

Bestimmung der Oxalsäure im Urin und die Beeinflussung seines Oxalatgehaltes durch exogene und endogene Faktoren

Von R. VON SENGBUSCH und I. SÜCKER

Aus dem Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung Hamburg-Volksdorf (Direktor: Prof. Dr. R. v. Sengbusch)

(Eingegangen am 3. März 1965)

Oxalsäure im Harn wird nach Entwässerung mit Xylol, Veresterung mit Methanol und Verseifung mit Alkali-hydroxyd manganometrisch bestimmt. Die Methode ist besonders zur Ermittlung des löslichen Oxalatanteils geeignet. — Bei einer gesunden Versuchsperson wurde infolge Aufnahme oxalsäurereicher Nahrungsmittel (Spinat) außer einer Ausschwemmung von Calciumoxalatkristallen durch den Urin auch eine Erhöhung der Konzentration an gelöstem Oxalat beobachtet. Besonders effektiv ist der lösliche Oxalatanteil der Nahrungsmittel. Nahrungsmitteltabellen sollten in erster Linie über den Gehalt an gelöster Oxalsäure informieren.

Bei nahezu oxalatfrei ernährten Kaninchen konnten trotz hoher Schwankungen der täglichen Ausscheidungsmengen an endogener Oxalsäure einige Tiere mit extremen Werten (3-Tage-Harn) gefunden werden: „Ausscheider“ mit bis zu zehnfachen Oxalsäurekonzentrationen gegenüber den „Kontrolltieren“. Die Fortsetzung der züchterischen Bearbeitung des Merkmals „Oxalsäureausscheidung“ bei Kaninchen oder bei noch besser geeigneten Versuchstieren wird diskutiert.

Urinary oxalic acid is determined by manganometric titration after removal of water with xylene, esterification with methanol and saponification with alkali hydroxide. The method is also especially suitable for the determination of the soluble oxalate fraction. In a healthy experimental person, after the ingestion of high oxalate food (Spinach), there was an increase in the concentration of dissolved oxalate, as well as the production of calcium oxalate crystals. The soluble oxalate fraction of the food is especially effective. Food tables should preferably give the content of dissolved oxalic acid.

Despite the large variations in the daily excretion of endogenous oxalic acid in rabbits fed a diet practically free from oxalate, some animals were found with extreme values (3 day urine): „excreters“ with at least a ten times greater urinary oxalic acid concentration than the „controls“. The continuation of selective work on the property, „oxalic acid excretion“ in rabbits or with still more suitable experimental animals is discussed.

Zu den normalen Bestandteilen des menschlichen Harns gehören neben Chloriden, Sulfaten und Phosphaten auch die Oxalsäure und ihre Salze, die Oxalate. Kommt es zu einer starken Anreicherung im Serum oder Harn, dann spricht man von dem Krankheitsbild der Oxalämie bzw. der Oxalurie. Über 50% aller menschlichen Harnsteine bestehen aus einer der beiden Modifikationen des Calciumoxalats, dem monoklinen Monohydrat („Whe-wellit“) und dem tetragonalen Dihydrat („Weddellit“) oder sind Mischkonkremente aus Oxalat mit Phosphat oder Harnsäure (1, 2). — Es ist bis heute noch ungeklärt, ob die Oxalatsteinkrankheit in erster Linie als Folge einer Anreicherung von Oxalsäure im Urin angesehen werden kann. In der Literatur (3) sind gegensätzliche Beobachtungen und Ansichten zu finden. Nach Untersuchungen von v. SENGBUSCH und TIMMERMANN (4) über die Ausscheidung von Calciumoxalat-Mikrosteinen und ihre Isolierung durch ein spezielles Urinsieb weisen steinbelastete Personen so viele Mikrosteine auf, wie sie gesunde Menschen nur bei oxalatreicher Diät zeigen. Daraus wurde die Vermutung abgeleitet, daß es einen Übergang gäbe von den Calciumoxalat-Oktaedern („Briefumschlag“) der Sedimentkristalle über die Mikrosteine ($> 60 \mu$) bis zu den als Nieren- oder Ureterstein röntgenologisch nachweisbaren Makrosteinen.

Die Bildung eines Calciumoxalat-Konkrementes ist in chemischer Hinsicht abhängig von dem Löslichkeitsprodukt, also sowohl von der Oxalat- als auch von der Calciumionenkonzentration. DULCE und TAUPITZ (5) beobachteten bei Gesunden eine relativ hohe Konzen-

tration der Lösungsvermittler Magnesium, anorganisches Phosphat, Natrium und Kalium. Bei Steinkranken waren entweder die Konzentrationen dieser Ionen erniedrigt oder aber die Calcium- oder Oxalat-Konzentration und daher das Ionenprodukt des Calciumoxalats erhöht; etwa 40% der untersuchten Fälle konnten nicht durch Veränderungen der Löslichkeitsbedingungen für die Calciumsalze erklärt werden. FLEISCH und BISAZ (6) fanden eine Beeinflussung des Löslichkeitsproduktes von Calciumoxalat durch geringe Mengen an Pyrophosphat. Die im Urin gesunder Personen nachweisbaren 10^{-5} — 10^{-4} Mol/l von (anorganischem) Pyrophosphat genügen, um die Kristallisation von Calciumoxalat zu verhindern. Da es sich bei diesen geringen Konzentrationen nicht um eine Komplexbildung handeln kann, könnte die kristallisationshemmende Eigenschaft des Pyrophosphats vielleicht auf Adsorption am Kristallisationskeim und Blockierung des Kristallwachstums auf der Oberfläche beruhen.

Die in der Literatur (7) angegebenen Normalwerte für den Oxalsäuregehalt im menschlichen Urin schwanken und sind abhängig von dem verwendeten Verfahren; es fehlte bisher an einer möglichst objektiven Methode.

In unseren Untersuchungen ging es in erster Linie um eine möglichst exakte Bestimmung der Oxalsäurekonzentration im Urin, und zwar besonders des löslichen Anteils. Daher verzichteten wir meistens auf eine gleichzeitige Calciumbestimmung. (Über die zahlreichen Störungen im Kalkstoffwechsel, die zu einer Hypercalciurie führen und daher ein auslösendes Moment für

die Steinbildung im Harnsystem werden können, berichtet BOSHAMER (3)). Obwohl der Oxalsäuregehalt nur einer der für die Entstehung von Oxalatharnsteinen notwendigen Faktoren ist, muß eine Klärung der die Oxalsäure betreffenden stoffwechselphysiologischen Fragen mit der quantitativen Analyse der Säure und ihrer Salze im Harn (und im Serum) beginnen. Es galt zunächst, eine qualitativ eindeutige und hinreichend quantitative Methode zu entwickeln. Die modifikative Beeinflussung des Oxalatgehaltes im menschlichen Urin wurde — wie in früheren Arbeiten — im Spinatversuch beobachtet (8) und mit der neuen Methode gemessen. Am Modell des Kaninchens, bei dem wir bisher niemals spontan Oxalatharnsteine gefunden haben, wurde die normale Ausscheidung von Oxalsäure bei konstant oxalatfreier Kost, also möglicherweise genetisch bedingte endogene Oxalsäure, untersucht.

Methodik

Kristallines. Calciumoxalat kann entweder durch den Siebttest nach v. SENGBUSCH und TIMMERMANN (4) in Form von Mikrosteinen abgetrennt und mikroskopisch behandelt oder als oktaedrischer Weddellitkristall im polarisierten Licht als Bestandteil des Urinsediments gefunden werden. Während hier die Kristallform als einziges Identifizierungsmerkmal gilt, liefert eine *Debye-Scherrer*-Röntgenaufnahme (1) oder ein Infrarotspektrum (2) eine halbquantitative Analyse des Materials.

Die Bestimmung des Gehaltes an *löslichem* Oxalat ist nach verschiedenen Methoden ausgeführt worden (7). Die Ergebnisse sind unsicher und abhängig vom Analysenverfahren. Die einfache Ausfällung der Oxalsäure als Calciumsalz, die u. a. von ARCHER und Mitarbeitern (9) angewendet wurde, kann durch zahlreiche andere Bestandteile des Harns gestört werden. Sowohl die Calciumfällung als auch die anschließende Permanganattitration sind nicht spezifisch. Allerdings läßt sich in dieser Weise ein Schnelltest durchführen zur Unterscheidung von Urinen mit extremen Oxalatgehalten. Von anderen Autoren, z. B. FLASCHENTRÄGER und MÜLLER (10), HODGKINSON und ZAREMSKI (11), EHEART und HURST (12) sowie NIEDIECK, v. SENGBUSCH und TIMMERMANN (13) wurde eine Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Äther ausgeführt zur Trennung der Oxalsäure von anderen wasserlöslichen Substanzen.

Wir haben uns, nachdem sich u. a. auch eine polarographische Oxalsäurebestimmung bei Urin als unbrauchbar erwies, für die Abtrennung der Oxalsäure als Dimethylester entschieden. 1932 haben DODDS und GALLIMORE (14) dieses Prinzip beschrieben, 1938 veresterten FLASCHENTRÄGER und MÜLLER (10) die mit einem Kutscher-Stuedel-Perforator als Ätherextrakt gewonnene Oxalsäure. 1953 entwickelten LEHMANN und GRÜTZ (15) eine besondere Veresterungsapparatur und bestimmten damit den Gesamtoxalatgehalt von getrocknetem pflanzlichem Material. Auch EHRENDORFER (16) bestimmt nach diesem Verfahren Oxalsäure in Pflanzen.

Entwässerung des Urins

Da Wasser als Reaktionsprodukt einer Veresterung stets zur Einstellung eines bestimmten Gleichgewichtes der reagierenden Stoffe (Alkohol, Säure, Ester, Wasser) führt und daher einer quantitativen Umsetzung entgegenwirkt, muß möglichst mit trocknen Analysenproben gearbeitet und das Wasser kontinuierlich aus dem Gleichgewicht entfernt werden. Das Filtrat bzw. das Zentrifugat des Urins wird in folgender Weise entwässert: Je 100 ml Urin werden mit 200 ml eines Gemisches aus Xylol und Toluol (9:1) unter Zusatz von Amylalkohol in einer besonderen Apparatur am Rückfuß gekocht. Das azeotrope Gemisch (Wasser, Xylol, Toluol) wird nach dem Abkühlen in 2 Phasen getrennt. Das Wasser als schwerere Komponente kann leicht abgetrennt werden.

Veresterung

Nach dem Dekantieren des Xylol-Toluol-Gemisches wird in dem 500 ml-Zweihalbkolben, der die entwässerten Urinrückstände enthält, ein vorher zubereitetes Gemisch aus 200 ml wasserfreiem Methanol und 2 ml konz. Schwefelsäure (als Veresterungskatalysator) 12 Stdn. lang gekocht. Es wird eine bei LEHMANN und GRÜTZ (15) angegebene Umlaufdestillationsapparatur bzw. eine modifizierte Form verwendet. Der Veresterungskolben wird durch elektrisches Wasserbad oder besser durch eine Pilzheizhaube erwärmt.

Verseifung

Das am Rückfußkühler des Veresterungskolbens kondensierte ternäre Gemisch aus Oxalsäuredimethylester, Methanol und Wasser wird kontinuierlich in einen mit Methanol und etwa 10 Plätzchen Kaliumhydroxyd oder Natriumhydroxyd gefüllten 500 ml-Kolben geleitet. Das Methanol wird zum Sieden erhitzt. Dabei wird der Ester verseift und der Alkohol wieder in den Veresterungskolben zurückdestilliert. Im Verseifungskolben wird die Oxalsäure als Alkalioxalat angereichert.

Quantitative Bestimmung der Oxalsäure

Nach einer Veresterungsdauer von 12 Stdn. wird der Verseifungskolben an einen Rotationsvakuumverdampfer angeschlossen und der überstehende Alkohol im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen, mit Essigsäure auf pH 4 eingestellt, mit Calciumacetat (10-proz.) gefällt und mit Kaliumpermanganat titriert. Da bei Serienbestimmungen größere Mengen Methanol gebraucht werden, kann man den Alkohol nach dem Trocknen über Calciumoxyd destillieren und zurückgewinnen. — Um die Reinheit des im Verseifungskolben angereicherten Destillats zu prüfen, kann man einen Teil der Calciumfällung infrarotspektroskopisch analysieren.

Prüfung der Veresterungsmethode

Erhitzungsart

Veresterungs- und Verseifungskolben wurden in unterschiedlicher Weise erhitzt. Während die Verseifung in allen Fällen Werte über 90% der eingesetzten Mengen lieferte, führte die Veresterung von Oxalsäure mit direkter Beheizung durch eine Pilzheizhaube zu auffällig niedrigen und stark streuenden Ergebnissen (25–86%). Natrium- und Calciumoxalat wurden stets in guter Ausbeute wiedergefunden. Wasserbad und Luftbad (Pilzheizhaube in etwa 2 cm Entfernung von Rundkolben) erwiesen sich auch in bezug auf Oxalsäure als schonende Erhitzungsmethode. — Oxalsäureverluste infolge der Direktbeheizung lassen sich durch örtliche Überhitzung, Sublimation und Zerstörung der Substanz im Veresterungskolben erklären. Nach Zusatz eines Calciumsalzes zur Oxalsäure wurden — wegen der besseren Beständigkeit des ausgefallenen Calciumoxalates gegenüber thermischen Einflüssen — stets Ausbeuten von über 90% gemessen.

Erhitzungsdauer

Zur Ermittlung der erforderlichen Destillationszeit für eine möglichst vollständige Veresterung wurden jeweils 30 oder 50 mg

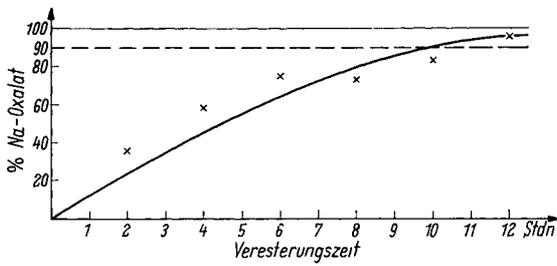


Abb. 1

Bestimmung von Oxalsäure mit der Veresterungsmethode.

Vorlage: 50 mg Natriumoxalat. Die wiedergefundene Menge (in % der Einwaage) ist in Abhängigkeit von der Veresterungszeit dargestellt. Eine Ausbeute von über 90% wird erst nach etwa 12 Stdn. erzielt

Natriumoxalat vorgelegt und mittels direkter Beheizung mit Pilzheizhauben am Rückfluß gekocht. Die Pilzheizhauben wurden auf Stufe 1 angeheizt und während des Destillierens auf Stufe 3 gehalten. — Die Zeitabhängigkeit des Veresterungsvorganges ist aus Abbildung 1 zu ersehen. Erst nach 12 Stdn. wurden über 90% der vorgelegten Substanz im Verseifungskolben wiedergefunden.

Oxalatmenge

Bei Einwaagen von 5 bis 300 mg trocknen Natriumoxalats wurden Ausbeuten von über 90% erhalten, unterhalb 3 mg streuten die Werte stark. Auch die Verwendung von 0,01 n Kaliumpermanganat brachte keinen positiven Effekt.

Streuung

Um die Streuung (Standardabweichung) der Methode unter möglichst ungünstigen Bedingungen zu messen, wurden jeweils 30 mg Oxalsäure entweder in 150 oder 200 ml Wasser oder Urin gelöst, mit Xylol-Toluol entwässert und 12 Stdn. lang in der Veresterungsapparatur gekocht. 14 Parallelversuche mit den wäßrigen Oxalsäurelösungen ergaben eine mittlere Ausbeute von $26,2 \pm 1,7$ mg Oxalsäure; das sind 87%. Der Variationskoeffizient (Streuung in Prozenten des Mittelwertes) beträgt 6,5%. Bei 8 Oxalsäurebestimmungen in Urin wurden nach Subtraktion des normalen Urin-Oxalsäurewertes von 30 mg Einwaage $27,6 \pm 1,8$ mg wiedergefunden. Das sind 92% mit einem Variationskoeffizienten von ebenfalls 6,5%. — Bei Einwaagen von 50 mg Natriumoxalat wurden im Mittel $47,0 \pm 2,2$ mg gefunden, also 94% mit einem Variationskoeffizienten von 4,6%.

Ergebnisse

Ausscheidung exogener Oxalsäure beim Menschen

In einer früheren Arbeit haben v. SENGBUSCH und TIMMERMANN (8) gezeigt, daß die Aufnahme oxalsäurereicher Nahrungsmittel, besonders Spinat und Rhabarber, bei gesunden Personen zu einer starken Ausscheidung von Calciumoxalat-Kristallen, den sogenannten „Mikrosteinen“ führt. Diese Kristallaggregate wurden durch Siebe mit Maschenweiten von 60, 120 und 200 μ von dem flüssigen Teil des Urins und dem Sediment abgetrennt. Dieses Sediment wurde mikroskopisch auf seinen Gehalt an Oxalatkristallen untersucht, während die Siebfraktionen unter dem Mikroskop auf Zahl, Form und Größe der Mikrosteine geprüft wurden.

Unsere Diätversuche, bei denen mittels der Veresterungsmethode auch der Anteil des im Urin in Lösung gehaltenen Oxalates ermittelt wurde, bestätigen prinzipiell

die früheren Resultate. Die physiologisch bedeutsame Beobachtung, daß blanchierter Spinat, dem durch kurzzeitiges Behandeln mit siedendem Wasser u. a. der größte Teil des löslichen Oxalates entzogen wurde, nur geringfügig die Oxalsäureausscheidung durch den Urin beeinflußt, konnte durch die neuen Messungen erhärtet werden. In Abbildung 2 ist die Oxalsäurekonzentration, getrennt nach gelöstem und ungelöstem Anteil, im Urin einer Versuchsperson mit unterschiedlicher Spinataufnahme im Vergleich zu Normalkost aufgezeichnet. Blanchierter Spinat zeigt geringe Meßwerte, während bei 50 g gefriergetrocknetem (dies entspricht etwa 500 g Frischmasse) und 500 g Frischspinat ein Vielfaches der normalen Oxalsäurekonzentration gefunden wurde. Bemerkenswert ist es, daß beim zweiten Eßversuch die Hauptmenge der Oxal-

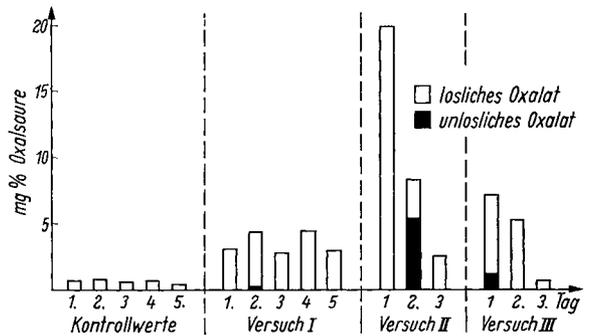


Abb. 2

Oxalsäureausscheidung beim Menschen in Abhängigkeit von der Kost (Spinat-Eßversuch).

Versuch I: 500 g blanchierter Spinat,

Versuch II: 50 g unblanchierter, gefriergetrockneter Spinat,

Versuch III: 500 g Frischspinat.

Der Spinat wurde in zwei Portionen mittags und abends gegessen. Die Oxalsäurekonzentration ist in mg% angegeben. Die Oxalat-ausscheidung ist bei der blanchierten Probe wenig, bei dem unblanchierten Spinat stark erhöht gegenüber den Kontrollwerten

säure, und zwar gleich am ersten Tag, in löslicher Form ausgeschieden wurde, während das kristalline Calciumoxalat erst am nächsten Tag gefunden wurde. — Abbildung 3 zeigt einen Diätversuch mit zwei Portionen von je 250 g Frischspinat. Die Oxalsäurekonzentration des Morgen-Nacht-Urins der beiden vorhergehenden Tage kann als Normalwert gelten. Es wurden nach den Spinatmahlzeiten möglichst viele Urinfraktionen einzeln untersucht, um die Oxalatausscheidung als Funktion der Zeit zu prüfen. Bereits nach wenigen Stunden begann die Ausscheidung der Oxalsäure. Von einem hohen Maximalwert von 92 mg nimmt die Menge an Gesamtoxalat innerhalb der nächsten 24 Stdn. rapide ab, liegt am nächsten Tag unter der Norm und steigt langsam wieder an. Einen entsprechenden Gang zeigt auch die in mg% angegebene Oxalsäurekonzentration. Eine Abschätzung des Verhältnisses von ausgeschiedener zu aufgenommener Oxalsäure liefert folgende Bilanz: 500 g Frischspinat mit einer angenommenen (mittleren) Trockensubstanz von 10% und dem gemessenen Wert von 6,7% löslicher Oxalsäure in der Trockenmasse

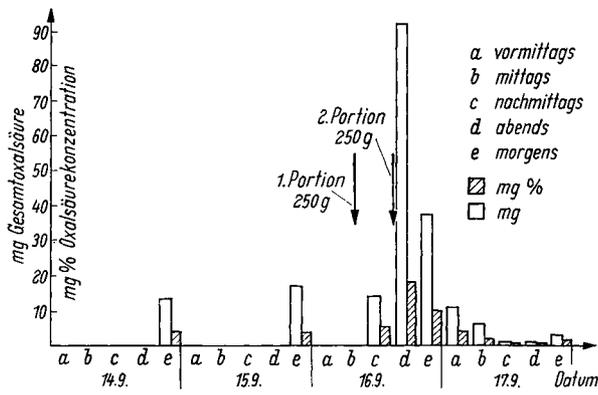


Abb. 3

Diätversuch mit 500 g Frischspinat.

Gesamtoxalsäuremenge (mg) und Oxalsäurekonzentration im Harn (mg%) vor und nach dem Essen. Der Spinat hatte einen Gehalt von 6,7 % löslicher Oxalsäure in der Trockenmasse. Anstieg der Oxalatwerte wenige Stunden nach dem Essen auf ein Maximum von 92 mg und Abklingen nach etwa 24 Std. auf Werte unter 10 mg bzw. unter 2 mg%

enthalten etwa 3,3 g Oxalsäure. Die Gesamtmenge der infolge des Eßversuches durch den Urin ausgeschiedenen Oxalsäure beträgt höchstens 200 mg. Dies ist zwar etwa das Zehn- bis Zwanzigfache der normalen Oxalatsmenge, bedeutet aber nur etwa 6% der durch den Spinat dem Körper zugeführten Oxalsäure. Vermutlich wird diese weitgehend durch Calciumionen gebunden und als Calciumoxalat durch den Darm ausgeschieden.

Oxalsäureausscheidung bei Kaninchen

Fütterung

Um die Zufuhr exogener Oxalsäure prinzipiell auszuschließen, wurde der Kaninchenbestand mit einem nahezu oxalsäurefreien (0,036%) vollwertigen Trockenfutter (Spezialfutter nach Prof. GORTTSCHESKI) ernährt. Gleichzeitig wurde normales Leitungswasser in Flaschen gegeben; hierdurch ist eine grobe Kontrolle der Flüssigkeitsaufnahme der Tiere ermöglicht. Mit der Veresterungsmethode wurde die Oxalsäureausscheidung von etwa 50 Tieren untersucht. Es zeigten sich bedeutende Unterschiede sowohl zwischen mehreren Tageswerten eines einzelnen Tieres als auch zwischen den Drei-Tage-Mittelwerten verschiedener Kaninchen.

Ein Einfluß der Nahrung auf den Oxalatgehalt des Urins konnte in mehreren Fütterungsversuchen nicht festgestellt werden. Selbst hohe Gaben des wasserlöslichen Natriumoxalats (1–2 g/Tag) bei 1,5–2,0 kg schweren Kaninchen bewirkten keine verstärkte Ausscheidung von Oxalsäure im Urin. Die maximal gemessenen Oxalsäurewerte lagen dabei zwischen 6,1 und 11,3 mg%. Allerdings wurden große Mengen Oxalsäure durch den Darm ausgeschieden, die als weißes Salz (Calciumoxalat) zu erkennen waren. Auch FLASCHENTRÄGER und MÜLLER (10) hatten bei Kaninchen die verabreichte Menge Oxalsäure niemals quantitativ im Urin wiedergefunden.

Voruntersuchung

Bei den getesteten Kaninchen handelt es sich vorwiegend um Nachkommenschaften von Zuchttieren, die aus einem Bestand von einigen Hundert Tieren mittels eines Schnelltestes auf Grund von extrem hoher oder

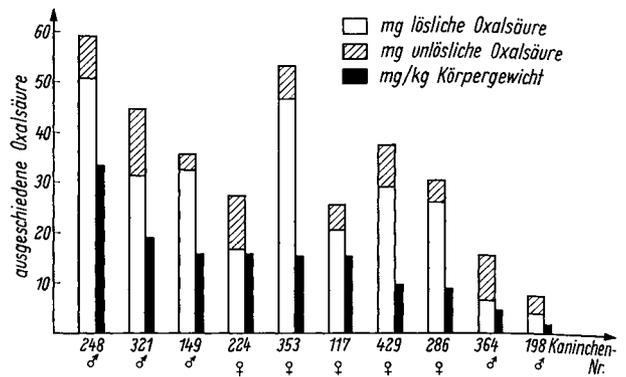


Abb. 4

Oxalsäureausscheidung im Harn von Kaninchen bei nahezu oxalatfreier Ernährung.

Sammelurin von 3 Tagen: ausgeschiedene Mengen an löslicher und unlöslicher Oxalsäure (Calciumoxalat) sowie relative Oxalatsmengen (mg Oxalsäure pro kg Körpergewicht). Die Kaninchen Nr. 364 und 198 werden auf Grund ihrer niedrigen Oxalatausscheidung als „Kontrolltiere“ den „Ausscheidern“ Nr. 248, 321 usw. gegenübergestellt

niedriger Oxalatausscheidung ausgelesen worden sind (17). Das Sediment des durch Katheter gewonnenen Urins wurde nach Behandlung mit gepufferter Essigsäure (zur Auflösung der Carbonate und Phosphate) mikroskopisch auf Calciumoxalat-Kristalle (Oktaeder, „Briefumschlag“) untersucht und empirisch bonitiert. Die F₁- bis F₃-Generationen wurden immer wieder in dieser Weise überprüft; das Merkmal „Oxalatausscheidung“ blieb durchaus erhalten oder wurde auch verstärkt. Mit Hilfe einer halbquantitativen infrarotspektroskopischen Sedimentanalyse (2) konnte die Richtigkeit der ersten Selektionen bestätigt werden.

Oxalatsmenge und -konzentrationen

In Abbildung 4 sind die Ergebnisse der Oxalsäurebestimmung mit der Veresterungsmethode bei 10 Tieren aufgezeichnet. Der Gehalt an löslichem Oxalat übersteigt in allen Fällen den ungelösten Anteil (Calciumoxalat). Im Extremfall wurde die zehnfache Menge löslichen Oxalats gefunden. Um Tagesschwankungen auszugleichen, wurden stets die Urinmengen von 3 Tagen gemessen. Entsprechend den zwischen 1,7 und 4,0 kg liegenden Körpergewichten wurden auch unterschiedliche Urinmengen ausgeschieden, nämlich 100 bis 1365 ml in 3 Tagen. Die Sedimentgewichte lagen zwischen 1,5 und 4,0 g, die pH-Werte zwischen 7,6 und 8,4. Die absoluten Mengen an ausgeschiedener löslicher Oxalsäure liegen bei den „Ausscheidern“ zwischen 17 und 51 mg, bei den zwei „Kontrolltieren“ bei 4,0 und 6,7 mg. Auch die absoluten Mengen des ungelösten Oxalats liegen bei den Ausscheidern relativ hoch. — Die Werte für das Gesamtoxalat wurden rechnerisch ermittelt. Alle Ausscheider lieferten mehr als 25 mg Oxalsäure in 3 Tagen. Das Maximum liegt bei 59 mg, während die Kontrolltiere nur 7,5 und 15,6 mg ausscheiden. Bei der Beurteilung dieser Resultate muß berücksichtigt werden, daß sowohl Körpergewicht als auch Gesamturinmenge für die Oxalsäureausscheidung

von Bedeutung sein können. Es wurde daher der relative Wert, mg ausgeschiedenes Gesamtoalat pro kg Körpergewicht eingeführt. Die Ausscheider weisen 9—33 und die Kontrolltiere 1,9—4,7 (mg/kg) auf. In Abbildung 5 sind extreme Werte von drei typischen Ausscheidern und drei Kontrolltieren dargestellt. Obwohl allgemein starke Schwankungen und Überschneidungen in dieser hypothetischen Klassifizierung vorkommen, zeigen diese beiden Gruppen doch Unterschiede. Es sind jeweils drei bis vier Versuche von 3 Tagen ausgewertet worden. Außer der Gesamtoalattmenge ist hier die Oxalsäurekonzentration in mg Oxalsäure pro 100 ml Urin (mg%) angegeben. Dieser Wert ist von Bedeutung für die Wahrscheinlichkeit der Bildung eines Oxalatkonkrementes und wird in der Humanmedizin verwendet. Da hierbei die ausgeschiedene Urinmenge berücksichtigt wird, gibt eine Ein-

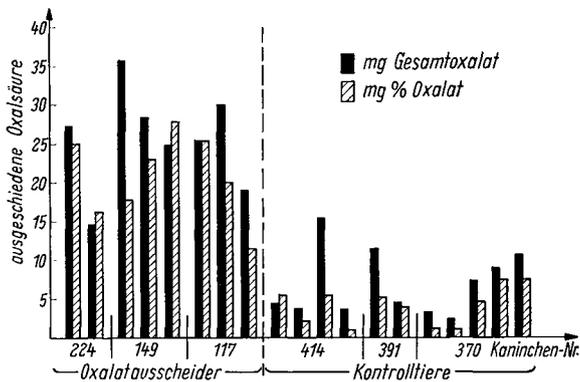


Abb. 5

Oxalsäureausscheidung bei „Ausscheidern“ und „Kontrolltieren“. Sammelurin von 3 Tagen: Menge an Gesamtoalat (mg) und Oxalsäurekonzentration (mg pro 100 ml Urin = mg%). Die Ausscheider zeigen im Vergleich zu den Kontrolltieren z. T. zehnmal so hohe Oxalatwerte

teilung der Versuchstiere nach der Oxalsäurekonzentration ein etwas anderes Bild als eine Beurteilung an Hand der Oxalattmengen. — Es sei nebenbei erwähnt, daß die Kaninchen während des Fütterungsversuches mit Natriumoxalat auffällig viel Wasser tranken und daher instinktiv die einzig wirksame prophylaktische Maßnahme trafen, nämlich Erniedrigung der Oxalsäurekonzentration (trotz hoher absoluter Oxalattmengen) durch „Verdünnung“ des Urins.

Diskussion

Die Veresterung der Oxalsäure liefert qualitativ eindeutige Ergebnisse, die noch durch eine infrarotspektroskopische Reinheitsprüfung der Calciumoxalatfällung überprüft werden können. Da es bei der Oxalsäurebestimmung im Urin aber in erster Linie um anomal hohe Gehalte geht, muß das Verfahren auch quantitativ hinreichend auswertbar sein. Wegen der relativ starken statistischen und auch physiologisch bedingten Schwankungen des biologischen Materials erscheint die Meßgenauigkeit von etwa 90% des theoretischen Wertes

und eine Standardabweichung von 2 mg bei 30 mg Einwaage durchaus befriedigend. Es ist auch wenig sinnvoll, die manganometrische oder eine kolorimetrische Oxalsäurebestimmung wesentlich zu verfeinern, solange beispielsweise allein durch die Entwässerung des Urins mit Xylol ein Substanzverlust durch örtliche Überhitzung eintreten kann (im Mittel 7% bei 50 mg Einwaage). Wenn dagegen getrocknetes Pflanzenmaterial in der Veresterungsapparatur untersucht wird, können bessere Ausbeuten erzielt werden, z. B. 95—98%: EHRENDORFER (16), LEHMANN und GRÜTZ (15). HINSBERG und LANG (7) weisen allerdings auch bei anderen Methoden auf Fehler hin, die durchaus in der Größenordnung von einigen mg liegen: 1—3 Tropfen einer alkoholischen MethylorangeLösung können als Indikator bei der Calciumoxalatfällung bereits 2—5 mg Oxalsäure vortäuschen. In Übereinstimmung mit EHRENDORFERS (18) Erfahrungen mußten wir auch die Veresterungsdauer auf 12 Std. ausdehnen.

Die Spinatversuche beim Menschen zeigen, daß man zur Beurteilung des Oxalsäurestoffwechsels und der Beeinflussung durch Diät außer dem kristallinen Calciumoxalat auch den teilweise beträchtlichen Anteil des gelösten Oxalats berücksichtigen muß. Da die Ausfällung des Oxalatsedimentes sowohl von der Oxalat- als auch der Calciumionenkonzentration abhängig ist und bei gleicher Oxalattmenge durch den Gehalt an Calcium, an „Lösungsvermittlern“ wie Magnesium und Phosphat (5) sowie an kristallisationshemmenden Stoffen wie Pyrophosphat (6) beeinflusst wird, ermittelt man nur die Gesamtoalattmenge eines 24-Stunden-Urins. Dadurch sind die Meßergebnisse auch unabhängig von den tageszeitlichen Schwankungen der Calciumkonzentration des Urins. Die Messung der von der Nahrung unabhängigen, also endogen erzeugten Oxalsäure im Urin von Kaninchen gestattet trotz der starken Tagesschwankungen, die übrigens hinsichtlich der Ausscheidung von Oxalatkristallen auch beim Menschen festgestellt wurden (8), typische Ausscheider von Kontrolltieren zu unterscheiden und möglicherweise das Merkmal „Oxalsäureausscheidung“ durch Züchtung genetisch zu sichern. Das Kaninchen diente nur als Modell. Für Vergleiche mit den physiologischen Bedingungen des menschlichen Organismus wären wohl eher Hunde geeignet, bei denen wir bereits spontan Calciumoxalatharnsteine fanden. Kaninchen können im Vergleich zum Menschen sowohl sehr hohe als auch niedrige Oxalsäurewerte liefern. Rechnet man beim Menschen mit Gesamtoalattmengen von 20—30 mg pro Tag und Konzentrationen zwischen 1 und 4 mg% sowie einem mittleren Körpergewicht von 75 kg, so resultieren etwa 0,3 bis 0,5 mg Oxalsäure/kg Gewicht als Tagesausscheidung. Bei Kaninchen konnten Werte zwischen 0,1 und 3,3 mg/kg beobachtet werden. Da unseres Wissens bisher niemals Oxalatsteine bei Kaninchen spontan gefunden wurden und auch oxalsäurehaltige Kost den Urinspiegel nur wenig beeinflusst, kann man auf eine besondere Anpassungsfähigkeit des

Stoffwechsels dieser Tiere an die in der Natur weitverbreitete Oxalsäure schließen.

Die Veresterungsmethode ermöglicht eine exakte qualitative und hinreichend quantitative Bestimmung der Oxalsäure, besonders auch des löslichen Anteils, im Urin. Sie kann daher eingesetzt werden, um die Ursachen der Oxalatsteinbildung im tierischen und menschlichen Organismus zu studieren. Einerseits kann man das Problem der exogenen Oxalsäure und die Auswirkung einer extremen Diät und andererseits die Möglichkeiten der endogenen Oxalsäurebildung — modifikativ z. B. als Anomalie des Eiweißstoffwechsels und genotypisch bedingt z. B. als Rassenmerkmal bei Hunden — untersuchen. Wenn der Oxalatgehalt des Harns parallel zu den verschiedensten Stoffwechselfunktionen gemessen würde, wären möglicherweise enzymatische Störungen als Kausalfaktoren endogener Oxalsäure festzustellen. Sowohl therapeutische als auch prophylaktische Maßnahmen könnten an einem durch Züchtung geschaffenen Tiermaterial mit hoher Oxalsäureausscheidung erprobt werden. Falls sich die Bil-

dung von Oxalatsteinen beim Menschen als wenigstens teilweise erblich bedingt erweisen sollte, gilt es in besonderer Weise, durch Diät und medikamentöse Prophylaxe die Entstehung und das Wachstum von Harnkonkrementen zu verhindern.

Wegen der besonderen Bedeutung, die dem löslichen Anteil des Oxalsäuregehaltes unserer Nahrungsmittel zukommt, sollten die entsprechenden Tabellen über die Inhaltsstoffe von Früchten und Gemüsen nicht nur den relativ ungefährlichen Gehalt an Gesamtoxalat aufzeigen, sondern vorwiegend die *gelöste* Oxalsäure. Die besondere Erhöhung der Oxalsäureausscheidung beim Menschen durch perorale Aufnahme löslichen Oxalats wurde bereits vor Jahren in Diätversuchen beobachtet und mittels der neuen Nachweismethode bestätigt (17). Entsprechend müßten auch die Diätvorschriften für steinkranke oder steingefährdete Personen geändert werden.

Wir danken Fr. RENATE PUFF, Frau SABINE WELL und Herrn W. SZABLEWSKI für ihre Mitarbeit.

Literatur

1. PRIEN, E. L., J. Urol., Baltimore 89, 917 (1963). — 2. SÜCKER, I., Aertzl. Laborat. 9, 260 und 306 (1963). — 3. BOSHAMER, K., Morphologie und Genese der Harnsteine in: Handbuch der Urologie, Bd. X, S. 74. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1961). — 4. v. SENGBUSCH, R. und A. TIMMERMANN, Urol. int. 4, 76 (1957). — 5. DULCE, H. J. und E. TAUPITZ, diese Z. 1, 59 (1963). — 6. FLEISCH, H. und S. BISAZ, Experientia (Basel) 20, 276 (1964). — 7. HINSBERG, K. und K. LANG, Medizinische Chemie. Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin-Wien (1957). — 8. v. SENGBUSCH, R. und A. TIMMERMANN, Urol. int. 5, 218 (1957). — 9. ARCHER, H. E., A. E. Dormer, E. F. Scowen und W. A. Watts, Clin. Sc., London 16, 405 (1957). — 10. FLASCHENTRÄGER, B. und B. P. MÜLLER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 251, 52 (1938). — 11. HODGKINSON, A. und P. M. ZAREMSKI, Analyst 86, 16 (1961). — 12. EHEART, J. F. und D. C. HURST, J. Assoc. off. agric. Chemists 45, 98 (1962). — 13. NIEDIECK, B., R. v. SENGBUSCH und A. TIMMERMANN, Urol. int. 7, 309 (1958). — 14. DODDS, E. C. und E. J. GALLIMORE, Biochem. J. 26, 1242 (1932). — 15. LEHMANN, E. und W. GRÜTZ, Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde 61, 77 (1953). — 16. EHRENDORFER, K., Bodenkultur (Wien) Ausg. A. 12, 100 (1961). — 17. v. SENGBUSCH, R. und L. PETERS, Unveröffentlichte Untersuchungen. — 18. EHRENDORFER, K., persönliche Mitteilung (1963).

Professor Dr. R. von Sengbusch
2 Hamburg-Volksdorf
Waldredder 4