

Experimentelle Urologie, Klinik und Poliklinik für Urologie
Universitätsklinikum Bonn
und
Institut für Ernährungswissenschaften

Bestimmung der gastrointestinalen Oxalat-Absorption unter
verschiedenen vegetarischen Kostformen sowie bei Gabe eines
Antacidums und Antidiarrhoicums

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Ernährungs- und Haushaltswissenschaft
(Dr. oec. troph.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt am 04.12.2006

von Esther Thomas

aus Frechen

Referent: Prof. Dr. Albrecht Hesse

Korreferent: PD. Dr. Armin Zittermann

Tag der mündlichen Prüfung: 15.06.2007

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn

http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online

elektronisch publiziert.

Erscheinungsjahr: 2007

Bestimmung der gastrointestinalen Oxalat-Absorption unter verschiedenen vegetarischen Kostformen sowie bei Gabe eines Antacidums und Antidiarrhoicums

Calciumoxalat ist mit 70 – 75 % die am häufigsten vorkommende Harnsteinart. Bei der Calciumoxalat-Urolithiasis ist die Höhe der Oxalat-Ausscheidung von besonderer Bedeutung. Diese wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst, z.B. einer Hyperabsorption von Oxalat im Gastrointestinaltrakt, welche u.a. gehäuft bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen auftritt. Bei diesen Erkrankungen werden oft Medikamente verschrieben, die einen zusätzlichen, aber noch nicht untersuchten Einfluss auf die Oxalat-Absorption ausüben können. Des Weiteren kann die Zufuhr oxalatreicher Lebensmittel zu einer vermehrten Oxalat-Ausscheidung im Urin führen, welche unter einer vegetarischen Kost beobachtet werden kann. Ob die Höhe der Oxalat-Zufuhr oder/und andere ernährungsbedingte Einflüsse für die vermehrte Oxalat-Ausscheidung bei Vegetariern entscheidend sind, ist bis jetzt noch nicht geklärt.

Um diese Einflüsse näher zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Arbeit zwei Studien an jeweils 8 gesunden Probanden (Studie 1: Alter $28,6 \pm 6,3$ Jahre, BMI $22,3 \pm 2,7$ kg/m²; Studie 2: Alter $38,6 \pm 17,6$ Jahre; BMI $23,0 \pm 2,7$ kg/m²) mit Hilfe des [¹³C₂]Oxalat-Absorptionstests durchgeführt. An beiden Tagen des Tests mussten die Probanden jeweils eine genau definierte Kost einhalten und die 24-h Urine sammeln. Aus dem 24-h Urinen wurden die zur Harnsteindiagnostik üblichen Urinparameter bestimmt.

In der ersten Studie wurde der Einfluss zweier vegetarischer Kostformen mit unterschiedlichem Oxalatgehalt auf die intestinale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin untersucht. Die mittlere intestinale Oxalat-Absorption stieg unter der vegetarischen Kost mit niedrigem (70 mg) Oxalatgehalt um 72% und die mittlere Oxalat-Ausscheidung im Urin um 30 % im Vergleich zur Misch-Kost (63 mg Oxalat). Die prozentuale Oxalat-Absorption ($p=0,012$) und die renale Oxalat-Ausscheidung im Urin ($p=0,012$) sowie die Calciumoxalat-Urinübersättigung ($p=0,017$) stieg nur in der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt signifikant, im Vergleich zur Misch-Kost.

Die intestinale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin steigt unter einer vegetarischen Kost unabhängig vom Oxalat-Gehalt. Eine hohe intestinale Absorption von Oxalat unter einer vegetarischen Kost wird nicht nur einfach vom deren Oxalat-Gehalt bestimmt. Das Ausmaß wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst, wie der Bioverfügbarkeit des Nahrungsoxalats und -calciums, sowie dem Ballaststoffgehalt, insbesondere dem Phytinsäuregehalt. Die Empfehlung einer vegetarischen Ernährung bei Calciumoxalat-Steinpatienten sollte nur unter Anpassung der oben genannten Einflussfaktoren erfolgen.

Die zweite Studie untersuchte den Einfluss zweier in der Urologie und Gastroenterologie häufig angewandten Medikamente (das Antacidum Nephrotrans[®]: Dosis 1,86 mg Loperamid und das Antidiarrhoicum Imodium[®]: Dosis 3 x 1000 mg Natriumhydrogencarbonat) auf die gastrointestinale Oxalatabsorption und -Ausscheidung im Urin. Die mittlere Oxalat-Absorption der Probanden betrug ohne Medikamenteneinnahme $7,5 \pm 2,8$ %, unter Gabe von Imodium[®] $10,1 \pm 4,8$ % und unter Nephrotrans[®] $8,2 \pm 3,8$ %. Die mittlere renale Oxalat-Ausscheidung ohne Medikamenteneinnahme betrug $0,338 \pm 0,077$ mmol, unter Gabe von Imodium[®] $0,326 \pm 0,084$ mmol und unter Nephrotrans $0,349 \pm 0,104$ mmol. Das Risiko der Calciumoxalatübersättigung im Urin ohne Medikamenteneinnahme im Vergleich zur Einnahme von Imodium[®] bzw. Nephrotrans[®] war nicht signifikant verschieden.

Der Effekt von Imodium[®] und Nephrotrans[®] in der üblichen Dosierung auf die mittlere intestinale Oxalat-Absorption und -ausscheidung im Urin ist als gering einzustufen. Bei intaktem Gastrointestinaltrakt von Steinpatienten, können diese Medikamente in der üblichen Dosierung auch weiterhin unbedenklich Patienten mit Urolithiasis empfohlen werden. Bei höheren Dosierungen sowie bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen sollte der Einfluss jedoch im Einzelfall überprüft werden.

Determination of gastrointestinal oxalate absorption on different vegetarian diets and after intake of an antacid and an antidiarrhoeal agent

Calcium oxalate is the most common type of urinary stone with an incidence of 70 % to 75 %. In calcium oxalate urolithiasis, the extent of oxalate excretion in urine is of particular importance as it depends on various factors, such as intestinal hyperabsorption of oxalate, a frequent occurrence, inter alia, in patients with inflammatory diseases. In these diseases, drugs are often prescribed which might have an additional, but as yet not investigated effect on intestinal oxalate absorption. Furthermore, a high intake of foods rich in oxalate might lead to higher oxalate excretion in urine, as can be observed on a vegetarian diet. To date, it has not been established whether the extent of oxalate intake and/or other nutritional influences are responsible for the increased oxalate excretion in urine observed in vegetarians.

To examine these influences more closely, two studies with eight healthy volunteers each (study 1: age 28.6 ± 6.3 years, BMI 22.3 ± 2.7 kg/m²; study 2: age 38.6 ± 17.6 years; BMI 23.0 ± 2.7 kg/m²) were performed with the [¹³C₂]oxalate absorption test. Each volunteer had to adhere to a well defined diet and had to collect the 24-h urines on the two days of the test. The common parameters for the diagnostic of urolithiasis were quantified from the 24-h urine.

In the first study, we examined the influence of two different oxalate containing vegetarian diets on intestinal oxalate absorption and urinary oxalate excretion. On the vegetarian diet with low (70 mg) oxalate content, mean intestinal oxalate absorption increased by approximate 72 % and mean urinary oxalate excretion by approximate 30 %, compared to the mixed diet (63 mg). The percentage of oxalate absorption ($p=0.012$), urinary oxalate excretion ($p=0.012$) and calcium oxalate supersaturation ($p=0.017$) increased significantly only on the vegetarian diet with low oxalate content when compared to the mixed diet.

On a vegetarian diet, intestinal oxalate absorption and urinary oxalate excretion increases independent of the oxalate content of the diet. A high intestinal oxalate absorption on a vegetarian diet is not solely determined by its oxalate content. The extent is also influenced by various factors, such as bioavailability of the dietary oxalate and calcium, as well as the fiber content of the diet, in particular the phytic acid content. A vegetarian diet should only be recommended for calcium oxalate stone patients once the above mentioned influences are adapted.

The second study examined the influence of two drugs (the antacid Nephrotrans[®]: dosage 1.86 mg loperamide and the antidiarrhoeal agent Imodium[®]: dosage 3 x 1000 mg sodium hydrogen carbonate) on gastrointestinal oxalate absorption and urinary oxalate excretion. These drugs are often prescribed in urology and gastroenterology treatments. The mean intestinal oxalate absorption was 7.5 ± 2.8 % without drugs, 10.1 ± 4.8 % with Imodium[®] and 8.2 ± 3.8 % with Nephrotrans[®]. The mean oxalate excretion in urine was 0.338 ± 0.077 mmol without drugs, 0.326 ± 0.084 mmol with Imodium[®] and 0.349 ± 0.104 mmol with Nephrotrans[®]. The risk of calcium oxalate supersaturation in urine without drugs compared to intake of Imodium[®] and Nephrotrans[®] was not significantly different.

The effect of Imodium[®] and Nephrotrans[®] on the mean intestinal oxalate absorption and on oxalate excretion in urine can be classified as minimal. If the gastrointestinal tract of the patient is intact, these drugs may be safely prescribed in normal doses to patients with calcium oxalate urolithiasis. In higher doses and in patients with inflammatory bowel diseases, influence of these drugs on intestinal oxalate absorption and urinary oxalate excretion should be examined individually.

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
2	Problemstellung und Ziel der Arbeit	3
3	Literaturübersicht	5
3.1	Calcium.....	6
	3.1.1 Calcium-Absorption.....	7
	3.1.2 Hypercalciurie	8
	3.1.3 Calciumzufuhr und Oxalat-Absorption.....	10
3.2	Oxalat	11
	3.2.1 Exogenes Oxalat.....	12
	3.2.1.1 Oxalat-Absorption	12
	3.2.2 Endogenes Oxalat	14
	3.2.3 Hyperoxalurie.....	16
3.3	Calcium und Oxalat im Gastrointestinaltrakt.....	19
3.4	Einfluss weiterer Ernährungsfaktoren auf die Calciumoxalat- Urolithiasis	19
	3.4.1 Magnesium	20
	3.4.2 Ascorbinsäure	21
	3.4.3 Übergewicht und Adipositas.....	22
	3.4.4 Fett.....	23
	3.4.5 Tierisches Protein	25
	3.4.6 Kochsalz und Zuckerzufuhr.....	25
	3.4.7 Ballaststoffe (Nahrungsfasern).....	26
	3.4.7.1 Phytinsäure	27
	3.4.7.2 Urinvolumen.....	29
3.5	Calciumoxalat-Steinbildung	30
3.6	Risikoindizes der Urin-Übersättigung.....	32

3.7	Wirkungsweise und Einsatz eines Antacidums und Antidiarrhoicums in der Urologie.....	35
3.7.1	Nephrotrans®	35
3.7.2	Imodium®	37
4	Eigene Untersuchungen	40
4.1	Material und Methoden	40
4.1.1	Studiendesign	40
4.1.2	Probandenkollektive.....	42
4.1.2.1	Ablauf Studie 1: Einfluss vegetarischer Kost mit unterschiedlichem Oxalatgehalt auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin	44
4.1.2.2	Ablauf Studie 2: Einfluss eines Antacidums und Antidiarrhoicums auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin	48
4.1.3	Untersuchungsmethoden	52
4.1.4	[¹³ C ₂]Oxalat-Absorptionstest	52
4.1.4.1	Sammlung der 24-h-Urine.....	53
4.1.4.2	Laboruntersuchungen der Urin-Parameter.....	55
4.1.4.3	Aufarbeitung der Proben des [¹³ C ₂]Oxalat-Absorptionstests... ..	58
4.1.4.4	Messung des markierten und unmarkierten Oxalates mit dem GC/MS	62
4.1.5	Auswertungsverfahren und statistische Methoden.....	70
5	Ergebnisse	72
5.1	Studie 1: Vergleich der gastrointestinalen Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin unter Misch-Kost und vegetarischer Kost mit niedrigem bzw. hohem Oxalat-Gehalt	72
5.2	Studie 2: Einfluss von Imodium® und Nephrotrans® auf die gastrointestini-nale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin	78
6	Diskussion	86

6.1	Einfluss vegetarischer Kost auf die Oxalat-Absorption und - Ausscheidung im Urin.....	86
6.2	Effekt der Medikamente Imodium® und Nephrotrans® auf die Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin	94
6.2.1	Imodium® und gastrointestinale Oxalat-Absorption	94
6.2.2	Nephrotrans® und gastrointestinale Oxalat-Absorption.....	96
7	Zusammenfassung.....	101
8	Literaturverzeichnis.....	103
9	Anhang	122

Abkürzungsverzeichnis

a	Zentral(Zentrifugal)beschleunigung
AD	Analog Digital
AGT	Alanin-Glyoxylataminotransferase
AP(CaOX)	Calciumoxalat-Aktivitätsprodukt
ATPase	Adenosintriphosphatase
BMI	Body Mass Index (Körpermassenindex)
BRI	BONN-Risk-Index
°C	Grad
Ca	Calcium
CaOx	Calcium-Oxalat
cm	Zentimeter
D-A-CH	Deutschland-Österreich-Schweiz
EI	Elektronenstoßionisierung
EQUIL	Equilibrium
eV	Elektronenvolt
g	Gramm
g	Gravitationsbeschleunigung
GAD	Glycolat-Dehydrogenase
GAO	Glycolat-Oxidase
GC	Gaschromatograph/-ie
GLC	Gas Liquid Chromatography (Gas-Flüssigkeits-Chromatographie)
GR	Glyoxylat-Reduktase
h	Hour (Stunde)
HCl	Salzsäure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie)
ISE	Ionenselektive Elektrode
Kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
KH	Kohlenhydrate
L	Löslichkeitsprodukt
LDH	Lactat-Dehydrogenase

m	Meter
m.	männlich
M / z	Masse / Ladung
MBTSTFA	N-Methyl- <i>tert.</i> -butyldimethylsilyltrifluoracetamid
Mg	Magnesium
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mmol	Millimol
MS	Massenspektrometer/-metrie
MTB	Methylthymol Blau
MW	Mittelwert
n	Stichprobenumfang
NAD ⁺	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
nm	Nanometer
Ox	Oxalat
P	Phosphat
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PC	Personal Computer
PLP	Pyridoxal-Phosphat
Pox	Plasma-Oxalat
PTH	Parathormon
RS	Relative Saturation (Relative Übersättigung)
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SEV	Sekundärelektronenvervielfacher
SS	Super Saturation (Übersättigung)
TPP	Thiamin-Pyrophosphat
U	Umdrehung
USP	United States Pharmacopeia
w.	weiblich
XO	Xanthin-Oxidase
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol

1 Einleitung

Harnsteine (Urolithe) können in allen Teilen des harnableitenden Systems vorkommen. In Europa finden sich ca. 97 % aller Steine in den Nieren (Nierensteine) und im Harnleiter (Harnleitersteine, Uretersteine), nur 3 % kommen in der Harnblase (Blasensteine) und der Harnröhre vor. Abhängig vom Bildungsort besitzen die Steine ganz unterschiedliche Formen, da sie sich der Umgebung anpassen. Harnsteine werden aus verschiedenen anorganischen und organischen Substanzen gebildet, wobei nur ca. 1/3 aller Harnsteine monomineralisch sind (1). Die häufigste Steinart ist der Calciumoxalat-Stein mit einem Vorkommen von 70 % bis 75 % aller gebildeten Steine. Das Harnsteinleiden hat in den vergangenen Jahrzehnten in den Industrieländern zugenommen. Mit seiner Prävalenz von 4,7 % und einer Inzidenz von 1,5 % in der Bundesrepublik Deutschland ist das Harnsteinleiden als Volkskrankheit einzustufen. Im Vergleich dazu lag im Jahre 1979 die Prävalenz noch bei 4 % und die Inzidenz betrug 0,54 % (2). Dies bedeutet, dass bei einer Bevölkerungszahl von derzeit 82,5 Millionen (Statistisches Bundesamt, Deutschland, 2006) ca. 3,9 Millionen Menschen an einer Urolithiasis leiden mit einer jährlichen Neuerkrankungsrate von ca. 59000 Menschen. Trotz moderner Verfahren zur Steinentfernung (endoskopische/perkutane Verfahren und die Lithotripsie) liegt die Rezidivquote mit 50 % bis 100 % sehr hoch und macht eine individuell wirksame Metaphylaxe unbedingt erforderlich, denn die Steinentfernung beseitigt lediglich das Symptom des Harnsteinleidens, nicht aber die Ursache (3-5).

Die Oxalatabsorption im Gastrointestinaltrakt hat eine große Bedeutung bei der Genese der Calciumoxalat-Urolithiasis, da das mit der Nahrung zugeführte Oxalat wieder unverändert mit dem Urin ausgeschieden wird. Eine geringfügige Erhöhung des exogenen Anteils an der Gesamtoxalatausscheidung kann zu einer kritischen renalen Calciumoxalat-Übersättigung führen. Das im Urin vorliegende molare Calcium-Oxalat-Verhältnis von 10:1 verdeutlicht, warum der Oxalat-Ausscheidung besondere Beachtung geschenkt werden muss. Da im Calciumoxalat-Kristall Calcium und Oxalat 1:1 verbaut werden, steigert schon eine geringfügige Erhöhung der Oxalationen-Konzentration im Urin die Gefahr

der Kristallisation dieser beiden Substanzen erheblich (6). Aus diesem Grund ist eine Hyperoxalurie ein bedeutender Risikofaktor der Calciumoxalat-Urolithiasis (7). Diese kann durch eine gesteigerte körpereigene (endogene) Oxalatproduktion oder durch die Zufuhr oxalatreicher Nahrungsmittel (exogen) und/oder einer gastrointestinalen Hyperabsorption von Oxalat verursacht werden (8). Letztere findet man vermehrt bei entzündlichen Darmerkrankungen wie Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa. Diese sind oft mit einer Malabsorption von Wasser und Elektrolyten (z.B. Natrium, Hydrogencarbonat) verbunden. Aufgrund der Alkali-hydrogencarbonatverluste ist der Urin bei diesen Patienten oft saurer als bei Gesunden. Durch die Malabsorption und der häufig vorhandenen Resektion unterschiedlich langer Abschnitte des Darms kommt es zu Störungen in der Funktion und Anatomie des Darmes. Die Folge sind meist chronische Diarrhoen. Aus diesen Gründen werden den Patienten zur Metaphylaxe häufig Antacida bzw. Antidiarrhoica verabreicht. Diese Medikamente können gleichzeitig einen Einfluss auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption ausüben. Aus mehreren Studien geht hervor, dass das Nahrungs-oxalat einen Anteil von bis zu 50 % an der im Urin ausgeschiedenen Oxalatmenge ausmachen kann (9;10). Besonders hohe Gehalte an Oxalat finden sich in pflanzlichen Lebensmitteln wie Spinat, Rhabarber und Rote Beete (11;12). Es ist bekannt, dass die Oxalat-Ausscheidung unter einer vegetarischen Kost ansteigt. Allerdings ist das Wissen über das Ausmaß der gastrointestinalen Oxalatabsorption, besonders bei vegetarischen Kostformen mit unterschiedlich hohem Oxalatgehalt immer noch begrenzt. In der vorliegenden Arbeit ist der Einfluss einer vegetarischen Kost mit hohem und niedrigem Oxalat-Gehalt sowie zweier häufig in der Urologie angewendeter Medikamente, ein Antacidum und ein Antidiarrhoikum, auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin untersucht worden.

2 Problemstellung und Ziel der Arbeit

Ein bedeutendes Ziel der Therapie einer Calciumoxalat-Urolithiasis ist es, die mit der Erkrankung häufig verbundene vermehrte Oxalat-Ausscheidung im Urin zu senken. Diese Hyperoxalurie kann u.a. durch eine vermehrte Oxalat-Absorption im Gastrointestinaltrakt verursacht werden, welche besonders bei entzündlichen Darmerkrankungen wie z.B. Morbus Crohn vorkommt. Verursacht wird diese Hyperoxalurie durch eine erhöhte Permeabilität der Darmwand für Oxalat bzw. durch die Bildung von Kalkseifen, wodurch es zu einer vermehrten Absorption von Oxalat kommen kann. Daher gehen diese Erkrankungen oft mit einer Calciumoxalat-Urolithiasis einher. Den betroffenen Patienten werden regelmäßig Medikamente verschrieben, die zusätzlich einen Einfluss auf die gastrointestinale Oxalatabsorption ausüben können. Vielfache Anwendung findet das Antidiarrhoikum Imodium[®], um die mit dieser Erkrankung auftretenden Diarrhoen zu lindern. Dieses Medikament setzt die Darmmotilität herab und verlängert somit die Darmpassagezeit (13). Dadurch verweilt die Nahrung länger im Gastrointestinaltrakt und die Zeit, in der das Nahrungs-Oxalat absorbiert werden kann, wird verlängert. Daher soll durch die Gabe dieses Medikamentes in der vorliegenden Arbeit folgende Fragestellung untersucht werden:

- Welchen Einfluss hat die Gabe von Imodium[®] auf die Oxalat-Absorption?

Das Antacidum Nephrotrans[®] wird bei der Metaphylaxe verschiedener Harnsteinerkrankungen (zur Anhebung des Urin-pH-Wertes) häufig verschrieben. Sein Wirkstoff Natriumhydrogencarbonat wird aus den magensaft-resistenten Kapseln erst im Dünndarm, dem Hauptort der Oxalat-Absorption, freigesetzt und wird dort den pH-Wert erhöhen. Durch die Erhöhung des pH-Wertes nimmt die Löslichkeit für Calciumoxalat ab und somit könnte weniger freies Oxalat für die Absorption zur Verfügung stehen und auch weniger mit dem Urin ausgeschieden werden. Die Gabe dieses Antacidums könnte auf der anderen Seite direkt eine verminderte Oxalat-Ausscheidung mit dem Urin

bewirken, da es Vermutungen gibt, dass die renale Oxalatexkretion vom Säure-Basen-Gleichgewicht abhängt. Im Tierversuch bewirkte eine milde Säurebelastung eine stark erhöhte Oxalatexkretionsrate (14). Bei gesunden Probanden konnte durch die Verschiebung des Säure-Basen-Gleichgewichts durch Carboanhydrasehemmung im proximalen Tubulus eine Zunahme der Oxalatexkretion beobachtet werden (14;15).

In der vorliegenden Arbeit soll durch die Gabe des Antacidums in der therapeutischen Dosierung die Frage geklärt werden:

- Welchen Einfluss hat die Gabe von Nephrotrans[®] auf die Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin?

Die Ergebnisse beider Teilstudien sind von besonderer Wichtigkeit für Patienten die mit diesen, häufig in der Urologie und Gastroenterologie angewandten, Medikamenten behandelt werden. Oft sind die Erkrankungen, bei denen diese Medikamente verschrieben werden, mit einem erhöhten Risiko einer Urolithiasis verbunden.

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass bei konstanter Nahrungszufuhr eine höhere Oxalat-Zufuhr eine vermehrte Oxalat-Absorption bzw. eine erhöhte renale Oxalat-Ausscheidung zur Folge hat (10;16-18). Besonders hohe Oxalat-Gehalte finden sich in pflanzlichen Nahrungsmitteln, mit denen auch der überwiegende Anteil an Oxalat zugeführt wird. Folglich steigt die Oxalatausscheidung im Urin unter einer vegetarischen Kost im Vergleich zu einer gemischten Kost (19). Es existieren bisher allerdings keine Publikationen, die den Einfluss von vegetarischer Kost auf die Oxalat-Absorption im Gastrointestinaltrakt untersuchen. Daher soll in der vorliegenden Arbeit die Frage geklärt werden:

- Welchen Einfluss hat eine vegetarische Kost mit hohem bzw. mit niedrigem Oxalat-Gehalt auf die intestinale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin?

3 Literaturübersicht

Die Entstehung der Calciumoxalat-Urolithiasis ist ein multifaktorieller Prozess, an dem neben den steinbildenden Komponenten, den Calcium- und Oxalsäure-Ionen, weitere promotorische Parameter beteiligt sind. Wirken die promotorischen stärker als die inhibitorischen Faktoren im Urin bei gleichzeitiger Überschreitung des Löslichkeitsproduktes der steinbildenden Ionen im Urin, kann dies die Kristallbildung in Gang setzen. Die Ursachen und Risikofaktoren der Harnsteinbildung sind ebenfalls multifaktoriell und können im einzelnen der Abbildung 1 entnommen werden.

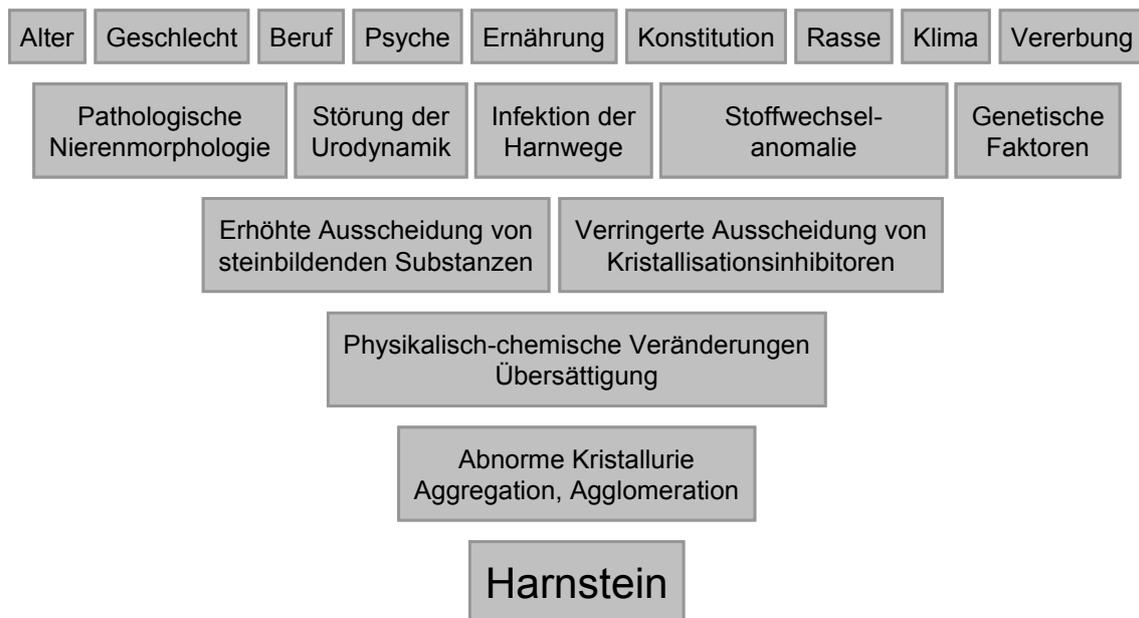


Abbildung 1: Schema zur Harnsteinbildung, modifiziert nach (5).

Aus der Abbildung geht hervor, dass der Harnstein nur das Endprodukt, also das Symptom eines vorgelagerten Krankheitsbildes ist, welches auf einer Vielzahl von Einflussfaktoren basiert.

3.1 Calcium

Der ausgewachsene Organismus enthält ca. 1,0 bis 1,5 kg Calcium. Von dem im Organismus befindlichen Calcium befinden sich über 99 %, vor allem als Hydroxylapatit gespeichert, im Skelett. Die verbleibenden 1 % befinden sich im Plasma (ca. 1,0 bis 1,3 mmol/l) und im Interstitium (überwiegend in ionisierter Form), sowie in sehr niedriger Konzentration im Intrazellulärraum (ca. 0,1 bis 0,13 $\mu\text{mol/l}$). Im Plasma kommt das Calcium in ionisierter Form (ca. 46 %), komplexgebunden (15 %, hauptsächlich als anionischer Citratkomplex) und proteingebunden (39 %, vorwiegend an Albumin) vor. Ein Teil des ionisierten Calciums ist biologisch aktiv und wird homöostatisch geregelt (20), da die Calcium-Ionen für die Lebensfähigkeit der Zellen unabdingbar ist (21). Abbildung 2 stellt den täglichen „turn-over“ von Calcium im menschlichen Organismus dar.

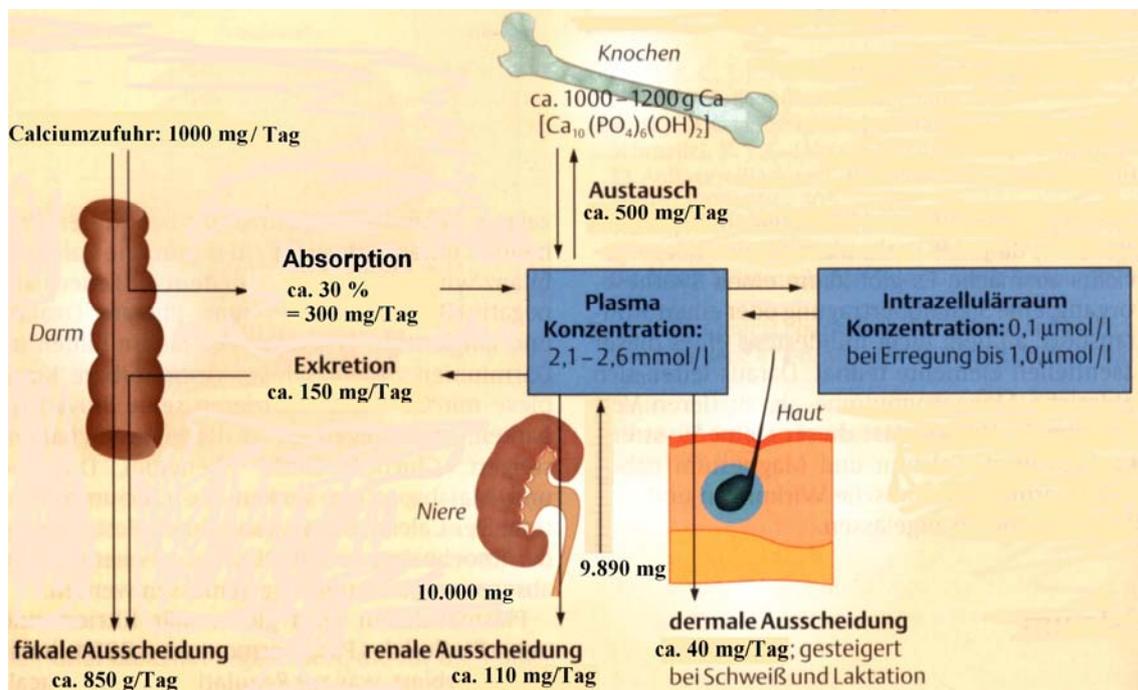


Abbildung 2: Verteilung und täglicher „turn-over“ von Calcium im menschlichen Organismus, modifiziert nach (20).

Die Calciumkonzentration im Plasma wird in engen Grenzen kontrolliert und auch im Mangelzustand zu Ungunsten des Knochens aufrechterhalten. Diese Kontrolle erfolgt in erster Linie durch die Niere, das Interstitium und dem Knochen unter Beteiligung von Parathormon (PTH) der Nebenschilddrüse, Vitamin D Metaboliten (Calcitriol) der Niere und Calcitonin der C-Zellen der Schilddrüse (22). Am Tag werden ungefähr 10 g Calcium in der Niere filtriert, dabei beträgt die tubuläre Reabsorption 97 bis 99,5 %. Kleinste Verminderungen dieser Reabsorptionsrate können zu einer starken Erhöhung der renalen Calciumexkretion führen (siehe Seite 8, 3.1.2 Hypercalciurie).

3.1.1 Calcium-Absorption

Das mit der Nahrung zugeführte Calcium liegt meist in gebundener Form als Calciumsalz (z.B. Carbonat, Phosphat, Oxalat) vor. Durch die Magensäure werden diese Salze aufgelöst, so dass das ionisierte Calcium im Intestinaltrakt absorbiert werden kann (5). Beim Erwachsenen liegt die Absorptionsrate im Mittel bei 20 bis 40 % mit einer Schwankungsbreite von 10 bis 60 % (23). Die Absorption geschieht auf 2 Wegen, zum einen durch aktiven, sättigbaren Vitamin D abhängigen Transport und durch nicht sättigbare parazelluläre Diffusion. Beim aktiven Transport wird das Calcium mit Hilfe eines calciumbindenden Proteins in der Darmmucosa aufgenommen. Dieses Protein wird durch das Vitamin D Hormon Calcitriol aktiviert. Calcitriol stimuliert gleichzeitig die Reabsorption von Calcium in der Niere (24;25). Die aktive Aufnahme von Calcium aus dem Darmlumen erfolgt transzellulär, dabei wird das Calcium durch einen epithelialen Calcium-Kanal (CaT1 und ECaC) in der Mikrovillimembran in den Enterozyten aufgenommen. Die Diffusion durch das Zytoplasma erfolgt gebunden an Calbindin-D_{9k}, dessen Konzentration Vitamin D abhängig ist (5). An der basolateralen Seite verlässt das Calcium die Zelle gegen einen elektrochemischen Gradienten mit Hilfe der Plasmamembran Ca²⁺-ATPase (26-28). Die passive parazelluläre Diffusion von Calcium erfolgt im gesamten Dünndarm und ist von der Calciumkonzentration im Darmlumen

abhängig. Bei hohen Calciumkonzentrationen überwiegt die passive Diffusion, der aktive Transport ist eingeschränkt und umgekehrt (29). Neben der Absorption aus dem Darmlumen findet auch eine Sekretion in das Darmlumen statt. Die Summe dieser Prozesse bezeichnet man als Netto-Absorption. Wenn nach einer Calciumzufuhr der Blut-Calciumspiegel steigt, wird Calcitonin aus der Schilddrüse ausgeschüttet. Dieses bewirkt die Aufnahme von Calcium in die Zellen und die Einlagerung in die Knochen. Sinkt hingegen der Blut-calciumspiegel, wird Parathormon aus der Nebenschilddrüse ausgeschüttet. Dieses Hormon bewirkt die Aktivierung von Vitamin D (Calcitriol) in der Niere, welches die Bildung des calciumbindenden Carrierproteins fördert und somit die intestinale Calciumabsorption. Gleichzeitig verstärkt es die Calciummobilisierung aus dem Knochen und eine vermehrte Rückresorption von Calcium in der Niere.

3.1.2 Hypercalciurie

Etwa 10 g Calcium werden jeden Tag glomerulär filtriert und zu 97 bis 99,5 % wieder reabsorbiert, so dass die tägliche Calciumausscheidung mit dem Urin ca. 150 mg (ca. 3,7 mmol) beträgt (30). Das zentrale Organ für die Regulierung der Serum-Calciumhomöostase ist die Niere. Wird pro 24-h 8 mmol Calcium und mehr über die Nieren ausgeschieden, spricht man von einer Hypercalciurie (1). Diese kann idiopathisch (ohne erkennbare Ursache) sein, oder auf folgenden Ursachen basieren:

- Hohe alimentäre Calcium-Zufuhr
- Gesteigerte intestinale Calcium-Absorption = absorptive Hypercalciurie
- Vermehrte Mobilisation aus den Knochen = resorptive Hypercalciurie
- Verminderte Calcium-Reabsorption in der Niere = renale Hypercalciurie

Die molekularen Ursachen einer Hypercalciurie sind dabei bis heute nicht eindeutig geklärt (31). Die Diagnostik der Hypercalciurie ist in Tabelle 1 dargestellt. Der Calcium-Kreatinin Quotient basiert auf einer Modifizierung des Calcium-Belastungstest nach PAK et al. (1975). Nach einer eintägigen calcium-armen Kost mit 400 mg Calcium wird am Morgen des Folgetages, nüchtern, der Urin über zwei Stunden gesammelt (Leerurin, Nüchternurin). Anschließend erfolgt eine orale Gabe von 1000 mg Calcium in Form einer Calcium-Brause-tablette. Der ab diesem Zeitpunkt anfallende Urin wird über die nächsten vier Stunden gesammelt (Belastungswert). Aus jedem der beiden Urine wird die Calcium- und Kreatininmenge bestimmt und daraus die Quotienten für den Nüchtern- und Belastungs-Urin bestimmt (32).

Tabelle 1: Diagnostik der Hypercalciurie, modifiziert nach (1;5;32-34).

Diagnose	Mechanismus	Serum	Urin	Calcium/Kreatinin Quotient
Absorptiv	vermehrte intestinale Ca-Absorption Typ I: unabhängig von der Ca-Zufuhr Typ II: nur bei ↑Ca. bzw. Proteinzufuhr Typ III: Typ I + Hypophosphatämie	Ca normal PTH normal Typ III: P ↓	Ca ↑	nüchtern < 0,337 Belastung ≥ 0,564
Renal	verringerte Reabsorption von Ca im distalen Tubulus → ↑Ca-Verlust über die Nieren, sog. „renal leak“, Folge: sek. Hyperparathyreoidismus	Ca normal PTH ↑	Ca ↑	nüchtern ≥ 0,338 Belastung ≥ 0,564
Resorptiv	Überfunktion der Nebenschilddrüse + Primärer Hyperparathyreoidismus	Ca normal PTH ↑ P ↓	Ca ↑ P ↑	nüchtern ≥ 0,338 Belastung ≥ 0,564

Ca: Calcium; P: Phosphat; PTH: Parathormon; ↓ erniedrigt; ↑ erhöht

3.1.3 Calciumzufuhr und Oxalat-Absorption

Steinpatienten wurde bis vor einigen Jahren, vereinzelt bis in die heutige Zeit, empfohlen, die alimentäre Calciumzufuhr durch den Verzicht auf Milch- und Milchprodukte zu minimieren (35). Heute ist man allerdings anderer Ansicht: Eine unzureichende Calciumzufuhr kann sowohl zum Verlust von Knochen- substanz führen (36;37), als auch zu einer erhöhten Absorption von Oxalat im Intestinaltrakt. Curhan et al. (38) konnten in einer prospektiven Studie an einer Kohorte von 45619 steinfreien Männern (Alter 40 bis 75 Jahre) eine inverse Korrelation zwischen der Calciumzufuhr und dem Risiko einer Urolithiasis nachweisen. Eine Untersuchung im Hinblick auf den Zusammenhang zwischen Ernährungsfaktoren und dem Risiko einer Urolithiasis, im Rahmen der Nurses Health Study II, an 96245 steinfreien Frauen ergab, dass eine höhere Calcium- zufuhr mit einem erniedrigten Risiko einer Urolithiasis verbunden war (39). In einer Studie von von Unruh et al. (40) wurde der Zusammenhang zwischen der Calciumzufuhr und der Oxalat-Absorption an Gesunden untersucht. Bei Gabe von 200 mg bis 1200 mg Calcium pro Tag konnte eine lineare Abnahme der Oxalat-Absorption in Abhängigkeit von der Erhöhung der Calciumzufuhr ermittelt werden. In diesem Bereich bewirkte eine zusätzliche Calciumzufuhr von 70 mg eine Abnahme der Oxalat-Absorption um 1 %. Die Oxalat-Absorption betrug bei einer Calciumzufuhr von 200 mg pro Tag 17 % und bei einer Zufuhr von 1200 mg Calcium 2,6 %. Eine Calciumzufuhr über 1200 mg pro Tag konnte die Oxalat-Absorption kaum noch weiter reduzieren. Zusammenfassend ist festzuhalten, dass auch bei Steinpatienten eine ausreichende alimentäre Calciumzufuhr von 800 mg bis 1200 mg pro Tag gewährleistet sein sollte (33).

3.2 Oxalat

Definition

Oxalate sind die Salze der Oxalsäure. Bei niedrigen pH-Werten, z.B. im Magen, liegt das Oxalat überwiegend in undissoziierter Form (bis ca. pH 3), HOOC-COOH , oder als einwertiges Anion (ab ca. pH 3 bis 5), HOOC-COO^- , vor. Mit zunehmendem pH-Wert (ab ca. pH 5), besonders im neutralen bzw. unter alkalischen Bedingungen, z.B. im Intestinaltrakt, komplexiert die Oxalsäure Metall-Ionen wie z.B. Calcium zum schwer löslichen Calciumoxalat (41). Die Löslichkeit von Calciumoxalat bei verschiedenen pH-Werten ist in Abbildung 3 wiedergegeben.

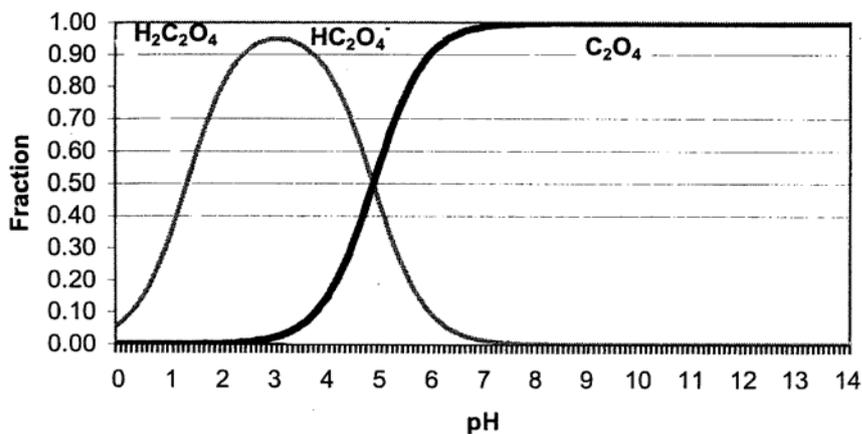


Abbildung 3: Oxalsäurelöslichkeit und pH (41).

Oxalsäure (Ethandisäure) ist eine relativ starke organische 1,2-Dicarbonsäure, mit einem pK_a von 1,23 für das erste und 4,19 für das zweite Proton. Ihr Molekulargewicht beträgt 90. Sie findet sich als saures Kalium- oder Calciumsalz im Zellsaft vieler Pflanzen (z.B. Sauerklee, Rhabarber, Spinat). Abbildung 4 (Seite 12) zeigt die chemische Struktur der Oxalsäure (42).

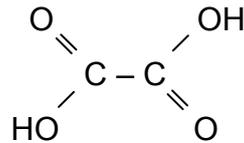


Abbildung 4: Strukturformel der Oxalsäure.

3.2.1 Exogenes Oxalat

Oxalat wird hauptsächlich mit pflanzlichen Lebensmitteln aufgenommen. Dabei ist der Oxalat-Gehalt u.a. von der Pflanzenart (hohe Oxalatgehalte finden sich z.B. in Spinat, Rhabarber, Rote Beete), den Wachstumsbedingungen und dem Reifegrad abhängig. In den Pflanzen liegt das Oxalat zum einen in löslicher (z.B. Natrium-, Kaliumoxalat) und zum anderen in unlöslicher (z.B. Calciumoxalat) Form vor. Die tägliche Aufnahme von Oxalat mit der Kost ist abhängig von den Ernährungsgewohnheiten. Unter der in den westlichen Industrieländern üblichen Misch-Kost beträgt die tägliche Oxalat-Aufnahme ca. 80 mg bis 150 mg Oxalat (5). Jedoch kann die tägliche Oxalat-Zufuhr je nach Kost-Form zwischen 100 mg und 1000 mg variieren (34).

3.2.1.1 Oxalat-Absorption

Täglich werden zwischen 5 % und 15 % des mit der Nahrung zugeführten Oxalates im Gastrointestinaltrakt absorbiert. Unter bestimmten Bedingungen, z.B. unter Calcium-Restriktion oder/und hoher Oxalat-Zufuhr kann der Anteil an exogenem Oxalat im Urin 50 % bis zu 80 % ausmachen (9;10). Oxalat wird entlang des gesamten Intestinums absorbiert (17;43). Der Großteil des Oxalates nach einer oxalathaltigen Mahlzeit wird in den ersten 4 bis 8 Stunden nach Zufuhr absorbiert (44-46). Beim Gesunden beträgt die normale Transitzeit vom Magen zum Colon ungefähr 10 Stunden (47;48), so dass anzunehmen ist,

dass der Hauptort der Oxalat-Absorption beim Gesunden der Dünndarm ist. Prenen et al. (46) sehen den Hauptort der Oxalat-Absorption beim Gesunden im proximalen Duodenum. Hautmann et al. (49) konnten zeigen, dass das zugeführte Oxalat bereits im Magen absorbiert werden kann. Doch bedarf die Aufklärung dieser Mechanismen weiterer Untersuchungen, da diese Studien an Patienten mit Magensonde unter Blockierung des Pylorus durchgeführt worden sind. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass eine Oxalat-Absorption auch noch im Colon bzw. Rectum stattfindet (16). Untersuchungen mit radioaktivem Oxalat haben gezeigt, dass es bis zu 36 Stunden dauern kann, bis das absorbierte Oxalat wieder vollständig mit dem Urin ausgeschieden ist (45). Eine erhöhte Absorption im Colon findet man besonders bei gastrointestinalen Erkrankungen wie Morbus Crohn und Darm-Resektion (50;51;51). Trotz allem existieren keine Studien am Menschen, die direkt die Verteilung der einzelnen intestinalen Segmente in Hinblick auf die Oxalat-Absorption untersuchen. Die Oxalat-Absorption im Intestinum ist abhängig von der Menge an freiem Oxalat im intestinalen Raum. Diese Bioverfügbarkeit von Oxalat im Gastrointestinaltrakt ist abhängig von der Menge an Oxalat in der Nahrung und der Anwesenheit von zweiwertigen Kationen wie Calcium und Magnesium. Die Oxalat-Absorption findet durch einen aktiven Transport, sowie durch eine passive Diffusion statt. Einige Studien haben gezeigt, dass der Darm in der Lage ist, Oxalat sowohl zu absorbieren, als auch zu sezernieren. Hatch et al. (52) haben in einer Studie an Kaninchen gezeigt, dass diese Sekretion im Dünndarm und im proximalen Colon stattfindet. Die intestinale Sekretion scheint ein wichtiger Weg der Oxalat-Exkretion im Endstadium einer Niereninsuffizienz sowie anderer Erkrankungen mit erhöhten Oxalat-Serum-Spiegeln zu sein (52;53). Die Rolle der intestinalen Oxalat Sekretion beim Gesunden ist noch nicht geklärt.

3.2.2 Endogenes Oxalat

Die Menge des in der Leber gebildeten Oxalates beträgt ca. 150 bis 500 μmol pro Tag (54). Es existieren keine Anhaltspunkte dafür, dass die Oxalsäure im Körper verstoffwechselt wird. Die Oxalsäure wird unverändert mit dem Urin ausgeschieden (34). Die endogene Oxalatbildung erfolgt auf 3 Wegen, jeweils zu ca. 40 % aus Glyoxylat und Ascorbat und zu ca. 20 % aus Glycolat. Ausserdem können Fructose und Xylit in Oxalat umgewandelt werden. Eine erhöhte renale Oxalat-Ausscheidung wurde unter Fructose-Infusionen beim Menschen beobachtet (55;56). Die Umwandlung von Xylit in Oxalat wurde das erste Mal bei der Gabe dieses Zuckeralkohols in der parenteralen Ernährung beobachtet (56-58). Fructose und Xylit trägt beim Gesunden nur zu einem sehr geringen Anteil zur Oxalatbildung bei.

Glyoxylat

Glyoxylat ist die unmittelbare Vorstufe von Oxalat und wird mittels der Lactat-Dehydrogenase (LDH), Xanthin-Oxidase (XO), und mit Hilfe der Glycolat-Oxidase (GAO) in Oxalat umgewandelt. Welches der drei Enzyme die größte Rolle bei der Umwandlung von Glyoxylat in Oxalat spielt ist noch nicht geklärt. Mehrere Studien deuten allerdings darauf hin, dass die Laktat-Dehydrogenase nur zu einem sehr geringen Prozentsatz (0,1 %) und die Glykolat-Oxidase zu einem hohen Anteil an der Oxidation zu Oxalat beteiligt sind (59;60). Das Glyoxylat wird seinerseits hauptsächlich durch die Oxidation von Glycolat mit Hilfe der Glycolat-Oxidase gebildet und der oxidativen Desaminierung von Glycin unter Beteiligung von Pyridoxal-Phosphat. Weitere Vorstufen des Glyoxylates mit geringerer Bedeutung stellen Hydroxyprolin (59) und Citrat dar. Der Hauptteil an Glyoxylat wird über das Pyridoxal-Phosphat abhängige Enzym Alanin-Glyoxylat-Aminotransferase in Glycin transaminiert. Glyoxylat kann auch durch die Glyoxylat-Reduktase und die Lactat-Dehydrogenase in Glycolat umgewandelt werden. Somit limitiert die Umwandlung von Glyoxylat in Glycolat

und Glycin die Bildung von Oxalsäure. Bei ausreichender Zufuhr von Vitamin B₁, B₂ und B₆ sowie NAD⁺, Liponsäure und Tetrahydrofolsäure wird Glyoxylat über aktiven Formaldehyd und Ameisensäure zu Kohlendioxid und Wasser oxidiert. Ist eine ausreichende Versorgung mit diesen Coenzymen nicht gewährleistet, kommt es zu einer vermehrten endogenen Bildung von Oxalat.

Glycolat

Glycolat ist neben Tryptophan eine direkte Vorstufe des Oxalats und wird mit Hilfe der Glykolat-Dehydrogenase in Oxalat umgewandelt. Die metabolischen Vorläufer der Oxalsäure sind in Abbildung 5 wiedergegeben.

Die Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin tragen durch die Umwandlung in Glycolat ebenfalls zur Oxalat-Bildung bei, allerdings wird ihnen dabei nur eine geringe Bedeutung zugeschrieben (34).

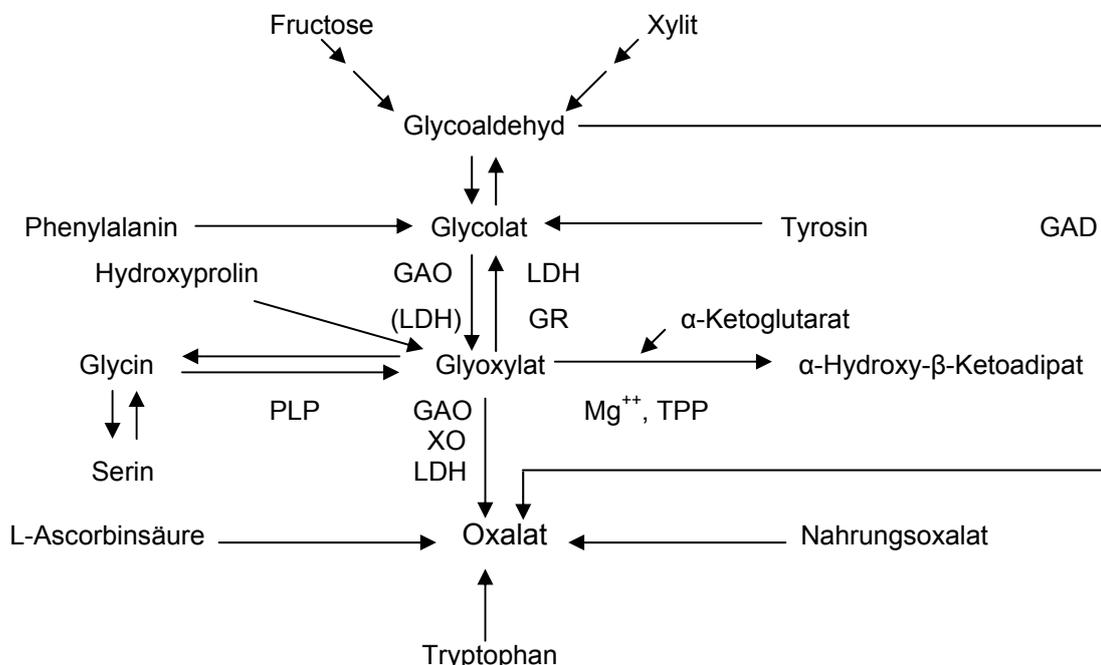


Abbildung 5: Metabolische Vorläufer der Oxalsäure, modifiziert nach (61-63),
 GAD: Glycolat-Dehydrogenase; GAO: Glycolat-Oxidase; XO: Xanthin-Oxidase
 LDH: Laktat-Dehydrogenase; PLP: Pyridoxal-Posphat; Mg⁺⁺: Magnesium-Ionen
 TPP: Thiamin-Pyrophosphat; GR: Glyoxylat-Reduktase.

Ascorbat

Der Abbau von Ascorbinsäure im Stoffwechsel führt über das Intermediärprodukt α , β -Diketo-L-Gulonat unter Abspaltung von Threonat zur Bildung von Oxalsäure. Durch radioaktive Markierung von Ascorbat konnte gezeigt werden, dass bis zu 40 % der endogenen Oxalsäure über den Abbau von Ascorbinsäure gebildet wird (64). Dabei werden enzymatische und nicht enzymatische Mechanismen diskutiert, wobei eine enzymatische Beteiligung noch nicht klar aufgezeigt werden konnte.

3.2.3 Hyperoxalurie

Die renale Oxalat-Ausscheidung ist entscheidend an der Calcium-Oxalat Übersättigung im Urin beteiligt. Beim Gesunden liegt die Oxalat-Ausscheidung im Urin meist zwischen 200 μmol und 500 $\mu\text{mol}/\text{Tag}$. Die Oxalat-Ausscheidung unterliegt einem zirkadianen Rhythmus im Tages- und Nachtprofil, entsprechend der Oxalat-Aufnahme mit der Nahrung. Bei Calciumoxalat-Steinbildnern findet sich häufig eine Hyperoxalurie. Diese ist definiert als Oxalat-Ausscheidung $> 500 \mu\text{mol}/\text{Tag}$. Die Hyperoxalurie ist ein Hauptrisikofaktor der rezidivierenden Calciumoxalat-Urolithiasis. Hyperoxalurie kann verschiedene Ursachen haben: eine hohe endogene Oxalatbildung und/oder exogene Oxalatzufuhr und/oder eine vermehrte intestinale Oxalat-Absorption. Die Hyperoxalurie wird deshalb in eine primäre und in eine sekundäre Form unterteilt.

Primäre Hyperoxalurie

Diese Form der Hyperoxalurie ist genetisch bedingt und lässt sich in 2 Typen mit zwei verschiedenen Enzymdefekten einteilen. Bei dieser Erkrankung ist die Oxalat-Ausscheidung im 24-h Urin mit Konzentrationen bis zu 3 mmol oder 4 mmol pro Tag extrem erhöht. Schon in der Kindheit kommt es durch diese auto-

somal rezessiv vererbte Erkrankung des Glyoxylatstoffwechsels zur rezidivierenden Urolithiasis und/oder zur Nephrocalcinose mit Nierenschädigungen. Nach Untersuchungen in Europa ist eins von 60.000 bis 120.000 Kindern betroffen (65). Häufig kommt es zu frühzeitiger Niereninsuffizienz mit ungünstiger Prognose. Durch die Niereninsuffizienz verursachtes hohes Plasma-Oxalat ($P_{ox} > 30 \mu\text{mol/l}$) und Plasma-Calciumoxalat-Sättigung kommt es zu Ablagerung von Calciumoxalat in anderen parachymatösen Organen, Knochen und Retina (systemische Oxalose) (34;65-67).

Typ I: Dieser Typ gründet sich in einem Mangel oder Fehlen der leberspezifischen Alanin-Glyoxylat-Aminotransferase (AGT). Dieses Enzym ist zusammen mit Thiaminpyrophosphat als Coenzym an der Oxidation von Glyoxylat zu Glycin beteiligt. Somit kommt es zu einer vermehrten Bildung von Oxalsäure aus akkumuliertem Glyoxylat. Im Urin findet sich außerdem eine erhöhte Menge an Glycolat (durch die Reduzierung von Glyoxylat) und Glyoxylat (66;68;69).

Typ II: Der enzymatische Defekt liegt hier in einem Mangel bzw. einer verminderten Aktivität des ubiquitären Enzyms Glyoxylat-Reduktase. Der Mangel an diesem Enzym, welches auch D-Glycerat-Dehydrogenase und Hydroxypyruvat-Reduktase Aktivität besitzt, führt zu Hyperoxalurie und erhöhter L-Glycerinsäureausscheidung. Die Glykolat- bzw. Glyoxylat-Ausscheidung ist bei diesem Defekt nicht betroffen. Der klinische Verlauf dieser Erkrankung ist milder als bei der Hyperoxalurie Typ I (5;66).

Sekundäre Hyperoxalurie

Diese Form der Hyperoxalurie hat exogene Ursachen und die Oxalat-Ausscheidung mit dem Urin ist meist niedriger als bei der primären Hyperoxalurie. In Europa sind ungefähr 18 % der Erwachsenen und 8,6 % der Kinder von der sekundären Hyperoxalurie betroffen. Die sekundäre Hyperoxalurie ist zum einen auf eine erhöhte intestinale Oxalat-Absorption (enterische Hyperoxalurie) und zum anderen auf eine exzessive Zufuhr von oxalatreichen Lebensmitteln zurückzuführen (70;71).

Eine erhöhte Zufuhr von Oxalsäureprecursoren kann ebenfalls zu einer Hyperoxalurie führen. Dazu zählen eine vermehrte Zufuhr an Kohlenhydraten und Protein, mit einem erhöhten Gehalt an Glycin, Phenylalanin, Tryptophan, Glutamin und Tyrosin, aber auch von anderen Nahrungsbestandteilen wie Purinen. Auch eine exzessive Zufuhr von Citrat und Vitamin C (ungefähr 10 g pro Tag), z.B. bei der Cystintherapie, kann für die sekundäre Hyperoxalurie verantwortlich sein.

Einige B-Vitamine sind aktiv an der Verstoffwechslung der Glyoxylats beteiligt. Pyridoxalphosphat ist das Coenzym bei der Transaminierung von Glyoxylat zu Glycin. Bei einem Mangel an diesem Vitamin kommt es zu einem Anstieg des Glyoxylats mit einer verstärkten Bildung und Ausscheidung von Oxalat mit dem Urin. Thiaminpyrophosphat, Riboflavin, Liponsäure und Tetrahydrofolsäure katalysieren die Oxidation von Glyoxylat über Ameisensäure zu Kohlenstoffdioxid und Wasser. Auch ihr Mangel kann für eine Hyperoxalurie verantwortlich sein.

Der Hyperabsorption von Nahrungsoxalat kommt bei der sekundären Hyperoxalurie ein besonderer Stellenwert zu. Durch die erhöhte Zufuhr an oxalatreichen Lebensmitteln (siehe Tabelle 2) kann es zu einer vermehrten Absorption von Oxalat im Intestinaltrakt und in Folge zu einer Hyperoxalurie kommen.

Tabelle 2: Oxalsäurereiche Lebensmittel, in mg Gesamt-Oxalat pro 100 g (11;72).

Sesam-Samen	3800	Dill	159
Rhabarber, roh	1235	Petersilie	136
Mangold, roh	874	Rote Beete, gekocht	109
Peffer, schwarz	623	Feige, getrocknet	95
Kakaopulver, ölfrei	567	Weizenmehl, Typ 550	91
Weizenkleie	457	Salbei, Blätter	85
Mandeln	383	Holunderbeere, roh	72
Spinat, gekocht	364	Pistazie	56
Karambole	295	Pfefferminz, Blätter	55
Thymian, getrocknet	182	Bohnen, weiß	54
Haselnüsse	167	Olive, grün	46

Die sekundäre Hyperoxalurie findet sich oft bei verschiedenen gastrointestinalen Erkrankungen mit Malabsorptionssyndromen wie Morbus Crohn, Zystische Fibrose, Steatorrhoe oder chronische Pankreatitis und nach Darmresektion (73-78). Bei diesen Erkrankungen können sich, durch die Malabsorption von Fett, freie Fettsäuren mit Calcium im Intestinum binden. In Folge wird vermehrt freie Oxalsäure absorbiert. Dieser Mechanismus wird unter Punkt 3.4.3. (Seite 22) ausführlich erläutert.

3.3 Calcium und Oxalat im Gastrointestinaltrakt

Die Absorption von freier Oxalsäure im Intestinum hängt im entscheidenden Maße von der Konzentration an Calcium-Ionen ab. Letztere hängt u.a. von der alimentären Calcium-Zufuhr, der Bioverfügbarkeit von Calcium, dem Bedarf bzw. dem Versorgungszustand des Körpers mit Calcium ab. Ist die Konzentration an freien Calcium-Ionen im Darmlumen erniedrigt, kann es zu einer erhöhten Absorption von Oxalsäure kommen. Bereits in den 1960er Jahren konnte in verschiedenen Studien der Zusammenhang zwischen erhöhter Calcium-Absorption, Hypercalciurie und einer erhöhten Oxalat-Absorption bei gleichzeitiger Calciumoxalat-Übersättigung des Urins, als eine Ursache der Calciumoxalat-Nephrolithiasis, herausgestellt werden (79-81) .

3.4 Einfluss weiterer Ernährungsfaktoren auf die Calciumoxalat-Urolithiasis

Auf die Genese der Calciumoxalat-Urolithiasis haben nicht nur die Zufuhr von Calcium und Oxalat, sondern auch weitere Ernährungsfaktoren einen großen Einfluss. Die derzeit wichtigsten und am besten untersuchten Einflussfaktoren werden im folgendem besprochen.

3.4.1 Magnesium

Magnesium-Ionen können im Intestinum, wie Calcium-Ionen, Oxalat komplexieren und somit dessen renale Ausscheidung reduzieren. Diese Bindung ist allerdings weniger stark als die mit Calcium-Ionen, daher hat das Magnesium einen geringen Effekt auf die Reduzierung der Oxalat-Absorption in Darm. Eine Studie von Bohn et al. (82) konnte zeigen, dass durch die Gabe von Magnesium (5 mmol) zu einer oxalatreichen (6,6 mmol) Mahlzeit, im Vergleich zu der gleichen Magnesium Gabe zu einer oxalatarmen (0,1 mmol) Mahlzeit, die Magnesium-Ausscheidung im Urin signifikant gesenkt wurde. Die Autoren schlussfolgerten daraus, dass die Oxalsäure Magnesium zum Magnesiumoxalat komplexiert hat und somit der Absorption entzogen wurde. Im Urin selber können Magnesium-Ionen Oxalsäure komplexieren und somit hat Magnesium einen direkten Einfluss auf das Calciumoxalat-Kristallwachstum (83-85). Da die Löslichkeit von Magnesiumoxalat hoch genug ist, besteht keine Gefahr der Bildung von Magnesiumoxalat-Steinen. Desweiteren wird dem Magnesium ein direkter Einfluss auf die Hemmung der endogenen Oxalat-Bildung, durch die vermehrte Umwandlung von Glyoxylat in α -Hydroxy- β -Ketoacidat (siehe Abbildung 5, Seite 15) zugeschrieben (86). In einer Studie von Brundig et al. (86) konnte durch eine hoch dosierte Gabe von Magnesium (945 mg) die Oxalat-Ausscheidung im Urin signifikant reduziert werden. In einer prospektiven doppelblind plazebo-kontrollierten randomisierten Studie wurden 30 Patienten mit 650 mg bzw. 21 Patienten mit 1300 mg Magnesiumhydroxid am Tag behandelt. Während der Behandlung kam es bei 65 % bzw. 59 % der Patienten zu keiner Rezidivbildung, in der Plazebo-Gruppe waren es 56 %. Insgesamt konnte das Magnesiumhydroxid die Rezidivrate im Vergleich zur Plazebo-Gruppe jedoch nicht signifikant reduzieren (87). In einer prospektiven doppelblinden randomisierten Studie über 3 Jahre wurden 64 Patienten entweder mit Kalium Magnesium-Citrat behandelt oder erhielten ein Placebo. Nach der 3-jährigen Behandlungsdauer blieben 87 % der Patienten, die mit Kalium-Magnesium-Citrat behandelt wurden, steinfrei im Vergleich zu 36 % in der Placebo-Gruppe. Die Behandlung mit Magnesiumcitrat über diese 3 Jahre

reduzierte die Rezidivrate der Calciumoxalat-Steinbildung signifikant um 85 % (88). Diese Studien deuten darauf hin, dass die Behandlung mit Magnesium in Kombination mit einer Citrattherapie effektiver zu sein scheint, als mit Magnesium alleine. Die Senkung der intestinalen Oxalatabsorption durch die Gabe von Magnesium scheint am effektivsten bei einer gleichzeitigen Gabe zu einer oxalatreichen Mahlzeit zu sein. So konnte in einer Studie von Zimmermann et al. (89) unter Gabe von 243 mg Magnesium zusammen mit einer [$^{13}\text{C}_2$]Oxalatkapsel (entsprechend 0,368 mmol ^{13}C -markierter Oxalsäure) die intestinale Oxalat-Absorption um 40 % gesenkt werden. Dabei bewirkte die zeitversetzte Gabe von jeweils 243 mg Magnesium um 12 Stunden zu dieser Oxalatgabe lediglich eine Senkung der intestinalen Oxalat-Absorption um 36 %, wobei die zweite Gabe von Magnesium kaum mehr Effekt auf diese Absorption zeigte.

3.4.2 Ascorbinsäure

Die in der früheren Literatur beschriebenen hohen Oxalat-Ausscheidungen im Urin nach hoher Vitamin C Zufuhr beruhten auf einem Analysefehler, der durch die Umwandlung von Ascorbinsäure in Oxalsäure in der Anwesenheit von Hitze bei der Aufarbeitung zustande gekommen ist (90). Neuere Studien, unter Verwendung moderner Analytik, haben einen geringen aber signifikanten Anstieg in der Oxalsäure-Ausscheidung unter Zufuhr von 1000 mg Ascorbinsäure pro Tag im Vergleich zu geringerer Zufuhr gezeigt (91). Die mittlere Oxalsäure-Ausscheidung im 24-h Urin unter der Zufuhr von 100 mg Ascorbinsäure lag bei 0,333 mmol und unter der Zufuhr von 1000 mg bei 0,455 mmol. Ob dieser Anstieg in der Oxalat-Ausscheidung allerdings durch die Labilität der Ascorbinsäure im Urin während der Sammlung, Lagerung oder Analyse zustande gekommen ist, ist immer noch unklar. Eine in vitro Studie von Wandzilak et al. (92) hat gezeigt, dass die molare Umwandlung von Ascorbinsäure in Oxalat in einer Urin-Probe nur bis zu einer Ascorbinsäurezufuhr von 10 g ansteigt. Einige Studien zeigen einen klaren Zusammenhang zwischen der

Vitamin C Zufuhr und dem Risiko für das Calciumoxalat-Steinleiden (93-95). Eine Studie von Massey et al. (94) zeigte, dass bei 40 % der 48 Studienteilnehmer die renale Oxalat-Ausscheidung (≥ 10 %) unter Vitamin C Supplementation (2000 mg/Tag) bei Steinbildnern ($n = 12$) sowie Nichtsteinbildnern ($n = 7$) signifikant angestiegen ist. Ähnlichen Ergebnisse lieferte auch eine Studie von Baxmann et al. (96). Andere Studien hingegen sehen keinen Risikofaktor in der Zufuhr von Vitamin C (bis zu 8 g pro Tag) in Hinblick auf die Calciumoxalat-Urolithiasis (97;98). Eine prospektive epidemiologische Studie hat gezeigt, dass das relative Calciumoxalat-Steinbildungsrisiko bei Männern bei einer Zufuhr von 1500 mg Vitamin C pro Tag, im Vergleich zu solchen die einem Konsum mit weniger als 250 mg am Tag aufwiesen, geringer ist (99). Ähnliche Ergebnisse lieferte auch eine frühere Studie von Fellström et al. (100). Zusammenfassend kann man sagen, dass weder die Zufuhr hoher Dosen an Ascorbinsäure entscheidend an der Oxalat-Ausscheidung im Urin beiträgt (101), noch dass ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Vitamin C und dem Auftreten von Calciumoxalat-Steinen bewiesen ist (102).

3.4.3 Übergewicht und Adipositas

Zwischen der Prävalenz von Übergewicht (BMI 25 bis 29,9) bzw. Adipositas (BMI $\geq 30,0$) und der Calciumoxalat-Urolithiasis besteht ein signifikanter Zusammenhang. In einer Studie von Siener et al. (103) waren 59,2 % der Männer und 43,9 % der Frauen von 527 idiopathischen Calciumoxalat-Steinbildnern übergewichtig. Dieser Zusammenhang ist u.a. auf eine vermehrte endogene Produktion bzw. eine gesteigerte intestinale Absorption von Oxalat zurückzuführen. Dabei wird die intestinale Oxalat-Absorption von der aufgenommenen Oxalatsmenge und anderen Nahrungsbestandteilen beeinflusst, wie der Calcium-, Fett- oder Ballaststoffzufuhr (104;105). Mit zunehmenden Body Mass Index (BMI) werden vermehrt Promotoren, nicht aber Inhibitoren der Calciumoxalat-Urolithiasis ausgeschieden (103). So findet sich bei Menschen mit einem BMI $> 25 \text{ kg/m}^2$ eine deutlich erhöhte Ausscheidung an

Harnsäure, Natrium, Phosphat und Ammonium, sowie ein signifikant erniedrigter Urin-pH (106-110).

3.4.4 Fett

In verschiedenen Studien konnten gezeigt werden, dass die Zufuhr von tierischen Fetten bei Steinbildnern durchweg höher lag als bei Nicht-Steinbildnern (111-114). Besonders die in den westlichen Industrieländern hohe Zufuhr von gesättigten Fettsäuren ist mit einem erhöhten Risiko der Urolithiasis verbunden (115;116).

Besonders bei Patienten mit Resektion des Dünndarms und gleichzeitiger Steatorrhoe konnte eine Hyperoxalurie nachgewiesen werden (43). Für diese Hyperoxalurie existieren zwei Erklärungen:

Löslichkeitstheorie

Bei einer bestehenden Fettmalabsorption und damit verbundener Steatorrhoe kommt es zur Bildung von Kalkseifen im Darmlumen, durch die Verbindung mit Calcium. Dadurch steht weniger freies Calcium zur Bildung von Calciumoxalat zur Verfügung und es kommt zu einer erhöhten Absorption von Oxalat (77;117). In einer Studie an Ratten konnte gezeigt werden (118), dass bei Gabe von Xenikal® (= Orlistat, Lipase-Hemmer), als Folge der Fettmalabsorption, die renale Oxalat-Ausscheidung signifikant anstieg. Dabei kam es gleichzeitig zu einer leichten Reduktion der Calcium- und Magnesiumausscheidung im Urin. Als Netto-Effekt resultierte ein Anstieg des AP(CaOx)-Indexes und somit ein erhöhtes Steinbildungsrisiko.

Permeabilitätstheorie

Nach dieser Theorie führt das Bestehen einer Fettmalabsorption bei gleichzeitiger Gallensäuremalabsorption zu einer erhöhten Permeabilität der Colonschleimhaut. Dadurch wird die Absorption von Oxalat im Dickdarm begünstigt (51;119;120).

ω -3-Fettsäuren

Einen protektiven Effekt auf die Calciumoxalat-Urolithiasis scheinen ω -3-Fettsäuren, die besonders in Fischöl zu finden sind, zu besitzen (121). Sowohl Grönland-Eskimos als auch an der Küste lebende Japaner, die einen hohen Verzehr dieser Fettsäuren aufweisen, haben eine sehr niedrige Urolithiasis Inzidenz (122). Die ω -3-Fettsäuren hemmen die Bildung von Arachidonsäure, die die renale Calcium- aber auch Oxalat-Ausscheidung fördern kann (123-125). In einer Studie von Naya et al. (114) erhöhte die Gabe von Arachidonsäure bei idiopathischen Steinbildnern die renale Oxalat-Ausscheidung. Es wurde gleichzeitig vermutet, dass durch die Arachidonsäure die intestinale Oxalat-Absorption erhöht wurde. Bei idiopathischen Calciumoxalat-Steinbildnern wurde ein erhöhter Gehalt an Arachidonsäure im Plasma und in den Membranphospholipiden der roten Blutkörperchen beschrieben. Dies war direkt korreliert mit dem Austausch von Oxalat in den roten Blutkörperchen (125-127). Darüber hinaus kann ein Anstieg der Arachidonsäure in den Membranphospholipiden in einem Anstieg der Prostaglandin E₂ Synthese resultieren, welche in der Lage ist, eine Hypercalciurie zu verursachen. Dies geschieht über eine vermehrte Calciumabsorption im Darm, eine verminderte Reabsorption in der Niere und wahrscheinlich auch über eine vermehrte Freisetzung von Calcium aus den Knochen (123;128). Trotz dieser Erkenntnisse ist es noch nicht geklärt, welchen Einfluss die Gabe von ω -3-Fettsäuren auf die akute Steinbildung bei Patienten hat. Dies muss in weiteren Studien geklärt werden.

3.4.5 Tierisches Protein

Eine hohe Zufuhr an tierischem Protein kann die Urinzusammensetzung beeinflussen. Die Ausscheidung von Calcium und Oxalat mit dem Urin wird aufgrund einer gesteigerten glomerulären Filtrationsrate und einer erniedrigten tubulären Reabsorption erhöht (61). Der Methionin- und Cystein-Metabolismus der schwefelhaltigen Nahrungsproteine stellt die Hauptquelle für die Bildung nichtflüchtiger Säuren dar, eine andere Quelle ist die Bildung von Harnsäure aus dem Metabolismus der Nukleinsäuren. Die notwendige Exkretion von H⁺-Ionen aus diesen nichtflüchtigen Säuren führt zu einer Senkung des Urin-pH-Wertes (35;129). Der Netto-Effekt dieser Wirkungen stellt einen erhöhten Risikofaktor für die Calciumoxalat-Steinbildung dar (130-133). Untersuchungen in England über den Pro-Kopf-Verbrauch an tierischem Protein haben einen direkten Zusammenhang mit dem Auftreten der Urolithiasis gezeigt (133). Dafür spricht die Tatsache, dass umgekehrt das Auftreten von Harnsteinen bei Vegetariern sehr gering ist (134). Curhan et al. (38) fanden in der Quintile mit der höchsten Zufuhr an tierischem Protein ein um 33 % höheres Steinbildungs-Risiko als in der Quintile mit der niedrigsten Zufuhr an tierischem Protein. In einer epidemiologischen Studie von Robertson et al. (135) wurde ein positiver Zusammenhang zwischen dem Verzehr von tierischem Protein und der Steinhäufigkeit festgestellt. In einigen Studien konnte auch eine gesteigerte renale Oxalat-Ausscheidung bei hoher Proteinzufuhr festgestellt werden und umgekehrt (133;136;137).

3.4.6 Kochsalz und Zuckerzufuhr

Eine hohe Zufuhr von Zucker und Kochsalz ist mit einem signifikanten Anstieg der renalen Calciumausscheidung verbunden. Daher sollte die Zufuhr besonders bei Patienten mit einer Calciumausscheidung von ≥ 5 mmol pro Tag überprüft werden, da dies einen Risikofaktor für die Calciumoxalat-Steinbildung

darstellt (138-140). Eine hohe Natriumchlorid-Zufuhr verbunden mit einer verringerten proximalen Rückresorption führt zu einer verminderten renaltubulären Calcium-Rückresorption (141-143). Jede zusätzliche Zufuhr von 100 mmol Natriumchlorid erhöht die renale Calciumausscheidung um 0,63 mmol (144). In einer Studie von Martini et al. (145) konnte gezeigt werden, dass die Kochsalzzufuhr bei Steinpatienten signifikant höher lag als bei Nichtsteinbildnern und diese war positiv mit der Calciumzufuhr korreliert. Andererseits induziert eine hohe Kochsalzzufuhr eine milde metabolische Acidose ausgelöst durch eine Hydrogencarbonaturie und stellt somit einen Risikofaktor für eine Hypocitraturie dar (146).

In einer Studie von Gluszek et al. (147) bewirkte die Gabe von 100 g Glucose sowohl bei Steinbildnern als auch bei Nichtsteinbildnern einen Anstieg der Calciumoxalat-Übersättigung im Urin. Ein positiver Zusammenhang zwischen der Kochsalz- bzw. Zuckerezufuhr und einer Steinneubildung konnte bei Frauen - jedoch nicht bei Männern - gefunden werden (38;39;99).

3.4.7 Ballaststoffe (Nahrungsfasern)

Allgemein

Unter dem Sammelbegriff Ballaststoffe werden Bestandteile pflanzlicher Nahrung zusammengefasst, die von den körpereigenen Enzymen des menschlichen Gastrointestinaltraktes nicht abgebaut werden (21). Sie erfüllen als lösliche und unlösliche Ballaststoffe unterschiedliche Funktionen. Sie entfalten unterschiedliche Wirkungen im Gastrointestinaltrakt und haben Einfluss auf den Stoffwechsel (148). Den Wirkungen von Ballaststoffen in Hinblick auf das Steinleiden kann folgenden Eigenschaften zugeschrieben werden:

- Reduzierung der intestinalen Transitzeit → Verringerung der Verweildauer der Nahrung im Darm und somit Verringerung der Absorption z.B. von steinbildenden Substanzen wie Oxalat
- Komplexierung mit mehrwertigen-Kationen (z.B. Calcium- und Magnesium-Ionen) → Verminderte Absorption und Ausscheidung dieser steinbildenden Ionen, aber auch Gefahr der vermehrten Absorption anderer Ionen (z.B. Oxalat)
- Einfluss auf die Darmflora
- Geringere Aufnahme von Kalorien durch einen hohen Ballaststoffanteil in der Nahrung

Der Effekt, der diesen Eigenschaften zugeschrieben wird, ist eine verringerte Ausscheidung von lithogenen Substanzen wie Calcium und Harnsäure, sowie ein Anstieg der inhibitorischen Substanzen der Calciumoxalat-Kristallisation im Urin.

Die Rolle von Ballaststoffen (wie oben aufgeführt, ein Sammelbegriff für unterschiedliche Substanzen verschiedenem Ursprungs) auf die Calciumoxalat-Steinbildung ist nicht eindeutig geklärt und wird kontrovers diskutiert. In einigen Studien wurde eine Senkung der Oxalat-Absorption bzw. -Ausscheidung im Urin durch Ballaststoff-Supplementation beobachtet (85;149). Andere Studien hingegen fanden einen Anstieg in der Oxalat-Absorption bzw. -Ausscheidung im Urin unter ballaststoffreicher Ernährung (105;150;151).

3.4.7.1 Phytinsäure

Phytinsäure (myo-Inositolhexaphosphat) ist der Hexaphosphorsäureester des Meso-Inosits. Phytinsäure findet sich in allen pflanzlichen Samen und damit vor allem in Getreidevollkornprodukten (ca. 1 %), Hülsenfrüchten (1-2 %) und Nüssen (2-5 %). Sie ist vornehmlich in den Randschichten der Körner eingelagert und dient der Pflanze u.a. als Speicherform für Phosphor und bei der

Keimung als Energiequelle. Lebensmittel mit unterschiedlichen Phytinsäuregehalten sind in Tabelle 3 dargestellt. Bei der Magen-Darm-Passage kann die Phytinsäure unter bestimmten Bedingungen essentielle Spurenelemente und Mineralstoffe (wie Eisen, Zink und Calcium) binden und dadurch deren Resorption im Dünndarm beeinträchtigen. Phytinsäure bildet zusammen mit diesen positiv geladenen Kationen Komplexe, die nicht mehr gespalten und somit nicht resorbiert werden können. Somit könnte eine vermehrte Phytinsäurezufuhr die Menge an freier Oxalsäure im Gastrointestinaltrakt erhöhen, diese vermehrt absorbiert werden und die renale Oxalat-Ausscheidung erhöhen.

Bei Zufuhr einer gemischten Kost, wie sie in westlichen Industrieländern üblich ist, kann davon ausgegangen werden, dass der Mineralstoffhaushalt durch Phytinsäure nicht beeinträchtigt ist.

Tabelle 3: Phytinsäuregehalte ausgesuchter Lebensmittel pro 100 g (152).

Weizenkleie	3610 mg	Bohne, Samen, weiß, trocken	800 mg
Weizenkeime	1470 mg	Mungobohne, Samen, trocken	629 mg
Erdnuss	1336 mg	Vollkornbrötchen	330 mg
Sojabohne, Samen trocken	1250 mg	Kichererbse, Samen grün	280 mg
Gerste, ganzes Korn	1070 mg	Roggenbrot	250 mg
Roggen, ganzes Korn	970 mg	Pumpernickel	100 mg
Mais, ganzes Korn	940 mg	Weizenbrot	20 mg
Hafer, ganzes Korn	900 mg	Banane	20 mg
Reis, unpoliert ungekocht	890 mg	Avocado	17 mg

Auf der anderen Seite besitzen Phytate einen stark hemmenden Effekt auf die Kristallisation von Calciumsalzen wie z.B. Calciumoxalat im Urin (153;154). So konnte in Tierstudien eine Phytinsäure-Supplementation das Auftreten einer Nephrolithiasis reduzieren (155).

Bei Calciumoxalat-Steinpatienten findet sich oft eine erniedrigte renale Phytat-Ausscheidung (154). In einer großen prospektiven Beobachtungsstudie konnte

ein inverser Zusammenhang zwischen der Phytatzufuhr und dem Auftreten von Harnsteinen gefunden werden (39).

3.4.7.2 Urinvolumen

Die Empfehlung einer hohen Flüssigkeitszufuhr, um das Urinvolumen zu erhöhen, war eine der ersten und zugleich wirksamsten Behandlungsmethoden der Urolithiasis (156). Auch heute ist die Anhebung des Urinvolumens ein wichtiges Hilfsmittel in der Prävention und Rezidivprophylaxe der Urolithiasis. Auf der einen Seite wird durch die Urinverdünnung die Übersättigung des Urins mit lithogenen Substanzen und somit die Gefahr der Kristallisation und Steinformation reduziert. Auf der anderen Seite wird durch die Erhöhung der Urinmenge die Urinpassagezeit durch die harnableitenden Wege verkürzt und somit die Verweildauer der eventuell im Urin vorhandenen Bakterien (157). Die erste prospektive Studie verglich zwei Regionen in Israel. Dabei war die Häufigkeit von Harnsteinen in der Region, in der ein Erziehungsprogramm mit dem Zweck die Trinkmenge anzuheben etabliert war, geringer, als in der Region ohne entsprechende Anweisungen (158). Eine randomisierte Studie an 199 Calciumoxalat-Steinbildnern hat gezeigt, dass während eines 5-jährigen Follow-ups in der Patientengruppe, die eine Anweisung zur Erhöhung ihrer Trinkmenge auf zwei Liter am Tag erhalten haben 12 % rezidierten. In der Patientengruppe ohne spezifische Anweisungen zur Trinkmengen Zufuhr lag die Rezidivrate bei 27 %. Das zeitliche Intervall in dem die Rezidive auftraten, war signifikant länger in der Patientengruppe mit den spezifischen Anweisungen zur Trinkmengenerhöhung, als zu der Gruppe ohne Anweisungen (159). Es sollte, gleichmäßig über den Tag verteilt, soviel getrunken werden, dass ein Gesamt-Urin-Volumen von mindestens 2,5 Liter/Tag erreicht wird. Dabei sollte bei der Wahl der Getränke zur Urinverdünnung immer die Steinzusammensetzung berücksichtigt werden, um die Urinzusammensetzung und den Urin-pH-Wert entsprechend zu modulieren (160).

3.5 Calciumoxalat-Steinbildung

Einleitung

Harnsteine sind feste Gebilde, die durch Störungen des physikalisch-chemischen Gleichgewichtes und/oder des urodynamischen Harnsystems und seiner ableitenden Organe von den Sammelröhren (Tubuli) bis zur Harnröhre entstanden sind. Sie bestehen aus vorwiegend kristallinen und weniger amorphen organischen und/oder anorganischen Bestandteilen, die von einer nicht kristallinen hochmolekularen Substanz (organische Matrix) durchsetzt sein können (161). Die Steinbildung läuft in mehreren Stufen ab und ist in Abbildung 6 dargestellt.

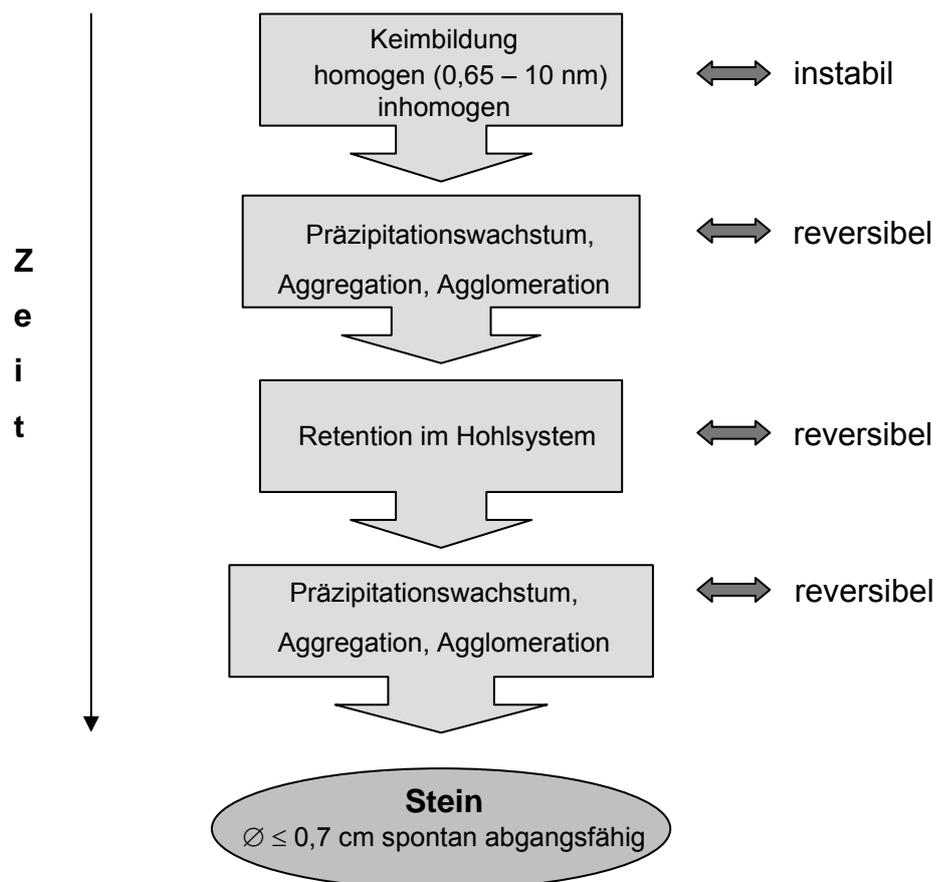


Abbildung 6: Steingenese (162).

Calcium-Oxalat Übersättigung und Steinbildung

Der Kristallisationsprozess kann in Gang gesetzt werden, wenn das Ionenaktivitätsprodukt der betreffenden Kristallbildner (z.B. Calcium und Oxalat) die Löslichkeitsgrenze (Löslichkeitsprodukt) überschreitet. In diesem Fall spricht man von einer übersättigten Lösung. Das Löslichkeitsprodukt ist ein konstanter, für jede schwerlösliche Verbindung charakteristischer Wert. Für Calciumoxalat ist es in folgender Gleichung wiedergegeben:

$$L = [\text{Ca}^{2+}] \times [\text{C}_2\text{O}_4^{2-}] = 1,8 \times 10^{-9} \text{ (mol/l)}^2$$

Setzt in einem übersättigten Urin spontane Kristallbildung ein, spricht man von einer instabilen Lösung. Kleine Kristalle sind weniger stabil und ihre Löslichkeit ist hoch. In einer metastabilen Lösung sind Kristallkeime (Fremdkörper, Kristalle, Zelltrümmer) als Initiatoren für das Auskristallisieren bzw. Ausfällen erforderlich. In dieser kann eine spontane Kristallbildung nicht eintreten. Als metastabile Lösung kann der Urin in Sammelrohr oder Papille das 2- bis 10-fache an Calciumoxalat transportieren, ohne dass es zu Spontanausfällungen kommt. Verantwortlich dafür sind Inhibitoren der Kristallbildung (z. B. Nephrocalcin, Pyrophosphat) sowie Ca^{2+} -Komplexbildner (z. B. Citrat, Proteine mit Ca^{2+} -bindenden Resten). Diese können die Konzentration an freien Ca-Ionen niedrig halten. Eine wichtige Rolle bei der Harnsteinbildung spielen die Konzentrationsverhältnisse im Urin, die ihrerseits vom Urin-Volumen abhängen. Dabei wird die Kristallbildung durch verschiedene Faktoren gefördert:

- Erhöhte Konzentration an kristallisationsfördernden Verbindungen im Urin, durch vermehrte Zufuhr oder Bildung, verminderte Reabsorption oder durch ein niedriges Urin-Volumen
- Vorhandensein von Kristallisationskeimen (z. B. durch Entzündungen)
- Erniedrigte Konzentration von Kristallisationsinhibitoren oder Komplexbildnern im Urin
- Ionenaktivitäten der Kristallbildner

- Veränderungen des pH-Wertes (Löslichkeitsänderung)

Die Übersättigung des Urins ist Voraussetzung für die Bildung von Kristallkeimen, diese wiederum stellen die Voraussetzung für ein Kristallwachstum dar. Unter der kritischen Nukleationsgröße können Kristalle so instabil sein, dass sie schneller zerfallen, als weiter zu wachsen. Die Rate, mit der Partikel dieser Größe sich formen und überleben, nennt man die Nukleationsrate.

Obwohl der Urin von Gesunden immer übersättigt ist, kommt es trotz einer Bildung von ca. 10 Millionen Kristalliten pro Tag fast nie zu einer Steinbildung (163). Dies ist auf das Vorhandensein von Kristallisationsinhibitoren im Urin zurückzuführen. Kommt es aber nach einer Keimbildung durch Anhaftung (Aggregation) und Festkörperbindung (Agglomeration) von Ionen und Molekülen zur Entstehung von makroskopischen Kristallen (homogene Kristallisation), kann im Laufe der Zeit, unter Retention, ein Stein entstehen. Eine andere Form der Kristallisationseinleitung ist die Kristallisation auf Fremdpartikeln oder Fremdoberflächen (heterogene Kristallisation). Beide Formen der Kristallisation finden sich beim Calciumoxalat.

3.6 Risikoindizes der Urin-Übersättigung

Es wurde eine Reihe von Risikoindizes entwickelt, um das Kristallisationsrisiko im Urin zu ermitteln. Ein Maß für das Kristallisationsrisiko stellt die Urin-Übersättigung bzw. die relative Urin-Übersättigung (SS = Super Saturation bzw. RS = Relative Saturation) dar. Diese ist die thermodynamische Triebkraft der Kristallisation. Diese errechnen sich aus dem Ionenaktivitäts- (= a) und Löslichkeitsprodukt (= a_0) der steinbildenden Substanzen im Urin:

$$\text{Super Saturation (SS)} = a / a_0 \quad \text{Relative Saturation (RS)} = (a - a_0) / a_0$$

Bei $SS < 1$ ist der Urin untersättigt, d.h. eine Kristallbildung kann nicht stattfinden. Im Bereich $SS \leq 1$ ist der Urin zwar gesättigt, befindet sich aber im sogenannten metastabilen Bereich, einem thermodynamisch labilen Zustand, indem sich zwar kleine Kristalle bilden können, diese sich aber wieder auflösen. Die Größe dieses metastabilen Bereichs hängt individuell von zahlreichen im Urin vorhandenen inhibitorischen und promotorischen Substanzen ab. Der Urin ist übersättigt, wenn $SS > 1$, eine Nukleation kann stattfinden. Aus den spezifischen Gegebenheiten im Urin resultiert das Bildungsprodukt a_b . Die Urin-Sättigung wird in verschiedene Bereiche eingeteilt und ist Abbildung 7 zu entnehmen.

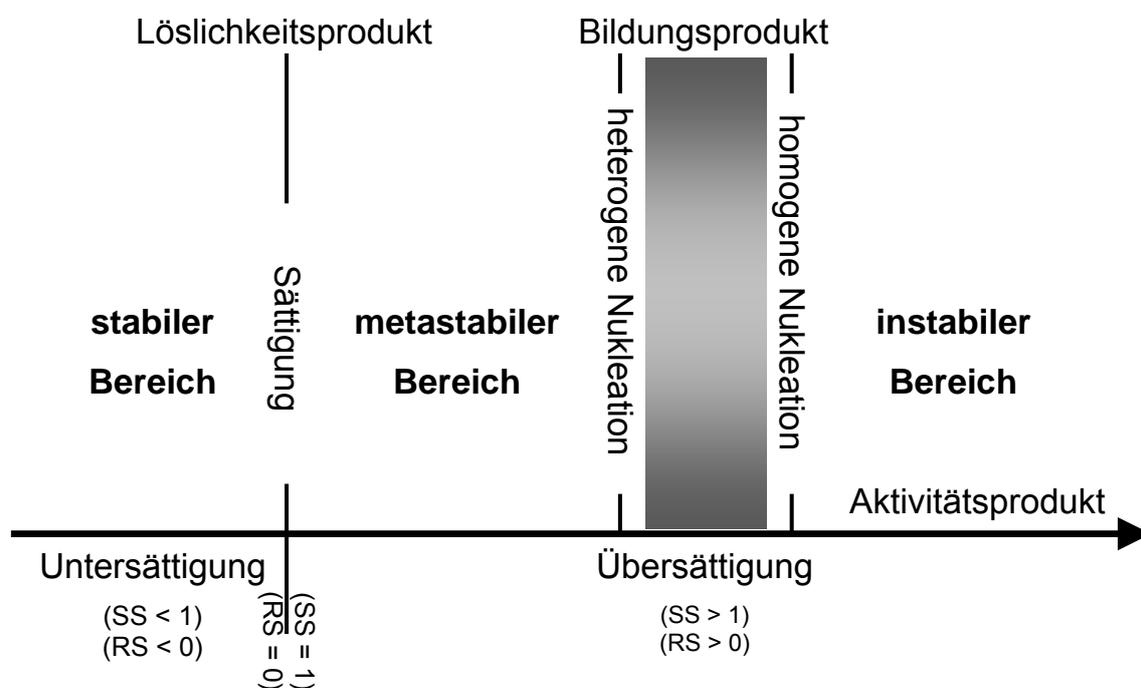


Abbildung 7: Bereiche der Urin-Sättigung (162).

Der SS-Wert im Urin kann nie exakt, sondern immer nur annähernd berechnet werden. Ein Programm, das von Werness et al. (6) entwickelt wurde, kann diese relative Übersättigung im Urin berechnen. Dieses Computerprogramm EQUIL kann aus den Konzentrationen bestimmter Urinparameter und dem Urin-

pH-Wert das Kristallisationsrisiko für verschiedene Steinarten modellhaft bestimmen (6;164;165). Das Programm basiert auf einem allgemeinen thermodynamischen Modell, in das bis zu 23 Ionenkonzentrationen eingegeben werden können. Aus diesem Datensatz und dem pH-Wert kann z.B. die relative Calciumoxalat-Übersättigung eines Urins ermittelt werden (6;166).

Ein vereinfachter Risikoindex zur Bestimmung der Calciumoxalat-Übersättigung ist der von Tiselius entwickelte AP(CaOx)-Index. Dieser errechnet sich aus den Konzentrationen an Calcium, Oxalat, Magnesium und Citrat (in mmol) und dem Volumen (in Liter) einer Urin-Probe. Je nach Länge der Urinsammlung wird folgender Korrekturfaktor eingesetzt: 3,2 für eine 8-, 2,3 für eine 16- und 1,9 für eine 24-stündige Sammelperiode (167-169). Der AP(CaOx)-Index ist eine einfache Berechnungsmöglichkeit des Calciumoxalat-Kristallisationsrisikos und findet vielfache Anwendung in der Routinediagnostik (168;170-172). Die Formel zur Berechnung des AP(CaOx)-Indexes ist im Material- und Methodenteil, unter 4.1.5 Auswertungsverfahren und statistische Methoden (Seite 70), wiedergegeben.

Der Nachteil aller dieser Risikoindizes ist allerdings, dass der Beginn eines Kristallisationsprozesses im Urin nicht nur von der Höhe der relativen Übersättigung abhängt, sondern auch von anderen im Urin befindlichen inhibitorisch und promotorisch wirkenden Substanzen. Diese werden nur teilweise in die Berechnung einbezogen. Die Bestimmung all dieser auf den Kristallisationsprozess Einfluss nehmender Substanzen wäre zu aufwendig und auch nicht möglich. Eine Lösung dieser Problematik für die Calciumoxalat-Kristallbildung bietet der Bonn-Risk-Index (BRI), der in der Experimentellen Urologie des Universitätsklinikums Bonn entwickelt wurde (173;174). Der BRI wird mit Hilfe eines In-vitro-Kristallisationsexperiments an unbehandelten Nativurinen bestimmt. Im Anschluss an die Urin-Sammlung wird die Konzentration der freien Kalziumionen im Urin gemessen. In einem standardisierten Verfahren wird zu einem Urinaliquot solange eine Oxalat-Lösung titriert, bis eine Calciumoxalat-Kristallisation einsetzt. Der Kristallisationsbeginn wird mit einem Photometer bestimmt. Aus der bis zum Moment der

einsetzenden Calciumoxalat-Bildung der Probe zugeführten Oxalatmenge und der Calciumionen-Konzentration wird der BRI berechnet:

$$\text{BRI} = [\text{Ca}^{2+}] / (\text{Ox}^{2-})$$

Die Einheit des BRI ist [pro Liter]. Ein BRI von 1/l trennt am besten die Proben von Steinbildnern und Gesunden. Proben mit einem BRI > 1/l werden als risikobehaftet, Proben mit einem BRI < 1/l als vernachlässigbares Risiko betrachtet. Der BRI hat sich als Routinemethode zur Bestimmung des aktuellen Calciumoxalat-Kristallisationsrisikos bewährt (175-177).

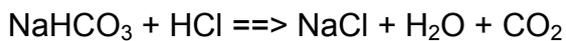
3.7 Wirkungsweise und Einsatz eines Antacidums und Antidiarrhoicums in der Urologie

3.7.1 Nephrotrans[®]

Allgemeines

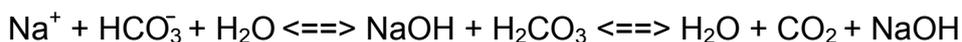
Der Wirkstoff des häufig in der Urologie und Nephrologie angewendeten Antacidums Nephrotrans[®] der Firma Medice ist Natriumhydrogencarbonat. Es wird zur Behandlung der stoffwechselbedingten Übersäuerung des Blutes (metabolische Acidose) und zur Anhebung des Urin-pH-Wertes, bei der Behandlung und der Metaphylaxe verschiedener Harnsteinerkrankungen, angewendet. Besonders Patienten mit enteraler Hyperoxalurie, Calciumoxalat-Steinen und renal-tubulärer Acidose (RTA) werden mit Natriumhydrogencarbonat behandelt. Gleichzeitig kann eine Hypercalciurie deutlich reduziert und das Kristallisationsrisiko für Calciumoxalat gesenkt werden (178;179). Der Ausgleich der metabolischen Acidose mit oralem Natriumhydrogencarbonat ist durch verschiedene Studien sehr gut belegt (180-183). Die übliche Dosierung beträgt 3 x 2 Kapseln (2-2-2) mit je 500 mg Natriumhydrogencarbonat. Natrium-

hydrogencarbonat, chemisch NaHCO_3 , wird auch als Bicarbonat bezeichnet. Es wird meist als ein feines weißes Pulver angeboten und zersetzt sich oberhalb einer Temperatur von ca. $50\text{ }^\circ\text{C}$ unter Abspaltung von Wasser und Kohlendioxid. Es ist ein Natriumsalz der Kohlensäure. Im Magen (pH-Wert ca. 1 bis 3,5) reagiert Natriumhydrogencarbonat bei Kontakt mit der Magensäure (entsprechend einer 0,03 molaren Salzsäure) schäumend zu Kochsalz, Wasser und Kohlendioxid nach folgender Gleichung:



Durch diese Eigenschaft, der Neutralisation von Säuren, wurde Natriumhydrogencarbonat als Mittel gegen Sodbrennen eingesetzt.

Doch hat es zum Nachteil, dass das Gas zum Aufstoßen und zu Blähungen führt und gilt daher heute als obsolet. Als magensaftresistente Kapsel, z.B. in Form des Antacidum Nephrotrans[®], wird das Natriumhydrogencarbonat erst im Dünndarm freigesetzt. Die erhöhte Aufnahme der Natriumionen und der Hydrogencarbonationen ins Blut resultiert in einem Anstieg des Blut-pH-Wertes, da es mit den dort vorhandenen Wasserstoff-Ionen folgendermaßen reagiert:



Das entstandene Kohlendioxid wird abgeatmet und durch die vermehrte Ausscheidung von Natronlauge mit dem Urin kommt es zum Anstieg des Urin-pH-Wertes. Das im Dünndarm freigesetzte Natriumhydrogencarbonat wird dort lokal für einige Zeit den intestinalen pH-Wert erhöhen. Dieser liegt im Durchschnitt im Duodenum bei ungefähr pH 6 (proximal ca. pH 5, distal ca. pH 6) (184). Da der Dünndarm den Hauptort der Oxalat-Absorption darstellt, könnte durch die Erhöhung des pH-Wertes mehr Oxalat Calcium komplexieren. Somit würde weniger freies Oxalat für die Absorption zur Verfügung stehen und weniger Oxalat mit dem Urin ausgeschieden werden, da die Löslichkeit von Calciumoxalat eine Funktion des pH-Werts ist. Oxalat wird in der Niere durch freie glomeruläre Filtration und zusätzliche tubuläre Sekretion (Anteil: 60 % bis

130 % des glomerulär filtrierte Oxalats) renal eliminiert. Im proximalen Tubulus wird Oxalat über einen Oxalat/Sulfat(Bicarbonat-)Austauscher aus dem Blut in die peritubuläre Kapillare in die Tubuluszelle aufgenommen. Dieser ist durch Veränderungen des Bicarbonatgradienten an einen Chlorid/Bicarbonat-austausch gekoppelt. An der luminalen Membran existieren zwei entgegengesetzte Oxalattransporter, der Natrium-Sulfat(Oxalat)-Cotransporter (in die Tubuluszelle) und der Oxalat(Formiat)/Chloridaustauscher (ins Tubuluslumen). Dabei könnte die renale Oxalatekretion von der Aktivität des luminalen Natrium/Protonenaustausches, d.h. vom Säure-Basen-Gleichgewicht, abhängen. Im Tierexperiment bewirkte bereits eine milde Säurebelastung des Organismus eine stark erhöhte Oxalatekretionsrate, in Einzelfällen stieg diese um > 100 %. Bei gesunden Probanden bei denen durch Hemmung der Carboanhydrase das Säure-Basen-Gleichgewicht in Richtung Acidose verschoben wurde stieg die renale Oxalatekretionsrate (14;15). Da das Medikament Nephrotrans[®] einen Einfluss auf das Säure-Basen-Gleichgewicht ausübt, könnte durch dessen Gabe gleichzeitig die Oxalatausscheidung im Urin beeinflusst werden. Über die Wirkungsweise von Natriumhydrogencarbonat auf den intestinalen pH-Wert liegen bis heute keine Studien vor (laut Hersteller der Medikaments Nephrotrans[®], Medice Arzneimittel, Iserlohn). Daher war der Zweck der Studie, durch die Gabe von Nephrotrans[®], den Einfluss des gastrointestinalen pH-Wertes auf die Oxalat-Absorption zu untersuchen. Das Natriumhydrogencarbonat wird durch die magensaftresistente Kapsel erst im Dünndarm, dem Hauptort der Oxalat-Absorption, freigesetzt und ist in der Lage, dort akut den intestinalen pH-Wert zu erhöhen. Durch die Erhöhung des pH-Wertes könnte weniger freies Oxalat für die Absorption zur Verfügung stehen und in Folge auch weniger Oxalat mit dem Urin ausgeschieden werden.

3.7.2 Imodium[®]

Der Wirkstoff des häufig in der Urologie und besonders bei Patienten nach Ileostomie oder Resektion des Ileums und Morbus Crohn eingesetzten

Antidiarrhoikums Imodium[®] ist das Loperamidhydrochlorid. Nach seiner Synthese im Jahre 1969 ist die antidiarrhoeische Wirkung durch zahlreiche Studien sehr gut belegt (185-188). Das Medikament Imodium[®] wird zur symptomatischen Behandlung akuter und chronischer Diarrhoe verschiedenster Genese angewendet, beispielsweise bei entzündlichen Darmerkrankungen, um die mit dieser Erkrankung verbundenen Diarrhoen zu lindern. Diese Patienten leiden oft an einer chologen Diarrhoe, die durch eine verminderte Gallensäurerückresorption im enterohepatischen Kreislauf verursacht wird. Diese Erkrankung kann mit dem Auftreten einer Calciumoxalat-Urolithiasis (bei ungefähr 10 % der Patienten) verbunden sein, welche drei Hauptursachen hat: Zum einen entsteht durch die Flüssigkeitsverluste, infolge der Diarrhoen, eine Dehydratation, welche ein vermindertes Urinvolumen und die Bildung eines konzentrierten Urins zur Folge hat (189). Dies wiederum stellt ein höheres Kristallisationsrisiko dar. Zum anderen kommt es infolge der Bildung von Kalkseifen (verursacht durch die Malabsorption von Fett; die freien Fettsäuren bilden in Folge mit Calcium-Ionen Kalkseifen im Intestinaltrakt) zu einer verminderten Oxalatpräzipitation durch Calcium im Darmlumen und somit zu einer vermehrten Oxalat-Absorption (190). Letztendlich reduzieren die malabsorbierten Gallensäuren den pH-Wert im Intestinaltrakt, was zu einer gesteigerten Absorption von Oxalat, durch erhöhte Permeabilität der Darmwand, besonders im Colon, führen kann (43;50;51;191;192). Wird in einer solchen Phase das Antidiarrhoicum Imodium[®] appliziert, könnte dies wiederum einen Einfluss auf die Oxalat-Absorption im Intestinaltrakt ausüben, da dieses Medikament die Darmmotilität verringert und die Darmpassagezeit verlängert. Der Anstieg der intestinalen Transitzeit ist im menschlichen Jejunum und Ileum, nicht aber im Colon von der Loperamiddosis abhängig. In Studien, in denen die oroäkale Transitzeit mit Hilfe des Lactulose-H₂-Atemtestes gemessen wurde, führte die Gabe von 2 - 64 mg Loperamid zu einem Anstieg der Transitzeit (193-196). Eine Dosis von 12 mg Loperamid verdoppelt fast die jejunale Transitzeit und steigert die des Ileums um fast 50 % (197;198;198;199). Die übliche Dosierung beim Erwachsenen beträgt bei akuten Durchfällen 2 Kapseln (entsprechend 4 mg Loperamidhydrochlorid) zu Beginn der Behandlung und

anschließend nach jedem ungeformten Stuhl jeweils 1 Kapsel. Loperamid wird aus der Imodium[®]-Kapsel nach oraler Verabreichung rasch aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert. Maximale Plasmaspiegel werden ca. 4 Stunden nach der Einnahme gemessen. Die Plasmahalbwertszeit liegt zwischen 9 Stunden und 14 Stunden, im Mittel bei 10,8 Stunden. Loperamid wird fast vollständig durch die Leber metabolisiert und konjugiert mit der Galle ausgeschieden. Loperamid wird hauptsächlich mit den Fäzes und nicht mit dem Urin ausgeschieden.

Loperamid dringt kaum ins zentrale Nervensystem ein, so dass es in erster Linie an den peripheren μ -Opiatrezeptoren in der Darmwand seine Wirkung entfaltet (193;200-202). Loperamid zeichnet sich durch einen raschen Wirkungseintritt und eine lange Wirkungsdauer aus. Studien mit Ratten zeigten, dass Loperamid eine große Affinität für die Darmwand besitzt und sich bevorzugt an die Rezeptoren in der longitudinalen Muskelschicht bindet. Es blockiert die neurale Freisetzung von Acetylcholin und Prostaglandin, wodurch die propulsive Peristaltik gehemmt, die Wasserresorption erhöht und die intestinale Transitzeit verlängert wird (203;204). Dadurch verweilt die Nahrung länger im Gastrointestinaltrakt und die Zeit, in der das Nahrungsoxalat absorbiert werden kann, wird verlängert. Es ist anzunehmen, dass die Oxalat-Absorption auch von der Transitzeit des Nahrungsbreis abhängt (17). Somit war das Ziel dieser Testphase, den Einfluss einer Einmalgabe eines die gastrointestinalen Transitzeit erhöhenden Medikamentes auf die Oxalat-Absorption zu klären, was bis heute noch nicht untersucht worden ist.

4 Eigene Untersuchungen

4.1 Material und Methoden

Die Arbeit gliedert sich in zwei Studien, in denen der Einfluss zweier vegetarischer Kostformen mit niedrigem und hohem Oxalat-Gehalt (Studie 1) und der Einfluss eines Antidiarrhoikums und Antacidums (Studie 2) auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin untersucht worden sind:

4.1.1 Studiendesign

Beide Studien wurden in der Experimentellen Urologie am Universitätsklinikum Bonn durchgeführt. Es handelt sich bei den Studien um offene Studien mit jeweils 8 gesunden, freiwilligen Probanden. Die Messung der gastrointestinalen Oxalat-Absorption und der renalen Oxalat-Ausscheidung erfolgte jeweils mit dem [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest. Jeder Proband der am [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest teilnahm, durfte mindestens drei Tage vor Testbeginn weder Alkohol getrunken noch Medikamente in der Woche vor Beginn des Tests eingenommen haben. Der [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest fand an zwei aufeinander folgenden Tagen statt. An beiden Tagen musste eine genau definierte Standardkost eingehalten (Beschreibung der jeweiligen Kostformen der Studien siehe Punkt 4.1.2.1, Seite 44 und 4.1.2.2, Seite 48) und jeweils der 24-h Urin gesammelt werden.

Die Mahlzeitenverteilungs- bzw. Urinsammelungs-Zeiten waren genau festgelegt (siehe Abbildung 8, Seite 41) und exakt einzuhalten für alle durchgeführten [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstests.

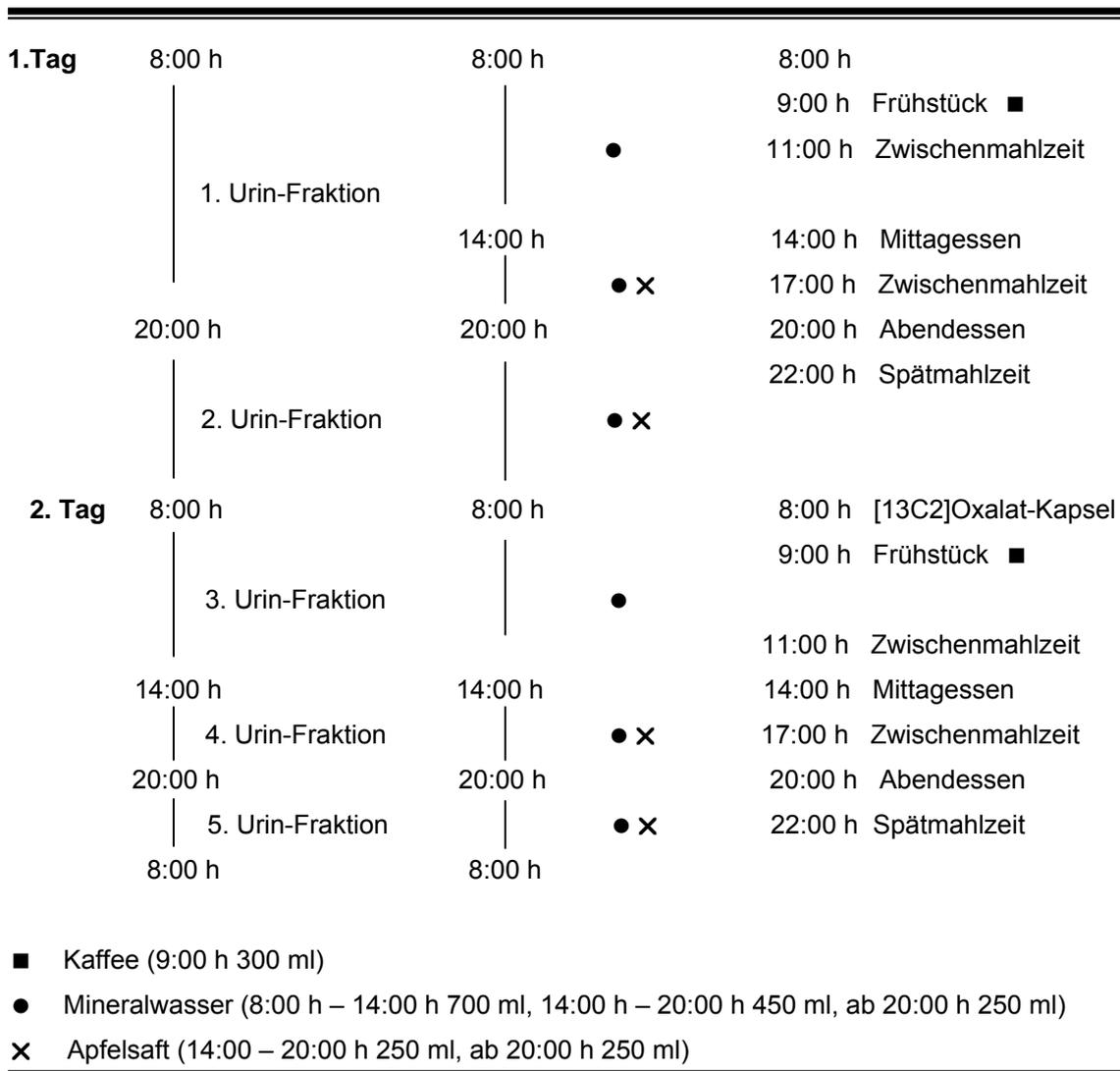


Abbildung 8: Zeitplan für den [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest: Mahlzeiten-/Getränkeverteilung und Urinsammlung.

Tag 1 - Leerurin:

Der erste Tag diente der Annäherung an ein „steady state“, um individuelle Nahrungseinflüsse auf die Oxalat-Absorption zu minimieren. Aus dem gesammelten 24-h Urin (12-h, 12-h) wurde die Kalibrierungsgerade für die Messung am GC/MS erstellt.

Tag 2 - Testtag:

Dieser Tag diente der Messung der Oxalat-Absorption. Am Testtag wurde morgens um 8.00 h nüchtern eine magensaftlösliche Kapsel mit [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat in Form von 50 mg $\text{Na}_2^{13}\text{C}_2\text{O}_4$ eingenommen. Die Sammlung des 24-h-Urins erfolgte in drei Fraktionen (6-h, 6-h, 12-h).

4.1.2 Probandenkollektive

Probanden, die in die Studie aufgenommen wurden, mussten bestimmte Ein- bzw. Ausschlusskriterien erfüllen, Einzelheiten dazu sind in Tabelle 4 wiedergegeben.

Tabelle 4: Ein- und Ausschlusskriterien für beide Studien

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> • Männer und Frauen (mit effektiver Kontrazeption) im Alter von 18 – 70 Jahren • BMI: zwischen 18 und 30 • Normale Nierenfunktion • Keine chronischen intestinalen Erkrankungen • Die Probanden haben den Hintergrund und die Risiken der Studie verstanden, sowie die Probandeninformation gelesen • Die Probanden sind mit allen Untersuchungen und Tests einverstanden • Die Probanden haben die Einverständniserklärungen unterschrieben • Keine Ergebnisse der Einschlussuntersuchung sollten auf eine Erkrankung hinweisen und die Sicherheit der Studie beeinträchtigen 	<ul style="list-style-type: none"> • Störungen des Mineralstoff-Metabolismus • Krankheiten der Verdauungsorgane, Nieren und Harnwege • Jegliche klinisch signifikante Erkrankungen oder Krankheitsgeschichten, die nach der Meinung des Studienleiters ein Risiko für den Probanden während der Studie darstellen • Schwangerschaft • Einnahme von Antibiotika in den letzten vierzehn Tagen vor Studienbeginn • Bakterielle Darminfektion • Teilnahme an einer klinischen Studie innerhalb der letzten 30 Tage • Compliance nicht zu erwarten • Fehlende Einverständniserklärung/en • Erfordernis einer nicht erlaubten Begleitmedikation • Drogen- oder Alkoholabusus • Urinparameter außerhalb des jeweiligen Referenzbereichs

Probanden, die in die Studie eingeschlossen wurden, erhielten entsprechend der Reihenfolge ihrer Aufnahme in die Studie eine fortlaufende Nummer, unter

der die Unterlagen anonym geführt wurden. Eine Löschung der Daten nach der Aufbewahrungsfrist (10 Jahre nach Publikation) ist vorgesehen, so dass die personenbezogenen Daten für andere unzugänglich sind.

Die Probanden mussten für die Aufnahme in die Studie frei von Harnsteinen, gastrointestinalen und renalen Erkrankungen sein. Dies wurde anhand einer ausführlichen Anamnese und durch die Bestimmung des Combur⁹ Tests[®] der Firma Roche Diagnostics zur Urinschnelldiagnostik festgestellt. Mit diesem Test wurden folgende Urinparameter bestimmt: pH-Wert, Leucozyten, Nitrit, Protein, Glucose, Ketonkörper, Urobilinogen, Bilirubin, Blut (Erythrozyten und Hämoglobin).

Ausserdem durfte keine die Studie beeinflussende Medikation (z.B. Antibiotikaeinnahme) in den letzten 14 Tagen vor Studienbeginn erfolgt sein.

Beide Studien wurden von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn begutachtet und zugelassen. Vor Aufnahme in die Studie wurden die Probanden ausführlich und in verständlicher Form über den Hintergrund, den Ablauf und die Auswertung der Untersuchungen und über die Testbedingungen in mündlicher und schriftlicher Form informiert. Die Einhaltung und zeitliche Abfolge der Standardkost, sowie der Urinsammelfraktionen, als auch die vollständige Aufnahme der Oxalat-Kapsel und der Medikamente wurde durch die ausführliche Aufklärung und Erläuterung der Studienabläufe, in mündlicher und schriftlicher Form, vor Beginn der Studie sichergestellt. Desweiteren bekamen die Probanden eine schriftliche Probandeninformation. Die Probanden, die an der Studie teilnahmen, hatten für jeden durchgeführten Test jeweils eine Probanden-Einverständniserklärung zu unterschreiben. Dabei stand es den Probanden frei, ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Studie jederzeit rückgängig zu machen (Deklaration Helsinki).

An den 2 Studien nahmen jeweils 8 gesunde Probanden teil. Tabelle 5 (Seite 44) zeigt die anthropometrischen Merkmale und das Alter der teilnehmenden Probanden als Mittelwert und Standardabweichung des Gesamtkollektives sowie nach Männern und Frauen getrennt.

Tabelle 5: Anthropometrische Merkmale und Alter der Probandenkollektive (MW \pm SD).

Studie	Kost-Formen mit unterschiedlichem Oxalat-Gehalt	Einfluss von Imodium [®] /Nephrotrans [®]
Probanden-Anzahl (m./w.)	8 (3/5)	8 (5/3)
Alter [Jahre] (m./w.)	28,6 \pm 6,3 (27,3 \pm 1,5 / 29,4 \pm 8,1)	38,6 \pm 17,6 (42,0 \pm 21,8 / 30,5 \pm 8,1)
Körpergewicht [kg] (m./w.)	70 \pm 18 (91 \pm 9 / 58 \pm 4)	73 \pm 15 (81 \pm 13 / 60 \pm 4)
Körpergröße [m] (m./w.)	1,76 \pm 0,13 (1,91 \pm 0,02 / 1,67 \pm 0,04)	1,77 \pm 0,10 (1,83 \pm 0,08 / 1,68 \pm 0,01)
BMI [kg/m ²] (m./w.)	22,33 \pm 2,71 (24,79 \pm 2,78 / 20,85 \pm 1,31)	23,00 \pm 2,71 (24,07 \pm 2,83 / 21,23 \pm 1,50)

4.1.2.1 Ablauf Studie 1: Einfluss vegetarischer Kost mit unterschiedlichem Oxalatgehalt auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin

Die Studie gliederte sich in drei Testphasen, in denen jeweils unterschiedliche, genau definierte Kostformen im Rahmen des [¹³C₂]Oxalat-Absorptionstests aufgenommen wurden. Jede Testphase bestand aus einer zweifachen Wiederholung des Oxalat-Absorptionstests, um die intraindividuelle Variation zu minimieren, so dass jeder Proband insgesamt 9 Tests durchführen musste. In der ersten Testphase erhielten die Probanden eine standardisierte Misch-Kost mit 63 mg Oxalat, diese war als Grundlage für die Erfassung der Referenzwerte der gastrointestinalen Oxalat-Absorption verwendet worden (205). Diese Testphase diente dazu, die Oxalat-Absorption der Probanden unter einer ausgewogenen Misch-Kost zu erfassen und Probanden mit einer Oxalat-Hyperabsorption auszuschließen. In der zweiten und dritten Testphase nahmen die Probanden während des Oxalat-Absorptionstests jeweils eine vegetarische Kost zu sich. Diese orientierte sich in Ihrer Zusammensetzung an der Misch-

Kost, besonders die Nährstoffmengen bis 14:00 h (ungefähr 75 – 80 % des mit der Kapsel verabreichten [$^{13}\text{C}_2$]Oxalates wird in den ersten 6 Stunden wieder ausgeschieden) wurden bei allen drei Kostformen gleichgehalten.

Für die Zusammenstellung der vegetarischen Kostformen wurden praktikable, natürliche und gängige Lebensmittel verwendet. In der Nährstoffzusammensetzung entsprachen sie den „D-A-CH-Referenzwerten“ der Gesellschaften für Ernährung in Deutschland, Österreich und der Schweiz (siehe Tabelle 6) für die der Studie zugrunde liegende mittlere Altersklasse (21).

Tabelle 6: Nährstoffzusammensetzung der 3 Kostformen.

	Misch-Kost 63 mg Oxalat	Vegetarische Kost 70 mg Oxalat	Vegetarische Kost 300 mg Oxalat
Kalorien [kcal]	2375	2685	2714
Kohlenhydrate [g]	341	410	410
Eiweiß [g]	67	59	61
Fett [g]	78	83	85
Ballaststoffe [g]	29	31	25
Calcium [mg]	723	1035	985
Phosphat [mg]	1052	1205	1160
Magnesium [mg]	669	352	351
Natrium [mg]	4222	3651	4554
Chlorid [mg]	5007	5390	5005
Kalium [mg]	3576	2737	2348
Harnsäure [mg]	460	296	316
Vitamin C [mg]	115	143	68
Phytinsäure [mg]	20	638	50
Wasser [ml]	3242	3202	3286

Die Lebensmittelzusammensetzung der drei Kostformen ist Tabelle 7 (Seite 46) zu entnehmen. Die Berechnung der Nährstoffzusammensetzung der Kostformen erfolgte mit der Ernährungssoftware PRODI[®] *expert*, Version 4.4, der Firma Nutri-Science. Die Nährstoffe für das Mittagessen, sowie für die Lebensmittel, die nicht in der Datenbank des Programms vorhanden waren, wurden beim Hersteller, Apetito AG, Rheine, erfragt und zusätzlich in das Programm eingegeben.

Der gewollte Unterschied zwischen den zwei vegetarischen Kostformen lag im Oxalat-Gehalt, in der 2. Testphase betrug der Oxalat-Gehalt der Kost 70 mg und in der 3. Testphase wurde dieser auf 300 mg erhöht.

Die Berechnung des Oxalat-Gehalts der Kostformen ergab sich aus der Bestimmung des Oxalat-Gehalts der einzelnen Lebensmittel mittels der HPLC – Enzymreaktor – Methode (206).

Tabelle 7: Speisepläne der standardisierten Misch-Kost und der vegetarischen Kostformen.

Kostform	Misch-Kost	1.Testphase Vegetarisch	2.Testphase Vegetarisch
9:00 h Frühstück	2 Weizen-Brötchen 10g Margarine 25g Erdbeerkonfitüre 30g Fleischwurst	2 Mehrkornbrötchen 16g Margarine 40g Erdbeerkonfitüre	1 Weizen-Brötchen 1 Scheibe Weizenmischbrot 16g Margarine 33g Erdbeerkonfitüre
11:00 h Zwischenmahlzeit	25g Müsliriegel Nuss 150g Banane	25g Müsliriegel Nuss 110g Banane	25g Müsliriegel Nuss 150g Banane
14:00 h Mittagessen	455g Putengeschnetzeltes in Basilikum-Sahne-Soße mit Buttergemüse und Spätzle	400g Penne Quattro Fromaggi 110g Apfel	550g Nudelplatte Tri Italia 100g Apfel
17:00 h Zwischenmahlzeit	150g Apfel 150g Fruchtojoghurt 3,5% Fett	110g Banane 250g Fruchtojoghurt 3,5% Fett	160g Weintrauben 250g Fruchtojoghurt 3,5% Fett
20:00 h Abendessen	2 Scheiben Weizenmischbrot 10g Margarine 30g Salami 17g Frischkäse Doppelrahmstufe 50g Tomaten 150g Apfel	1 Scheibe Weizenmischbrot 1 Mehrkornbrötchen 19g Margarine 20g Gouda 28g Erdbeerkonfitüre 60g Tomaten 80g Kiwi	2 Scheiben Weizenmischbrot 27g Margarine 31g Emmentaler 25g Erdbeerkonfitüre 17g Frischkäse Doppelrahmstufe
22:00 h Spätmahlzeit	1 Scheibe Weizenmischbrot 5g Margarine 17g Frischkäse Doppelrahmstufe 50g Tomaten	110g Apfel	100g Banane
Getränke Verteilung siehe Abbildung 8 (Seite 41)	300ml Kaffee 500ml Apfelsaft (100% Saft) 1400ml Dreiser Sprudel	300ml Kaffee 500ml Apfelsaft (100% Saft) 1400ml Rheinfelsquelle	300ml Kaffee 500ml Apfelsaft (100% Saft) 1400ml Rheinfelsquelle

Nachfolgende Testphase: Austausch Vollkornbrötchen gegen Weizenbrötchen

Im Anschluss an die Studie 1 wurde in einer Test-Phase an 2 Probanden der Effekt des Austausches der Mehrkornbrötchen gegen Weizenbrötchen und umgekehrt (siehe Tabelle 7, Seite 46) auf die intestinale Oxalat-Absorption und Ausscheidung im Urin untersucht. Die Messung der gastrointestinalen Oxalatabsorption und der renalen Oxalat-Ausscheidung erfolgte jeweils mit dem [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest. Die Rahmenbedingungen dieser Test-Phase waren identisch mit denen unter Punkt 4.1.1 (Seite 40) und 4.1.2 (Seite 42) beschriebenen. Während der ersten Test-Serie nahm der erste Proband während des Tests die vegetarische Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt (70 mg) und der zweite Proband die Misch-Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt (63 mg) zu sich. Während der zweiten Test-Serie wurden die drei Vollkorn-Brötchen in der vegetarischen Kost des ersten Probanden mit normalen Weizenbrötchen ersetzt. Umgekehrt wurden die zwei Weizenbrötchen zum Frühstück und das Brot zum Abendessen in der Misch-Kost durch 3 Vollkorn-Brötchen ersetzt. Beide Probanden führten den [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest jeweils in zweifacher Wiederholung durch, so dass jeder Proband insgesamt 6 Tests durchführen musste (siehe Tabelle 8).

Tabelle 8: Ablauf einer an Studie 1 anschließenden Test-Phase an 2 Probanden.

	Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt (Tabelle 7, Seite 46), unter Aufnahme von Weizenbrötchen			Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt (Tabelle 7, Seite 46), unter Aufnahme von Mehrkornbrötchen		
Proband 1 Vegetarische Kost	x	x	x	x	x	x
Proband 2 Misch-Kost	x	x	x	x	x	x

x [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest

4.1.2.2 Ablauf Studie 2: Einfluss eines Antacidums und Antidiarrhoicums auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin

Diese Studie gliederte sich in 3 Testphasen unter einer genau definierten standardisierten Kost, die sich an der Standard-Kost für die Erfassung der Referenzwerte der gastrointestinalen Oxalat-Absorption orientierte (205). Diese Kost wurde so modifiziert, dass sie in der Nährstoffzusammensetzung den „D-A-CH-Referenzwerten“ der Gesellschaften für Ernährung in Deutschland, Österreich und der Schweiz für die der Studie zugrundeliegende mittlere Altersklasse entsprach (21). Die Nährstoffzusammensetzung ist in Tabelle 9 angegeben; die Berechnung des Oxalat-Gehaltes erfolgte wie unter 4.1.2.1 (Seite 44) beschrieben. Der dazugehörige Speise- und Getränkeplan ist Tabelle 10 (Seite 49) zu entnehmen.

Tabelle 9: Nährstoffzusammensetzung der standardisierten Kost der Medikamentenstudie

Kalorien [kcal]	Kohlenhydrate [g]	Eiweiß [g]	Fett [g]	Ballaststoffe [g]	Calcium [mg]	Magnesium [mg]	Vitamin C [mg]	Wasser [ml]	Oxalat [mg]
2720	410	68	86	30	1000	350	187	3470	65

1. Testphase:

Diese diente der Feststellung der physiologischen Oxalat-Absorption. Die Probanden mussten, ohne Medikation, den [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest in zweifacher Wiederholung durchführen. Aus dem Mittelwert dieser 3 Tests ergab sich die mittlere physiologische Oxalat-Absorption der Probanden. In der 2. und 3. Testphase mussten die Probanden, in Verbindung mit dem Oxalat-Absorptionstest, jeweils eines von zwei in der Urologie gängigen Medikamenten zu sich nehmen. Jeder Test wurde in zweifacher Wiederholung durchgeführt. Daraus ergaben sich pro Proband 9 Oxalat-Absorptionstests.

Folgende Medikamente wurden verabreicht:

2. Testphase:

Gabe eines Antidiarrhoicums (Imodium[®]): Damit die Wirkung des Loperamids bei Einnahme der [¹³C₂]Oxalat-Kapsel bereits besteht, mussten die Probanden am zweiten Tag des Oxalat-Absorptionstests eine Stunde vor Einnahme der [¹³C₂]Oxalat-Kapsel eine Imodium[®]-Kapsel zu sich nehmen. Eine Imodium[®]-Kapsel enthielt 2 mg des Wirkstoffes Loperamidhydrochlorid entsprechend 1,86 mg Loperamid.

Tabelle 10: Speise- und Getränkeplan der Medikamentenstudie.

9:00 h Frühstück	2	Scheiben Weizenmischbrot
	20 g	Margarine
	25 g	Erdbeerkonfitüre
	20 g	Fleischwurst
11:00 h Zwischenmahlzeit	25 g	Müsliriegel Nuss
	150 g	Banane
14:00 h Mittagessen	455 g	Putengeschnetzeltes in Basilikum-Sahne-Soße mit Buttergemüse und Spätzle
17:00 h Zwischenmahlzeit	150 g	Apfel
	150 g	Fruchtjoghurt 3, 5 % Fett
20:00 h Abendessen	60 g	rote Gemüsepaprika
	40 g	Möhre
	2	Weizen-Brötchen
	25 g	Margarine
	20 g	Frischkäse Doppelrahmstufe
	30 g	Erdbeerkonfitüre
	150 g	Apfel
22:00 h Spätmahlzeit	150 g	Fruchtjoghurt 3,5 % Fett
	200 g	Ananas aus Dose abgetropft
Getränke	300 ml	Kaffee
Verteilung siehe Abbildung 8 (Seite 41)	500 ml	Apfelsaft (100% Saft)
	1400 ml	Engelbert Mineralbrunnen

3. Testphase: Gabe eines Antacidums (Nephrotrans[®]):

Voruntersuchung

Dieser 3. Testphase ging ein Pilot-Versuch voraus, um die Löslichkeit von Calciumoxalat-Monohydrat in selbst hergestelltem simuliertem Darmsaft ohne Enzyme (nach USP, United States Pharmacopeia, Rezeptur siehe Tabelle 11) zu messen.

Tabelle 11: Simulierter Darmsaft ohne Enzyme nach USP mit Calciumoxalat-Monohydrat.

Kaliumdihydrogenphosphat 680,5 mg
in Aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt
2 N NaOH 1,12 ml
Calciumoxalat-Monohydrat 14,61 g

Die Messung der Calcium-Ionen erfolgte mittels einer Calcium-selektiven Elektrode im physiologischen pH-Bereich von 4,0 bis 7,0 bei Körpertemperatur (37 C°). Aus Calciumoxalat entstehen gleich viele Calcium- wie Oxalat-Ionen. Die Löslichkeit von Calciumoxalat sank von pH 4 auf pH 7 um ca. ein Zehntel (siehe Abbildung 9, Seite 51 und Tabelle 12).

Tabelle 12: Calcium-Ionen bei pH 4 und pH 7.

	PH 4	pH 7
Calcium	0,500 mmol/l	0,043 mmol/l

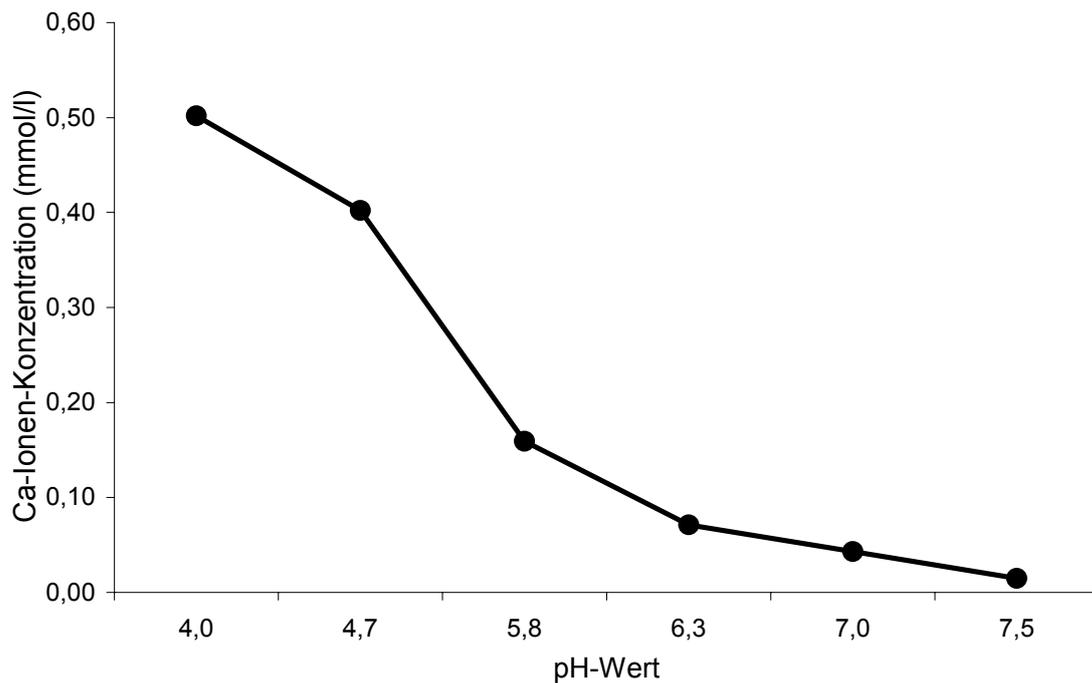


Abbildung 9: Löslichkeit von Calciumoxalat-Monohydrat in selbst hergestelltem simulierten Darmsaft in Abhängigkeit von pH-Wert.

Diese Voruntersuchungen weisen auf die Notwendigkeit einer näheren Untersuchung des Einflusses des gastrointestinalen pH-Wertes auf die Oxalat-Absorption hin.

Daher sollte der Einfluss des Medikaments Nephrotrans[®] auf die Oxalat-Absorption anhand der üblichen therapeutischen Dosierung von täglich 6 Kapseln (magensaftresistent) mit je 500 mg Natriumhydrogencarbonat untersucht werden. Jeweils 3 x zwei Kapseln Nephrotrans[®] wurden über den Tag verteilt, an beiden Tagen des Oxalat-Absorptionstests, appliziert. Das Einnahmeschema der Medikamentenstudie ist der Tabelle 13 (Seite 52) zu entnehmen.

Tabelle 13: Einnahmezeiten der Medikamente in Rahmen des [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest.

	Oxalat-Absorptionstest Tag 1				Oxalat-Absorptionstest Tag 2			
Uhrzeit	7:00 h	8:00 h	14:00 h	20:00 h	7:00 h	8:00 h	14:00 h	20:00 h
Imodium®					1 Kapsel	Oxalat-Kapsel		
Nephrotrans®	2 Kapseln		2 Kapseln	2 Kapseln	2 Kapseln	Oxalat-Kapsel	2 Kapseln	2 Kapseln

4.1.3 Untersuchungsmethoden

4.1.4 [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest

Die Messungen der gastrointestinalen Oxalat-Absorption und der Oxalat-Ausscheidung mit dem Urin basieren auf dem [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstest. Dieser Test wurde in den Laboratorien der Medizinischen Universitätsklinik I in Zusammenarbeit mit der Experimentellen Urologie am Universitätsklinikum Bonn entwickelt. Dieser Test beruht auf dem Prinzip der Isotopenmethode, d.h. es wird eine bestimmte Menge an ^{13}C -markierter Oxalsäure verabreicht und im Urin mittels eines Gaschromatograph-Massenspektrometers (GC/MS) gemessen. Bei der ^{13}C -markierten Oxalsäure handelt es sich um ein nicht radioaktives Molekül, so dass die Tests beliebig oft und ohne gesundheitliche Schädigung wiederholt werden können. Es wird eine magensaftlösliche Gelatine kapsel mit 50 mg pulverförmiges Dinatriumsalz (\triangleq 33,8 mg bzw. 0,368 mmol ^{13}C -markierte Oxalsäure) aufgenommen. Durch die zweifache Markierung mit dem ^{13}C Isotop des Kohlenstoffes wird das molekulare Gewicht der Oxalsäure von 90 auf 92 angehoben. Somit kann mit Hilfe des GC/MS die mit dem Urin ausgeschiedene Menge an markierter Oxalsäure gemessen werden. Durch die Gabe einer definierten Menge an markierter Oxalsäure und der Tatsache, dass Oxalsäure im menschlichen Organismus nicht verstoffwechselt wird, kann man aus der Ausscheidung im 24 Stunden Urin die prozentuale gastrointestinale Oxalat-

Absorption bestimmen. Die Durchführung der Tests und seine Anwendung wurden schon mehrfach publiziert (207;208). Im Jahre 2003 wurden die Referenzwerte von 2,2 % - 18,5 % für die gastrointestinale Oxalat-Absorption von 120 gesunden Probanden (60 Frauen und 60 Männer) publiziert. Die interindividuelle Variabilität für die Oxalat-Absorption betrug dabei $7,9 \pm 4,0$ % und die intraindividuelle Variabilität $3,4 \pm 1,7$ % (205). Mit diesem gesundheitlich unbedenklichen und beliebig oft wiederholbaren Diagnoseverfahren ist es möglich, verschiedene Einflüsse (insbesondere der Ernährung) auf die Oxalat-Absorption zu erfassen.

4.1.4.1 Sammlung der 24-h-Urine

Allgemeines

Die Probanden wurden angehalten, die Urinsammelflaschen stets kühl und dunkel zu lagern. Außerdem waren die einzelnen Urinsammelflaschen (jeweils 2 Liter Polyethylen-Flaschen) mit 25 %iger Salzsäure als Konservierungsmittel versetzt. Dies soll das Ausfällen von Calciumoxalat, die mögliche Bildung von Oxalsäure aus Ascorbinsäure, sowie ein unerwünschtes Bakterienwachstum verhindern. In Tabelle 14 (Seite 54) ist das Konservierungsmittelschema für den Oxalat-Absorptionstest wiedergegeben. Die jeweils angegebenen Salzsäuremengen reichen aus, um den in der jeweiligen Sammelperiode anfallenden Urin auf unter pH 2 anzusäuern, was notwendig ist, um die oben aufgeführten unerwünschten Effekte zu verhindern.

Tabelle 14: Konservierungsmittelschema des Urins für den Oxalat-Absorptionstests.

		Konservierungsmittel: 25%ige HCl
Tag 1:	Fraktion I (8:00 h – 20:00 h)	30 ml
	Fraktion II (20:00 h – 8:00 h)	30 ml
Tag 2:	Fraktion III (8:00 h – 14:00 h)	15 ml
	Fraktion IV (14:00 h – 20:00 h)	15 ml
	Fraktion V (20:00 h – 8:00 h)	30 ml

Urin-Sammlung

Es wurde eine Uhrzeit als Sammelstartpunkt festgelegt (8:00 h). Unmittelbar vor diesem Zeitpunkt musste die Blase in die Toilette entleert werden (7:59 h). Erst dann begann die Sammlung für die erste Sammelperiode (Fraktion I) des Oxalat-Absorptionstests. Jeglicher anfallende Urin, auch der vor jedem Stuhlgang, sollte aufgefangen werden. Die Urin-Sammlung für die Fraktion I endete kurz vor dem Sammelbeginn für die Fraktion II, d.h. idealerweise kurz vor 20:00 h (19:59 h). Zu diesem Zeitpunkt wurde die Blase noch einmal in die Sammelflasche I entleert. Erst dann begann die Sammlung für die Fraktion II. Am Testtag sollte in gleicher Weise verfahren werden, so dass die Sammlung mit der Fraktion V zu der am Anfang festgelegten Zeit endete. Unmittelbar vor diesem Zeitpunkt (7:59 h) musste die Blase ein letztes Mal in diese Flasche entleert werden. Es war darauf zu achten, dass die Flaschen stets fest verschraubt wurden.

4.1.4.2 Laboruntersuchungen der Urin-Parameter

Volumenbestimmung und weitere Behandlung der 24-h-Urine

Nach dem Oxalat-Absorptionstest wurden die Volumina der kühl und dunkel gelagerten Urinflaschen im Labor gemessen. Vor dieser Bestimmung wurde das Vorliegen des pH-Wertes < 2 der einzelnen Fraktion mit Hilfe von Indikatorstäbchen der Firma Merck überprüft werden. Wenn ein höherer pH-Wert gemessen wurde, was zweimal vorkam, musste die entsprechende Fraktion nachträglich mit Hilfe von 25%iger Salzsäure auf $\text{pH} < 2$ angesäuert werden.

Die Volumina-Bestimmung sollte mit besonderer Sorgfalt geschehen, da zur Berechnung der renalen Ausscheidungen die jeweiligen Parameterkonzentrationen und das Urin-Volumen benötigt werden. Die Bestimmung des Urinvolumens einer jeden Sammelfraktion erfolgte mit Hilfe eines Messzylinders (Füllvolumen 500 ml, Messabweichung $\pm 2,5$ ml). Aus der Summe der ermittelten Urinvolumina der einzelnen Fraktionen des jeweiligen Test-Tages setzte sich das Volumen des entsprechenden 24-h-Urins zusammen. Nach der Volumina-Bestimmung der Fraktionen I und II wurden diese wieder zu einem vollständigen 24-h-Urin gepoolt. Hierbei war zu beachten, dass die einzelnen Fraktionen ausreichend vermischt wurden, um die enthaltenen Substanzen gleichmäßig zu verteilen. Dies wurde durch das mehrmalige Ineinandergießen der einzelnen Fraktionen unter Zuhilfenahme zweier ausreichend großer Messbecher (5000 ml) sichergestellt. Anschließend wurden aus diesem 24-h-Urin je 1,5 ml in 5 Eppendorfgefäße pipettiert, die vorher mit „I+II“ und dem jeweiligen Probandencode beschriftet wurden. Nach der Volumina-Bestimmung der Fraktionen III, IV und V, wurden aus jeder einzelnen Fraktion jeweils 1,5 ml in je 5 Eppendorfgefäße aliquotiert. Diese 15 Gefäße wurden ebenfalls vorher mit „III“, „IV“, „V“ und dem entsprechenden Probandencode versehen. Die 20 Reaktionsgefäße dienten der Oxalat-Absorptions-Messung im GC/MS und wurden bei -18 Grad eingefroren. Nach der Aliquotierung wurden die 3 Fraktionen des 2. Tages entsprechend denen des 1. Tages zu einem voll-

ständigen 24-h-Urin gepoolt. Zusätzlich wurden aus beiden 24-h-Urinen jeweils 1,5 ml für die Bestimmung von Oxalsäure, Zitronensäure und Sulfat in je 3 Eppendorfgefäße pipettiert. Die enzymatische Bestimmung der Oxalsäure aus diesem Gefäß diente der Kontrolle der Oxalsäuremessung im GC/MS. Diese Reaktionsgefäße wurden mit dem Probandencode und dem entsprechenden Test-Tag, sowie mit der Bezeichnung für die jeweilige Substanz, die bestimmt werden soll, versehen.

Für die biochemische Analyse wurden von jedem 24-h-Urin jeweils 2 mit Barcode versehene Urin-Monovetten[®], Firma Sarstedt, aufgezogen. Die Parameter, die aus diesen Röhrchen für beide Tage getrennt bestimmt wurden, sowie die Bestimmungsmethoden sind in Tabelle 15 wiedergegeben. Außerdem wurden zwei 100 ml fassende Kautex-Weithalsflaschen mit je einem dem beiden 24-h-Urinen gefüllt und beschriftet. Diese beiden Urine dienten als Sicherheit für eventuell notwendige Nachbestimmungen und wurden anschließend bei - 18 Grad eingefroren.

Tabelle 15: Biochemische Analyse.

Substanz	Methode
<u>Eppendorfgefäße:</u>	
Oxalsäure	enzymatisch (Oxalatoxidase), photometrische Messung bei 590 nm
Zitronensäure	enzymatisch (Zitrat-Lyase), photometrische Messung bei 366 nm
Sulfat	Bariumchloridausfällung, photometrische Messung bei 470 nm
<u>Monovetten[®]:</u>	
Natrium	Ionenselektive Elektrode (ISE)
Kalium	Ionenselektive Elektrode (ISE)
Chlorid	Ionenselektive Elektrode (ISE)
Calcium	o-Cresolphthalein Komplex
Magnesium	Methylthymol Blau (MTB)
Phosphat	Phosphomolybdat
Kreatinin	Modifizierte Jaffe Reaktion

Messung des spezifischen Gewichts der 24-h-Urine

Nachdem die einzelnen Fraktionen der beiden Test-Tage zu einem vollständigen 24-h-Urin gepoolt wurden, konnte das spezifische Gewicht mit Hilfe einer Tauchspindel gemessen werden. Diese war auf 20 Grad Raumtemperatur geeicht, so dass bei einer Abweichung von 3 Grad nach oben bzw. unten, je $0,001 \text{ g/cm}^3$ dazugerechnet bzw. abgezogen werden.

Interpretation der biochemischen Analyse

Für die Berechnung der renalen Ausscheidungen wurden die bei der biochemischen Analyse ermittelten Parameterkonzentrationen mit dem jeweiligen Urinvolumen multipliziert. Die dabei ermittelten Werte wurden mit dem dazugehörigem Referenzbereich bzw. Grenzwert für die Urin- und Harnsteindiagnostik abgeglichen (209;210). Diese sind in Tabelle 16 (Seite 58) wiedergegeben. Die Bestimmung der Kreatinin-Ausscheidung im 24-h-Urin diente u.a. dem Ausschluss von Sammelfehlern. Die Kreatinin-Ausscheidungsrate (im 24-h-Urin) ist insbesondere von der Muskelmasse abhängig. Kreatinin wird im Skelettmuskel konstant und entzymunabhängig gebildet (durch Abbau von ca. 1-2 % des Muskelkreatins/Tag). Das Kreatinin hat keine physiologische Funktion und wird unverändert über die Nieren ausgeschieden. Daher ist die Kreatininausscheidung im Urin beim Gesunden proportional zur Skelettmuskelmasse. Bei intakter Nierenfunktion kann durch eine Kreatininausscheidung im 24-h Urin ausserhalb des jeweiligen Referenzbereichs ein Rückschluss auf die Genauigkeit der Urinsammlung der Probanden gezogen werden.

Tabelle 16: Referenzbereiche ausgewählter Urinparameter u. Grenzwerte bei Urolithiasis/24-h.

Messgröße	Referenzbereich	Grenzwert bei Urolithiasis
Volumen [ml]/24 h	-	< 2000
Spez. Gewicht ¹	1,002 – 1,030	> 1,010
Natrium	100 – 260	-
Kalium	25 – 100	-
Calcium	< 3,8	> 8,0
Magnesium	3,0 – 4,3	< 3,0
Chlorid	110 – 225	-
Phosphor	15,5 – 31,0	> 35,0
Sulfat	15,0 – 25,0	-
Kreatinin	13,0 – 18,0 ^{m.}	-
	7,0 – 13,0 ^{w.}	-
Oxalsäure	≤ 0,5	> 0,5
Zitronensäure	2,08 – 4,16	< 2,5

Angaben in: [mmol/Tag], [g/cm³]¹, m.,w. = männlich, weiblich

4.1.4.3 Aufarbeitung der Proben des [¹³C₂]Oxalat-Absorptionstests

Allgemeines

Es wurden immer zwei [¹³C₂]Oxalat-Absorptionstests zusammen aufgearbeitet. Dafür wurden die dazugehörigen Eppendorfgefäße der 2 Test-Tage sowie ein Eppendorfgefäß mit Urin für die Qualitätskontrolle (T) bei Zimmertemperatur aufgetaut. Die Gefäße vom ersten Tag des Tests (I+II) wurden zur späteren Erstellung der Eichgerade benötigt. Für die Aufarbeitung wurden 90 Eppendorfgefäße benötigt, die dreimal von 1 – 30 beschriftet worden sind. Zu diesen kamen 6 Eppendorfgefäße mit der Aufschrift T, diese dienten der laufenden Qualitätskontrolle. Jeweils ein Reaktionsgefäß war für die Stamm-lösungen für die [2-¹³C]Malonsäure bzw. [¹³C₂]Oxalsäure vorgesehen. Die Malonsäure diente als interner Standard, da sie ähnlich der Oxalsäure während

aller Schritte der Aufarbeitung und Messung reagiert. Die Oxalsäure-Stammlösung fungierte bei der Extraktion, Derivatisierung und der Herstellung der Kalibrierproben.

Tabelle 17: Chemikalien für die Oxalsäureaufarbeitung.

Substanz	Firma			
[2- ¹³ C]Malonsäure	Aldrich, Steinheim	0,5 mmol/l		
[¹³ C ₂]Oxalsäure	Promochem, Leipzig	0,5 mmol/l	0,25 mmol/l	0,125 mmol/l
Salzsäure	Merck, Darmstadt	25 %		
Evans`Blue	Kallestad TM			
LiChrosolv [®] Wasser	Merck, Darmstadt			
Ethylacetat	Merck, Darmstadt			
Stickstoff, flüssig	Linde, Höllriegelskreuth bei München			
n-Decan	Sigma-Aldrich, Steinheim	99 + %		
MBDSTFA	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren			

Zwei Reaktionsgefäße waren vorgesehen für die 5er und 10er Verdünnung der [¹³C₂]Oxalsäure-Stammlösung mit deionisiertem Wasser. Die Stammlösungen und die entsprechenden Verdünnungen sind der Tabelle 17 zu entnehmen.

Zusätzlich wurde für die Aufarbeitung in einem Spitzröhrchen 25%ige HCl mit 2 Tropfen Evans-Blue versetzt. Diese Lösung diente einerseits der besseren Unterscheidung der organischen von der wässrigen Phase (Farbe) beim späteren Abpipettieren und der Protonierung der Oxalsäure (HCl).

Pipettierschema

Die ersten 30 und die 2 mit „T“ beschrifteten Eppendorfgefäße wurden in einen Ständer gesetzt. Die Eppendorfgefäße mit den aufgetauten zu analysierenden

Urinen wurden einige Sekunden auf dem Vortex bei höchster Stufe geschüttelt. In jedes der 32 Reaktionsgefäße wurden 100 µl des entsprechenden Urins pipettiert.

Die Gefäße 1 – 16 dienten der Erstellung der Eichgeraden der 2 Absorptions-Tests. Nach Pipettierschema (siehe Tabelle 18, Seite 61) wurde 40 µl der jeweiligen [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Konzentration in die entsprechenden Gefäßen gegeben. In die restlichen Gefäße sowie in die Gefäße 1 – 4 wurden zur Erreichung eines gleichen Volumens in den Proben 40 µl LiChrosolv[®]-Wasser pipettiert. Alle 32 Gefäße wurden anschließend mit 30 µl der [2- ^{13}C]Malonsäure versetzt. Aus der 25%igen HCl-Lösung mit Evans-Blue wurden mit Hilfe einer Multipette[®] aus der Combitip[®]-Spritze 200 µl in alle Gefäße pipettiert. Zum Schluss wurde noch jeweils 1 ml Ethylacetat mit der Dosierpumpe dazugegeben.

Anschließend wurden alle Gefäße gut verschlossen und 1 Minute auf dem Vortex bei höchster Stufe geschüttelt. Zur vollständigen Phasentrennung wurden die Eppendorfgefäße 2 Minuten bei 13.000 U/min (12280 g) und 4 Grad zentrifugiert. In die nächsten 32 Gefäße wurden jeweils 500 µl der organischen Ethylacetat-Phase der gleichen Probennummer überführt, d.h. 500 µl aus Eppendorfgefäß 1 der ersten 32 Gefäße, in Eppendorfgefäß 1 der zweiten 32 Gefäße. Anschließend wurde die 32 Gefäße mit 50 µl der 25 %igen HCl-Lösung mit Evans-Blue versetzt und in gleicher Weise geschüttelt und zentrifugiert wie die ersten 32 Gefäße. Die Deckel der letzten 32 Eppendorfgefäße wurden mit einer Nadel eingestochen und mit 250 µl des entsprechenden Ethylacetat-Überstandes versetzt und verschlossen.

Tabelle 18: Pipettierschema für 2 Aufarbeitungen des [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstests.

Test	Vial-Nr.	Fraktion	Urin [μl]	0,125 mmol/l [$^{13}\text{C}_2$] Oxalsäure [μl]	0,25mmol/l [$^{13}\text{C}_2$] Oxalsäure [μl]	0,5mmmol/l [$^{13}\text{C}_2$] Oxalsäure [μl]	LiChrosolv® Wasser [μl]	0,5mmol/l [^{13}C] Malonsäure [μl]
1	1	I+II	100				40	30
	2	I+II	100				40	30
2	3	I+II	100				40	30
	4	I+II	100				40	30
1	5	I+II	100	40				30
	6	I+II	100	40				30
2	7	I+II	100	40				30
	8	I+II	100	40				30
1	9	I+II	100		40			30
	10	I+II	100		40			30
2	11	I+II	100		40			30
	12	I+II	100		40			30
1	13	I+II	100			40		30
	14	I+II	100			40		30
2	15	I+II	100			40		30
	16	I+II	100			40		30
1	17	III	100				40	30
	18	III	100				40	30
	19	III	100				40	30
2	20	III	100				40	30
	21	III	100				40	30
	22	III	100				40	30
1	23	IV	100				40	30
	24	IV	100				40	30
2	25	IV	100				40	30
	26	IV	100				40	30
1	27	V	100				40	30
	28	V	100				40	30
2	29	V	100				40	30
	30	V	100				40	30
T	31		100				40	30
T	32		100				40	30

Die Proben wurden in flüssigen Stickstoff gefroren und 90 Minuten im Exsikkator unter Vakuum getrocknet. Danach wurden die Proben mit 100 μl n-Decan versetzt und 20 μl MBDSTFA (N-Methyl-*tert.*-butyldimethylsilyltrifluoracetamid) zur Derivatisierung dazugegeben. Die Gefäße kamen verschlossen für mindestens 3 Stunden in den mit Kieselgel mit Feuchtigkeitsindikator bestückten Exsikkator, ohne Vakuum. Dies war notwendig, damit das MBDSTFA nicht auskristallisiert, wie es sonst an feuchter Luft der Fall wäre. Nach den 3 Stunden wurde der Inhalt der Gefäße in die Inserts der entsprechend beschrifteten 32 Vials (1,5 ml) pipettiert und mittels Bördelkappen fest verschossen.

4.1.4.4 Messung des markierten und unmarkierten Oxalates mit dem GC/MS

Die mit den Bördekkappen fest verschlossenen Vials werden in die vorher am Computer festgelegten Positionen des Auto-Samplers des GC/MS gestellt.

Funktionsweise des Gaschromatographen(GC)-Massenspektrometers(MS)

Das GC/MS kann in fünf Komponenten eingeteilt werden: Probenaufgabesystem, Chromatographische Trennung, Ionisierung, Massentrennung und Detektion (siehe Abbildung 10).

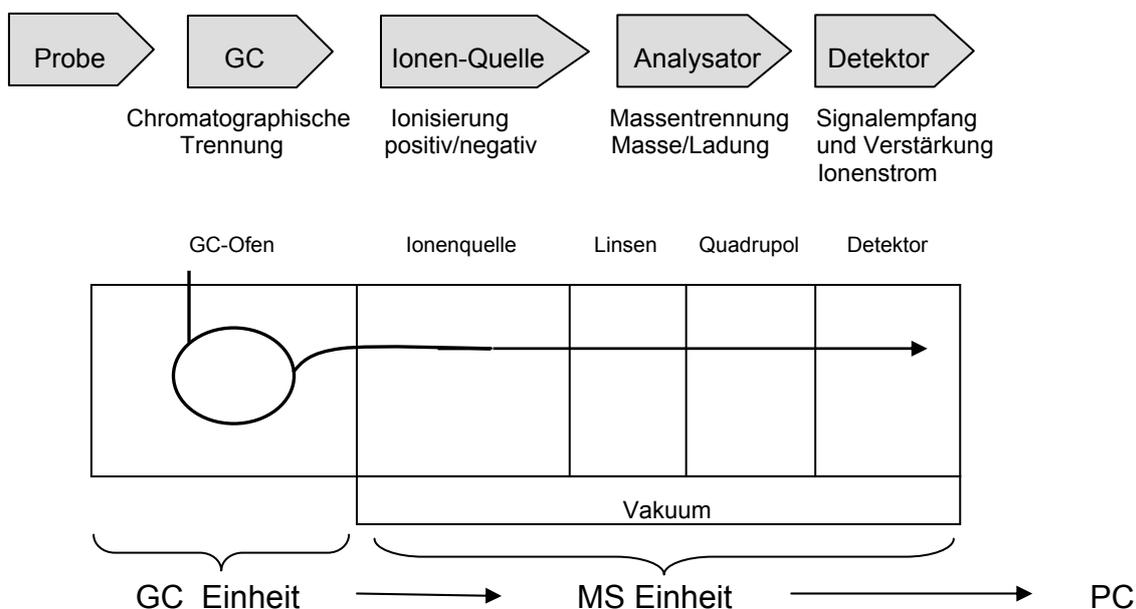


Abbildung 10: GC/MS-Funktionsaufbau.

Probenaufgabe (Komponente 1)

Die Probenaufgabe erfolgte mittels eines Auto-Sampler über einen Gaschromatographen (Shimadzu GC-17A), der mit einem Massenspektrometer (Shimadzu QP-5000) gekoppelt ist. Die flüssige Probelösung (0,5 µl bzw. 1 µl)

wurde mit einer Mikroliterspritze in den Injektor durch ein Septum (Membran aus Gummi) eingebracht. Mit Hilfe des Auto-Sampler wurde die Probenlösung dreimal mit der Spritze aufgezogen, bevor 1,0 µl davon injiziert wurden. Die Spritze wurde danach sechsmal mit n-Decan gespült. Im Verdampfungsraum (bei 260 Grad) des Injektors verdampfen Lösungsmittel und die darin gelöste Probe in einem dafür vorgesehenen Verdampferrohr (glass insert) und mischten sich mit dem eingebrachten Trägergas Helium. Das glass insert war mit Quarz-Wolle gepackt, um eine vollständige Probenverdampfung und das Rückhalten nicht verdampfbarer Verunreinigungen zu erreichen.

Chromatographische Trennung (Komponente 2)

Anschließend wurden die Lösungsmittel- und Probenanteile vollständig (splitless-Injection) mit Hilfe des Trägergases in die Trennsäule transferiert. Bei dieser Injektions-Technik sind die Transferzeiten relativ groß und somit muss der resultierenden Bandenverbreiterung durch eine geeignete Temperaturwahl des Säulenofens entgegengewirkt werden. Das angewendete Temperaturprogramm für die Oxalsäurebestimmung ist in Tabelle 19 (Seite 69) wiedergegeben. Die Starttemperatur von 116 Grad dient dazu, dass das Lösungsmittel und die leicht flüchtigen Substanzen die Kapillarsäule passieren. Anschließend wird die Temperatur auf 180 Grad erhöht, bei der Temperatur eluieren die Lactat-, Oxalsäure- und die Malonsäurederivate. Die typischen Retentionszeiten sind in Abbildung 11 wiedergegeben.

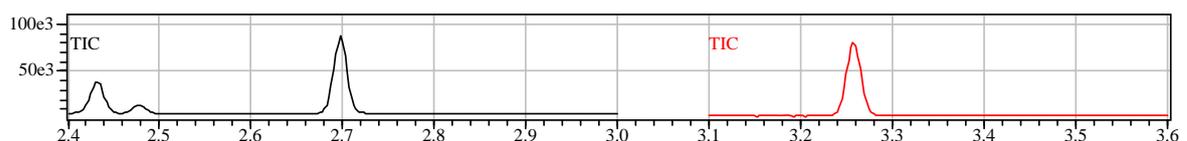


Abbildung 11: Retentionszeiten für Oxalsäure (ca. 2,70 Minuten) und Malonsäure (ca. 3,26 Minuten).

Das weitere Erhöhen der Temperatur auf 280 Grad eluiert weitere Substanzen, die folgende Messungen stören könnten [62]. Bei dem hier angewendeten Verfahren handelt es sich um die Gas-Flüssigkeits-Verteilungschromatographie (GLC = Gas Liquid Chromatography). Dabei werden die Moleküle von und mit der Geschwindigkeit der mobilen Phase (hier: Helium) durch die Kapillarsäule transportiert, aber auch von der stationären Phase zurückgehalten. Dieser verzögerte Weitertransport wird als chromatographische Retention bezeichnet und ist somit die Ursache der chromatographischen Trennung. Dies geschieht durch eine hochauflösende „fused-silica“- Kapillarsäule aus Siliciumdioxid. An der Wand dieser Säule ist Phenylmethylsilikon (stationäre Phase) chemisch gebunden und trennt so die Moleküle nach Polarität und Größe auf. Die gesamte Verweildauer eines Stoffes in der Säule wird als Bruttoretentionszeit (= Zeitraum von der Einspritzung bis zum Peakmaximum) bezeichnet. Als Peak (in Form einer Gauß-Kurve) wird das Konzentrationsprofil eines Stoffes bezeichnet, wie es beim Verlassen der Säule registriert wird. Ein typischer Oxalsäurepeak ist in Abbildung 12 gezeigt.

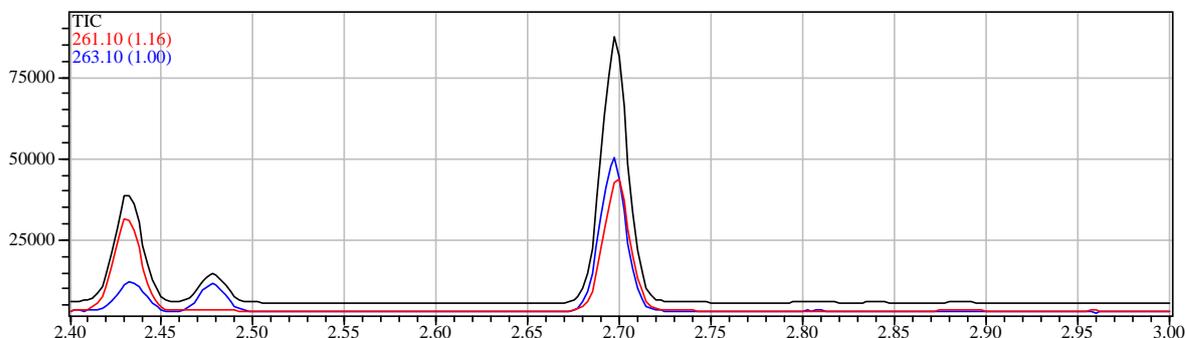
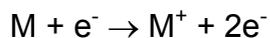


Abbildung 12: Typischer Oxalsäurepeak ($^{12}\text{C}_2^-$ auf der Masse 261.1 und $^{13}\text{C}_2^-$ auf der Masse 263.1, großer Peak = Summe $^{12}\text{C}_2^-$ und $^{13}\text{C}_2^-$; Retentionszeit ca.2,7 Minuten).

Aus der Kapillare des GC gelangen die Fraktionen in die Ionisierungskammer des MS. In dieser Kammer ist ein Vakuum von ca. 10^{-5} mbar erforderlich, welches von einer Turbomolekularpumpe hergestellt wird.

Ionisierung der Probe (Komponente 3)

Es gibt in der Massenspektrometrie unterschiedliche Ionisierungstechniken. Das QP-5000 verwendet die Elektronenstoßionisation (EI). In der Ionisationsquelle befinden sich, einander gegenüber platziert, die sogenannten Filamente, zwei dünne Drähte aus einer Rheniumlegierung. Hinter den Drähten sind jeweils eine Metallplatte und Magnete angebracht, letzt genannte fokussieren den Elektronenstrahl. Eines der beiden Filamente dient als Elektronenquelle, in dem man es elektrisch weiß glühend aufheizt, so dass durch Thermoemission Elektronen frei werden. Zwischen dem Filament und der Metallplatte auf der gegenüberliegenden Seite liegt eine Spannungsdifferenz von 70 Volt an, die die Elektronen durch den Ionisierungsraum zur Anode beschleunigt. Sie stoßen mit den Probemolekülen zusammen und schlagen durch den Stoß weitere Elektronen heraus. Dabei entstehen größtenteils positiv geladene Ionen mit einfacher Ladung nach folgendem Muster:



Negative Ionen entstehen bei EI mit etwa 1000mal geringerer Wahrscheinlichkeit. Da die Energie der Elektronen 70 eV (Elektronenvolt) beträgt, zur Ionisierung der Probemoleküle jedoch nur etwa 8-13 eV benötigt werden, können die Moleküle durch die überschüssige Energie an labilen Bindungen auseinander brechen. Nach der Proben-Aufarbeitung liegen die zu messenden Substanzen als Di-(*tert.*-butyldimethylsilyl)-Derivate vor. Durch Elektronenstoßionisierung (EI) wird eine *tert.*-butyldimethylsilyl-Gruppe rausgeschlagen und es entsteht ein *tert.*-Butylradikal sowie das zu messende Kation, siehe Abbildung 13 (Seite 66).

Das Fragmentierungsmuster ist typisch für eine bestimmte Substanz und damit ein wichtiger Hinweis bei der Identifizierung. Die Masse m der gebildeten Ionen kann bei der Massenspektrometrie nur im Verhältnis zur Ladung z bestimmt werden. Da hauptsächlich einfach geladene Ionen gebildet werden, entspricht das beobachtete Signal der Masse des gebildeten Ions. Der Betrag von 70 eV

Ionisierungsenergie wird bevorzugt gewählt, da bei dieser Energie eine gute Reproduzierbarkeit der Spektren gegeben ist. Der Ionisierungsprozess findet innerhalb von etwa 10^{-16} bis 10^{-15} Sekunden statt und damit mehrere Größenordnungen schneller als die Schwingungsperiode einer Bindung. Somit verändert sich die Geometrie des Moleküls während der Ionisierung nicht (211).

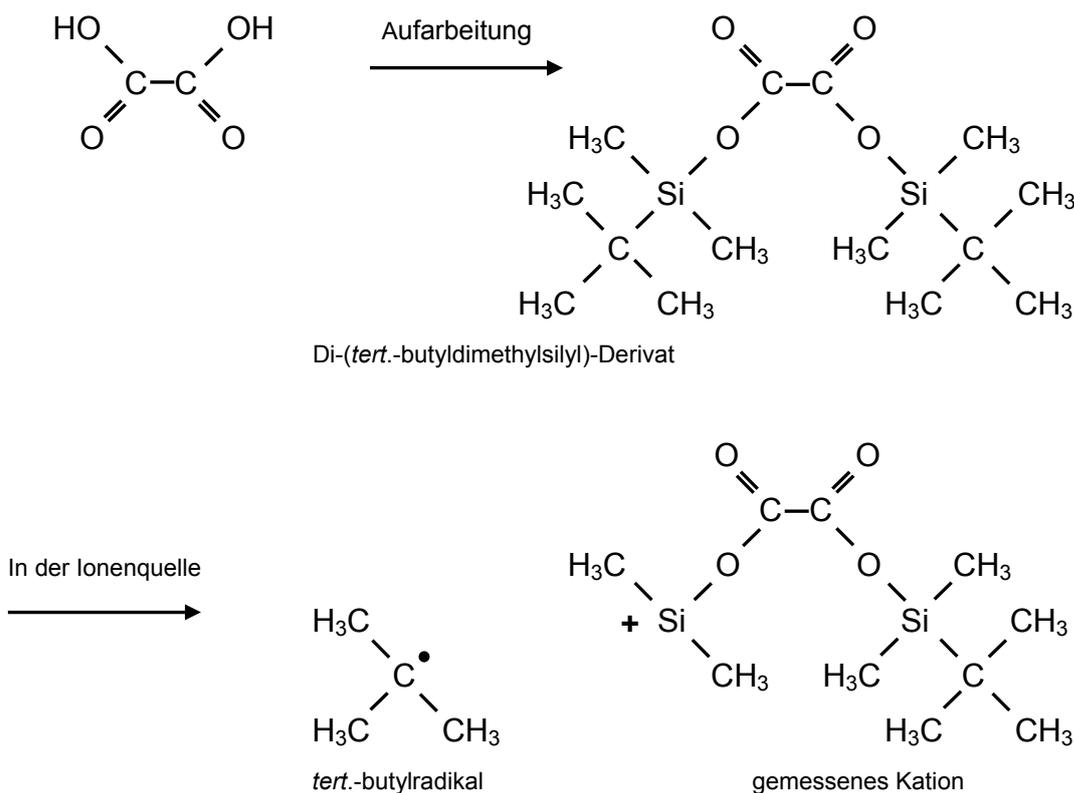


Abbildung 13: Derivatisierung und Ionisierung der Probe am Beispiel der [$^{12}\text{C}_2$]-Oxalsäure.

Die gebildeten Ionen werden durch ein kleines Ziehpotential an einer Extraktionsblende (Ziehblende) aus der Ionenquelle heraus in Richtung des Analysators beschleunigt und fokussiert. Sie passieren dann eine Reihe von Blenden, deren Aufgabe es ist, defokussierte Ionen zu entladen (Erdblende) sowie den Ionenstrahl in Richtung des Analysators möglichst scharf zu fokussieren (Fokussierblende).

Analysator (Komponente 4)

Der Analysator besteht aus vier zylindrischen parallel im gleichen Abstand zueinander angeordneten Stäben.

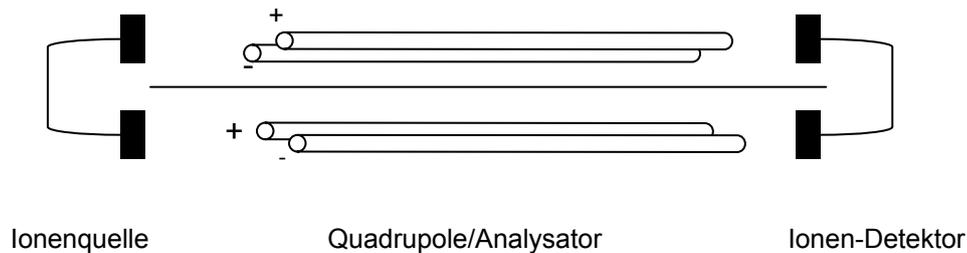


Abbildung 14: Quadrupolanalysator.

Die sich jeweils diagonal gegenüberliegenden Stäbe sind durch eine Gleichspannung U und eine Wechselspannung (Vorzeichen ist für jedes Stabpaar umgekehrt) mit der Amplitude V_0 (Phasenverschiebung der Stabpaare 180 Grad) elektrisch miteinander verbunden und bilden ein hyperbolisches elektrisches Quadrupolfeld aus. Für die Detektion positiver Ionen liegt die Ionisierungsquelle gegenüber dem Quadrupol auf einem positiven Potential (siehe Abbildung 14).

Diese Potentialdifferenz bestimmt die kinetische Energie der Ionen, mit der sie den Analysator durchfliegen. Das elektrische Quadrupolfeld, das sich ausbildet, kann mit den Mathieuschen Differentialgleichungen beschrieben und berechnet werden. Aus den Lösungen dieser Differentialgleichungen folgt, dass man die Gleich- und Wechselspannungen an den Quadrupolstäben derart einstellen kann (Resonanzfrequenz, abhängig von der Masse der Ionen), dass nur Ionen mit einem bestimmten Masse-zu-Ladungsverhältnis stabile Bahnen auf ihrem Weg durch den Analysator beschreiben und den Detektor erreichen. Somit passieren nur Ionen den Quadrupol, die sich in Resonanz mit dem elektromagnetischen Feld befinden. Die Ionen, die eine geringere oder höhere Masse haben, bewegen sich auf instabilen Bahnen. Ihre Amplitude wächst

exponentiell an, so dass sie an die Quadrupolstäbe geraten und dort entladen werden. Zur Massenselektion variiert man gleichzeitig die Gleichspannung und die Amplitude der Wechselfspannung in einem bestimmten Verhältnis; die Frequenz bleibt konstant. Das QP-5000 verfügt zusätzlich über Vorstäbe vor jedem der vier Hauptstäbe. Sie sind von den Hauptstäben elektrisch isoliert und werden nur mit einer Wechselfspannung versorgt. Durch sie können die Ionen von der Ionenquelle aus das Randfeld an den Enden des Quadrupols durchdringen und werden besser zur Zentralachse des Quadrupol fokussiert. Außerdem werden die Hauptstäbe sauberer gehalten, weil nichtselektierte Ionen von der Zentralachse abgelenkt werden und nicht in den Analysator gelangen.

Detektor (Komponente 5)

Als Detektor dient ein Sekundärelektronenvervielfacher (SEV). Die Ionen treffen hier auf die Oberfläche einer Dynode und schlagen Elektronen aus ihr heraus. Diese Elektronen treffen durch den kaskadenförmigen Aufbau des SEV auf die nächste Dynode und schlagen ihrerseits weitere Elektronen heraus.

Dadurch wird eine Signalverstärkung bis zu 10^6 erreicht. Der kaskadenförmige Aufbau ist beim QP-5000 durch eine Halbleiterschicht realisiert worden. Am Ausgang des SEV ist ein Elektrometer-Verstärker nachgeschaltet, der den Strom in eine Spannung umwandelt, die als Messgröße weiterverarbeitet werden kann. Die Spannung wird mit Hilfe eines Analog Digital (AD)-Wandlers digitalisiert und auf der Festplatte des angeschlossenen Computers gespeichert. Die dafür verwendete Software kann Tabelle 19 (Seite 69) entnommen werden.

Tabelle 19: Aufbau- und Anwendungsdaten des GC/MS

Komponente	Modell/Firma	Daten
Auto-Sampler	AOC-20s, Shimadzu	150 Vialpositionen für 1,5 ml Vials
Auto-Injector Mikroliterspritze 5µl Injektor Injektionsdruck Injektionstemperatur	AOC-20i, Shimadzu	Proben-Injektion 1,0 µl Splitless 100 kPa 260 Grad
Mobile Phase – Trägergas	Linde, Höllriegelskreuth bei München	Helium 99,999 % Säulen-Fluss: 1,2 ml/min.
Stationäre Phase - Trennsäule	OPTIMA-5-MS, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren	14 m x 0,25 mm I.D., 0,25 µm Filmdicke; max. Temperatur: 340 Grad
GC Ofen-Temperatur Druck Programmzeit	GC-17A, Shimadzu	Initial: 116 Grad (0,74 min.) Erhitzen: 35 Grad pro Minuten Isotherm: 155 Grad Erhitzen: 10,0 Grad pro Minute Isotherm: 180 Grad Erhitzen: 30,0 Grad pro Minute Isotherm: 280 Grad (1,22 min.) Initial: 34 kPa (0,76 min.) Erhöhen: 10,0 kPa pro Minute Isobar: 45 kPa Erhöhen: 3,0 kPa pro Minute Isobar: 52,5 kPa Erhöhen: 10,0 kPa pro Minute Isobar: 90 kPa (0,80 min.) 8,91 Minuten
MS Vor-Vakuum-Pumpe Hochvakuum-Pumpe Detektor Temperatur Gemessene Massen für: [2- ¹³ C]Malonsäure [¹³ C ₂]Oxalsäure [¹² C ₂]Oxalsäure	GCMS-QP5000, Shimadzu Modell RV3, BOC EDWARDS Typ Turbovac 50, Leybold Vakuum GmbH	2x10 ⁻³ mbar 10 ⁻⁸ mbar 280 Grad 276.1 nach ca. 3,26 Minuten 263.1 nach ca. 2,70 Minuten 261.1 nach ca. 2,70 Minuten
Computer Software	P III 750 MHz, Turtle PC Workstation GCMSsolution software for GCMS-QP5000 Series	

4.1.5 Auswertungsverfahren und statistische Methoden

Die Berechnung der Mittelwerte und der Standardabweichungen der einzelnen Urin-Parameter, sowie die Auswertung der Oxalat-Ausscheidungen nach der Messung im GC/MS, erfolgte mit der Software Microsoft Excel 2000. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte als Mittelwerte \pm Standardabweichung (SD). Jede Testsituation wurde in zweifacher Wiederholung durchgeführt und der sich daraus ergebene Mittelwert sowie die Standardabweichung für jeden Probanden ging in die Berechnung ein.

Die Oxalat-Absorption errechnete sich aus dem Quotient aus ausgeschiedener [$^{13}\text{C}_2$]Oxalsäure im 24-h Urin mal 100 und der [$^{13}\text{C}_2$]Oxalsäure Aufnahme durch die Kapsel.

$$\% \text{uale Oxalat-Absorption} = \frac{[\text{}^{13}\text{C}_2]\text{Oxalsäure im 24-h Urin} \times 100}{[\text{}^{13}\text{C}_2]\text{Oxalsäureaufnahme mit der Kapsel}}$$

Die Calciumoxalat Übersättigung im 24-h Urin wurde mit Hilfe des Tiselius-Indexes berechnet (212):

$$\text{AP}(\text{CaOX}) \text{ index} = A \times \text{Calcium}^{0,84} \times \text{Oxalate} / \text{Citrat}^{0,22} \times \text{Magnesium}^{0,12} \times \text{Volumen}^{1,03}$$

Calcium, Magnesium, Oxalat und Citrat in mmol

Volumen in Liter

A-Faktor = 1,9 für einen 24-h-Urin

Der statistische Vergleich der Test-Reihen der zwei Studien erfolgte mit dem Computerprogramm SPSS (Statistical Package for the Social Sciences; Inc., Chicagi, Illinois) Version 12.0, für Windows.

Zur Überprüfung, ob Unterschiede zwischen den Geschlechtern bestehen, wurde der t-Test für unabhängige Stichproben angewandt. Es zeigt sich insgesamt bei keiner der Test-Variablen ein signifikanter Unterschied zwischen

weiblichen und männlichen Probanden. Aus diesem Grund wurde bei der statistischen Auswertung keine geschlechtsspezifische Trennung vorgenommen.

Die Auswertung des [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstests von 120 gesunden Probanden anhand des Kolmogorov-Smirnov-Tests hat gezeigt, dass die Verteilung der gastrointestinalen Oxalat-Absorption weder Gauß noch Lognormal verteilt ist (205). Daher wurde zur Überprüfung der Signifikanzen der Wilcoxon-Test zum nichtparametrischen Vergleich zweier abhängiger, verbundener Stichproben angewendet. Dabei sind Angaben über die zugrunde liegende Verteilungsform nicht notwendig. Die Überprüfung der Signifikanzen erfolgte in Studie 1 zwischen der Misch-Kost und der vegetarischen Kost mit niedrigem bzw. hohem Oxalat-Gehalt und in Studie 2 zwischen der Test-Reihe ohne Medikamenteneinnahme und den Test-Reihen mit Medikamenteneinnahme. Alle Tests wurden zu einem Signifikanzniveau von 5 % durchgeführt, somit ist ein p-Wert kleiner oder gleich 0,05 als statistisch signifikant zu bewerten. Bei statistisch signifikanten Ergebnissen gelten folgende Signifikanzniveaus für die Irrtumswahrscheinlichkeit:

Ohne * : $p > 0,05$, nicht signifikant

Ein * : $p \leq 0,05$, signifikant

Zwei ** : $p \leq 0,01$

Drei *** : $p \leq 0,001$

5 Ergebnisse

Große Fehler bei der Urin-Sammlung während der Studien konnten ausgeschlossen werden, da die ermittelten Kreatininwerte der Probanden im 24-h Urin in den jeweiligen Referenzbereichen lagen.

5.1 Studie 1: Vergleich der gastrointestinalen Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin unter Misch-Kost und vegetarischer Kost mit niedrigem bzw. hohem Oxalat-Gehalt

Das Gesamtkollektiv betrug acht Probanden, siehe 4.1.2 im Material und Methodenteil (Seite 42). Aus den ermittelten Ergebnissen der 3 Oxalsäure-Absorptionstests jedes Probanden und jeder Kost-Form wurde für jeden Probanden und jeden Parameter der Mittelwert \pm Standardabweichung sowie die Werte für das Gesamtkollektiv errechnet. Signifikanzen wurden zwischen der Misch-Kost und der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt bzw. der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt ermittelt. Die Einzelwerte jedes Probanden sind dem Anhang (Seite 123, Tabellen A und B) zu entnehmen.

Urinparameter

Die gemessenen mittleren Urin-Parameter der 24-h Urine des Probandenkollektives unter den drei verschiedenen Kostformen sind der Tabelle 20 (Seite 73) zu entnehmen. Aus den erforderlichen Parametern wurde der AP(CaOx) Index für die Calciumoxalat-Übersättigung im Urin errechnet (siehe Kapitel 4.1.5, Seite 70).

Tabelle 20: Ausscheidung der Urin-Parameter im 24-h Urin unter den verschiedenen Kostformen als MW (\pm SD).

Parameter im 24-h Urin	Misch-Kost 63 mg Oxalat	Vegetarische- Kost 70 mg Oxalat	Signifikant zur Mischkost	Vegetarische- Kost 300 mg Oxalat	Signifikant zur Mischkost
Volumen [ml]					
1.Tag	1996 (295)	2017 (491)	n.s.	2051 (247)	n.s.
2.Tag	2314 (178)	2056 (393)	n.s.	2209 (294)	n.s.
Spez. Gewicht [g/cm ³]					
1.Tag	1,013 (0,002)	1,011 (0,003)	n.s.	1,011 (0,002)	n.s.
2.Tag	1,011 (0,001)	1,010 (0,004)	n.s.	1,010 (0,002)	n.s.
Natrium [mmol]					
1.Tag	149,0 (34,5)	106,4 (36,9)	p = 0,025	131,9 (38,1)	n.s.
2.Tag	165,2 (22,7)	104,0 (38,8)	p = 0,012	148,0 (18,0)	p = 0,036
Kalium [mmol]					
1.Tag	54,7 (17,1)	49,1 (11,8)	n.s.	46,1 (9,6)	n.s.
2.Tag	53,1 (9,5)	47,6 (15,4)	n.s.	49,4 (12,2)	n.s.
Calcium [mmol]					
1.Tag	5,0 (1,3)	4,5 (2,0)	n.s.	4,40 (1,8)	n.s.
2.Tag	5,2 (1,5)	4,7 (1,7)	n.s.	4,15 (1,6)	p = 0,036.
Magnesium [mmol]					
1.Tag	4,8 (1,3)	3,9 (0,6)	p = 0,050	4,2 (1,1)	n.s.
2.Tag	5,8 (1,5)	4,6 (1,6)	p = 0,017	4,1 (1,1)	p = 0,012
Phosphat [mmol]					
1.Tag	20,0 (5,0)	24,6 (5,5)	n.s.	26,2 (7,3)	p = 0,025
2.Tag	17,4 (5,6)	24,2 (7,6)	n.s.	24,8 (6,7)	p = 0,036
Sulfat [mmol]					
1.Tag	15,5 (3,7)	14,8 (4,5)	n.s.	16,3 (5,7)	n.s.
2.Tag	13,4 (4,9)	14,9 (4,2)	n.s.	14,2 (2,7)	n.s.
Kreatinin [mmol]					
1.Tag	13,7 (5,1)	11,5 (4,0)	p = 0,012	12,5 (4,7)	p = 0,036
2.Tag	13,4 (4,8)	12,4 (5,9)	n.s.	12,2 (4,6)	p = 0,012
Oxalsäure [mmol]					
1.Tag	0,352 (0,101)	0,372 (0,075)	n.s.	0,383 (0,101)	p = 0,042
2.Tag	0,319 (0,082)	0,414 (0,126)	p = 0,012	0,340 (0,077)	n.s.
Citrat [mmol]					
1.Tag	3,331 (1,074)	3,098 (0,617)	n.s.	3,075 (1,265)	n.s.
2.Tag	3,566 (1,358)	3,241 (0,985)	n.s.	3,228 (1,136)	n.s.

Oxalat-Absorption

Die mittlere prozentuale Oxalat-Absorption der Probanden unter allen drei Kost-Formen ist in Abbildung 15 (Seite 74) dargestellt.

Die mittlere Oxalat-Absorption der Probanden betrug unter der Misch-Kost $9,2 \pm 2,7$ %. Im Vergleich zur Mischkost stieg die mittlere Oxalat-Absorption unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt auf $15,8 \pm 2,9$ % ($p = 0,012$).

Die mittlere Oxalat-Absorption der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt

betrug $12,5 \pm 4,6$ % und es ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zur Misch-Kost ($p = 0,093$).

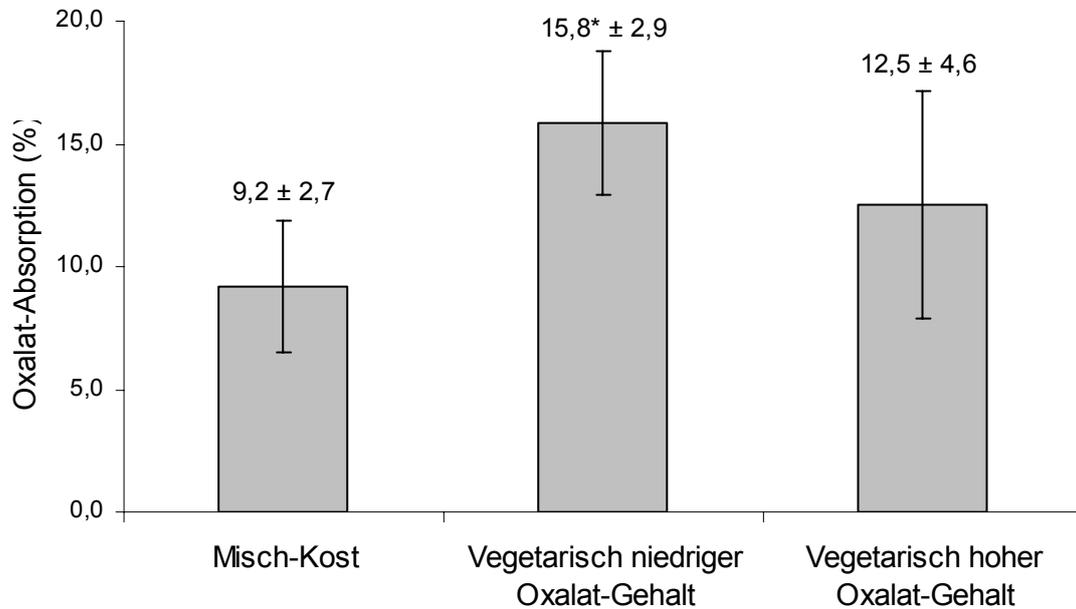


Abbildung 15: Mittlere prozentuale Oxalat-Absorption \pm SD der Probanden unter den drei verschiedenen Kostformen (* $p = 0,012$, signifikant zur Misch-Kost).

Oxalat-Ausscheidung im Urin

Die mittlere Oxalat-Ausscheidung im Urin ist Abbildung 16 (Seite 75) zu entnehmen.

Unter der Misch-Kost betrug die mittlere Oxalat-Ausscheidung im 24-h-Urin $0,319 \pm 0,082$ mmol. Diese stieg unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt auf $0,414 \pm 0,126$ mmol ($p = 0,012$). Die mittlere Oxalat-Ausscheidung im Urin mit hohem Oxalat-Gehalt betrug $0,340 \pm 0,077$ mmol und es ergab sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Misch-Kost ($p = 0,161$).

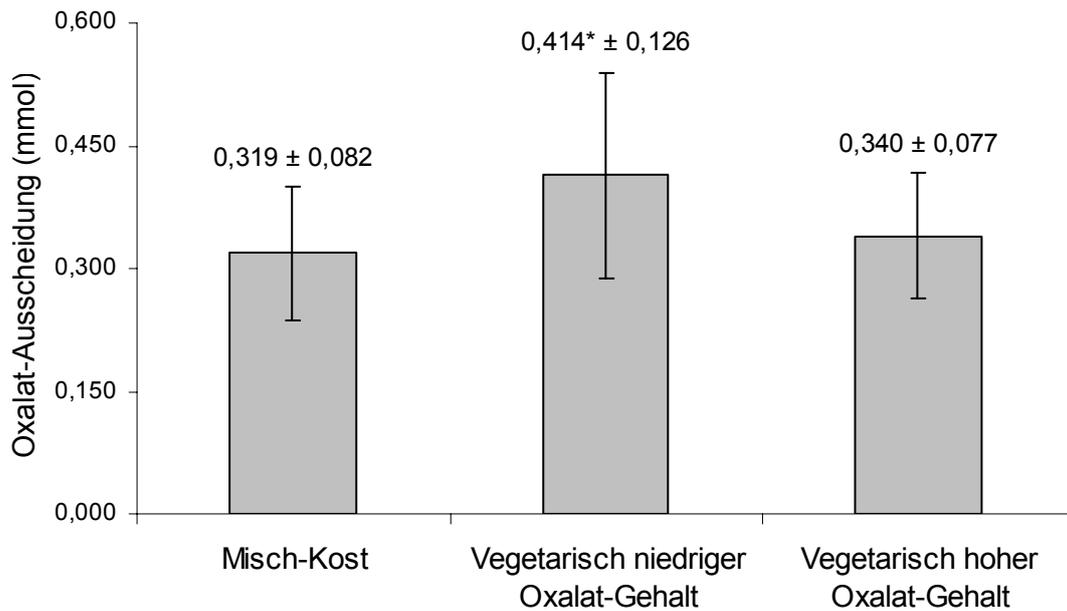


Abbildung 16: Mittlere Oxalat-Ausscheidung \pm SD im Urin der Probanden unter den drei verschiedenen Kostformen (* $p = 0,012$, signifikant zur Misch-Kost).

Tiselius-Index als Maß für die Calciumoxalat-Übersättigung

Abbildung 17 (Seite 76) zeigt die gemittelten Tiselius-Indizes der Probanden unter den drei Kostformen.

Unter der Misch-Kost betrug der Mittelwert des Tiselius-Indexes der Probanden $0,51 \pm 0,19$. Dieser stieg im Vergleich zur Misch-Kost unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt statistisch signifikant auf $0,77 \pm 0,45$ ($p = 0,012$) an. Der Mittelwert des Tiselius-Indexes unter der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt war statistisch nicht signifikant verschieden im Vergleich zur Misch-Kost und betrug $0,54 \pm 0,30$ ($p = 0,161$).

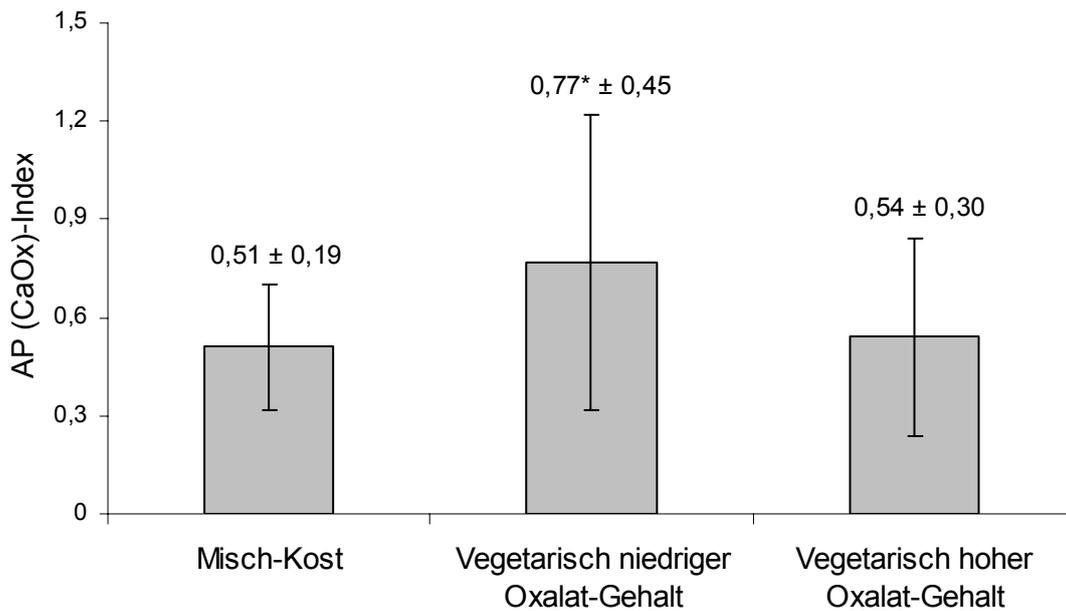


Abbildung 17: Tiselius-Index (Mittelwert \pm SD) der Probanden unter den drei verschiedenen Kost-Formen am Testtag (* $p = 0,012$, signifikant zur Misch-Kost).

Anschluss-Test-Phase an Studie 1: intestinale Oxalat-Absorption

Abbildung 18 (Seite 77) zeigt die mittlere intestinale Oxalat-Absorption der beiden Probanden unter den Kostformen mit niedrigem Oxalat-Gehalt unter der Aufnahme von Weizen-Brötchen und unter der Aufnahme von Mehrkornbrötchen. Bei Proband 1 betrug die mittlere intestinale Oxalat-Absorption unter Aufnahme der Weizenbrötchen $2,8 \pm 1,2$ % und unter der Aufnahme der Mehrkornbrötchen $9,4 \pm 0,4$ % (unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt). Die mittlere Oxalat-Absorption des Probanden 2 betrug unter Aufnahme der Weizenbrötchen $11,5 \pm 2,6$ % und unter der Aufnahme der Mehrkornbrötchen $20,1 \pm 2,8$ % (unter der Misch-Kost).

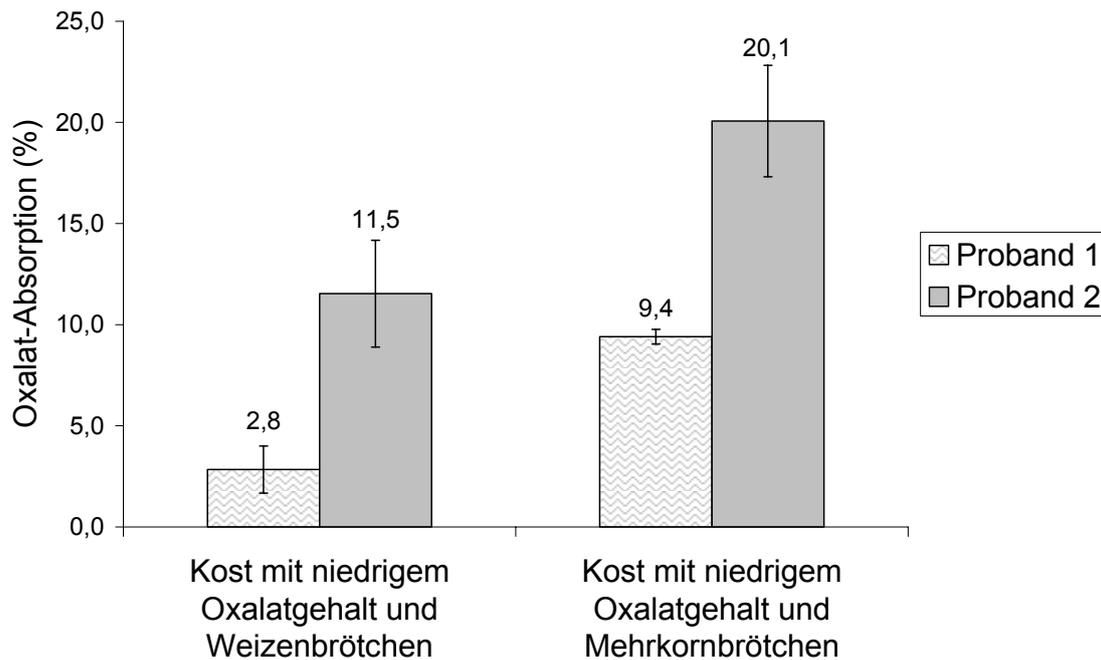


Abbildung 18: Mittlere intestinale Oxalat-Absorption unter den Kostformen mit niedrigem Oxalat-Gehalt, unter Aufnahme von Weizenbrötchen und unter Aufnahme von Mehrkornbrötchen.

Anschluss-Test-Phase an Studie 1: renale Oxalat-Ausscheidung

Abbildung 19 (Seite 78) zeigt die mittlere Oxalat-Ausscheidung der beiden Probanden unter den Kostformen mit niedrigem Oxalat-Gehalt unter der Aufnahme von Weizen-Brötchen und unter der Aufnahme von Mehrkornbrötchen. Bei Proband 1 betrug die mittlere intestinale Oxalat-Ausscheidung unter Aufnahme der Weizenbrötchen $0,177 \pm 0,003$ mmol/Tag und unter der Aufnahme der Mehrkornbrötchen $0,282 \pm 0,049$ mmol/Tag (unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt). Die mittlere Oxalat-Ausscheidung des Probanden 2 betrug unter Aufnahme der Weizenbrötchen $0,391 \pm 0,075$ mmol/Tag und unter der Aufnahme der Mehrkornbrötchen $0,610 \pm 0,148$ mmol/Tag (unter der Misch-Kost).

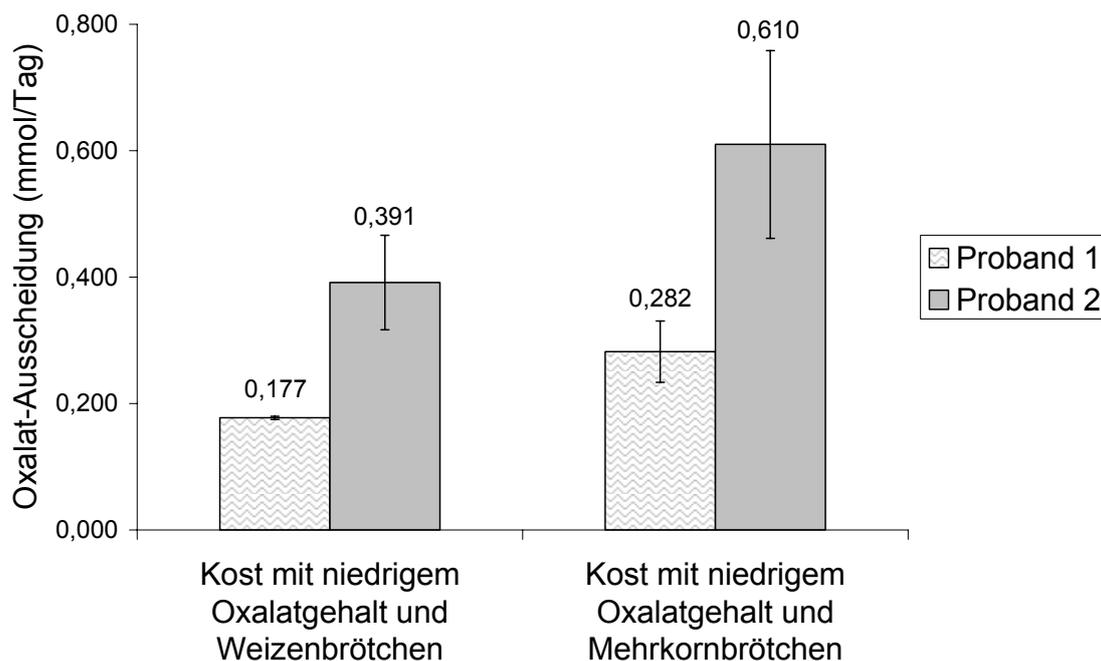


Abbildung 19: Mittlere intestinale Oxalat-Ausscheidung unter den Kostformen mit niedrigem Oxalat-Gehalt, unter Aufnahme von Weizenbrötchen und unter Aufnahme von Mehrkornbrötchen.

5.2 Studie 2: Einfluss von Imodium® und Nephrotrans® auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin

Das Gesamtkollektiv betrug acht Probanden, fünf männliche und drei weibliche Probanden, siehe 4.1.2 (Seite 42) im Material und Methodenteil. Aus den ermittelten Ergebnissen der drei [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstests jedes Probanden und jeder Test-Reihe wurde für jeden Probanden und jeden Parameter der Mittelwert \pm Standardabweichung sowie die Werte für das Gesamtkollektiv errechnet. Signifikanzen wurden unter konstanter Kost (siehe Kapitel 4.1.2.2, Seite 48) zwischen der Test-Reihe ohne Medikamenteneinnahme und den Test-Reihen mit Medikamenteneinnahme ermittelt. Die Einzelwerte jedes Probanden sind dem Anhang (Seite 123, Tabellen C und D) zu entnehmen.

Urinparameter

Die gemessenen Urin-Parameter (Mittelwerte \pm SD) der 24-h Urine des Probandenkollektives unter den drei Test-Reihen sind der Tabelle 21 zu entnehmen.

Tabelle 21: Urin-Parameter im 24-h Urin unter den 3 Test-Reihen der Studie 2 als MW (\pm SD).

Parameter im 24-h Urin	Test-Reihe ohne Medikamente	Testreihe mit Imodium®	Signifikant zu ohne Medikamente	Test-Reihe mit Nephrotrans®	Signifikant zu ohne Medikamente
Volumen [ml]					
1.Tag	2326 (561)	2360 (503)	n.s.	2215 (756)	n.s.
2.Tag	2183 (471)	2321 (543)	n.s.	2311 (463)	n.s.
Spez. Gewicht [g/cm ³]					
1.Tag	1,011 (0,003)	1,011 (0,003)	n.s.	1,013 (0,006)	n.s.
2.Tag	1,011 (0,003)	1,011 (0,004)	n.s.	1,012 (0,004)	n.s.
Natrium [mmol]					
1.Tag	160,9 (58,6)	154,3 (44,8)	n.s.	131,9 (38,1)	n.s.
2.Tag	136,7 (28,0)	139,2 (34,2)	n.s.	150,5 (42,7)	n.s.
Kalium [mmol]					
1.Tag	56,6 (8,9)	58,3 (8,1)	n.s.	54,3 (12,5)	n.s.
2.Tag	54,8 (6,1)	55,3 (7,7)	n.s.	54,6 (10,9)	n.s.
Calcium [mmol]					
1.Tag	4,4 (0,7)	4,7 (1,3)	n.s.	4,7 (0,9)	n.s.
2.Tag	4,6 (1,0)	4,2 (1,2)	n.s.	4,9 (1,1)	n.s.
Magnesium [mmol]					
1.Tag	4,6 (1,0)	5,0 (1,0)	n.s.	4,8 (0,9)	n.s.
2.Tag	5,0 (1,1)	4,7 (0,9)	n.s.	5,0 (0,9)	n.s.
Phosphat [mmol]					
1.Tag	28,3 (6,0)	28,3 (6,1)	n.s.	27,8 (6,7)	n.s.
2.Tag	25,7 (2,1)	26,8 (4,9)	n.s.	25,9 (6,3)	n.s.
Sulfat [mmol]					
1.Tag	20,7 (3,6)	21,6 (3,9)	n.s.	21,0 (4,7)	n.s.
2.Tag	19,5 (2,3)	20,2 (2,8)	n.s.	20,6 (2,7)	n.s.
Kreatinin [mmol]					
1.Tag	13,2 (4,3)	13,9 (4,2)	n.s.	13,9 (3,7)	n.s.
2.Tag	13,0 (3,2)	13,6 (4,3)	n.s.	14,0 (3,8) ^a	p = 0,025
Oxalsäure [mmol]					
1.Tag	0,365 (0,118)	0,380 (0,123)	n.s.	0,365 (0,118)	n.s.
2.Tag	0,338 (0,077)	0,326 (0,084)	n.s.	0,349 (0,104)	n.s.
Citrat [mmol]					
1.Tag	2,997 (1,095)	3,055 (1,217)	n.s.	3,121 (1,430)	n.s.
2.Tag	3,211 (1,283)	2,845 (0,901)	n.s.	3,689 (1,433)	p = 0,050.

Oxalat-Absorption

Abbildung 20 (Seite 80) zeigt die mittlere prozentuale Oxalat-Absorption der Probanden während der drei Test-Reihen.

Die mittlere Oxalat-Absorption der Probanden betrug unter der Test-Reihe ohne Medikamenteneinnahme $7,5 \pm 2,8$ %. Es ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied in der mittleren Oxalat-Absorption der Probanden nach der Medikamenteneinnahme im Vergleich ohne Medikamenteneinnahme: Nach der Einnahme von Nephrotrans[®] betrug die mittlere Oxalat-Absorption $8,2 \pm 3,8$ % ($p = 0,401$) und nach der Einnahme von Imodium[®] $10,1 \pm 4,8$ % ($p = 0,069$).

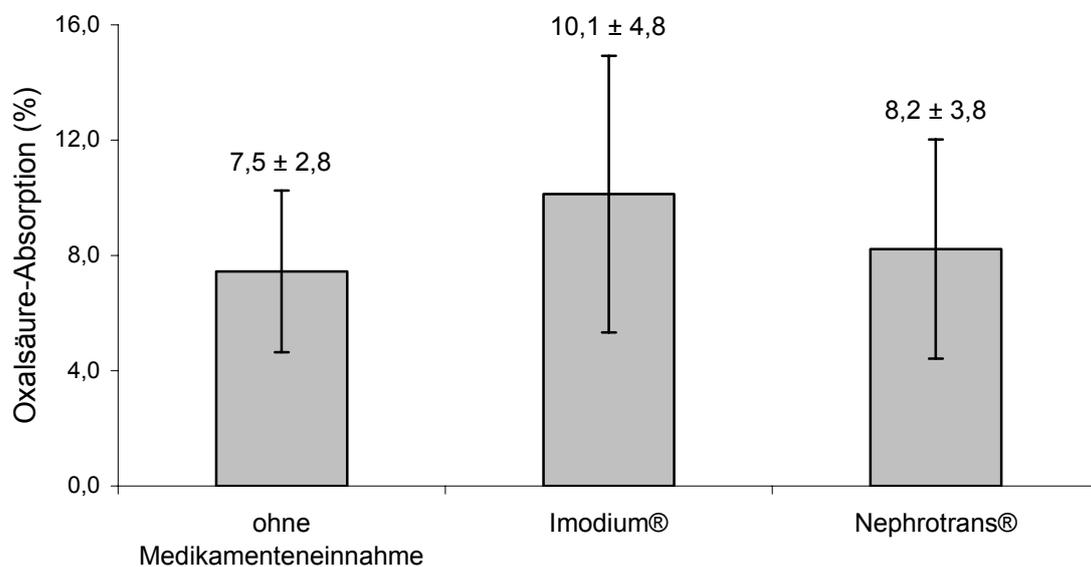


Abbildung 20: Mittelwerte für die prozentuale Oxalat-Absorption \pm SD der Probanden unter den drei Test-Reihen.

In der Abbildungen 21-22 (Seite 81) sind die individuellen Mittelwerte für die gastrointestinale Oxalat-Absorption der Probanden ohne Medikamenteneinnahme und nach der Einnahme von Imodium[®] bzw. Nephrotrans[®] dargestellt. Zur besseren Übersicht sind die Standardabweichungen nicht dargestellt, diese können im Anhang (Seite 123) der Tabelle C entnommen werden.

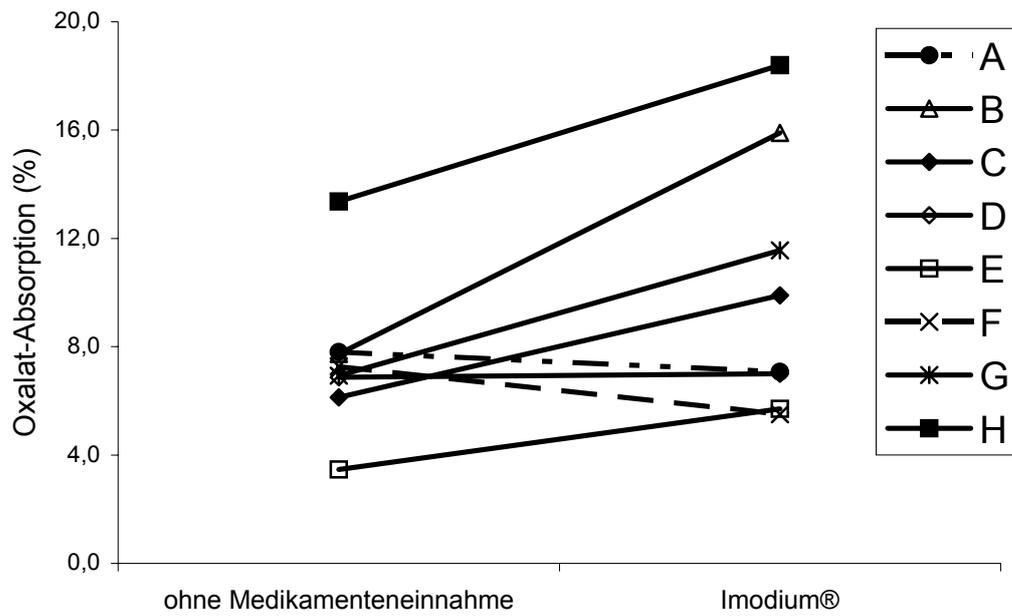


Abbildung 21: Individuellen Mittelwerte für die prozentualen Oxalat-Absorption der Probanden ohne Medikamenteneinnahme und nach der Einnahme von Imodium®.

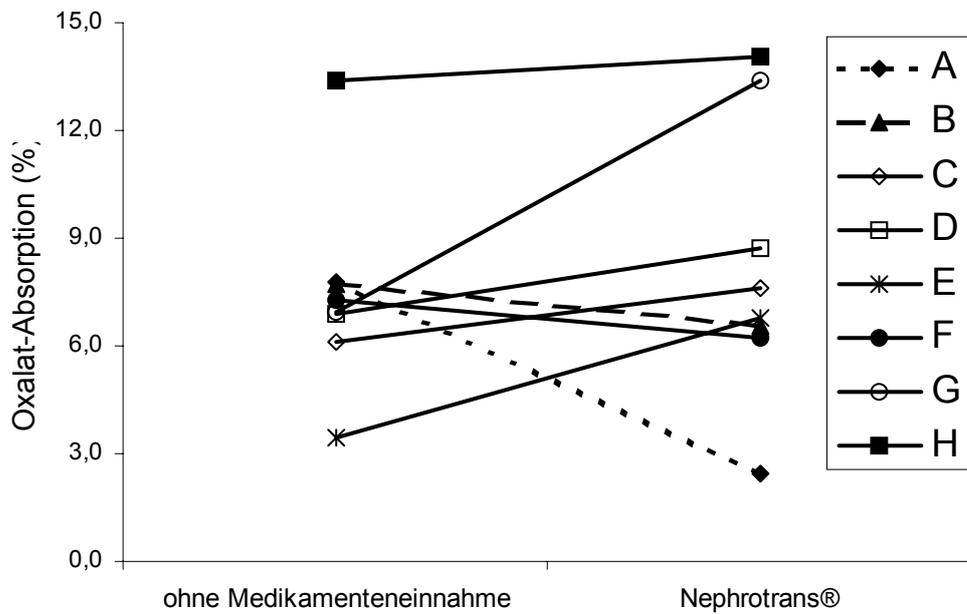


Abbildung 22: Individuellen Mittelwerte der prozentualen Oxalat-Absorption der Probanden ohne Medikamenteneinnahme und nach der Einnahme von Nephrotrans®.

Oxalat-Ausscheidung im Urin

Die mittlere renale Oxalat-Ausscheidung der Probanden unter den drei Test-Reihen ist Abbildung 23 zu entnehmen.

Unter der Test-Reihe ohne Medikamenteneinnahme betrug die mittlere Oxalat-Ausscheidung im Urin $0,338 \pm 0,077$ mmol. Nach der Einnahme der Medikamente ergab sich kein signifikanter Unterschied zu der Test-Reihe ohne Medikamenteneinnahme: Unter der Nephrotrans[®]-Test-Reihe betrug die mittlere Oxalat-Ausscheidung im Urin der Probanden $0,349 \pm 0,104$ mmol ($p = 0,575$) und unter der Imodium[®]-Test-Reihe $0,326 \pm 0,084$ mmol ($p = 0,441$).

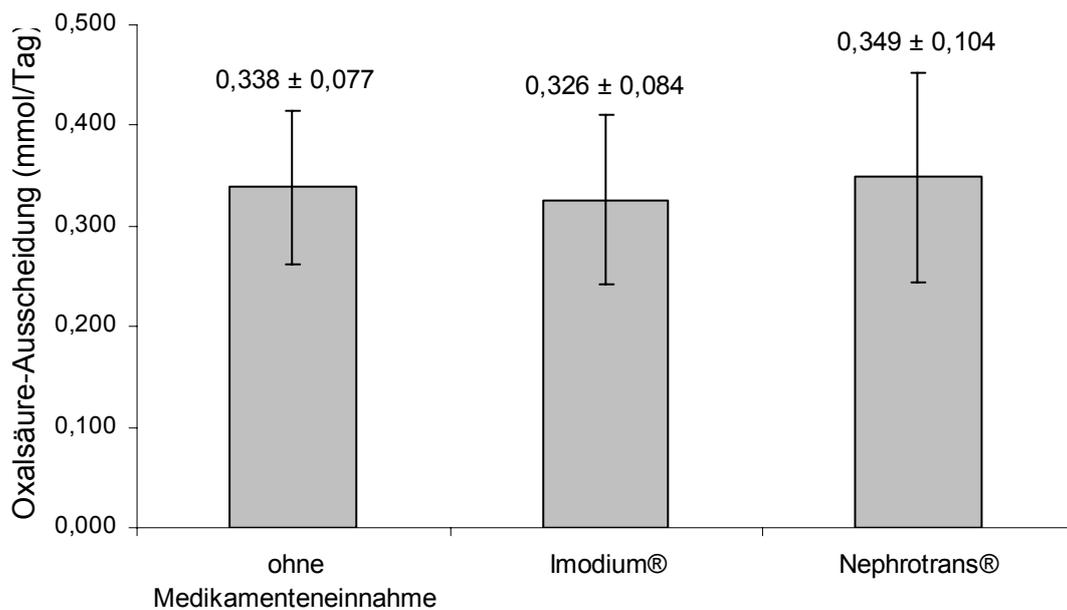


Abbildung 23: Mittlere renale Oxalat-Ausscheidung \pm SD der Probanden unter den drei Test-Reihen.

In den Abbildungen 24-25 sind die individuellen Mittelwerte für die renale Oxalat-Ausscheidung der Probanden ohne Medikamenteneinnahme und nach der Einnahme von Imodium® bzw. Nephrotrans® dargestellt. Zur besseren Übersicht sind die Standardabweichungen nicht dargestellt, diese können im Anhang (Seite 123) der Tabelle D entnommen werden.

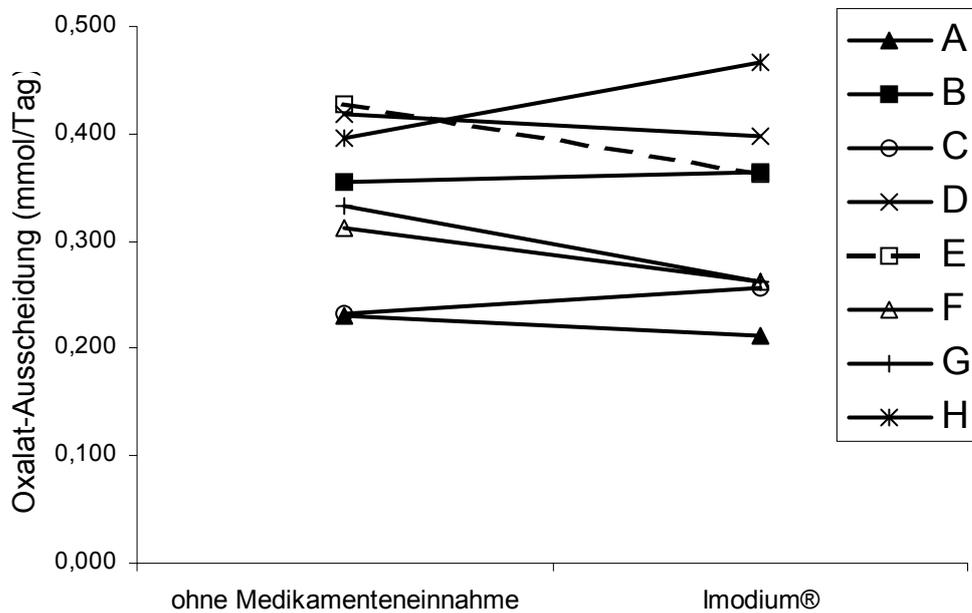


Abbildung 24: Individuelle Mittelwerte der renalen Oxalat-Ausscheidung der Probanden ohne Medikamenteneinnahme und unter nach der Einnahme von Imodium®.

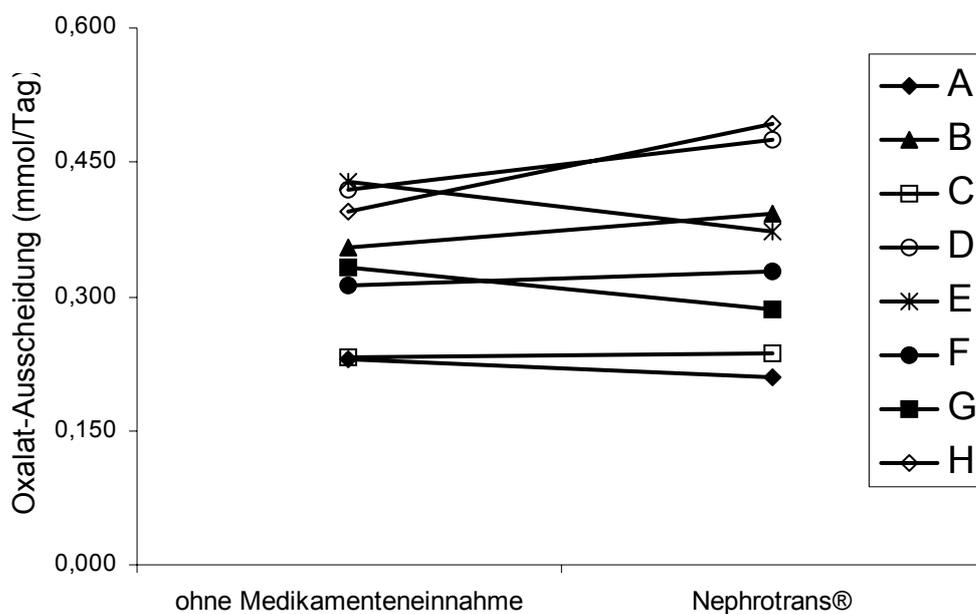


Abbildung 25: Individuelle Mittelwerte der renalen Oxalat-Ausscheidung der Probanden ohne Medikamenteneinnahme und nach der Einnahme von Nephrotrans®.

Tiselius-Index als Maß für die Calciumoxalat-Übersättigung

Abbildung 26 (Seite 85) zeigt die Mittelwerte für den Tiselius-Index der Probanden unter den drei Test-Reihen.

Dieser betrug ohne Medikamenteneinnahme $0,57 \pm 0,21$. Es ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied im mittleren Tiselius-Index der Probanden unter den Test-Reihen mit Medikamenteneinnahme im Vergleich ohne Medikamenteneinnahme: nach der Einnahme von Nephrotrans® betrug dieser $0,57 \pm 0,31$ ($p = 1,000$) und nach der Einnahme von Imodium® $0,49 \pm 0,21$ ($p = 0,123$).

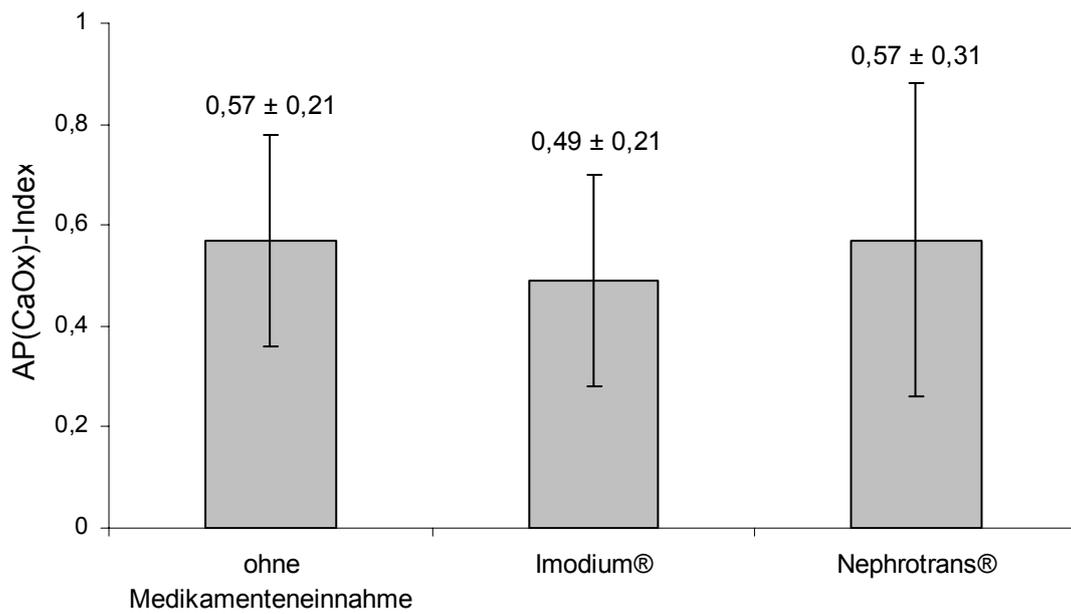


Abbildung 26: Tiselius-Index der Probanden ohne und nach Medikamenteneinnahme am Testtag, dargestellt als Mittelwerte \pm SD.

6 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals im Rahmen zweier Studien der Einfluss vegetarischer Kostformen mit unterschiedlichem Oxalat-Gehalt, sowie zweier häufig in der Urologie und Gastroenterologie applizierten Medikamente, das Antidiarrhoicum Immodium[®] und das Antacidum Nephrotrans[®], auf die intestinale Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin unter einer vegetarischen Kost nicht nur vom Oxalat-Gehalt in der Kost abhängt, sondern von verschiedenen Faktoren beeinflusst wird. Im Rahmen der Medikamentenstudie konnte gezeigt werden, dass die potentiell die intestinale Oxalat-Absorption bzw. Oxalat-Ausscheidung modulierenden Medikamente Immodium[®] und Nephrotrans[®] bei intaktem Gastrointestinaltrakt und in der üblichen Dosierung keinen signifikanten Einfluss auf diese besitzen.

6.1 Einfluss vegetarischer Kost auf die Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin

Gastrointestinale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin

Es ist bekannt, dass die Oxalat-Absorption von der Menge und der Verfügbarkeit von Calcium und Magnesium im Gastrointestinaltrakt abhängt. Diese zweiwertigen Kationen sind in der Lage, das ebenfalls anwesende Oxalat zu binden. Das dadurch gebildete schwerlösliche Calciumoxalat-Salz kann nicht mehr absorbiert werden und wird folglich mit den Fäzes ausgeschieden (9;40;213). Beide in der vorliegenden Studie zugrunde liegenden vegetarischen Kostformen enthielten annähernd die gleiche Nährstoff- und Flüssigkeitsmenge. Besonders die Menge an Calcium und Magnesium wurde zwischen den vegetarischen Kostformen nicht variiert. Aus diesem Grund wurde vor Beginn der Studie angenommen, dass die intestinale Oxalat-Absorption und die renale

Oxalat-Ausscheidung unter der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt höher ausfallen würden, als unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt. In mehreren Studien war gezeigt worden, dass bei konstanter Nahrungszufuhr eine höhere Oxalat-Zufuhr eine vermehrte Oxalat-Absorption bzw. eine erhöhte renale Oxalat-Ausscheidung zur Folge hat (10;16-18). In der vorliegenden Studie ergab sich ein genau gegenteiliger Effekt, so stieg die intestinale Oxalat-Absorption bzw. renale Oxalat-Ausscheidung nur unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt signifikant um 72 % bzw. 30 %, im Vergleich zur Misch-Kost. Unter der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Oxalat-Absorption im Gastrointestinaltrakt bzw. Oxalat-Ausscheidung im Urin im Vergleich zur Misch-Kost. Der Grund für dieses nicht signifikante Ergebnis ist unbekannt, aber man kann vermuten, dass das Oxalat (249 mg = 2,7 mmol) in der Spinatfüllung der Tortellini durch die gleichzeitige Aufnahme von Calcium (211 mg = 5,2 mmol) in der Sahnesauce des Gerichtes im Gastrointestinaltrakt komplexiert wurde. Diese schwerlöslichen Komplexe entziehen sich der Absorption und werden in Folge vermehrt mit den Fäzes ausgeschieden, so dass weniger Oxalat absorbiert wird. Dieser Effekt wurde schon von Hesse et al. (214) beschrieben, indem die intestinale Oxalat-Absorption bei alimentärer Zufuhr von Rahmspinat um 80 % reduziert werden konnte, im Vergleich zu purem Spinat. Brogren et al. (215) konnten ebenfalls zeigen, dass durch die Gabe von Milchprodukten zu einer Spinatmahlzeit die Oxalat-Verfügbarkeit im Gastrointestinaltrakt signifikant verringert wird. Savage et al. (216) haben gezeigt, dass durch den Konsum von schwarzem Tee mit Milch die renale Oxalat-Ausscheidung, im Vergleich zum Konsum ohne Milch, signifikant reduziert werden kann. Der Verzehr von oxalatreichen Lebensmitteln zusammen mit Milchprodukten reduziert die Verfügbarkeit von Oxalat und Calcium im Gastrointestinaltrakt (215;217;218). Damit kann gleichzeitig auch das Vorliegen des signifikanten Unterschiedes in der mittleren Calcium Ausscheidung im Urin zwischen der Standard-Kost und der vegetarischen Kost mit hohem nicht aber mit niedrigem Oxalat-Gehalt erklärt werden, da in Folge der Bildung der Calciumoxalat-Komplexe auch Calcium vermindert absorbiert wird.

Einfluss von Phytinsäure

Mit der zusätzlichen Aufnahme von Oxalat unter der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt ist nicht geklärt, warum die intestinale Oxalat-Absorption in der Testphase mit niedrigem Oxalat-Gehalt signifikant anstieg. Bezüglich der intestinalen Oxalat-Absorption galt die meiste Aufmerksamkeit immer dem Calcium, wegen der Fähigkeit, die Oxalat-Absorption stark zu beeinflussen. Doch es existieren weitere Faktoren, die einen Einfluss auf die intestinale Oxalat-Absorption nehmen können wie z.B. die Bioverfügbarkeit des Nahrungsoxalates, der Ballaststoffgehalt der Nahrung, physiologische Faktoren wie die Transitzeit oder der pH im Gastrointestinaltrakt. In einigen Studien konnte gezeigt werden, dass Ballaststoffe die intestinale Calcium-Absorption und die renale Calcium-Ausscheidung durch dessen Bindung im Gastrointestinaltrakt reduzieren können (219-222). In Folge resultiert eine vermehrte Verfügbarkeit von freier Oxalsäure im Intestinum, die der Absorption zur Verfügung steht. Unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt im Rahmen der Studie 1 kam es zu einem signifikanten Anstieg der gastrointestinalen Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin im Vergleich zur Mischkost. Beide Kostformen enthielten annähernd die gleiche Menge an Oxalat, 70 mg Oxalat in der vegetarischen Kost und 63 mg Oxalat in der Misch-Kost. Beide in der vorliegenden Arbeit verwendeten vegetarischen Kost-Formen enthielten annähernd dieselbe Menge an Nährstoffen bei unterschiedlichem Oxalat-Gehalt. Der einzige nennenswerte Unterschied zwischen den beiden vegetarischen Kostformen findet sich im Phytat-Gehalt, der unter zur Hilfenahme von Nährwert-Tabellen (Souci, Fachmann, Kraut) (152) berechnet wurde. Die Calcium-Absorption wird von Ballaststoffen beeinflusst, insbesondere von dem Phytat-Gehalt in der Kost (151;223). Phytat (Phytinsäure = Hexaphosphorsäureester des Zuckers myo-Inosit) kommt natürlicherweise in den Randschichten von Getreidekörnern, Hülsenfrüchten und Samen vor. Das mit der Nahrung aufgenommene Phytat kann sich im Darm mit zweiwertigen Kationen, z.B. Calcium, verbinden, so dass die freie Verfügbarkeit und somit auch die Absorption vermindert sind.

Der Phytat-Gehalt der verabreichten vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt ist vernachlässigbar gering und liegt bei 50 mg (0,075 mmol). Hingegen enthielt die vegetarische Kost mit geringem Oxalat-Gehalt 638 mg (0,97 mmol) Phytat, davon befanden sich 396 mg (0,6 mmol) in den beiden Vollkornbrötchen des Frühstücks (siehe Tabelle 3, Seite 28). Theoretisch ist diese Menge in der Lage, maximal 144 mg (3,6 mmol) Calcium im Gastrointestinaltrakt zu binden (224). Mit der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt wurde in den ersten 6 Stunden nach der Einnahme der [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Kapsel ungefähr 1,7 mmol Calcium zugeführt. Diese Menge könnte durch die Phytinsäure gebunden worden sein und stand somit für die Komplexbildung mit Oxalat nicht mehr zur Verfügung. In der Folge könnte mehr [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat, unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt, in den ersten sechs Stunden nach der Einnahme der [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Kapsel absorbiert worden sein, da ungefähr 75 bis 80 % des zugeführten Oxalates innerhalb dieser Zeit absorbiert werden (205). In einer neueren Studie von Hambridge et al. (225) konnte gezeigt werden, dass die intestinale Calcium-Absorption bei Zufuhr von Mais-Tortillas mit hohem Phytat-Gehalt (0,6 mmol) um 30 % niedriger war, als bei Zufuhr von Mais-Tortillas mit niedrigem Phytat-Gehalt (0,3 mmol). Die Bindung von Calcium durch Phytat resultiert in einem Anstieg der Oxalat-Absorption (155;226;227).

Trotzdem wird der Effekt von Ballaststoffen auf das Calciumoxalat-Steinleiden in der Literatur kontrovers diskutiert. Einige Studien haben gezeigt, dass Ballaststoffe keinen (228;229), einen reduzierenden (35;230), als auch einen erhöhenden Effekt (231) auf die renale Oxalat-Ausscheidung ausüben können. In einer Studie von Busch et al. (149) wurde die Wirkung des Ballaststoffpräparat Farnolith[®] bei 14 rezidivierenden Calciumoxalat-Steinbildnern auf das Harnsteinbildungsrisiko über ein Jahr getestet. Dieses Ballaststoffpräparat enthielt zu gleichen Teilen Weizen-, Malz- und Sojagleie. Unter der Gabe kam es zu einer pH-Stabilisierung und einem signifikanten Anstieg der Ausscheidung der inhibitorischen Substanzen Kalium, Zitronensäure und Magnesium im Urin. Die Rezidivrate sank um 10 %. In einer Studie von Jahnen et al. (151) konnte durch die Gabe von Soja- bzw. Reis-Kleie (jeweils 36 g), bei konstanter Calciumzufuhr (1800 mg), die Calciumausscheidung mit dem Urin

signifikant reduziert werden. Die Oxalsäureausscheidung im Urin stieg unter der Gabe von Reiskleie signifikant an.

Von besonderer (und nicht in allen zitierten Studien beachteter) Bedeutung ist, dass jede Pflanzenfamilie unterschiedliche Ballaststoffarten in unterschiedlicher Menge enthält, die unterschiedliche Wirkungen im menschlichen Organismus entfalten. Der Oxalat-Gehalt in Getreideprodukten variiert je nach Sorte ebenfalls von sehr niedrig zu sehr hoch. Siener et al. (72) bestimmten den Oxalat-Gehalt von Getreide- und Getreideprodukten. Einen hohen Oxalat-Gehalt findet sich in Weizenkleie, Vollkorngetreide und -produkten.

Die Theorie, dass die höhere Oxalat-Absorption durch den Phytatgehalt in den Mehrkornbrötchen verursacht worden ist, wurde in zwei Pilot-Testserien überprüft (siehe 4.1.2.1, Seite 44). In der Test-Serie mit den Vollkornbrötchen betrug die mittlere [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorption des ersten Probanden $9,4 \pm 0,4$ % und des zweiten Probanden $20,1 \pm 2,8$ %. Durch den Austausch der Brötchen in der zweiten Test-Serie konnte die mittlere [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorption des ersten Probanden auf $2,8 \pm 1,2$ % und des zweiten Probanden auf $11,5 \pm 2,6$ % reduziert werden. Die Calciumzufuhr mit den Kostformen betrug in den ersten sechs Stunden ungefähr 1,7 mmol. Die Phytatzufuhr in dieser Zeit betrug durch die Vollkornbrötchen 0,6 mmol, welche in der Lage ist maximal 3,6 mmol Calcium zu binden. Diese Komplexbildung könnte die höhere Oxalat-Absorption unter der Aufnahme der Kost mit den Vollkornbrötchen erklären. Dies deutet darauf hin, dass der Einfluss von Phytat auf die Oxalat-Absorption sehr groß ist. Auf der anderen Seite haben Arbeiten von Grases et al. (153;154;232) gezeigt, dass eine hohe Phytat-Ausscheidung im Urin einen inhibitorischen Effekt auf die Lithogenese von Calciumoxalat- und Calciumphosphat-Steinen ausübt. Dies macht weitere Untersuchungen über den Einfluss der Phytinsäure auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung sowie das Kristallisationsrisiko für Calciumsalze im Urin unbedingt erforderlich. Möglicherweise muss die Rolle von Ballaststoffen, besonders der darin enthaltenden Phytinsäure, in Hinblick auf die Prävention der Calciumoxalat-Urolithiasis überdacht werden.

Weitere gemessene Urin-Parameter

Die Calcium-Ausscheidung im Urin unter der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt war signifikant niedriger im Vergleich zur Misch-Kost. Dies könnte durch die Bildung von Calciumoxalat-Komplexen verursacht worden sein, durch die nicht nur Oxalat, sondern auch Calcium der Absorption entzogen wird. Diese Theorie wurde schon auf Seite 87 ausführlich diskutiert.

Dasselbe Ergebnis hinsichtlich einer signifikant reduzierten Calcium-Ausscheidung im Urin, war auch unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt, durch die Bindung von Calcium durch das vorhandene Phytat, zu erwarten. Eine verminderte Calcium-Ausscheidung im Urin unter der Gabe von Ballaststoffen bzw. Phytat wurde in mehreren Studien festgestellt (siehe Seite 88). Unter der in der vorliegenden Studie verwendeten vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt ergab sich allerdings kein signifikanter Unterschied in der renalen Calcium-Ausscheidung im Vergleich zur Misch-Kost. Eine Erklärung dafür wäre der unterschiedliche Calcium-Gehalt der beiden Kostformen, die vegetarische Kost mit geringem Oxalatgehalt enthielt 1000 mg und die Misch-Kost 800 mg Calcium. Die vegetarische Kost mit geringem Oxalat-Gehalt enthielt 594 mg (0,9 mmol) Phytat. Theoretisch ist diese Menge in der Lage, maximal 216 mg (5,4 mmol) Calcium im Gastrointestinaltrakt zu binden (224). Insgesamt macht die mögliche Calciumbindungskapazität (216 mg) des in der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalatgehalt enthaltenen Phytats ungefähr den Unterschied im Calciumgehalt (200 mg) zwischen den beiden Kostformen aus. Dies könnte der Grund dafür sein, dass unter der vegetarischen Kost mit geringem Oxalat-Gehalt keine signifikant erniedrigte Calcium-Ausscheidung im Urin im Vergleich zur Misch-Kost, beobachtet worden ist; im Vergleich zu anderen Studien unter Ballaststoff- bzw. Phytatgabe.

Die mittlere Kreatinin-Ausscheidung der Probanden war zwischen der Misch-Kost und der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt am ersten Tag des [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstests signifikant unterschiedlich. Es ergaben sich signifikante Unterschiede in der mittleren Kreatinin-Ausscheidung der

Probanden zwischen der Mischkost und der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt an beiden Tagen des Tests. Der Grund ist unbekannt, Sammelfehler können insoweit ausgeschlossen werden, da die individuellen Werte für die Kreatininausscheidungen der Probanden unter allen Kostformen im jeweiligen Referenzbereich lagen. Eine Erklärung für die signifikanten Unterschiede in der mittleren Kreatininausscheidung der Probanden, könnte in der zeitlichen Erstreckung der Studie gesehen werden. Die Gründe lagen zum einen in der Einhaltung des vorgeschriebenen Abstands von mindestens einer Woche zwischen den [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstests (um eine Standardisierung zu vermeiden) und zum anderen in Verzögerungen, die sich durch Nichterfüllung der Testdurchführungsvorgaben ergeben haben. Bei dessen Vorliegen, wie einer Erkrankung (z.B. Erkältung), besonders einer dadurch bedingten Medikamenteneinnahme oder Diarrhoe, musste bis zur Durchführung des nächsten Tests eine vollständige Genesung erfolgt sein.

Innerhalb des Studienzeitraums könnten sich bei einzelnen Probanden eine Verschiebung in der Muskelmasse ergeben haben, entsprechende Messungen (z.B. Körpergewicht, BMI) wurden am Ende der Studie allerdings nicht mehr durchgeführt. Da in dieser Studie vegetarische Kostformen mit einer Misch-Kost verglichen wurden, könnte aber auch die höhere Zufuhr an tierischem Protein durch die Misch-Kost zu der im Mittel niedrigeren Kreatininausscheidung unter den vegetarischen Kostformen im Vergleich zur Misch-Kost geführt haben.

In der Phosphat-Ausscheidung ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Misch-Kost und der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt. Der Grund dafür ist unbekannt. Die renale Phosphat-Ausscheidung ist direkt mit der Absorption aus der Nahrung gekoppelt (233;234), so dass man vermuten kann, dass sich dieser Unterschied durch den höheren Phosphat-Gehalt der vegetarischen Kost im Vergleich zur Misch-Kost ergeben haben könnte (siehe Tabelle 6, Seite 45). Die individuellen Werte für die Phosphatausscheidungen der Probanden unter allen Kostformen lagen im jeweiligen Referenzbereich, so dass andere Ursachen für diesen signifikanten Unterschied in der Phosphatausscheidung ausgeschlossen werden können.

Unter der Misch-Kost waren die Magnesium- und Natriumausscheidungen signifikant höher als unter den beiden vegetarischen Kost-Formen. Diese Unterschiede dürften auf den höheren Magnesium- bzw. Natriumgehalt der Misch-Kost zurückzuführen sein. Diese Misch-Kost lag der Bestimmung des Referenzbereiches für die gastrointestinale Oxalat-Absorption zugrunde und wurde zum Zweck der Vergleichbarkeit für die vorliegende Studie in ihrer Zusammensetzung beibehalten. Die individuellen Werte für die Magnesium- bzw. Natriumausscheidung der Probanden lagen unter allen drei Kostformen im jeweiligen Referenzbereich.

AP(CaOx) Index – Calciumoxalat-Urinübersättigung

Ein signifikantes Risiko der Urinübersättigung mit Calciumoxalat fand sich unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt im Vergleich zur Misch-Kost. Eine Erklärung für dieses signifikant erhöhte Risiko ist die höhere renale Oxalat-Ausscheidung, welche in Folge der höheren Calciumbindungsaktivität der Phytinsäure in dieser Kost verursacht sein könnte.

Es fand sich hingegen zwischen der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt und der Misch-Kost kaum ein Unterschied im AP(CaOx)-Index. Dies könnte durch die geringere Calcium- und Oxalat-Ausscheidung im Urin unter der vegetarischen Kost mit hohem Oxalat-Gehalt zu erklären sein, aufgrund der oben genannten Bildung von Calciumoxalat-Komplexen, die vermehrt mit den Fäzes ausgeschieden werden.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass eine hohe intestinale Absorption und renale Ausscheidung von Oxalat unter einer vegetarischen Kost nicht nur einfach vom Oxalat-Gehalt der Nahrung bestimmt wird. Das Ausmaß der Oxalat-Absorption hängt von verschiedenen ernährungsbedingten und physiologischen Faktoren, wie die Bioverfügbarkeit des Nahrungsoxalats und -calciums, der gastrointestinalen Transitzeit und der Calciumkonzentration im Chymus, ab. Die intestinale Absorption und die renale Ausscheidung von Oxalat stieg unabhängig vom Oxalat-Gehalt. Eine vegetarische Kost kann somit

nur für Calciumoxalat-Steinpatienten empfohlen werden, wenn der Calciumgehalt, der Ballaststoffgehalt (unter Beachtung des unterschiedlichen Oxalat-Gehalts) und insbesondere der Phytinsäuregehalt der Lebensmittel bei der Kostgestaltung berücksichtigt wird.

In diesem Zusammenhang ist es besonders wichtig dem Harnsteinpatienten anhand von Tabellen (siehe Tabelle 3, Seite 28) und praktischen Beispielen diesen Sachverhalt in der Ernährungsberatung zu vermitteln und in die Praxis umzusetzen.

6.2 Effekt der Medikamente Imodium[®] und Nephrotrans[®] auf die Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin

In der zweiten Studie wurde der Einfluss zweier in der Urologie und Gastroenterologie häufig angewandten Medikamente, ein Antacidum und ein Antidiarrhoikum, auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und renale Oxalat-Ausscheidung untersucht. Dies ist von besonderer Wichtigkeit, da die Erkrankungen, bei denen diese Medikamente verschrieben werden, oft mit einem erhöhten Risiko einer Urolithiasis verbunden sind.

6.2.1 Imodium[®] und gastrointestinale Oxalat-Absorption

Die mittlere Oxalat-Absorption der acht Probanden betrug ohne Medikamenteneinnahme $7,5 \pm 2,8$ % und nach der Gabe von Imodium[®] $10,1 \pm 4,8$ %; diese Prozentzahlen waren nicht signifikant verschieden. Eine Erklärung hierfür könnte die Durchführung der Studie an gesunden Probanden sein, aber auch die herabgesetzte Dosierung des Medikaments. Diese wurde von üblicherweise 4 mg Loperamidhydrochlorid (2 Kapseln) bei Diarrhoe auf die Gabe von einer Kapsel reduziert, zum einen weil es sich in dieser Studie um gesunde Probanden handelte und zum anderen weil verschiedene Studien

gezeigt haben, dass schon bei geringen Gaben von Loperamidhydrochlorid (2 mg) die gastrointestinale Transitzeit bei gesunden Probanden verlängert wird (siehe Kapitel 3.7.2, Seite 37). Bei der Betrachtung der individuellen Mittelwerte für die intestinale Oxalat-Absorption der einzelnen Probanden unter Gabe von Imodium® (siehe Abbildung 21, Seite 81) kann man erkennen, dass die Verlangsamung der gastrointestinalen Transitzeit bei einzelnen Personen einen Einfluss auf die Oxalat-Absorption ausüben kann, jedoch ist dieser physiologischerweise unterschiedlich und sollte im Einzelfall überprüft werden. Besonders bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen ist dies aufgrund der erhöhten Permeabilität der Darmmucosa von besonderer Wichtigkeit und macht weitere Studien erforderlich. Die mittlere Oxalat-Ausscheidung der 8 Probanden am 2. Tag des Oxalat-Absorptionstests betrug ohne Medikamenteneinnahme $0,338 \pm 0,077$ mmol und unter Gabe von Imodium® $0,326 \pm 0,084$ mmol. Dieses Ergebnis war statistisch nicht signifikant. Auch bei der Betrachtung der Mittelwerte für die renale Oxalat-Ausscheidung der einzelnen Probanden unter Gabe von Imodium® (siehe Abbildung 24, Seite 83) kann man erkennen, dass die Oxalat-Ausscheidung unter der Gabe von einer Imodium® Kapsel bei intaktem Gastrointestinaltrakt kaum beeinflusst wird.

Weitere Urin-Parameter und Calciumoxalat-Urinübersättigung

Die Ergebnisse der Analysen weiterer Harnparameter in den 24-h-Urinen des ersten und zweiten Tages sind Tabelle 21 (Seite 79) zu entnehmen. Alle dargestellten Parameter lagen im Normbereich und es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bei diesen Parametern zwischen der Testphase ohne Medikamenteneinnahme und der Testphase mit Imodium® bzw. Nephrotrans®.

Es fand sich kein signifikanter Unterschied im Risiko der Urinübersättigung mit Calciumoxalat ohne Medikamenteneinnahme im Vergleich zur Einnahme von Imodium® (siehe Abbildung 26, Seite 85).

Zusammenfassend lässt sich aus diesen Ergebnissen schließen, dass die Gabe von nur einer Imodium[®]-Kapsel nur einen geringen Einfluss auf die intestinale Oxalat-Absorption ausübt. Der Effekt der intestinalen Transitzeit auf die Oxalat-Absorption bei intaktem Gastrointestinaltrakt ist damit als gering einzustufen. Auch der Einfluss auf die renale Oxalat-Ausscheidung bzw. die Urinübersättigung mit Calciumoxalat sowie auf weitere relevante Urin-Parameter ist als gering einzustufen. Daher ergeben sich aus dieser Studie keine Hinweise, dass man Immodium[®] Patienten mit Urolithiasis und intaktem Gastrointestinaltrakt nicht auch weiterhin bedenkenlos in niedriger Dosierung geben kann.

Weitere Studien sind notwendig um den Einfluss dieses Medikaments in höheren Dosierungen und an Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen zu überprüfen.

6.2.2 Nephrotrans[®] und gastrointestinale Oxalat-Absorption

Intestinale Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin

Die mittlere Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin der 8 Probanden unter der Gabe von Nephrotrans[®] war geringfügig erhöht, aber nicht signifikant verschieden von der ohne Medikamenteneinnahme. Im Mittel betrug die Oxalat-Absorption der 8 Probanden $7,5 \pm 2,8$ % ohne und $8,2 \pm 3,8$ % mit Medikamenteneinnahme. Die mittlere Oxalat-Ausscheidung im Urin der 8 Probanden blieb nahezu unverändert und betrug $0,338 \pm 0,077$ mmol ohne und $0,349 \pm 0,104$ mmol unter der Einnahme von Nephrotrans[®] am 2. Tag des [¹³C₂]Oxalsäure-Absorptionstests. Die individuellen Werte für die mittlere Oxalat-Ausscheidung der Probanden unter der Gabe von Nephrotrans[®] (siehe Abbildung 25, Seite 84) zeigen unterschiedliche Tendenzen bei einzelnen Probanden.

Der Einfluss von Nephrotrans[®] auf die Oxalat-Ausscheidung im Urin wurde bereits von Hesse et al. (178;179) und Jahn et al. (235) untersucht und

lieferten kontroverse Ergebnisse. In einer Studie von Hesse et al. (178) führte die Gabe von Nephrotrans[®] zu einem Anstieg der renalen Oxalat-Ausscheidung. Die Autoren führten diesen Anstieg auf den hohen Vitamin C Gehalt der Kost zurück. In zwei anderen Studien konnten keine signifikanten Veränderungen in der Oxalat-Ausscheidung unter Einnahme von Nephrotrans[®] festgestellt werden (179;235). Die Arbeitsgruppe Straub/Brändle untersuchte die Physiologie und Pathophysiologie des renal-tubulären Oxalattransportes. Durch in vivo Mikropunktations- und Clearancestudien am Rattenmodell konnte der basolaterale Oxalattransport der proximalen Tubuluszelle durch einen Oxalat(Bicarbonat)/Sulfat-Exchanger beschrieben werden (236). Die Arbeitsgruppe vermutete, dass die renale Oxalatekretion von der Aktivität des luminalen Natrium/Protonenaustausches im proximalen Tubulus – also vom Säure-Basen-Gleichgewicht – abhängen könnte. In einer neueren Studie dieser Arbeitsgruppe konnte durch die Gabe von Alkalicitrat die Oxalatekretion reduziert werden. Durch dessen Einnahme stieg der pH-Wert im Tubulus, dadurch wird die Rückresorption von Oxalat im proximalen Tubulus erhöht was zu einer verminderten Oxalat-Ausscheidung im Urin führte (237). Die Ergebnisse in der vorliegenden Studie deuten darauf hin, dass die übliche Dosierung von 3 x 2 Kapseln Nephrotrans[®] zu kaum einer Veränderung in der Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung führt. Für eine Senkung der Oxalat-Ausscheidung im Urin wird eine tägliche Alkalicitratgabe von 9 bis 12 g empfohlen (238). Gleichzeitig sollte mit dieser Studie der Einfluss des gastrointestinalen pH-Wertes auf die Oxalat-Absorption untersucht werden, indem durch die Gabe der magensaftresistenten Nephrotrans[®]-Kapseln, der pH-Wert im Intestinum moduliert werden sollte. Da das Intestinum der Hauptort der Oxalat-Absorption ist, sollte bei gleichzeitiger Freisetzung des Natriumhydrogencarbonates und des [¹³C₂]-Oxalates aus den Kapseln durch die Erhöhung des pH-Wertes weniger Oxalat absorbiert werden. Die Kapseln wurden auf nüchternen Magen eingenommen. Unter dieser Bedingung findet eine 4-phasige Abfolge von elektrisch stimulierten Muskelkontraktionen statt, die sich in Richtung Dünndarm ausbreitet (= IMMC = Interdigestive Migrating Motor Complex). Die erste Phase, die sogenannte Ruhephase, macht ca. 2/3

(ca. 35 bis 65 Minuten) der Abfolge aus, in dieser kontrahiert der Magen nur schwach. Die Dauer der Phase 2 beträgt ca. 25 bis 60 Minuten und ist durch unregelmäßige, in der Stärke variierende Kontraktionen gekennzeichnet. Die Phase 3 erstreckt sich über ca. 5 bis 15 Minuten, unter starken Kontraktionen werden größere Objekte aus dem Magen ins Duodenum abgegeben. Diesem Vorgang schließt sich Phase 4 an, in der die Kontraktionen nachlassen. Diese gesamte Abfolge dauert im Durchschnitt 2 Stunden, wobei individuell gesehen grosse Variationen bestehen (239). Magensaftresistente Kapseln sind unverdaulich größere Objekte, die im nüchternen Zustand nur in der Phase 2 und 3 aus dem Magen entleert werden können. Somit kann die Transitzeit der Kapsel von der Einnahme bis zur Abgabe ins Duodenum, je nach vorherrschender Phase zum Einnahmezeitpunkt, zwischen Minuten bis zu 2 Stunden betragen (240;241). Ein Effekt auf die Oxalat-Absorption wäre nur dann möglich, wenn die Substanzen beider Kapseln gleichzeitig im Duodenum ankommen. Der Nachteil der vorliegenden Studie ist, dass dies bzw. der Abgabezeitpunkt der Kapseln aus dem Magen, also der Phase in der sich die jeweiligen Probanden bei Einnahme der Kapseln befunden haben nicht überprüft werden konnte. Besonders da die Kapseln aus folgendem Grund nicht gleichzeitig eingenommen wurden: Die [$^{13}\text{C}_2$]-Oxalsäurekapsel ist magensaftlöslich und wurde deshalb eine Stunde nach den Nephrotrans[®]-Kapseln verabreicht, da das im Magen freigesetzte Oxalat schneller aus diesem entleert wird als magensaftresistente Kapseln (242;243). Daher sollte in weiteren Studien eine magensaftunlösliche $^{13}\text{C}_2$ -Oxalsäurekapsel verwendet und gleichzeitig auf nüchternen Magen mit den Nephrotrans[®]-Kapseln eingenommen werden, um den Effekt des pH-Wertes auf die Oxalat-Absorption genauer abklären zu können. In dieser Studie kann nur vermutet werden, dass bei den Probanden, bei denen die mittlere Oxalat-Absorption tendentiell abgenommen hat, das markierte Oxalat gleichzeitig mit dem Natriumhydrogencarbonat im Duodenum angekommen ist. Durch den in Folge erhöhten pH-Wert im Duodenum ist die Löslichkeit von Calciumoxalat erniedrigt und somit könnte weniger freies Oxalat zur Verfügung gestanden haben und zu der tendentiell verringerten Absorption dieser Probanden geführt haben. Weiterhin muss

bedacht werden, dass nicht nur die Transitzeit einen Einfluss auf die Freisetzung und Wirksamkeit der Medikamente hat, sondern diese auch vom pH-Wert im Gastrointestinaltrakt abhängt. Letzterer wird durch die Freisetzung, Menge und Zusammensetzung verschiedener Sekrete und Säfte im Gastrointestinaltrakt und physiologischen Faktoren (z.B. körperliche Aktivität) beeinflusst. Um den pH-Wert innerhalb des Gastrointestinaltraktes genau zu bestimmen, kann eine sogenannte Heidelberg-Kapsel eingesetzt werden (244). Das einzige heute noch verwendete katheterfreie pH-Mess-System wurde entwickelt, um den pH-Wert im Oesophagus zu messen. Dieses Bravo™ pH Monitoring System (Medtronic) besteht aus einer Sensorkapsel (Größe einer Gelkapsel) und einer kleinen Empfangseinheit (mit Gürtelclip). Die Kapsel besteht aus einer Mess- und Sendeeinheit mit einer Sendezeit von 48 Stunden. Routinemäßig wird diese nur zur Messung des pH-Werts im Oesophagus eingesetzt und dort mittels Endoskopie platziert. Messungen im Gastrointestinaltrakt sind mit der Kapsel ebenfalls möglich, da sie oral aufgenommen und mit den Faezes wieder ausgeschieden werden kann. Mit diesem System wäre es somit möglich, innerhalb der Sendezeit, unter anderem der Magen-pH und das Darm-pH-Profil zu messen. Dieses System konnte in der vorliegenden Studie aus Kostengründen nicht eingesetzt werden.

Kristallisationsrisiko und weitere Urinparameter

Die mittlere Citrat-Ausscheidung stieg in der Testphase mit Nephrotrans® signifikant im Vergleich ohne Medikamente am 2. Tag des [¹³C₂]Oxalat-Absorptionstests an (siehe Tabelle 21, Seite 79). Dieses Ergebnis deckt sich mit denen von Jahnen et al. (235) und Hesse et al. (179), in diesen Studien wurde ebenfalls Nephrotrans® von gesunden Probanden eingenommen und die Zitronensäureausscheidung stieg im Vergleich ohne Medikation signifikant an. Dies war auch zu erwarten, da bekannt ist, dass unter Therapie mit Alkalisalzen (z.B. Natriumhydrogencarbonat) die Citratausscheidung mit dem Urin stark ansteigt (245).

In der mittleren Ausscheidung aller anderen Urinparameter, außer Kreatinin am 2. Tag des [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstests, konnte kein signifikanter Unterschied unter der Einnahme von Nephrotrans[®] festgestellt werden. Der Grund für die signifikant höhere mittlere Kreatininausscheidung der Probanden am 2. Tag des [$^{13}\text{C}_2$]Oxalat-Absorptionstests unter der Einnahme von Nephrotrans[®] ist unbekannt, könnte aber durch die zeitliche Erstreckung der Studie (wie schon auf Seite 92 erläutert) zustande gekommen sein. Da die Einzelwerte der Probanden für die Kreatinin-Ausscheidung alle im jeweiligen Referenzbereich lagen, können größere Sammelfehler ausgeschlossen werden.

Das Kristallisationsrisiko für Calciumoxalat im Urin der 8 Probanden zwischen der Testphase ohne Medikamenteneinnahme und unter der Gabe von Nephrotrans[®] war nicht signifikant verschieden. Der mittlere AP(CaOx) Index blieb nahezu gleich und lag bei $0,57 \pm 0,21$ ohne Medikament und bei $0,57 \pm 0,31$ unter Nephrotrans[®], trotz des signifikanten Anstieges in der mittleren renalen Citrat- und bei nahezu unveränderter Calcium-Ausscheidung im Urin. Im Gegensatz zu Jahnen et. al (235) konnte keine Senkung in der mittleren Calcium-Ausscheidung und der relativen Übersättigung mit Calciumoxalat am 2. Tag der Medikation beobachtet werden.

Bis heute wurde lediglich der Einfluss von Natriumhydrogencarbonat auf die Gesamt-Oxalat-Ausscheidung im Urin untersucht, nicht jedoch auf die Oxalat-Absorption im Intestinum. Zusammenfassend kann man sagen, dass in der vorliegenden Studie keine signifikante Veränderung der mittleren intestinalen Oxalat-Absorption durch die Gabe von Nephrotrans[®] in der üblichen Dosierung festgestellt werden konnte. Daher kann davon ausgegangen werden, dass der intestinale pH-Wert durch die übliche Dosierung des Natriumhydrogencarbonats nicht langfristig signifikant moduliert wird, so dass die Oxalat-Absorption nicht wesentlich beeinflusst wird. Das Medikament hatte keinen signifikanten Einfluss auf die weiteren Urin-Parameter und die Urin-Übersättigung für Calciumoxalat. Daher kann dieses Medikament auch weiterhin unbedenklich Patienten mit einer Calciumoxalat-Urolithiasis empfohlen werden.

7 Zusammenfassung

Das Harnsteinleiden ist das Symptom eines vorgelagerten Krankheitsbildes, welches auf einer Vielzahl von Einflussfaktoren basiert. Die häufigste Steinart (70 – 75 %) ist das Calciumoxalat. Einer der Hauptrisikofaktoren für die Calciumoxalat-Urolithiasis ist die Hyperoxalurie. Daher ist ein vorrangiges Ziel der Therapie der Calciumoxalat-Urolithiasis die Oxalat-Absorption im Gastrointestinaltrakt zu senken. Zu einer vermehrten Absorption von Oxalat im Gastrointestinaltrakt bzw. Ausscheidung im Urin kommt es beim Vorliegen von entzündlichen Darmerkrankungen bzw. unter einer vegetarischen Kost.

In der vorliegenden Arbeit wurden daher zwei Studien mit jeweils 8 gesunden Probanden durchgeführt. Ziel der Studien war es, zu überprüfen, welchen Einfluss zwei vegetarische Kost-Formen mit unterschiedlichem Oxalat-Gehalt und ein häufig in der Urologie und Gastroenterologie angewandtes Antidiarrhoicum und Antacidum, auf die gastrointestinale Oxalat-Absorption und Oxalat-Ausscheidung im Urin ausüben.

Jede Studie unterteilte sich in 3 Testphasen, in denen jeweils drei identische [¹³C₂]Oxalat-Absorptionstests von jedem Probanden unter einer genau definierten Standardkost durchgeführt wurden. An beiden Tagen des Tests wurde ein vollständiger 24-h-Urin gesammelt, aus denen die für die Diagnostik der Calciumoxalat-Urolithiasis relevanten Urin-Parameter bestimmt wurden. Am 2. Tag des Tests wurde die Oxalat-Absorption bestimmt und der Tiselius-Index als Maß für die Calciumoxalat-Übersättigung im 24-h Urin.

Studie 1: Die mittlere intestinale [¹³C₂]Oxalat-Absorption stieg unter der vegetarischen Kost mit niedrigem (70 mg Oxalat) Oxalat-Gehalt um 72 % und die mittlere Oxalat-Ausscheidung im Urin um 30 % im Vergleich zur Misch-Kost (63 mg Oxalat). Die prozentuale Oxalat-Absorption ($p = 0,012$) und die renale Oxalat-Ausscheidung im Urin ($p = 0,012$) sowie die Calciumoxalat-Urinübersättigung ($p = 0,012$) stieg nur unter der vegetarischen Kost mit niedrigem Oxalat-Gehalt signifikant im Vergleich zur Misch-Kost.

Studie 2: Die mittlere Oxalat-Absorption der Probanden betrug ohne Medikamenteneinnahme $7,5 \pm 2,8$ % und unter der Gabe von Imodium® $10,1 \pm$

4,8 % und unter Nephrotrans[®] $8,2 \pm 3,8$ %. Die mittlere renale Oxalat-Ausscheidung ohne Medikamenteneinnahme betrug $0,338 \pm 0,077$ mmol und unter der Gabe von Imodium[®] $0,326 \pm 0,084$ mmol und unter Nephrotrans $0,349 \pm 0,104$ mmol. Das Risiko der Urinübersättigung mit Calciumoxalat ohne Medikamenteneinnahme im Vergleich zur Einnahme von Imodium[®] bzw. Nephrotrans[®] war nicht signifikant verschieden. Die mittlere Citrat-Ausscheidung stieg in der Testphase mit Nephrotrans[®] im Vergleich ohne Medikamente am 2. Tag des [¹³C₂]Oxalat-Absorptionstests signifikant an.

Aus diesen Ergebnissen lassen sich folgende Schlussfolgerungen ableiten:

Studie 1: Die intestinale Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin steigt unter einer vegetarischen Kost unabhängig vom Oxalat-Gehalt. Eine hohe intestinale Absorption von Oxalat unter einer vegetarischen Kost wird nicht nur einfach vom deren Oxalat-Gehalt bestimmt. Das Ausmaß wird von verschiedenen Faktoren bestimmt, wie der Bioverfügbarkeit des Nahrungsoxalats und -calciums, sowie dem Ballaststoffgehalt, insbesondere dem Phytinsäuregehalt. Weitere Studien mit Phytinsäure sind nötig, um deren genauen Einfluss auf die Oxalat-Absorption und -Ausscheidung im Urin zu untersuchen. Der Phytinsäuregehalt der Kost sollte in der Praxis der Ernährungsberatung Berücksichtigung finden. Die Empfehlung einer vegetarischen Ernährung bei Calciumoxalat-Steinpatienten sollte nur unter Anpassung der oben genannten Einflussfaktoren gegeben werden.

Studie 2: Der Effekt von Imodium[®] und Nephrotrans[®] in der üblichen Dosierung auf die mittlere intestinale Oxalat-Absorption und -ausscheidung im Urin von Gesunden ist als gering einzustufen und somit auch auf die Modulation der intestinalen Transitzeit und des gastrointestinalen pH-Wertes. Bei intaktem Gastrointestinaltrakt können diese Medikamente in der üblichen Dosierung auch weiterhin unbedenklich Patienten mit Urolithiasis empfohlen werden. Bei höheren Dosierungen und bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen sollte der Einfluss jedoch im Einzelfall überprüft werden.

8 Literaturverzeichnis

1. Hesse A, Jahnen A, Klocke K, Nolde A, Scharrel O. Nachsorge bei Harnstein-Patienten: Ein Leitfaden für die ärztliche Praxis. Jena, Stuttgart: Gustav Fischer; 1994.
2. Hesse A, Brändle E, Wilbert D, Köhrmann KU, Alken P. Study on the prevalence and incidence of urolithiasis in Germany comparing the years 1979 vs. 2000. *Eur.Urol.* 2003;44(6):709-13.
3. Nolde A, Hesse A, Scharrel O, Vahlensieck EW. Modellprogramm zur Nachsorge bei rezidivierenden Harnsteinpatienten: Organisation und Ergebnisse von 1000 Patienten. *Urologe [B]* 1993;33:148-54.
4. Vahlensieck EW. Das Harnsteinleiden. Ursache-Diagnose-Therapie. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 1987.
5. Hesse A, Bach D. Harnsteine. Pathobiochemie und klinisch-chemische Diagnostik. In: Breuer H, Büttner H, Stamm D. *Klinische Chemie in Einzeldarstellung.* Stuttgart, New York: Georg Thieme; 1982.
6. Werness PG, Brown CM, Smith LH, Finlayson B. EQUIL2: a basic computer program for the calculation of urinary saturation. *J.Urol.* 1985;134(6):1242-4.
7. Robertson WG, Peacock M, Heyburn PJ, Hanes FA, Rutherford A, Clementson E, Swaminathan R, Clark PB. Should recurrent calcium oxalate stone formers become vegetarians? *Br.J.Urol.* 1979;51(6):427-31.
8. Hesse A. Oxalsäure und Urolithiasis. Darmstadt: G-I-T Verlag Ernst Giebeler; 1983.
9. Liebman M, Costa G. Effects of calcium and magnesium on urinary oxalate excretion after oxalate loads. *J.Urol.* 2000;163(5):1565-9.
10. Holmes RP, Goodman HO, Assimos DG. Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. *Kidney Int.* 2001;59(1):270-6.
11. Hönow R, Hesse A. Comparison of extraction methods for the determination of soluble and total oxalate in foods by HPLC-enzyme-reactor. *Food Chemistry* 2002;78:511-21.
12. Siener R, Hesse A. The effect of a vegetarian and different omnivorous diets on urinary risk factors for uric acid stone formation. *Eur.J.Nutr.* 2003;42(6):332-7.

13. Awouters F, Megens A, Verlinden M, Schuurkes J, Niemegeers C, Janssen PA. Loperamide. Survey of studies on mechanism of its antidiarrheal activity. *Dig.Dis.Sci.* 1993;38(6):977-95.
14. Straub M., Hautmann R.E., Brändle E. Auf den Spuren von Oxalat. *Uro-News* 2003;7(Suppl. 1):16-7.
15. Straub M., Hautmann R.E. Oxalat - der Stoff, aus dem die Steine sind... *Uro-News* 2005;2:71-3.
16. Binder HJ. Intestinal oxalate absorption. *Gastroenterology* 1974;67(3):441-6.
17. Holmes RP, Goodman HO, Assimos DG. Dietary oxalate and its intestinal absorption. *Scanning Microsc.* 1995;9(4):1109-18.
18. Zimmermann DJ, von Unruh G, Hesse A. Influence of high oxalate diet on intestinale oxalate absorption. *World J Urol* 2005;23(5):324-29.
19. Siener R, Hesse A. The effect of different diets on urine composition and the risk of calcium oxalate crystallisation in healthy subjects. *Eur.Urol.* 2002;42(3):289-96.
20. Ringe JD. Erkrankungen des Skelettsystems. In: Biesalski HK, Ernährungsmedizin. 3. überarbeitete und erweiterte Auflage Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG; 2004;567-84.
21. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) e.V., Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung, Schweizerische Vereinigung für Ernährung. Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. 1. Auflage. Umschau Braus GmbH; 2000.
22. Root AW, Diamond FB, Jr. Disorders of calcium and phosphorus metabolism in adolescents. *Endocrinol.Metab Clin.North Am.* 1993;22(3):573-92.
23. Heaney RP, Recker RR. Distribution of calcium absorption in middle-aged women. *Am.J.Clin.Nutr.* 1986;43(2):299-305.
24. Barger-Lux MJ, Heaney RP, Lanspa SJ, Healy JC, DeLuca HF. An investigation of sources of variation in calcium absorption efficiency. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 1995;80(2):406-11.
25. Zittermann A, Scheld K, Stehle P. Seasonal variations in vitamin D status and calcium absorption do not influence bone turnover in young women. *Eur.J.Clin.Nutr.* 1998;52(7):501-6.

26. Ghijsen WE, Van Os CH, Heizmann CW, Murer H. Regulation of duodenal Ca^{2+} pump by calmodulin and vitamin D-dependent Ca^{2+} -binding protein. *Am.J.Physiol* 1986;251(2 Pt 1):G223-G229.
27. Wasserman RH, Chandler JS, Meyer SA, Smith CA, Brindak ME, Fullmer CS, Penniston JT, Kumar R. Intestinal calcium transport and calcium extrusion processes at the basolateral membrane. *J.Nutr.* 1992;122(Suppl. 3):662-71.
28. Bronner F, Pansu D. Nutritional aspects of calcium absorption. *J.Nutr.* 1999;129(1):9-12.
29. Auchere D, Tardivel S, Gounelle JC, Druke T, Lacour B. Role of transcellular pathway in ileal Ca^{2+} absorption: stimulation by low- Ca^{2+} diet. *Am.J.Physiol* 1998;275(5 Pt 1):G951-G956.
30. Zittermann, A. and Stehle, P. Beeinflussung des Calcium- und Knochenstoffwechsels durch exogene Faktoren. *Ernähr Umsch* 2000; 47:465-71.
31. Frick KK, Bushinsky DA. Molecular mechanisms of primary hypercalciuria. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2003;14(4):1082-95.
32. Pak CYC, Kaplan R, Bone H, Townsend J, Waters O. A simple test for the diagnosis of absorptive, resorptive and renal hypercalciurias. *N.Engl.J.Med.* 1975;292(10):497-500.
33. Hesse A. Harnsteine Teil 2. Stoffwechseldefekte, Ernährungsfehler und Metaphylaxe. *Urologe [A]* 2002;41:616-29.
34. Hautmann R, Lutzeyer W. Der Kalziumoxalatstein. In: Vahlensieck W. *Das Harnsteinleiden: Ursachen, Diagnose, Therapie.* Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo: Springer; 1987.
35. Robertson WG. Diet and calcium stones. *Miner.Electrolyte Metab* 1987;13(4):228-34.
36. Heaney RP. Calcium, dairy products and osteoporosis. *J.Am.Coll.Nutr.* 2000;19(Suppl. 2):83-99.
37. Matkovic V, Fontana D, Tominac C, Goel P, Chesnut CH, III. Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. *Am.J.Clin.Nutr.* 1990; 52(5):878-88.
38. Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ. A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. *N.Engl.J.Med.* 1993;328(12):833-8.

39. Curhan GC, Willett WC, Knight EL, Stampfer MJ. Dietary factors and the risk of incident kidney stones in younger women: Nurses' Health Study II. *Arch.Intern.Med.* 2004;164(8):885-91.
40. von Unruh GE, Voss S, Sauerbruch T, Hesse A. Dependence of oxalate absorption on the daily calcium intake. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2004;15(6):1567-73.
41. Ferguson RJ. Predicting Calcium Oxalate Scale. *Corrosion* 2002;399:1-9.
42. Fittkau S. Spezielle Dicarbonsäuren. *Organische Chemie.* Jena: Gustav Fischer Verlag; 1994;93-4.
43. Modigliani R, Labayle D, Aymes C, Denvil R. Evidence for excessive absorption of oxalate by the colon in enteric hyperoxaluria. *Scand.J. Gastroenterol.* 1978;13(2):187-92.
44. Lindsjö M, Danielson BG, Fellström B, Ljunghall S. Intestinal oxalate absorption and calcium absorption in recurrent renal stone formers and healthy subjects. *Scand.J Urol Nephrol* 1989;23:55-9.
45. Tiselius HG, Ahlstrand C, Lundstrom B, Nilsson MA. [¹⁴C]Oxalate absorption by normal persons, calcium oxalate stone formers, and patients with surgically disturbed intestinal function. *Clin.Chem.* 1981; 27(10):1682-5.
46. Prenen JA, Boer P, Dorhout Mees EJ. Absorption kinetics of oxalate from oxalate-rich food in man. *Am.J.Clin.Nutr.* 1984;40(5):1007-10.
47. Malagelada JR, Robertson JS, Brown ML, Remington M, Duenes JA, Thomforde GM, Carryer PW. Intestinal transit of solid and liquid components of a meal in health. *Gastroenterology* 1984;87(6):1255-63.
48. Haboubi NY, Hudson P, Rahman Q, Lee GS, Ross A. Small-intestinal transit time in the elderly. *Lancet* 1988;1(8591):933.
49. Hautmann RE. The stomach: a new and powerful oxalate absorption site in man. *J Urol* 1993;149(6):1401-4.
50. Hofmann AF, Laker MF, Dharmasathaphorn K, Sherr HP, Lorenzo D. Complex pathogenesis of hyperoxaluria after jejunoileal bypass surgery. Oxalogenic substances in diet contribute to urinary oxalate. *Gastroenterology* 1983;84(2):293-300.
51. Dobbins JW, Binder HJ. Importance of the colon in enteric hyperoxaluria. *N.Engl.J.Med.* 1977;296(6):298-301.

52. Hatch M, Freel RW, Vaziri ND. Mechanisms of oxalate absorption and secretion across the rabbit distal colon. *Pflugers Arch.* 1994;426(1-2): 101-9.
53. Hatch M, Freel RW. Renal and intestinal handling of oxalate following oxalate loading in rats. *Am.J.Nephrol.* 2003;23(1):18-26.
54. Berg, W. Stoffwechsel und Pathophysiologie der Oxalsäure. *Zschr.Urol. Nephrol.* 1990;83:481-488.
55. Nguyen NU, Dumoulin G, Henriët MT, Regnard J. Increase in urinary calcium and oxalate after fructose infusion. *Horm.Metab Res.* 1995; 27(3):155-8.
56. Hauschildt S, Watts RW. Studies on the effect of xylitol on oxalate formation. *Biochem.Pharmacol.* 1976;25(1):27-9.
57. Nguyen NU, Dumoulin G, Henriët MT, Berthelay S, Regnard J. Carbohydrate metabolism and urinary excretion of calcium and oxalate after ingestion of polyol sweeteners. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 1993;77(2): 388-92.
58. Watts RW, Hauschildt S, Chalmers RA, Lawson AM. Metabolic investigations during xylitol infusion. *Int.Z.Vitam.Ernahrungsforsch.Beih.* 1976;15:216-25.
59. Holmes RP, Assimos DG. Glyoxylate synthesis, and its modulation and influence on oxalate synthesis. *J.Urol.* 1998;160(5):1617-24.
60. Richardson KE. The effect of partial hepatectomy on the toxicity of ethylene glycol, glycolic acid, glyoxylic acid and glycine. *Toxicol.Appl. Pharmacol.* 1973;24(4):530-8.
61. Martini LA, Wood RJ. Should dietary calcium and protein be restricted in patients with nephrolithiasis? *Nutr.Rev.* 2000;58(4):111-7.
62. Gambardella RL, Richardson KE. The formation of oxalate from hydroxypyruvate, serine, glycolate and glyoxylate in the rat. *Biochim. Biophys.Acta* 1978;544(2):315-28.
63. Tiselius HG. Oxalate and renal stone formation. *Scand.J.Urol.Nephrol.* 1980;53:135-48.
64. Baker EM, Saari JC, Tolbert BM. Ascorbic acid metabolism in man. *Am.J.Clin.Nutr.* 1966;19(6):371-8.
65. Leumann E, Hoppe B. The primary hyperoxalurias. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2001;12(9):1986-93.

66. Hoppe B, Hesse A, Leumann E. Primäre Hyperoxalurie Typ I. *Urologe [B]* 1996;36:113-8.
67. Hoppe B, Kemper MJ, Bokenkamp A, Portale AA, Cohn RA, Langman CB. Plasma calcium oxalate supersaturation in children with primary hyperoxaluria and end-stage renal failure. *Kidney Int.* 1999;56(1):268-74.
68. Stark R, Hesse A. Harnsteinnachsorge in der urologischen Praxis. Berlin: Congress Compact Verlag; 2000.
69. Danpure CJ, Jennings PR. Peroxisomal alanine:glyoxylate aminotransferase deficiency in primary hyperoxaluria type I. *FEBS Lett.* 1986;201(1):20-4.
70. Asplin JR. Hyperoxaluric calcium nephrolithiasis. *Endocrinol.Metab Clin.North Am.* 2002;31(4):927-49.
71. Williams HE, Wandzilak TR. Oxalate synthesis, transport and the hyperoxaluric syndromes. *J.Urol.* 1989;141(3 Pt 2):742-9.
72. Siener R, Hönow R, Voss S, Seidler A, Hesse A. Oxalate Content of Cereals and Cereal Products. *J.Agric.Food Chem.* 2006;54(8):3008-11.
73. Hoppe B, Hesse A, Bromme S, Rietschel E, Michalk D. Urinary excretion substances in patients with cystic fibrosis: risk of urolithiasis? *Pediatr.Nephrol.* 1998;12(4):275-9.
74. Turner MA, Goldwater D, David TJ. Oxalate and calcium excretion in cystic fibrosis. *Arch.Dis.Child* 2000;83(3):244-7.
75. Strandvik B, Hjelte L. Nephrolithiasis in cystic fibrosis. *Acta Paediatr.* 1993;82(3):306-7.
76. Caudarella R, Rizzoli E, Pironi L, Malavolta N, Martelli G, Poggioli G, Gozzetti G, Miglioli M. Renal stone formation in patients with inflammatory bowel disease. *Scanning Microsc.* 1993;7(1):371-9.
77. Hylander E, Jarnum S, Jensen HJ, Thale M. Enteric hyperoxaluria: dependence on small intestinal resection, colectomy, and steatorrhoea in chronic inflammatory bowel disease. *Scand.J.Gastroenterol.* 1978;13(5): 577-88.
78. Kyle J. Urinary complications of Crohn's disease. *World J.Surg.* 1980;4(2):153-60.
79. Hodgkinson A. Relations between oxalic acid, calcium, magnesium and creatinine excretion in normal men and male patients with calcium oxalate kidney stones. *Clin.Sci.Mol.Med.* 1974;46(3):357-67.

80. Hodgkinson A. Evidence of increased oxalate absorption in patients with calcium-containing renal stones. *Clin.Sci.Mol.Med.* 1978;54(3):291-4.
81. Barilla DE, Notz C, Kennedy D, Pak CY. Renal oxalate excretion following oral oxalate loads in patients with ileal disease and with renal and absorptive hypercalciurias. Effect of calcium and magnesium. *Am.J.Med.* 1978;64(4):579-85.
82. Bohn T, Davidsson L, Walczyk T, Hurrell RF. Fractional magnesium absorption is significantly lower in human subjects from a meal served with an oxalate-rich vegetable, spinach, as compared with a meal served with kale, a vegetable with a low oxalate content. *Br.J.Nutr.* 2004;91(4):601-6.
83. Berg W, Bothor C, Pirlich W, Janitzky V. Influence of magnesium on the absorption and excretion of calcium and oxalate ions. *Eur.Urol.* 1986;12(4):274-82.
84. Berg W, Janitzky V, Heynck H. Bedeutung von Magnesium und Ballaststoffen. *TW Urologie Nephrologie* 1994;6:338-44.
85. Berg W, Janitzky V, Eschholz A, Meinig S. Senkung der enteralen Oxalathyperabsorption bei Kalziumoxalatlithiasis durch Magnesium und Ballaststoffzufuhr. *Urologe[B]* 1994;34:79-83.
86. Brundig P, Berg W, Schneider HJ. The influence of magnesium chloride on blood and urine parameters in calcium oxalate stone patients. *Eur.Urol.* 1981;7(2):97-9.
87. Ettinger B, Citron JT, Livermore B, Dolman LI. Chlorthalidone reduces calcium oxalate calculous recurrence but magnesium hydroxide does not. *J.Urol.* 1988;139(4):679-84.
88. Ettinger B, Pak CY, Citron JT, Thomas C, Adams-Huet B, Vangessel A. Potassium-magnesium citrate is an effective prophylaxis against recurrent calcium oxalate nephrolithiasis. *J.Urol.* 1997;158(6):2069-73.
89. Zimmermann DJ, Voss S, von Unruh G, Hesse A. Importance of magnesium in absorption and excretion of oxalate. *Urol Int* 2005;74(3):262-7.
90. Hoffer A. Ascorbic acid and kidney stones. *Can.Med.Assoc.J.* 1985;132(4):320.
91. Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, Park JB, Lazarev A, Graumlich JF, King J, Cantilena LR. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1996;93(8):3704-9.

92. Wandzilak TR, D'Andre SD, Davis PA, Williams HE. Effect of high dose vitamin C on urinary oxalate levels. *J.Urol.* 1994;151(4):834-7.
93. Urivetzky M, Kessarlis D, Smith AD. Ascorbic acid overdosing: a risk factor for calcium oxalate nephrolithiasis. *J.Urol.* 1992;147(5):1215-8.
94. Massey LK, Liebman M, Kynast-Gales SA. Ascorbate increases human oxaluria and kidney stone risk. *J.Nutr.* 2005;135(7):1673-7.
95. Chai W, Liebman M, Kynast-Gales S, Massey L. Oxalate absorption and endogenous oxalate synthesis from ascorbate in calcium oxalate stone formers and non-stone formers. *Am.J.Kidney Dis.* 2004;44(6):1060-9.
96. Baxmann AC, de OGM, Heilberg IP. Effect of vitamin C supplements on urinary oxalate and pH in calcium stone-forming patients. *Kidney Int.* 2003;63(3):1066-71.
97. Fituri N, Allawi N, Bentley M, Costello J. Urinary and plasma oxalate during ingestion of pure ascorbic acid: a re-evaluation. *Eur.Urol.* 1983; 9(5):312-5.
98. Auer BL, Auer D, Rodgers AL. The effect of ascorbic acid ingestion on the biochemical and physicochemical risk factors associated with calcium oxalate kidney stone formation. *Clin.Chem.Lab Med.* 1998;36(3):143-7.
99. Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ. A prospective study of the intake of vitamins C and B6, and the risk of kidney stones in men. *J.Urol.* 1996;155(6):1847-51.
100. Fellstrom B, Danielson BG, Karlstrom B, Lithell H, Ljunghall S, Vessby B. Dietary habits in renal stone patients compared with healthy subjects. *Br.J.Urol.* 1989;63(6):575-80.
101. Costello J. Re: Ascorbic acid overdosing: a risk factor for calcium oxalate nephrolithiasis. *J.Urol.* 1993;149(5):1146.
102. Gerster H. No contribution of ascorbic acid to renal calcium oxalate stones. *Ann.Nutr.Metab* 1997;41(5):269-82.
103. Siener R, Glatz S, Nicolay C, Hesse A. The role of overweight and obesity in calcium oxalate stone formation. *Obes.Res.* 2004;12(1):106-13.
104. Hesse A, Siener R, Heynck H, Jahnen A. The influence of dietary factors on the risk of urinary stone formation. *Scanning Microsc.* 1993;7(3):1119-27.
105. Siener R, Ebert D, Nicolay C, Hesse A. Dietary risk factors for hyperoxaluria in calcium oxalate stone formers. *Kidney Int.* 2003; 63(3):1037-43.

106. Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Speizer FE, Stampfer MJ. Body size and risk of kidney stones. *J Am.Soc.Nephrol.* 1998;9(9):1645-52.
107. Taylor EN, Stampfer MJ, Curhan GC. Dietary factors and the risk of incident kidney stones in men: new insights after 14 years of follow-up. *J Am.Soc.Nephrol.* 2004;15(12):3225-32.
108. Ekeruo WO, Tan YH, Young MD, Dahm P, Maloney ME, Mathias BJ, Albala DM, Preminger GM. Metabolic risk factors and the impact of medical therapy on the management of nephrolithiasis in obese patients. *J Urol* 2004;172(1):159-63.
109. Maalouf NM, Sakhaee K, Parks JH, Coe FL, Adams-Huet B, Pak CY. Association of urinary pH with body weight in nephrolithiasis. *Kidney Int.* 2004;65(4):1422-5.
110. Siener R. Abspecken als Harnsteinmetaphylaxe. *Uro-News* 2006;2:52-6.
111. Griffith HM, O'Shea B, Kevany JP, McCormick JS. A control study of dietary factors in renal stone formation. *Br.J.Urol.* 1981;53(5):416-20.
112. Al Zahrani H, Norman RW, Thompson C, Weerasinghe S. The dietary habits of idiopathic calcium stone-formers and normal control subjects. *BJU.Int.* 2000;85(6):616-20.
113. Masai M, Ito H, Kotake T. Effect of dietary intake on urinary oxalate excretion in calcium renal stone formers. *Br.J Urol* 1995;76(6):692-6.
114. Naya Y, Ito H, Masai M, Yamaguchi K. Association of dietary fatty acids with urinary oxalate excretion in calcium oxalate stone-formers in their fourth decade. *BJU.Int.* 2002;89(9):842-6.
115. Abdel-Halim RE. Urolithiasis in adults. Clinical and biochemical aspects. *Saudi.Med.J.* 2005;26(5):705-13.
116. Siener R, Kessler T, Hesse A. Therapie des Kalziumoxalat- und Harnsäuresteinleidens. *Dt Ärztebl* 1998;95(36):2084-90.
117. Earnest DL, Johnson G, Williams HE, Admirand WH. Hyperoxaluria in patients with ileal resection: an abnormality in dietary oxalate absorption. *Gastroenterology* 1974;66(6):1114-22.
118. Ferraz RR, Tiselius HG, Heiberg IP. Fat malabsorption induced by gastrointestinal lipase inhibitor leads to an increase in urinary oxalate excretion. *Kidney Int.* 2004;66(2):676-82.
119. Caspary WF, Tönissen J. Enteric hyperoxaluria. I. Intestinal oxalate absorption in gastrointestinal diseases. *Klin.Wochenschr.* 1978;56(12): 607-15.

120. Caspary WF. Intestinal oxalate absorption. I. Absorption in vitro. *Res.Exp.Med.* 1977;171(1):13-24.
121. Yasui T, Tanaka H, Fujita K, Iguchi M, Kohri K. Effects of eicosapentaenoic acid on urinary calcium excretion in calcium stone formers. *Eur.Urol.* 2001;39(5):580-5.
122. Burgess NA, Reynolds TM, Williams N, Pathy A, Smith S. Evaluation of four animal models of intrarenal calcium deposition and assessment of the influence of dietary supplementation with essential fatty acids on calcification. *Urol.Res.* 1995;23(4):239-42.
123. Buck AC, Sampson WF, Lote CJ, Blacklock NJ. The influence of renal prostaglandins on glomerular filtration rate (GFR) and calcium excretion in urolithiasis. *Br.J.Urol.* 1981;53(6):485-91.
124. Buck AC, Davies RL, Harrison T. The protective role of eicosapentaenoic acid [EPA] in the pathogenesis of nephrolithiasis. *J.Urol.* 1991;146(1):188-94.
125. Baggio B, Budakovic A, Nassuato MA, Vezzoli G, Manzato E, Luisetto G, Zaninotto M. Plasma phospholipid arachidonic acid content and calcium metabolism in idiopathic calcium nephrolithiasis. *Kidney Int.* 2000;58(3):1278-84.
126. Baggio B, Gambaro G, Zambon S, Marchini F, Bassi A, Bordin L, Clari G, Manzato E. Anomalous phospholipid n-6 polyunsaturated fatty acid composition in idiopathic calcium nephrolithiasis. *J.Am.Soc.Nephrol.* 1996;7(4):613-20.
127. Baggio B, Priante G, Brunati AM, Clari G, Bordin L. Specific modulatory effect of arachidonic acid on human red blood cell oxalate transport: clinical implications in calcium oxalate nephrolithiasis. *J.Am.Soc.Nephrol.* 1999;10(Suppl. 14):381-84.
128. Whelan J, Surette ME, Hardardottir I, Lu G, Golemboski KA, Larsen E, Kinsella JE. Dietary arachidonate enhances tissue arachidonate levels and eicosanoid production in Syrian hamsters. *J.Nutr.* 1993;123(12):2174-85.
129. Goldfarb S. Dietary factors in the pathogenesis and prophylaxis of calcium nephrolithiasis. *Kidney Int.* 1988;34(4):544-55.
130. Hiatt RA, Ettinger B, Caan B, Quesenberry CP, Jr., Duncan D, Citron JT. Randomized controlled trial of a low animal protein, high fiber diet in the prevention of recurrent calcium oxalate kidney stones. *Am.J.Epidemiol.* 1996;144(1):25-33.
131. Goldfarb DS, Coe FL. Prevention of recurrent nephrolithiasis. *Am.Fam.Physician* 1999;60(8):2269-76.

132. Ramello A, Vitale C, Marangella M. Epidemiology of nephrolithiasis. *J.Nephrol.* 2000;13(Suppl. 3):45-50.
133. Robertson WG, Peacock M, Hodgkinson A. Dietary changes and the incidence of urinary calculi in the U.K. between 1958 and 1976. *J.Chronic.Dis.* 1979;32(6):469-76.
134. Robertson WG, Peacock M, Marshall DH. Prevalence of urinary stone disease in vegetarians. *Eur.Urol.* 1982;8(6):334-9.
135. Robertson WG, Heyburn PJ, Peacock M, Hanes FA, Swaminathan R. The effect of high animal protein intake on the risk of calcium stone-formation in the urinary tract. *Clin.Sci.* 1979;57(3):285-8.
136. Nguyen QV, Kalin A, Drouve U, Casez JP, Jaeger P. Sensitivity to meat protein intake and hyperoxaluria in idiopathic calcium stone formers. *Kidney Int.* 2001;59(6):2273-81.
137. Giannini S, Nobile M, Sartori L, Dalle CL, Ciuffreda M, Corro P, D'Angelo A, Calo L, Crepaldi G. Acute effects of moderate dietary protein restriction in patients with idiopathic hypercalciuria and calcium nephrolithiasis. *Am.J.Clin.Nutr.* 1999;69(2):267-71.
138. Ulmann A, Aubert J, Bourdeau A, Cheynel C, Bader C. Effects of weight and glucose ingestion on urinary calcium and phosphate excretion: implications for calcium urolithiasis. *J.Clin.Endocrinol.Metab* 1982;54(5):1063-8.
139. Burtis WJ, Gay L, Insogna KL, Ellison A, Broadus AE. Dietary hypercalciuria in patients with calcium oxalate kidney stones. *Am.J. Clin.Nutr.* 1994;60(3):424-9.
140. Straub M., Hautmann R.E., Hesse A, Rinnab L. Kalziumoxalatharnsteine und Hyperoxalurie. Was ist gesichert? Was ist neu? *Urologe [A]* 2005; 44:1315-23.
141. Friedman PA, Gesek FA. Calcium transport in renal epithelial cells. *Am.J.Physiol* 1993;264(2 Pt 2):F181-F198.
142. Muldowney FP, Freaney R, Moloney MF. Importance of dietary sodium in the hypercalciuria syndrome. *Kidney Int.* 1982;22(3):292-6.
143. Sakhaee K, Harvey JA, Padalino PK, Whitson P, Pak CY. The potential role of salt abuse on the risk for kidney stone formation. *J.Urol.* 1993;150(2 Pt 1):310-2.
144. Bleich HL, Moore MJ, Lemann J, Jr., Adams ND, Gray RW. Urinary calcium excretion in human beings. *N.Engl.J.Med.* 1979;301(10):535-41.

145. Martini LA, Cuppari L, Cunha MA, Schor N, Heilberg IP. Potassium and sodium intake and excretion in calcium stone forming patients. *J.Ren Nutr.* 1998;8(3):127-31.
146. Hess B. Nutritional aspects of stone disease. *Endocrinol.Metab Clin.North Am.* 2002;31:1017-30.
147. Gluszek J. The effect of glucose intake on urine saturation with calcium oxalate, calcium phosphate, uric acid and sodium urate. *Int.Urol.Nephrol.* 1988;20(6):657-64.
148. Kritchevsky D. Dietary fiber. *Annu.Rev.Nutr.* 1988;8:301-28.
149. Busch B, Hesse A, Vahlensieck EW. Rezidivprophylaxe beim Ca-Oxalat-Steinleiden durch Anwendung eines Ballaststoffpräparates (Farnolith) - ein Langzeitversuch. *Urologe [B]* 1988;28:289-93.
150. Heckers H, Wagner I, Schmelz E, Trenkel A. Zur diätetischen Therapie und Prävention von Calciumoxalat-Nierensteinen. *Ernaehr Umsch* 1993: 416-20.
151. Jahnen A, Heynck H, Gertz B, Classen A, Hesse A. Dietary fibre: the effectiveness of a high bran intake in reducing renal calcium excretion. *Urol.Res.* 1992;20(1):3-6.
152. Souci, Fachmann, Kraut. Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen. 6. Auflage. Stuttgart: Medpharm; 2000.
153. Grases F, Costa-Bauza A. Phytate (IP6) is a powerful agent for preventing calcifications in biological fluids: usefulness in renal lithiasis treatment. *Anticancer Res.* 1999;19(5A):3717-22.
154. Grases F, March JG, Prieto RM, Simonet BM, Costa-Bauza A, Garcia-Raja A, Conte A. Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people--dietary effects on phytate excretion. *Scand.J.Urol. Nephrol.* 2000;34(3):162-4.
155. Grases F, Garcia-Gonzalez R, Torres JJ, Llobera A. Effects of phytic acid on renal stone formation in rats. *Scand.J.Urol.Nephrol.* 1998;32(4): 261-5.
156. Borghi L, Meschi T, Schianchi T. Urine volume: stone risk factor and preventive measure. *Nephron* 1999;81(Suppl. 1):31-7.
157. Jahnen A, Burwinkel M, Hesse A. Bedeutung der Harndilution bei der Harnsteinrezidivprophylaxe. Was und wieviel sollte der Harnsteinpatient trinken? *TW Urologie Nephrologie* 1990;2:410-22.
158. Frank M, De Vries A, Tikva P. Prevention of Urolithiasis. *Arch.Environ. Health* 1966;13:625-30.

159. Borghi L, Meschi T, Amato F, Briganti A, Novarini A, Giannini A. Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: a 5-year randomized prospective study. *J Urol* 1996;155:839-43.
160. Siener R, Hesse A. Fluid intake and epidemiology of urolithiasis. *Eur.J Clin.Nutr.* 2003;57(Suppl 2):47-51.
161. Schneider HJ. What is a urolith and what is a recurrent urolith? *J.Urol.* 1982;127(1):72-4.
162. Laube, N. Vorlesung: Pathophysiologie der Urolithiasis. 2006.
163. Hess B. Pathophysiologie, Diagnostik und konservative Therapie bei Kalzium-Nierensteinen. *Ther.Umsch.* 2003;60(2):79-87.
164. Ackermann D, Brown C, Dunthorn M, Purich DL, Finlayson B. Use of the computer program EQUIL to estimate pH in model solutions and human urine. *Urol.Res.* 1989;17(3):157-61.
165. Niedzielin K, Kordecki H, Birkenfeld B. A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of *Lactobacillus plantarum* 299V in patients with irritable bowel syndrome. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 2001;13(10):1143-7.
166. Milosevic D, Batinic D, Blau N, Konjevoda P, Stambuk N, Votava-Raic A, Barbaric V, Fumic K, Rumenjak V, Stavljenic-Rukavina A, Nizic L, Vrljicak K. Determination of urine saturation with computer program EQUIL 2 as a method for estimation of the risk of urolithiasis. *J.Chem.Inf.Comput.Sci.* 1998;38(4):646-50.
167. Tiselius HG. AP_{CaOx} index and AP_{CaP} index standardised to a urine volume that is related to the patient's body surface area. In: Kok DJ, Romiju HC, Verhagen PCMS, Verkoelen CF. *Euolithiasis 9th European Symposium on Urolithiasis.* Maastricht: Shaker Publishing; 2001;74-5.
168. Tiselius HG. Standardized estimate of the ion activity product of calcium oxalate in urine from renal stone formers. *Eur.Urol.* 1989;16(1):48-50.
169. Tiselius HG. Factors influencing the course of calcium oxalate stone disease. *Eur.Urol.* 1999;36(5):363-70.
170. Tiselius HG. An improved method for the routine biochemical evaluation of patients with recurrent calcium oxalate stone disease. *Clin.Chim.Acta* 1982;122(3):409-18.
171. Tiselius HG. Possibilities for preventing recurrent calcium stone formation: principles for the metabolic evaluation of patients with calcium stone disease. *BJU.Int.* 2001;88(2):158-68.

172. Tiselius HG, Larsson L. Studies on urine composition in patients with calcium oxalate stone disease. In: Schwille PO, Smith CH, Robertson WG, Vahlensieck W. Urolithiasis and related clinical research. New York, London: PlenumPress; 1985;291-4.
173. Laube N, Schneider A, Hesse A. A new approach to calculate the risk of calcium oxalate crystallization from unprepared native urine. *Urol.Res.* 2000;28(4):274-80.
174. Laube N, Hergarten S, Hesse A. Testing the predictability of the relative urinary supersaturation from the Bonn-Risk-Index for calcium oxalate stone formation. *Clin.Chem.Lab Med.* 2001;39(10):966-9.
175. Laube N, Schmidt M, Hesse A. [Monitoring of the treatment of calcium-oxalate stone formers with the Bonn-Risk-Index]. *Urologe A* 2003;42(2):243-9.
176. Laube N, Hergarten S, Hoppe B, Schmidt M, Hesse A. Determination of the calcium oxalate crystallization risk from urine samples: the BONN Risk Index in comparison to other risk formulas. *J Urol* 2004;172(1):355-9.
177. Laube N, Hergarten S. Can the Bonn Risk Index be replaced by a simple measurement of the urinary concentration of free calcium ions? *J.Urol.* 2005;173(6):2175-7.
178. Hesse A, Schaefer RM, Boehmer I, Busch B, Classen A, Vahlensieck W. Natriumbikarbonat - eine Möglichkeit zur Harnstein-Rezidivprophylaxe. *Therapeutikon* 1987;1(1):32-9.
179. Hesse, A., Jöge, S., Jahnen, A., Schmitz, W., and Klocke, K. Anwendung von Natriumhydrogenkarbonat zur Alkalisierungstherapie bei Kalzium-oxalatsteinpatienten. *Urologe [B]* 1993;33:160-63.
180. Leunissen KM, van Hooff JP. Acetate or bicarbonate for haemodialysis? *Nephrol.Dial.Transplant.* 1988;3(1):1-7.
181. Goodship TH. What is the relationship between metabolic acidosis and nutritional status in dialysis patients? *Am.J.Kidney Dis.* 1998;31(5):884-6.
182. Reaich D, Channon SM, Scrimgeour CM, Daley SE, Wilkinson R, Goodship TH. Correction of acidosis in humans with CRF decreases protein degradation and amino acid oxidation. *Am.J.Physiol* 1993;265(2 Pt 1):E230-E235.
183. Stein A, Baker F, Larratt C, Bennett S, Harris K, Feehally J, Walls J. Correction of metabolic acidosis and the protein catabolic rate in PD patients. *Perit.Dial.Int.* 1994;14(2):187-9.

184. Fallingborg J. Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract. *Dan.Med.Bull.* 1999;46(3):183-96.
185. Galambos JT, Hersh T, Schroder S, Wenger J. Loperamide: a new antidiarrheal agent in the treatment of chronic diarrhea. *Gastroenterology* 1976;70(6):1026-9.
186. Palmer KR, Corbett CL, Holdsworth CD. Double-blind cross-over study comparing loperamide, codeine and diphenoxylate in the treatment of chronic diarrhea. *Gastroenterology* 1980;79(6):1272-5.
187. Bergman L, Djarv L. A comparative study of loperamide and diphenoxylate in the treatment of chronic diarrhoea caused by intestinal resection. *Ann.Clin.Res.* 1981;13(6):402-5.
188. Sandhu BK, Tripp JH, Milla PJ, Harries JT. Loperamide in severe protracted diarrhoea. *Arch.Dis.Child* 1983;58(1):39-43.
189. Bohles H, Michalk D. Is there a risk for kidney stone formation in cystic fibrosis? *Helv.Paediatr.Acta* 1982;37(3):267-72.
190. Dharmasathaphorn K, Freeman DH, Binder HJ, Dobbins JW. Increased risk of nephrolithiasis in patients with steatorrhea. *Dig.Dis.Sci.* 1982; 27(5):401-5.
191. Kathpalia SC, Favus MJ, Coe FL. Evidence for size and charge permselectivity of rat ascending colon. Effects of ricinoleate and bile salts on oxalic acid and neutral sugar transport. *J.Clin.Invest* 1984;74(3):805-11.
192. Diamond KL, Fox CC, Barch DH. Role of cecal pH in intestinal oxalate absorption in the rat. *J.Lab Clin.Med.* 1988;112(3):352-6.
193. Dashwood MR, Sykes RM, Thomson CS. Autoradiographic demonstration of [3H] loperamide binding to opioid receptors in rat and human small intestine. *Prog.Clin.Biol.Res.* 1990;328:165-9.
194. O'Brien JD, Thompson DG, McIntyre A, Burnham WR, Walker E. Effect of codeine and loperamide on upper intestinal transit and absorption in normal subjects and patients with postvagotomy diarrhoea. *Gut* 1988;29(3):312-8.
195. Basilisco G, Camboni G, Bozzani A, Paravicini M, Bianchi PA. Oral naloxone antagonizes loperamide-induced delay of orocecal transit. *Dig.Dis.Sci.* 1987;32(8):829-32.
196. Kirby MG, Dukes GE, Heizer WD, Bryson JC, Powell JR. Effect of metoclopramide, bethanechol, and loperamide on gastric residence time, gastric emptying, and mouth-to-cecum transit time. *Pharmacotherapy* 1989;9(4):226-31.

197. Hughes S, Higgs NB, Turnberg LA. Loperamide has antisecretory activity in the human jejunum in vivo. *Gut* 1984;25(9):931-5.
198. Kachel G, Ruppin H, Hagel J, Barina W, Meinhardt M, Domschke W. Human intestinal motor activity and transport: effects of a synthetic opiate. *Gastroenterology* 1986;90(1):85-93.
199. Press AG, Ewe K, Schmidt J, Junge H. Effect of loperamide on jejunal electrolyte and water transport, prostaglandin E2-induced secretion and intestinal transit time in man. *Eur.J.Clin.Pharmacol.* 1991;41(3):239-43.
200. Wuster M, Herz A. Opiate agonist action of antidiarrheal agents in vitro and in vivo--findings in support for selective action. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 1978;301(3):187-94.
201. Schulz R, Wuster M, Herz A. Centrally and peripherally mediated inhibition of intestinal motility by opioids. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol.* 1979;308(3):255-60.
202. Sandhu BK, Milla PJ, Harries JT. Mechanisms of action of loperamide. *Scand.J.Gastroenterol.Suppl* 1983;84:85-92.
203. Kromer W. Endogenous and exogenous opioids in the control of gastrointestinal motility and secretion. *Pharmacol.Rev.* 1988;40(2):121-62.
204. Kimura T, Higaki K. Gastrointestinal Transit and Drug Absorption. *Biol.Pharm.Bull.* 2002;25(2):149-64.
205. von Unruh GE, Voss S, Sauerbruch T, Hesse A. Reference range for gastrointestinal oxalate absorption measured with a standardized [¹³C₂]oxalate absorption test. *J.Urol.* 2003;169(2):687-90.
206. Hönow R, Bongartz D, Hesse A. An improved HPLC-enzyme-reactor method for the determination of oxalic acid in complex matrices. *Clin.Chim.Acta* 1997;261(2):131-9.
207. von Unruh GE, Langer MA, Paar DW, Hesse A. Mass spectrometric-selected ion monitoring assay for an oxalate absorption test applying [¹³C₂]oxalate. *J.Chromatogr.B Biomed.Sci.Appl.* 1998;716(1-2):343-9.
208. von Unruh G, Voss S, Hesse A. Experience with the [¹³C₂]oxalate absorption test. *Isotopes.EnvIRON.Health Stud.* 2000;36:11-20.
209. Hesse A, Tiselius HG, Jahnen A. Urinary Stones. Diagnosis, treatment, and prevention of recurrence. 2. überarbeitete Auflage. Basel: Karger; 2002.
210. M.Classen. Innere Medizin. 5. Auflage. Urban&Fischer München, Jena; 2003.

211. Oehme M. Praktische Einführung in die GC/MS-Analytik mit Quadrupolen. Heidelberg: Hüthig GmbH; 1996.
212. Tiselius HG. Risk formulas in calcium oxalate urolithiasis. *World J.Urol.* 1997;15(3):176-85.
213. Nishiura JL, Martini LA, Mendonca CO, Schor N, Heilberg IP. Effect of calcium intake on urinary oxalate excretion in calcium stone-forming patients. *Braz.J.Med.Biol.Res.* 2002;35(6):669-75.
214. Hesse A, Streng A, Vahlensieck W. Oxalic acid excretion of calcium oxalate stone-formers and of healthy persons. In: Ryall R, Gwynne Brockis J, Marshall V, Finlayson B. *Urinary stone.* Melbourne: Churchill Livingstone; 1984;57-62.
215. Brogren M, Savage GP. Bioavailability of soluble oxalate from spinach eaten with and without milk products. *Asia Pac.J.Clin.Nutr.* 2003;12(2): 219-24.
216. Savage GP, Charrier MJ, Vanhanen L. Bioavailability of soluble oxalate from tea and the effect of consuming milk with the tea. *Eur.J.Clin.Nutr.* 2003;57(3):415-9.
217. Hossain RZ, Ogawa Y, Morozumi M, Hokama S, Uchida A, Sugaya K. Urinary response to an oxalic acid load is influenced by the timing of calcium loading in rats. *J.Urol.* 2005;174(5):2027-31.
218. Hossain RZ, Ogawa Y, Morozumi M, Hokama S, Sugaya K. Milk and calcium prevent gastrointestinal absorption and urinary excretion of oxalate in rats. *Front Biosci.* 2003;8:117-25.
219. Ebisuno S, Morimoto S, Yasukawa S, Ohkawa T. Results of long-term rice bran treatment on stone recurrence in hypercalciuric patients. *Br.J.Urol.* 1991;67(3):237-40.
220. Gleeson MJ, Thompson AS, Mehta S, Griffith DP. Effect of unprocessed wheat bran on calciuria and oxaluria in patients with urolithiasis. *Urology* 1990;35(3):231-4.
221. Ohkawa T, Ebisuno S, Kitagawa M, Morimoto S, Miyazaki Y, Yasukawa S. Rice bran treatment for patients with hypercalciuric stones: experimental and clinical studies. *J.Urol.* 1984;132(6):1140-5.
222. Ohkawa T, Ebisuno S, Kitagawa M, Morimoto S, Miyazaki Y. Rice bran treatment for hypercalciuric patients with urinary calculous disease. *J.Urol.* 1983;129(5):1009-11.
223. James WP, Branch WJ, Southgate DA. Calcium binding by dietary fibre. *Lancet* 1978;1(8065):638-9.

224. Siener R, Heynck H, Hesse A. Calcium-binding capacities of different brans under simulated gastrointestinal pH conditions. In vitro study with (45)Ca. *J.Agric.Food Chem.* 2001;49(9):4397-401.
225. Hambidge KM, Krebs NF, Westcott JL, Sian L, Miller LV, Peterson KL, Raboy V. Absorption of calcium from tortilla meals prepared from low-phytate maize. *Am.J.Clin.Nutr.* 2005;82(1):84-7.
226. Lemann J, Jr. Composition of the diet and calcium kidney stones. *N.Engl.J.Med.* 1993;328(12):880-2.
227. Grases F, March JG, Prieto RM, Simonet BM, Costa-Bauza A, Garcia-Raja A, Conte A. Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people--dietary effects on phytate excretion. *Scand.J.Urol.Nephrol.* 2000;34(3):162-4.
228. Shah PJ, Williams G, Green NA. Idiopathic hypercalciuria: its control with unprocessed bran. *Br.J.Urol.* 1980;52(6):426-9.
229. Ala-Opas M, Elomaa I, Porkka L, Alfthan O. Unprocessed bran and intermittent thiazide therapy in prevention of recurrent urinary calcium stones. *Scand.J.Urol.Nephrol.* 1987;21(4):311-4.
230. Strohmaier WL, Kalchthaler M, Bichler KH. Calcium metabolism in normal and in hypercalciuric patients on Farnolith, a dietary fibre preparation. *Urol.Res.* 1988;16(6):437-40.
231. Ebisuno S, Morimoto S, Yoshida T, Fukatani T, Yasukawa S, Ohkawa T. Rice-bran treatment for calcium stone formers with idiopathic hypercalciuria. *Br.J.Urol.* 1986;58(6):592-5.
232. Grases F, Ramis M, Costa-Bauza A. Effects of phytate and pyrophosphate on brushite and hydroxyapatite crystallization. Comparison with the action of other polyphosphates. *Urol.Res.* 2000;28(2):136-40.
233. Robertson WG. Urinary excretion. In: BEC Nordin, Calcium, phosphate and magnesium metabolism. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1976: 113-61.
234. Holmes RP, Assimos DG, Goodman HO. Genetic and dietary influences on urinary oxalate excretion. *Urol Res* 1998;26:195-200.
235. Jahnen, A., Jöge, S., Schmitz, W., and Hesse, A. Natriumhydrogenkarbonat senkt das Harnsteinbildungsrisiko. *TW Urologie Nephrologie* 1992;4(3):172-80.
236. Brandle E, Bernt U, Hautmann R.E. In situ characterization of oxalate transport across the basolateral membrane of the proximal tubule. *Eur J Physiol* 1998;435:840-9.

237. Straub M, Befolo-Elo J, Hautmann R, Brandle E. Alkali citrates reduce urinary oxalate excretion - a new quality for metaphylaxis. *Urologe [A]* 2004;43(Suppl. 1):36.
238. Straub M, Hautmann RE. Developments in stone prevention. *Curr. Opin.Urol* 2005;15(2):119-26.
239. Minami H, McCallum RW. The physiology and pathophysiology of gastric emptying in humans. *Gastroenterology* 1984;86(6):1592-610.
240. Dressman JB, Bass P, Ritschel WA, Friend DR, Rubinstein A, Ziv E. Gastrointestinal parameters that influence oral medications. *J.Pharm.Sci.* 1993;82(9):857-72.
241. Dressman JB, Amidon GL, Reppas C, Shah VP. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharm.Res.* 1998;15(1):11-22.
242. Weitschies W, Hartmann V, Grutzmann R, Breitzkreutz J. Determination of the disintegration behavior of magnetically marked tablets. *Eur.J.Pharm.Biopharm.* 2001;52(2):221-6.
243. Weitschies W, Wedemeyer RS, Kosch O, Fach K, Nagel S, Soderlind E, Trahms L, Abrahamsson B, Monnikes H. Impact of the intragastric location of extended release tablets on food interactions. *J.Control Release* 2005;108(2-3):375-85.
244. Dressman JB, Berardi RR, Dermentzoglou LC, Russell TL, Schmaltz SP, Barnett JL, Jarvenpaa KM. Upper gastrointestinal (GI) pH in young, healthy men and women. *Pharm.Res.* 1990;7(7):756-61.
245. Hoppe B, Winter PD, Classen A, Hesse A. Alkalisierungstherapie. *TW Urologie Nephrologie* 1992;4:312-8.

9 Anhang

Tabelle A: Einzel- und Mittelwerte (MW \pm SD) der gastrointestinalen Oxalat-Absorption (%) der Probanden unter der Misch-Kost und den zwei vegetarischen Kostformen.

Proband	Geschlecht Alter	BMI	Test	Kost-Form		
	m./w. Jahre	Kg/m ²		Misch-Kost 60 mg Oxalat	Vegetarisch 70 mg Oxalat	Vegetarisch 300 mg Oxalat
A	Weiblich 28	20,2	1	5,8	14,5	15,4
			2	2,9	12,7	6,7
			3	5,9	8,6	11,3
			MW \pm SD	4,9 \pm 1,7	11,9 \pm 3,0	11,1 \pm 4,4
B	Weiblich 28	20,3	1	14,3	18,9	19,1
			2	6,4	11,3	5,3
			3	5,7	21,8	18,7
			MW \pm SD	8,8 \pm 4,8	17,3 \pm 5,4	14,4 \pm 7,9
C	Männlich 27	22,9	1	6,5	14,5	6,8
			2	9,7	14,2	5,4
			3	5,0	12,5	6,0
			MW \pm SD	7,1 \pm 2,4	13,7 \pm 1,1	6,1 \pm 0,7
D	Männlich 29	28,0	1	9,4	21,5	21,1
			2	9,7	23,3	13,5
			3	17,4	11,2	18,2
			MW \pm SD	12,2 \pm 4,5	18,7 \pm 6,5	17,6 \pm 3,8
E	Weiblich 27	19,6	1	5,9	12,4	9,4
			2	6,3	12,0	10,9
			3	8,5	14,2	13,0
			MW \pm SD	6,9 \pm 1,4	12,9 \pm 1,2	11,1 \pm 1,8
F	Männlich 26	23,5	1	7,9	14,3	21,0
			2	18,7	14,2	26,3
			3	8,9	15,4	12,8
			MW \pm SD	11,8 \pm 6,0	14,6 \pm 0,7	20,0 \pm 6,8
G	Weiblich 21	21,2	1	6,3	15,1	7,5
			2	17,7	17,7	11,0
			3	7,0	22,0	8,7
			MW \pm SD	10,3 \pm 6,4	18,3 \pm 3,5	9,1 \pm 1,8
H	Weiblich 43	22,9	1	17,2	19,4	9,4
			2	6,9	19,7	10,9
			3	10,8	18,8	12,2
			MW \pm SD	11,6 \pm 5,2	19,3 \pm 0,5	10,8 \pm 1,4
MW \pm SD	28,6 \pm 6,3	22,3 \pm 2,7	MW \pm SD	9,2 \pm 2,7	15,8 \pm 2,9	12,5 \pm 4,6

Tabelle B: Einzel- und Mittelwerte (MW \pm SD) für die Oxalat-Ausscheidung (mmol) im Urin der Probanden unter der Misch-Kost und den zwei vegetarischen Kostformen.

Proband	Geschlecht Alter	BMI Kg/m ²	Test	Kost-Form		
	m./w. Jahre			Misch-Kost 60 mg Oxalat	Vegetarisch 70mg Oxalat	Vegetarsch 300 mg Oxalat
A	Weiblich 28	20,2	1	0,144	0,283	0,312
			2	0,215	0,193	0,205
			3	0,211	0,242	0,247
			MW \pm SD	0,190 \pm 0,040	0,239 \pm 0,045	0,255 \pm 0,054
B	Weiblich 28	20,3	1	0,305	0,271	0,325
			2	0,344	0,260	0,255
			3	0,314	0,488	0,408
			MW \pm SD	0,321 \pm 0,020	0,340 \pm 0,129	0,329 \pm 0,077
C	Männlich 27	22,9	1	0,387	0,424	0,309
			2	0,319	0,466	0,342
			3	0,355	0,401	0,331
			MW \pm SD	0,354 \pm 0,034	0,401 \pm 0,033	0,327 \pm 0,017
D	Männlich 29	28,0	1	0,404	0,795	0,428
			2	0,475	0,694	0,470
			3	0,502	0,471	0,598
			MW \pm SD	0,460 \pm 0,051	0,653 \pm 0,166	0,499 \pm 0,089
E	Weiblich 27	19,6	1	0,216	0,300	0,298
			2	0,220	0,303	0,296
			3	0,250	0,311	0,244
			MW \pm SD	0,229 \pm 0,019	0,305 \pm 0,006	0,279 \pm 0,031
F	Männlich 26	23,5	1	0,247	0,625	0,424
			2	0,439	0,367	0,415
			3	0,305	0,352	0,347
			MW \pm SD	0,330 \pm 0,098	0,448 \pm 0,153	0,395 \pm 0,042
G	Weiblich 21	21,2	1	0,225	0,400	0,420
			2	0,411	0,471	0,319
			3	0,316	0,369	0,260
			MW \pm SD	0,317 \pm 0,093	0,413 \pm 0,052	0,333 \pm 0,081
H	Weiblich 43	22,9	1	0,350	0,510	0,318
			2	0,386	0,457	0,273
			3	0,309	0,483	0,317
			MW \pm SD	0,348 \pm 0,039	0,483 \pm 0,027	0,303 \pm 0,026
MW \pm SD	28,6 \pm 6,3	22,3 \pm 2,7	MW \pm SD	0,319 \pm 0,082	0,414 \pm 0,126	0,340 \pm 0,077

Tabelle C: Einzel- und Mittelwerte (MW \pm SD) der gastrointestinalen Oxalat-Absorption (%) der Probanden unter Medikamenteneinnahme und ohne Medikament.

Proband	Geschlecht Alter	BMI Kg/m ²	Test	Test-Reihen Basierend auf einer Misch-Kost mit 60 mg Oxalat		
	m/w Jahre			Ohne Medikament	Imodium®	Nephrotrans®
A	Weiblich 29	20,2	1	2,8	15,6	1,7
			2	13,6	2,2	1,8
			3	7,0	3,4	3,9
			MW \pm SD	7,8 \pm 5,4	7,1 \pm 7,4	2,5 \pm 1,2
B	Männlich 20	22,1	1	9,0	14,4	10,3
			2	9,7	13,0	5,3
			3	4,5	20,3	4,0
			MW \pm SD	7,7 \pm 2,8	15,9 \pm 3,9	6,5 \pm 3,3
C	weiblich 28	20,5	1	8,5	11,3	6,9
			2	5,0	6,3	9,0
			3	4,9	12,1	7,0
			MW \pm SD	6,1 \pm 2,1	9,9 \pm 3,1	7,6 \pm 1,2
D	Männlich 30	28,0	1	6,0	5,6	9,0
			2	8,8	11,8	8,8
			3	5,8	3,6	8,4
			MW \pm SD	6,9 \pm 1,7	7,0 \pm 4,3	8,7 \pm 0,3
E	Männlich 29	20,9	1	5,7	2,3	7,6
			2	2,6	10,8	7,4
			3	2,1	4,0	5,3
			MW \pm SD	3,5 \pm 2,0	5,7 \pm 4,5	6,8 \pm 1,3
F	Männlich 67	25,3	1	7,2	6,7	6,3
			2	5,0	6,2	8,9
			3	9,6	3,6	3,4
			MW \pm SD	7,3 \pm 2,3	5,5 \pm 1,7	6,2 \pm 2,8
G	Weiblich 42	22,9	1	6,7	9,4	11,4
			2	4,6	15,2	16,0
			3	9,5	10,1	12,8
			MW \pm SD	6,9 \pm 2,5	11,6 \pm 3,2	13,4 \pm 2,4
H	Männlich 64	24,3	1	14,6	14,2	15,1
			2	16,9	19,5	6,0
			3	8,6	21,5	21,0
			MW \pm SD	13,4 \pm 4,3	18,4 \pm 3,8	14,0 \pm 7,6
MW \pm SD	38,6 \pm 17,6	23,0 \pm 2,7	MW \pm SD	7,5 \pm 2,8	10,1 \pm 4,8	8,2 \pm 3,8

Tabelle D: Einzel- und Mittelwerte (MW \pm SD) für die Oxalat-Ausscheidung (mmol) im Urin der Probanden unter Medikamenteneinnahme und ohne Medikament.

Proband	Geschlecht Alter	BMI Kg/m ²	Test	Test-Reihen Basierend auf einer Misch-Kost mit 60 mg Oxalat		
	m/w Jahre			Ohne Medikament	Imodium®	Nephrotrans®
A	Weiblich 29	20,2	1	0,197	0,251	0,170
			2	0,283	0,217	0,204
			3	0,210	0,166	0,255
			MW \pm SD	0,230 \pm 0,046	0,211 \pm 0,043	0,210 \pm 0,043
B	Männlich 20	22,1	1	0,341	0,308	0,342
			2	0,383	0,424	0,386
			3	0,342	0,361	0,450
			MW \pm SD	0,355 \pm 0,024	0,364 \pm 0,058	0,393 \pm 0,054
C	weiblich 28	20,5	1	0,244	0,275	0,239
			2	0,220	0,237	0,258
			3	0,234	0,256	0,210
			MW \pm SD	0,233 \pm 0,012	0,256 \pm 0,019	0,236 \pm 0,024
D	Männlich 30	28,0	1	0,296	0,400	0,499
			2	0,500	0,435	0,551
			3	0,461	0,357	0,377
			MW \pm SD	0,419 \pm 0,108	0,397 \pm 0,039	0,476 \pm 0,089
E	Männlich 29	20,9	1	0,555	0,384	0,406
			2	0,294	0,437	0,345
			3	0,436	0,264	0,369
			MW \pm SD	0,428 \pm 0,131	0,362 \pm 0,089	0,373 \pm 0,031
F	Männlich 67	25,3	1	0,275	0,279	0,259
			2	0,312	0,291	0,373
			3	0,350	0,215	0,350
			MW \pm SD	0,312 \pm 0,038	0,262 \pm 0,041	0,327 \pm 0,060
G	Weiblich 42	22,9	1	0,264	0,255	0,276
			2	0,366	0,293	0,266
			3	0,370	0,334	0,314
			MW \pm SD	0,333 \pm 0,060	0,294 \pm 0,040	0,285 \pm 0,025
H	Männlich 64	24,3	1	0,385	0,355	0,449
			2	0,452	0,572	0,456
			3	0,350	0,473	0,571
			MW \pm SD	0,396 \pm 0,052	0,467 \pm 0,109	0,492 \pm 0,069
MW \pm SD	38,6 \pm 17,6	23,0 \pm 2,7	MW \pm SD	0,338 \pm 0,077	0,326 \pm 0,084	0,349 \pm 0,104