

III. Die Ausscheidung

1. Die Farbe des Urins

Die Farbe des normalen Urins ist mehr oder weniger gelb. Sie hängt von der Konzentration der Farbstoffe Urochrom, Uroerythrin und Urobilin ab.

Sie wird durch die folgenden Faktoren beeinflusst:

- pH: saurer Urin ist meistens dunkler
- Konzentration: hell gelber Urin ist meistens hypoton; konzentrierter Urin hat meistens eine dunklere Farbe. Osmotische Diurese im Fall von Glukosurie ist eine Ausnahme: heller Urin mit hoher Dichte.

Unterschiedliche Farbstoffe (die nicht in normalem Urin vorhanden sind) und pathologische Umstände können die Farbe des Urins verändern:

- rot: Hämoglobin (Hämoglobinurie), Blut (Erythrozyten – makroskopische Hämaturie), bestimmte Medikamente
- ziegelrot: erhöhte UBG Ausscheidung
- gelbbraun: Bilirubin (wenn man den Urin stehen lässt entsteht Biliverdin durch Oxidation)
- weißgelb: Eiter im Urin (Pyurie)
- dunkelbraun: Melanin, Alkaptonurie (bei einem Defekt der Homogentisat-Dioxygenase kann Homogentisinsäure nicht abgebaut werden wird in Alkaptochrom umgewandelt.)

2. pH des Urins

Normbereich: pH 4-8 (abhängig vom Säure-Basen Haushalt des Körpers). Bei normal gemischter Ernährung ist der pH-Wert leicht azidotisch (pH 6). Eiweißreiche Ernährung verschiebt den pH in den azidotischen Bereich, gemüsereiche Ernährung verschiebt ihn dagegen in den alkalotischen Bereich.

Saurer Urin: Fieber, Durchfall (HCO_3^- - Verlust), Hungerzustand, Azidose.

Alkalotischer Urin: Alkalose, extremes Erbrechen, Harnwegsinfektion.

Man bestimmt den pH des Urins mit Universalindikatorpapier.

3. Die Dichte des Urins

Die Dichte des Urins gibt uns Informationen über die Ausscheidung der verschiedenen Substanzen und das Konzentrationsvermögen der Niere.

Mit dem Urometer kann man die Dichte bestimmen. Es ist ein einfacher Dichtemesser, der auf $1,000\text{-}1,060\text{ kg/dm}^3$ kalibriert wird und bei Zimmertemperatur (20°C) benutzt wird. Zur Messung des spezifischen Gewichts füllen Sie einen Messzylinder mit Urin auf. Tauchen Sie den kalibrierten Aerometer ein, und drehen Sie es um (das Anhaften des Aerometers an die Wand ist zu vermeiden). Lesen Sie dann das Ergebnis von der Skalierung ab. Korrektur: für jede 3°C Abweichung von der Eichungstemperatur soll der aktuelle Wert um $0,001\text{ g/ml}$ korrigiert werden.

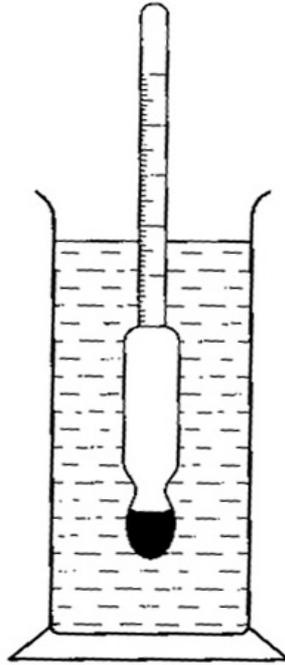
Normbereich: $1,015\text{-}1,025\text{ kg/dm}^3$

Im Extremfall können wir $1,001\text{-}1,030\text{ kg/dm}^3$ messen.

Bei erhöhter Konzentrierung des Harns: $1,040\text{ kg/dm}^3$ (Exsikkose, Wasser- bzw. Blutverlust).

Bei erhöhter Verdünnung des Harns: $1,001$ (ADH-Mangel – Diabetes insipidus).

Das spezifische Gewicht des Urins hängt von der Konzentration der gelösten Substanzen (besonders Protein und Glukose) ab.



Bestimmung der Dichte im Urin

4. Die Menge des Urins

Normbereich: 1000 – 1500 ml/24 h

weniger als 500 ml – Oligurie

weniger als 100 ml – Anurie

mehr als 2000 ml – Polyurie

Normalerweise beträgt die Miktion weniger in der Nacht als tagsüber. Wenn die zwei Mengen gleich sind, oder die Nächtliche mehr ist, spricht man von Nykturie (z. B.: bei Herzinsuffizienz, bei gewissen Nierenerkrankungen).

Oligurie kommt häufig bei fieberhaften Erkrankungen, Exsikkose und Schock vor.

Polyurie kann von primärer Polydipsie, Diabetes mellitus, Diabetes insipidus oder vermindertem Konzentrationsvermögen der Niere verursacht werden.

5. Die mikroskopische Untersuchung des Urinsedimentes

Der erste morgendliche Harn, der konzentrierter als Tagesurin ist, ist der geeignetste für diese Untersuchung. Der Harn darf nicht länger als 1 Stunde vor der Untersuchung stehen.

Wir zentrifugieren die Urinprobe 5 Minuten lang bei 1000-2000 G. Der Überstand wird abgegossen und der Bodensatz wird vermischt. Ein Tropfen Bodensatz wird auf den entfetteten Objektträger angebracht und mit dem Deckglas bedeckt. Dann kann man diesen unter dem Mikroskop mit verengter Blende und gesenktem Kondensator untersuchen.

Das normale Urinsediment enthält 1-1 Plattenepithelzellen, selten Leukozyten.

a, Im sauren Urin gibt es:

- Harnsäure-Kristalle (Rosetten), die einem Schleifstein ähneln und durch mildes Erhitzen aufgelöst werden
- riefumschlagförmige Oxalatkristalle,
- Tyrosinkristalle, die in Nadeln als Nadelbündel kristallisieren
- Urate (amorphe Salze der Harnsäure)

b, Im alkalischen Urin gibt es:

- längliche, gebündelte Calciumphosphat-Kristalle, die durch Essigsäure aufgelöst werden

Im pathologischen Urin können die Folgenden auftreten:

a, Zellen:

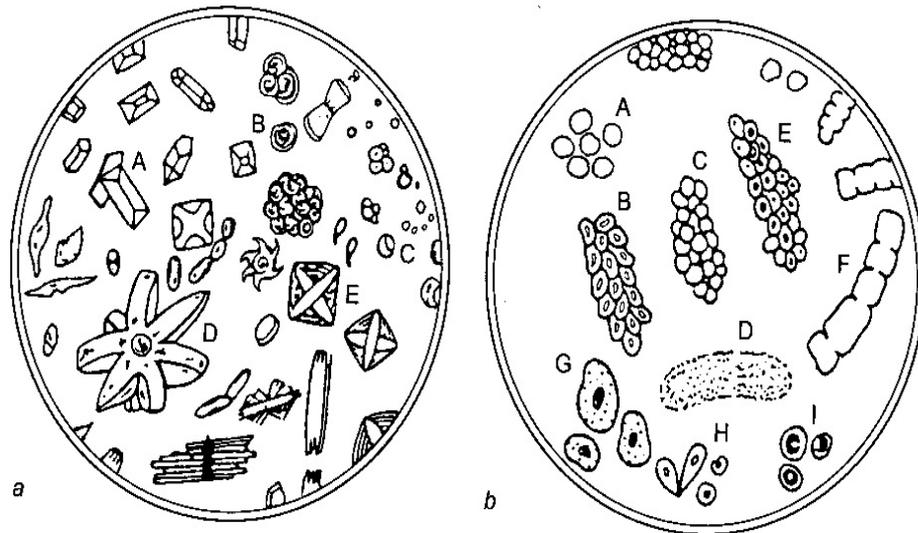
- Epithelzellen: die Größe und die Form hängt davon ab, aus welcher Stelle der Harnwege sie stammen.
- Leukozyten: runde Strukturen mit granulierter Oberfläche und 10-12 Mikrometer Durchmesser, 1-2 Leukozyten pro Blickfeld sind normal, aber im Falle einer Pyurie erhöht sich ihre Zahl.
- Erythrozyten: bei großer Vergrößerung sieht man sie als Strukturen mit scharfem Rand. Wenn man die Mikrometerschraube dreht, scheinen sie als Strukturen mit Doppelkontur. Ihr Durchmesser ist 7 Mikrometer. Im konzentrierten Urin schrumpfen die Erythrozyten und im hypotonen schwellen sie an (ihre Membrane können zerspringen und in diesem Fall erscheint nur ihr Schatten: ausgelaugte

Erythrozyten). 1 Erythrozyt pro 3-5 Blickfelder ist nicht pathologisch.

b, Zylinder: diese Abgüsse werden durch Proteine in den Tubuli und Sammelröhrchen gebildet. Das schwach alkalische, eiweißhaltige Glomerulusfiltrat wird in den distalen Tubuli sauer. Dabei wird das Protein vom *Sol-Zustand* in den *Gel-Zustand* überführt und es entstehen Abgüsse. Zylinder werden nach ihrer Form und den auf ihnen abgelagerten Substanzen und Zellen klassifiziert. Ihre Refraktionsfähigkeit unterscheidet sich kaum von der Refraktionsfähigkeit ihrer Umgebung, deshalb ist ihre Erkennung nicht einfach. (Wir verwenden deshalb eine verengte Blende und einen gesenkten Kondensator. Zuerst sucht man die Zylinder bei kleiner Vergrößerung, dann identifiziert man sie bei großer Vergrößerung).

- Hyaline Zylinder: ihr Durchmesser beträgt 10-15 Mikrometer. Sie sind durchsichtige, walzenförmige Strukturen. In kleiner Zahl treten sie im normalen Urin auf. Aber im allgemeinen sind sie bei routinemäßig ausgeführten Harnsedimentuntersuchungen nicht sichtbar.
- Granulierte Zylinder: nach ihrer Form und Größe sind sie den hyalinen Zylindern ähnlich, aber ihre Oberfläche ist durch abgelagerte amorphe Körnchen granuliert.
- Wachszylinder: zartgelbe Strukturen. Stellenweise sieht man auf ihr Retraktionen.
- Leukozytenzylinder, Erythrozytenzylinder, Epithelzylinder: sie entstehen durch Aggregation oder Überlagerung auf den Zylindern, ebenfalls in den Tubuli.

c, Mikroorganismen: Bakterien, Protozoen



Mikroskopisches Bild des Harnsedimentes

a, Normaler Urin: A. Ammoniummagnesiumphosphat (Tripelphosphat); B. und C. saures Ammoniumurat-Kristall, D. Harnsäure, E. Calciumoxalate

b, Pathologischer Urin: A. Erythrozyt, B. Epithelzylinder, C. Erythrozytenzylinder, D. granulierter Zylinder, E. Leukozytenzylinder, F. Wachsylinder, G. Nierenepithel, H. Epithelzellen aus dem Nierenbecken, I. Leukozyten

6. Nachweis von Urobilinogen (UBG) im Urin nach Ehrlich

Das durch die Galle sezernierte konjugierte Bilirubin wird im Darmlumen reduziert. Die reduzierten Endprodukte – Mesobilirubin, Sterkobilinogen, Urobilinogen- werden teilweise ausgeschieden und teilweise reabsorbiert und von den Leberzellen wieder aufgenommen und sezerniert (enterohepatischer Kreislauf).

Normale tägliche Ausscheidung von UBG ist 0,5-2,5 mg. Bei hämatologischen Krankheiten und hepatozellulären Schäden wird UBG durch den Urin in erhöhtem Maße ausgeschieden. Wenn die Galle nicht in den Darm gelangen kann, wird kein UBG und kein Urobilin produziert. In diesem Fall fehlen sie im Urin vollkommen. Die Spezifität der Reaktion ist nicht so hoch, da beispielsweise im Fall von einigen Medikamenten wie Porphobilinogen sie auch positiv ist.

UBG muss immer im frischen und abgekühlten Urin bestimmt werden, weil es an der Luft im Urin zu Urobilin oxidiert wird (Ehrlich-Reagenz kann dieses Produkt nicht nachweisen) und Wärme diese normale Reaktion steigert.

Zu 3 ml Urin werden einige Tropfen Ehrlich-Reagenz (p-dimethyl-aminobenzaldehyd in 20% HCl) gegeben und wir können eine Farbveränderung nach einigen Sekunden beobachten:

- Normalbefund: horizontal gesehen keine Farbveränderung, senkrecht durchsehen leicht rötliche Färbung (aber wenn man den Urin aufkocht, wird er rot).
- leichte Erhöhung: senkrecht durchgesehen hell rote Farbe.
- starke Erhöhung: senkrecht durchgesehen stark rote Farbe.
- Negativ: senkrecht durchgesehen keine Veränderung, auch nach Aufkochen der Lösung.

7. Nachweis von Ca^{2+} nach Sulkowitsch

Man gibt 5 ml Sulkowitsch-Reagenz (Ammonium Oxalat, Oxalsäure, Essigsäure) zu 5 ml Urin. Kalzium wird unlösliche Ca-Oxalat Kristalle bilden. Essigsäure als saures Medium beschleunigt die Reaktion. Diese semiquantitative Untersuchung ist nur für eine grobe Beurteilung geeignet.

Der Ca^{2+} -Inhalt kann sein:

- normal: leichte Trübung tritt gleich nach dem Mischen auf.
- erhöht: sofort starke Trübung.
- niedrig: leichte Opaleszenz nach einiger Zeit.

8. Nachweis von Glucose nach Nylander und Fehling

Glucose und andere Mono- und Disaccharide (Fructose, Galactose, Lactose) haben die Fähigkeit Metallionen (Cu, Bi, Hg, Fe, Ag) aus Metallhydroxide im alkalischen Medium zu reduzieren. Diese quantitativen Nachweismethoden beruhen auf diesem Prinzip. Die normale tägliche Ausscheidung (130 mg/24 h) liegt unter der Detektionsschwelle dieser Methoden. Pathologisch erhöhte Glucoseausscheidung (Glucosurie) gibt eine positive Reaktion. Die häufigste Ursache einer Glucosurie ist Diabetes Mellitus, aber dieses Phänomen kann auch bei einem gesunden Mensch vorkommen wenn er zu viele Kohlenhydrate verzehrt (alimentäre Glucosurie).

a, Nylander-Probe:

Nylander-Reagenz: 100g NaOH + 20g Bismut-Nitrat + 40g Seignettesalz (K-Na-Tartrat) im 1000 ml destilliertem Wasser.

Man gibt ein-zwei Tropfen Nylander Lösung zu 2 ml Urin in einem Teströhrchen und kocht diesen 3 Minuten lang.

Wenn Glucose vorhanden ist, entsteht schwarzer Niederschlag (Bismut) (möglicherweise kann man die Proteine vorher ausscheiden lassen).

Die Probe ist sehr sensitiv: 0,08% Glucose gibt eine positive Reaktion. Man muss das Ergebnis gleich nach dem Abkühlen ablesen, weil der Urin beim längeren Stehen auch ohne Glucose schwarz wird. Diese Untersuchung hat einen Vorteil gegenüber anderen reduzierenden Proben: sie gibt keine falsch positive Reaktion im Falle erhöhter Harnsäure- und Kreatinin-Konzentrationen im Urin (auch sie können reduzieren).

b, Fehling-Probe:

Reagenz: Fehling-I: 3,5% CuSO₄-Lösung

Fehling-II: 17% Seignettesalz in (5%) NaOH-Lösung aufgelöst

Wir geben 1ml Fehling I Lösung (CuSO₄) zu 1ml Fehling II Lösung (NaOH, K-Na-Tartarat) bis sich eine schöne dunkelblaue Lösung bildet (Cu(OH)₂). Dann kocht man die Lösung vorsichtig auf. Wenn es schon kocht, geben wir einige Tropfen Urin dazu. Wenn Glucose im Urin vorhanden ist, sollte ein rotes Präzipitat (CuO) erscheinen.

9. Nachweis von Protein

Normale Eiweißausscheidung beträgt 2-8 mg/100ml. Die oberste Grenze der täglichen Ausscheidung ist 100-150 mg, durchschnittlich 40-80 mg.

Ausscheidung höher als 150 mg/24h heißt Proteinurie. Der Urin kann Serumalbumin, Globuline, Paraproteine und Abbauprodukte der Proteine enthalten. Das Häufigste ist Albuminurie. Im Allgemeinen haben Substanzen mit niedrigerem Atomgewicht eine größere Clearance, also geraten sie in größeren Mengen in den Urin. Die Feststellung einer Proteinurie beruht auf der Präzipitation von Proteinen mit starken Säuren, Erwärmung usw. Da die Zellen, die im Urin vorhanden sind, auch eine positive Reaktion geben können, ist es empfehlenswert den Urin zuerst zu zentrifugieren.

a) Sulfosalicylsäure-Probe

Sie ist eine sehr sensitive Reaktion. Man gibt ein paar Tropfen 20%-ige Sulfosalicylsäure zu 3 ml Urin. Abhängig von der Menge der anwesenden Proteine können wir eine leichte oder stärkere Opaleszenz (oder Niederschlag) beobachten. Wenn der Urin alkalisch ist, muss man ihn zuerst ansäuern. Bei der Auswertung vergleicht man den Inhalt des Reagenzglases mit einem Anderem ohne Reagenz durch darauf fallendes Licht.

Auswertung:

- negativ: keine Veränderung
- Protein in Spuren: nur vor einem schwarzen Hintergrund sieht man leichte Rauch ähnliche Opaleszenz, Proteininhalt ist 0,1-0,5 g/l
- leicht positiv (+): mäßige Trübung, Proteininhalt: 0,5-1 g/l
- positiv (++) : ausgeprägte Trübung, Proteininhalt: 1-2 g/l
- positiv (+++) : feines (flaumiges) Präzipitat, Proteininhalt: 2-5g/l
- positiv (++++): grobes Präzipitat, Proteininhalt: >5g/l

b) Aufkochen

Die Proteine werden durch Aufkochen in einem leicht saueren Milieu koaguliert und als Niederschlag ausgeschieden.

Zu 5 ml Urin wird ein Tropfen 1%-ige Essigsäure gegeben und dann muss man diese Lösung aufkochen. Wenn die Probe Proteine enthält, beobachtet man einen Niederschlag. Wenn der Niederschlag noch nach der Zugabe von Essigsäure besteht, enthält der Urin Proteine. Wenn dieser durch Essigsäure aufgelöst werden kann, besteht das Präzipitat möglicherweise aus Phosphate oder Carbonate.

Auswertung:

- Opaleszenz (nach einiger Minuten Bodensatzbildung): Proteininhalt < 10 mg/100 ml
- Trübung: Proteininhalt ungefähr 10 mg/100 ml
- Niederschlag: Proteininhalt: >10 mg/100 ml

c) Heller-Probe

Das Prinzip der Reaktion: die starken Säuren denaturieren die Proteine.

Unter den Urin - im Reagenzglas - wird konzentrierte Stickstoffsäure/Salpetersäure geschichtet. Wenn Protein vorhanden ist, erscheint ein weißer Ring an der Grenze zwischen Urin und

Salpetersäure. Die Dicke des Ringes ist proportional zur Menge der Proteine.

10. Nachweis von Blut und seinen Abbauprodukten mit Benzidin-Probe

Im Allgemeinen kommt Hämoglobin in den intakten Erythrozyten im Urin vor. In diesem Fall sprechen wir über Hämaturie. Wenn das Hämoglobin die Erythrozyten schon in den Blutgefäßen verlässt, wird es im Blut aufgelöst: Hämoglobinurie (eine ausgeprägte intravaskuläre Hämolyse erschöpft die Bindungskapazität von Hämoglobin-bindendem Haptoglobin und freies Hämoglobin wird durch die Niere ausgeschieden).

In beiden Fälle sind die Proben positiv, die das Hämoglobin nachweisen. Bei der Hämoglobinurie jedoch verändert sich die Farbe des Urins auch nach dem Zentrifugieren nicht. Im Falle einer Hämaturie setzen sich die Erythrozyten mitsamt ihres Hämoglobins beim Zentrifugieren am Boden ab und der Überstand bleibt klar.

Das Prinzip der Reaktion: durch das Hämoglobin wird O_2 aus H_2O_2 freigesetzt. Der Sauerstoff oxidiert ein Chromogen (Benzidin) im Reagenz zum farbigen Endprodukt.

Man muss das Reagenz frisch bereiten: wir lösen eine Messerspitze Benzidin in 2-3 ml Eisessig auf, bereiten eine 3%-ige H_2O_2 -Lösung zu, und dann mischen wir gleiche Menge aus der beiden Lösungen zusammen.

Anschließend geben wir 3 ml Benzidin-Reagenz zu 3 ml Urin und wenn Hämoglobin vorhanden ist, sehen wir eine blaugüne Farbe.

11. Nachweis von Aceton

Normalerweise kommen die Ketonkörper (Acetessigsäure, β -Hydroxybuttersäure, Aceton) nur in kleinen Mengen im Urin vor.

Bei einem gesunden Menschen können sie in größeren Mengen produziert werden, wenn er keine Kohlenhydrate verzehrt. In diesem Fall bleibt die antiketogene Wirkung der Kohlenhydrate aus und die Fette können nicht vollkommen zu Kohlenstoffdioxid und Wasser abgebaut werden. Die häufigste Ursache der Ketonurie ist Diabetes Mellitus. Ketonurie weist auf eine Störung des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels hin und Ketoazidose auf Diabetes Mellitus hin. Andere Ursachen der Ketonurie sind wiederholtes, starkes Erbrechen oder andauerndes Hungern/Fasten.

1. Rothera-Probe

Für den Nachweis der Ketonkörper ist die Farbreaktion mit Nitroprussid-Natrium im alkalischen Milieu geeignet.

Bereitung des Reagenzes (modifiziertes Rothera-Gemisch): 10 g Natrium-Nitroprussid wird pulverisiert, dann geben wir 200 g Ammoniumsulfat und 200 g wasserloses Natriumkarbonat dazu.

Wir streuen eine Messerspitze Reagenzpulver auf ein Stück Filterpapier und tropfen darauf einen Tropfen Urin. In Anwesenheit von Ketonkörpern wird eine lila Farbreaktion erzeugt.

2. Legal-Probe

Prinzip: Aceton bildet einen roten Komplex mit Nitroprussid-Natrium in einem alkalischen Milieu.

Wir geben einige Tropfen 20%-ige NaOH zu 5 ml Urin in einem Teströhrchen. Dann werden 5-10 Tropfen Nitroprussid-Natrium (Pulver, muss man frisch in Wasser auflösen) hinzugefügt. Im Fall einer positiven Reaktion sehen wir eine rote Verfärbung. Danach gießen wir Eisessig in das Teströhrchen und beobachten wie sich die Farbe verändert. In Anwesenheit von Aceton wird die Lösung kardinalsrot. Kreatinin kann auch eine positive Reaktion auslösen, aber in diesem Fall wird die Lösung nach Zugabe von Eisessig heller (hellblau).

12. Nachweis des Gallenfarbstoffes

Gesunder Urin enthält kein Bilirubin. Die Nierenschwelle liegt bei ungefähr 30 $\mu\text{mol/l}$. Wenn die Konzentration im Serum diesen Wert überschreitet, sprechen wir von Bilirubinurie. In diesem Fall reicht die Farbe des Urins von safrangelb bis dunkelbraun (beim Rütteln ist auch der Schaum gelb).

Der Nachweis basiert darauf, dass starke Oxidationsmittel Bilirubin in farbige Endprodukte umwandeln.

1. Gmelin-Probe

Im ersten Schritt muss man die Proteine präzipitieren lassen. Dann bilden wir eine Schicht Stickstoffsäure unter dem Urin mit Hilfe einer Pasteurpipette, wie es beim Heller-Test beschrieben wurde. Wenn Bilirubin vorhanden ist, entstehen farbige Ringe an der Grenze der Flüssigkeitsschichten und die Lösung wird gelb.

Biliverdin (grün) --- Bilicyanin (blau) ---- Biliprasin (veilchenfarbig) -
--- Choletelin (gelb)

2. Rosenbach-Probe

Man muss den Urin durch ein Filterpapier filtrieren und cc. HNO_3 darauf tröpfeln. Das Filterpapier absorbiert das Bilirubin und um das darauf geträufelte HNO_3 können wir farbige Ringe beobachten, die den oben genannten oxydierten Abbauprodukten des Bilirubins entsprechen.

3. Rosin-Probe

Wir schichten 1%-ige alkoholische Iodidlösung auf 3 ml Urin. In Anwesenheit von Bilirubin erscheinen grüne Ringe an der Grenze der Flüssigkeiten. (Mit während des Praktikums benutzter Rindergalle erhalten wir rotbraune Farbe.)

13. Donné-Eiterprobe

Der Eiter im Urin (untergegangene Leukozyten, Erreger, Gewebebröckel) kann aus der Niere, Harnblase oder Harnröhre stammen. Bei Frauen kann auch der vaginale Ausfluss irreführend sein.

Wir geben 2 ml 20%-ige Kaliumhydroxid-Lösung zu 5 ml Urin und schütteln das Reagenzglas einmal kräftig. Wenn Eiter im Urin vorhanden ist, schweben die hineingeratene Luftblasen in der Flüssigkeit, oder sie steigen nur sehr langsam auf. Dem zugrunde liegend ist, dass die Viskosität des Urins durch Lauge erhöht wird (durch aus den Leukozyten stammendes Muzin). Dies hemmt das Aufsteigen der durch die Schüttelung hineingeratene Luftblasen. Die Probe ist auch bei massiver Proteinurie positiv, deshalb ist eine anschließende Untersuchung des Sedimentes sehr wichtig.

14. Schnellteste (Testpapiere)

Die Anwendung von verschiedenen Reagenzstreifen und Tabletten ermöglicht eine schnelle Orientierung und halbquantitative Bestimmung des Urins im Hinblick auf die in Frage stehenden Stoffe. Es ist sehr wichtig, die Anweisungen und die vorgegebenen Reaktionszeiten genau einzuhalten. Man muss frischen, gut gerührten und nicht zentrifugierten Urin benutzen. Die Urintemperatur muss bei Zimmertemperatur liegen. Der mit Puffer und speziellen Indikatoren imprägnierte Reagenzstreifen wird nur für kurze Zeit in den Urin getunkt. Wir können die anfallende Farbveränderung nach einer

bestimmten Zeit (30-60 Sekunden) mit Hilfe der beiliegenden Farbskala auswerten. Es ist verboten, den mit dem Reagenz bedeckten Teil mit der Hand anzufassen.

a, Nachweis von Proteinen

Wir benutzen ihn zur halbquantitativen Bestimmung. Die Farbe des Bromphenolblau-Indikators (der pH-Wert ist mit einem Puffer auf 3 eingestellt) ist gelb, aber Protein färbt ihn grünblau (in Abhängigkeit von der Art und der Konzentration des Proteins). Der Nachweis basiert auf dem „Proteinfehler“ bestimmter Indikatoren: das Protein verändert die Farbe des Indikators, mit einer der Konzentration annähernd proportionalen Intensität. Der Indikator ist meistens empfindlich gegenüber Albumin. Die Faktoren, die das häufig falsch positive Ergebnis auslösen können: die gesteigerte alkalische Pufferkapazität des Urins. Hierbei kann der Teststreifen seinen sauren pH-Wert nicht mehr halten, und das Bromphenolblau wird durch die Lauge auch in Abwesenheit von Protein verfärbt. In diesem Fall geben wir 3%-ige Essigsäure zum Urin, dann wiederholen wir die Probe.

b, Nachweis von Glukose

Diese Methode eignet sich für qualitative und halbquantitative Bestimmungen. Der Papierstreifen ist mit gepufferter Glucose-Oxidase, Peroxidase, und einem chromogenen Indikator imprägniert. Glukose-Oxidase katalysiert die Oxidation von Glukose mit Sauerstoff in der Luft. Dabei entstehen Gluconolacton und Wasserstoffperoxid. Die anwesende Peroxidase hydrolysiert Wasserstoffperoxid und der entstehende atomare Sauerstoff oxydiert den Indikator zur farbigen Verbindung. Die Intensität der entstehenden lila Farbe ist annähernd proportional zur Glukosekonzentration.

c, Nachweis von Azeton

Der Test dient zum Ketonkörpernachweis und beruht auf ihrer Nitroprussid-Reaktion (der Teststreifen ist mit Natrium-Nitroprussid durchtränkt). Im Fall einer positiven Reaktion sieht man eine lila Tinktion, deren Intensität mit der Ketonkörperkonzentration annähernd proportional ist. Das Reagenz reagiert empfindlicher auf Azetessigsäure, als auf Azeton.

d, Nachweis von Urobilinogen

Der Test basiert auf der Ehrlich'schen Aldehydreaktion. UBG färbt den Teststreifen in Abhängigkeit der Konzentration gelbbraun oder braun.

e, Nachweis von Blut

Diese Methode eignet sich für die Bestimmung des Blutes oder des Hämoglobins. Das Prinzip ähnelt der Benzidin-Probe, aber die chromogene Substanz ist hier o-Toluidin. Im Fall einer positiven Reaktion färbt sich der Teststreifen blau. Gegen Hämoglobin und Myoglobin ist der Test empfindlicher als gegen Erythrozyten.

15. Untersuchung der Wirkung von ADH in der Ratte

Wir geben vier Ratten 15 ml/kg Wasser peroral (durch eine Magensonde mit Hilfe einer Spritze). Dann teilen wir sie in zwei Gruppen auf, also repräsentieren 2 Ratten eine Tiergruppe. Eine Gruppe bekommt 0,2 ml antidiuretisches Hormon (in Form von synthetischem ADH) intraperitoneal gespritzt. Hernach sammeln wir separat den Urin der vier Tiere über zwei Stunden hinweg und vergleichen die ausgeschiedene Urinmenge zwischen den beiden Gruppen. Die mit ADH behandelten Ratten scheiden weniger Urin als die Kontrolltiere aus.

16. Verdünnungsversuch und Konzentrierungsversuch beim Menschen (theoretisch)

a, Konzentrierungsfähigkeit

Wir testen diese Fähigkeit der Niere auf folgendem Wege: der Proband muss trockenes, salzreiches Abendessen konsumieren und darf danach nicht trinken, wir lassen ihn also dürsten. Am nächsten Morgen sammeln wir den Urin des Probanden alle zwei Stunden bis zur Mittagszeit (bis der Durst unerträglich ist) und messen Menge und Dichte der Urinproben. Wenn die Dichte einer Urinprobe $1,025 \text{ kg/dm}^3$ innerhalb von vier Stunden erreicht, kann man das Verfahren beenden, weil dieses Ergebnis auf eine gute Tubulusfunktion hinweist.

Wenn die aktive Zellarbeit im distalen Tubulus geschädigt ist, aber die Konzentration des Urins noch etwas verändern kann, sprechen wir von Hypostenurie. Im Falle eines vollständigen Funktionsausfalles (Nierenversagen) ist das spezifische Gewicht des Urins identisch mit dem spezifischen Gewicht des eiweißfreien Plasmas ($1,010 \text{ kg/dm}^3$): Asthenurie (Isostenurie).

Wir erhalten kein genaues Ergebnis wenn der Patient ödematös ist, heimlich Wasser trinkt oder kurz vor der Untersuchung viel Wasser getrunken hat.

b, Verdünnungsfähigkeit

Wir lassen den Patienten morgens, nach der ersten Miktion, auf nüchternen Magen 1,5 L Wasser trinken (innerhalb 15 Minuten). In den nächsten vier Stunden sammeln wir den Urin alle 30 Minuten, und messen Menge und Dichte der einzelnen Urinproben.

Wenn die Verdünnungsfähigkeit adäquat ist, werden die getrunkenen 1,5 L Wasser innerhalb von vier Stunden ausgeschieden sein, und die Dichte einer Urinprobe beträgt mindestens ca. $1,003 \text{ kg/dm}^3$.

Der Versuch ist nicht auswertbar im Falle eines ödematösen Patienten oder wenn wir die Untersuchung direkt nach langer Flüssigkeitskarenz durchführen. Der Verdünnungsversuch wird heute in der Nierendiagnostik nicht mehr angewendet. Im Falle einer Nieren- oder Tubulusschädigung ist die Konzentrationsfähigkeit früher als die Verdünnungsfähigkeit beeinträchtigt. Der Konzentrationsversuch zeigt eine Funktionsstörung also empfindlicher auf, als der Verdünnungsversuch.

17. Zählung der Blutzellen im Urin nach Addis

Diese quantitative Bestimmung der Leukozyten und Erythrozyten im Urin erfolgt durch zählen in einer Zählkammer, aus innerhalb einer bestimmten Zeit gesammeltem Urin welcher zehnfach angereichert wurde. Wenn wir das Urinvolumen und die Sammelzeit kennen, können wir die Menge der im Urin pro Minute ausgeschiedenen Leukozyten und Erythrozyten kalkulieren (Normalerweise: 2000 Erythrozyten/Minute, 4000 Leukozyten/Minute).

Diese Methode wurde nie eine Routineuntersuchung. Der immense Aufwand, die quantitative Urinsammlung während einer bestimmten Zeit, die eingeschränkte Haltbarkeit der Zellen, und keine diagnostische Überlegenheit gegenüber einer mikroskopischen Untersuchung von Spontanurin sprechen gegen eine breite Anwendung.

18. Die Bestimmung der Clearance

Die Clearance ist ein Wert, der für die Ausscheidung verschiedener Stoffe durch die Niere charakteristisch ist: virtuelle Plasmamenge, die von einem bestimmten Stoff pro Minute in der Niere vollkommen geklärt wird. Die Clearance eines bestimmten Stoffes wird aus seiner

Plasmakonzentration, der Urinkonzentration und des Urinzeitvolumens mittels folgender Gleichung kalkuliert:

$$C = (U \times V) / P, \text{ die Maßeinheit: ml/min}$$

Alle endogenen und exogenen Stoffe verfügen über ihren eigenen Clearance Wert. Diesbezüglich gruppieren wir die Plasmakomponenten auf folgende Weise:

- Es gibt Stoffe, die normalerweise nicht mit dem Urin ausgeschieden werden. Sie werden nicht filtriert (Plasmaproteine) oder die filtrierte Menge wird aktiv rückresorbiert (Glukose). In diesem Fall ist der Clearance-Wert Null.
- Die Clearance ist gleich der GFR bei den Stoffen die frei filtriert und in den Tubuli nicht verändert werden: es gibt keine Sekretion und keine Rückresorption. Kreatinin, eine physiologische Komponente des Plasmas entspricht diesen Kriterien. Inulin, eine exogene Substanz ist auch ein Beispiel.
- Die Clearance gleicht dem renalen Plasmafluss (RPF) bei den Stoffen, die frei filtriert und zusätzlich durch aktiven Transport in das Tubuluslumen sezerniert werden. In diesem Falle wird die in die Niere geratene Menge vollkommen ausgeschieden: Para-Aminohippursäure (PAH).
- Zwischen zwei theoretisch möglichen Extremwerte befindet sich die Clearance der Substanzen, die frei filtriert aber danach in den Tubuli rückresorbiert und sezerniert werden (z. B. das Kalium-Ion).

Es gibt also Stoffe, deren Clearance Auskunft über die Nierenfunktion gibt. Deshalb untersuchen wir sie routinemäßig in der klinischen Praxis zum Zwecke der Diagnostik.

Clearance-Techniken:

Zum untersuchen wäre eine Substanz optimal, die eine relativ stabile Plasmakonzentration hat, in der Niere frei filtriert wird und nicht toxisch ist.

Es ist vorteilhaft die Clearance eines endogenen Stoffes zu untersuchen weil ihre Plasmakonzentration stabil ist. Die Plasmakonzentration exogener Stoffe muss man mit einer Dauerinfusion auf konstantem Niveau halten. Das akkurate Urinsammeln ist sehr wichtig. Vor der Untersuchung muss die Blase

vollkommen entleert werden. Bei der Clearance-Untersuchung von exogenen Stoffen kann es nötig sein die Urinproben häufig zu entnehmen. Dies gelingt am besten mittels Blasenkatheter. Der Nachteil dieser Methode ist die Möglichkeit einer Harnwegsinfektion, deshalb muss die Katheterisierung unter strikten sterilen Bedingungen erfolgen. Zur Clearance-Bestimmung endogener Stoffe ist es genug den Urin über 24 Stunden zu sammeln, so kann man die Komplikationen einer Katheterisierung vermeiden.

In der klinischen Praxis ist die Kreatinin-Clearance am verbreitetsten und dient der genauen GFR-Bestimmung.

Ausführung:

- 24-Stunden-Urinsammlung
- danach Blutentnahme
- die Bestimmung der Kreatinin-Konzentrationen im Urin und Serum
- Die Minutendiurese wird ausgerechnet (die Menge des 24 Stunden- Sammelurins/1440)
- Die Clearance wird durch die Gleichung $U \times V / P$ ausgerechnet.

Normalwert bei Männern ist 120 ± 25 ; bei Frauen 110 ± 25 ml/min.

In der klinischen Praxis werden die freie Wasserclearance und die osmotische Clearance oft ausgerechnet.

Der Begriff der osmotischen Clearance ist gleich dem Begriff der bekannten Clearance:

$$C_{\text{osm}} = U_{\text{osm}} \times V / P_{\text{osm}}$$

Sie gibt die Plasmamenge an, die pro Minute von den osmotisch aktiven Partikeln befreit wird.

Nach ihrer Definition ist die freie Wasserclearance die Differenz von der Minutendiurese und der osmotischen Clearance.

$$C_{\text{H}_2\text{O}} = V - C_{\text{osm}} = V - U_{\text{osm}} \times V / P_{\text{osm}} = V \times (1 - U_{\text{osm}} / P_{\text{osm}})$$

