RIMeL / IJLaM 2009; 5

Articolo Originale

Siero ed urine: osmolalità calcolata o osmolalità misurata?

V. Bianchi, P. Bidone, C. Arfini

SOC Laboratorio Analisi, Dipartimento di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera "SS Antonio e Biagio e C. Arrigo", Alessandria

Riassunto

Premesse. **Numerose sono le condizioni cliniche in cui è necessario conoscere l'osmolalità del siero o delle urine. Di solito si usano formule matematiche derivate dalla misurazione di sodio, glucosio ed urea, facilmente determinabili su apparecchiature automatizzate. Il metodo di riferimento per la misura dell'osmolalità è quello che prevede la misura dell'abbassamento del punto di congelamento di una soluzione rispetto all'acqua, che può essere effettuato con un osmometro.**
Scopo di questo lavoro è valutare se l'osmolalità calcolata possa vicariare la misura diretta sia nel siero che nelle urine.
Metodi. **Sono state scelte 7 delle principali formule della letteratura e sono state utilizzate per il calcolo della osmolalità rispetto all'osmolalità misurata direttamente su 116 sieri e 94 urine. I risultati sono stati confrontati con metodi statistici e ne è stata valutata la correlazione.**
Risultati. **Ad esclusione di alcune formule, l'osmolalità calcolata risulta sempre inferiore a quella misurata sia per siero che per urina. Questo si spiega con il fatto che molti analiti contribuiscono all'osmolalità dei liquidi biologici. Le correlazioni tra osmolalità calcolata e misurata sono scarse per il siero, mentre sono buone per le urine, qualsiasi formula si utilizzi.**
Conclusioni. **Pur disponendo di numerose formule matematiche nella letteratura scientifica, per valutare in modo corretto il paziente è sempre raccomandabile la misura diretta dell'osmolalità.**

Summary

Osmolality in serum and urine samples: calculated or measured?
Background. In several clinical circumstances measuring osmolality both in serum and in urine samples is very important to make a right diagnosis. Usually in most laboratories mathematical formulas dealing with the concentration of sodium, glucose and urea are used, as their dosage is more easily determined on automated instruments.
The reference method to detect osmolality is to measure the frozen point of the solution in comparison with water and the osmometer is the necessary instrument.
The aim of this study is to evaluate if the calculated osmolality can substitute the direct measurement both in serum and in urine samples.
Methods. Seven formulas among the principal ones in scientific literature have been chosen and used to calculate osmolality compared to the directly measured osmolality on 116 serum and 94 urine samples. The results have been compared through statistical methods, correlation coefficients and accordance have been evaluated.
Results. With the exception of some formulas, both in serum and in urine samples the calculated osmolality is always lower than the measured osmolality. This can be explained by the presence in biological samples, in particular, in serum, of many analytes that contribute to the osmolality. Correlations between calculated vs measured osmolality are low in serum samples, whereas they are good in urine, independently from the mathematical formula used.
Conclusions. Even if there are mathematical formulas in scientific literature, in order to correctly evaluate inpatients, the osmolality direct measurement should always be recommended.
Key-words: osmolality, osmometer, cryoscopic measurement.

Ricevuto: 14-12-2008 Accettato: 22-05-2009 Pubblicato on-line: 03-07-2009

Corrispondenza a: Dott.ssa Vincenza Bianchi, SOC Laboratorio Analisi, Dipartimento di Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera "SS Antonio e Biagio e C Arrigo", Via Venezia n.16, 15100 Alessandria.
Tel. 0131-206214, fax 0131-206075, e-mail: vbianchi@ospedale.al.it

Introduzione

Il calcolo dell'osmolalità attraverso la concentrazione di sodio, glucosio ed urea è una pratica consolidata[1,2]. L'interesse per questo calcolo è dovuta in parte alla necessità di individuare gli analiti che contribuiscono in modo considerevole alla osmolalità e in parte al fatto che i risultati provenienti da diversi calcoli possano dare informazioni cliniche più accurate[3].

In termini chimico fisici stretti l'osmolalità è espressa in termini di attività totale del soluto mentre tutti i metodi comunemente usati misurano alcune proprietà legate all'attività del solvente. Questa, insieme all'attività del soluto, può essere calcolata usando la equazione di Gibbs-Duhen[4] sebbene il calcolo sia complesso quando sono interessati soluti non ideali. I contributi dei vari soluti all'osmolalità sono additivi a dipendono dall'attività molale di ciascun di essi. Soluti non ionici come glucosio ed urea hanno coefficienti di attività vicini ad 1, per cui il loro contributo all'osmolalità è uguale alle loro concentrazioni espressa in concentrazione millimolare. Nel caso di soluti ionici il calcolo è più complicato perché il valore dell'attività degli ioni è minore del valore della loro concentrazione anche perché anioni e cationi contribuiscono separatamente.

I contributi ionici non sono uguali all'attività ionica a causa delle complesse interazioni tra l'attività del soluto e quella del solvente. L'osmolalità derivata dalla concentrazione degli elettroliti può essere approssimata alla concentrazione del sodio poiché anioni e cationi sono in concentrazioni identiche ed il sodio rappresenta il catione più significativo. E' per questo che nelle formule il sodio viene moltiplicato per 2, anche se questo valore dovrebbe essere di poco inferiore. Le formule proposte in letteratura contengono quasi sempre una costante. In essa è compreso il contributo di fosfati, solfati, calcio, magnesio, creatinina, acido urico, lipidi e proteine.

I soli costituenti che possono influenzare l'osmolalità sono molecole normalmente estranee all'organismo come etanolo e glicole etilenico. Il calcolo del gap osmotico (osmolalità misurata meno osmolalità calcolata) è stato utilizzato nel passato ed è ancora utilizzato come test di screening per la valutazione dei tossici volatili[5-12]. Tuttavia questo utilizzo, come è stato evidenziato da Koga e coll è affetto da due tipologie di errore: il primo dovuto al fatto che si assume che il siero si comporti come una soluzione ideale e secondo che il calcolo viene effettuato come sottrazione di due grandezze espresse con unità di misura differenti[13].

L'osmolalità è regolata principalmente dal rene, questo organo infatti controlla la quantità di acqua e dei soluti eliminata. Se l'osmolarità plasmatica si alza, perché aumentano i livelli di sodio nel sangue, tale soluto dovrà essere maggiormente diluito; in caso contrario si assisterebbe ad un movimento d'acqua dal compartimento intra a quello extracellulare, con conseguente disidratazione della cellula.

A tale scopo, gli osmocettori ipotalamici - stimolati dalla ipersodiemia - attivano lo stimolo della sete e la conseguente introduzione di acqua riporta l'osmolarità plasmatica in equilibrio. Contemporaneamente, viene rilasciato l'ormone antidiuretico, che agisce a livello renale aumentando il riassorbimento di acqua e diminuendo, di riflesso, la sua eliminazione nelle urine. Queste, dal canto loro, aumentano la loro osmolarità (perché più concentrate). Il rene ha la capacità di innalzare l'Osmolarità fino a 1200 mOsM/L, o a diminuirlo fino a 50 mOsM/L, a seconda delle differenti necessità organiche[14].

L'osmolalità viene espressa in milliosmoli, dove l'osmole è una unità di misura che non appartiene al Sistema internazionale (SI) e che definisce il numero di moli di un composto chimico che contribuisce alla pressione osmotica della soluzione.

L'osmolalità può essere misurata direttamente attraverso l'abbassamento del punto di congelamento del campione acquoso rispetto all'acqua, infatti la diminuzione crioscopica è direttamente legata all'osmolalità essendo una proprietà colligativa delle soluzioni.

Scopo di questo lavoro è valutare se alcune formule tra le molte proposte in letteratura[3,15-20] per il calcolo dell'osmolalità, possano in qualche modo sostituirne la misura diretta nel siero e nelle urine.

Materiali e metodi

Per lo studio dell'osmolalità sono stati utilizzati 116 sieri e 94 urine di pazienti ricoverati, provenienti dalla routine quotidiana del laboratorio. Il criterio di inclusione nella sperimentazione è stato quello di selezionare pazienti che in base all'anamnesi al momento del ricovero non presentassero sospetti di uso pesante/abuso di alcol. I sieri erano ottenuti da sistemi sotto vuoto (Vacutainer, Becton-Dickinson, Buccinasco, Italia) con acceleratori di coagulazione, dopo centrifugazione a temperatura ambiente, mentre le urine, le prime del mattino, venivano raccolte in provette di polipropilene.

Per la determinazione dell'osmolalità calcolata sono utilizzati le formule riportate in Tabella I. Per l'utilizzo di queste formule è necessaria la concentrazione di sodio, glucosio ed urea.

La misura del sodio, glucosio ed urea è stata effettuata con il sistema ADVIA 2400 (Siemens Healthcare Diagnostics, Milano, Italia) e i relativi kit. Il sodio viene misurato con modulo ISE, mentre glucosio e urea con cinetiche enzimatiche. Poiché le formule necessitano di concentrazioni espresse in mmol/L e la strumentazione usata esprime il Na in mEq/L, il glucoso e l'urea in mg/dL rispettivamente, è necessario dividere il risultato del glucosio per 18 e quello dell'urea per 6, mentre per il sodio i due risultati numerici sono identici.

Per la misura diretta dell'osmolalità si è utilizzato un osmometro mod 3320 (Osmometer 3320 Advanced Instruments Inc., Norwood, USA, commercializzato da A. De Mori, Milano) il cui principio chimico fisico

Tabella I. Le sette formule matematiche utilizzate nel presente lavoro.

	Formula	Riferimento
F1	2 Na (mmoli/L) + glucoso (mmoli/L)+ urea (mmoli/L)	6
F2	1,86 Na (mmoli/L) + glucoso (mmoli/L)+ urea (mmoli/L) + 9	3
F3	1.09 [1.86 Na (mmoli/L) + glucoso (mmoli/L)+ urea (mmoli/L)]	www.sibioc.it/doc/soluzionequinto.pdf
F4	1,86 Na (mmoli/L) + glucoso (mmoli/L)+ urea (mmoli/L)	7
F5	1,86 Na (mmoli/L) + glucoso (mmoli/L)+ urea (mmoli/L) + 5	8,9
F6	2 Na (mmoli/L) + glucoso (mg/dL)/20+ urea (mg/dl)/6.4	10
F7	1,75 Na (mmoli/L) + glucoso (mmoli/L)+ urea (mmoli/L) + 10.1	11

si basa sull'abbassamento crioscopico del punto di congelamento di una soluzione acquosa rispetto all'acqua pura. L'elaborazione statistica è stata effettuata con il test dei minimi quadrati e il coefficiente di correlazione calcolato secondo il test di Pearson. La concordanza tra valori misurati e calcolati secondo le varie formule è stata valutata utilizzando l'analisi di Bland-Altman e riportando i valori di bias (differenza misurata-calcolata) con relativo intervallo di concordanza comprendente il 95% delle differenze (bias ± 2 deviazioni standard). Tutte le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) e GraphPad Prism 4.0 (GraphPad Software, San Diego, USA).

Risultati

I pazienti analizzati presentavano valori di osmolalità misurata plasmatica e urinaria media rispettivamente di 299 mOsm/kg (DS 10,4) e 485 mOsm/kg (DS 210,0).

Nel caso delle urine i risultati ottenuti sono i seguenti, con X e Y indicanti rispettivamente l'osmolalità misurata e quella calcolata: con la formula

F1 $Y = 0{,}7092X+48{,}704$, $R^2=0{,}9226$;
con F2 $Y = 0{,}6998X+49{,}732$, $R^2=0{,}9277$;
con F3 $Y = 0{,}7628X+44{,}397$, $R^2=0{,}9277$;
con F4 $Y = 0{,}7092X+48{,}704$, $R^2=0{,}9266$;
con F5 $Y = 0{,}6698X+45{,}732$, $R^2=0{,}9277$;
con F6 $Y = 0{,}6729X+520{,}847$, $R^2=0{,}9167$;
con F7 $Y = 0{,}6224X+44{,}567$, $R^2=0{,}9308$ (Fig. 1).

Inoltre, secondo l'analisi di Bland-Altman il bias (±2DS) tra osmolalità misurata e calcolata secondo le varie formule utilizzate sono rispettivamente:

F1 92 (±144), F2 96 (± 146), F3 71 (± 130),
F4 105 (±146), F5 100 (± 146), F6 106 (± 148),
F7 105 (± 148).

Nel caso del siero si sono ottenuti i seguenti risultati: con la formula

F1 $Y = 0{,}7086\ X+88{,}002$, $R^2=0{,}6917$;
con F2 $Y = 0{,}6966\ X+80{,}691$, $R^2=0{,}7058$;
con F3 $Y = 0{,}7593\ X+78{,}143$, $R^2=0{,}7058$;
con F4 $Y = 0{,}6966\ X+71{,}691$, $R^2=0{,}7058$;
con F5 $Y = 0{,}6966\ X+71{,}691$, $R^2=0{,}7058$;
con F6 $Y = 0{,}6739\ X+97{,}144$, $R^2=0{,}6766$;
con F7 $Y = 0{,}6873\ X+68{,}975$, $R^2=0{,}7157$ (Fig. 2).

Il calcolo delle differenze tra osmolalità sierica misurata e calcolata ha evidenziato un bias (±2DS), rispettivamente di:

F1 -1,0 (± 11,4), F2 9,9 (± 11,1); F3 -6,4 (± 11,2);
F4 18,9 (± 11,1); F5 13,9 (± 11,1); F6 0,3 (± 11,6);
F7 24,4 (± 10,9).

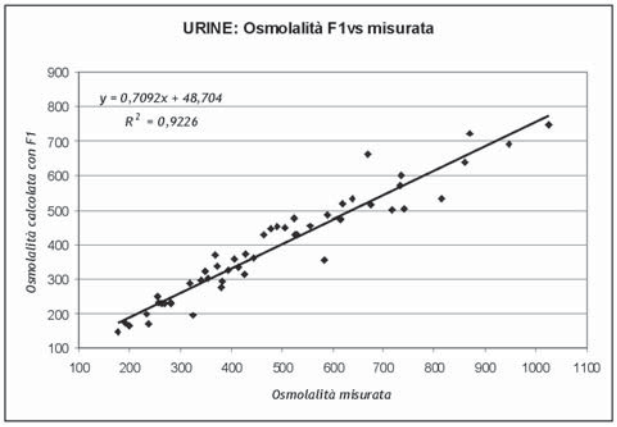
Discussione

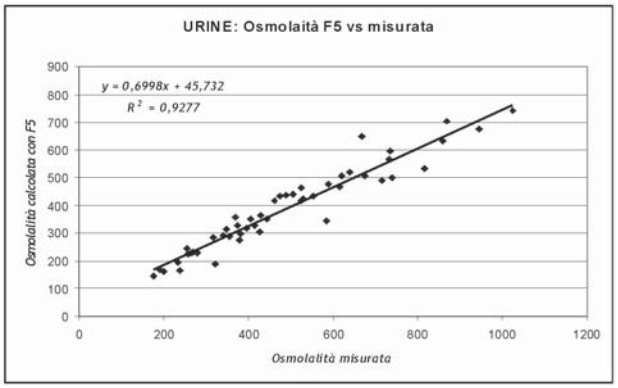
La sperimentazione effettuata evidenzia che la correlazione tra osmolalità calcolata e buona anche se non ottimale. Per quel che riguarda le urine la F3 sembra presentare un'accuratezza ed una concordanza maggiori rispetto alle altre formule analizzate, tuttavia l'ampio range di normalità, unitamente all'ampio intervallo di concordanza, non rendono i valori calcolati completamente sovrapponibili a quelli derivati dall'osmolalità misurata. D'altra parte, non ci sono ancora dati definitivi sulla validità in clinica dell'utilizzo del gap osmolare urinario. In particolare, sebbene alcuni studi abbiano evidenziato una discreta correlazione tra gap osmolare e concentrazione urinaria misurata di ammonio, i due metodi (calcolata con gap osmotico vs misurata) presentano una scarsa concordanza in termini di valori assoluti[21].

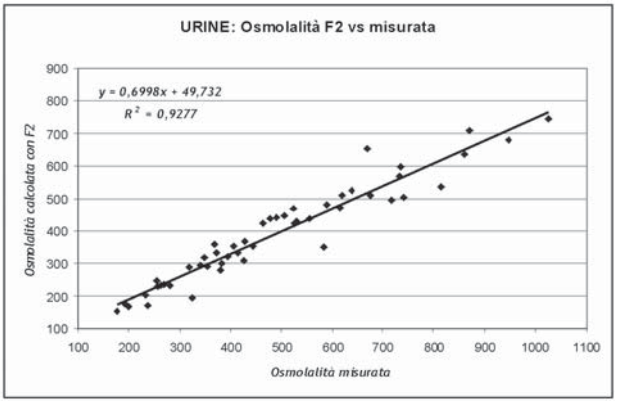
Relativamente al siero, è interessante notare che, sebbene le differenti equazioni forniscano valori di gap osmotico (osmolalità misurata meno osmolarità calcolata) talvolta molto differenti, le deviazioni standard (variabili da 5,6 a 5,9) ed i coefficienti di correlazione erano alquanto simili. Questa osservazione, in accordo con quanto già riportato in letteratura, evidenzia ulteriormente la necessità di seguire un corretto approccio statistico, non limitato alla sola analisi di correlazione/regressione, quando si debbano confrontare metodi analitici differenti. Inoltre, l'ampia variabilità dei gap osmotici riscontrati suggerisce l'utilizzo di valori di riferimento strettamente dipendenti dalla formula adottata.

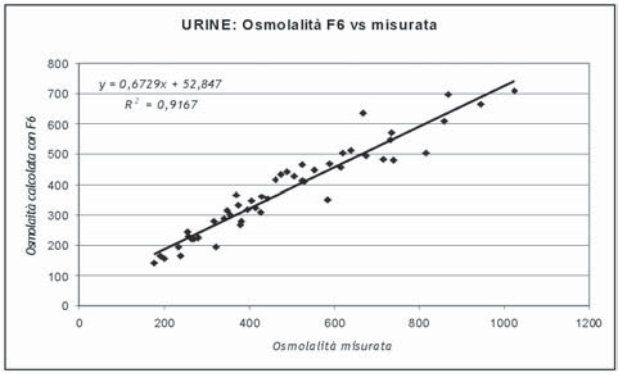
Tuttavia, sembra ragionevole sottolineare che alcune formule, in particolare F4, F5 e F7, con valori di bias e limiti di concordanza molto ampi, non presentano, almeno nel campione di pazienti analizzati, caratteristiche tali da giustificare un loro eventuale impiego in alternativa alle altre formule, né all'osmolalità misurata.

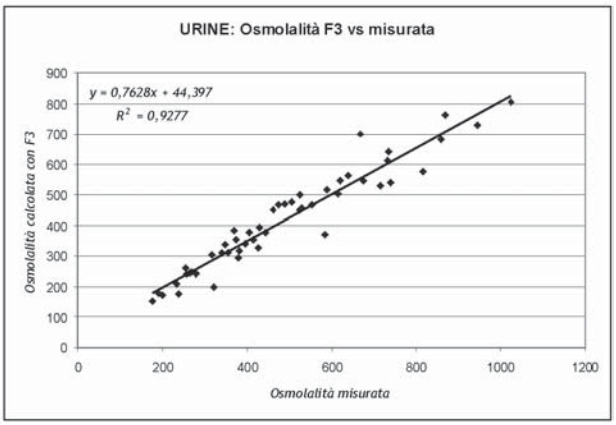
Figura 1. Grafici di correlazione tra osmolalità misurata e calcolata con le diverse formule nelle urine.

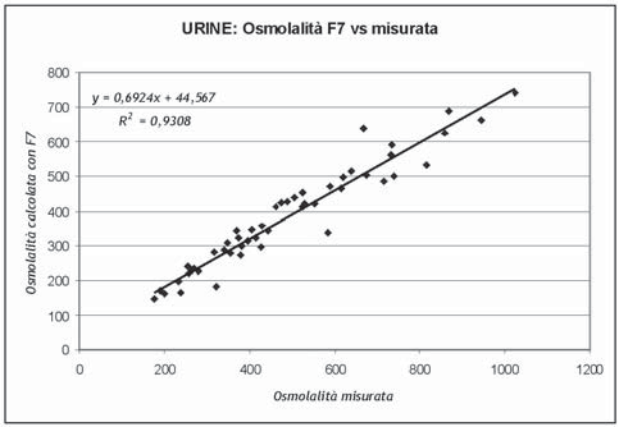


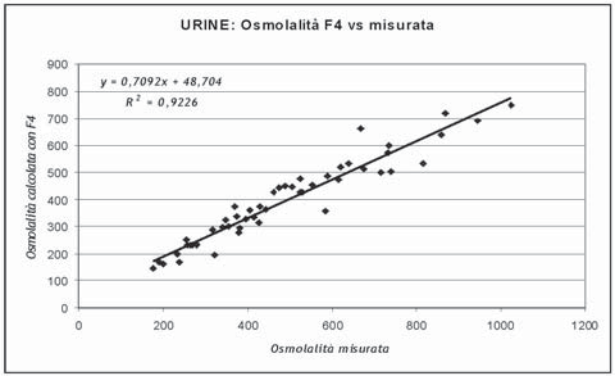








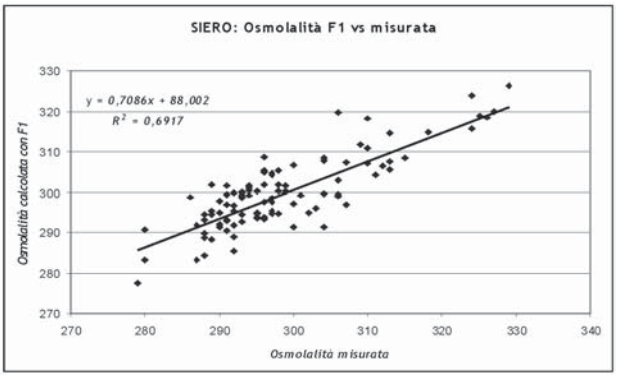


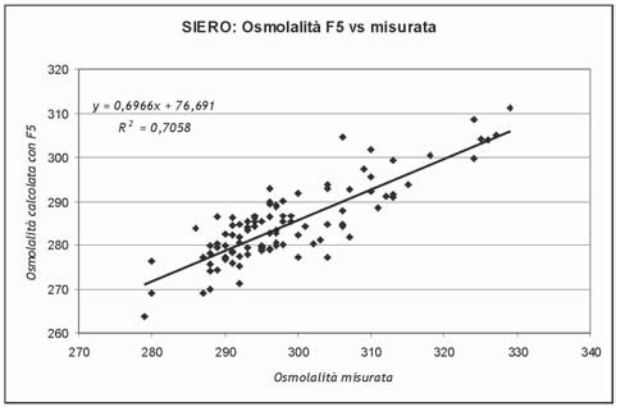


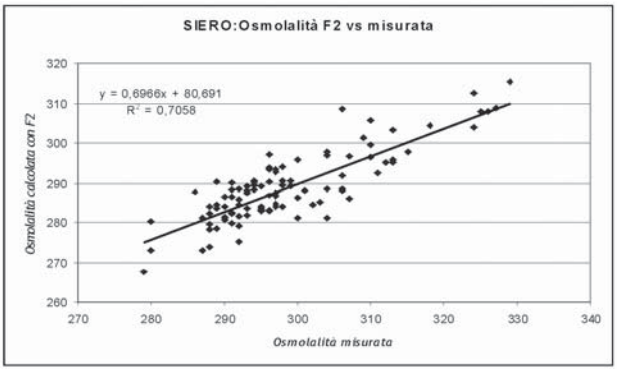
La Formula F2, descritta nel fondamentale lavoro di Dorwart e Chalmers[3] come la più accurata tra le diverse formule esaminate, non presenta al contrario in questo studio performance rilevanti in termini di concordanza con i valori di osmolalità misurata. I coefficienti della formula di Dorwart e Chalmers sono stati calcolati direttamente dagli stessi autori tramite un'analisi di regressione lineare e sono quindi in una certa misura dipendenti dal campione utilizzato. La discrepanza osservata può quindi dipendere dall'eterogeneità del campione analizzato, a maggior ragione se si pensa che in entrambi gli studi sono stati inclusi pazienti non selezionati.

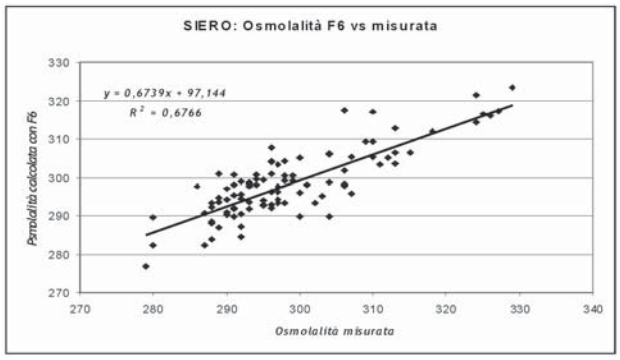
Le formule F1, F3, F6 sembrano presentare una

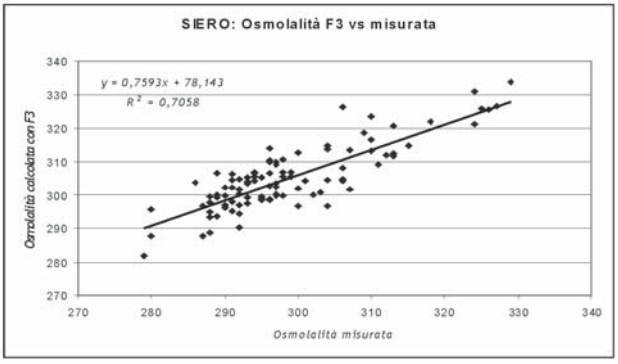
Figura 2. Grafici di correlazione tra osmolalità misurata e calcolata con le diverse formule nel siero.

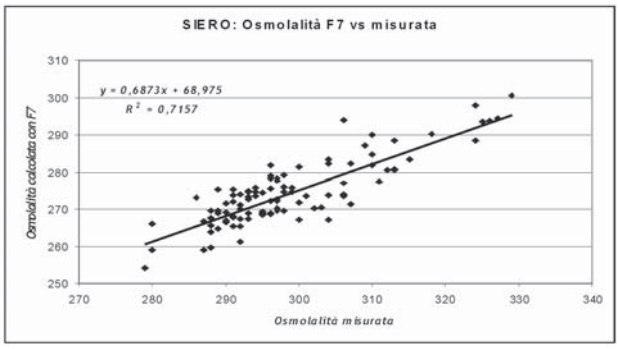


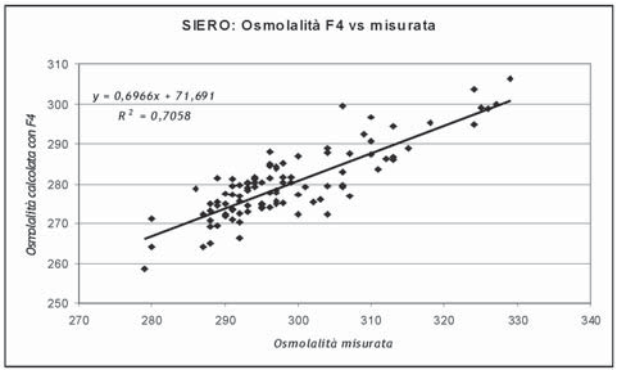












buona concordanza, in termini di valori assoluti, con l'osmolalità sierica misurata, inoltre la F1, estremamente semplice nel calcolo, potrebbe addirittura essere utilizzata direttamente dall'utilizzatore al letto del paziente, pratica largamente diffusa in ambito clinico, qualora il dato calcolato non venisse fornito dal Laboratorio.

La relativa scarsa correlazione osservata per il siero potrebbe essere spiegata con il fatto che le formule sono troppo semplicistiche rispetto al numero di analiti osmoticamente attivi presenti nel siero, anche in quantità rilevanti. Inoltre alcune formule presenti in letteratura tengono conto anche della concentrazione di etanolo[19] che contribuirebbe all'osmolalità in misura di 21,7 mOs per ogni g/L. Oggi, grazie alla presenza,

nella maggior parte degli ospedali di metodiche, seppur di screening, in grado di dare una misura diretta e sufficientemente accurata dell'etanolo in tempi abbastanza brevi, è da evitare l'utilizzo di calcoli indiretti attraverso l'osmolalità per la valutazione dell'etanolemia, anche per le possibili implicazioni medico legali. Peraltro l'uso del calcolo ha intrinsechi alcuni errori metodologici come descritto nell'introduzione.

In conclusione è importante sottolineare che, pur disponendo di formule matematiche automatizzabili, la semplicità della misura diretta e la disponibilità di strumentazione idonea dovrebbe indirizzare verso l'utilizzo di osmometri specialmente per quel che riguarda la misura nel siero di pazienti critici. Questo porterebbe a decisioni cliniche basate su elementi analiticamente più corretti.

Bibliografia

1. Smithline N, Gardner KD Jr. Gap-anionic and osmolal. JAMA 1976; 236:1594-7.
2. Gennari FJ. Serum osmolality: uses and limitations. N Engl J Med 1984; 310:102-5.
3. Dorwart WV, Chalmers L. Comparison of methods for calculating serum osmolality from chemical concentrations and the prognostic value of such calculations. Clin Chem 1975; 21:190-4.
4. Moore WJ. Physical Chemistry, 3rd ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, Inc.; 1962.
5. Khran J, Khajura A. Osmolality gaps: diagnostic accuracy and long term variability. Clin Chem 2006; 52:1-3.
6. Khajuria A, Krahn J. Osmolality revisited: deriving and validating the best formula for calculated osmolality. Clin Biochem 2005; 38:514-9.
7. Lynd LD, Richardson KJ, Purssell RA, Abu-Laban RB, Brubacher JR, Lepik KJ, et al. An evaluation of the osmole gap as a screening test for toxic alcohol poisoning. BMC Emerg Med 2008; 8:5.
8. Purssell RA, Lynd LD, Koga Y. The osmole gap as a screening test for the presence of toxic substances: a review of the literature. Toxicol Rev 2004; 23:189-202.
9. Purssell RA, Pudek M, Brubacher J, Abu-Laban RB. Derivation and validation of a formula to calculate the contribution of ethanol to the osmolal gap. Ann Emerg Med 2001; 38:653-9.
10. Sivilotti MLA, Collier CP, Choi SC. Ethanol and the osmole gap. Ann Emerg Med 2002; 40:656-7.
11. Mycyk MB, Aks SE. A visual schematic for clarifying the temporal relationship between the anion and osmol gaps in toxic alcohol poisoning. Am J Emerg Med 2003; 21:333-5.
12. Koga Y, Purssell RA, Lynd LD. The irrationality of the present use of the osmole gap: applicable physical chemistry principles and recommendations to improve the validity of current practices. Toxicol Rev 2004; 23:203-11.
13. Casella C, Taglietti V. Principi di Fisiologia. 2ª ed. Pavia: La Goliardica Pavese; 1996.
14. Lund ME, Finley PR, Burhnam L, Dye JA. Effect of alcohols and selected solvents on serum osmolality measurements. J Toxicol Clin 1983; 20:1594-7.
15. Mahon WA, Holland J, Urowitz MB. Hyperosmolar nonketonic diabetic coma. Can Med Ass J 1968; 99:109.
16. Holmes JH. Measurement of osmolality in serum, urine and other biologic fluids by the freezing point determination. In: Preworkshop manual on Urinalysis of renal function studies. Chicago, IL: American Society of Clinical Pathologists Commission on Continuing Education; 1962.
17. Boyd DR, Baker RJ. Osmometry: a new bedside laboratory aid for the management of surgical patients. Surg Clin N Amer 1971; 51:241.
18. Boyd DR, Mansberg AR Jr. Serum water and osmolal changes in haemorrhagic shock, an experimental and clinical study. Amer Surg 1968; 34:744-9.
19. American Association of Clinical Pathologists Commission on Continuing Education. Osmolality. Clinical check sample no CC-71, 1971.
20. Edelman IS, Leibman J, O'Meara MP, Birkenfeld LW. Interrelations between serum sodium concentrations, serum osmolality, and total exchangeable sodium, total exchangeable potassium, and total body water. J Clin Invest 1958; 37:1236-56.
21. Kirschbaum B, Sica D, Anderson FP. Urine electrolytes and the urine anion and osmolar gaps. J Lab Clin Med 1999; 133:597-604.