

**Untersuchungen zur Bestimmung und Verteilung des  
Calciumoxalat-Harnsteinbildungsrisikos innerhalb  
dreier Generationen einer Familie**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

Vera Labedzke  
aus Bonn

2007

Angefertigt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. A. Hesse
2. Gutachter: Prof. Dr. D. Klingmüller

Tag der mündlichen Prüfung: 15.02.2007

Aus der Abteilung für Experimentelle Urologie der Klinik und Poliklinik für Urologie des  
Universitätsklinikums Bonn

Direktor: Prof. Dr. S. C. Müller

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn  
[http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss\\_online](http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online) elektronisch publiziert

*Meinen Eltern, meinem Bruder, meinen Großeltern,  
in Liebe und Dankbarkeit*



## Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Zusammenfassung / Abstract .....</b>	<b>7</b>
<b>2. Übersicht .....</b>	<b>9</b>
<b>3. Einleitung .....</b>	<b>11</b>
3.1 Historie .....	11
3.2 Das Harnsteinleiden .....	13
3.3 Calciumoxalatharnsteine .....	15
3.4 Zielsetzung dieser Arbeit .....	17
<b>4. Material, Methoden und Testpersonen .....</b>	<b>18</b>
4.1 Material .....	18
4.2 Methoden .....	19
4.2.1 Rahmenbedingungen und Maßgaben .....	19
4.2.2 Experimentelles Vorgehen .....	20
4.2.2.1 Probensammlung .....	20
4.2.2.2 Präparation .....	20
4.2.2.3 Durchführung .....	21
4.2.2.3.1 Messung der freien Calciumionenkonzentration $[Ca^{2+}]$ .....	21
4.2.2.3.2 Kristallisationsexperiment .....	21
4.2.2.3.3 Biochemische Analysen des Urins und Combur <sup>9</sup> Test <sup>®</sup> -Werte .....	24
4.3 Biochemische Analysen der Blutproben .....	26
4.4 Testpersonen .....	28
4.4.1 Zu den einzelnen Familienmitgliedern .....	30
4.4.2 Übersicht über die Medikationen und den BMI der einzelnen Familienmitglieder .....	33
4.4.3 Steinbildner und stattgehabte Steinepisoden sowie Nicht-Steinbildner der untersuchten Familie .....	34
4.5 Statistische Methoden .....	35

<b>5. Ergebnisse</b> .....	<b>36</b>
5.1 BRI-Werte sowie relative Übersättigung des Urins an CaOx .....	37
5.2 Ausscheidungen von Citrat- und Oxalatk Mengen im Vergleich zur Calciumausscheidung .	45
5.3 Ausscheidung von Harnsäure im Urin .....	47
5.4 Parameter in vergleichender Einzeldarstellung .....	47
5.5 Rohdaten der Urinanalysen und Combur <sup>2</sup> Test <sup>®</sup> - Ergebnisse .....	54
5.6 Rohdaten der Blutanalysen und Diskussion .....	58
<b>6. Diskussion und Ausblick</b> .....	<b>60</b>
6.1 Diskussion der möglichen genetischen Faktoren bei CaOx-Urolithiasis .....	60
6.2 Diskussion der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse und Ausblick .....	69
6.2.1 BONN-Risk-Index- und Werte für die relative Übersättigung .....	69
6.2.2 Diskussion der Ausscheidungswerte von Calcium, Citrat und Oxalat .....	71
6.2.3 Ultraschall-Untersuchungen der Nieren von Person III.1 .....	73
6.2.4 Situation für Person III.1 und Ausblick .....	73
<b>7. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>77</b>
<b>8. Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>85</b>
<b>9. Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>88</b>
<b>10. Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>90</b>
<b>11. Anhang</b> .....	<b>91</b>
11.1 Auswahl repräsentativer Ernährungsprotokolle .....	91
11.2 Poster zum 54. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Urologie, 2002 .....	95
11.3 Publikation .....	96
11.4 Klimadaten für den Untersuchungszeitraum.....	103
<b>Danksagung</b> .....	<b>104</b>

## 1. Zusammenfassung

Neben umweltbedingten und erworbenen Risikofaktoren kann, wie bereits mehrfach vermutet wurde [28, 42, 53], auch die genetische Prädisposition einer Person einen entscheidenden Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit der Ausbildung einer Urolithiasis haben. Allerdings steht erst seit kurzem mit dem BONN-Risk-Index eine geeignete Methode zur Verfügung, mit der in einem Screening bei mehreren Familienmitgliedern eines Steinbildners das individuelle Steinbildungsrisiko bestimmt werden kann. Mit dieser Methode wurde hier erstmals die Vererbung dieser Disposition am Beispiel einer Familie untersucht. In dieser Familie leidet die väterliche Seite (Großvater und Vater) seit mindestens zwei Generationen unter Calciumoxalat (CaOx)-Urolithiasis, während von der mütterlichen Seite und der jüngsten Generation keine Fälle bekannt waren. Insgesamt wurden von sieben Personen aus drei Generationen der Familie Urin und Blut auf für die Ausbildung einer Urolithiasis relevante Parameter analysiert.

Die erhaltenen umfangreichen Daten dienten als Basis für die Ermittlung des individuellen Kristallisationsrisikos der einzelnen Personen mit Hilfe des BONN-Risk-Index und zusätzlich des Computerprogramms EQUIL.

Es konnte gezeigt werden, dass alle Personen jeweils einer von zwei Gruppen mit sehr unterschiedlichem Risikoniveau zuzuordnen sind und dass eine der Personen der jüngsten Generation ein bisher nicht erkanntes stark erhöhtes Risiko für eine Harnsteinbildung geerbt hat. Daraufhin durchgeführte Ultraschalluntersuchungen der Nieren bestätigten den Verdacht. Damit erwies sich das mit relativ geringem Aufwand durchzuführende Verfahren „BONN-Risk-Index“ als gut geeignet für die Identifizierung eines erhöhten CaOx-Urolithiasis-Risikos, insbesondere auch für Mitglieder einer Familie mit genetischer Prädisposition.

## Abstract

Apart from environmental and acquired risk factors, a person's genetic predisposition – as supposed before [28, 42, 53] – may play an important part on the probability of the onset of urolithiasis. However only with the recently developed BONN-Risk-Index there is now availability of an appropriate method to screen family members of a person suffering from

urolithiasis in order to determine the individual crystallization risk of each one. For the first time the inheritance of this predisposition was examined by using this method with a certain family. The paternal line in this family has been suffering from CaOx-urolithiasis for at least two generations; no case of urolithiasis has been reported from the maternal line and the youngest generation. Therefore we analysed parameters in blood and urine, which were relevant with respect to urolithiasis, of seven persons belonging to three generations of the family. The BONN-Risk-Index and the computer program EQUIL were applied on the extensive data in order to determine the individual crystallization risk of each family member.

We clearly verified the existence of two groups of different risk within the family and showed that one of the siblings of the youngest generation has inherited a high risk for stone formation which was unknown until now. Therefore we performed ultrasound examinations of the kidneys which confirmed our assumption.

In conclusion the BONN-Risk-Index was shown to be an appropriate method, which is performed without high efforts, to identify an increased risk for CaOx-Urolithiasis generally and especially for persons within families possessing a genetic predisposition.



## 2. Übersicht

### *Hintergrund*

Die Bildung von Nieren- und Harnsteinen ist das Ergebnis eines komplexen Zusammenspiels einer Reihe von unterschiedlichen physikalisch-chemischen und biochemischen Prozessen. Unumstritten ist die Existenz von umweltbedingten und erworbenen Risikofaktoren. Zusätzlich wird die Möglichkeit diskutiert, dass die genetische Prädisposition eines Menschen deutlichen Einfluß auf die Entstehung einer Erkrankung an Urolithiasis nehmen kann. Für die Untersuchung der Vererbung der Urolithiasis konnte eine Familie gefunden werden, in der die väterliche Linie seit mindestens zwei Generationen an Calciumoxalatsteinen erkrankt ist, während innerhalb der mütterlichen Linie der Familie und der jüngsten Generation kein Fall von Urolithiasis bekannt war. Von den insgesamt sieben Personen aus drei Generationen wurden Urin- und Blutproben untersucht, um das jeweilige Risiko der einzelnen Personen für die Bildung von Calciumoxalatsteinen zu ermitteln.

### *Methoden*

Von jedem der untersuchten Familienmitglieder ( $n = 7$ ) wurden an mindestens zwei unterschiedlichen Tagen jeweils zwei 12 h-Urinfraktionen gesammelt.

Für die Testpersonen gab es in dieser Zeit keinerlei diätetische Vorgaben oder Einschränkungen. Weiter waren innerhalb der Familie keine Besonderheiten bezüglich der Ernährung bekannt. Der BONN-Risk-Index, BRI, die relative Übersättigung des Urins mit Blick auf den Gehalt an Calciumoxalat ( $RS_{CaOx}$ ) und gängige chemische Urinanalysen wurden von jeder Urinfraktion bestimmt.

Zusätzlich wurde eine umfassende biochemische Harn- und Serumanalytik vorgenommen sowie eine ausführliche Ernährungsanamnese zur Ermittlung einer eventuellen Kausalpathogenese bei erkanntem erhöhten Kristallisationsrisiko erhoben.

### *Ergebnisse*

Die erhaltenen Ergebnisse lassen bei Anwendung des bestehenden BRI-Konzeptes einen deutlichen Unterschied zwischen der „väterlichen Linie“ und der „mütterlichen Linie der Familie“ (siehe Abb. 2) hinsichtlich des Calcium-Oxalat-Harnsteinbildungsrisikos erkennen.

Der Mittelwert aller erhobenen 12 h-BRI-Werte der väterlichen Linie beläuft sich auf  $1,88 \text{ l}^{-1}$  (d. h. „erhöhtes Risiko“), der Mittelwert der mütterlichen Linie hingegen auf nur  $0,38 \text{ l}^{-1}$  (d. h. „kein Risiko“). Die jüngste Generation ( $n = 2$ ) weist Mittelwerte der 12 h-BRI-Werte von  $1,67 \text{ l}^{-1}$  bzw.  $0,14 \text{ l}^{-1}$  und damit große Unterschiede auf. Entsprechende Ergebnisse wurden erhalten bei der Berechnung der Werte für die relative Übersättigung des Urins mit Calciumoxalat ( $\text{RS}_{\text{CaOx}}$ ). Bei den risikobehafteten Personen wurde eine überwiegend erhöhte Calciumausscheidung beobachtet, welche eine Ursache für das erhöhte Risiko darstellen könnte.

### *Schlußfolgerung*

Die Ausbildung eines erhöhten Calciumoxalat-Steinbildungsrisikos kann bei einzelnen Personen aus allen drei Generationen der untersuchten Familie festgestellt werden. Die erhobenen BRI-Werte als auch die Daten der relativen Übersättigung des Urins mit Calciumoxalat, ( $\text{RS}_{\text{CaOx}}$ ), spiegeln ein auf ähnlichen Faktoren beruhendes Risiko der untersuchten Personen wider. Die Tochter (3. Generation) hat offenbar das Risiko einer Calciumoxalat-Kristallisation und somit auch das Risiko der eventuell daraus resultierenden Calciumoxalat-Steinbildung geerbt.

Daraufhin durchgeführte Ultraschalluntersuchungen beider Nieren bestätigten den Verdacht.

Damit hat sich gezeigt, dass der mit relativ geringem Aufwand ermittelbare BONN-Risk-Index ein geeignetes Verfahren ist, um innerhalb von Familien mit genetischer Disposition diejenigen Familienmitglieder zu identifizieren, die ein erhöhtes Risiko für die Bildung von Calciumoxalatsteinen tragen.

### 3. Einleitung

#### 3.1 Historie

Harnsteinerkrankungen sind seit der Antike bekannt und plagten den Menschen bis heute.

Der älteste erhaltene Papyrus stammt aus der Zeit des frühen ägyptischen Altertums und übermittelt schon Rezepte zur Verbesserung des Harnabganges und gegen Harnstauungen. Auch konnten an jahrtausendealten Mumien Nieren- und Harnblasensteine diagnostiziert werden. Ebenso existieren Belege aus dem alten Indien, Persien, Armenien und von den Hebräern, die von dem auch schon damals die Menschen peinigenden Leiden zeugen.



**Abbildung 1:** Harnblasensteine. Stich aus dem 18. Jh., Deutschland (Paris, Nationalbibliothek, Kupferstichkabinett), aus [14].

Seit dem klassischen Altertum wurde auch der Harn einer genauen Untersuchung unterzogen. So wurde der erste „beim Hahnenschrei“ produzierte Urin in einem durchsichtigen Gefäß gesammelt, das vor Sonnenlicht geschützt und fernab von jeglicher Wärmequelle aufzubewahren war. In einen Weidenkorb gesetzt trug man es zu einem Harnbeschauer, der die Probe in frischem Zustand und noch einmal zwei Stunden später begutachtete. Der Urin wurde hinsichtlich der Dichte, der Farbe, des Sedimentes, des Geruches sowie des Geschmackes untersucht [14, 65].

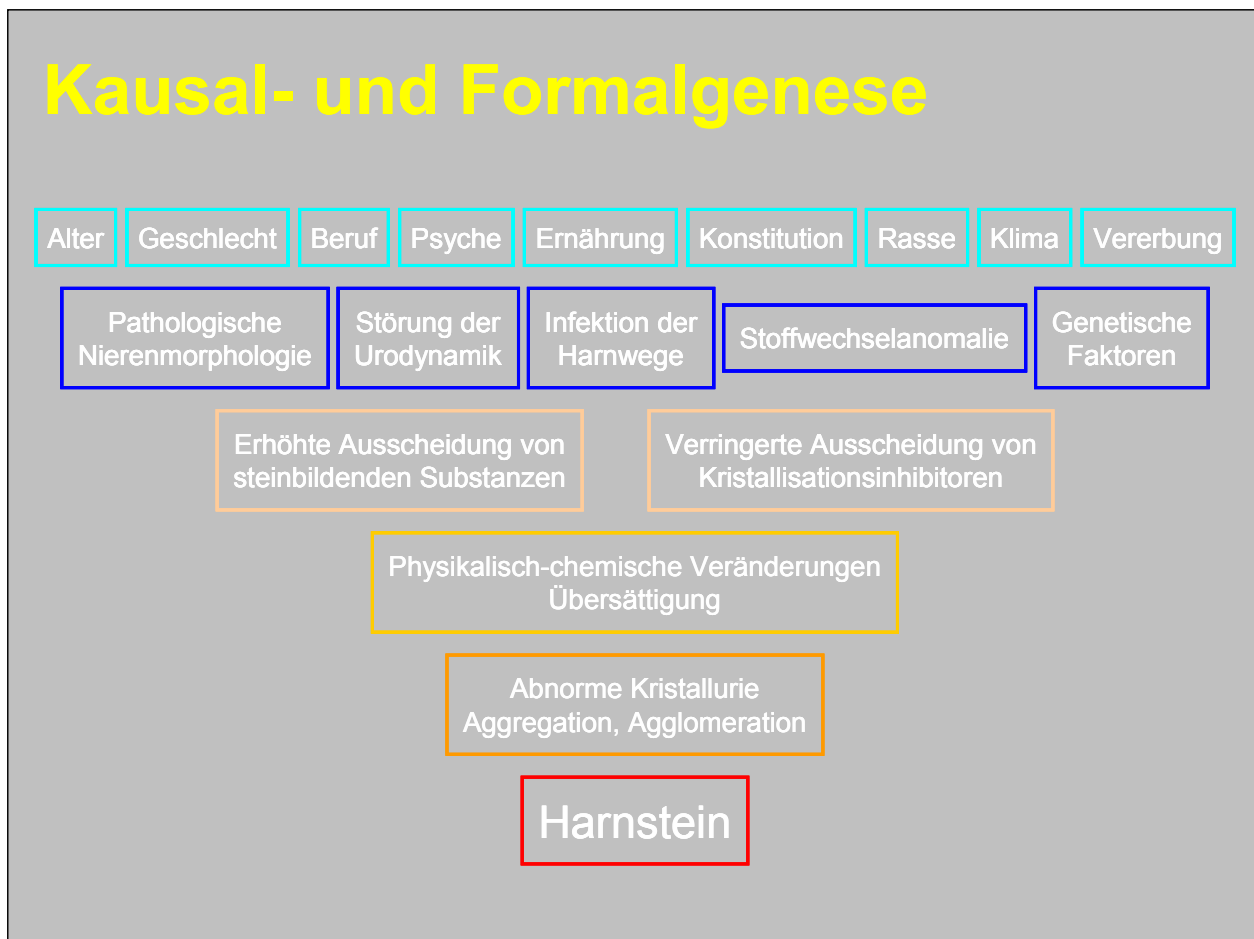


**Abbildung 2:** Harnschau. Stich des 16. Jh.s. Linke Bildhälfte: Der echte Arzt bei der Harnschau. Rechte Bildhälfte: Der falsche Arzt „beschaut“ seinen Geldbeutel. (Paris, Bibl. des Arts décoratifs), aus [14].

In dem folgenden Kapitel 4 „Material, Methoden und Testpersonen“ werden die im Rahmen dieser Arbeit angewandten Verfahren zur Sammlung und Untersuchung des Urins wie auch die analysierten Parameter erläutert.

### 3.2 Das Harnsteinleiden

Die pathologische Kristallbildung im Bereich des Harntraktes ist das Ergebnis eines komplexen Zusammenspiels zahlreicher unterschiedlicher physikalisch-chemischer und biochemischer Prozesse. Wenigstens einer dieser Prozesse muß eine „Fehlfunktion“ aufweisen und eine derartige „Fehlfunktion“ kann eine Vielzahl von Ursachen haben.



**Abbildung 3:** Modell der Kausal- und Formalgenese des Harnsteinleidens (nach Dr. N. Laube, Experimentelle Urologie Bonn).

Die für die Bildung von Harnsteinen verantwortlichen komplexen Mechanismen sind bislang noch nicht hinreichend geklärt [10]. Ein möglicher Mechanismus ist die Bildung von Aggregaten in den distalen Tubuli der Nephronen [10], denn der Urin beinhaltet Verbindungen, welche die

Nukleation, das Wachstum und die Kristallaggregation genauso fördern, wie auch deren Bindung an renale Epithelzellen [10, 32].

Dabei sind Kristallbildung und Retention auch selbst begünstigend für die Ausbildung von Harnsteinen, denn die gebildeten Kristalle verletzen das renale Epithel und die Zellmembranen verletzter Zellen fördern wiederum die Kristallanlagerung und Retention [53].

Auch ein geringes Urinvolumen wird für die Entstehung der Urolithiasis verantwortlich gemacht, während wiederum eine hohe Flüssigkeitszufuhr (Harnvolumina > 2000ml pro Tag) die Steinrezidivrate senkt [15, 22, 24, 40]. Weiter wird berichtet, dass die Harnsteinbildung auch saisonalen Schwankungen unterliegt, was sich in einem erhöhten Steinaufkommen während besonders warmer und trockener Monate äußert [40].

Nierensteine sind im Alter und bei Männern gehäuft und rezidivieren innerhalb von 10 Jahren in gut 50% der Fälle.

Wichtig ist, dass wegen permanenter Urinübersättigung bereits Nierengesunde pro Tag bis zu 10 Mio. Kristalle ausscheiden. Nierensteinpatienten bilden aufgrund fehlender oder defekter Kristallisationshemmstoffe gehäuft große Kristallaggregate oder weisen eine vermehrte Haftung von Urinkristallen an Tubuluszelloberflächen auf [22].

Als Komponenten, die die Harnsteinbildung beeinflussen, werden weitere Faktoren wie Ernährungssituation, klimatische Einflüsse, erworbene, stattgehabte oder angeborene Krankheiten sowie die individuelle Anatomie genannt:

Eine hohe Eiweißzufuhr wie der übermäßige Konsum von Fleisch, Fisch und Geflügel wie auch eine hohe Oxalatzufuhr z.B. durch übermäßigen Konsum von Rhabarber oder Spinat sind mit einer gehäuften Steinbildung vergesellschaftet [26].

Verschiedene Erkrankungen können die Bildung von Harnsteinen durch beispielsweise Kompression der Harnwege (z.B. urogenitale oder abdominale Tumoren) und daraus folgende Harnretention begünstigen. Auch können Patienten, die aus unterschiedlichen Krankheitsgründen ein Ileostoma tragen müssen, durch Dehydratation eine Urolithiasis ausbilden [21].

Nach [50] kann eine Störung des Stoffwechsels bei rund zwei Dritteln aller Steinbildner diagnostiziert werden. Das übrige Drittel fällt in die Gruppe der sogenannten idiopathischen Steinbildner, die sowohl im Blut als auch im Urin [50] Konzentrationen von lithogenen Substanzen aufweisen, die innerhalb des „Normalbereichs“ liegen.

Ferner begünstigen sich nach [21] eine Harnwegsinfektion und eine Urolithiasis gegenseitig (gramnegative Bakterien – außer *E. coli* – spalten Harnstoff mittels Urease in  $\text{NH}_3$  und  $\text{CO}_2$ ; dadurch wird der Harn alkalisch und die Steinbildung wird gefördert).

Ebenso können angeborene oder erworbene Anomalien der Harnwege zur Retention von Urin führen, was wiederum eine Harnsteinbildung begünstigen kann.

Abgesehen von diesen überwiegend umweltbedingten, erworbenen und anatomischen Risikofaktoren hat die genetische Prädisposition eines Menschen einen erheblichen Einfluß auf die Wahrscheinlichkeit, an Urolithiasis zu erkranken.

Über die Mechanismen der genetischen Faktoren ist weniger bekannt als über die Mechanismen der Umweltfaktoren, wie etwa der Flüssigkeitshaushalt eines Patienten oder die Auswirkungen der Ernährung auf die Konzentrationen der im Urin befindlichen relevanten Ionenarten.

Im Fall einer genetisch begründeten Harnstein-Erkrankung ist der genetische Defekt häufig von den Eltern auf ihre Kinder übertragen worden [53, 42].

Nach ihrer Zusammensetzung unterscheidet man zwischen anorganischen und organischen Harnsteinen. Rund 85% aller Konkreme enthalten Calciumsalze (Calciumoxalat oder Calciumphosphat) als hauptsächliche kristalline Komponente [22].

Zu den organischen Steinen gehören die Harnsäuresteine, Cystinsteine und Xanthinsteine [15].

Der in den meisten Harnsteinen vorkommende und häufigste Stoff ist Calciumoxalat [32].

### **3.3 Calciumoxalatharnsteine**

Calciumoxalatharnsteine sind, wie auch das Harnsteinleiden im Allgemeinen, multifaktoriellen Ursprungs, wobei sowohl genetische, umweltbedingte wie auch erworbene Faktoren beteiligt sein können [49].

Die beiden Salze Calciumoxalat-Monohydrat (Whewellit [COM]) und Calciumoxalat-Dihydrat (Weddellit [COD]) repräsentieren die am häufigsten auftretende Harnsteinart. Für eine Ausbildung dieser Harnsteine werden drei Hauptrisikofaktoren diskutiert: i) Hypercalciurie, ii) Hyperoxalurie und iii) Hypocitraturie.

Das Auftreten dieser Risikofaktoren erhöht das Risiko für die Calciumoxalat-Kristallisation beträchtlich.

Aber auch viele weitere Parameter sind an der Bildung von Calciumoxalatkristallen im Bereich der Nieren oder der Harnwege beteiligt wie z.B. hohe Konzentrationen an Kristallisationspromotoren wie Urat und niedrige Konzentrationen an Kristallisationsinhibitoren wie Citrat, Osteopontin, Nephrocalcin und Uromodulin im Urin. Die meisten dieser Variablen haben ebenso umweltbedingte wie genetische Determinanten [12].

Für jeden dieser allgemeinen Faktoren gibt es eine Anzahl von Untergruppen; sie beschreiben die verschiedenen Ursachen, die für die speziellen Ausprägungen der Krankheit jeweils kennzeichnend sind [48, 62].

Die genetischen Faktoren beeinflussen auch unterschiedliche Komponenten eines hochkomplizierten Inhibitorsystems, das dafür sorgt, dass das Calciumoxalat, welches eine sehr geringe Löslichkeit in Wasser aufweist, in Lösung bleibt.

Wenn das Inhibitorsystem gestört wird, bilden sich Calciumoxalatkristalle, die Kristalle aggregieren und die Steinbildung setzt ein.

Nur wenige der genetisch bedingten Calciumoxalat-Stein-Erkrankungen sind durch einen monogenetischen Defekt begründet; sie sind ohne Ausnahme mit schweren Symptomen verbunden und treten mit einer sehr niedrigen Prävalenz auf [35, 60, 13, 34, 12].

Die meisten Calciumoxalat-Stein-Erkrankungen sind durch eine polygenetische Ätiologie gekennzeichnet [19, 28]; häufig jedoch ist in diesen Fällen die genetische Prädisposition nicht die alleinige Ursache der Harnsteinbildung. Zumeist führt die Kombination eines polygenetischen Defekts in Kombination mit weiteren begünstigenden Faktoren (z.B. Ernährungssituation, klimatische Bedingungen) zur Ausprägung der Urolithiasis [59].

Eine idiopathische Hypercalciurie wird als häufigster Grund für die pathologische Bildung von Calciumsteinen angesehen. Sie betrifft beide Geschlechter gleichermaßen und spiegelt ein polygenetisches, autosomal dominantes Merkmal wider [19, 11, 31].

Zu diesem Thema sind umfassende Studien von Goodman et al. (1995) [19] und Baggio (1999) [5] durchgeführt worden; Letzterer weist insbesondere auf eine Vielzahl von Arbeiten hin, welche noch durchzuführen sind, um die Pathogenese der Nephrolithiasis im Detail zu verstehen. In Kapitel 6 „Diskussion und Ausblick“ werden die möglicherweise am Entstehen einer Calciumoxalat-Urolithiasis beteiligten genetischen Faktoren ausführlicher dargelegt.



### 3.4 Zielsetzung dieser Arbeit

In der hier vorgestellten Studie wurden Mitglieder von drei Generationen der gleichen Familie (Abb. 7) umfassend bezüglich ihres individuellen Harnsteinbildungsrisikos untersucht.

Die väterliche Linie der Familie ist von einer rezidivierenden Calciumoxalat-Urolithiasis betroffen; in der mütterlichen Linie hingegen ist kein Fall einer Harnsteinerkrankung bekannt.

Die Mitglieder der jüngsten Generation ( $n = 2$ ) gelten ebenfalls als „klinisch gesund“.

Das Ziel dieser Arbeit war es, anhand detaillierter Urin- und Blutuntersuchungen das Calciumoxalat-Kristallisationsrisiko des einzelnen Familienmitgliedes zu ermitteln und abzuschätzen, ob das Risiko, dass die „väterlichen Linie“ trägt, auch auf die jüngste Generation übertragen worden ist. Dabei war auch zu überprüfen, ob die in dieser Arbeit genutzten Methoden für die Durchführung dieser Risikoabschätzung geeignet sind.

Die Urinproben der getesteten Personen wurden mit Hilfe zweier verschiedener Verfahren auf das Calciumoxalat-Kristallisationsrisiko hin untersucht. Dafür wurde von jeder Probe in einem Kristallisationsexperiment der BONN-Risk-Index, (BRI) [39], bestimmt sowie der Modellwert der relativen Calciumoxalat-Übersättigung ( $RS_{CaOx}$ ) mit Hilfe der chemischen Analyse bestimmter Harnbestandteile und dem Computerprogramm EQUIL [16, 66] berechnet. Außerdem wurden die renalen Ausscheidungsraten der lithogenen Substanzen und wichtiger Modifikatoren der Calciumoxalat-Bildung bestimmt.

Wenn einem Mitglied der jüngsten, bisher als gesund geltenden Generation aufgrund der Ergebnisse obiger Untersuchungen ein erhöhtes Harnsteinbildungsrisiko zuzuweisen wäre, sollte der Verdacht mit anderen Verfahren überprüft werden und gegebenenfalls erwogen werden, ob mit prophylaktischen Maßnahmen einer (symptomatischen) pathologischen Steinbildung vorzubeugen sei.

## 4. Material, Methoden und Testpersonen

### 4.1 Material

#### Zur Durchführung der Untersuchungen benötigte Materialien

##### Untersuchungsmaterial:

24 h-Sammelurin

Blut

##### Materialien und Hilfsmittel:

2 Litermaße (à 3000 ml)

2 Kunststoffweithalsflaschen (à 2000 ml)

3 Kunststoffweithalsflaschen (à 200 ml)

3 Meßkolben (à 250 ml)

3 Pipetten (à 100 ml)

2 Meßbecher (à 500 ml)

4 Meßbecher (à 150 ml)

2 Meßbecher (à 250 ml)

6 Magnetührstäbchen

Parafilm

Combur <sup>9</sup>Test<sup>®</sup> (Dip Stick),(Boehringer,  
*Mannheim*)

Thermometer

Dichtespindel

##### Geräte:

Lasersonde, Photometer, calciumionenselektive Meßelektrode, Titrierautomat (Titrimo), Wasserbad

## 4.2 Methoden

### 4.2.1 Rahmenbedingungen und Maßgaben

Die Studie wurde während der Monate Januar, Februar und März durchgeführt, um potentielle saisonale Variationen der Zusammensetzung des Urins möglichst zu vermeiden. Da sämtliche Studienteilnehmer im Großraum Bonn lebten, waren alle derselben meteorologischen Situation ausgesetzt. Eine Übersicht wichtiger meteorologischer Basisdaten der während des Beprobungszeitraums vorgeherrschten Wetterlage („typische Bonner Wetterlage“) kann der Abbildung 25 „Klimadaten für den Untersuchungszeitraum“ (Anhang 11.4) entnommen werden. Es wurden keinerlei diätetische Maßnahmen vorausgesetzt oder für den Zeitraum der Untersuchungen anberaumt.

Die Tage, an denen die Probenerhebung stattfand, wurden zufällig ausgewählt, um sicherzugehen, dass die erhaltenen Urinproben die alltägliche Lebenssituation eines jeden beprobten Familienmitgliedes darstellten mit Hinblick sowohl auf die Ernährung als auch auf die körperlichen Aktivitäten.

Die Probanden verblieben für den Zeitraum der Untersuchungen in ihrem häuslichen Umfeld und sammelten im Verlauf ihres Alltages 24 h-Urin in zwei 12 h-Fractionen (07:00 h - 19:00 h und 19:00 h - 07:00 h).

Die zu untersuchenden Personen wurden auch deshalb mehrfach (2 – 5 Mal) beprobt, um eventuelle ernährungsbedingte Schwankungen der Urinzusammensetzung berücksichtigen zu können [22].

## 4.2.2 Experimentelles Vorgehen

### 4.2.2.1 Probensammlung

Zur Durchführung der Analytik, insbesondere zur Bestimmung des BONN-Risk-Indexes, [BRI], wurde der im Zeitraum von 24 h ausgeschiedene Urin in Kunststoffweithalsflaschen gesammelt. Es wurde keine Verdünnung, keine Konservierung und keine pH-Regulierung der Urinproben vorgenommen, so dass alle Untersuchungen an unbehandeltem Urin durchgeführt wurden.

Da sich die getrennte Gewinnung von zwei 12 h - Urinen generell bewährt hat, wurde auch im Rahmen dieser Untersuchungen der 24 h - Urin in zwei Fraktionen gesammelt.

Die erste Fraktion (Fraktion 1 = Tagesfraktion) umfasste den von 07:00 h - 19:00 h gesammelten Urin und vermittelte somit einen Eindruck über das Tagesrisiko, die zweite Fraktion (Fraktion 2 = Nachtfraktion) umfasste den von 19:00 h - 07:00 h gesammelten Urin und veranschaulichte somit das Nachtrisiko.

Für den Zeitraum der Sammlung wurden die Urinproben zur kontinuierlichen Kühlung in einem Kühlschrank bei einer Temperatur von + 4°C gelagert.

Umgehend nach Beprobungsende wurde der 24 h - Sammelurin analysiert.

### 4.2.2.2 Präparation

Zuerst erfolgte die Messung der Volumina beider Probenfraktionen.

Dann wurden zur Bestimmung der freien Calciumionenkonzentration des Urins,  $[Ca^{2+}]$ , von jeder Fraktion 80 ml, sowie zur Durchführung der Kristallisationsexperimente von jeder Fraktion 200 ml abpipettiert, in mit vorher entsprechender Probenkennung versehene Bechergläser gefüllt, mit je einem Magnetührstäbchen versehen und mit Parafilm verschlossen bei einer Temperatur von + 4°C im Kühlschrank bis zu ihrer jeweiligen Untersuchung aufbewahrt.

Der verbleibende Urin beider Fraktionen wurde sowohl zur weiteren biochemischen Analytik verwendet als auch einem Combur<sup>9</sup>Test<sup>®</sup>, (Dip-Stik), unterzogen (siehe Kap. 4.2.2.3.3 Biochemische Analysen des Urins und Combur<sup>9</sup>Test<sup>®</sup>-Werte).

### 4.2.2.3 Durchführung

#### 4.2.2.3.1. Messung der freien Calciumionenkonzentration $[Ca^{2+}]$

Vor der Messung der freien Calciumionenkonzentration des Urins,  $[Ca^{2+}]$ , mittels einer konventionellen calciumionenselektiven Elektrode (*Metrohm*, Herisau, Schweiz, relative Genauigkeit  $\pm 3 \%$ ), wurde diese anhand von sechs Standardlösungen geeicht. Währenddessen wurde die zu untersuchende Probe im Wasserbad auf eine Temperatur von  $+37^\circ C$  erwärmt. Im Anschluß wurde die Messung der freien Calciumionenkonzentration,  $[Ca^{2+}]$ , vorgenommen.

#### 4.2.2.3.2 Kristallisationsexperiment

Die Kristallisationsexperimente wurden gemäß [39, 36] durchgeführt und dienten der Bestimmung des BONN-Risk-Index (BRI) :

Jeweils eine der vorbereiteten Proben à 200 ml (siehe Kapitel 4.2.2.2)

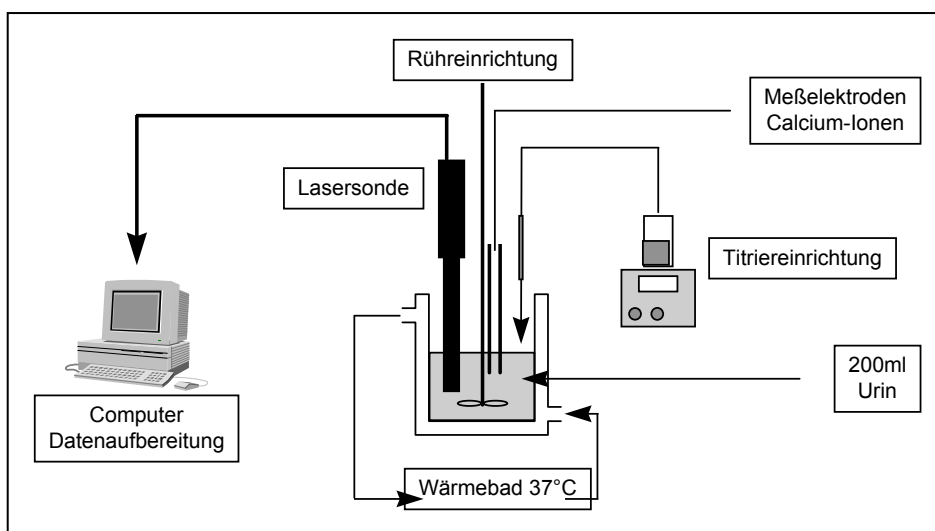
wurde im Wasserbad auf eine Temperatur von  $+37^\circ C$  erwärmt und dann so unter einen Titrierautomaten (Titrino) platziert, dass sich die Titrierspitze unmittelbar über der Probenoberfläche befand. Nun wurde zu dem mittels Magnetrührstäbchen kontinuierlich gut gerührten 200 - ml - Aliquot des bis dahin unverändert gebliebenen Sammelurins in 0,25 -ml-Schritten solange 0,02 -molare Ammoniumoxalatlösung mit einer Geschwindigkeit von 1,5 ml/min hinzutitriert, bis die Kristallisation von Calciumoxalat einsetzte. Der Kristallisationsbeginn kann sicher und einfach mit einer In-line Lasersonde (*Meßtechnik Schwarz GmbH, Düsseldorf, Deutschland*) (bei  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ) oder einem Eintauchphotometer (bei  $\lambda = 620 \text{ nm}$ ) bestimmt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Kristallisationsbeginn mit beiden Verfahren ermittelt.

Im Moment der einsetzenden Kristallisation ändern sich die Anzahl und die Größe der im Urin suspendierten Partikel dramatisch; die Lichtdurchlässigkeit bzw. Transmissivität der Probe sinkt dabei deutlich. Hierdurch ist der Moment der einsetzenden Kristallbildung eindeutig zu detektieren. Die Meßprinzipien beider Geräte werden ausführlich beschrieben in [37].

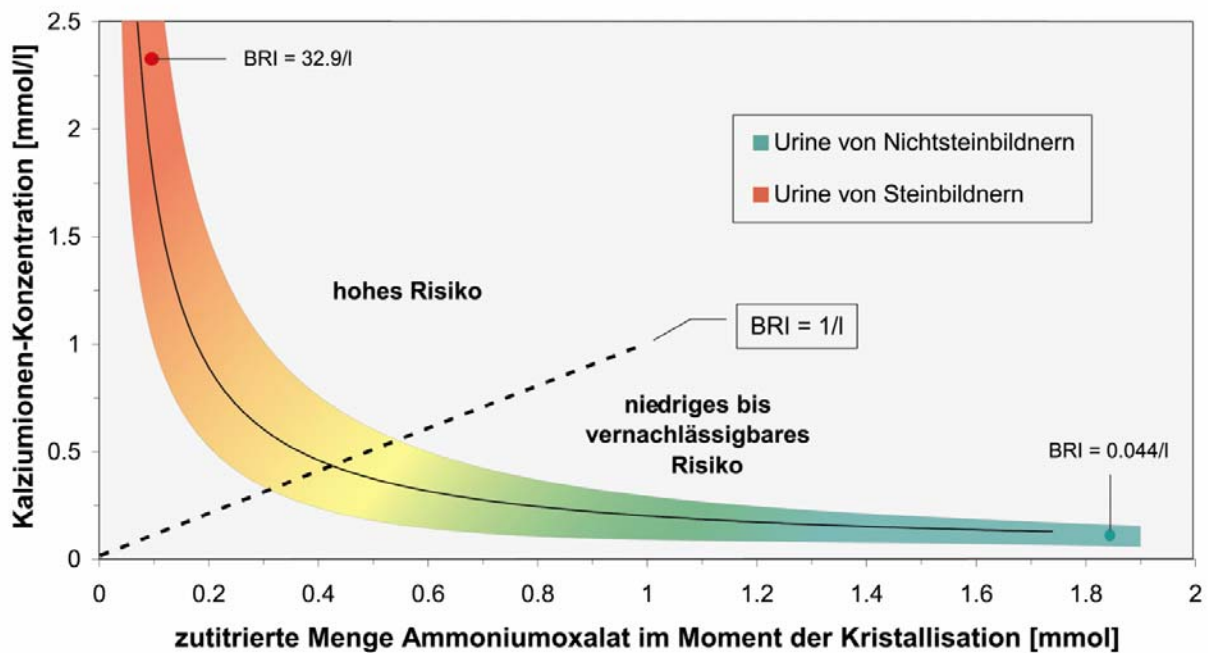
Aus dem Quotient der Calciumionenkonzentration (siehe Kapitel 4.2.2.3.1) und der (bis zum Moment der einsetzenden Calciumoxalatkristallisation der Probe) zugeführten Ammoniumoxalatlmenge, ( $\text{Ox}^{2-}$ ), gerechnet in mmol, wird der BONN-Risk-Index berechnet. Es gilt:  $\text{BRI} = [\text{Ca}^{2+}]/(\text{Ox}^{2-})$ . Die Einheit des BONN-Risk-Indexes ist [pro Liter] [39].



**Abbildung 4:** Arbeitsplatz mit Photometer, In-line Lasersonde (*Meßtechnik Schwarz GmbH, Düsseldorf, Deutschland*), Titrierautomat (Titrino), calciumselektiver Elektrode (*Metrohm, Herisau, Schweiz*).



**Abbildung 5:** Schematische Darstellung des Arbeitsplatzes.



**Abbildung 6:** Diagramm zur Charakterisierung des BONN-Risk-Index (nach Dr. N. Laube, Experimentelle Urologie Bonn).

Abbildung 6 veranschaulicht die Verteilung der BRI-Ergebnisse von 242 Urinproben von CaOx-Steinpatienten und 157 Urinproben von gesunden nichtsteinbildenden Personen. Man erkennt, dass ein BRI von = 1 / 1 am besten die Proben von Steinbildnern von den Proben der Personen ohne Steinleiden trennt (nach Dr. N. Laube, Experimentelle Urologie Bonn).

Urinproben mit einem  $BRI > 1 / 1$  werden mit anwachsendem BRI als zunehmend risikobehaftet betrachtet; demgegenüber werden Proben mit einem  $BRI < 1 / 1$  als wenig risikobehaftet eingestuft. Sind die BRI-Werte sehr niedrig, kann ein Kristallisationsrisiko nahezu ausgeschlossen werden. Deutlich ist die statistische Trennung (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) beider Gruppen zu erkennen. Die aktuelle Gleichung der Best-fit-Hyperbel zur Beschreibung des Zusammenhanges zwischen den Parametern  $[Ca^{2+}]$  und  $(Ox^{2-})$  lautet  $[Ca^{2+}] = 0,1654 / (Ox^{2-}) + 0,0372$  ( $r = 0,87$ ) (nach Dr. N. Laube, Experimentelle Urologie Bonn).

#### 4.2.2.3.3 Biochemische Analysen des Urins und Combur<sup>2</sup>Test<sup>®</sup>-Werte

Jede Urinprobe wurde einer genormten biochemischen Analyse unterzogen. Die in Tabelle 4 aufgeführten Parameter wurden gemessen.

Von diesen Daten ausgehend wurden die 24 h-Ausscheidungsraten bestimmt und mittels des Programmes EQUIL [16, 66, 43] die relative Übersättigung an Calciumoxalat,  $RS_{CaOx}$ , berechnet.

In diese Berechnungen gehen ein:

$[Ca^{2+}]$ -Konzentration und  $[Ox^{2-}]$ -Konzentration im Urin.

**Tabelle 1:** Übersicht der im Urin untersuchten Parameter mit entsprechenden Referenzbereichen bzw. Normbereichen für 24 h (entnommen dem Untersuchungsbogen „Bonner Nachsorgeprogramm für Harnsteinpatienten, Harnwerte I“, Experimentelle Urologie Bonn)

Parameter	Referenzbereich		Einheit
	Minimum	Maximum	
Volumen	1,5	2	l/24 h
pH	5,6	6,8	—
spez. Gewicht	1,005	1,030	g/cm <sup>3</sup>
Natrium	150	220	mmol/d
Kalium	30	90	mmol/d
Calcium	0,25	7,50	mmol/d
Magnesium	1,5	7,5	mmol/d
Ammonium	30	50	mmol/d
Chlorid	170	210	mmol/d
Phosphat	16	48	mmol/d
Sulfat	15	25	mmol/d
Kreatinin (w)	7	13	mmol/d
Kreatinin (m)	13	18	mmol/d
Harnsäure	2,38	4,46	mmol/d
Oxalsäure	-	0,5	mmol/d
Citrat	2,08	4,16	mmol/d



Außerdem wurde jede Urinprobe mittels eines Combur<sup>9</sup>Teststreifens<sup>®</sup> (Dip Stik), (*Boehringer, Mannheim*) hinsichtlich

- Leukozyten
- Nitrit
- Eiweiß
- Glucose
- Keton
- Urobilinogen
- Bilirubin
- Blut
- Hämoglobin

untersucht.

### 4.3 Biochemische Analyse der Blutproben

Im Rahmen der Untersuchungen wurde von jeder Testperson mindestens eine unter Standardbedingungen erhaltene Blutprobe mit Hinblick auf die hormonelle Situation, die Verteilung der Serumproteine sowie die klinische Chemie des Blutes analysiert.

#### 1. Hormone

**Tabelle 2:** Übersicht über die im Rahmen der Untersuchungen im Blut bestimmten Hormone mit entsprechenden Referenzbereichen (entsprechend den vom Zentrallabor des Institutes für Klinische Biochemie der Universität Bonn verwendeten Werten)

Hormon	Referenzbereich		Einheit
	Minimum	Maximum	
Aldosteron	10	310	pg/ml
Parathormon	10	65	pg/ml
1,25-Dihydroxy-Vitamin D3	18	62	pg/ml
25-Hydroxy-Vitamin D3	9,2	45,2	ng/ml

## 2. Serumprotein-Elektrophorese

**Tabelle 3:** Übersicht über die im Rahmen der Untersuchungen ermittelten Serumproteine mit entsprechenden Referenzbereichen (entsprechend den vom Zentrallabor des Institutes für Klinische Biochemie der Universität Bonn verwendeten Werten)

Serumproteine	Referenzbereich		Einheit
	Minimum	Maximum	
Gesamteiweiß	60	80	g/l
Albumin	39	46	g/l
$\alpha_1$ – Globulin	1	2	g/l
$\alpha_2$ – Globulin	5	7	g/l
$\beta$ – Globulin	5	8	g/l
$\gamma$ – Globulin	6	10	g/l

## 3. Klinische Chemie des Blutes

**Tabelle 4:** Übersicht der im Rahmen der Untersuchungen bestimmten Werte der klinischen Chemie des Blutes mit entsprechenden Referenzbereichen (entsprechend den vom Zentrallabor des Institutes für Klinische Biochemie der Universität Bonn verwendeten Werten)

Parameter	Referenzbereich		Einheit
	Minimum	Maximum	
Triglyceride	-	200	mg/dl
Cholesterin	-	220	mg/dl
HDL-Cholesterin			mg/dl
LDL-Cholesterin	-	150	mg/dl
Calcium	2,1	2,6	mmol/l
Magnesium	0,77	1,03	mmol/l
Kreatinin	0,5	1,4	mg/dl
Harnstoff	11	54	mg/dl
$\beta_2$ – Mikroglobulin	0,7	2,4	mg/l
Osteocalcin	3	13,5	ng/ml

#### 4.4 Testpersonen

Zum Nachweis der vermuteten genetisch bedingten Prädisposition an Urolithiasis zu erkranken bzw. eines erblich bedingten erhöhten Risikos für die Ausbildung eines Calcium-Oxalat-Harnsteinleidens war es erforderlich, die Untersuchungen an einem Personenkreis durchzuführen, der die dafür hinreichenden Voraussetzungen erfüllte.

Es wurde eine Familie gesucht, die bereit war, sich den notwendigen Untersuchungen zu unterziehen und die mindestens zwei Generationen repräsentierte. Außerdem war es notwendig, dass sich innerhalb dieses Personenkreises mindestens ein Familienmitglied befand, welches im Laufe seines Lebens mindestens einmal unter einer nachgewiesenen Calcium-Oxalat-Harnsteinbildung zu leiden hatte. Gleichmaßen durfte allerdings auch mindestens ein Familienmitglied Zeit seines Lebens keinerlei Erkrankung bezüglich eines Calcium-Oxalat-Harnsteinleidens aufgewiesen haben. Eine weitere Voraussetzung war, dass keine der Testpersonen unter einer Stoffwechselerkrankung litt oder anderweitige (akute) Erkrankungen aufwies, die die Untersuchungen hätten beeinflussen können. Bezüglich der Ernährung sollte keine der Testpersonen ein irgendgeartetes diätetisches Essverhalten aufweisen (wie z.B.: vegetarische oder glutenfreie Ernährung) oder Nahrungsergänzungspräparate zu sich nehmen. Alle Familienmitglieder sollten somit ein vergleichbares und möglichst unauffälliges Ernährungsprofil aufweisen.

Es wurde eine Familie, bestehend aus sieben Personen und drei Generationen, gefunden, die in allen Punkten den erwünschten Maßgaben entsprach.

Günstig für eine vergleichende Betrachtung war, dass die untersuchten Mitglieder der Familie nicht nur am selben Wohnort ansässig und somit den gleichen klimatischen Einflüssen ausgesetzt waren, sondern auch die Nahrungsaufnahme aus einem gemeinsamen „Nahrungspool“ generierten. Bei keinem der untersuchten Familienmitglieder bestanden Besonderheiten hinsichtlich der Ernährung. So gab es etwa in der Testgruppe keine Vegetarier, und es wurden keine Nahrungsergänzungspräparate eingenommen.

Zur Kontrolle wurden an jedem Beprobungstag Ernährungsprotokolle von der jeweils beprobten Person angefertigt.

Weiter erwies sich die Tatsache, dass sogar zwei Familienmitglieder aus zwei aufeinanderfolgenden Generationen an einem Calcium-Oxalat-Harnsteinleiden erkrankt waren, wobei sie zwei bzw. eine Harnsteinepisode erlebt hatten, als äußerst begünstigend.

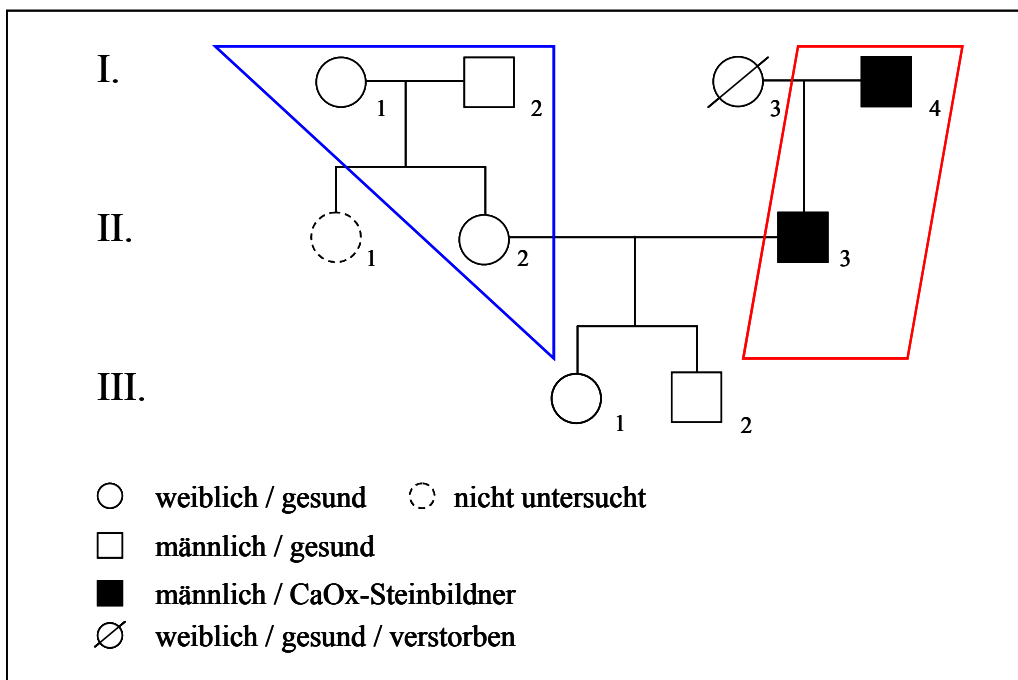
Die übrigen Mitglieder der Familie wiesen bis zum Zeitpunkt der Untersuchungen keine Erkrankung als auch keinerlei Symptome hinsichtlich eines Harnsteinleidens auf. Auch bestand zu keinem Zeitpunkt und bei keinem Mitglied der untersuchten Familie eine andere, die Harnsteinbildung möglicherweise begünstigende Erkrankung des Urogenitalsystems. Ferner wies keines der Familienmitglieder eine angeborene oder erworbene Anomalie im Bereich der Nieren, der Harnleiter, der Blase, der Urethra oder des Genitales auf.

Die Abbildung 7 illustriert die familiären Beziehungen, den individuellen Status einer Person bezüglich Urolithiasis, und sie veranschaulicht das Identifikationsschema durch eine Kombination von römischen Ziffern (Generation) und arabischen Zahlen (Person).

Sowohl die Person II.2, II.3, III.1 und III.2 auf der einen Seite wie auch die Personen I.1, I.2 und I.4 auf der anderen Seite lebten während des Untersuchungszeitraumes in einem gemeinsamen Haushalt.

Person II.1 stand für diese Studie nicht zur Verfügung.

Bisher waren jedoch keinerlei Steinerkrankungen oder Erkrankungen der ableitenden Harnwege bei Person II.1 bekannt.



**Abbildung 7:** Stammbaum der untersuchten Familie unter dem Aspekt der hereditären Urolithiasis. Die Personen können über die römischen Zahlen (Generation) und eine zugehörige arabische Zahl identifiziert werden. Im Folgenden werden die Personen in der rechten Box als „väterliche Linie“, die in der linken blauen Box als „mütterliche Linie“ zusammengefaßt [38].

Die an den Untersuchungen beteiligten Personen wurden sowohl allgemein über das Ziel und den Ablauf der durchzuführenden Untersuchungen als auch die damit verbundenen Verhaltensmaßregeln im besonderen informiert und erklärten sich mit deren Einhaltung einverstanden.

Ferner wurden die Testpersonen instruiert, sich an den Beprobungstagen wie gewohnt zu ernähren.

#### 4.4.1 Zu den einzelnen Familienmitgliedern

Die im Rahmen dieser Studie untersuchte Familie besteht aus drei Generationen. Großvater väterlicherseits sowie Großvater und Großmutter mütterlicherseits repräsentieren die I. Generation. Mutter und Vater repräsentieren die II. Generation. Tochter und Sohn repräsentieren die III. Generation, (siehe Abb. 7: Familienstammbaum unter Aspekten hereditärer Urolithiasis).

1. Person I.1 befand sich zum Zeitpunkt der Untersuchungen bereits im fortgeschrittenen Alter von 82 Jahren (Tab. 7). Ihre körperlichen Aktivitäten waren eingeschränkt. Der Tagesablauf war regelhaft. Die Mahlzeiten wurden jeweils zu den gleichen Uhrzeiten und regelmäßig eingenommen. Der BMI betrug während des gesamten Untersuchungszeitraumes  $22,4 \text{ kg/m}^2$  (= normalgewichtig), (Tab. 6). Während des gesamten Beprobungszeitraumes traten keinerlei akute oder zuvor nicht bekannte Erkrankungen auf. Es bestand eine Dauermedikation mit Dytide H<sup>®</sup> (Triamteren 50 mg, Hydrochlorothiazid 25 mg), 1-0-0; Isoket ret.<sup>®</sup> 120, 1-0-0; Lipobay<sup>®</sup>, 0-1-0; Molihexal<sup>®</sup>, 0-0-1; Marcumar<sup>®</sup> (Phenprocoumon), je nach INR.
2. Person I.2 befand sich zum Zeitpunkt der Untersuchungen bereits im fortgeschrittenen Alter von 85 Jahren (Tab. 7). Ihre körperlichen Aktivitäten waren eingeschränkt. Der Tagesablauf war regelhaft. Die Mahlzeiten wurden jeweils zu den gleichen Uhrzeiten und regelmäßig eingenommen. Der BMI betrug während des gesamten Untersuchungszeitraumes  $23,2 \text{ kg/m}^2$  (= normalgewichtig), (Tab. 6). Während des gesamten Beprobungszeitraumes traten keinerlei akute oder zuvor nicht bekannte Erkrankungen auf. Es bestand eine Dauermedikation mit Isoket<sup>®</sup> 20, 1-0-0, Asasantin<sup>®</sup> (Dipyridamol + Acetylsalicylsäure), 0-1-0.
3. Person I.3 verstorben. Zeitlebens keine Steinerkrankungen bekannt.
4. Person I.4 befand sich zum Zeitpunkt der Untersuchungen bereits im fortgeschrittenen Alter von 92 Jahren (Tab. 7). Ihre körperlichen Aktivitäten waren eingeschränkt. Der Tagesablauf war regelhaft. Die Mahlzeiten wurden jeweils zu den gleichen Uhrzeiten und regelmäßig eingenommen. Der BMI betrug während des gesamten Untersuchungszeitraumes  $29,4 \text{ kg/m}^2$  (= übergewichtig), (Tab. 6). Zweimalige Steinepisoden in der Vergangenheit. Es bestand eine Dauermedikation mit Furosemid<sup>®</sup> 40, 1-0-0; ASS 100, 0-1-0; Movicol<sup>®</sup>, 1 Beutel, alle 2 Tage; Isosorbidmononitrat<sup>®</sup> 20, 1-0-0.
5. Person II.1 stand für die Untersuchungen nicht zur Verfügung.  
Bisher waren keinerlei Steinerkrankungen oder Erkrankungen der ableitenden Harnwege seitens der Person II.1 bekannt.

6. Person II.2 war zum Zeitpunkt der Untersuchungen 55 Jahre alt (Tab. 7) und ging einer geregelten, täglichen Tätigkeit nach. Körperliche Aktivität war regelmäßiger Bestandteil des Tagesablaufes, der regelhaft verlief. Die Mahlzeiten wurden jeweils zu den gleichen Uhrzeiten und regelmäßig eingenommen. Der BMI betrug während des gesamten Untersuchungszeitraumes einen Wert von  $30 \text{ kg/m}^2$  (= Adipositas Grad I), (Tab. 6). Während des gesamten Beprobungszeitraumes traten keinerlei akute oder zuvor nicht bekannte Erkrankungen auf. Es bestand eine Dauermedikation mit L-Thyroxin<sup>®</sup> 150, 1-0-0, Marcumar<sup>®</sup> (Phenprocoumon), je nach INR.
7. Person II.3 war zum Zeitpunkt der Untersuchungen 64 Jahre alt (Tab. 7) und ging einer geregelten, täglichen Tätigkeit nach. Körperliche Aktivität war regelmäßiger Bestandteil des Tagesablaufes, der regelhaft verlief. Die Mahlzeiten wurden jeweils zu den gleichen Uhrzeiten und regelmäßig eingenommen. Der BMI betrug während des gesamten Untersuchungszeitraumes  $26,4 \text{ kg/m}^2$  (= übergewichtig), (Tab. 6). Einmalige Steinepisode in der Vergangenheit. Während des gesamten Beprobungszeitraumes traten keinerlei akute oder zuvor nicht bekannte Erkrankungen auf. Es bestand eine Dauermedikation mit Prostagutt forte<sup>®</sup> (Sägepalmenfrüchteextrakt + Brennesselwurzelextrakt), 1-0-1, Concor<sup>®</sup> 2,5mg, 1-0-0, Miniasal<sup>®</sup>, 1-0-0.
8. Person III.1 war zum Zeitpunkt der Untersuchungen 26 Jahre alt (Tab. 7) und ging einer geregelten, täglichen Tätigkeit nach. Körperliche Aktivität war regelmäßiger Bestandteil des Tagesablaufes, der regelhaft verlief. Die Mahlzeiten wurden jeweils zu den gleichen Uhrzeiten und regelmäßig eingenommen. Der BMI betrug während des gesamten Untersuchungszeitraumes einen Wert von  $22,4 \text{ kg/m}^2$  (= normalgewichtig), (Tab. 6). Während des gesamten Beprobungszeitraumes traten keinerlei akute oder zuvor nicht bekannte Erkrankungen auf. Es bestand keinerlei Medikation.
9. Person III.2 war zum Zeitpunkt der Untersuchungen 22 Jahre alt (Tab. 7) und ging einer geregelten, täglichen Tätigkeit nach. Körperliche Aktivität war regelmäßiger Bestandteil des Tagesablaufes, der regelhaft verlief. Die Mahlzeiten wurden jeweils zu den gleichen Uhrzeiten und regelmäßig eingenommen. Der BMI betrug während des gesamten Untersuchungszeitraumes  $22,4 \text{ kg/m}^2$  (= normalgewichtig), (Tab. 6). Während des gesamten Beprobungszeitraumes traten keinerlei akute oder zuvor nicht bekannte Erkrankungen auf. Es bestand keinerlei Medikation.



#### 4.4.2 Übersicht über die Medikationen und den BMI der einzelnen Familienmitglieder

**Tab. 5:** Individuelle Medikation der Probanden zum Zeitpunkt der Untersuchungen

Person	Medikation
I.1	Dytide H <sup>®</sup> (Triamteren 50 mg, Hydrochlorothiazid 25 mg), 1-0-0; Isoket ret. <sup>®</sup> 120, 1-0-0; Lipobay <sup>®</sup> , 0-1-0; Molihexal <sup>®</sup> , 0-0-1; Marcumar <sup>®</sup> (Phenprocoumon), je nach INR
I.2	Isoket <sup>®</sup> 20, 1-0-0, Asasantin <sup>®</sup> (Dipyridamol+Acetylsalicylsäure), 0-1-0
I.4	Furosemid <sup>®</sup> 40, 1-0-0; ASS <sup>®</sup> 100, 0-1-0; Movicol <sup>®</sup> , 1 Beutel, alle 2 Tage; Isosorbidmononitrat <sup>®</sup> 20, 1-0-0
II.2	L-Thyroxin <sup>®</sup> 150, 1-0-0, Marcumar <sup>®</sup> (Phenprocoumon), je nach INR
II.3	Prostagutt forte <sup>®</sup> (Sägepalmenfrüchteextrakt+Brennesselwurzelextrakt), 1-0-1, Concor <sup>®</sup> 2,5 mg, 1-0-0, Miniasal <sup>®</sup> , 1-0-0
III.1	keine Medikation
III.2	keine Medikation

**Tab. 6:** Klassifizierung des Body–Mass–Index = BMI (WHO-Report 1995 und 1998)

Klassifikation	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
Untergewicht	< 18,5
Normalgewicht	18,5 – 24,9
Übergewicht	25,0 – 29,9
Adipositas Grad I	30,0 – 34,9
Adipositas Grad II	35,0 – 39,9
extreme Adipositas Grad III	≥ 40,0

Tabelle 7 gibt eine Übersicht über Alter, Body-Mass-Index (BMI), Steinstatus und eingenommene Medikamente. Mit Hinblick auf die in den jeweiligen Beipackzetteln angegebenen Nebenwirkungen und Wechselwirkungen als auch nach Aussage der behandelnden

Mediziner konnte keine eindeutige Beziehung zwischen der verordneten Medikation und einer eventuellen Erhöhung des allgemeinen Steinbildungsrisikos festgestellt werden.

**Tabelle 7:** Übersicht über Alter, BMI und Medikationen der Studienteilnehmer. Status: H keine Steinbildung, P Steinbildung, BMI: Body-Mass-Index [ $\text{kg/m}^2$ ], Medikation (gelegentlich sowie auch regelmäßig während der letzten sechs Monate vor den Untersuchungen als auch zu deren Zeitpunkt eingenommene Medikamente): A Steinbezogene Medikamente, B Blutdruck, herzwirksame Medikamente, D Antikoagulation, E Diuretika, F Laxantien, G Hormone. Person I.3 verstorben (zeitlebens keinerlei Steinbildung) [38]

Person	Alter [Jahre]	Status	BMI	Medikation						
				A	B	C	D	E	F	G
I.1	82	H	22,9	—	+	+	+	+	—	—
I.2	85	H	23,2	—	+	+	—	—	—	—
I.4	92	P	29,4	—	+	+	+	+(a)	+(a)	—
II.2	55	H	30,0	—	—	—	+	—	—	+
II.3	64	P	26,4	+	+	+	+	—	—	—
III.1	26	H	22,4	—	—	—	—	—	—	—
III.2	22	H	22,4	—	—	—	—	—	—	—

<sup>(a)</sup>: akute Medikation. Details siehe Text.

#### 4.4.3 Steinbildner und stattgehabte Steinepisoden sowie Nicht-Steinbildner der untersuchten Familie

Person I.4 litt in der Vergangenheit zweimal unter Steinepisoden, Person II.3 litt einmalig unter einer Steinepisode. In allen diesen Fällen nahmen die Episoden den „klassischen Verlauf“ [20]: Die ersten Symptome bestanden in plötzlich auftretenden, krampfartigen, anfallsweisen Schmerzen im Bereich der Nierenlager. Der Schmerz hatte einen wandernden Charakter und strahlte im Verlauf von der Region des Harnleiters bis zur Harnblase und schließlich bis in den Genitalbereich aus. Begleitend kam es zu Hämaturie, Erbrechen und in einem der Fälle sogar zu einer schmerzbedingten Synkope.

In zwei Fällen kam es zu einem Steinabgang ohne operative Intervention im Rahmen eines stationären Aufenthaltes, in einem der Fälle musste der Harnstein mittels *Dormia*-Schlinge endoskopisch entfernt werden.

Die Personen I.1, I.2 und II.2 („mütterliche Linie“) als auch die Personen III.1 und III.2 (jüngste Generation) wiesen bisher noch keine derartige Erkrankung auf.

Mittels umfassender biochemischer Analyse von 24 h-Sammelurinen der sieben Familienmitglieder und Ermittlung des jeweiligen BONN-Risk-Index erwartet man eine Verifizierung des Harnsteinbildungsrisikos auf väterlicher Seite und hofft, eine eventuelle Prädisposition bei den Kindern ausschließen zu können.

#### **4.5 Statistische Methoden**

Die gewonnenen Analysenwerte wurden mit Hilfe des Computerprogramms Microsoft<sup>(R)</sup>-Excel graphisch dargestellt. Die statistischen Verteilungskenngrößen Mittelwert und Standardabweichung wurden unter Verwendung der programminternen Berechnungsroutinen ermittelt. Die Bestimmung der Regressionsgeradengleichung sowie des zugehörigen linearen Korrelationskoeffizienten wurden ebenfalls mit Microsoft<sup>(R)</sup>-Excel durchgeführt. Davon abweichende Berechnungsmethoden werden an geeigneter Stelle im Text ausführlich angegeben.

## 5. Ergebnisse

Alle untersuchten Personen waren in hohem Maße motiviert und wiesen über die gesamte Studie eine sehr hohe Compliance auf.

Mit den in Kapitel 4.2 beschriebenen Verfahren wurden insbesondere die  $[\text{Ca}^{2+}]$ -Konzentration und  $[\text{Ox}^{2-}]$ -Konzentration im Urin als auch die bis zur Ausfällung von CaOx-Kristallen nötige Zugabemenge von Ammoniumoxalat bestimmt. Diese Werte (Tab. 10) wurden zu folgenden vergleichenden Einzeldarstellungen genutzt:

Die Division des erhaltenen  $[\text{Ca}^{2+}]$ -Wertes durch die zugehörige Oxalatmenge führt zur Ermittlung des BRI-Wertes (Tab. 8). Mit Hilfe des Programmes EQUIL [16, 66, 43] wird aus der  $[\text{Ca}^{2+}]$ - und  $[\text{Ox}^{2-}]$ -Konzentration im Urin die relative Übersättigung an Calciumoxalat berechnet (Tab. 9).

Ein Auftrag dieser relativen Übersättigung gegen den BRI ist in Abbildung 10 dargestellt. Die Citrat- sowie Oxalsäureausscheidungen wurden in Abbildung 11 und Abbildung 12 gegen die ausgeschiedene Menge an  $[\text{Ca}^{2+}]$  aufgetragen.

Außerdem wurden die in den oben beschriebenen Darstellungen verwendeten sowie weitere Einzelwerte (Tab. 10) versuchsweise zum Nachweis eventueller Korrelationen anderen Parametern gegenübergestellt (Abb. 13 – 22).

Der Versuch des Nachweises einer Korrelation wurde zwischen nachfolgend genannten Parametern vorgenommen:

- $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{Ca}]_{\text{tot}}$  vs. pH [Abb. 13]
- $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{Ca}]_{\text{tot}}$  vs. Volumen [Abb. 14]
- BRI vs. Volumen [Abb. 15]
- pH vs. Volumen [Abb. 16]
- Citrat vs. Volumen [Abb. 17]
- Citrat vs. pH [Abb. 18]
- Citrat vs.  $[\text{Ca}^{2+}]$  [Abb. 19]
- Citrat vs. BRI [Abb. 20]
- $[\text{Ca}^{2+}]$  vs. pH [Abb. 21]
- $[\text{Ca}^{2+}]$  vs.  $[\text{Ca}]_{\text{tot}}$  [Abb. 22]

## **5.1 Nach dem BRI-Verfahren ermittelte Werte sowie Werte für die relative Übersättigung des Urins an CaOx**

Tabelle 8 zeigt die detaillierten Ergebnisse der BRI-Berechnungen.

**Tabelle 8:** Ergebnisse der BRI – Ermittlungen [pro Liter]. Identifikation der Probanden anhand Abbildung 7. Linke Spalte: Fraktion 1: (07:00 h – 19:00 h), rechte Spalte: Fraktion 2: (19:00 h – 07:00 h). M: gemittelter BRI-Wert, S: Risikostatus bezogen auf den BRI, V: mittleres durchschnittliches Urinvolumen [ml], Cr\*: mittlere durchschnittliche 24 h-Kreatininausscheidung [mmol/d], SD: Standardabweichung von Cr\* [mmol/d] [38]

Sam ple No.	STONE FORMERS				NON-STONE FORMERS									
	I.4		II.3		III.1		III.2		II.2		I.1		I.2	
1	0.12 <sup>a</sup>	1.01 <sup>a</sup>	1.79	1.63	1.07	2.41	0.10	0.04	0.61	0.17	0.33	0.22	0.65	0.74
2	2.10 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>	2.31	3.61	0.74	1.01	0.26	0.13	0.74	0.22	0.23	0.10	0.33	0.91
3	-	-	1.88	1.09	2.38	0.94	0.09	0.18	0.20	0.12	0.11	0.33	0.27	0.26
4	-	-	1.51	1.18	1.20	3.43	0.19	0.19	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	0.56	2.88	-	-	-	-	-	-	-	-
M	n.d.	n.d.	1.87	1.88	1.19	2.13	0.16	0.14	0.52	0.17	0.22	0.22	0.42	0.64
S	"at risk"				"without risk"									
V	808	901	1218	888	1141	650	1513	1316	1533	1450	653	425	655	473
Cr*	8.76		16.84		13.11		16.21		16.96		7.56		12.92	
SD	0.45		2.41		0.88		0.65		2.49		0.73		0.32	

<sup>a</sup> Patient wurde zeitweilig mit dem Diuretikum Furosemid zur Prävention der Ausbildung von Ödemen behandelt; die Probenergebnisse dieses Patienten wurden für die weiterführende Statistik vernachlässigt.

**Tabelle 9:** Ergebnisse der Berechnungen der relativen Übersättigung des Urins im Hinblick auf CaOx, errechnet mittels Programm EQUIL [16, 17, 43], Abkürzungen wie in Tabelle 8. Linke Spalte: Fraktion 1: (07:00 h – 19:00 h), rechte Spalte: Fraktion 2: (19:00 h – 07:00 h). n. d.: nicht bestimmt [38]

Sam ple No.	STONE FORMERS				NON-STONE FORMERS									
	I.4		II.3		III.1		III.2		II.2		I.1		I.2	
1	1.603 a	1.338 a	4.667	3.807	6.986	5.600	2.234	2.655	1.345	1.240	4.044	n.d.	2.652	3.195
2	2.519 a	2.200 a	3.387	3.765	2.953	3.166	2.212	1.180	2.315	1.750	2.477	1.755	3.720	3.499
3	-	-	n.d.	2.323	7.257	1.780	1.314	1.125	2.742	1.596	2.050	4.797	1.475	1.995
4	-	-	4.269	3.463	7.739	6.438	1.692	1.088	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	1.585	3.642	-	-	-	-	-	-	-	-
M	n.d.	n.d.	4.108	3.340	5.304	4.125	1.863	1.512	2.134	1.529	2.857	3.276	2.616	2.896

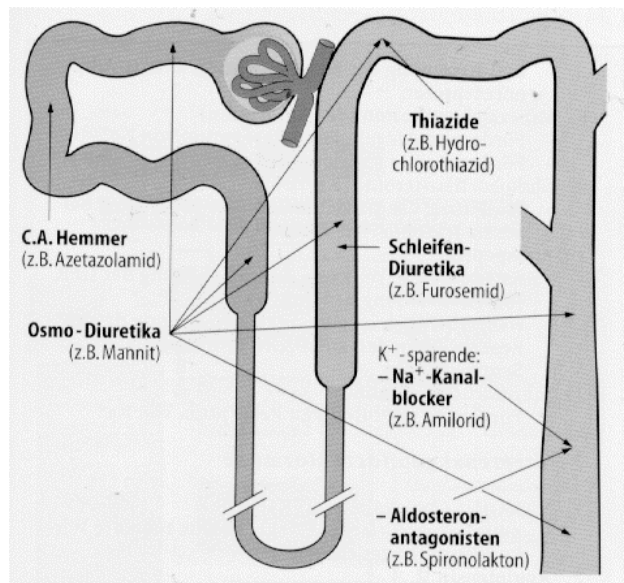
<sup>a</sup> Patient wurde zeitweilig mit dem Diuretikum Furosemid zur Prävention der Ausbildung von Ödemen behandelt; die Probenergebnisse dieses Patienten wurden für die weiterführende Statistik vernachlässigt.

Die 24 h-Kreatininausscheidungen,  $Cr^*$ , wurden berechnet, um einen Überblick über die metabolische Aktivität des jeweils untersuchten Organismus zu erhalten. Die intra-individuellen Schwankungen bezüglich der Kreatininausscheidung liegen, ausgenommen Generation II, unter 9,7 % mit einem Mittelwert von 5,6 % (II.2 = 14,7 %, II.3 = 14,2 %). Dieses Ergebnis ist bemerkenswert niedrig, berücksichtigt man die individuellen Lebensbedingungen, auf die es unter anderem zurückzuführen ist. Außerdem weist es ein hohes Maß an intra-individueller Standardisierung auf mit Hinblick sowohl auf die physische Aktivität der Probanden als auch auf ihr Ernährungsverhalten.

Tabelle 9 enthält die Ergebnisse der Berechnung der relativen Übersättigung des Urins an Calciumoxalat,  $RS_{CaOx}$ , die durch die Untersuchung der 12 h-Fractionen eines jeden Probanden erhalten wurden.

Die Analysendaten der Person I.4 werden angegeben, fließen aber nicht in die Übersichtsstatistiken ein, da sich der Gesundheitszustand der Person im Verlauf der Beprobungszeit ernsthaft verschlechterte und eine sofortige medizinische Behandlung, unter anderem mit dem Schleifendiuretikum Furosemid, erforderlich wurde. Dieses Medikament bewirkt sowohl eine Hemmung des  $Na^+ 2Cl^- K^+$ -Kotransportsystems im aufsteigenden Teil der Henle-Schleifen als auch eine Hemmung im Bereich der Macula densa. Somit führen Schleifendiuretika zu einer forcierten Diurese sowie zu einer vermehrten  $Ca^{2+}$ - und  $Mg^{2+}$ -Ausscheidung. Die so bedingte Zunahme des Flüssigkeitsstromes in den Sammelrohren führt zu einer gesteigerten Sekretion von  $K^+$  und  $H^+$ , wodurch es u. U. zu einer hypokalämischen Alkalose kommen kann [27].





**Abbildung 8:** Graphische Darstellung der Wirkorte verschiedener Diuretika (aus [27]). Person I.4 wurde im Verlauf der Studie mit Furosemid behandelt.

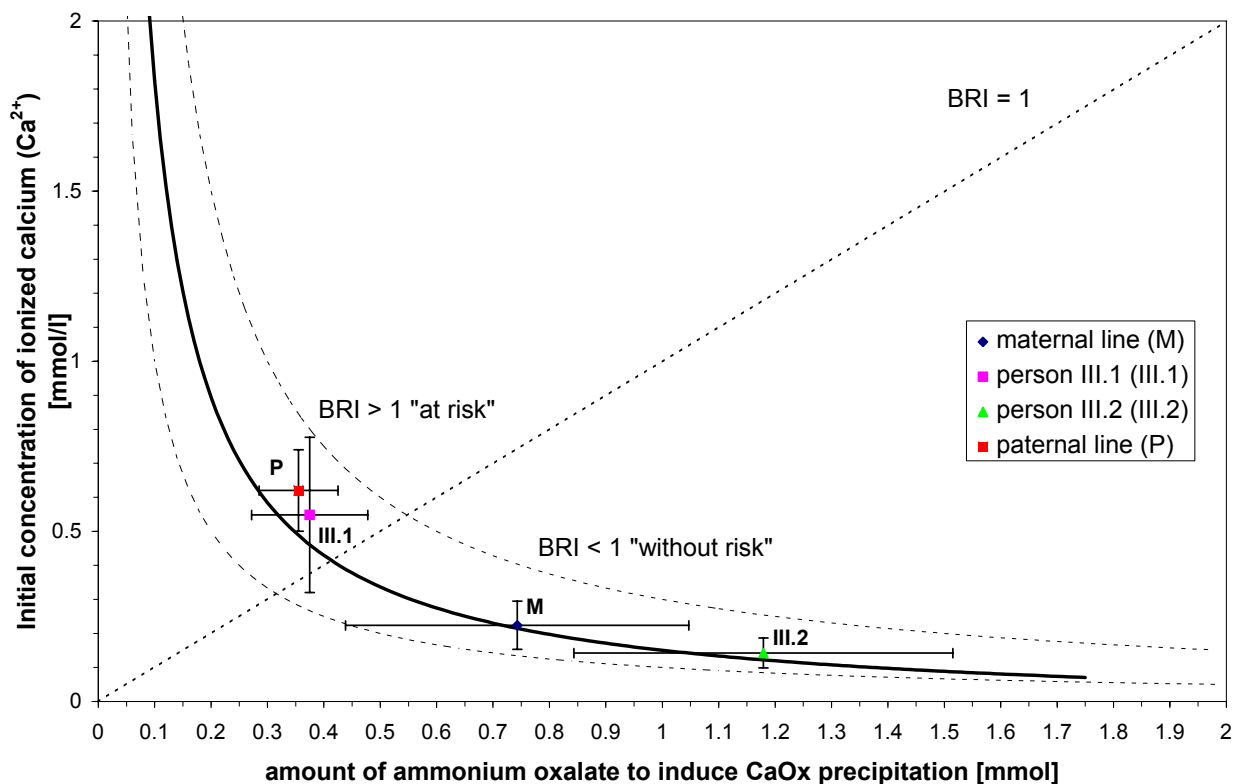
Bei Person I.4 betragen die Werte der gemittelten 24 h-BONN-Risk-Indices und der relativen Übersättigung an Calciumoxalat,  $RS_{CaOx}$ , seiner zwei Beprobungstage  $0,67 \text{ l}^{-1}$  und  $1,36 \text{ l}^{-1}$ , (Fraktion I), beziehungsweise  $1,44$  und  $2,40$ , (Fraktion II).

Aus den in Tabellen 8 und 9 mitgeteilten Ergebnissen von Person II.3 (und mit Einschränkungen von Person I.4) als der „väterlichen Linie“ einerseits und der Ergebnisse der Personen I.1, I.2 und II.2 als der „mütterlichen Linie“ andererseits kann die Existenz von zwei Risikogruppen mit unterschiedlichem Niveau abgeleitet werden: Während für die „väterliche Linie“ ein hohes Risiko für die Ausbildung von Calciumoxalat-Harnsteinen nachzuweisen war, konnte bei der „mütterlichen Linie“ kein Risiko nachgewiesen werden. Damit befinden sich die Ergebnisse in Übereinstimmung mit den eigenen praktischen Erfahrungen der Mitglieder der beiden Gruppen. Zusätzlich ergibt ein Vergleich der Daten der Generation III mit diesen Ergebnissen, dass ein Mitglied (III.1) ein deutlich erhöhtes Risiko für die Ausbildung von Calciumoxalat-Harnsteinen trägt, während Person III.2 offenbar kein Risiko hat.

Abbildung 9 enthält die Best-fit-Hyperbel von BRI-Proben, die auf der statistischen Auswertung von Urinproben von Steinbildnern und Nicht-Steinbildnern beruht. Dabei wurden die Oxalatkonzentrationen gegen die  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen im Urin, die bis zur Erreichung der Kristallisation hinzutitriert wurden, aufgetragen (siehe Kapitel 4.2.2.3.2).

Die Diagonale repräsentiert einen  $\text{BRI} = [\text{Ca}^{2+}]/([\text{Ox}^{2-}] = 1 \text{ l}^{-1}$  und trennt die Bereiche „at risk“ von „without risk“. Die oberhalb der Geraden liegenden Werte weisen einen  $\text{BRI} > 1$  auf, die darunter liegenden einen  $\text{BRI} < 1 \text{ l}^{-1}$ .

Im Weiteren veranschaulicht Abbildung 9 die Verteilung der  $(\text{Ox}^{2-})$ - und  $[\text{Ca}^{2+}]$ -Mittelwerte und die relativen Standardabweichungen sowohl für die väterliche als auch die mütterliche Linie (jeweils Mittelwerte aller Proben und Personen) wie auch für die nachfolgende Generation.



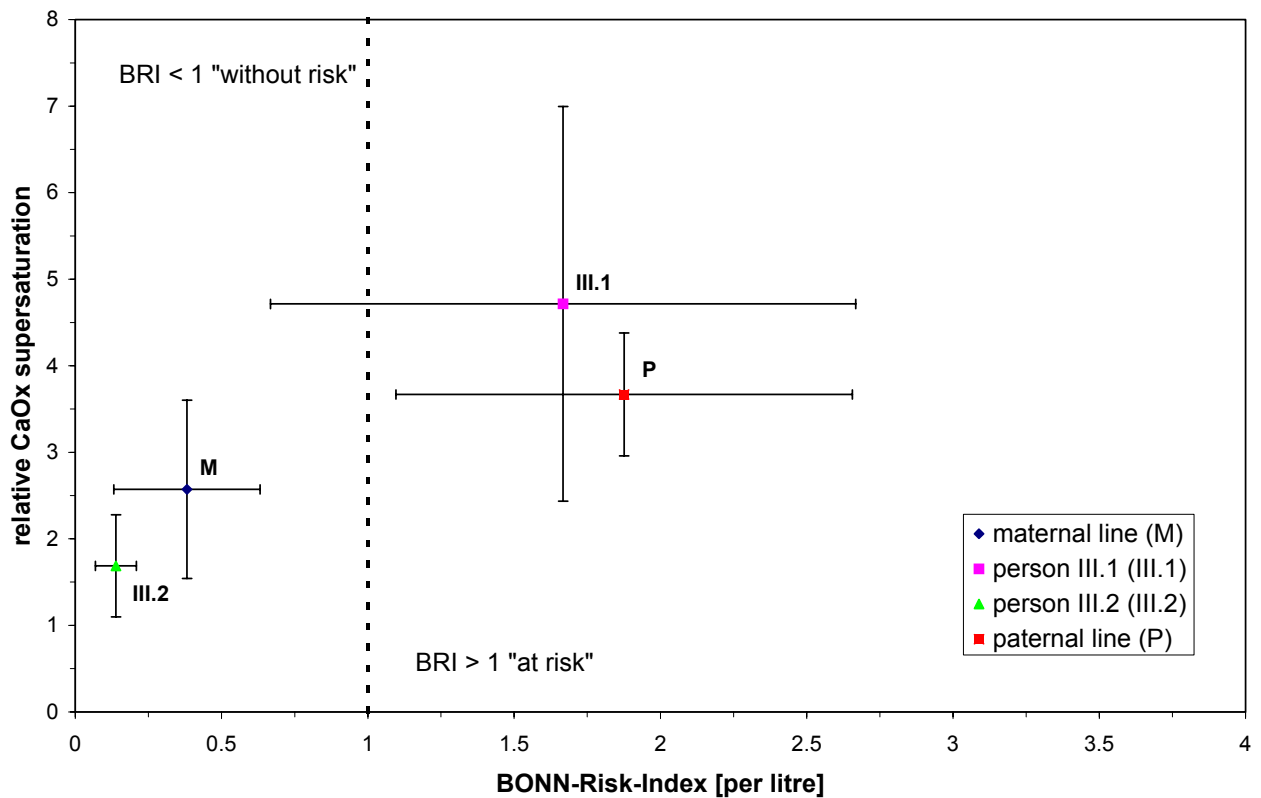
**Abbildung 9:** BRI-Diagramm zur Verteilung der  $(\text{Ox}^{2-})$ - und  $[\text{Ca}^{2+}]$ -Mittelwerte und der relativen Standardabweichungen der „väterlichen“ (P) und der „mütterlichen“ (M) Linie wie auch der beiden Personen aus Generation III [38].

Es fällt auf, dass die Werte der „mütterlichen Linie“ (Mittelwert  $0,38 \text{ l}^{-1}$ ) im nicht risikobehafteten Bereich von  $\text{BRI} < 1$  liegen. Demgegenüber liegen die Werte der „väterlichen Linie“ (Mittelwert  $1,88 \text{ l}^{-1}$ ) fast ausschließlich im risikobehafteten Bereich mit einem  $\text{BRI} > 1 \text{ l}^{-1}$ . Weiter zeigt sich, dass Person III.1 mit einem Mittelwert von  $1,66 \text{ l}^{-1}$  und einem Höchstwert von  $3,57 \text{ l}^{-1}$  der „väterlichen Linie“ nachfolgt und ihre ermittelten BRI-Werte mit die höchsten im familiären Rahmen gemessenen sind.

Person III.2 folgt mit einem Mittelwert von  $0,14 \text{ l}^{-1}$  der mütterlichen Linie nach. Hier finden sich die im familiären Rahmen gemessenen niedrigsten BRI-Werte.

Die Messwerte der Personen der 3. Generation differieren somit erheblich und veranschaulichen die unterschiedlichen Dispositionen der Personen III.1 und III.2 für die Ausbildung eines Calciumoxalat-Harnsteinleidens.

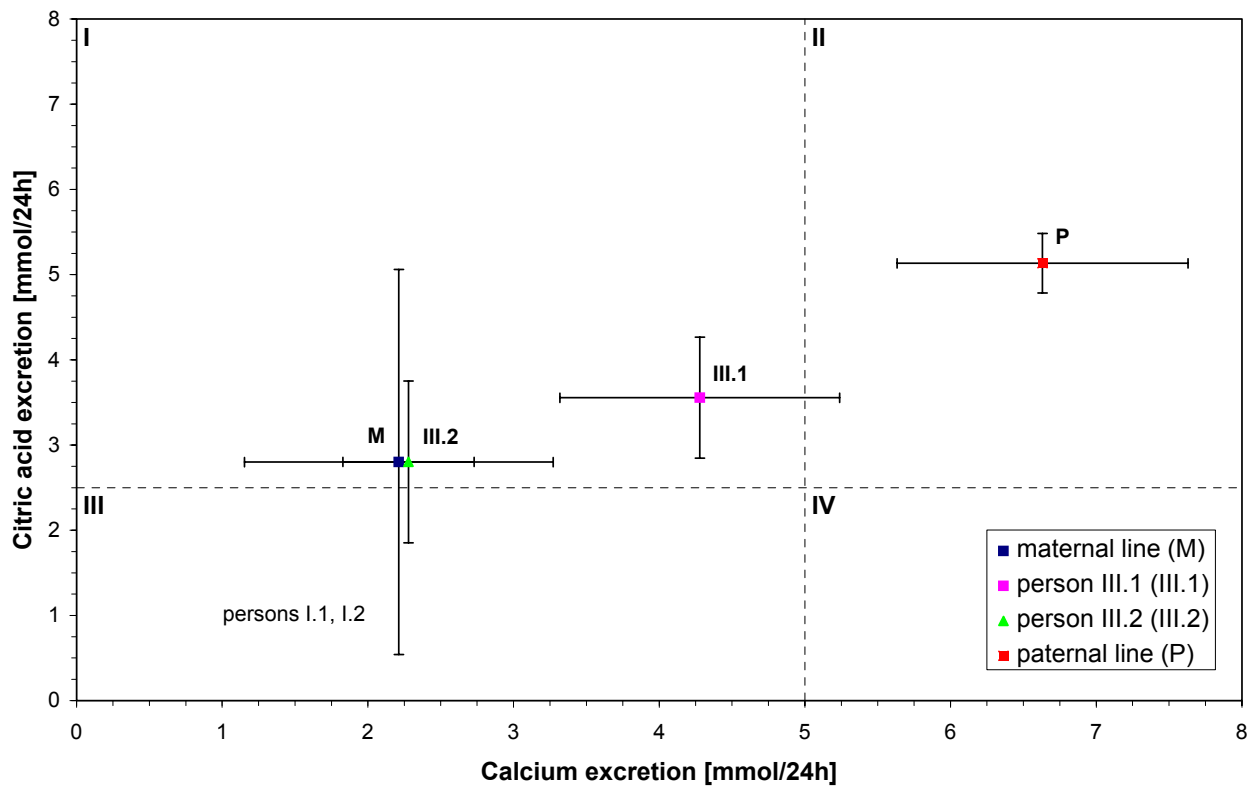
Ähnlich unterschiedliche Ergebnisse spiegeln die Werte für die relative Übersättigung des Urins mit Calciumoxalat,  $\text{RS}_{\text{CaOx}}$ , wie in Abbildung 10 dargestellt, wider. Außerdem demonstriert Abbildung 10 die bemerkenswert hohe und direkte Korrelation ( $r = 0,89$ ) zwischen BRI und  $\text{RS}_{\text{CaOx}}$ , und bestätigt die Ergebnisse von [39].



**Abbildung 10:** Graphische Darstellung der Mittelwerte des BONN-Risk-Index gegen die relative CaOx-Übersättigung mit Standardabweichungen [38].

In Abbildung 10 ist der BONN-Risk-Index gegen die relative CaOx-Übersättigung aufgetragen. Die mittleren BONN-Risk Werte der „väterlichen“ (P) als auch der „mütterlichen Linie“ (M) sind in jeweils einem Datenpunkt mit ihren zugehörigen Standardabweichungen dargestellt sowie die mittleren Werte der Personen III.1 und III.2. Auffallend ist hier die große Spanne der Standardabweichung bei dem Datenpunkt der Person III.1 sowohl für die relative Übersättigung als auch für den BRI. Demgegenüber weist der Datenpunkt der Person III.2 die geringste Spanne bezüglich beider Parameter auf.

## 5.2 Ausscheidungen von Citrat- und Oxalatmengen im Vergleich zur Calciumausscheidung



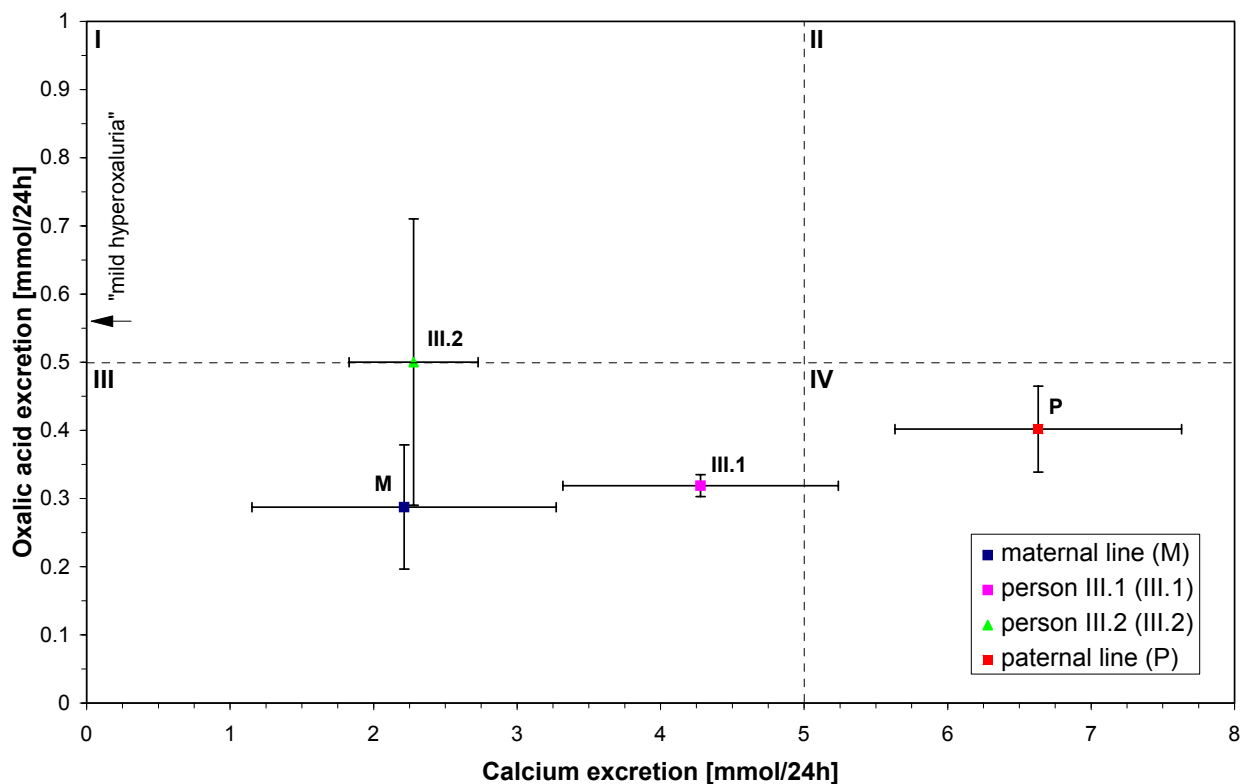
**Abbildung 11:** Graphische Darstellung der mittleren 24 h-Calciumausscheidung,  $Ca^*$ , gegen die mittlere 24 h-Citrat- und Oxalatmengen im Vergleich zur Calciumausscheidung,  $CA^*$ , sowie der zugehörigen Standardabweichungen, der „mütterlichen“ (M) und „väterlichen Linie“ (P) wie auch der beiden Personen aus Generation III [38]. Die 24 h-Werte wurden aus 12 h-Fraktionen errechnet. Durchbrochene Linien weisen auf Grenzwerte hin, deren Überschreitung eine Urolithiasis- Behandlung empfehlenswert erscheinen lassen. Felder I-IV: I beide Parameter im Normalbereich, II erhöhte Calciumausscheidung, aber ausreichende Citratausscheidung, III reduzierte Citratausscheidung, aber normale Calciumausscheidung, IV beide Parameter außerhalb des Normalbereiches.

Abbildung 11 illustriert die Unterschiede in der 24 h-Calciumausscheidung,  $Ca^*$ , und in der 24 h-Citrat- und Oxalatmengen im Vergleich zur Calciumausscheidung,  $CA^*$ , für die „mütterliche“ und „väterliche Linie“ (jeweils Mittelwerte) sowie die Werte der Mitglieder der jüngsten Generation (Personen III.1 und III.2).

Vier Felder (I – IV) können bei der Darstellung der Ausscheidungswerte unterschieden werden. Die Proben, die sich in Feld I widerspiegeln, weisen durchgehend normale Werte auf, wohingegen Proben, die in die Bereiche der Felder II oder III fallen, entweder durch ein erhöhtes

Ca\* (II) oder durch ein reduziertes CA\* (III) gekennzeichnet sind. Keine der Proben fand sich in Feld IV (Ca\* > 5 mmol/d, CA\* < 2,5 mmol/d) [36] wieder, für das im Falle einer Urolithiasis therapeutische Maßnahmen empfohlen werden.

Sechs Proben von Personen der väterlichen Linie und von Person III.1 sind gekennzeichnet durch ein Ca\* > 5 mmol/d. Davon überschreiten vier Proben auch das von Coe aufgestellte Kriterium für hypercalciurische Urine  $Ca^* \geq 0,3952 \times Cr^*$  (140 mg Ca\* pro Gramm des im Urin ausgeschiedenen Kreatinins) [11].



**Abbildung 12:** Graphische Darstellung der mittleren 24-stündigen Calciumausscheidungen im Urin gegen mittlere 24-stündige Oxalsäure-Ausscheidungen mit Standardabweichungen. 24 h-Werte wurden aus 12-stündigen Urinfraktionen berechnet. Durchbrochene Linien weisen auf Grenzwerte hin, deren Überschreitung eine Urolithiasis- Behandlung empfehlenswert erscheinen lassen. Proben, die  $0,56 \text{ mmol/d} \leq OA^* \leq 1 \text{ mmol/d}$  aufweisen, werden als „leicht hyperoxalurisch“ bezeichnet [38]. Felder I-IV: I erhöhte Oxalsäureausscheidung bei normaler Calciumausscheidung, II beide Parameter außerhalb des Normalbereiches, III beide Parameter im Normalbereich, IV normale Oxalsäureausscheidung bei erhöhter Calciumausscheidung.

Abbildung 12 veranschaulicht die Ausscheidung von  $\text{Ca}^*$  im Urin aufgetragen gegen die Werte von  $\text{CA}^*$ . Wie auch schon in Abbildung 11 können vier verschiedene Felder ähnlicher Bedeutung unterschieden werden; Urinproben, deren  $\text{OA}^*$ -Werte in den Bereich  $0,56 \text{ mmol/d} \leq \text{OA}^* \leq 1 \text{ mmol/d}$  fallen, werden als „mild hyperoxalurisch“ bezeichnet [62, 26]. Zwei Proben der Person III.2 überschritten den empfohlenen Wert von  $0,5 \text{ mmol/d}$  [54], eine dieser Proben wies eine „milde Hyperoxalurie“ auf. Keine der Proben fiel mit ihrem Ergebnis in den Bereich von Feld II.

### 5.3 Ausscheidung von Harnsäure im Urin

Gelegentlich wurden geringfügig erhöhte Werte (um die  $4 \text{ mmol/d}$ , im speziellen bei Person II.3) der Harnsäureausscheidungen (Tab. 10) bei Personen der II. und III. Generation beobachtet – ein Risikofaktor, der möglicherweise der  $\text{CaOx}$ -Ausfällung Vorschub leistet.

Harnsäurepartikel können nämlich an ihrer Oberfläche auf der einen Seite die Bildung von Nuclei für die  $\text{CaOx}$ -Kristallisation begünstigen und auf der anderen Seite gleichzeitig als „Adsorbentien“ für die Bindung hemmender Substanzen im Urin dienen [25, 57, 46]. Ob die zunehmende Harnsäureausscheidung durch ein spezielles Ernährungsverhalten seitens der Familie begründet ist, kann nicht eindeutig geklärt werden, obwohl während der Beprobungszeit von jedem Probanden Ernährungsprotokolle angefertigt wurden, die aber auch nach ihrer Auswertung keine klaren Hinweise hinsichtlich der erhöhten Harnsäureausscheidung lieferten.

### 5.4 Parameter in vergleichender Einzeldarstellung

Für die Charakterisierung des Harnsteingenerisikos einer Person gelten u. a. die Urinkonzentrationswerte von Calcium, ionisiertem Calcium und Citrat als wichtige Kenngrößen.

Zur Erfassung möglicher funktionaler Zusammenhänge zwischen diesen Parametern, sowie anderen, werden sie in geeigneten  $x$ - $y$ -Diagrammen gegenübergestellt (Abb. 13 – 22).

- $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{Ca}]_{\text{tot}}$  vs. pH [Abb. 13]
- $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{Ca}]_{\text{tot}}$  vs. Volumen [Abb. 14]

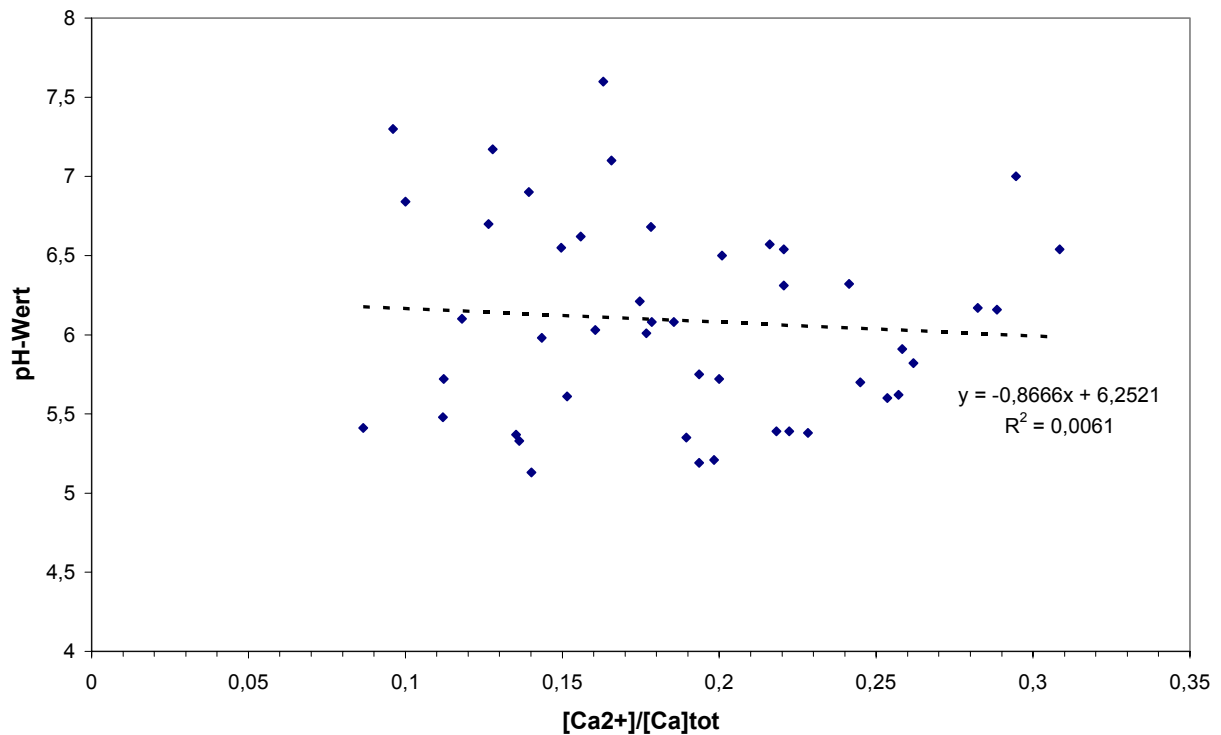
- BRI vs. Volumen [Abb. 15]
- pH vs. Volumen [Abb. 16]
- Citrat vs. Volumen [Abb. 17]
- Citrat vs. pH [Abb. 18]
- Citrat vs.  $[\text{Ca}^{2+}]$  [Abb. 19]
- Citrat vs. BRI [Abb. 20]
- $[\text{Ca}^{2+}]$  vs. pH [Abb. 21]
- $[\text{Ca}^{2+}]$  vs.  $[\text{Ca}]_{\text{tot}}$  [Abb. 22]

In allen Diagrammen ist eine starke Streuung der Datenpunkte zu erkennen. Trotz dieser Datenlage wurden zur Erfassung einer statistischen „Trendsituation“ für jedes Parameterpaar eine Regressionsgerade und der zugehörige Korrelationskoeffizient  $r$  berechnet. Niedrige Steigungen der Regressionsgeraden und niedrige  $r$ -Werte kennzeichnen die Ergebnisse.

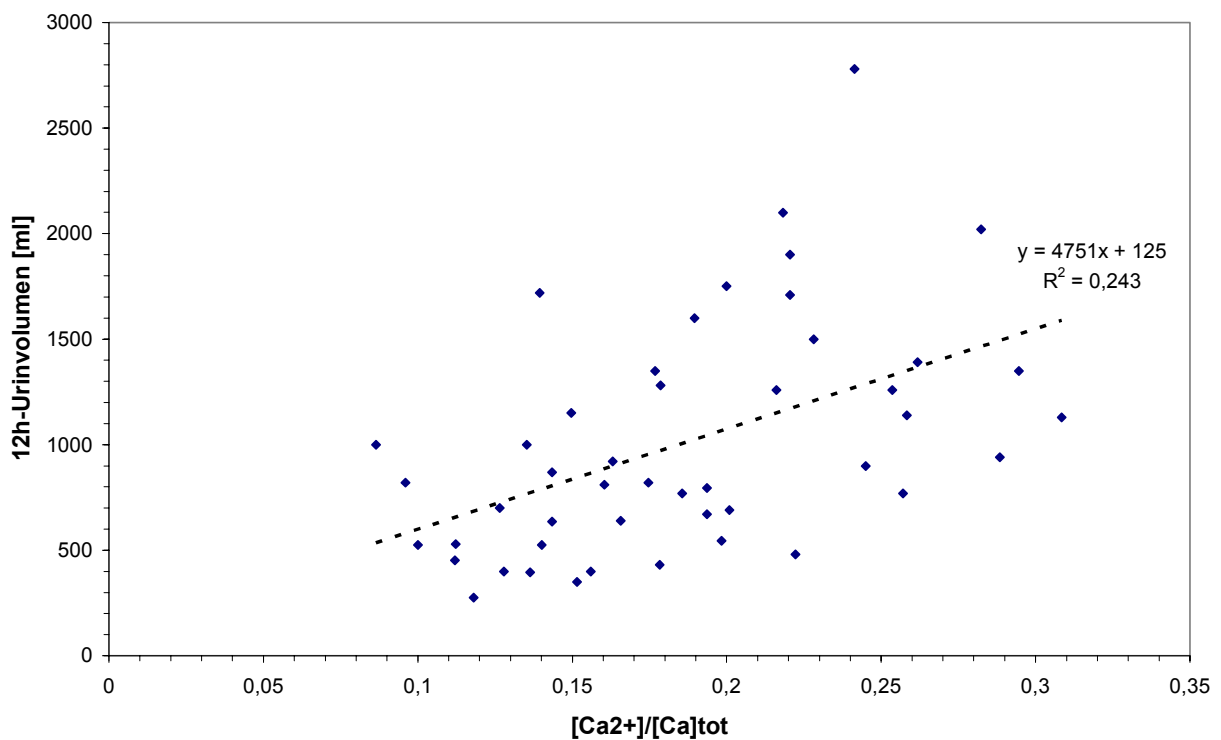
Erwartungsgemäß zeigen die Parameter  $[\text{Ca}^{2+}]$  und  $[\text{Ca}]_{\text{tot}}$  (Abb. 22) die höchste Korrelation mit einem  $r = 0,866$ , bestimmt von der Ursprungsgeraden. Eine ähnlich hohe Korrelation,  $r = 0,855$ , konnte mit der Best-fit-Geraden erzielt werden. Dieses Ergebnis jedoch würde für  $[\text{Ca}]_{\text{tot}} = 0$  mmol/l eine nicht realistische negative  $[\text{Ca}^{2+}]$  ergeben. Diese hohe Korrelation zeigt, dass der Anteil an ionisiertem  $[\text{Ca}^{2+}]$  bezogen auf  $[\text{Ca}]_{\text{tot}}$  weitgehend konstant ist.

Bereits die nächsthöchste Korrelation beträgt  $r = 0,493$  und wird zwischen den Parametern  $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{Ca}]_{\text{tot}}$  und 12 h-Urinvolumen (Abb. 14) bestimmt, die niedrigste mit einem  $r = 0,004$  wird zwischen den Parametern Citratkonzentration und dem pH-Wert errechnet (Abb. 18). In allen Fällen sind die Korrelationen statistisch „nicht signifikant“. Ein linearer funktionaler Zusammenhang zwischen den dargestellten Parameterkombinationen konnte nicht gefunden werden.

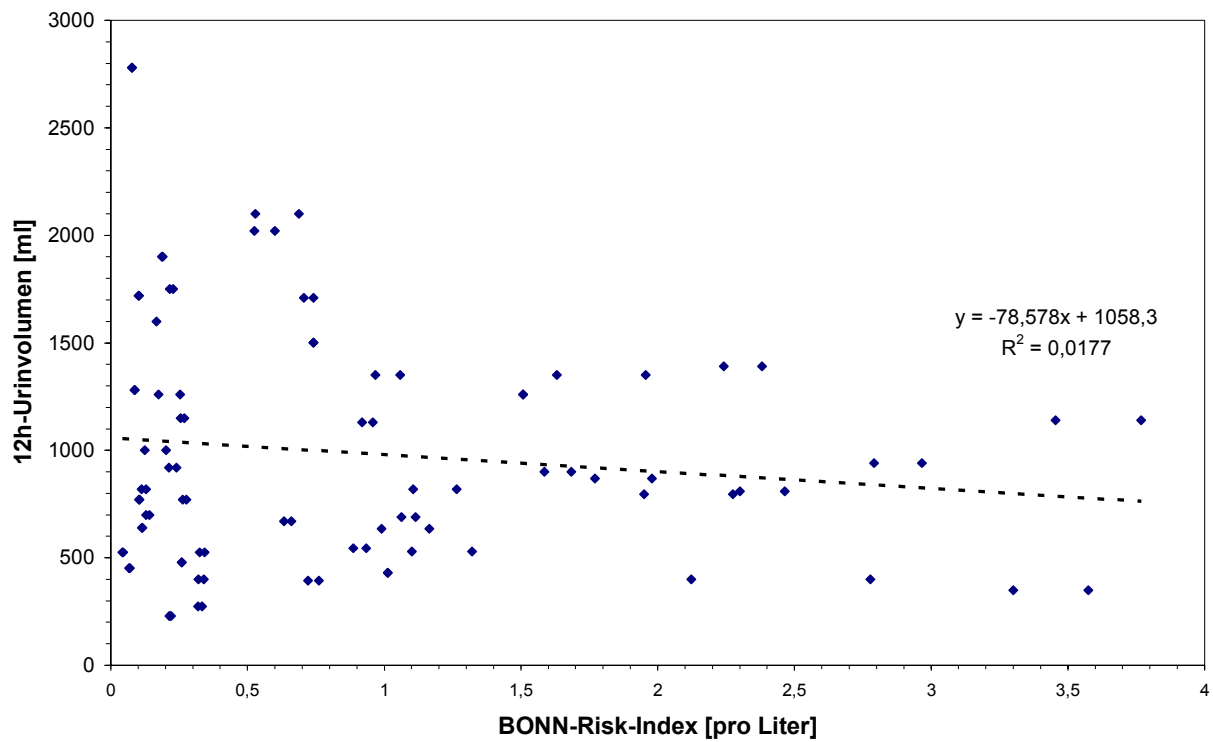




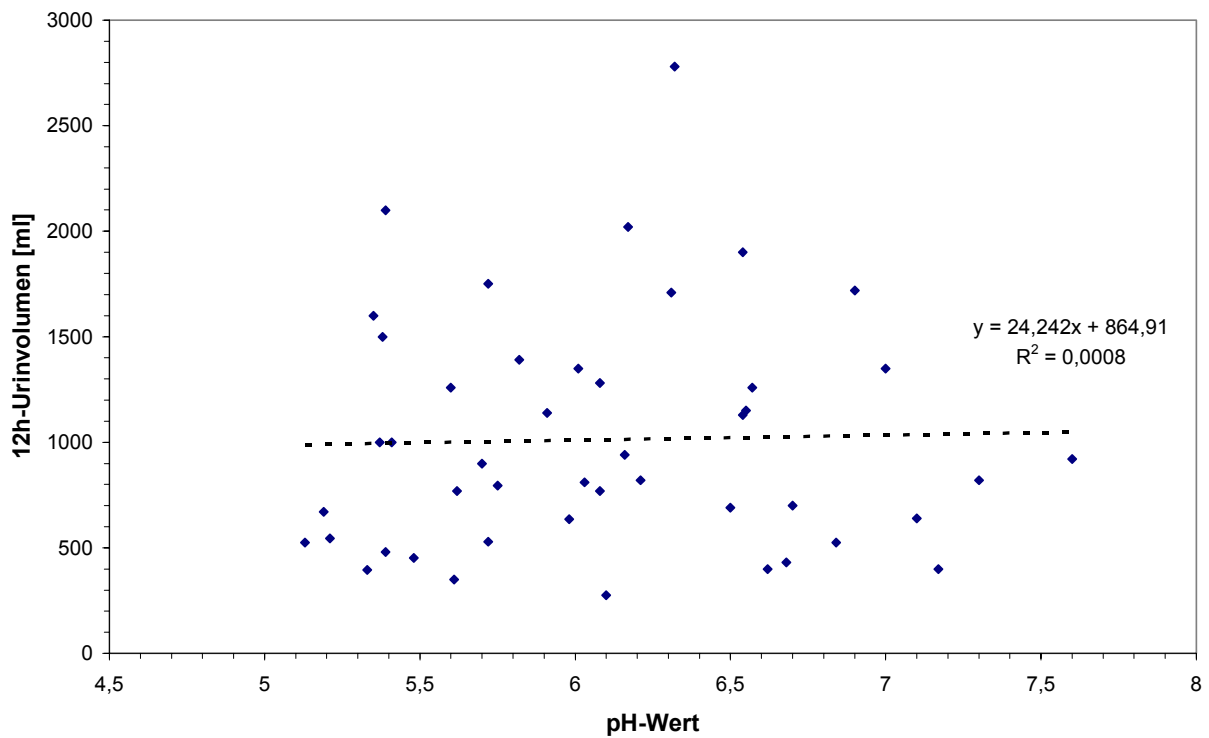
**Abbildung 13:** Graphische Darstellung der Quotienten aus  $[Ca^{2+}]/[Ca]_{tot}$  gegen die jeweiligen pH-Werte, zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient  $r = 0,078$ .



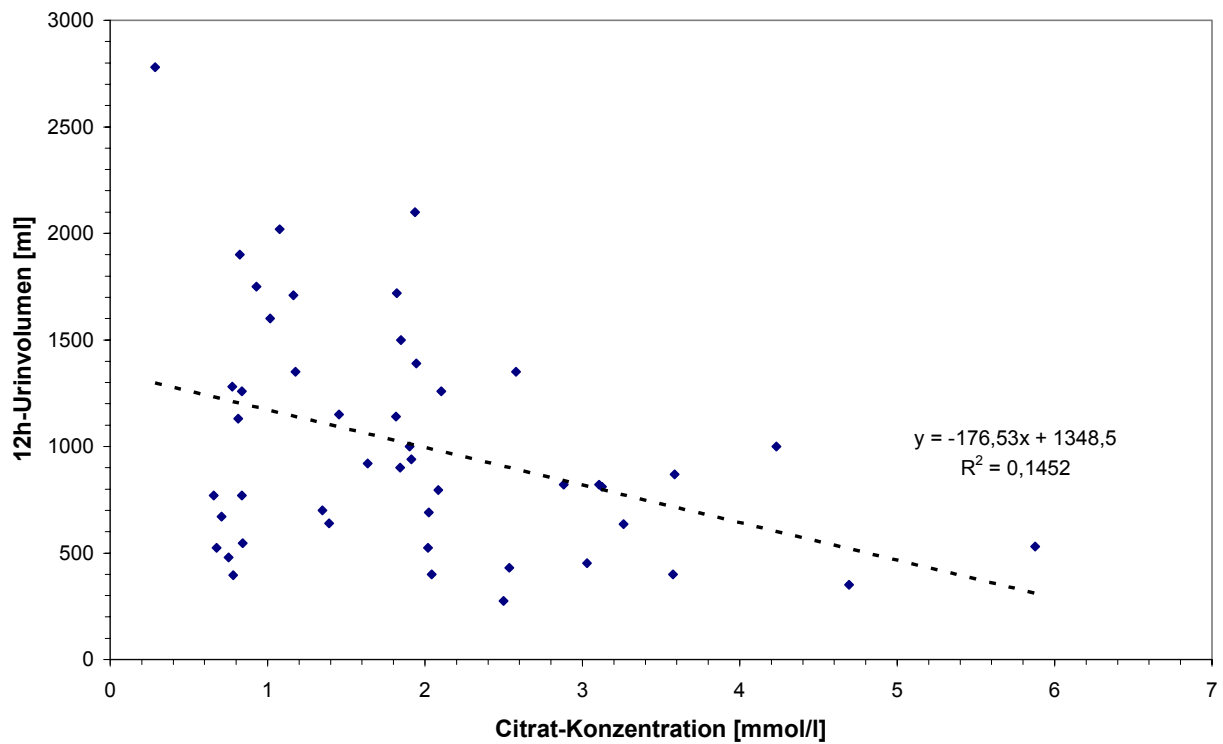
**Abbildung 14:** Graphische Darstellung der Quotienten aus  $[Ca^{2+}]/[Ca]_{tot}$  gegen die jeweiligen 12 h-Urinvolumina zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient  $r = 0,493$ .



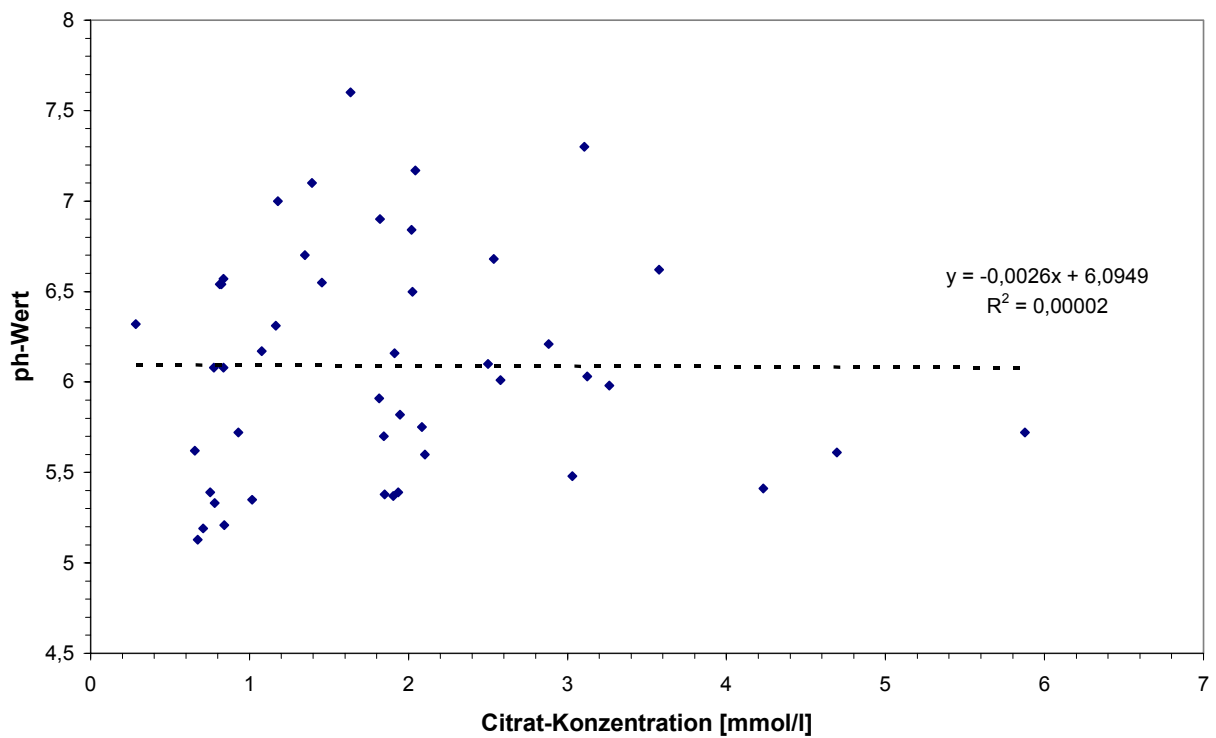
**Abbildung 15:** Graphische Darstellung der BRI-Werte gegen die jeweiligen 12 h-Urinvolumina zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient  $r = 0,133$ .



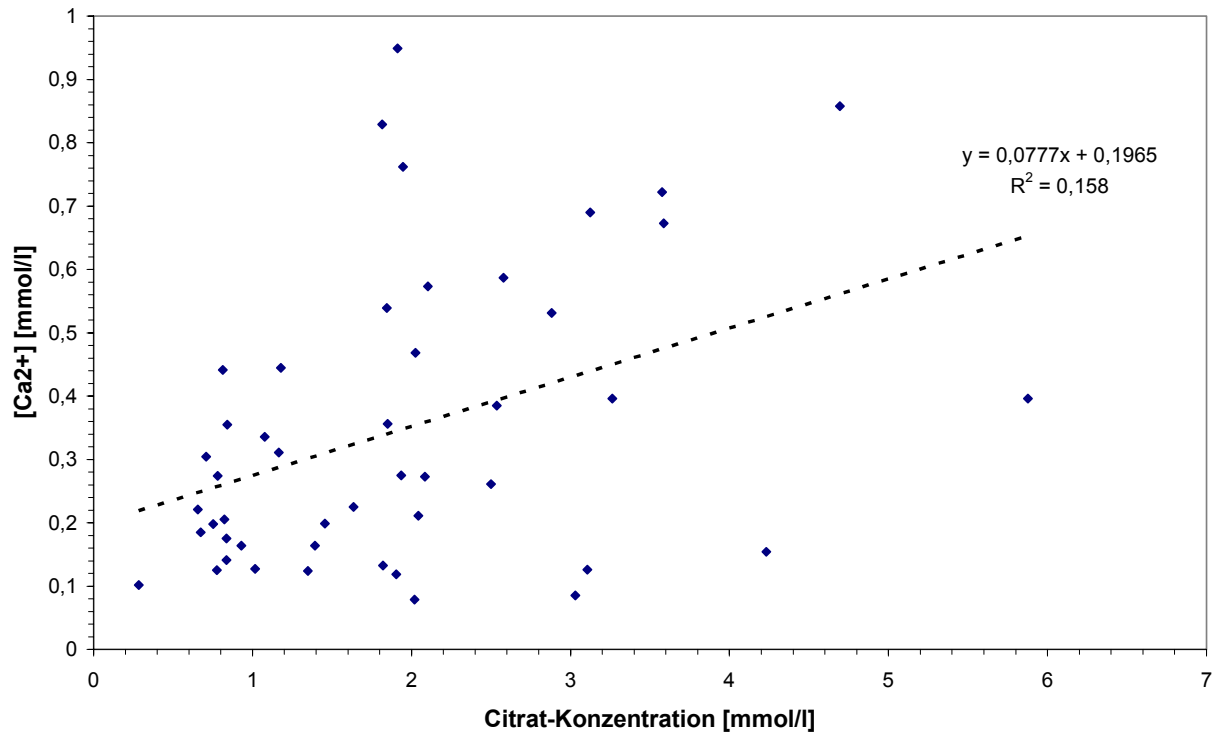
**Abbildung 16:** Graphische Darstellung der pH-Werte gegen die jeweiligen 12 h-Urinvolumina zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient  $r = 0,028$ .



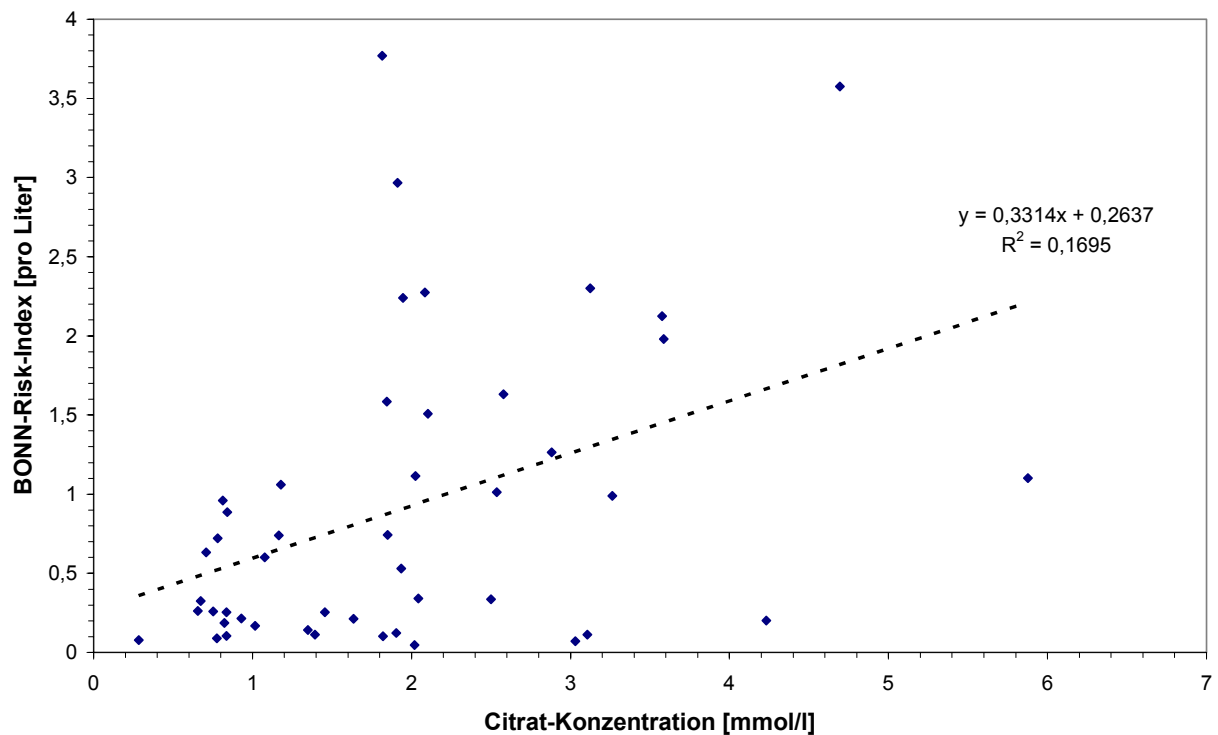
**Abbildung 17:** Graphische Darstellung der Citratkonzentrationen gegen die jeweiligen 12 h-Urinvolumina zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient  $r = 0,381$ .



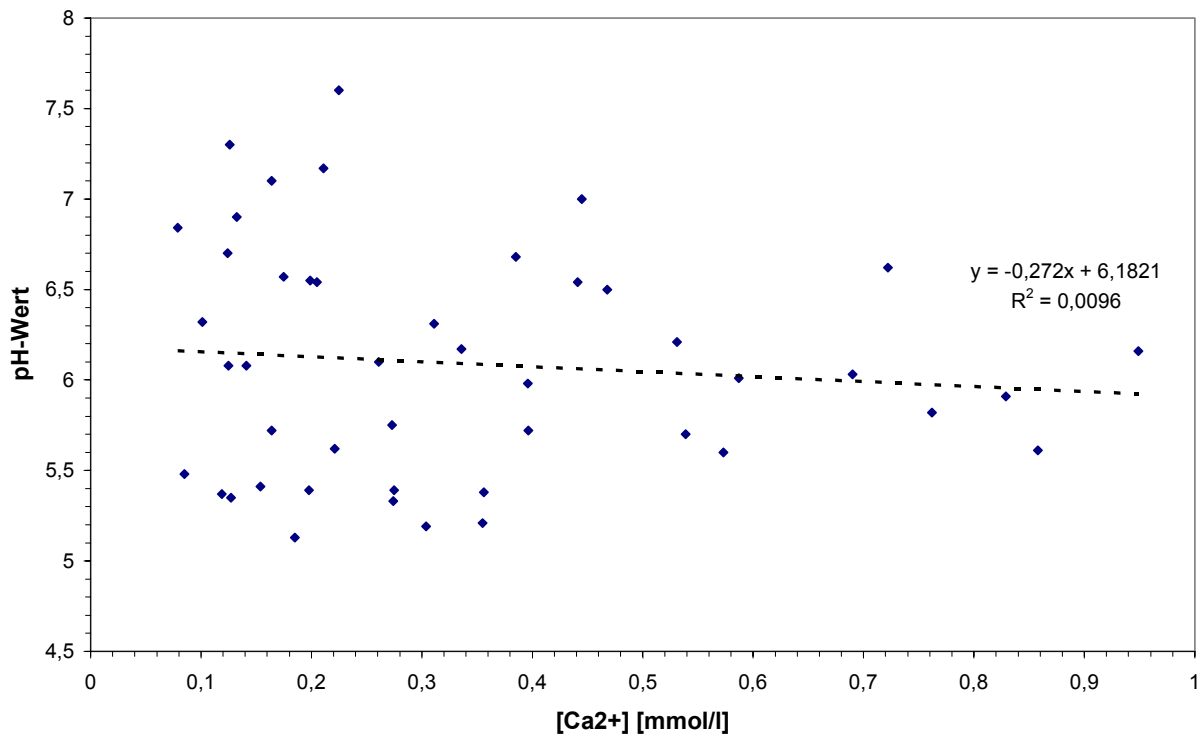
**Abbildung 18:** Graphische Darstellung der Citratkonzentrationen gegen die jeweiligen pH-Werte zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient  $r = 0,004$ .



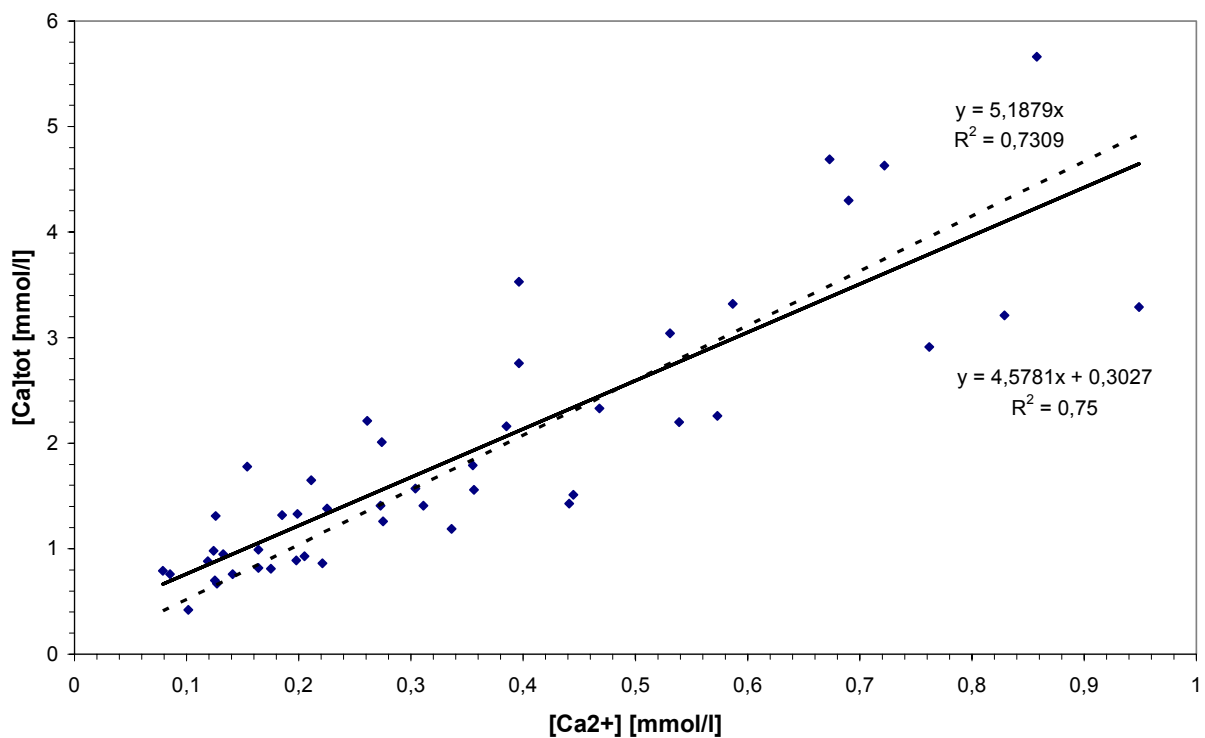
**Abbildung 19:** Graphische Darstellung der Citratkonzentrationen gegen die jeweiligen Konzentrationen an ionisiertem Calcium [Ca<sup>2+</sup>] zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient  $r = 0,397$ .



**Abbildung 20:** Graphische Darstellung der Citrat-Konzentrationen gegen die jeweiligen BRI-Werte zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient  $r = 0,411$ .



**Abbildung 21:** Graphische Darstellung der Konzentrationen an ionisiertem Calcium gegen die jeweiligen pH-Werte zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient  $r = 0,098$ .



**Abbildung 22:** Graphische Darstellung der Konzentrationen an ionisiertem Calcium gegen die jeweiligen Gesamtcalcium-Konzentrationen zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechnete Korrelationskoeffizienten: Ursprungsgerade ---  $r = 0,866$ , Best-fit —  $r = 0,855$ .

### 5.5 Rohdaten der Analysen der einzelnen Urinproben, der Combur<sup>2</sup>Test<sup>®</sup>-Ergebnisse sowie daraus errechnete Werte für RS und BRI

In Tabelle 10, in der die Daten aufgelistet sind, wurden folgende **Abkürzungen** verwendet:

P: Person, F: Fraktion, LS/P: Lasersonde/Photometer, Ox<sup>2-</sup>: Oxalat [mmol/l], Ca<sup>2+</sup>: freie Calciumionen [mmol/l], BRI: BONN-Risk-Index [pro Liter], V: Volumen [l], pH: pH-Wert, SG: spezifisches Gewicht [g/cm<sup>3</sup>], Na: Natrium [mmol/l], K: Kalium [mmol/l], Ca: gesamtes Calcium [mmol/l], Mg: Magnesium [mmol/l], NH<sub>4</sub>: Ammonium [mmol/l], Cl: Chlorid [mmol/l], PO<sub>4</sub>: Phosphat [mmol/l], SO<sub>4</sub>: Sulfat [mmol/l], Krea: Kreatinin [mmol/l], U: Harnstoff [mmol/l], Ox: Oxalsäure [mmol/l], Citr: Citrat [mmol/l], IS: Ionenstärke, RS: relative Übersättigung, -: Bestimmung des Wertes war nicht möglich.







Probe	P	Datum	F	LS/P	Ox <sup>2-</sup>	Ca <sup>2+</sup>	BRI	V	pH	SG	Na	K	[Ca] <sub>tot</sub>	Mg	NH4	Cl	PO4	SO4	KREA	U	Ox	Citr	IS	RS
MUB19A	III.1	28.02.01	1	1	0,300	0,690	2,300	0,810	6,03	1,018	143	50	4,300	3,910	21,6	154,0	26,0	12,3	12,920	3,060	0,284	3,123	0,229	7,257
MUB19A	III.1	28.02.01	1	2	0,280	0,690	2,464	0,810																7,257
MUB19B	III.1	28.02.01	2	1	0,460	0,441	0,959	1,130	6,54	1,007	67	12	1,430	1,020	6,4	66,0	5,9	3,0	2,480	0,650	0,071	0,813	0,089	1,780
MUB19B	III.1	28.02.01	2	2	0,480	0,441	0,919	1,130																1,780
MUB23A	III.1	16.03.01	1	1	0,360	0,396	1,101	0,530	5,72	1,020	106	65	3,530	6,450	25,3	102,0	30,9	29,6	19,620	4,130	0,472	5,877	0,222	7,739
MUB23A	III.1	16.03.01	1	2	0,300	0,396	1,321	0,530																7,739
MUB23B	III.1	16.03.01	2	1	0,240	0,858	3,574	0,350	5,61	1,020	128	35	5,660	5,970	29,8	108,0	21,0	26,4	11,390	4,190	0,224	4,694	0,213	6,438
MUB23B	III.1	16.03.01	2	2	0,260	0,858	3,299	0,350																6,438
MUB25A	III.1	19.03.01	1	1	0,560	0,336	0,600	2,020	6,17	1,004	82	17	1,190	1,050	10,3	79,0	9,8	5,8	4,000	1,010	0,094	1,076	0,114	1,585
MUB25A	III.1	19.03.01	1	2	0,640	0,336	0,525	2,020																1,585
MUB25B	III.1	19.03.01	2	1	0,320	0,949	2,966	0,940	6,16	1,004	96	13	3,290	2,840	11,2	85,0	6,7	8,7	4,940	1,030	0,112	1,913	0,129	3,642
MUB25B	III.1	19.03.01	2	2	0,340	0,949	2,791	0,940																3,642
MUB8A	III.2	17.01.01	1	1	1,280	0,132	0,103	1,720	6,90	1,010	159	43	0,950	2,220	9,1	152,0	13,7	9,7	6,840	2,110	0,313	1,820	0,215	2,234
MUB8A	III.2	17.01.01	1	2	1,300	0,132	0,102	1,720																2,234
MUB8B	III.2	17.01.01	2	1	1,720	0,079	0,046	0,525	6,84	1,011	124	40	0,790	2,010	8,8	113,0	17,7	10,0	6,820	2,030	0,459	2,019	0,181	2,655
MUB8B	III.2	17.01.01	2	2	1,840	0,079	0,043	0,525																2,655
MUB14A	III.2	07.02.01	1	1	0,780	0,199	0,255	1,150	6,55	1,012	133	49	1,330	2,410	23,3	147,0	19,6	12,8	9,780	2,060	0,213	1,455	0,216	2,212
MUB14A	III.2	07.02.01	1	2	0,740	0,199	0,269	1,150																2,212
MUB14B	III.2	07.02.01	2	1	0,880	0,124	0,141	0,700	6,70	1,013	128	36	0,980	1,300	13,8	116,0	17,9	13,1	6,910	2,050	0,142	1,349	0,188	1,180
MUB14B	III.2	07.02.01	2	2	0,960	0,124	0,129	0,700																1,180
MUB20A	III.2	07.03.01	1	1	1,420	0,125	0,088	1,280	6,08	1,006	68	42	0,700	1,300	20,7	83,0	18,7	10,8	8,260	1,280	0,150	0,776	0,139	1,314
MUB20A	III.2	07.03.01	1	2	1,440	0,125	0,087	1,280																1,314
MUB20B	III.2	07.03.01	2	1	0,690	0,175	0,254	1,260	6,57	1,010	107	25	0,810	1,020	8,9	99,0	11,7	8,5	4,820	1,150	0,114	0,836	0,147	1,125
MUB20B	III.2	07.03.01	2	2	1,000	0,175	0,175	1,260																1,125
MUB27A	III.2	20.03.01	1	1	1,100	0,205	0,186	1,900	6,54	1,010	103	42	0,930	1,590	13,7	108,0	14,1	11,1	6,440	1,490	0,168	0,822	0,166	1,692
MUB27A	III.2	20.03.01	1	2	1,080	0,205	0,190	1,900																1,692
MUB27B	III.2	20.03.01	2	1	1,300	0,101	0,078	2,780	6,32	1,001	33	10	0,420	0,410	4,8	25,0	4,2	5,3	1,630	0,520	0,082	0,286	0,050	1,088
MUB27B	III.2	20.03.01	2	2	1,340	0,104	0,077	2,780																1,088

**Abkürzungen:** P: Person, F: Fraktion, LS/P: Lasersonde/Photometer, Ox<sup>2-</sup>: Oxalat [mmol/l], Ca<sup>2+</sup>: freie Calciumionen [mmol/l], BRI: BONN-Risk-Index [pro Liter], V: Volumen [l], pH: pH-Wert, SG: spezifisches Gewicht [g/cm<sup>3</sup>], Na: Natrium [mmol/l], K: Kalium [mmol/l], [Ca]<sub>tot</sub>: gesamtes Calcium [mmol/l], Mg: Magnesium [mmol/l], NH4: Ammonium [mmol/l], Cl: Chlorid [mmol/l], PO4: Phosphat [mmol/l], SO4: Sulfat [mmol/l], Krea: Kreatinin [mmol/l], U: Harnstoff [mmol/l], Ox: Oxalsäure [mmol/l], Citr: Citrat [mmol/l], IS: Ionenstärke, RS: relative Übersättigung, -: Bestimmung des Wertes war nicht möglich.

**Combur<sup>9</sup>Test<sup>®</sup> (Dip-Stik)**, (*Boehringer, Mannheim*),

Mittels des an jeder der Urinproben durchgeführten Combur<sup>9</sup>Test<sup>®</sup> (Dip-Stik), (*Boehringer, Mannheim*), konnten keine pathologischen Auffälligkeiten im Urin nachgewiesen werden. Alle gemessenen Parameter lagen im Normbereich. Wichtig war hierbei insbesondere, dass keine der untersuchten Proben eine „Nitrit-positive“ Reaktion aufwies, denn der Nachweis von Nitrit dient als Marker für eine eventuell bestehende Infektion der Harnwege und diese wiederum kann in ursächlichem Zusammenhang zur Ausbildung einer Urolithiasis stehen [64].

Eine zum Zeitpunkt der Untersuchungen bestehende akute oder chronische asymptomatische Harnwegsinfektion erschien somit unwahrscheinlich und wurde daher als begünstigender bzw. ursächlicher Faktor der Entstehung von Harnsteinen im Kreise der untersuchten Personen ausgeschlossen.

## **5.6 Rohdaten der Blutanalysen und Diskussion**

Im Rahmen der durchgeführten Blutuntersuchungen konnten keine Faktoren festgestellt werden, die die Harnsteinbildung selbst oder ein erhöhtes Risiko für eine Harnsteinbildung ursächlich begründeten. Weder die untersuchten Hormone, noch die Serumproteine oder die Parameter der klinischen Chemie des Blutes waren derart verändert, dass von einem pathognomonischem Zusammenhang ausgegangen werden konnte. Vereinzelt wurden die Normbereiche der untersuchten Parameter über- oder unterschritten.

Insbesondere die Werte für das Gesamtcholesterin als auch die Werte für das LDL-Cholesterin überschritten bei den Personen I.4, II.2 und III.1 den zulässigen Normbereich zum Teil um über 10 %. Allerdings waren von diesen Fällen, wie Tabelle 11 zu entnehmen ist, sowohl Steinbildner wie auch Nichtsteinbildner vereinzelt betroffen, so dass hieraus keine relevanten Zusammenhänge zu erschließen waren.

**Tabelle 11: Ergebnisse der Blutanalysen:** Results of blood serum analyses. Person identification according to Fig. 1. S: risk status according to BRI. Hormones [pg/ml]: Ald: aldosterone, Para: parathormone, 1,25: 1,25-dihydroxy-vitamine D3, 25D: 25-hydroxy-vitamine D [ng/ml]. Proteines [g/l]: P<sub>t</sub>: total protein, A: Albumin, α<sub>1</sub>: α<sub>1</sub>-Globuline, α<sub>2</sub>: α<sub>2</sub>-Globuline, β: β-Globuline, γ: γ-Globuline. TG: Triglyceride [mg/dl], Ch: Cholesterine [mg/dl], HDL: HDL-Cholesterine [mg/dl], LDL: LDL-Cholesterine [mg/dl], Ca: Calcium [mmol/l], Mg: Magnesium [mmol/l], Cr: Creatinine [mg/dl], U: Urea [mg/dl], β<sub>2</sub>M: β<sub>2</sub>-Mikroglobuline [g/l], Oca: Osteocalcine [ng/ml]

	STONE FORMERS		NON-STONE FORMERS					
	I.4*	II.3	III.1	III.2	II.2	I.1	I.2	
S	„at risk“			„without risk“				
Ald	137.0	94.0	102.2	97.6	85.3	131.0	60.0	
Para	25	25	29	21	65	68 <sup>+</sup>	71	
1,25	45.0	59.0	27.9	30.7	22.2	32.8	16.4 <sup>-</sup>	
25D	11.0	30.5	14.4	10.2	8.3 <sup>-</sup>	11.6	9.1 <sup>-</sup>	
P <sub>t</sub>	78.0	75.0	72.0	69.0	65.0	65.0	66.0	
A	46.8 <sup>+</sup>	49.6 <sup>++</sup>	47.3 <sup>+</sup>	47.0 <sup>+</sup>	43.1	42.2	41.0	
α <sub>1</sub>	1.8	1.6	2.3 <sup>+++</sup>	1.4	1.4	1.7	2.2 <sup>++</sup>	
α <sub>2</sub>	7.8 <sup>+++</sup>	6.1	7.2 <sup>+</sup>	6.3	6.2	7.4 <sup>++</sup>	8.1 <sup>+++</sup>	
β	9.1 <sup>+++</sup>	7.7	7.4	6.5	7.5	6.2	6.5	
γ	12.5 <sup>+++</sup>	10.0	7.8	7.8	6.8	7.5	8.2	
TG	180	87	104	104	180	96	168	
Ch	304 <sup>+++</sup>	171	258 <sup>+++</sup>	143	299 <sup>+++</sup>	232 <sup>++</sup>	212	
HDL	39	48	67	40	45	79	39	
LDL	229.0 <sup>+++</sup>	105.6	170.2 <sup>+++</sup>	82.2	218.0 <sup>+++</sup>	133.8	139.4	
Ca	2.40	2.35	2.53	2.4	2.18	2.28	2.31	
Mg	1.02	0.90	0.79	0.97	0.92	0.89	0.86	
Cr	1.6 <sup>+++</sup>	0.8	0.7	0.9	0.8	0.9	1.6 <sup>+++</sup>	
U	69 <sup>+++</sup>	31	28	17	33	36	51	
β <sub>2</sub> M	4.35 <sup>+++</sup>	1.27	1.42	1.56	1.69	2.1	3.68 <sup>+++</sup>	
Oca	4.9	3.7	10.0	11.6	7.0	13.5	6.6	

\* patient was treated with furosemid in order to avoid oedema formation; samples have been neglected for further statistics.

<sup>-</sup> value below normal range, <sup>+</sup> value exceeds normal range ≤ 5 %, <sup>++</sup> ≤ 10 %, <sup>+++</sup> > 10 %.

## **6. Diskussion und Ausblick**

### **6.1 Diskussion der bei Calciumoxalat-Urolithiasis möglicherweise beteiligten genetischen Faktoren (Zusammenfassung von Ergebnissen aus der Literatur)**

Ein Calciumoxalat-Harnsteinleiden als multifaktoriell begründete Erkrankung kann von umweltbedingten, erworbenen aber auch genetischen Faktoren oder aber auch durch eine Kombination der genannten Faktoren verursacht werden.

Coe et al. (1979) waren die Ersten, deren Forschungen einen klaren Hinweis auf die Beteiligung einzelner Genkomponenten am Calciumoxalatharnsteinleiden ergaben, als sie ihre Analysedaten für familiäre Hypercalciurie als Manifestation eines autosomalen Gens interpretierten [11].

Mutierte Gene wurden bisher nur für die seltener auftretenden Harnsteinerkrankungen identifiziert. Die genetischen Ursachen für die häufiger auftretenden Harnsteinerkrankungen wie die idiopathische familiäre Hypercalciurie (autosomal dominant) und die idiopathische Calciumoxalat-Nephrolithiasis (autosomal dominant/polygenetisch) müssen mittels weiterer molekulargenetischer Untersuchungen ergründet werden [12].

Dennoch gibt es derzeit schon Erkenntnisse über eine Vielfalt von Faktoren, die durch genetisch bedingte Mutationen in ihrer Funktion derart verändert werden, dass sie die Ausbildung eines Harnsteinleidens möglicherweise fördern.

So gibt Watts (2005) in seiner Arbeit [63] einen Überblick über einige biochemische Faktoren, die durch individuelle unbekannte genetisch determinierte Veränderungen des Phänotypes zu einer Erhöhung des Risikos der Ausbildung eines Calciumoxalatharnsteinleidens beitragen können, welches ansonsten entweder einer idiopathischen Ursache oder einer ungeklärten Hypercalciurie zugeschrieben würde.

Diese vermuteten Mutationen mit ihren jeweils individuellen unbekanntenen Effekten würden sich auch auf das gesamte Genom auswirken mit seinem Potential für multiple Polymorphismen, welches die Basis für die individuelle Einzigartigkeit und somit die Prädisposition für die Erkrankung darstellt [63].

Einzelne Nukleotid-Polymorphismen sind der häufigste Typ von Veränderungen im menschlichen Genom, und es wurde errechnet, dass ungefähr einer in jedem 1200sten Basenpaar vorkommt [63].

Betrachtet man die gesamte Größe des menschlichen Genoms, ist der Umfang an Unterschieden beträchtlich, obwohl zwei beliebige Individuen in 99,92 % identisch in Bezug auf die Abfolge ihrer Nucleotidsequenz sind [41].

Im Weiteren werden die von Watts (2005) diskutierten biochemischen Faktoren, die zu einer Erhöhung des Risikos der Ausbildung eines Calciumoxalatharnsteinleidens beitragen können, aufgeführt und kurz erläutert. Teilweise werden auch andere Publikationen in die Diskussion mit einbezogen.

### **Calcium**

Ein Gen, welches mit dem Auftreten der absorptiven Hypercalciurie verbunden zu sein scheint, wurde in letzter Zeit identifiziert. Die Autoren berichten, dass es sich um einen Defekt eines auf Chromosom 1q23.3–q24 liegenden Gens zu handeln scheint, welches für die Calciumabsorption codiert [52].

### **Der Calcium-sensible Rezeptor**

Der Calcium-sensible Rezeptor ist ein 1078 Aminosäuren umfassender G-Protein-gebundener Rezeptor (Zelloberflächenprotein), welcher eingebettet in den Membranen der Zellen der Nebenschilddrüsen wie auch der renalen Tubuluszellen liegt [63].

Mutationen mit großen Auswirkungen auf die Funktion des Calcium-sensiblen Rezeptors sind Ursache mannigfaltiger Erkrankungen.

Eine zunehmende Sensitivität für Calcium kann bei der familiären benignen hypocalciurischen Hypercalcämie (FBHH) beobachtet werden, einer autosomal dominanten Störung, bei der Hypercalcämie und Hypocalciurie auftreten, aufgrund der unpassend hoch sezernierten Menge an Parathormon.

Andere Mutationen mit zunehmender Sensitivität des Calcium-sensiblen Rezeptors sind verantwortlich für die Ausbildung des schweren neonatalen Hyperparathyreoidismus (SNHPT),

bei welchem extreme Hypercalcämie und viele weitere klinische Zeichen des Hyperparathyreoidismus innerhalb der ersten Lebensstage augenscheinlich werden.

Einige Mutationen setzen die Empfindlichkeit des Calcium-sensiblen Rezeptors herab, wie bei der autosomal dominanten hypocalcämischen Hypercalciurie (ADHH) mit ihrem hohen Grad an renalen Komplikationen.

All diese Störungen gehen sowohl mit phänotypischen als auch mit genetisch unterschiedlichen Ausprägungen einher. Schon minimale Veränderungen, die für sich allein genommen unzureichend sind, um eine Auswirkung auf die Calciumausscheidung zu haben, können in Verbindung mit anderen Faktoren zur Ausbildung eines Calciumoxalatharnsteinleidens beitragen [63].

### **X-chromosomal gebundene Calciumoxalat-Urolithiasis-Syndrome**

Die Tatsache, dass mehr Männer als Frauen an idiopathischer Calciumoxalat-Urolithiasis und unter idiopathischer Hypercalciurie leiden, weist auf eine x-chromosomale Bindung eines Gens oder mehrerer Gene hin, die an der Homöostase des Calciumhaushaltes beteiligt sind.

Dies wird in extremer Form anhand von drei Erkrankungen deutlich, die Mutationen des Gens CLCN-5, das auf Chromosom Xp11.22 liegt, zugeschrieben werden:

- die x-chromosomal rezessive Nephrolithiasis,
- die x-chromosomal rezessive hypophosphatämische Rachitis,
- das Dent-Syndrom [18, 7, 67].

Diesen drei Erkrankungen ist eine tubuläre Dysfunktion des Chloridtransporters gemeinsam, dessen Funktion, den nach luminal gerichteten Korrekturausstrom von Chlorid zu ermöglichen, durch genetisch bedingte Defekte eingeschränkt oder unterbunden ist [44].

### **Vitamin D-Synthese als ein möglicher Faktor bei der Ausbildung von Harnsteinen**

Vitamin D fördert die intestinale Calciumabsorption sowie den Einbau von Calcium in den Knochen, wodurch der Calciumspiegel des Blutes und des Urins beeinflusst werden.

Harnsteine sind kein Merkmal der bekannten spezifischen vererbten Störungen des Vitamin D-Stoffwechsels, bei welchen entweder die Enzymsynthese von Vitamin D oder die Synthese des

Vitamin D-Rezeptors abnorm verläuft. Jedoch können bereits kleinere Mutationen der relevanten Gene, wenn sie mit weiteren prädisponierenden Faktoren zusammentreffen, den Vitamin-D-Gehalt oder die Affinität des Vitamin-D-Rezeptors so weit reduzieren, dass eine schwere Hypercalciurie entsteht, auch wenn diese Mutationen alleine nicht ausreichend für die Ausprägung einer Rachitis sind.

Dies würde den gesamten Effekt von Mutationen in anderen Genen verändern, die für die Förderung von Hypercalcämie und Hypercalciurie verantwortlich sind und dadurch auch für die Steinbildung [63].

### **Oxalatstoffwechsel**

Es sind zwei genetische Defekte des Glyoxylat-Stoffwechsels bekannt, die eine exzessive Oxalatsynthese bedingen, welche zur Ausbildung von Calciumoxalat-Urolithiasis und Nephrocalcinose führt. Hierbei handelt es sich um die primäre Hyperoxalurie Typ I, bei der eine reduzierte Aktivität oder sogar ein kompletter Ausfall der in den Leberperoxisomen gebildeten Glyoxylataminotransferase vorliegt und um die primäre Hyperoxalurie Typ II, bei der die Aktivität des Enzyms Glyoxylatreduktase, auch bekannt als Hydroxypruvatreduktase oder D-Glyceratdehydrogenase, fehlt oder nur unzureichend ist. Beide Erkrankungen werden autosomal rezessiv vererbt. Bei der primären Hyperoxalurie Typ I liegt das defekte Gen auf Chromosom 2q37.3, bei der primären Hyperoxalurie Typ II befindet sich der Genort des defekten bzw. mutierten Gens auf Chromosom 9q11 [12].

Beide Erkrankungen sind seitens ihres genetischen Hintergrundes wie auch ihres Phänotypes heterogen. Mutationen verursachen nur kleine Veränderungen in Bezug auf die katalytische Aktivität und sind alleine unzureichend für die Entstehung einer stark ausgeprägten Hyperoxalurie, jedoch können Mutationen in Verbindung mit weiteren prädisponierenden Faktoren der Grund für die Bildung von Steinen bei an idiopathischer Calciumoxalatsteinbildung leidenden Patienten sein oder das Ausmaß der Steinbildung bei an idiopathischer Hypercalciurie leidenden Patienten verstärken [63].

### **Nephrocalcin**

Nephrocalcin ist als stark säurehaltiges Glykoprotein normaler Bestandteil des Urins. Es inhibiert das Wachstum von Calciumoxalatkristallen und konnte aus der Matrix von Harnsteinen isoliert werden. Das Ausmaß, mit dem Nephrocalcin an der gesamten antikristallinen Wirkung im normalen Urin beteiligt ist, ist unklar. Aber Mutationen der Gene, die für die Synthese des Nephrocalcins codieren, müssen als potentielle Faktoren für ein individuell erhöhtes Steinbildungsrisiko betrachtet werden [63].

### **Osteopontin**

Osteopontin ist ein Glykoprotein und spielt eine Rolle bei der Hemmung der Ausbildung von Steinen. Es ist Bestandteil der normalen wie auch der pathologischen Calcificationsmechanismen. Osteopontin ist ein normaler Bestandteil des Urins und wurde aus Harnsteinen isoliert. Osteopontin wird in den Nieren gebildet und über renale Epithelzellen der Henle Schleifen, der distalen Tubuli und der renalen Papillen in den Urin sezerniert. Es hemmt alle Stadien der Steinbildungsprozesse:

- die Bindung von Calciumoxalat an die renalen Epithelzellen, was als erster Schritt in der Steinbildung gilt,
- die Nukleation,
- das Wachstum sowie
- die Aggregation von Calciumoxalatkristallen.

Somit müssen Mutationen in Genen, die für die Synthese von Osteopontin codieren, als weitere genetische Faktoren angesehen werden für die Prädisposition einer Harnsteinbildung [63].

### **Das Tamm-Horsefall-Glykoprotein (Uromodulin)**

Das Tamm-Horsefall-Glykoprotein, auch Uromodulin genannt, ist das mengenmäßig am häufigsten im normalen Urin auftretende Protein. Es wird in den Zellen des dicken aufsteigenden Teils der Henle Schleifen gebildet und bedeckt die luminal Seite der Tubulusepithelien. Mutationen des für das Tamm-Horsefall-Glykoproteins codierenden Gene sind mit der autosomal



dominant vererbten medullären cystischen Nierenerkrankung (medullary cystic kidney disease) und der juvenilen hyperurämischen Nephropathie assoziiert [58, 6].

Das Tamm-Horsefall-Glykoprotein aggregiert bei hoher Ionenstärke, wodurch es Teil der Steinmatrix wird. Bei niedriger Ionenstärke liegt es in nicht aggregierter Form vor, bindet Calciumoxalatmonohydrat (COM) und ist ein effektiver Inhibitor der Calciumoxalatmonohydrat-Aggregation und folglich auch ein effektiver Inhibitor der Mikrolithbildung. Ebenso hemmt das Tamm-Horsefall-Glykoprotein die Bindung von Calciumoxalat an die renalen Tubulusepithelien, ein Mechanismus, der als wahrscheinlich erster Schritt im Rahmen der Steinbildung gesehen wird.

Somit können Polymorphismen der für das Tamm-Horsefall-Glykoprotein codierenden Gene zu strukturellen Veränderungen des Glykoproteins führen, die entweder die Fähigkeit, Calciumoxalatmonohydrat (COM) zu binden, beeinflussen, oder den Grad der Aggregation oder die Fähigkeit, Calciumoxalatmonohydrat (COM) an die luminale Oberfläche der renalen Tubulusepithelzellen zu binden, beeinflussen. Als Folge kann Calciumoxalatmonohydrat (COM) vermehrt kristallisieren und Steine bilden [63].

### **Prothrombin Fragment 1**

Prothrombin Fragment 1, in der Niere gebildet, hemmt die Kristallisation von Steinbildnern im Urin. Veränderungen in der Ausscheidung dieses Proteins werden schon seit längerem als ein die Steinbildung begünstigender Faktor betrachtet [61, 45, 51].

Über die Lage der die Bildung von Prothrombin Fragment 1 codierenden Gene ist offenbar bislang nichts bekannt.

### **Glykosaminoglykane**

Glykosaminoglykane sind große, unverzweigte saure Polysaccharide, die vermutlich, mit Ausnahme der Hyaluronsäure, gebunden an einen Proteinkern Proteoglykane als Bestandteil der extracellulären Matrix bilden. Zwei Glykosaminoglykane jedoch, Chondroitinsulfat und Heparansulfat, werden frei in den Urin abgesondert und können die Nukleation, die Aggregation und das Wachstum von Calciumoxalat- und Harnsäurekristallen hemmen. Auch hier können Polymorphismen der die Erstellung von Proteoglykanen codierenden Gene einen weiteren

genetischen Faktor, der an der Ausbildung eines Harnsteinleidens beteiligt sein kann, darstellen [63].

### **Bikunin**

Bikunin stellt die leichte Kette des Inter- $\alpha$ -Inhibitor dar, welcher sich aus zwei schweren Ketten (H1 und H2) und Bikunin zusammensetzt. Ihre Synthese wird von zwei unterschiedlichen Genen gesteuert.

Freies Bikunin findet sich im Plasma und im Urin. Das im Urin befindliche Bikunin hemmt das Wachstum von Calciumoxalatkristallen [4].

Das aus dem Urin von Steinbildern isolierte Bikunin wies eine geringere inhibitorische Aktivität bezüglich des Calciumoxalatkristallwachstums auf als das Bikunin, welches aus dem Urin von Nicht-Steinbildnern isoliert wurde. Bikunin hemmt folglich die Nukleation, die Aggregation und das Wachstum von Calciumoxalatkristallen [3].

So kann Bikunin und / oder I $\alpha$ I als eine physiologische Substanz angesehen werden, die vor möglicher Steinbildung schützt. Genetisch determinierte Veränderungen in ihrer Struktur könnten die Neigung zur Steinbildung unterstützen [63].

**Tabelle 12:** Zusammenfassende Übersicht der diskutierten biochemischen Faktoren (Parameter), die durch eine genetisch determinierte Veränderung zur Ausbildung eines CaOx-Harnsteinleidens beitragen können (überwiegend nach [63])

Parameter	Struktur	Wirkung	Wirkort
Calcium-sensibler Rezeptor	1078 AS-G-Protein gebundener Rezeptor	Steuerung $[Ca^{2+}]$ und $[Mg^{2+}]$ im Urin	Zellmembranen der Nebenschilddrüsen- und renalen Tubuluszellen
Nephrocalcin	Glykoprotein (MW 14 KDa)	Inhibierung des CaOx-Kristallwachstums	Urin
Osteopontin	Glykoprotein (MW 40 KDa)	Inhibierung von CaOx-Kristall -anlagerung an renale Epithelzellen, -nukleation, -aggregation und -wachstum	Urin
Tamm-Horsefall-Glykoprotein	Glykoprotein (MW 84 KDa)	CaOx-Monohydrat-Aggregationsinhibitor	Urin
Prothrombin Fragment 1	Protein	CaOx-Kristallisationsinhibitor	Urin
Glykosaminoglykane: Chondroitinsulfat und Heparansulfat	Polysaccharide	Inhibierung von CaOx-Kristallnukleation, -aggregation und -wachstum	Urin
Bikunin	Teil von IaI	Inhibierung von CaOx-Kristallnukleation, -aggregation und -wachstum	Urin

Hinsichtlich des **Citratstoffwechsels** bei Calciumoxalatharnsteinleiden veröffentlichten Shah et al. (2005) die Ergebnisse ihrer an einer größeren Zahl von Steinbildnern, Nicht-Steinbildnern und 6 Familien durchgeführten Untersuchungen, die einen genetischen Einfluß auf die Citratausscheidung bestätigen, wie er auch für die Calciumausscheidung schon durch andere Studien belegt worden war [59].

Eine Hypocitraturie ist ein wichtiger Risikofaktor für die Entstehung einer Calciumoxalat-Urolithiasis und kann durch das Zusammenwirken zahlreicher Faktoren bedingt werden.

Die Verteilung der Citratausscheidung und das Vererbungsmuster innerhalb der von Shah et al. (2005) untersuchten Familien deuten auf eine kodominante Vererbung von einem Genlocus hin, welcher großen Einfluß auf die im Urin ausgeschiedene Menge an Citrat hat.

Ein kodominanter Vererbungsmodus bedeutet, dass jedes Allel einen direkten Einfluß auf die phänotypische Ausprägung hat, so dass Heterozygote einen „Zwischenphänotyp“ aufweisen. Folglich sind niedrige, mittlere und hohe Grade der phänotypischen Ausprägung innerhalb der Bevölkerung nachweisbar.

Ob die betroffenen Gene das Säure-Base-Verhältnis, den Citrattransport oder den Citratstoffwechsel beeinflussen bleibt noch zu klären [59].

Die von Shah et al. (2005) durchgeführten Untersuchungen lassen überdies die Schlussfolgerung zu, dass die augenscheinliche autosomal dominante Basis für Hypercalciurie und Hyperoxalurie wahrscheinlich eher einem codominanten Paar von Allelen auf einem unabhängigen Genlocus entspricht, was zur Ausprägung von drei Untergruppen führt: niedrige, mittlere und hohe Calcium- und Oxalatausscheider.

Ob die niedrigere Citratausscheidung einer genetischen Prädisposition, der Ernährung oder einer Kombination aus beiden zuzuschreiben ist, bleibt weiterhin unklar [59].

Die durchgeführten Untersuchungen zeigten jedoch, dass bei Personen mit niedrigerer Citratausscheidung der Anteil an Steinbildnern wesentlich erhöht war, unabhängig davon, ob eine Diät vorgegeben war oder nicht [59].

Ferner wurde festgestellt, dass die Citratausscheidung auch innerhalb der Gruppe der Nichtsteinbildner größeren Schwankungen unterlag und dass eine Unterscheidung bezüglich der Vererbungsmuster des Citratspiegels vorlag.

Shah et al. (2005) kamen auf der Basis ihrer Ergebnisse zu der Vermutung, dass die Citratausscheidung ebenso wie die Calciumausscheidung genetischen Einflüssen unterworfen ist.

So unterstützen und begründen diese Untersuchungsergebnisse das Bild des Calciumoxalat-Harnsteinleidens als multifaktoriell begründeter Erkrankung, bei deren Entstehung genetische Faktoren, die auf einem polygenetischen System zu basieren scheinen, eine wesentliche Rolle spielen können.

## 6.2 Diskussion der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse und Ausblick

### 6.2.1 BONN-Risk-Index- und Werte für die relative Übersättigung

Alle BRI-Werte, die im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen von den Mitgliedern der untersuchten Familie erhalten wurden, liegen nahezu auf der Best-fit-Hyperbel (Abb. 6 und Abb. 9) und lassen daher eine Einbeziehung in das bestehende BRI-Konzept zu, welches mehr als 275 voneinander unabhängige Urinalysen einschließt. Folglich spiegeln die Testpersonen die allgemeine Situation bezüglich der Risikoverteilung für die Ausbildung von Calciumoxalatharnsteinen innerhalb der Bevölkerung wider; sie repräsentieren keine außergewöhnliche Gruppierung an Personen.

Ebenso liegen die  $[Ca^{2+}]$ -Mittelwerte nahezu auf der Best-fit Hyperbel (Abb. 6 und Abb. 9).

Die Ausbildung eines CaOx-Steinbildungsrisikos kann innerhalb der untersuchten Familie über drei Generationen verfolgt werden. Als Maß für das Risiko können sowohl die BRI-Werte (Tab. 8) als auch die Daten der  $RS_{CaOx}$  (Tab. 9) dienen, die ein ähnliches Risikomuster für die untersuchten Personen zeigen. Zwischen der mütterlichen und der väterlichen Linie kann eine klare Unterscheidung hinsichtlich des Bildungsrisikos für Harnsteine vorgenommen werden (Abb. 9).

Eine analoge Differenzierung kann auch mit Blick auf die jüngste Generation festgestellt werden: Während Person III.1 ein ähnliches Kristallisationsrisiko wie ihr Vater (und ihr Großvater väterlicherseits) aufweist, kann man Person III.2 ein nur niedriges Risiko zuordnen („ohne Risiko“, bezogen auf den BRI) und zwar ein genauso niedriges wie den untersuchten Mitgliedern der mütterlichen Linie. Die Bereiche der Standardabweichungen der ermittelten BRI- und  $RS_{CaOx}$ -Werte beider Linien weisen in der Darstellung keine Überlappung auf (Abb. 10).

Um die formale Korrektheit der Annahme, dass innerhalb der untersuchten Familie zwei voneinander unabhängige Risikogruppen existieren, zu untersuchen, wurden die Wahrscheinlichkeiten berechnet, nach der diese Annahme der Wahrheit entspräche. Es wird vorausgesetzt, dass beide Datengruppen der Gaußschen Verteilung folgen, gekennzeichnet durch die Mittelwerte  $x_1 < x_2$  und die Standardabweichungen  $\sigma_1$  und  $\sigma_2$ . Man betrachte eine Probe „X“,

die mit 50 %iger Wahrscheinlichkeit zu Gruppe 1 gehört. Nach der ersten Einschätzung gehört diese Probe zu Gruppe 1 wenn:

$$X \leq \frac{\sigma_1 x_1 + \sigma_2 x_1}{\sigma_1 + \sigma_2}.$$

Die Wahrscheinlichkeit  $p$  dieser Betrachtung kann folgendermaßen berechnet werden:

$$p = \Psi_0 \left( \frac{x_2 - x_1}{\sigma_1 + \sigma_2} \right),$$

mit  $\Psi_0$  als dem Gauß'schen Fehler Integral. Die Werte von  $\Psi_0(x)$  sind in Handbüchern der Statistik aufgelistet ([47]).

**Tabelle 13:** Wahrscheinlichkeitsmatrix zur Darstellung der biochemisch beobachteten „harnsteinrisikobasierten Verwandtschaftsgrade“ innerhalb der Familie [38]. Wahrscheinlichkeiten  $p$  der Zugehörigkeit der Personen III.1 und III.2 bezüglich ihrer BRI- und RS- Werte zu einer der beiden Risikogruppen. M: mütterliche Linie, P: väterliche Linie. Je niedriger  $p$  ist, desto geringer ist der Grad der Unterscheidung. BRI und RS verhalten sich gleich. Keine Unterscheidung wird beobachtet zwischen den Personen III.1 und P bezüglich des BRI ( $p = 0,548$ ); die größte Unterscheidung wird beobachtet zwischen den Personen III.2 und P ( $p = 0,979$ ).

RS \ BRI	M	III.2	III.1	P
M	—	0.709	0.742	0.736
III.2	0.773	—	0.853	0.934
III.1	0.848	0.922	—	0.637
P	0.926	0.979	0.548	—

Die errechneten Wahrscheinlichkeiten können bei  $p$   $0,5 \leq p \leq 1,0$  liegen; bei  $p = 0,5$  besteht keinerlei Differenzierung. Je größer  $p$ , desto größer die Wahrscheinlichkeit, dass die untersuchten Personen / Proben zu unterschiedlichen Gruppen gehören und vice versa. Der Grad der Unterscheidung erreicht sein Maximum bei  $p = 1$ . Die Existenz von zwei Risikogruppen wie erwähnt wird dadurch eindeutig demonstriert.

Die Unterschiede der Ergebnisse von Person III.1 und Person III.2 sind deshalb von besonderem Interesse, weil sie nicht einer unterschiedlichen Nahrungsaufnahme zugeschrieben werden können; beide Gruppen nahmen täglich mindestens zwei von drei Mahlzeiten gemeinsam ein, wenn auch in unterschiedlichen Mengen.

### **6.2.2 Diskussion der Ausscheidungswerte von Calcium, Citrat und Oxalat**

Alle Proben der Person II.3 übersteigen den ein Risiko anzeigenden Wert für  $\text{Ca}^*$  (5 mmol/d); dagegen liegen die Werte für  $\text{CA}^*$  im nicht risikobehafteten Bereich (Abb. 11 und Tab. 10).

Person III.1, wegen der festgestellten hohen BRI-Werte auch als „risikobehaftet“ angesehen, weist ein ähnliches  $\text{CA}^*$ -Verhalten auf, aber generell niedrigere  $\text{Ca}^*$ -Werte (Abb. 11 und Tab. 10). Es wurde allenfalls gelegentlich eine gesteigerte Freisetzung von  $\text{Ca}^*$  beobachtet, die über dem empfohlenen Wert von 5 mmol/d lag. Es besteht bei dieser Testperson also keine eindeutig erkennbare Beziehung zwischen der Höhe des  $\text{Ca}^*$  einerseits und der darauf bezogenen BRI- und  $\text{RS}_{\text{CaOx}}$ -Werte andererseits.

Dies spiegelt eine häufig beobachtete Situation wider, in der die Kenntnisse der Werte der Ausscheidung an einzelnen lithogenen Substanzen alleine nicht ausreicht, um das aktuelle Kristallisationsrisiko richtig abzuschätzen.

Sowohl Person II.3 als auch Person III.1 weisen Oxalsäureausscheidungen derselben Größenordnung auf, die ganz eindeutig mit ihren Werten in den als „normal“ bezeichneten Bereich fallen (Felder III und IV, Abb. 12). Die mütterliche Linie und Person III.2 zeigen normale Werte für  $\text{Ca}^*$  (etwa halb so hoch wie die Werte von Person II.3). Manche Proben, in der Regel die von Person I.1 und I.2 der mütterlichen Linie, sind durch eine reduzierte  $\text{CA}^*$ -Ausscheidung ( $< 2,2$  mmol/d) im Urin gekennzeichnet.

Hypercalciurischer Urin wurde einmalig von Person II.3 ( $\text{BRI} > 1/1$ ) gebildet, wobei als Kriterium nach [55] das Überschreiten eines stark erhöhten Grenzwertes für die  $\text{Ca}^*$  der Nicht-

Steinbildner (männliche Personen:  $\approx 7,5$  mmol/d, weibliche Personen:  $\approx 6,2$  mmol/d) angewendet wurde.

Überraschenderweise war bei zwei Untersuchungen der durch Person III.2 gebildete Urin (mild) hyperoxalurisch ( $OA^* > 0,5$  mmol/d) (Abb. 12 und Tab. 10), ungeachtet der Tatsache, dass der allgemeine Risikostatus dieser Person der niedrigste von allen Familienmitgliedern ist. Um das Bild zu vervollständigen sei noch erwähnt, dass die Werte der Person I.2 für die renale  $Ca^*$ ,  $CA^*$ , und  $OA^*$ , die in die statistische Auswertung miteinbezogen wurden, alle in den normalen Bereich fallen.

Die  $OA^*$  Werte aller Personen (Abb. 12) fallen in den normalen Bereich, lediglich die Werte von Person III.2 liegen im Grenzbereich. Folglich kann eine gestörte  $OA^*$  nicht der Grund für das beobachtete breite intra-familiäre Spektrum bezüglich des CaOx-Bildungsrisikos sein, obwohl  $OA^*$  von vielen Autoren im allgemeinen als die wichtigste Determinante der Übersättigung des Urins im Hinblick auf CaOx angesehen wird [16, 54, 17, 29, 23, 8].

Daraus könnte geschlossen werden, dass die Ausscheidungswerte der Testpersonen für Calcium und eventuell die der nicht untersuchten Steininhibitoren eher den Schlüsselfaktor darstellen für die völlig unterschiedliche intra-familiäre Risikosituation.

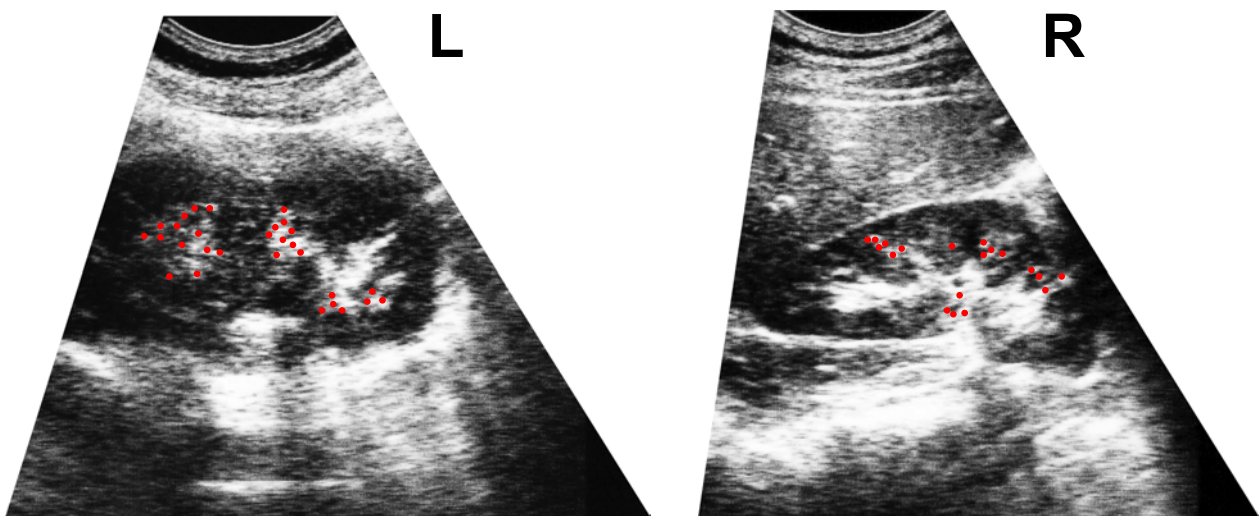
Denn die Ausscheidungswerte für Calcium liegen für Person II.3 im Gefahrenbereich und für Person III.1 immer noch relativ nahe der 5 mmol/d-Grenze. Außerdem ist zu berücksichtigen, dass das Harnvolumen für Person III.1 deutlich geringer ist als das mittlere Harnvolumen der Familie, so dass die Konzentrationen bei Person III.1 also höher sind als ihre Ausscheidungsraten vermuten lassen.

Diese Vermutung ist um so wahrscheinlicher, wenn man berücksichtigt, dass mit zunehmendem Alter die Absorption von Calcium geringer wird [30], was möglicherweise als Beleg angesehen werden kann für einen mit zunehmendem Alter fortschreitenden Mangel an Vitamin D. Wenngleich auch 64 Jahre alt, so repräsentiert Person II.3 immer noch die höchsten Werte für die  $Ca^*$ , gefolgt von seiner Tochter (Person III.1). Beide Personen weisen ja auch das höchste Risiko für CaOx-Kristallisation innerhalb der untersuchten Familie hinsichtlich des BRI's und der  $RS_{CaOx}$  auf. Person III.2 ist offenbar nicht von erhöhten Werten hinsichtlich der  $Ca^*$  betroffen.



### 6.2.3 Ultraschall-Untersuchungen der Nieren von Person III.1 als Konsequenz ihres diagnostizierten hohen Steinbildungsrisikos

Im Rahmen einer Ultraschall-Untersuchung wurden die Nieren von Person III.1 einer genaueren Betrachtung unterzogen, um ihre aktuelle in-vivo Situation darzustellen. Obwohl keinerlei akute Symptome im Bereich des Harntraktes vorlagen, konnten in beiden Nieren bemerkenswerte Mengen an Harngrieß nachgewiesen werden.



**Abbildung 23:** Ultraschall-Aufnahmen der linken (L) und rechten (R) Niere von Person III.1. Deutlich sind in beiden Nieren Schallschatten zu erkennen, welche eindeutig auf das Vorhandensein kleiner Mineralisat-Cluster (•) schließen lassen („Sternenhimmel“). Ausgehend von diesen Mikrolithen kann ein symptomatisches Harnsteinleiden entstehen [38].

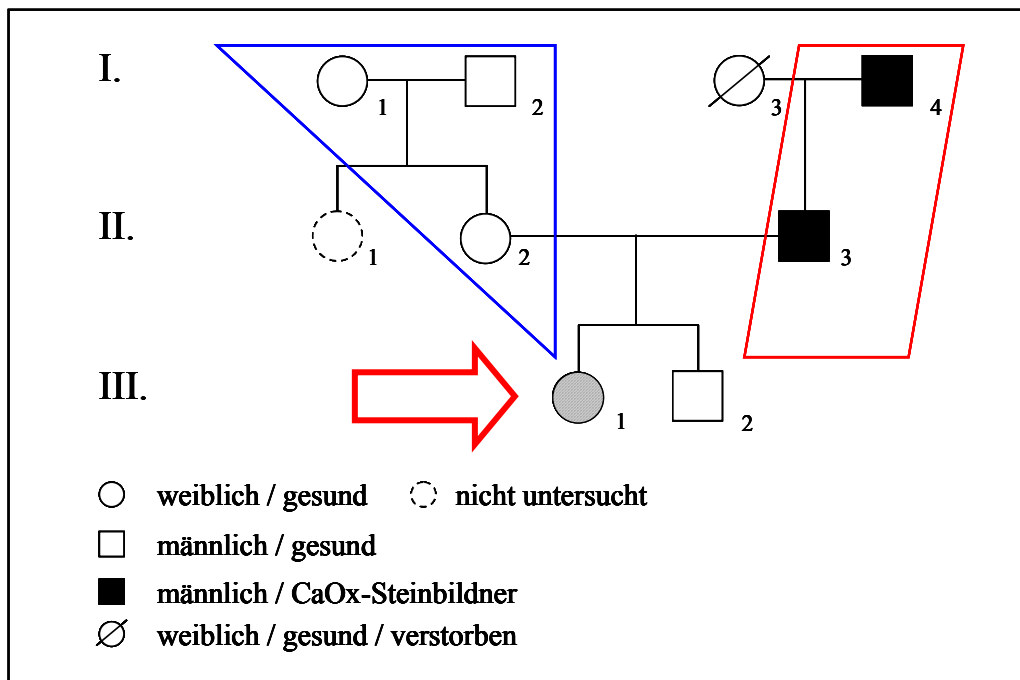
### 6.2.4 Situation für Person III.1 und Ausblick

Das Ergebnis der Ultraschall-Untersuchung läßt den Schluß zu, dass Person III.1 als „Steinbildner“ betrachtet werden muß — ein klarer Beweis für die Richtigkeit der Risikoerhebung durch die Verfahren BONN-Risk-Index und EQUIL.

Im Hinblick auf den genealogischen Baum der Familie und unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Ultraschalluntersuchung von Person III.1 entsteht das Bild des Steinbildungsrisikos als eines autosomal dominanten Merkmales, das mit 50%iger

Wahrscheinlichkeit in seiner Ausprägung von Generation zu Generation weiter vererbt wird und somit eine mögliche Erklärung für die intra-familiäre Verteilung von Steinbildnern und Nicht-Steinbildnern geben könnte. Im Fall dieser untersuchten Familie könnte das Harnsteinleiden als eine familiäre Erkrankung angesehen werden und nicht als eine Erkrankung des einzelnen Individuums.

Der genealogische Baum der Familie kann nach den Ergebnissen der Untersuchungen wie folgt ergänzt werden:



**Abbildung 24:** Nach Auswertung der Untersuchungsergebnisse ergänzter Stammbaum der untersuchten Familie unter dem Aspekt der hereditären Urolithiasis. Die Personen können über die römischen Zahlen (Generation) und eine zugehörige arabische Zahl identifiziert werden. Aufgrund der gewonnenen Ergebnisse muß Person III.1 als asymptotische Steinbildnerin im Initialstadium betrachtet werden.

Generell werden, wenn in einer Familie ein Harnsteinleiden bekannt ist und / oder ein erkanntes erhöhtes Risiko für Steinbildungen vorliegt, prophylaktische Maßnahmen z.B. durch diätetische Maßnahmen, für die jüngeren Generationen empfohlen, um pathologischer Kristallbildung vorzubeugen [30].

Leichter zu überzeugen von der Richtigkeit diätetischer Maßnahmen wird ein junges Mitglied einer solchen Familie dann sein, wenn ein Untersuchungsergebnis auf eine eigene genetische Belastung hinweist.

Die Ermittlung des BONN-Risk-Indexes erwies sich als eine geeignete, schnelle und einfache Methode, um ein dafür erforderliches Screening durchzuführen. Die Erhebung des aktuellen Calciumoxalat-Bildungsrisikos einer Person durch die Untersuchung ihres unbehandelten 24 h – Urins unter Ermittlung des BRI's trägt dem jeweils individuellen, natürlichen Verhältnis aller Urinbestandteile einer Person Rechnung — das „wahre“ Verhältnis von promotorischen, inhibitorischen und inaktiven Substanzen.

Dagegen korrelierten in unseren Ergebnissen eine zu niedrige Ausscheidung von Citrat gar nicht und eine zu hohe Ausscheidung von Oxalat nur geringfügig mit dem Steinbildungsrisiko der Personen. Lediglich die Höhe der Calciumausscheidungen korrelierte mit dem durch Ultraschall-Untersuchungen diagnostizierten bzw. dem durch stattgehabten Steinepisoden nachgewiesenen CaOx-Harnsteinbildungsrisiko.

Ob diese metabolischen Stoffwechselstörungen wie die festgestellte erhöhte Calciumausscheidung von Person II.3 und eingeschränkt von Person III.1 oder auch eine eventuell erniedrigte Ausscheidung von Steininhibitoren renaler, enterischer oder resorptiver Genese sind, ist unbekannt und müsste gegebenenfalls mittels weiterer Untersuchungen geklärt werden.

Resümee:

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich mit der BRI-Methode in der untersuchten Familie ein erhöhtes Steinbildungsrisiko einzelner Familienmitglieder über alle untersuchten drei Generationen nachweisen lässt. Die risikobehafteten Personen sind gekennzeichnet durch bereits erfolgte Steinbildung bzw. durch Ausbildung von Mikrolithen sowie teilweise durch pathologische Ausscheidungswerte. Damit konnten erstmals durch Einsatz der BRI-Methode in einem Screening innerhalb einer Familie mit erhöhtem Steinbildungsrisiko die einzelnen Familienmitglieder, die das erhöhte Risiko tragen, richtig, d.h. in Übereinstimmung mit pathologischen Befunden, bestimmt werden.

Ferner war es hierdurch möglich, bei einer Person ein bisher nicht bekanntes Risiko zu diagnostizieren. Darüber hinaus konnte ein Beleg für bereits früher vermutete genetische Zusammenhänge der Calciumoxalat-Urolithiasis geliefert werden.

Schließlich wurde gezeigt, dass für eventuelle genetische Untersuchungen des Steinbildungsrisikos mit der BRI-Methode eine Familienauswahl vorgenommen werden könnte.

Diese hier dargestellten Ergebnisse wurden bereits teilweise publiziert in:

Laube N, Labedzke V, Hesse A: Determination of urinary calcium-oxalate formation risk with BONN-Risk-Index and EQUIL applied to a family. *J Chem Inf Comput Sci* 42 (2002), 633-9 .

(siehe Anhang).

## 7. Literaturverzeichnis

- [1] Aihara K, Byer KJ, Khan SR. Calcium phosphate-induced renal epithelial injury and stone formation: involvement of reactive oxygen species. *Kidney Int.* 2003 Oct; 64 (4): 1283-91.
- [2] Assimos DG, Holmes RP. Role of diet in the therapy of urolithiasis. *Urologic Clinics of North America* 2000, 27(2): 255-268.
- [3] Atmani F, Khan SR. Role of urinary bikunin in the inhibition of calcium oxalate crystallisation. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 385-388.
- [4] Atmani F, Opalko FJ, Khan SR. Association of urinary macromolecules with calcium oxalate crystals induced in vitro in normal and rat urine. *Urol Res* 1996; 24: 45-50.
- [5] Baggio, B. Genetic and dietary factors in idiopathic calcium oxalate nephrolithiasis. What do we have, what do we need? *J Nephrol.* 1999, 12: 371-374.
- [6] Bleyer AJ, Trachtman H, Sandhu J, Gorry MC, Hart JC. Renal manifestations of a mutation in the uromodulin ( Tamm-Horsefall protein) gene. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 1-7.
- [7] Bolino A, Devoto M, Enia G, Zoccali C, Weissenbach J, Romeo G. Genetic mapping in the Xp11.22 region of a new form of X-linked hypophosphataemic rickets. *Eur J Hum Genet* 1993; 1:269-279.
- [8] Borsatti, A. Calcium oxalate nephrolithiasis: Defective oxalate transport. *Kidney Int.* 1991; 39: 1283-1298.
- [9] Brandt, S. Datenanalyse, ed 2, revised. Mannheim, Wien, Zürich, BF Wissenschaftsverlag, 1981.

- [10] Christmas KG, Gower LB, Khan SR, El-Shall H. Aggregation and dispersion characteristics of calcium oxalate monohydrate: effect of urinary species. *J Colloid Interface Sci.* 2002; 256(1): 168-174.
- [11] Coe FL, Parks JH, Moore ES. Familial idiopathic hypercalciuria. *N. Engl. J. Med.* 1979, 300: 337-340.
- [12] Danpure CJ. Genetic disorders and urolithiasis. *Urol Clin North Am.* 2000 May; 27(2): 287-299.
- [13] Danpure CJ, Smith LH. The primary hyperoxalurias. In: Coe FL, Favus MJ, Pac CYC, Preminger GM, (eds) *Kidney Stones. Medical and Surgical Management.* Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996, pp. 589-881.
- [14] Dufour A. Geschichte der Urologie. In: Toellner R, Hrsg., *Illustrierte Geschichte der Medizin.* Salzburg: Bechtermünz, 2000: 1396-1408.
- [15] Ferrari P, Bonny O. Diagnosis and prevention of uric acid stones. *Ther Umsch.* 2004 Sep; 61 (9):571-574.
- [16] Finlayson B. Calcium stones: some physical and clinical aspects. In: David DS (ed): *Calcium metabolism in renal failure and nephrolithiasis.* Wiley & Sons, New York Chichester, 1977, pp 337-382.
- [17] Finlayson B. Renal lithiasis in review. *Urol. Clin. N. Am.* 1974, 1: 181-212.
- [18] Frymoyer PA, Scheinman SJ, Dunham PB, Jones DB, Hueber P, Schroeder ET. X-linked recessive nephrolithiasis with renal failure. *N Eng J Med* 1991; 325: 681-686.
- [19] Goodman HO, Holmes RP, Assimos DG. Genetic factors in calcium oxalate stone disease. *J. Urol.* 1995, 153: 301-307.

- [20] Hautmann R. Urolithiasis. In: Hautmann R, Huland H, Hrsg., Urologie. Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag, 1997: S. 266-267.
- [21] Herold G. Nephrologie. In: Herold G, Hrsg., Innere Medizin. Köln: Gerd Herold, 2006: 564-566.
- [22] Hess B. Pathophysiology, diagnosis and conservative therapy in calcium kidney calculi. *Ther Umsch.* 2003 Feb; 60 (2):79-87.
- [23] Hesse A, Bongartz D, Heynck H, Berg W. Measurement of oxalic acid: a comparison of five methods. *Clin. Biochem.* 1996; 29(5): 467-472.
- [24] Hesse A, Stark R. Kalziumoxalat-Steine. In: Hesse A, Stark R, Hrsg., Harnstein-Nachsorge in der urologischen Praxis. Berlin: Congress Compact Verlag, 2000: 46.
- [25] Hesse A, Strenge A, Vahlensieck W. Oxalic acid excretion of calcium oxalate stone formers and healthy persons; In: Ryall RL, Brockis JG, Marshall VR, Finlayson B. (eds): *Urinary stone*, Churchill Livingstone, Melbourne-Edinburgh-London-New York, 1984, pp 57-62.
- [26] Hesse A, Tiselius HG, Jahn A. *Urinary stones: diagnosis, treatment, and prevention of recurrence.* 2<sup>nd</sup> revised and enlarged edition. Basel, Karger, 2002, pp 227.
- [27] Hierholzer K, Fromm M. Funktionen der Nieren. In: Schmidt RF, Thews G, Hrsg., *Physiologie des Menschen*. Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 26.Auflage, 1995: S. 769.
- [28] Holmes RP, Assimos DG, Goodman HO. Genetic and dietary influences on urinary oxalate excretion. *Urol. Res.* 1998, 26: 195-200.

- [29] Hylander E, Jarnum S, Nielsen K. Calcium treatment of enteric hyperoxaluria after jejunoileal bypass for morbid obesity. *Scand. J. Gastroenterol.* 1980,15: 349-352.
- [30] Ireland P, Fordtran JS. Effect of dietary calcium and age on jejunal calcium absorption in humans studied by intestinal perfusion. *J. Clin. Invest.* 1973, 52: 2672-2681.
- [31] Janicic N, Soliman E, Pausova Z, Seldin MF, Riviere M, Szpirer J, Szpirer C, Hendy GN. Mapping of the calcium-sensing receptor gene (CASR) to human chromosome 3q13.3-21 by fluorescence in situ hybridization, an localization to rat chromosome 11 and mouse chromosome 16. *Mammalian Genome* 1995, 6(11): 798-801.
- [32] Khan SR, Kok DJ. Modulators of urinary stone formation. *Front Biosci.* 2004 May 1; 9: 1450-1482.
- [33] Khan AS, Rai ME, Gandapur, Pervaiz A, Shah AH, Hussain AA, Siddiq M. Epidemiological risk factors and composition of urinary stones in Riyadh Saudi Arabia. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2004 Jul-Sep; 16 (3): 56-58.
- [34] Kopp N, Leumann E. Changing pattern of primary hyperoxaluria in Switzerland. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1995, 10: 2224-2227.
- [35] Latta K, Brodehl J. Primary hyperoxaluria type I. *Europ. J. Pediat.* 1990, 149: 518-522.
- [36] Laube N, Glatz S, Hesse A. The relation of urinary Tamm-Horsfall-Protein on CaOx-crystallization under the scope of the BONN-Risk-Index. *Urol. Res.* 2001,29: 45-49.
- [37] Laube N, Hergarten S, Hesse A. Comparison of laser-probe and photometer-based determinations of the urinary crystallization risk of calcium oxalate. *Clin. Chem Lab Med* 2002, 40: 595-599.



- [38] Laube N, Labedzke V, Hergarten S, Hesse A. Determination of urinary calcium-oxalate formation risk with BONN-Risk-Index and EQUIL applied to a family. *J Chem Inf Comput Sci.* 2002 May-Jun;42(3):633-9.
- [39] Laube N, Schneider A, Hesse A. A new approach to calculate the risk of calcium-oxalate crystallization from unprepared native urines. *Urol Res* 2000, 28(4): 274-280.
- [40] Leonetti F, Dussol B, Berthezene P, Thirion X, Berland Y. Dietary and Urinary risk factors for stones in idiopathic calcium stone formers compared with healthy subjects. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 617-622.
- [41] Mayerson M. Human genetic variation and disease. *Lancet* 2003; 362:259.
- [42] McGeown MM. Heredity in renal stone disease. *Clin. Sci.* 1960, 19: 465-471.
- [43] Milošević D, Batinić D, Blau N, Konjevoda P, Štambuk N, Votava-Raić A, Barbarić V, Fumić K, Rumenjak V, Stavljenić-Rukavina A, Nižić L, Vrljićak K. Determination of urine saturation with computerprogram EQUIL 2 as a method for estimation of the risk of urolithiasis. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 1998, 38, 646-650.
- [44] Netzer KO, Weber M. Familiäre Nephrolithiasis. In: Köhler H, (Hrsg.), *Thiemes Innere Medizin.* Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag, 1999: 1357-1358.
- [45] Nishio S, Hatanaka M, Takeda H, Aoki K, Iseda T, Iwata H, Yokoyama M. Calcium phosphate crystal associated proteins:  $\alpha$ -2-HS-glycoprotein, prothrombin fragment 1 and osteopontin. *Int J Urol* 2001; 8: 58-62.
- [46] Pak CYC, Arnold LH. Heterogeneous nucleation of calcium oxalate by seeds of monosodium urate. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1975, 149: 930-932.

- [47] Pak CYC, Barilla DE, Holt K, Brinkley L, Tolentino R, Zerwekh JE. Effect of oral purine load and allopurinol on the crystallization of calcium salts in urine with hyperuricemic calcium urolithiasis. *Am. J. Med.* 1978, 65: 593-599.
- [48] Pak CYC, Kaplan R, Bone H, Tonnsend J, Waters O. A simple test for the diagnosis of absorptive, resorptive and renal hypercalciurias. *N. Engl. J. Med.* 1975, 292: 497-500.
- [49] Pak CYC, Peterson R, Poindexter JR. Adequacy of a single stone risk analysis in the medical evaluation of urolithiasis. *J Urol.* 2001 Feb; 165: 378-381.
- [50] Peacock M, Robertson WG. The biochemical aetiology of renal lithiasis; in Wickham IEA (ed): *Urinary calculi disease*. Churchill Livingstone, Edinburgh-London-New York, 1979, pp 69-95.
- [51] Phulwinder K, Dogra SC, Davidson BP, Stapleton AMF, Ryall RL. The prothrombin gene is expressed in the rat kidney. Implications for urolithiasis research. *Eur J Biochem* 2000; 267: 61-67.
- [52] Reed BY, Howard JH, Gitomer WL, Pak CY. Mapping a gene defect in absorptive hypercalciuria to chromosom 1q23.3–q24. *J Clin Endoc Metab* 1999; 84: 3907-3913.
- [53] Resnick M, Pridgen DB, Goodman HO. Genetic predisposition to formation of calcium oxalate renal calculi. *N. Engl. J. Med.* 1968, 278: 1313-1318.
- [54] Robertson WG, Hughes H. Importance of mild hyperoxaluria in the pathogenesis of urolithiasis — new evidence from studies in the Arabian Peninsula. *Scan. Microsc.* 1993, 7: 391-402.
- [55] Robertson WG, Morgan DB. The distribution of urinary calcium excretions in normal persons and stone-formers. *Clin. Chim. Acta* 1972, 37: 503-508.

- [56] Robertson WG, Peacock M, Marshall RW, Speed R, Nordin BEC. Seasonal variations in the composition of urine in relation to calcium stone formation. *Clin Sci Mol Med* 1975; 49: 597.
- [57] Sarig S. The hyperuricosic calcium oxalate stone former. *Miner. Electrolyte Metab.* 1987,13: 251-256.
- [58] Serafini-Cessi F, Maligolini N, Cavallone D. Tamm-Horsfall glycoprotein: biology and clinical relevance. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 658-676.
- [59] Shah O, Assimos DG, Holmes RP. Genetic and dietary factors in urinary citrate excretion. *J Endourol.* 2005 Mar; 19(2): 177-182.
- [60] Simon DB, Nelson-Williams C, Bia MJ, Ellison D, Karet FE, Molina AM, Vaara I, Iwata F, Cushner HM, Koolen M, Gainza FJ, Gitleman HJ, Lifton RP. Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter. *Nature Genet* 1996, 12: 24-30.
- [61] Stapleton AMF, Ryall RL. Blood coagulation proteins and urolithiasis: crystal matrix protein is the F1 activation peptide of human prothrombin. *Br J Urol* 1995; 75: 712-719.
- [62] Sutton RAL, Walker VR. Enteric and metabolic hyperoxaluria. *Miner. Electrolyte Metab.* 1994, 20: 352-360.
- [63] Watts RWE. Idiopathic urinary stone disease: possible polygenetic aetiological factors. *QJM.* 2005 Apr; 98 (4): 241-246.
- [64] Weidner W. Urologische Diagnostik. In: Hautmann R, Huland H, Hrsg., *Urologie.* Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag, 1997: S. 67.
- [65] Weissner U. Hippokrates, Galen. In: v. Engelhardt D, Hartmann F, Hrsg., *Klassiker der Medizin.* München: C. H. Beck: 1991: 24.

- [66] Werness PG, Brown CM, Smith LH, Finlayson B. EQUIL 2: A basic computer program for the calculation of urinary supersaturation. *J. Urol.* 1985, 134: 1242-1244.
- [67] Wrong OM, Noorden AGW, Feist TG. Dent's disease; a familial proximal renal tubular syndrome with low-molecular weight proteinuria, hypercalcaemia, nephrocalcinosis, metabolic bone disease, progressive renal failure and a marked male predominance. *Q J Med* 1994; 87:457-493.

## 8. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung	Einheit
Abb.	Abbildung	—
ADHH	autosomal dominante hypocalcämische Hypercalciurie	—
BMI	Body-Maß-Index	kg/m <sup>2</sup>
BRI	BONN-Risk-Index; $BRI = [Ca^{2+}]/(Ox^{2-})$	pro Liter
$c$	Konzentration	mmol/l
$c_i$	initiale Konzentration	mmol/l
Ca	Calcium	—
[CA]	Citrat	mmol/l
[Ca <sup>2+</sup> ]	Konzentration freier Calciumionen im Urin	mmol/l
[Ca] <sub>tot</sub>	Gesamtkonzentration an gebundenen sowie freien Calciumionen	mmol/l
CaOx	Calciumoxalat; CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	—
Citr	Citrat	—
Cl	Chlorid	—
COD	Calciumoxalat-Dihydrat = Weddellit	—
COM	Calciumoxalat-Monohydrat = Whewellit	—
Cr	Kreatinin	mmol/l
$\sigma_i$	Standardabweichung der Verteilung $i$	—
FBHH	familiäre benigne hypocalciurische Hypercalcämie	—
I.1, I.2, I.4, II.2, II.3, III.1, III.2	Prüfpersonen gemäß Abb. 7	—
I $\alpha$ I	Inter- $\alpha$ -Inhibitor	—
INR	International Normalized Ratio (= Prothrombinzeit)	—
IS	Ionenstärke	—
K	Kalium	—
Krea	Kreatinin	mmol/l
$\lambda$	Wellenlänge	nm
LS	Lasersonde	—
$n$	Anzahl, z. B. Familienmitglieder oder Titrationsschritte; $n = 1, 2, 3, \dots$	—

Abkürzung	Bedeutung	Einheit
m	männlich	—
M	mütterliche Linie	—
Mg	Magnesium	—
MUB	Probenkennung	—
Na	Natrium	—
NH <sub>4</sub>	Ammonium	—
NH <sub>4</sub> Ox	Ammoniumoxalat; (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	—
OA*	Oxalsäureausscheidung	mmol/d
Ox	Oxalsäure	—
[Ox <sup>2-</sup> ]	Oxalsäurekonzentration im Urin	mmol/l
(Ox <sup>2-</sup> )	zutitrierte Menge Ammoniumoxalat zur Auslösung der CaOx-Kristallisation (bezogen auf 200 ml Harnprobe)	mmol
<i>p</i>	Wahrscheinlichkeit; $p = \Psi_0$ von ( $x$ ), mit $x = (x_2 - x_1) / (\sigma_1 + \sigma_2)$ , wobei $\Psi_0$ = Gauß'sches Fehler Integral	—
P	väterliche Linie	—
PO <sub>4</sub>	Phosphat	—
$\Psi_0$	$\Psi_0$ = Gauß'sches Fehler Integral	—
r	Korrelationskoeffizient	—
RS	Modellwert der relativen Harnübersättigung, errechnet über das Computerprogramm <i>EQUIL</i>	—
RS <sub>CaOx</sub>	relative Übersättigung an Calciumoxalat	—
SG	Spezifisches Gewicht	g/cm <sup>3</sup>
SNHPT	schwerer neonataler Hyperparathyreoidismus	—
SO <sub>4</sub>	Sulfat	—
t	Zeit	d
T	Temperatur in Grad Celsius	° C
Tab.	Tabelle	—
U	Harnstoff	—
$\nu$	Molvolumen	mm <sup>3</sup> /mol
V	Volumen	l

<b>Abkürzung</b>	<b>Bedeutung</b>	<b>Einheit</b>
vs.	versus	—
w	weiblich	—
WHO	World Health Organisation	—
$x^*$	Ausscheidung der Substanz $x$	mmol/Zeit- einheit
$x_i$	Mittelwert der Verteilung $i$	—
$X$	Probe	—

Entgegen den Vorschriften in den rein naturwissenschaftlichen Disziplinen werden hier nicht immer die SI-Einheiten verwendet, sondern medizinisch sinnvoll angepasste Einheiten.

## 9. Abbildungsverzeichnis

	Seite
<b>Abb. 1:</b> Harnblasensteine. Stich aus dem 18. Jh. ....	11
<b>Abb. 2:</b> Harnschau. Stich des 16. Jh. ....	12
<b>Abb. 3:</b> Modell der Kausal- und Formagenese des Harnsteinleidens.....	13
<b>Abb. 4:</b> Laborarbeitsplatz zur Bestimmung des BRI .....	22
<b>Abb. 5:</b> Schematische Darstellung des Arbeitsplatzes .....	22
<b>Abb. 6:</b> Diagramm zur Charakterisierung des BONN-Risk-Index .....	23
<b>Abb. 7:</b> Stammbaum der untersuchten Familie unter dem Aspekt der hereditären Urolithiasis.....	30
<b>Abb. 8:</b> Graphische Darstellung der Wirkorte verschiedener Diuretika.....	41
<b>Abb. 9:</b> BRI-Diagramm zur Verteilung der $(\text{Ox}^{2-})$ - und $[\text{Ca}^{2+}]$ -Mittelwerte und der relativen Standardabweichungen der „väterlichen“ (P) und der „mütterlichen“ (M) Linie wie auch der beiden Personen aus Generation III.....	42
<b>Abb. 10:</b> Graphische Darstellung der Mittelwerte des BONN-Risk-Index gegen die relative CaOx-Übersättigung mit Standardabweichungen.....	44
<b>Abb. 11:</b> Graphische Darstellung der mittleren 24 h-Calciumausscheidung, $\text{Ca}^*$ , gegen die mittlere 24 h-Citratausscheidung, $\text{CA}^*$ , sowie der zugehörigen Standardabweichungen, der „mütterlichen“ (M) und „väterlichen Linie“ (P) wie auch der beiden Personen aus Generation III.....	45
<b>Abb. 12:</b> Graphische Darstellung der mittleren 24-stündigen Calciumausscheidungen im Urin gegen mittlere 24-stündige Oxalsäure-Ausscheidungen mit Standardabweichungen .....	46
<b>Abb. 13:</b> Graphische Darstellung der Quotienten aus $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{Ca}]_{\text{tot}}$ gegen die jeweiligen pH-Werte, zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient $r = 0,078$ .....	49
<b>Abb. 14:</b> Graphische Darstellung der Quotienten aus $[\text{Ca}^{2+}]/[\text{Ca}]_{\text{tot}}$ gegen die jeweiligen 12 h-Urinvolumina zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient $r = 0,493$ . ....	49
<b>Abb. 15:</b> Graphische Darstellung der BRI-Werte gegen die jeweiligen 12 h- Urinvolumina zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient $r = 0,133$ .....	50



<b>Abb. 16:</b> Graphische Darstellung der pH-Werte gegen die jeweiligen 12 h-Urinvolumina zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient $r = 0,028$ .....	50
<b>Abb. 17:</b> Graphische Darstellung der Citratkonzentrationen gegen die jeweiligen 12 h-Urinvolumina zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient $r = 0,381$ .....	51
<b>Abb. 18:</b> Graphische Darstellung der Citratkonzentrationen gegen die jeweiligen pH-Werte zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient $r = 0,004$ .....	51
<b>Abb. 19:</b> Graphische Darstellung der Citratkonzentrationen gegen die jeweiligen Konzentrationen an ionisiertem Calcium $[Ca^{2+}]$ zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient $r = 0,397$ .....	52
<b>Abb. 20:</b> Graphische Darstellung der Citrat-Konzentrationen gegen die jeweiligen BRI-Werte zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient $r = 0,411$ .....	52
<b>Abb. 21:</b> Graphische Darstellung der Konzentrationen an ionisiertem Calcium gegen die jeweiligen pH-Werte zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechneter Korrelationskoeffizient $r = 0,098$ .....	53
<b>Abb. 22:</b> Graphische Darstellung der Konzentrationen an ionisiertem Calcium gegen die jeweiligen Gesamtcalcium-Konzentrationen zur Ermittlung einer möglichen Korrelation. Berechnete Korrelationskoeffizienten: Ursprungsgerade --- $r = 0,866$ , Best-fit — $r = 0,855$ .....	53
<b>Abb. 23:</b> Ultraschall-Aufnahmen der linken (L) und rechten (R) Niere von Person III.1 .....	73
<b>Abb. 24:</b> Nach Auswertung der Untersuchungsergebnisse ergänzter Stammbaum der untersuchten Familie unter dem Aspekt der hereditären Urolithiasis.....	74
<b>Abb. 25:</b> Wetterbedingungen an den Probetagen zu verschiedenen Zeitpunkten.....	103

## 10. Tabellenverzeichnis

	Seite
<b>Tab. 1:</b> Übersicht der im Urin untersuchten Parameter mit entsprechenden Referenzbereichen bzw. Normbereichen für 24 h .....	24
<b>Tab. 2:</b> Übersicht über die im Rahmen der Untersuchungen im Blut bestimmten Hormone mit entsprechenden Referenzbereichen .....	26
<b>Tab. 3:</b> Übersicht über die im Rahmen der Untersuchungen ermittelten Serumproteine mit entsprechenden Referenzbereichen.....	27
<b>Tab. 4:</b> Übersicht der im Rahmen der Untersuchungen bestimmten Werte der klinischen Chemie des Blutes mit entsprechenden Referenzbereichen.....	27
<b>Tab. 5:</b> Individuelle Medikation der Probanden zum Zeitpunkt der Untersuchungen.....	33
<b>Tab. 6:</b> Klassifizierung des Body–Mass–Index .....	33
<b>Tab. 7:</b> Übersicht über Alter, BMI und Medikation der Studienteilnehmer .....	34
<b>Tab. 8:</b> Ergebnisse der BRI-Ermittlungen.....	38
<b>Tab. 9:</b> Ergebnisse der Berechnungen der relativen Übersättigung des Urins im Hinblick auf CaOx .....	39
<b>Tab. 10:</b> Ergebnisse der Urinalysen aller untersuchten Personen sowie der daraus errechneten Werte für BRI und RS .....	55
<b>Tab. 11:</b> Ergebnisse der Blutanalysen .....	59
<b>Tab. 12:</b> Zusammenfassende Übersicht der diskutierten biochemischen Faktoren (Parameter), die durch eine genetisch determinierte Veränderung zur Ausbildung eines CaOx-Harnsteinleidens beitragen können .....	67
<b>Tab. 13:</b> Wahrscheinlichkeitsmatrix zur Darstellung der biochemisch beobachteten „harnsteinrisikobasierten Verwandtschaftsgrade“ innerhalb der Familie .....	70

## 11. Anhang

### 11.1 Auswahl repräsentativer Ernährungsprotokolle

Ernährungsprotokoll MUB 17, 26.02.2001	
<u>Frühstück, 08:00 h :</u>	1 Scheibe Roggenbrot (50 g) 2 Scheiben Schwarzbrot (90 g) Gouda, 45 %, (30 g) Honig, 1 Teelöffel 1 Hühnerei 1 Tasse Kaffee mit Milch
<u>Mittagessen, 13:00 h :</u>	Cornflakes (60 g) Milch (150 ml) 1 Eßlöffel Zucker 1 Joghurt, 3,5 %, mit Erdbeeren 2 Berliner 2 Gläser Wasser (à 0,2 l)
<u>Abendessen, 19:00 h :</u>	2 Teller Linsensuppe (ohne Fleisch) 1 Joghurt, 3,5 %, mit Waldbeeren 1 Scheibe Roggenbrot (30 g) 3 Gläser Wasser (à 0,2 l)

Ernährungsprotokoll MUB 18, 28.02.2001	
<u>Frühstück, 07:00 h :</u>	2 Tassen Kaffee mit Milch 2 Brötchen, (Weißmehl) 1 Scheibe Fleischwurst mit Pistazien 1 Scheibe Gouda
<u>Mittagessen, 12:00 h :</u>	Lachs, in Distelöl gebacken Kartoffel, in Salzwasser gekocht Eisbergsalat Radieschen 2 Glas Wasser à 0,2 l
<u>Nachmittags, 15:00 h :</u>	4 Stück Zartbitterschokolade 1 Glas Wasser à 0,2 l
<u>Abendessen, 18:00 h :</u>	2 Brötchen, (Weißmehl) 1 Scheibe Salami 1 Scheibe Gouda 2 Glas Wasser à 0,2 l

Ernährungsprotokoll  
MUB 19, 28.02.2001

<u>Frühstück, 07:00 h :</u>	1 Tasse Kaffee mit Milch 2 Croissants
<u>Mittagessen, 14:00 h :</u>	0,33 l Cola light Spinatpizza „American Style“ Salat, gemischt, Dressing
<u>Abendessen, 18:30 h :</u>	2 Scheiben Graubrot 2 Scheiben Gouda, mittelalt 2 Crème caramèle 1 Milchkaffee 0,33 l Cola light 0,2 l Limettensirup mit Wasser

Ernährungsprotokoll  
MUB 20, 06.03.2001

<u>Frühstück, 08:00 h :</u>	—————
<u>Mittagessen, 14:00 h :</u>	4 Scheiben Graubrot (à 30 g) Halbfettbutter 6 Scheiben Cervelatwurst 3 Gläser Cola light (à 0,2 l)
<u>Abendessen, 18:00 h :</u>	2 Scheiben Graubrot (à 30 g) 4 Scheiben Salami 1 Glas Cola light (à 0,3 l) 1 Glas Apfelsaftschorle (à 0,3 l) 1 Magnum (Zartbitter)

Ernährungsprotokoll  
MUB 21, 14.03.2001

<u>Frühstück, 08:00 h :</u>	1 Tasse Kaffee mit Milch 2 Scheiben Graubrot á 40 g 1 Scheibe Salami 1 Scheibe Gouda Erdbeermarmelade
<u>Mittagessen, 14:00 h:</u>	2 Brötchen 2 Scheiben Gouda 2 Scheiben Schinken 2 Gläser Mineralwasser (à 0,2 l) 1 Apfelberliner
<u>Abendessen, 18:00 h :</u>	2 Gläser Kölsch (à 0,2 l) 1 Putenschnitzel mit Früchten 1 großer gemischter Salat 250 g Pommes frites

Ernährungsprotokoll  
MUB 23, 15.03.2001

<u>Frühstück, 06:30 h :</u>	1 Tasse Pfefferminztee 2 Croissants
<u>Mittagessen, 14:00 h :</u>	½ Hähnchen, gegrillt 1 Brötchen (Weißmehl) 0,3 l Cola light
<u>Abendessen, 19:00 h :</u>	1 Pizza "Frutti di Mare" 100 g Schinchenchips 0,6 l Cola light 0,3 l Leitungswasser

Ernährungsprotokoll  
MUB 24, 18.03.2001

<u>Frühstück, 07:45 h :</u>	1 Brötchen (Weißmehl) Butter 1 Scheibe Schinken Marmelade 2 Tassen Kaffee mit Milch
<u>Mittagessen, 12:00 h :</u>	Schweinefleisch Kartoffeln Erbsen, Möhren 1 Tasse Fleischbrühe Vanilleeis mit Sahne 1 Glas Mineralwasser, Stille Quelle (à 0,2 l)
<u>Nachmittag, 16:00 h :</u>	2 Tassen Kaffee mit Milch 6 Plätzchen
<u>Abendessen, 18:00 h :</u>	1 Flasche Kölsch (à 0,5 l) 1 Brötchen (Weißmehl) 1 Scheibe Graubrot Butter 2 Scheiben Schinken

Ernährungsprotokoll  
MUB 25, 18.03.2001

<u>Frühstück, 07:00 h :</u>	2 Tassen Café au lait 40 g Cornflakes 0,3 l Vollmilch
<u>Mittagessen, 12:00 h :</u>	1 Baguette (125 g) Kräuterbutter 2 Tassen Pfefferminztee
<u>Abendessen, 18:00 h :</u>	1 Scheibe Graubrot 1 Toast 1 Scheibe Gouda 3 Cornichons 10 Radieschen 1 Ei 0,6 l Mineralwasser 1 Domino Eis

## 11.2 Poster zum 54. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Urologie, 2002

54. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für Urologie, 18. – 21. September 2002, Wiesbaden



## ERMITTLUNG DES KALZIUMOXALAT— KRISTALLISATIONSRIKOS VON KINDERN MIT STEINBILDENDEN VERWANDTEN



Norbert Laube, Vera Labedzke, Albrecht Hesse  
Experimentelle Urologie, Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsklinikum Bonn  
norbert.laube@ukb.uni-bonn.de

### ZUSAMMENFASSUNG UND PROBLEMSTELLUNG

- Es gibt Hinweise, daß auch beim Kalziumoxalat-Steinleiden eine genetische Disposition beteiligt sein kann.
- Die familiäre Häufung der Steinbildung liegt bei über 30%.
- Aus prophylaktischer Sicht ist es daher von großer Wichtigkeit, daß die Kinder, welche das Harnsteinbildungsrisiko ihrer Verwandten eventuell ererbt haben, bereits vor dem Auftreten eines symptomatischen Harnsteinleidens erkannt werden.
- Am Beispiel einer betroffenen Familie wird der BONN-Risk-Index als eine Screening-Methode vorgestellt, welche es ermöglicht, die Verteilung des CaOx-Kristallisationsrisikos innerhalb einer Familie zuverlässig, einfach und kostengünstig zu bestimmen.

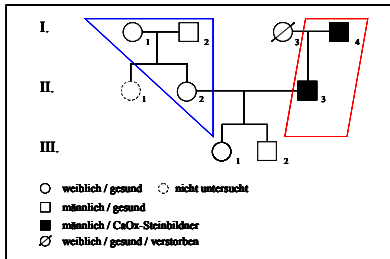


Abbildung 1: Stammbaum der untersuchten Familie. Die Personen können über die römischen Zahlen (Generation) und einer zugehörigen arabischen Zahl identifiziert werden. Im folgenden werden die Personen in der roten Box als „väterliche Linie“, diejenigen Personen in der blauen Box als „mütterliche Linie“ zusammengefaßt.

### MATERIAL UND METHODEN

- Zur Untersuchung der generationsübergreifenden Ausbildung des Harnsteinbildungsrisikos wurden 3 Generationen einer Familie untersucht. Die väterliche Linie leidet seit mindestens 2 Generationen an rezidivierenden CaOx-Steinen. Die mütterliche Linie und die 2 Mitglieder der jüngsten Generation (III) galten als „steinfrei“ (Abbildung 1).
- Der BONN-Risk-Index zur Ermittlung des CaOx-Kristallisationsrisikos [1], BRI, und die relative CaOx-Übersättigung des Urins, RS (EQUIL [2]), wurden von jeder Person (n=7) an drei 24h-Urinen bestimmt. Es wurde keine Diät auferlegt.

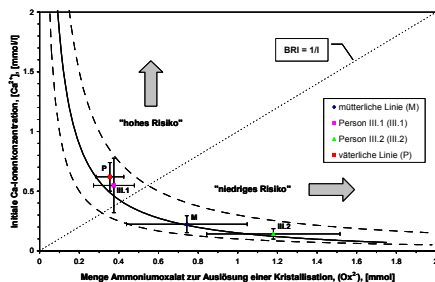


Abbildung 2: Mittelwerte ( $Ox^{2+}$ ) und  $[Ca^{2+}]$  sowie die zugehörigen Standardabweichungen, jeweils für die untersuchten Personen(gruppen). Der BONN-Risk-Index, BRI, ergibt sich aus  $BRI = [Ca^{2+}]/(Ox^{2+})$ . Graphisch wird der BRI als Steigung der Ursprungsgeraden durch den Meßpunkt veranschaulicht.

### LITERATUR

- [1] Laube N, Schneider A, Hesse A. Urol Res 2000; 28: 274-80.
- [2] Werness PG, Brown CM, Smith L, Finlayson B. J Urol 1985; 134: 1242-4.
- [3] Laube N, Hergarten S, Hesse A. Clin Chem Lab Med 2001; 39: 966-9.
- [4] Laube N, Labedzke V, Hergarten S, Hesse A. J Chem Inf Comput Sci 2002; 42: 633-9.

### ERGEBNISSE

- Die väterliche Linie weist deutlich höhere Risikowerte ( $BRI=1.88/l$ ), als die mütterliche Linie ( $BRI=0.38/l$ ) auf (Abbildung 2).
- Die jüngste Generation spiegelt diese Ungleichverteilung wider: während Person III.2 die niedrigen Risikowerte seiner mütterlichen Verwandten aufzeigt ( $BRI=0.14/l$ ), erreicht Person III.1 die Risikowerte der väterlichen Linie ( $BRI=1.67/l$ ).
- Dieses Ergebnismuster wird von den RS-Daten bestätigt (Abbildung 3).
- Eine auf Grund dieser Ergebnisse durchgeführte Ultraschall-Untersuchung der Nieren von Person III.1 ergab eine beginnende pathologische Kristallbildung in beiden Nieren (Abbildung 4).
- Die detaillierte Auswertung der biochemischen Analysen deutet auf ein (gemeinsames) Kalziumstoffwechselproblem der Erkrankten und des risikobehafteten Familienmitgliedes hin [4].

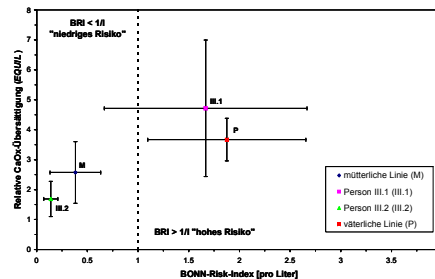


Abbildung 3: Mittelwerte der gemessenen BRI-Werte und der berechneten Modellwerte der relativen CaOx-Urinsättigung sowie die zugehörigen Standardabweichungen, jeweils für die untersuchten Personen(gruppen).

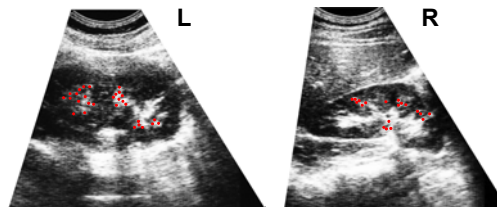


Abbildung 4: Ultraschall-Aufnahmen der linken (L) und rechten (R) Niere von Person III.1. Deutlich sind in beiden Nieren Schallschatten zu erkennen, welche eindeutig auf das Vorhandensein kleiner Mineralisat-Cluster (•) schließen lassen („Stemenhimmel“). Ausgehend von diesen Mikrolithen kann ein symptomatisches Harnsteinleiden entstehen.

### DISKUSSION UND SCHLUSSFOLGERUNG

- Noch klinisch unauffällig, konnte Person III.1 durch das BRI-Screening als bereits pathologisch mineralisatbildende Patientin erkannt werden [4].
- Eine autosomal dominante Vererbung des Harnsteinleidens kann die intrafamiliäre Verteilung der steinbildenden und nicht-steinbildenden Mitglieder erklären.
- Die Untersuchung von Kindern aus Steinrisikofamilien ist eine wichtige Prophylaxemaßnahme.
- Der BONN-Risk-Index ist eine einfache und kostengünstige Strategie zur Bestimmung des aktuellen Risikostatus.

FÖRDERUNG  
Deutsche Forschungsgemeinschaft, He-1132/11-4

## 11.3 Publikation

*J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42*, 633–639

633

**Determination of Urinary Calcium-Oxalate Formation Risk with BONN-Risk-Index and EQUIL Applied to a Family**Norbert Laube,\*<sup>†</sup> Vera Labedzke,<sup>†</sup> Stefan Hergarten,<sup>‡</sup> and Albrecht Hesse<sup>†</sup>

Division of Experimental Urology, Department of Urology, Bonn University, Germany, and Geodynamics and Physics of the Lithosphere, Bonn University, Germany

Received November 12, 2001

Apart from environmental and acquired risk factors, a person's genetic predisposition may have a distinct influence on the probability of the onset of urolithiasis. To investigate the family related development of calcium oxalate, CaOx, crystallization risk, we studied urines from three generations of the same family. The paternal line has been suffering from CaOx-urolithiasis for at least two generations; no case of urolithiasis has been reported from the maternal line and the youngest generation. We applied the BONN-Risk-Index and the computer program EQUIL to determine the crystallization risk of each family member ( $n = 7$ ). We clearly verified by probability calculations of the existence of the two risk groups within the family and showed that one of the siblings of the youngest generation may have inherited the stone-formation risk from its paternal relatives as this person clearly reflects a high risk pattern.

## INTRODUCTION

Pathological crystal formation in the urinary tract is the result of a complex interplay of a number of different physicochemical and biochemical processes; at least one of which must be dysfunctional. A wealth of reasons exist for such a dysfunction. Apart from environmental and acquired (and anatomic) risk factors, a person's hereditary predisposition may have a distinct influence on the probability of suffering from urolithiasis. In the case of a genetically caused nephrolithiasis, the genetic defect is often transmitted from the parents to their children.<sup>1–2</sup> In around two-thirds of all stone-formers a metabolic disorder can be diagnosed. The other fraction, the so-called idiopathic stone-formers, show concentrations of the lithogenic substances in both blood and urine,<sup>3</sup> which fall within the normal range.

Focusing on the most common type of urinary calculi, the salts calcium-oxalate-monohydrate (whewellite) and calcium-oxalate-dihydrate (weddelite), the main risk factors associated with formation are hypercalciuria, hyperoxaluria, and hypocitraturia. These phenomena increase with high impact urinary supersaturation in relation to CaOx. For each of these general factors, a number of subgroups indicating the different origins which are involved in the particular pathogenesis can be distinguished.<sup>4,5</sup> Evidence suggests that, in some subgroups, genetic disorders contribute to the development of urolithiasis through a complex interplay with environmental factors. Only a few of the manifestations are caused by a monogenetic defect; they represent, without exception, severe symptoms with very low prevalence.<sup>6–9</sup> Most types of CaOx stone disease are due to a polygenetic

etiology;<sup>10,11</sup> however, in these cases the genetic predisposition alone is not sufficient to cause pathological urinary stone-formation. It is mostly a polygenetic defect in combination with unfavorable environmental factors which results in real disease. Idiopathic hypercalciuria, the most common reason for the pathological formation of calcium salts, has been described as reflecting a polygenetic autosomal dominant trait<sup>10,12,13</sup> affecting both sexes equally.

Comprehensive surveys of this topic have recently been published by Goodman et al. (1995)<sup>10</sup> and Baggio (1999);<sup>14</sup> the latter points to the work still required in order to understand the pathogenesis of nephrolithiasis in detail.

In this study, the members of three generations of the same family, from which only the paternal line is affected by a recurrent CaOx-stone disease, were tested for their individual risk to actually form CaOx-stones. The members of the youngest generation are still regarded as "clinically healthy".

The scope of this work is to investigate with examples the CaOx-crystallization risk of the family members and to evaluate whether the paternal line's risk can also be traced to the youngest generation. In a comparative study we quantified the urinary CaOx crystallization risk of test persons based on both the BONN-Risk-Index approach (BRI)<sup>15</sup> and the value of the urinary relative CaOx-supersaturation ( $RS_{CaOx}$ ) computed by the EQUIL-program.<sup>16–18</sup>

If an increased formation risk is assigned to the youngest generation, prophylactic measures to protect them from stone formation in the future should be taken.

## MATERIAL AND METHODS

Seven persons representing three generations of a family were tested for their actual risk of forming calcium oxalate crystals. All persons were highly motivated and showed a high compliance.

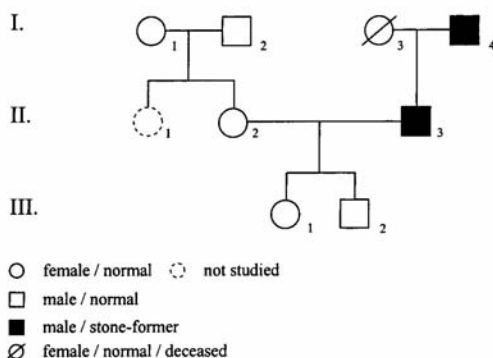
Figure 1 illustrates the family relationship, the individual persons' status with respect to urolithiasis, and shows the

\* Corresponding author phone: ++49 (0)228 287 9106; fax: ++49 (0)228 287 6344; e-mail: norbert.laube@ukb.uni-bonn.de. Corresponding author address: Klinik und Poliklinik für Urologie, Experimentelle Urologie, Sigmund-Freud-Strasse 25, D-53105 Bonn, Germany.

<sup>†</sup> Division of Experimental Urology, Department of Urology, Bonn University.

<sup>‡</sup> Geodynamics and Physics of the Lithosphere, Bonn University.





**Figure 1.** Genealogical tree of the investigated family. The roman numeral of the generation followed by the person's arabic number allows the identification of any person.

**Table 1.** Person I.3 Deceased (No Stones Reported)<sup>b</sup>

person	age	status	BMI	medication						
				A	B	C	D	E	F	G
I.1	82	H	22.9	-	+	+	+	+	-	-
I.2	85	H	23.2	-	+	+	-	-	-	-
I.4	92	P	29.4	-	+	+	+	+	+	+
II.2	55	H	30.0	-	-	-	+	-	-	+
II.3	64	P	26.4	+	+	+	+	-	-	-
III.1	26	H	22.4	-	-	-	-	-	-	-
III.2	22	H	22.4	-	-	-	-	-	-	-

<sup>a</sup> Acute medication; for details see text. <sup>b</sup> Status: H nonstone-former, P stone-former. BMI: body mass index [kg/m<sup>2</sup>], medication (occasionally administered during last six months): A stone related, B blood pressure, C cardiac stimulant, D anticoagulation, E diuretics, F laxatives, G hormones.

identification scheme as a combination of a roman numeral (generation) and an arabic number (person).

In Table 1 further information with respect to age, body mass index, and occasional medication is given. With respect to the instructions given in the manufacturer's package circular and the more detailed doctor's information, no direct and definite relationship between an administered medication and the general stone formation risk was established.

Persons II.2, II.3, III.1, and III.2, on one hand, and persons I.1 and I.2, on the other hand, are living in the same households, following the same diet. Person I.4 is living in a single household. No particularities with respect to the dietary habits existed in any person (e.g. vegetarians, no vitamin supplementation). For control, dietary records were taken at any sampling day. Person II.1 was not available for study; however, no stone history has been reported.

The study was performed during the period from January to March to exclude potential seasonal variations in urinary composition (all test persons were affected by the same meteorological situation as they all live in the conurbation of the City of Bonn, Germany). No dietary restrictions were issued. The sampling days were chosen by chance to ensure that the urine sample taken represents the daily life situation of any proband with respect to both nutrition and physical activity. All volunteers were outpatients and collected 24-h urines in two 12-h fractions (07:00 a.m.–07:00 p.m. and 07:00 p.m.–07:00 a.m.) without any chemical pretreatment. During the collection period the urine was stored at 4 °C. A

dip-stick test (Combur<sup>®</sup>Test, Boehringer, Mannheim, Germany) was used in order to test the urine samples for nitrite as a marker for urinary tract infection; none of the samples showed a "nitrite positive" reaction.

The initial concentration of ionized calcium, [Ca<sup>2+</sup>], was measured by a calcium-selective electrode (Metrohm, Herisau, Switzerland, relative accuracy ± 3%). Crystallization experiments according to refs 15 and 19 were carried out in order to determine the BRI (no dilution, no preservation, no pH-adjustment of the urine sample). CaOx-particle formation was triggered within 200 mL aliquots of the urine samples by step-by-step addition of ammonium oxalate solution (0.04 N, 0.5 mL/step, 1.5 mL/min). During the experiment, the urine samples were kept at 37 °C and were well mixed by a low shear force stirrer. The onset of CaOx-crystallization was detected by an inline laser probe crystal system analyzer (Messtechnik Schwarz GmbH, Düsseldorf, Germany). The dramatic change in both the particle size distribution and the particle number at crystallization onset enables clear determination of this event. From the initial [Ca<sup>2+</sup>] and the amount of ammonium oxalate, (Ox<sup>2-</sup>), which has to be added to the urine sample to detect a CaOx-crystallization, the BRI was calculated as  $BRI = [Ca^{2+}]/(Ox^{2-})$ .

Apart from volume and specific weight determination, routine chemical analyses were performed. The following parameters were determined: pH, sodium, potassium, total calcium, magnesium, ammonium, chloride, phosphate, sulfate, creatinine, uric acid, citric acid, and oxalic acid. From these data we calculated 24-h excretion rates and computed the relative supersaturations with respect to CaOx,  $RS_{CaOx}$ , using the EQUIL-program.<sup>16–18</sup> Based on the results of the BRI-determinations we tested the existence of distinct risk subgroups within the family with a mathematical probability approach. Additionally, urinary excretion rates were discussed in order to limit the reasons for certain risk expressions.

## RESULTS

No crystals were present in the urine samples at the end of the collection period. Table 2 shows the number of samples taken from each person and depicts the detailed results of the BRI-determinations.

The urine volume may be a potential factor influencing the crystallization risk. However, no relevant relation between the urine volume and BRI was observed ( $r = 0.15$ ). The 24-h creatinine excretions, Cr\*, are calculated as a control of metabolic activity. Except for generation II, the intraindividual variations of Cr\* are below 9.7% at a mean of 5.6% (II.2 = 14.7%, II.3 = 14.2%). This result is noticeably low, considering the individual living conditions from which they are derived, and it indicates a high degree of intraindividual standardization with respect to both physical activity and nutritional behavior. Table 3 gives the results of the  $RS_{CaOx}$  calculations obtained from the 12-h fractions of each proband.

The data of person I.2 are given but are not taken into account for further statistics as his state of health severely deteriorated during the sampling period and immediate medical treatment with furosemide, inter alia, was required. Nevertheless, the calculated mean 24-h BRI and  $RS_{CaOx}$  of his two sampling days were 0.67 L<sup>-1</sup> and 1.36 L<sup>-1</sup> and 1.44 and 2.40, respectively.

**Table 2.** Results of BRI [Per Liter] Determinations<sup>b</sup>

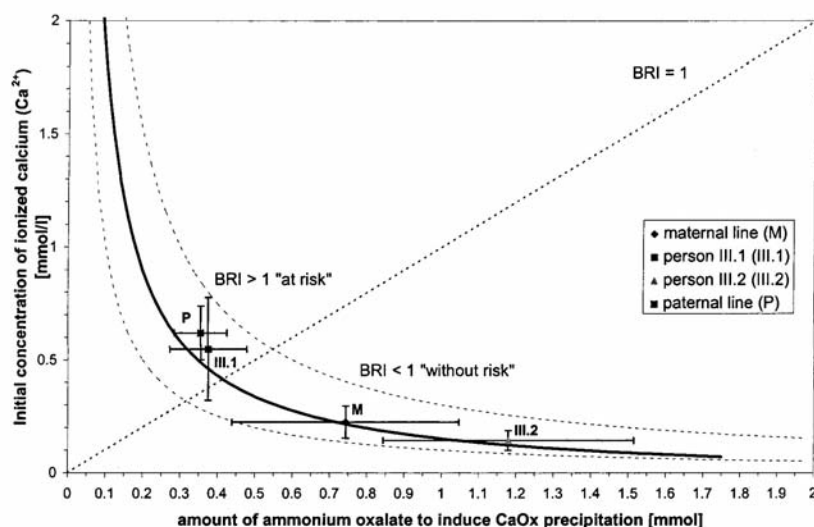
	stone formers				nonstone formers									
	I.4		II.3		III.1		III.2		II.2		I.2		I.2	
1	0.12 <sup>a</sup>	1.01 <sup>a</sup>	1.79	1.63	1.07	2.41	0.10	0.04	0.61	0.17	0.33	0.22	0.65	0.74
2	2.10 <sup>a</sup>	0.07 <sup>a</sup>	2.31	3.61	0.74	1.01	0.26	0.13	0.74	0.22	0.23	0.10	0.33	0.91
3			1.88	1.09	2.38	0.94	0.09	0.18	0.20	0.12	0.11	0.33	0.27	0.26
4			1.51	1.18	1.20	3.43	0.19	0.19						
5					0.56	2.88								
M	nd	nd	1.87	1.88	1.19	2.13	0.16	0.14	0.52	0.17	0.22	0.22	0.42	0.64
S	c	c	c	c	c	c	d	d	d	d	d	d	d	d
V	808	901	1218	888	1141	650	1513	1316	1533	1450	653	425	655	473
Cr*	8.76		16.84		13.11		16.21		16.96		7.56		12.92	
SD	0.45		2.41		0.88		0.65		2.49		0.73		0.32	

<sup>a</sup> Patient was treated with furosemide in order to avoid oedema formation; samples have been neglected for further statistics. <sup>b</sup> Person identification according to Figure 1. Left column: fraction 1 (07 a.m. – 07 p.m.), right column: fraction 2 (07 p.m. – 07 a.m.). M: mean BRI-value, S: risk status according to BRI, V: mean urine volume [ml], Cr\*: mean 24-h creatinine excretion [mmol/d], SD: standard deviation of Cr\* [mmol/d].<sup>c</sup> At risk. <sup>d</sup> Without risk.

**Table 3.** Relative Urinary Supersaturations with Respect to CaOx<sup>a</sup>

	stone formers				nonstone formers									
	I.4		II.3		III.1		III.2		II.2		I.1		I.2	
1	1.603	1.338	4.667	3.807	6.986	5.600	2.234	2.655	1.345	1.240	4.044	nd	2.652	3.195
2	2.519	2.200	3.387	3.765	2.953	3.166	2.212	1.180	2.315	1.750	2.477	1.755	3.720	3.499
3			nd	2.323	7.257	1.780	1.314	1.125	2.742	1.596	2.050	4.797	1.475	1.995
4			4.269	3.463	7.739	6.438	1.692	1.088						
5					1.585	3.642								
M	nd	nd	4.108	3.340	5.304	4.125	1.863	1.512	2.134	1.529	2.857	3.276	2.616	2.896

<sup>a</sup> Abbreviations as indicated in Table 2. Left column: fraction 1 (07 a.m. – 07 p.m.), right column: fraction 2 (07 p.m. – 07 a.m.). nd, not determined.

**Figure 2.** Mean values of  $(\text{Ox}^{2-})$  and  $[\text{Ca}^{2+}]$  and related standard deviations.  $\text{BRI} = [\text{Ca}^{2+}]/(\text{Ox}^{2-})$ , i.e., the gradient of the regression line through the origin and the data point.

Considering the results of person II.3 (and with moderation those of person I.4) as the "paternal line" (i.e. stone-formers) and combining person I.1, I.2, and II.2 in the "maternal line" (i.e. healthy persons), the following contrasting results can be obtained by comparing these lines with the individual data from the youngest generation (persons III.1 and III.2).

Figure 2 indicates the distinct distribution of the  $(\text{Ox}^{2-})$  and  $[\text{Ca}^{2+}]$  mean values and related standard deviations

derived from both lines and from the youngest generation. Furthermore, the relation of these data to the best-fit hyperbola describing the  $(\text{Ox}^{2-})$  vs  $[\text{Ca}^{2+}]$  distribution of more than 275 urine samples is shown ( $r = 0.87$ ,  $p < 0.001$ ).<sup>15</sup>

The mean value of the 12-h BRI of the paternal line amounts to  $1.88 \text{ L}^{-1}$  (this clearly indicates "at risk"), and that of the maternal line, on the other hand, amounts to only

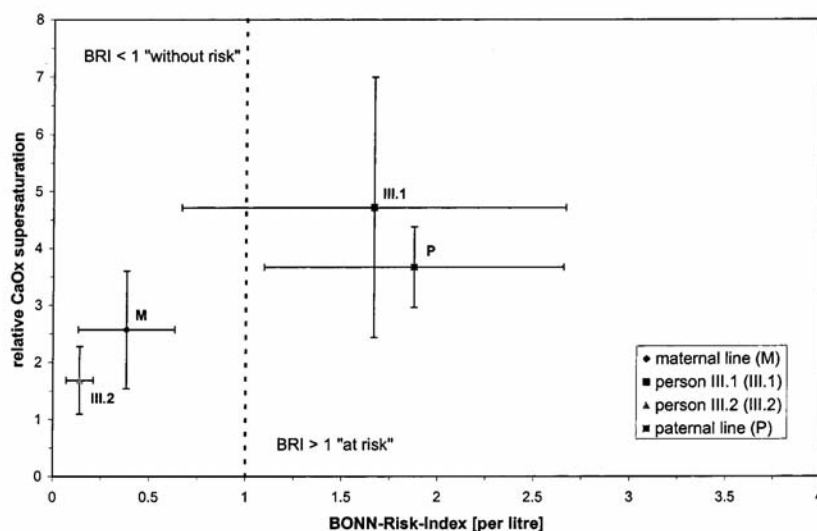


Figure 3. Mean values of BRI vs related mean values of  $RS_{CaOx}$  and related standard deviations.

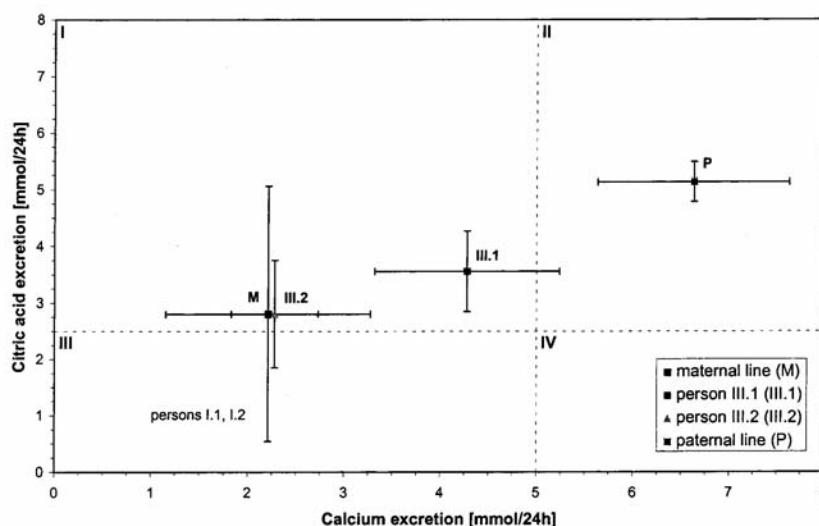
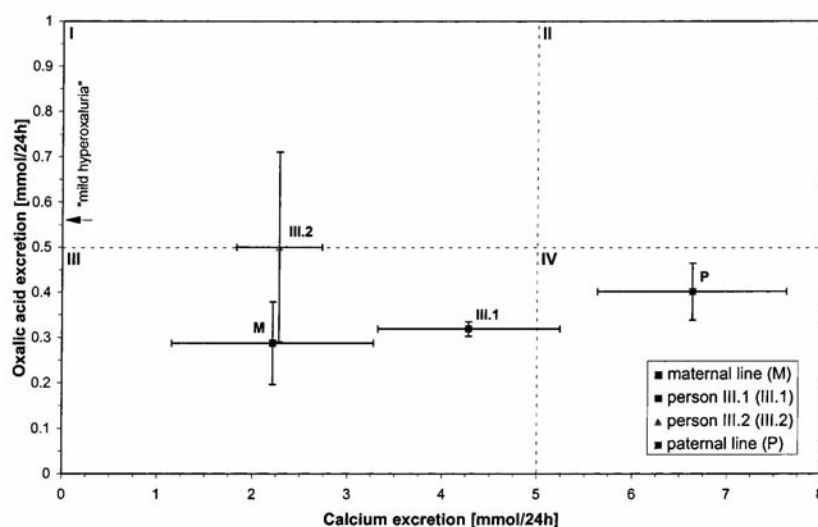


Figure 4. Plot of urinary mean 24-h calcium excretion vs mean 24-h citric acid excretion and related standard deviations. Twenty-four h values calculated from 12-h urine fractions. Broken lines indicate limiting values recommending a urolithiasis related treatment. Fields I–IV: I both parameters are within normal range, II increased calcium excretion, but sufficient citric acid excretion, III decreased excretion of citric acid, but normal calcium excretion, and IV both parameters out of normal range.

$0.38 \text{ L}^{-1}$  ("without risk"). The youngest generation ( $n = 2$ ) shows different mean and different maximum 12-h urine BRI values. Person III.1's mean risk amounts to  $1.67 \text{ L}^{-1}$  ( $3.57 \text{ L}^{-1}$ ), and person III.2's risk amounts to  $0.14 \text{ L}^{-1}$  ( $0.27 \text{ L}^{-1}$ ). Similarly differentiated results are obtained for  $RS_{CaOx}$  as shown in Figure 3. Furthermore, Figure 3 demonstrates the considerably high and direct correlation ( $r = 0.89$ ) between BRI and  $RS_{CaOx}$ , confirming the results of.<sup>15</sup>

Figure 4 illustrates the variations of the 24-h calcium excretions,  $Ca^*$ , and 24-h citric acid excretions,  $CA^*$ , for the maternal and paternal line in relation to the members of

the youngest generation. Four fields (I–IV) can be distinguished by plotting the cutoff values recommending therapeutic measures ( $Ca^* > 5 \text{ mmol/d}$ ,  $Ca^* < 2.5 \text{ mmol/d}$ ) in case of urolithiasis—these values can also be interpreted as being therapeutically desirable levels of the diurnal excretion of the urinary component under consideration.<sup>20</sup> Samples plotted within field I show normal values, whereas samples plotted into the fields II and III are indicated by an enhanced  $Ca^*$  and a reduced  $CA^*$ , respectively. No sample was plotted into field IV. Four of six samples, indicated by  $Ca^* > 5 \text{ mmol/d}$ , exceeded Coe's criterion for hypercalciuric urines



**Figure 5.** Plot of mean urinary 24-h calcium excretion vs mean 24-h oxalic acid excretion and related standard deviations. Twenty-four h values calculated from 12-h urine fractions. Broken lines indicate limiting values recommending an urolithiasis related treatment. Samples showing  $0.56 \text{ mmol/d} \leq \text{OA}^* \leq 1 \text{ mmol/d}$  are termed "mild hyperoxaluria".<sup>5,21</sup>

of  $\text{Ca}^* \geq 0.3952 \times \text{Cr}^*$  (140 mg  $\text{Ca}^*$  per gram of urinary creatinine).<sup>12</sup>

Figure 5 shows the variations of the urinary oxalic acid excretions,  $\text{OA}^*$ , vs  $\text{Ca}^*$ . As in Figure 4, four discriminative fields with similar meanings can be distinguished; urine samples indicating  $\text{OA}^*$ -values plotting into the range  $0.56 \text{ mmol/d} \leq \text{OA}^* \leq 1 \text{ mmol/d}$  are assumed to be "mildly hyperoxaluric".<sup>5,21</sup> Two samples of person III.2 exceeded the recommendation value of  $0.5 \text{ mmol/d}$ ,<sup>22</sup> and one of them showed a "mild hyperoxaluria". No sample was plotted into field II.

Occasionally, slightly elevated values (around  $4 \text{ mmol/d}$ , in particular in person II.3) for the uric acid excretions at generations II and III have been observed—a risk factor which may promote  $\text{CaOx}$  salting out under favorable pH-conditions by then providing nuclei which act, on one hand, as seeds for  $\text{CaOx}$  crystallization and/or, on the other hand, (supplementary) as "surface" for the absorbance of urine inhibitors.<sup>23–25</sup> Whether the increased uric acid excretion is caused by a specific familial nutritional behavior (e.g. excess of animal protein/purine intake or alcoholic beverages) is not evident as an evaluation of the dietary records does not give a clear indication.

#### DISCUSSION

All results obtained allow inclusion into the existing BRI-concept, which cover the results of more than 275 independent urine analyses. Therefore, the test persons reflect the general situation of risk distribution in a population; they do not represent an unusual group of persons. Only slightly elevated  $[\text{Ca}^{2+}]$  mean values with respect to the best-fit hyperbola were obtained (Figure 2).

Within the examined family, the expression of the  $\text{CaOx}$ -stone formation risk can be traced through the three generations. This is valid for the BRI-values as well as for the

$\text{RS}_{\text{CaOx}}$  data, which reflect a similar risk pattern for the investigated persons.

A distinct differentiation between the paternal line and the maternal line with respect to the stone formation risk can be made. The same differentiation can be made with regard to the youngest generation. Where person III.1 reflects a crystallization risk similar to her father (and grandfather), person III.2 has to be assigned at low risk ("without risk" according to BRI), as low as all sampled members of the maternal line. The SD ranges of BRI and RS values of both suggested main groups show no overlap (Figure 3).

To test for the formal correctness of the supposition of the existence of two independent risk groups within the family, we calculated the probabilities of this assumption being true. We presuppose that both groups of data are Gauss-distributed, indicated by mean values  $x_1 < x_2$  and standard deviations  $\sigma_1$  and  $\sigma_2$ . Consider a sample  $X$  which belongs with a 50% probability to group 1.

In a first estimate, this sample belongs to group 1 if

$$X \leq \frac{\sigma_1 x_1 + \sigma_2 x_2}{\sigma_1 + \sigma_2}$$

The probability  $p$  of this estimation being true can be calculated by

$$p = \Psi_0 \left( \frac{x_2 - x_1}{\sigma_1 + \sigma_2} \right)$$

with  $\Psi_0$  as the Gaussian error integral. The values of  $\Psi_0(x)$  are listed in handbooks of statistics.<sup>26</sup>

Table 4 shows the computed probabilities of  $p$  with  $0.5 \leq p \leq 1.0$ ; at  $p = 0.5$ , no differentiation can be observed. The higher  $p$  the higher the probability that the investigated persons/samples belong to different groups and vice versa. The degree of distinction reaches its maximum at  $p = 1$ .

**Table 4.** Probabilities  $p$  of BRI and RS Values from Persons III.1 and III.2 Relating to One of the Two Risk Groups<sup>a</sup>

BRI/RS	M	III.2	III.1	P
M		0.709	0.742	0.736
III.2	0.773		0.853	0.934
III.1	0.848	0.922		0.637
P	0.926	0.979	0.548	

<sup>a</sup> Maternal line, M, and paternal line, P. The lower  $p$  the lower the degree of distinction. BRI and RS differentiate in the same manner. No differentiation between persons III.1 and P is observed with respect to BRI ( $p = 0.548$ ); the greatest distinction is observed between persons III.2 and P ( $p = 0.979$ ).

The existence of two risk groups as mentioned above is clearly demonstrated.

The differences in the results of person III.1 and person III.2 are of remarkable interest, as these cannot be attributed to different nutritional intake; both share at least two of three meals every day, albeit in different quantities.

All samples of person II.3 exceeded the recommendation value for  $Ca^*$  (5 mmol/d); however, his  $CA^*$  is within the normal range. Person III.1, also assigned to be "at risk", shows similar  $CA^*$  behavior but generally lower urinary  $Ca^*$ . Only an occasionally exaggerated output of calcium above the 5 mmol/d recommendation value was observed. However, no intraindividual correlation between  $Ca^*$  and the related BRI or  $RS_{CaOx}$  exists in this person, showing an often observed situation where the excretion values of lithogenic substances alone are not sufficient to estimate the actual crystallization risk.

Both persons, II.3 and III.1, show oxalic acid excretions in the same order of magnitude, clearly plotting into the normal range (fields III and IV, Figure 5).

The maternal line and person III.2 show normal values for  $Ca^*$  ( $\approx 2.5$  times lower than those of person II.3). Some samples, in particular those of persons I.1 and I.2 of the maternal line, are indicated by a reduced urinary  $CA^*$  ( $< 2.5$  mmol/d).

Considering an established, but strong, upper limit of  $Ca^*$  of nonstone formers (males:  $\approx 7.5$  mmol/d, females  $\approx 6.2$  mmol/d<sup>27</sup>) as discriminative criterion, hypercalciuric urine has only been formed once by person II.3 (BRI  $> 1$ ). Surprisingly, person III.2, who shows the lowest risk status of all family members, has formed on two occasions a 24-h urine which has to be assigned "(mild) hyperoxaluric" if an  $OA^*$ -excretion of 0.5 mmol/d is set as limit value. To complete the picture, person I.2, who was taken into account for statistic evaluation, shows values for renal  $Ca^*$ ,  $CA^*$ , and  $OA^*$ , which all fit into the normal range.

The  $OA^*$  values of all persons are in the normal range (except person III.2 whose  $OA^*$  was moderately increased on two occasions). Thus, a disturbed  $OA^*$  cannot be the reason for the observed broad intrafamilial spectra of  $CaOx$ -formation risks, although  $OA^*$  is the most important determinant of urine saturation with respect to  $CaOx$ .<sup>16,21,28–31</sup>

Focusing on the test person's values of the urinary calcium excretions, it is possible that this parameter may be the key factor leading to the quite different intrafamilial risk situation. This is all the more so, when considering that there is a decline in calcium absorption with age,<sup>32</sup> which is probably due to a progressive vitamin D deficiency in the elderly. Although 64 years of age, person II.3 still shows the highest

values for  $Ca^*$ , followed by his daughter (person III.1). Both persons show the highest  $CaOx$ -crystallization risk in the sense of BRI and  $RS_{CaOx}$ . Person III.2—even when considering that he is 4 years younger than his sister—seems not to be affected by elevated values of  $Ca^*$ .

Ultrasound investigation of the person III.1's kidneys has been performed in order to clarify her actual in-vivo situation. Although without any acute symptoms in the urinary tract, considerable amounts of gravel were identified in both kidneys. As a result, person III.1 has to be considered a "stone-former"—a clear proof of a successful risk evaluation in advance of manifestation of a pathological stone-formation. Regarding the genealogical tree (Figure 1) and considering person III.1 as a tested patient, the picture of an autosomal dominant trait with 50% probability of disease transmission from generation to generation seems to be a possible explanation for the intrafamilial distribution of stone-formers and nonstone-formers. In the case of the investigated family, stone disease should be viewed as a family issue, not as an individual one. However, at the moment no apparent reason for the elevated calcium excretions in persons II.3 and III.1 are known. Thus, further investigation have to be performed in order to evaluate the origin—renal, enteric, or resorptive—of the metabolic disorder.

In conclusion it can be stated that a prophylactic examination of the actual  $CaOx$ -crystallization risk of the youngest generation of a family with a history of stone-formation can be recommended in order to protect them from pathologic crystal-formation—by, for example, regular monitoring and general dietary measures<sup>33</sup>—in case of an observed enhanced risk. The determination of the BONN-Risk-Index is a suitable, fast and easy to perform method for such a screening. The evaluation of a person's actual calcium oxalate formation risk from his or her unprepared native urine using the BRI approach takes into account their individual native ratio for all urinary constituents—the "true" ratio of the promotoric, inhibitoric, and inert acting substances. Since the pathological excretion ratio of an urinary constituent is often related to a genetic cause, its occurrence through the generations of a family can be followed, even although the substance itself remain unknown. Thus, the BRI-approach can offer important clues for a genetic connection to urinary stone-formation.

#### ACKNOWLEDGMENT

This study was supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG-Grant He-1132/11-4). Thanks to all family members who showed a high compliance during the whole study. We express our gratitude to Mrs. Bär for her technical assistance in sample preparation. We also thank Mrs. Dentler for editorial help.

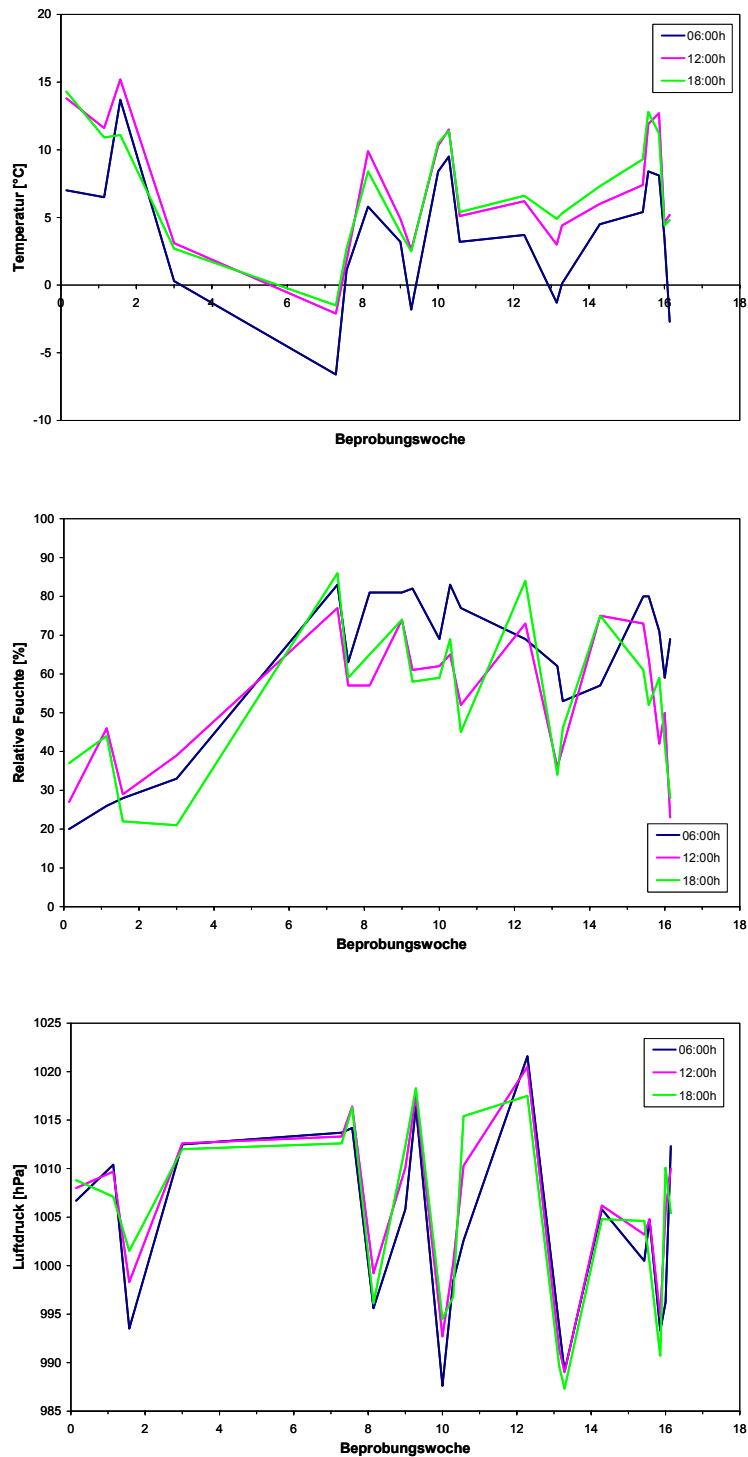
#### REFERENCES AND NOTES

- Resnick, M.; Pridgen, D. B.; Goodman, H. O. Genetic predisposition to formation of calcium oxalate renal calculi. *N. Engl. J. Med.* **1968**, *278*, 1313–1318.
- McGeown, M. M. Heredity in renal stone disease. *Clin. Sci.* **1960**, *19*, 465–471.
- Peacock, M.; Robertson, W. G. The biochemical aetiology of renal lithiasis. In *Urinary calculi disease*; Wickham, I. E. A., Ed.; Churchill Livingstone: Edinburgh-London-New York, 1979; pp 69–95.
- Pak, C. Y. C.; Kaplan, R.; Bone, H.; Tonnensend, J.; Waters, O. A simple test for the diagnosis of absorptive, resorptive and renal hypercalciurias. *N. Engl. J. Med.* **1975**, *292*, 497–500.

- (5) Sutton, R. A. L.; Walker, V. R. Enteric and metabolic hyperoxaluria. *Miner. Electrolyte Metab.* **1994**, *20*, 352–360.
- (6) Latta, K.; Brodehl, J. Primary hyperoxaluria type I. *Europ. J. Pediatr.* **1990**, *149*, 518–522.
- (7) Simon, D. B.; Nelson-Williams, C.; Bia, M. J.; Ellison, D.; Karet, F. E.; Molina, A. M.; Vazara, I.; Iwata, F.; Cushner, H. M.; Koolen, M.; Gainza, F. J.; Gitelman, H. J.; Lifton, R. P. Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na–Cl cotransporter. *Nature Genet.* **1996**, *12*, 24–30.
- (8) Danpure, C. J.; Smith, L. H. The primary hyperoxalurias. In *Kidney Stones. Medical and Surgical Management*; Coe, F. L., Favus, M. J., Pac, C. Y. C., Preminger, G. M., Eds.; Lippincott-Raven: Philadelphia, 1996; pp 589–881.
- (9) Kopp, N.; Leumann, E. Changing pattern of primary hyperoxaluria in Switzerland. *Nephrol. Dial. Transplant.* **1995**, *10*, 2224–2227.
- (10) Goodman, H. O.; Holmes, R. P.; Assimos, D. G. Genetic factors in calcium oxalate stone disease. *J. Urol.* **1995**, *153*, 301–307.
- (11) Holmes, R. P.; Assimos, D. G.; Goodman, H. O. Genetic and dietary influences on urinary oxalate excretion. *Urol. Res.* **1998**, *26*, 195–200.
- (12) Coe, F. L.; Parks, J. H.; Moore, E. S. Familial idiopathic hypercalciuria. *N. Engl. J. Med.* **1979**, *300*, 337–340.
- (13) Janicic, N.; Soliman, E.; Pausova, Z.; Seldin, M. F.; Riviere, M.; Szpirer, J.; Szpirer, C.; Hendy, G. N. Mapping of the calcium-sensing receptor gene (CASR) to human chromosome 3q13.3–21 by fluorescence in situ hybridization, an localization to rat chromosome 11 and mouse chromosome 16. *Mammalian Genome* **1995**, *6*(11), 798–801.
- (14) Baggio, B. Genetic and dietary factors in idiopathic calcium oxalate nephrolithiasis. What do we have, what do we need? *J. Nephrol.* **1999**, *12*, 371–374.
- (15) Laube, N.; Schneider, A.; Hesse, A. A new approach to calculate the risk of calcium-oxalate crystallization from unprepared native urines. *Urol. Res.* **2000**, *28*(4), 274–280.
- (16) Finlayson, B. Calcium stones: some physical and clinical aspects. In *Calcium metabolism in renal failure and nephrolithiasis*; David, D. S., Ed.; Wiley & Sons: New York, Chichester, 1977; pp 337–382.
- (17) Werness, P. G.; Brown, C. M.; Smith, L. H.; Finlayson, B. EQUIL 2: A basic computer program for the calculation of urinary supersaturation. *J. Urol.* **1985**, *134*, 1242–1244.
- (18) Milošević, D.; Batinić, D.; Blau, N.; Konjevoda, P.; Štambuk, N.; Votava-Raić, A.; Barbarić, V.; Fumić, K.; Rumenjak, V.; Stavljenić-Rukavina, A.; Nižić, L.; Vrljićak, 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*, 646–650.
- (19) Laube, N.; Glatz, S.; Hesse, A. The relation of urinary Tamm-Horsfall-Protein on CaOx-crystallization under the scope of the Bonn-Risk-Index. *Urol. Res.* **2001**, *29*, 45–49.
- (20) Hesse, A.; Tiselius, H. G.; Jähnen, A. *Urinary stones: diagnosis, treatment, and prevention of recurrence*; Basel, Karger, 1997; p 207.
- (21) Robertson, W. G.; Hughes, H. Importance of mild hyperoxaluria in the pathogenesis of urolithiasis – new evidence from studies in the Arabian Peninsula. *Scan. Microsc.* **1993**, *7*, 391–402.
- (22) Hesse, A.; Streng, A.; Vahlensieck, W. Oxalic acid excretion of calcium oxalate stone formers and healthy persons. In *Urinary stone*; Ryall, R. L., Brockis, J. G., Marshall, V. R., Finlayson, B., Eds.; Churchill Livingstone: Melbourne-Edinburgh-London-New York, 1984; pp 57–62.
- (23) Sarig, S. The hyperuricosic calcium oxalate stone former. *Miner. Electrolyte Metab.* **1987**, *13*, 251–256.
- (24) Pak, C. Y. C.; Arnold, L. H. Heterogeneous nucleation of calcium oxalate by seeds of monosodium urate. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1975**, *149*, 930–932.
- (25) Pak, C. Y. C.; Barilla, D. E.; Holt, K.; Brinkley, L.; Tolentino, R.; Zerwekh, J. E. Effect of oral purine load and allopurinol on the crystallization of calcium salts in urine with hyperuricosuric calcium urolithiasis. *Am. J. Med.* **1978**, *65*, 593–599.
- (26) Brandt, S. *Datenanalyse*, 2nd ed, revised; BF Wissenschaftsverlag: Mannheim, Wien, Zürich, 1981.
- (27) Robertson, W. G.; Morgan, D. B. The distribution of urinary calcium excretions in normal persons and stone-formers. *Clin. Chim. Acta* **1972**, *37*, 503–508.
- (28) Finlayson, B. Renal lithiasis in review. *Urol. Clin. N. Am.* **1974**, *1*, 181–212.
- (29) Hylander, E.; Jamum, S.; Nielsen, K. Calcium treatment of enteric hyperoxaluria after jejunioleal bypass for morbid obesity. *Scand. J. Gastroenterol.* **1980**, *15*, 349–352.
- (30) Hesse, A.; Bongartz, D.; Heynck, H.; Berg, W. Measurement of oxalic acid: a comparison of five methods. *Clin. Biochem.* **1996**, *29*(5), 467–472.
- (31) Borsatti, A. Calcium oxalate nephrolithiasis: Defective oxalate transport. *Kidney Int.* **1991**, *39*, 1283–1298.
- (32) Ireland, P.; Fordran, J. S. Effect of dietary calcium and age on jejunal calcium absorption in humans studied by intestinal perfusion. *J. Clin. Invest.* **1973**, *52*, 2672–2681.
- (33) Assimos, D. G.; Holmes, R. P. Role of diet in the therapy of urolithiasis. *Urologic Clinics North Am.* **2000**, *27*(2), 255–268.

CI0102620

## 11.4 Klimadaten für den Untersuchungszeitraum



**Abbildung 25:** Wetterbedingungen an den Probetagen zu verschiedenen Zeitpunkten (06:00 h, 12:00 h, 18:00 h) [Messungen des Meteorologischen Institutes der Universität Bonn, Station Bonn-Endenich].

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. A. Hesse danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die fachliche Betreuung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Dr. N. Laube danke ich für die Zusammenarbeit und die Betreuung bei der Durchführung der Experimente und der Erstellung dieser Arbeit.

Herrn Dr. R. Stark danke ich für die Anregung zur Aufnahme einer experimentellen Arbeit im Fachbereich der Urologie sowie für die freundlicherweise zur Verfügung gestellten Ultraschallaufnahmen.

Herrn Prof. Dr. S. Hergarten danke ich für die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung der gewonnenen Daten.

Meinen Eltern und meinem Bruder danke ich von ganzem Herzen für ihre immerwährende liebevolle Unterstützung, ihre Zuversicht und ihr Vertrauen.

Meinen Großeltern danke ich für ihre uneingeschränkte und enthusiastische Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Dr. J. Kleinstück danke ich für seine liebevolle Begleitung, sein Verständnis und sein Engagement.

Herrn Dr. R. Kleinstück danke ich für die kritische Auseinandersetzung mit dieser Arbeit und die daraus entstandenen Anregungen.

Frau B. Bär danke ich für die Mithilfe bei der Durchführung der Urinanalysen.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung für Experimentelle Urologie der Klinik und Poliklinik der Universität Bonn sowie den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für Urologie der Universität Bonn danke ich für ihre freundliche Unterstützung.