

4.2 Harnsteinpatienten

Zwei Drittel der untersuchten Harnsteine waren monomineralisch, die restlichen enthielten zwei oder mehr Substanzen, wobei ein Mineral dominierte. Die Auswertung in den folgenden Tabellen wurde daher nach dem Hauptbestandteil vorgenommen. Bei den 25 Hunden bestanden 44% der Harnsteine aus Magnesiumammoniumphosphat (Struvit), 32% aus CaOx und 16% aus Uraten. Die am geringsten vertretende Art mit 8% (2 Hunde) waren Cystinsteine. Die Geschlechterverteilung lag mit 1:2,6 auf der Seite der männlichen Hunde, bei den sieben weiblichen Tiere wurden Struvitsteine diagnostiziert.

Die untersuchten Tiere mit Urolithiasis wurden in einem Alter von 1,5 bis 13 Jahren vorgestellt. Überwiegend waren Hunde mittleren bis älteren Alters vertreten (Tab. 4.10). Die durchschnittlich jüngste Gruppe waren Hunde mit Cystinsteinen, gefolgt von Uraten und Struvitsteinen. Die Hunde mit CaOx-Steinen waren im Mittel am ältesten.

Bei den 25 Hunde handelte es sich um 12 verschiedene Rassen und zwei Mischlingshunde. Dabei waren kleinwüchsige Rassen mit 56% (14 von 25) überdurchschnittlich vertreten. Mittelgroße Hunde kamen zu 24% und große Rassen zu 20% vor. Der Yorkshire Terrier und Dackel war mit jeweils 16% die am häufigsten repräsentierten Rassen. Betrachtete man die Verteilung innerhalb der vier festgestellten Harnsteinarten, so waren in der Gruppe mit Struviten sowohl klein-, mittel- als auch großwüchsige Rassen zu finden. Auffällig war, dass das Auftreten dieser Harnsteinart zu 90% in Verbindung mit einer bakteriellen Infektion der unteren Harnwege einherging. CaOx-Steine waren zu 75% bei den kleinwüchsigen Hunden zu finden, insbesondere beim Yorkshire Terrier. Die meisten CaOx-Steine befanden sich in der Harnröhre (88%), nur bei einem Tier waren die Urolithe in Blase und Harnröhre lokalisiert. Die vorstellig gewordenen Dalmatiner hatten ausschließlich Uratsteine und waren mit 75% die dominierende Rasse innerhalb dieser Harnsteinart. Im Anhang wurden die Daten der Hunde einzeln dargestellt.

Tab. 4.10: Verteilung von Alter (m = Median), Geschlecht, Lokalisation und bakterieller Infektion innerhalb der Harnsteinarten.

Harnsteinart	Alter		Geschlecht		Lokalisation		Bakterielle Infektion
	von-bis	m	♂	♀	Blase	Harnröhre	(von Analysen)
Struvit	2,0 – 11,4	6,7	4	7	9	2	9 (10)
CaOx	3,0 – 12,8	8,9	8	0	1	7	1 (8)
Urat	1,5 – 8,0	5,0	4	0	1	3	0 (3)
Cystin	3,5 – 5,0	4,3	2	0	0	2	1 (2)
Gesamt	1,5 – 12,8	6,9	18	7	11	14	11 (23)

4.2.1 Klinische Parameter

Ein Vergleich bestimmter klinischer Parameter im Serum zwischen der Kontrollgruppe und den Harnsteinpatienten ergab nur wenige Unterschiede (Tab. 4.11). Der Plasmagehalt von Magnesium in der Kontrollgruppe unterschied sich signifikant von dem der Hunde mit CaOx-Steinen ($p < 0,01$). Die Gruppe mit Uratsteinen hatte einen signifikant niedrigeren Gesamtproteingehalt gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,001$). Die anderen Parameter zeigten keinen Unterschied, weder zwischen gesunden und kranken Hunden, noch zwischen Patienten mit verschiedenen Harnsteinarten.

Tab. 4.11: Plasmaparameter der Hunde mit Harnsteinen und Kontrollen als Median und Perzentile (Einzelwerte in der Cystingruppe); signifikante Unterschiede auf dem Niveau von ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,001$ zur Kontrollgruppe.

Plasma	Harnsteinart				
	Kontrolle n = 21	Struvit n = 11	CaOx n = 8	Urat n = 4	Cystin n = 1/2
Calcium [mmol/l]	2,6 2,4 – 2,8	2,5 2,4 – 2,5	2,5 2,2 – 2,7	2,3 1,8 – 2,5	2,8
Magnesium [mmol/l]	0,80 0,73 – 0,87	0,86 0,70 – 0,95	0,69** 0,66 – 0,74	0,85 0,81 – 0,89	1,03
Phosphor [mmol/l]	1,20 1,00 – 1,58	1,19 1,00 – 1,32	1,30 1,09 – 1,50	1,34 1,15 – 1,61	1,97
Kreatinin [mg/dl]	0,98 0,79 – 1,12	0,80 0,67 – 0,91	0,80 0,70 – 1,44	0,91 0,77 – 1,31	0,94 / 1,20
Harnstoff [mg/dl]	33 31 – 50	38 31 – 41	37 28 – 92	27 14 – 109	33 / 59
Protein [g/dl]	6,7 6,3 – 7,7	6,3 6,0 – 6,4	6,4 5,9 – 6,5	5,2*** 4,3 – 6,0	6,5 / 9,2
Albumin [g/dl]	3,5 3,0 – 3,8	3,5 3,1 – 3,7	3,3 3,1 – 3,3	3,0 2,1 – 3,1	3,0 / 3,7

Im Harn traten signifikante Unterschiede bei pH-Wert, Proteingehalt und ausgeschiedener Calciummenge auf. Im Falle einer Struvituroolithiasis war der pH-Wert deutlich basischer als der der Kontrolltiere ($p < 0,05$) sowie der CaOx-Gruppe ($p < 0,05$). Die Bestimmung des Proteingehaltes im Harn zeigte Unterschiede zwischen den gesunden und den harnsteinerkrankten Hunden. Die höchste Proteinausscheidung hatten CaOx-Steinpatienten mit einem medianen upc-Quotienten von 2,28. Nachfolgend kamen Struvit mit 1,35 und Urat mit 1,15. Wie aus Tab. 4.12 hervorgeht, war in der CaOx-Steingruppe die höchste Calciumkonzentration bezogen auf Kreatinin bzw. die höchste fraktionelle Clearance von Calcium nachzuweisen. Auch im Falle von Struvitsteinen lag eine signifikant erhöhte Ausscheidung von Calcium gegenüber der Kontrollgruppe vor. Keine Unterschiede waren dagegen bei Magnesium zu messen.

Tab. 4.12: Harnparameter von Harnsteinpatienten und Kontrollhunden als Median und Perzentil, (Einzelwerte in der Cystingruppe); # signifikante Unterschiede auf dem Niveau von $p < 0,05$ zwischen Harnsteingruppen; * signifikante Unterschiede auf dem Niveau von $p < 0,05$ zur Kontrollgruppe, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; (FC = Fraktionelle Clearance).

Harn	Harnsteinart				
	Kontrolle n = 21	Struvit n = 11	CaOx n = 8	Urat n = 4	Cystin n = 2/1
pH-Wert	7,1 6,4 – 7,6	7,7*# 7,2 – 7,9	6,4# 6,1 – 7,5	7,4 6,9 – 7,7	6,9 / 7,5
Kreatinin [mg/dl]	354,1 168,1 – 482,6	105,3* 79,6 – 177,7	66,6* 51,7 – 210,0	81,9 48,5 – 321,0	109,4 / 273,6
Protein [mg/dl]	29,0 11,7 – 83,9	187,7* 87,5 – 286,9	165,6* 40,4 – 330,2	143,7 39,8 – 264,5	68,7 / 114,1
upc-Verhältnis	0,11 0,05 – 0,21	1,35*** 0,61 – 2,09	2,28*** 0,72 – 5,08	1,15*** 0,27 – 5,19	0,25 / 1,04
FC _{Ca}	0,10 0,06 – 0,17	0,31** 0,11 – 0,67	0,56** 0,42 – 1,50	0,23 0,03 – 0,43	0,49
FC _{Mg}	1,58 0,94 – 2,92	2,12 0,60 – 4,88	2,80 1,31 – 5,05	1,10 0,12 – 5,41	0,83

4.2.2 Konzentrationen von Vitamin A, RBP und THP bei Hunden mit Harnsteinen

4.2.2.1 Vitamin A im Blutserum und Harn

Die Bestimmung der verschiedenen Vitamin-A-Derivate im Serum und im Harn zeigte nur wenige Unterschiede. Die Harnsteinpatienten besaßen einen gegenüber den Kontrolltieren höheren Retinolgehalt im Serum. Mit Ausnahme von Cystin (2 Patienten) war eine statistische Signifikanz zu berechnen, die eine unterschiedliche Retinol- und Retinylesterverteilung ergab. Während bei den Kontrolltieren Retinol 11% (0,4 mg/l) des Gesamtvitamin A im Serum ausmachte, lag Retinol bei den Harnsteinpatienten mit knapp 20% (0,98 mg/l) bei Struvit, mit 18% (0,92 mg/l) bei Urat und mit 13% (0,67 mg/l) bei CaOx höher. Die Verteilung der Retinylester war in allen Gruppen ähnlich. Die vorherrschende Fraktion im Serum war eindeutig Retinylstearat, dessen Anteil an den Retinylestern mit 50% in der Gruppe Urat am niedrigsten und mit 82% in der Gruppe CaOx am höchsten war. Mit rund 74% lag die Kontrollgruppe dazwischen. Retinylpalmitat war die folgende Fraktion. Ihr Anteil lag zwischen 18% (Kontrollgruppe) und 33% (Cystin). Retinyleoleat hatte mit 4 – 8% den kleinsten Anteil.

Tab. 4.13: Retinol, Retinylester und Gesamtvitamin-A-Gehalte im Serum von Kontrollgruppe und Harnsteinpatienten; signifikante Unterschiede auf dem Niveau von * $p < 0,05$ und ** $p < 0,01$ gegenüber der Kontrollgruppe (Median und Perzentile, Einzelwerte in Cystingruppe).

Serum [mg/l]	Harnsteinart				
	Kontrolle n = 21	Struvit n = 11	CaOx n = 8	Urat n = 4	Cystin n = 2
Retinol	0,40 0,35 – 0,54	0,98** 0,56 – 1,24	0,67* 0,52 – 1,41	0,92** 0,57 – 1,17	0,50 / 0,90
Retinyl- oleat	0,21 0,15 – 0,35	0,19 0,12 – 0,31	0,21 0,08 – 0,55	0,32 0,23 – 0,54	0,30 / 0,43
Retinyl- palmitat	0,89 0,57 – 1,48	1,13 0,93 – 2,35	0,98 0,40 – 2,85	1,03 0,70 – 2,61	0,79 / 2,26
Retinyl- stearat	3,71 2,85 – 6,57	3,42 1,47 – 4,23	4,06 2,11 – 5,56	2,07 1,49 – 3,07	4,55 / 4,19
ΣRetinyl- ester	5,01 3,58 – 6,79	4,80 2,80 – 6,82	4,94 2,68 – 9,80	4,15 2,53 – 5,36	5,67 / 6,87
Vitamin A	5,65 4,50 – 8,25	4,95 3,36 – 7,70	5,23 3,35 – 11,21	4,99 3,55 – 6,17	6,14 / 7,77

Im Harn waren die Retinylester die dominierende Fraktion. Das Retinylpalmitat war mit über 50% am Gesamtvitamin A und sogar um die 90% an den Retinylestern beteiligt. Jedoch konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden (Tab. 4.14).

Tab. 4.14: Retinol, Retinylester und Vitamin-A-Konzentrationen im Harn sowie deren fraktionelle Clearance (FC) als Median und Perzentile (Einzelwerte in Cystingruppe); keine signifikanten Unterschiede feststellbar.

Harn (pro mg Kreatinin)	Harnsteinart				
	Kontrolle n = 21	Struvit n = 11	CaOx n = 8	Urat n = 4	Cystin n = 2
Retinol [$\mu\text{g}/\text{mg}$]	0,06 0,01 – 0,29	0,28 0,12 – 0,84	0,35 0,25 – 1,00	0,26 0,12 – 0,39	0,69 / 1,08
Retinyleoleat [$\mu\text{g}/\text{mg}$]	0,01 0,00 – 0,03	0,05 0,02 – 0,15	0,05 0,04 – 0,11	0,03 0,01 – 0,05	0,01 / 0,03
Retinylpalmitat [$\mu\text{g}/\text{mg}$]	0,27 0,16 – 0,85	0,90 0,69 – 2,80	0,97 0,38 – 2,31	0,31 0,08 – 0,43	0,14 / 1,22
Retinylstearat [$\mu\text{g}/\text{mg}$]	0,00 0,00 – 0,05	0,03 0,01 – 0,09	0,02 0,00 – 0,05	0,01 0,00 – 0,08	0,00 / 0,01
Σ Retinylester [$\mu\text{g}/\text{mg}$]	0,30 0,16 – 0,93	0,97 0,78 – 3,03	1,14 0,42 – 2,41	0,35 0,09 – 0,56	0,15 / 1,26
Vitamin A [$\mu\text{g}/\text{mg}$]	0,53 0,19 – 1,58	1,44 1,16 – 3,09	2,09 0,92 – 2,98	0,54 0,28 – 0,95	0,84 / 2,34
FC _{Retinol}	0,15 0,03 – 0,52	0,20 0,13 – 0,92	0,49 0,38 – 1,19	0,30 0,13 – 0,53	2,61 / 0,72
FC _{Rester}	0,06 0,03 – 0,18	0,23 0,08 – 0,56	0,26 0,17 – 0,83	0,10 0,03 – 0,12	0,27 / 0,02
FC _{Vitamin A}	0,07 0,04 – 0,24	0,35 0,11 – 0,54	0,45 0,23 – 0,71	0,12 0,07 – 0,14	0,46 / 0,10

4.2.2.2 RBP im Blutserum und Harn

Die Serum-RBP-Konzentrationen unterschieden sich in keiner der Gruppen voneinander (Tab. 4.15), weder zwischen der Kontrollgruppe und den Harnsteinpatienten, noch innerhalb der Patientengruppe. Jedoch war ihr molares Retinol-RBP-Verhältnis wie im Falle der Niereninsuffizienz deutlich erhöht ($p < 0,01$). Die beiden Hunde mit Cystinsteinen zeigten keinen Unterschied zur Kontrollgruppe. Bei der Messung von RBP im Harn fiel auf, dass sämtliche Hunde RBP in Spuren im Harn aufwiesen. Die Konzentration war sehr gering, sie lag mit 5,6 bis 23,7 $\mu\text{g}/\text{l}$ um das 10fache niedriger verglichen mit niereninsuffizienten Hunden.

Tab. 4.15: RBP im Serum und Harn der Kontrolltiere und Harnsteinpatienten als Median und Perzentile, sowie Serumretinol-RBP-Verhältnis; signifikante Unterschiede auf dem Niveau von **p<0,01 und *** p<0,001 gegenüber der Kontrollgruppe.

Serum	Harnsteinart				
	Kontrolle n = 21	Struvit n = 11	CaOx n = 8	Urat n = 4	Cystin n = 2
RBP [mg/l]	2,82 2,34 – 3,58	3,03 1,92 – 3,89	2,28 2,09 – 4,49	2,61 0,77 – 3,79	2,16 / 5,12
Retinol:RBP [mol]	1:0,1	1:0,04**	1:0,05**	1:0,05**	1:0,06 / 1:0,08
Harn					
RBP [µg/l]	0,0 0,0 – 3,5	5,9** 3,5 – 6,6	5,6** 5,1 – 8,0	6,3** 5,0 – 9,6	** 5,2 / 23,7
RBP/Kreatinin [ng/mg]	0,0 0,0 – 0,8	4,1** 2,7 – 21,8	7,83*** 2,0 – 15,5	8,3*** 2,4 – 20,2	** 1,9 / 21,6

4.2.2.3 THP im Blutserum und Harn

THP konnte im Serum von Hunden nicht nachgewiesen werden. Die Nachweisgrenze lag mit der angewandten Methode bei 3,5 µg THP/l Harn. Eindeutige Unterschiede fielen bei der quantitativen Bestimmung des THP-Gehaltes im Harn auf. Bei allen Hunden mit Harnsteinen war die Konzentration von THP signifikant herabgesetzt. Jedoch bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Steinarten.

Tab. 4.16: Konzentrationen von THP im Harn als Median und Perzentile (Einzelwerte in Cystingruppe); signifikante Unterschiede auf dem Niveau von ** p<0,01 und *** p<0,001 gegenüber der Kontrollgruppe.

Harn	Harnsteinart				
	Kontrolle n =21	Struvit n = 11	CaOx n = 8	Urat n = 4	Cystin n = 2
THP [µg/l]	269,4 193,3 – 300,9	12,4*** 0,0 – 41,3	9,0** 0,0 – 26,4	11,6** 5,9 – 14,4	** 0,0 / 5,2
THP/Krea [ng/mg]	100,9 58,0 – 172,0	12,3*** 0,0 – 54,4	6,1** 0,0 – 17,4	15,0** 4,3 – 27,0	** 0,0 / 1,9

4.2.3 Charakterisierung der Harnproteinprofile mittels SDS-PAGE und Western-Blot

Bei 10 Patienten unterschiedlicher Harnsteintypen konnte sowohl RBP als auch DBP im Harn nachgewiesen werden, bei einem Patienten ausschließlich RBP und bei 9 Patienten ausschließlich DBP (Tab. 4.17). Fünf Hunde mit Struvit-, CaOx- oder Uratsteinen enthielten dagegen weder RBP noch DBP im Harn. RBP und DBP wurden überwiegend bei Hunden im Harn gefunden, deren Steine sich in der Harnröhre befanden. Ein Zusammenhang zwischen dem Erscheinen beider oder einem der Proteine und der Mineralart konnte nicht festgestellt werden. Bei sämtliche Harnsteinpatienten konnte das Harnprotein THP detektiert werden, wobei jeweils bei einem Patient jeder Harnsteinart eine doppelte Bande von THP im Western-Blot auftrat (Abb. 4.23).

Tab. 4.17: Immunologischer Nachweis der Markerproteine RBP, DBP und THP im Harn mittels Western-Blot-Technik im Vergleich zur Steinlokalisation in Harnröhre oder Blase.

	n = 11	CaOx n = 8	Urat n = 4	Cystin n = 2	
RBP	6	4	1	0	11
DBP	9	6	3	1	19
THP	11	8	4	2	25
RBP/von Patienten mit Urethralsteinen	2/2	4/4	1/4	0/1	7/11
RBP/mit Cystolithen	4/9	0/4	0/0	0/0	4/13

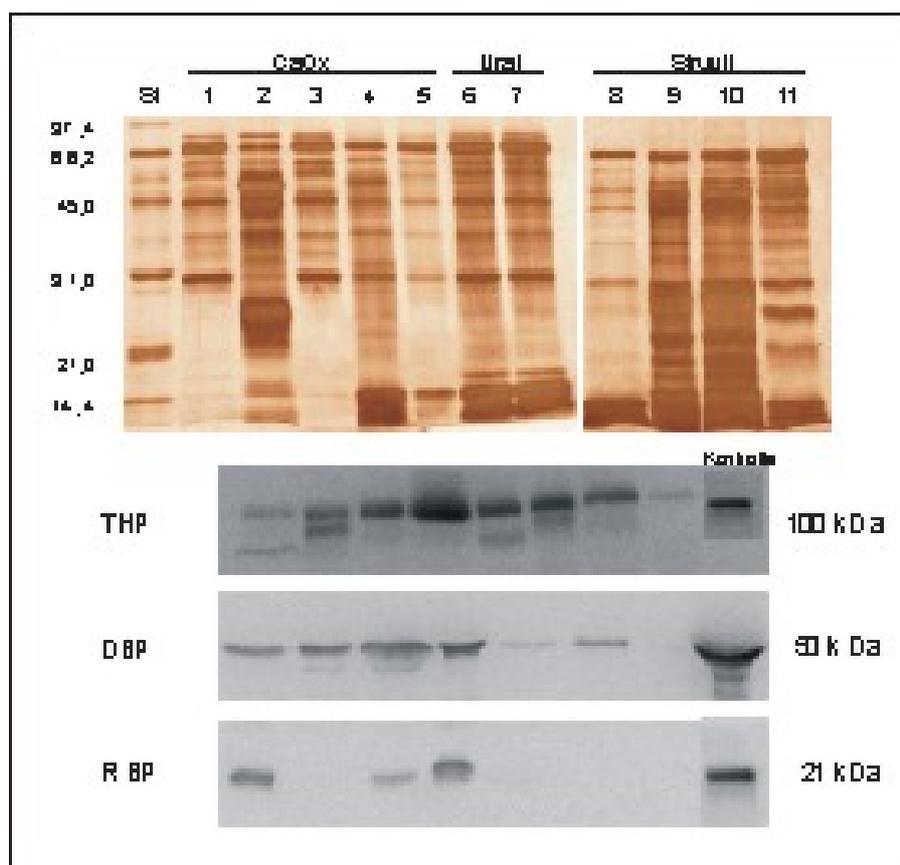


Abb. 4.23: Darstellung der Harnen von Hunden mit Urolithiasis in der SDS-PAGE, Standardproteingemisch links (St) mit den Molmassen in Kilodalton, Proben 1 – 5 CaOx, 6 und 7 Urat, 8 – 11 Struvit; nachfolgender immunologischer Nachweis von THP, DBP und RBP verschiedener Urolithiasisharnproben mit Kontrolle rechts. Im Western-Blot von THP zeigen einige Harnproben eine Doppelbande.

4.2.4 Charakterisierung der Harnproteinprofile mittels SELDI

Die Untersuchung der Harnproteine ergab Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den Harnsteinpatienten sowie innerhalb der Patientengruppen. Insgesamt unterlagen die Harnproteinprofile einer großen Heterogenität. So konnten zwar signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen mit Hilfe der spezifischen Software errechnet werden, einschränkend stellte sich jedoch die große Varianz innerhalb der Gruppen dar, die in Abbildung 4.24 zu erkennen ist. Repräsentative Unterschiede sind zum einen in einem Streudiagramm und zum anderen in einem Massenspektrogramm bzw. in der Gelansicht dargestellt (Abb. 4.24 und 4.25). Harnsteinpatienten zeigten überwiegend höhere Intensitäten der Harnproteine gegenüber der Kontrollgruppe. Wegen der geringen Anzahl an Hunden mit Cystinsteinen konnte diese Gruppe nicht in die Auswertung miteinbezogen werden. Hunde mit Struvitsteinen zeigten im Harn deutlich mehr Peptide und Proteine als die übrigen Gruppen. Ferner lagen die Intensitäten ihrer Proteinpeaks gegenüber denen der Hunde mit CaOx- oder Uratsteinen höher. Wie exemplarisch in Abbildung 4.25 für die jeweilige Harnsteingruppe dargestellt, ergab der Vergleich mit der Kontrollgruppe bei den Struvitpatienten höhere Intensitäten der Proteine mit 9,42 ($p = 0,00015$), 10,17 ($p = 0,022$), 10,45 ($p = 0,0011$), 15,30 ($p = 0,022$) und 16,03 kDa ($p = 0,0013$). Die Harnprofile der CaOx-Patienten zeigten Unterschiede bei 41,75 ($p = 0,011$) und 65,69 kDa ($p = 0,03$) im Vergleich zur Kontrollgruppe. Schließlich fielen in der Gruppe der Uratsteine höhere Intensitäten bei 9,42 ($p = 0,017$), 15,30 ($p < 0,005$) und 16,03 kDa ($p = 0,0066$) auf. Ähnlich wie bei den Proben der niereninsuffizienten Hunde konnte festgestellt werden, dass das Protein mit 27,47 kDa um etwa 380 Dalton geringer erschien als bei der Kontrollgruppe mit 27,85 kDa. Auch bei den Harnsteinpatienten war die Tendenz zu erkennen, dass die Intensität dieses Proteins niedriger ausfiel als bei der Kontrollgruppe.

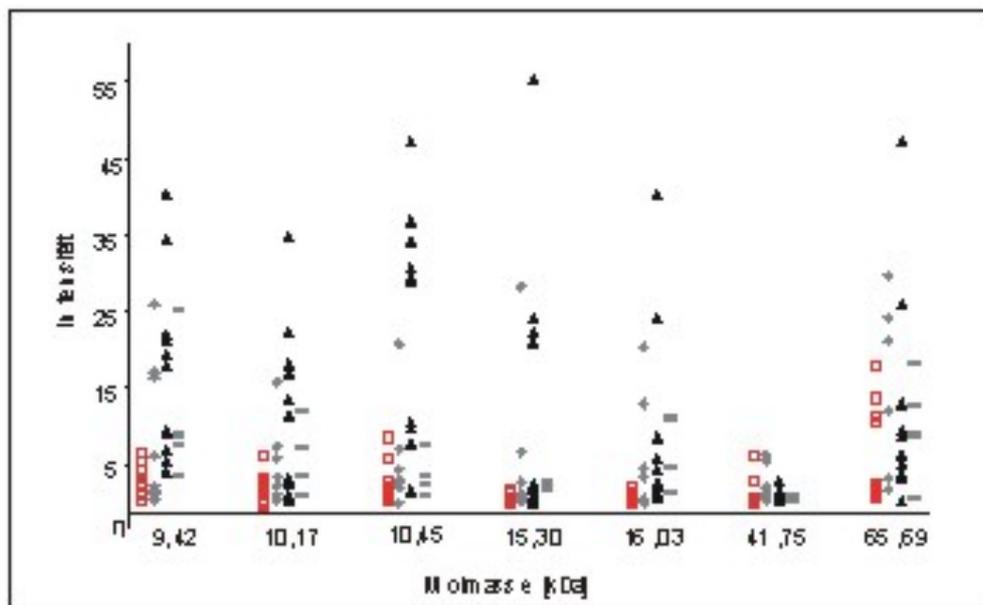


Abb. 4.24: Streudiagramm der 7 signifikanten Peptid- und Proteinpeaks verschiedener Harnsteingruppen. □ Kontrollgruppe (n = 12), ▲ Struvit (n = 11), ◇ CaOx (n = 8), — Urat (n = 4), y-Achse Intensität der Peaks, x-Achse Molmassen in Kilodalton.

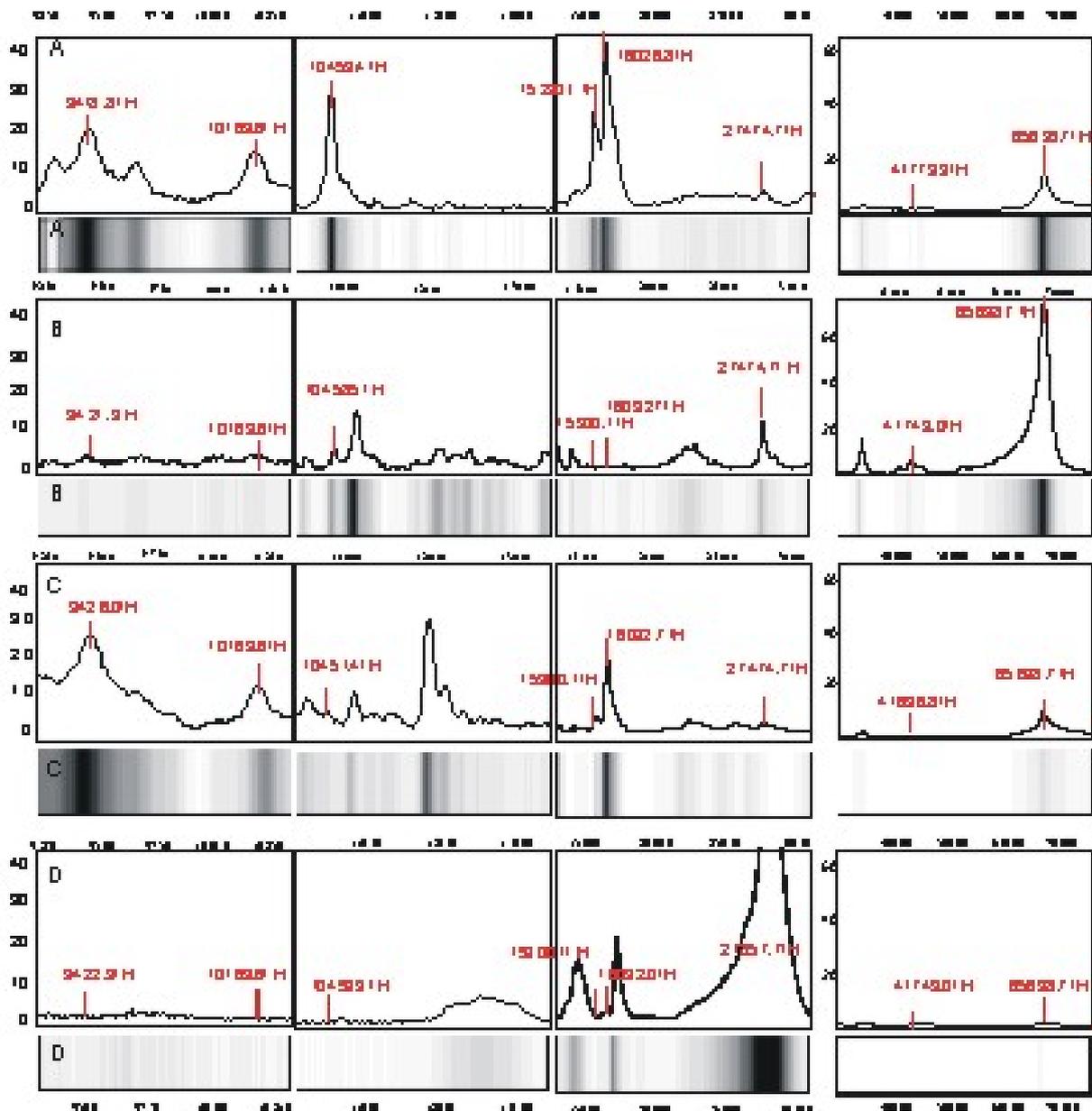


Abb. 4.25: Repräsentative Proteinmassenspektren und die dazugehörigen Gelansichten von Harnproben erhalten durch eine SAX II Chipoberfläche. Reihe A stammt von einem Hund mit Struvitsteinen, Reihe B von einem Hund mit CaOx-Steinen, Reihe C von einem Hund mit Uratsteinen und Reihe D stammt von einem Kontrolltier. Masse/Ladung (in Dalton). +H zeigt die einfache Ladung eines Peaks an.

4.2.5 Ergebnisse zur Untersuchung von Proteinen der organischen Matrix der Harnsteine

4.2.5.1 Darstellung der Proteine durch SDS-PAGE und Western-Blot

Die Auftrennung der Harnsteinextrakte mittels der SDS-PAGE ergab eine deutliche Bande im Bereich von 66 kDa, die als Albumin identifiziert wurde. Sie war die bei allen Extrakten am prominentesten vertretene Bande, gefolgt von zwei weiteren Banden bei 31 und 14,4 kDa. THP sowie RBP konnten im Western-Blot nicht nachgewiesen werden.

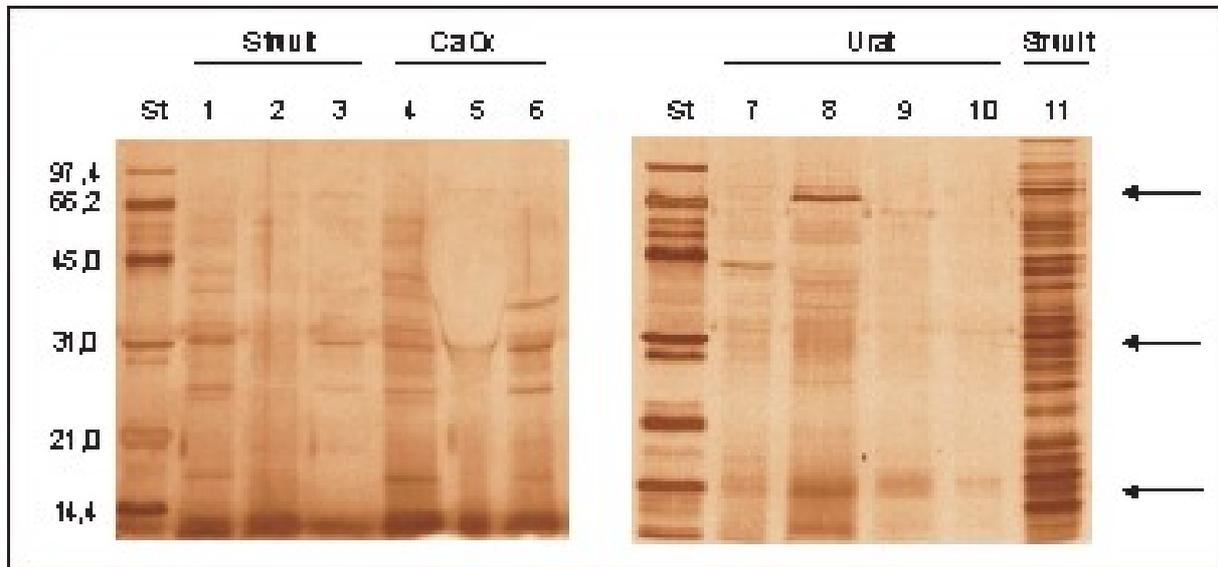


Abb. 4.26: Darstellung der SDS-PAGE der Harnsteinextrakte verschiedener Steinarten, Proben 1 – 3 und 11 Struvit, 4 – 6 CaOx und 7 – 10 Urat, Molmassen des Proteinstandards in Kilodalton.

4.2.5.2 Charakterisierung der Matrixproteine nach Anwendung der SELDI-TOF MS

Die Extrakte der Harnsteintypen zeigten Unterschiede in ihren Proteinprofilen, wie in Abbildung 4.27 exemplarisch zu sehen. Sämtliche im Extrakt identifizierten Proteinpeaks waren gleichzeitig auch im Harn wiederzufinden, während andere Harnproteine im Extrakt nicht gefunden wurden. Struvitsteine wiesen insgesamt einen größeren Gehalt an Proteinen im Gegensatz zu den anderen Arten auf. Es konnten Proteinpeaks mit 9,16, 9,71, 16,03, 44,58 und 65,69 kDa im Extrakt der Struvitsteine identifiziert werden. Die CaOx-Extrakte enthielten die im Harn ebenfalls vorkommenden Proteinpeaks mit der molaren Masse von 10,16, 15,26, 16,03, 44,62 und 65,69 kDa. Besonders auffällig waren die bei sämtlichen CaOx-Extrakten in hohen Intensitäten vorkommenden Proteine mit 15,26 und 16,03 kDa. In der Gruppe der Uratsteine konnten nur eine geringe Anzahl an Peptiden bzw. Proteinen aus den Steinen isoliert werden (M 8,28, 8,71 kDa). Ein Peptid mit der Molmasse von 3617 Da (hier nicht abgebildet) war jedoch deutlich stärker vertreten als bei den anderen Gruppen ($p < 0,05$). Auch diese Peaks waren gleichzeitig in den dazugehörigen Harnen nachzuweisen.

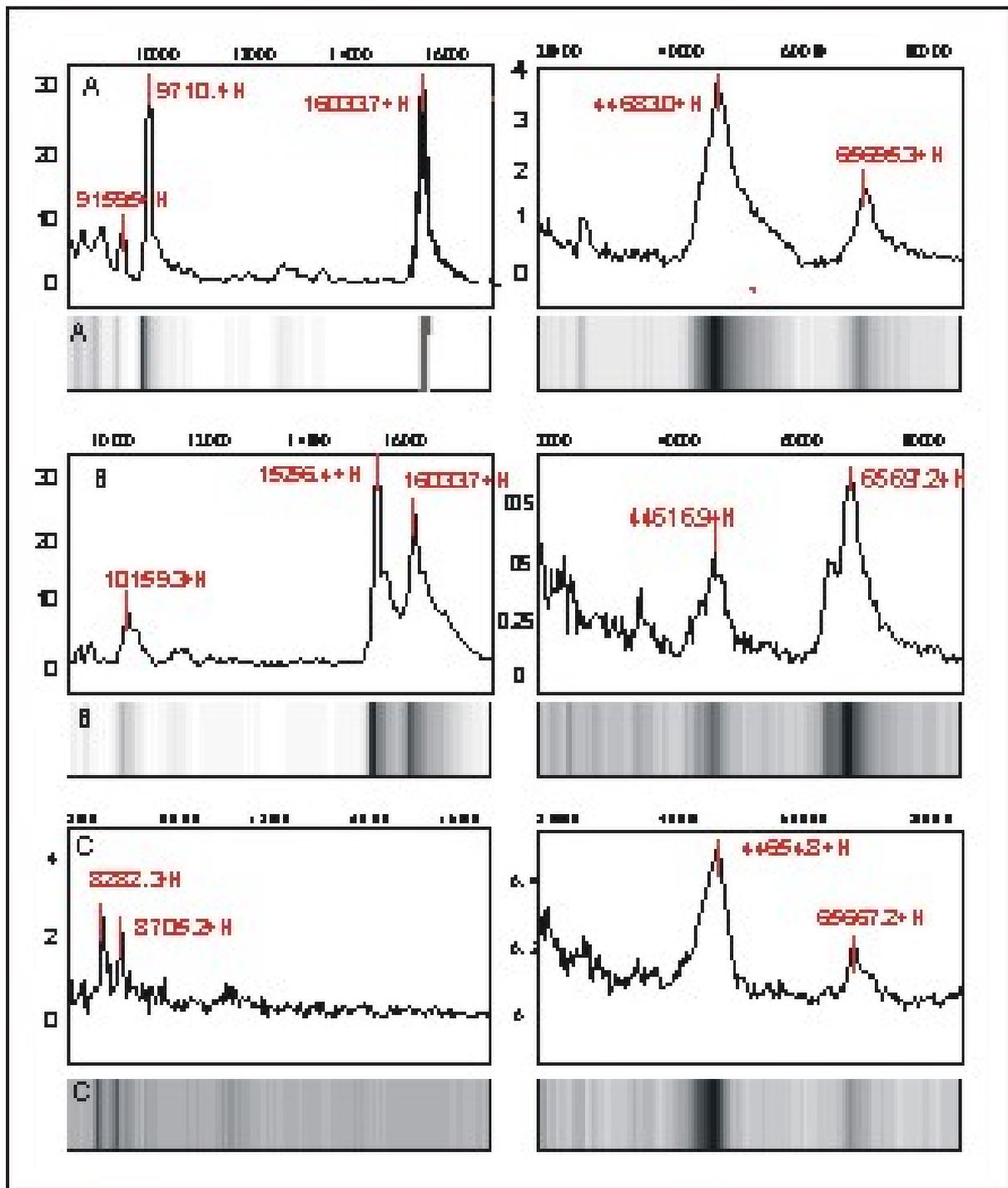


Abb. 4.27: Repräsentative Peptid- bzw. Proteinmassenspektren und deren Gelansichten von Steinextrakten einzelner Patienten auf einer SAX II Chipoberfläche nach SELDI-TOF MS. Reihe A stammt von einem Struvitextrakt, Reihe B von einem CaOx-Extrakt und Reihe C von einem Uratextract. Die Zahlen geben die Molmassen der dazugehörigen Proteinpeaks an, Masse/Ladung (in Dalton). +H zeigt die einfache Ladung des Peaks an.

4.3 Ergebnisse zur Untersuchung des Einflusses von Calciumchlorid auf das Verhalten von THP und Vitamin A

Vor der Durchführung der Ausfällungsversuche wurde der Harn von 10 verschiedenen gesunden Hunden abhängig von der Konzentration an THP in 3 Gruppen eingeteilt. Die Gruppe 1 enthielt die höchsten Konzentrationen während Gruppe 2 signifikant niedriger Werte und schließlich Gruppe 3 die geringsten Konzentrationen von THP im Ausgangsharn aufwies ($p < 0,05$). Es existierten keine signifikanten Unterschiede in den Gehalten von Retinol bzw. Retinylester zwischen den drei Gruppen. Ebenfalls konnte keine Korrelation zwischen den Konzentrationen von THP und Retinol bzw. Retinylestern ermittelt werden.

Tab. 4.18: Einteilung von Hunden in drei Gruppen mit hoher, mittlerer und niedriger THP-Ausgangskonzentration im Harn; signifikante Unterschiede auf dem Niveau von $*p < 0,05$, keine Unterschiede in der Retinol- bzw. Retinylesterharnkonzentration.

Gruppe	1 (n=4)	2 (n=3)	3 (n=3)
THP [$\mu\text{g/l}$]	913,5* (708,8 – 945,4)	332,7* (284,0 – 374,9)	134,0* (100,1 – 156,9)
Retinol [$\mu\text{g/l}$]	0,29 (0,28 – 1,00)	0,78 (0,22 – 3,13)	0,46 (0,27 – 1,08)
Retinylester [$\mu\text{g/l}$]	0,82 (0,29 – 2,07)	0,19 (0,15 – 0,46)	0,81 (0,02 – 2,86)

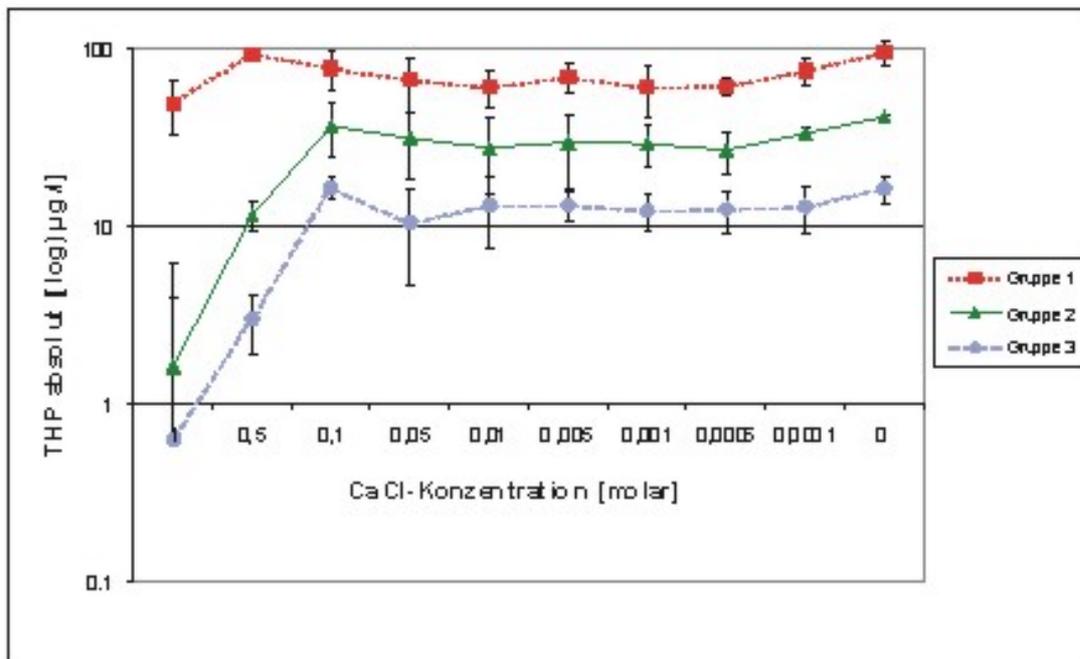


Abb. 4.28: Graphische Darstellung der logarithmischen Konzentration an THP im Harnüberstand nach Zugabe der jeweiligen CaCl_2 -Konzentration für die Gruppe 1 mit höchster, Gruppe 2 mit mittlerer und Gruppe 3 mit niedrigster THP-Ausgangskonzentration (Einteilung nach Tab. 4.18).

4.3.1 Veränderungen der THP-Konzentrationen im Harn unter dem Einfluss von Calciumchlorid

Die Konzentration von THP im Überstand nahm durch die Zugabe der CaCl_2 -Lösung ab (Abb. 4.28 und 4.29). Diese Effekte konnten statistisch ab einer CaCl_2 -Konzentration von 0,5 molar bzw. bei Harnen mit niedriger THP-Ausgangskonzentration ab 0,1 molar vermerkt werden. Je stärker konzentriert die zugesetzte CaCl_2 -Lösung war, desto geringer war die verbleibende THP-Menge im Überstand, d.h. es konnte eine positive Korrelation zwischen der zugesetzten CaCl_2 -Konzentration und der ausgefällten Menge an THP innerhalb der Gruppen festgestellt werden ($\rho=0,40$, $p<0,05$). Desweiteren hatte die Ausgangskonzentration an THP Einfluss auf die erforderliche Zugabekonzentration von CaCl_2 , um eine Präzipitation bzw. eine Restkonzentration im Überstand von 50% THP vorliegen zu haben.

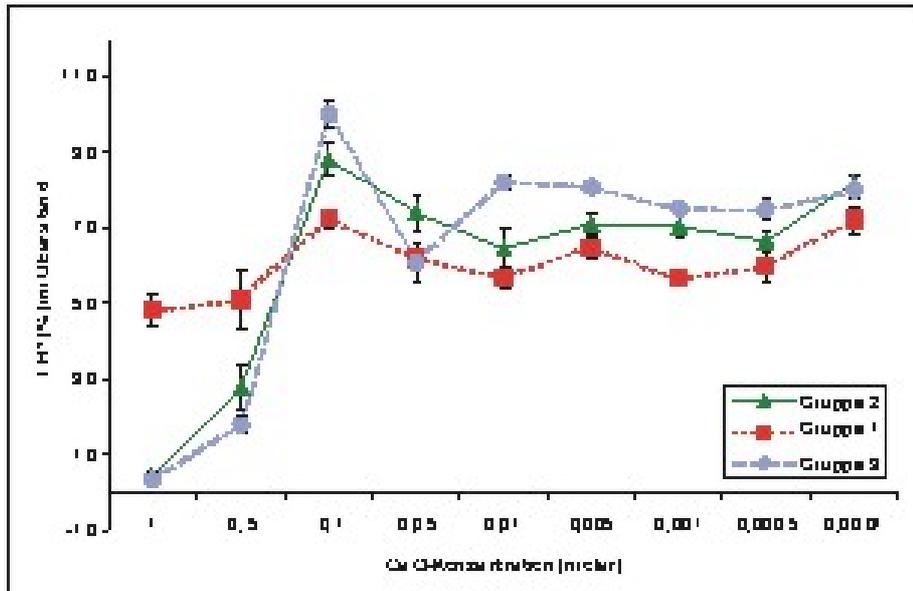


Abb. 4.29: Graphische Darstellung der prozentualen THP-Konzentration im Harnüberstand nach Zugabe der jeweiligen CaCl_2 -Konzentration der Gruppen 1 bis 3.

4.3.2 Veränderungen der Retinol- und Retinylester-Konzentrationen im Harn unter dem Einfluss von Calciumchlorid

Durch die Zugabe der CaCl_2 -Lösung bildete sich ein Präzipitat, das vom restlichen Überstand abgetrennt wurde. Unabhängig von der Konzentration der CaCl_2 -Lösung kam es bei der Zugabe zu den Harnproben zu keiner signifikanten Veränderung der Konzentration an Retinol im Überstand. Es konnten weder Unterschiede innerhalb der einzelnen Gruppen bei unterschiedlich konzentrierter CaCl_2 -Lösung, noch zwischen den drei Gruppen festgestellt werden. Anders verhielten sich dagegen die Retinylester. Ähnlich zu THP kam es nach der Zugabe von CaCl_2 zu einer signifikanten Konzentrationsabnahme der Retinylester im Überstand. Dabei hatte die Konzentration der CaCl_2 -Lösung Einfluss auf die Ausfällung der Retinylester. CaCl_2 -Lösungen von 0,1 bis 1 molar bewirkten mit höherer Konzentration einen stärkeren Verlust der Vitamin-A-Derivate im Überstand, d.h. eine stärkere Ausfällung. Niedriger konzentrierte CaCl_2 -Lösungen zeigten dagegen keinen Einfluss gegenüber der Ausgangskonzentration an Retinylester. Zwischen den Gruppen konnte festgestellt werden, dass bei Harnen mit einer höheren THP-Ausgangskonzentration eine konzentriertere CaCl_2 -Lösung benötigt wurde, um eine Ausfällung von 50% der Retinylester zu erwirken, d.h. es existierte eine positive Korrelation zwischen der THP-Konzentration des Harnes und der benötigten CaCl_2 -Konzentration, um eine 50%ige Reduzierung der Retinylester im Überstand zu erreichen.

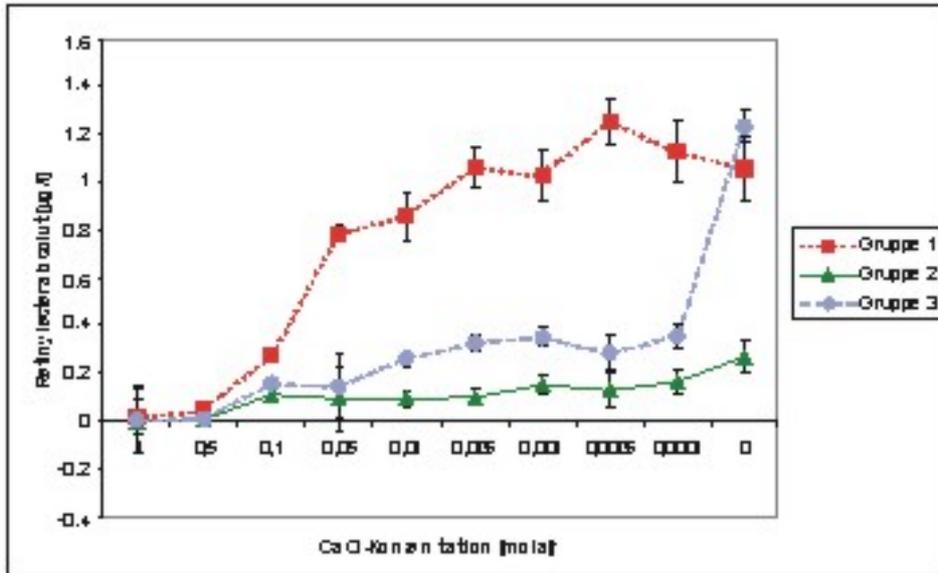


Abb. 4.30: Graphische Darstellung der absoluten Retinylesterkonzentration im Harnüberstand nach Zugabe der jeweiligen CaCl₂-Konzentration bei den Gruppen 1 bis 3.

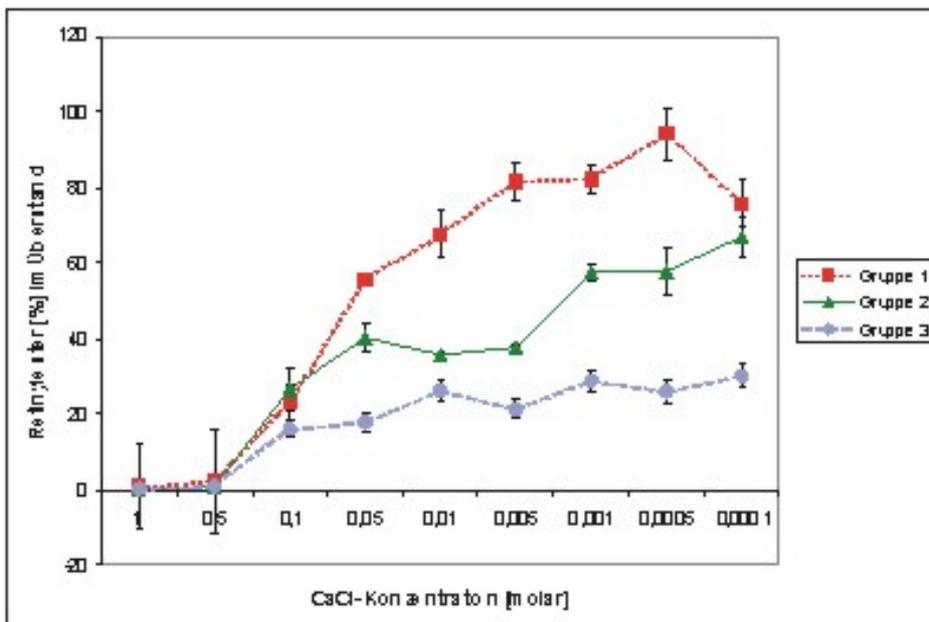


Abb. 4.31: Graphische Darstellung der prozentualen Retinylesterkonzentration im Harnüberstand nach Zugabe der jeweiligen CaCl₂-Konzentration bei den Gruppen 1 bis 3.