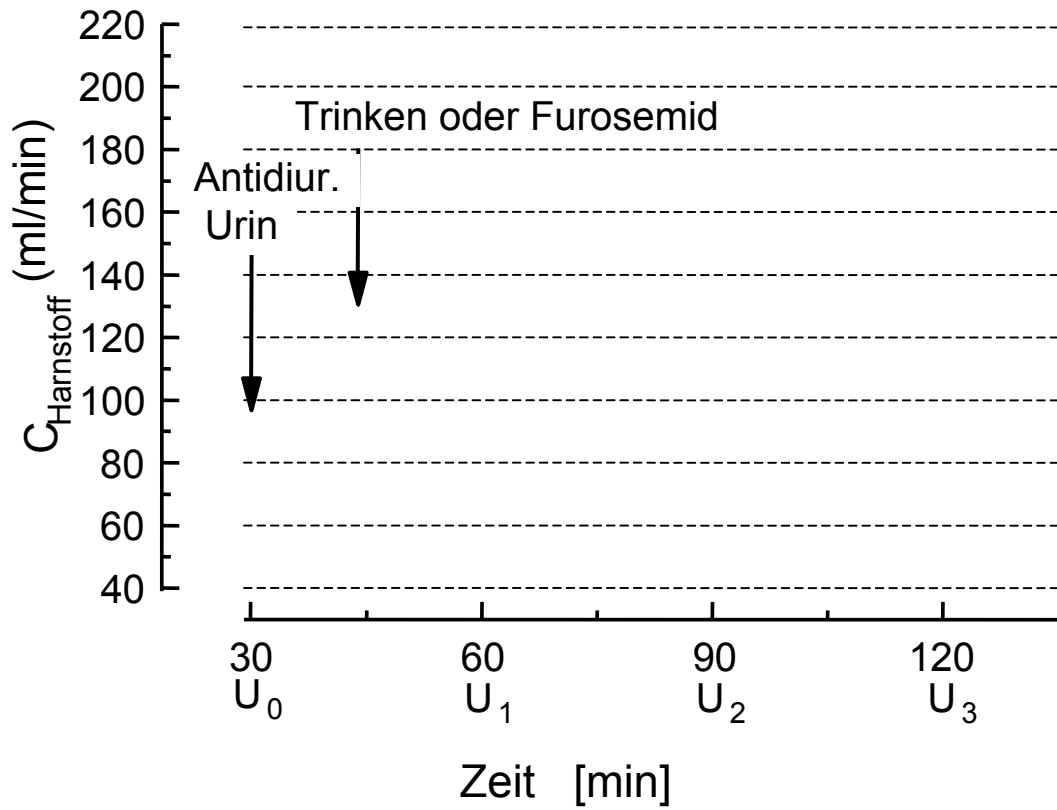


Abb. 11: Freiwasserclearance

