

## Nur übernormale Magnesiumaufnahme kann die Katecholaminsekretion während Streß vermindern

Emsenhuber, W., Porta, S., Felsner, P., Supanz, S., Helbig, J., Classen, H. G.

### Zusammenfassung

Männliche Sprague Dawley Ratten wurden 10 Tage lang entweder mit niederdosiertem (250 ppm), normaldosiertem (1500 ppm) oder überdosiertem (9000 ppm) Magnesium in Form von Magnesiumaspartat-Hydrochlorid (Fa. Verla Pharm, Tutzing) gefüttert. Nur bei Tieren, die mit der höchsten Magnesiumkonzentration (9000 ppm) behandelt wurden, kam es sowohl zu einer zusätzlichen Magnesiumspeicherung im Knochen als auch zu einem Anstieg des Katecholamingehaltes im Nebennierenmark, während die Fütterung mit normal- und niederdosiertem Magnesium zu einer Entspeicherung des Nebennierenmarkes führte.

Wurden die mit den verschiedenen Magnesiumkonzentrationen 10 Tage vorbehandelten Tiere einem 24stündigen Dauerstreß ausgesetzt, so waren wiederum nur die Hochmagnesium-Tiere im Stande, Magnesium aus dem übernormal gefüllten Speicher im Knochen in den Körper abzugeben, was zu einer Hemmung der streßinduzierten Katecholaminausschüttung des Nebennierenmarkes führte. Die Ergebnisse zeigen, daß, und wie, hohe Magnesium-Dosen, die über längere Zeit präventiv verabreicht werden müssen, einem starken mittelfristigen Streß entgegenwirken.

### Summary

Male Sprague-Dawley rats were treated for 10 days with low (250 ppm), normal (1500 ppm) and high (9000 ppm) levels of food Magnesium (MAH, Verla Pharm). Only animals treated with the highest Mg-concentration showed additional Mg-enrichment in femur as well as increase in medullar Catecholamine (CA) levels, while 250 ppm Mg-diet led to CA depletion of the adrenal medulla. If animals treated as shown, underwent an additional 24 hrs stress brought about by subcutaneously implanted Epinephrine tablets, again only those animals treated with the highest Mg levels were able to mobilize  $Mg^{2+}$  from the femur, thus obviously preventing stress induced hypersecretion of CA from the medulla.

### Résumé

Des rats mâles Sprague Dawley ont été traités pendant 12 heures par de la noradrénaline (NA), libérée à raison de  $3,40 \pm 0,24 \mu\text{g}/\text{min}/250 \text{ g}$  par des comprimés implantés de façon sous-cutanée. L'augmentation ininterrompue des concentrations plasmatiques de NA a entraîné une chute brutale du taux hépatique de glycogène après 12 heures de normoglycémie continue et d'hypernoradrénalinémie. L'administration de glucose par gavage 9 heures après le traitement s'est opposée à la libération médullaire d'adrénaline (A). Ces observations indiquent que l'hypersecretion médullaire d'A. n'est pas déclenchée par l'hypoglycémie, mais par la chute de la concentration hépatique de glycogène qui la précède. Il a été démontré qu'un pré-traitement oral de 10 jours par 9000 ppm de Magnésium (MAH, Verla Pharm.) constituait une méthode encore plus efficace d'inhibition de la sécrétion médullaire de catécholamines (Ca), en conservant l'A et la NA à l'intérieur de la glande. L'action préventive du  $Mg^{2+}$  s'exerce probablement à la fois au niveau du foie et de la médullo-surrénale.

### Einleitung

In einigen kürzlich präsentierten Arbeiten ist die Wirkung von Magnesium an einzelnen Organen wie Niere [4], Lunge [2, 5], Herz [1] und Leber [3] beschrieben worden. Die beobachteten Effekte (Hemmung einer hypoxiebedingten pulmonalen Vasokonstriktion, Reduktion der myogenen Autoregulation der Koronargefäße, Absenken der Plasma-Lipidkonzentration) waren derart, wie sie auch bei Unterdrückung von catecholaminergen Wirkungen auftreten. Aus diesem Grund untersuchen

Universität Graz, Arbeitsgruppe für Klinische und Experimentelle Endokrinologie

ten wir, ob eine langsame Veränderung des Magnesiumgehaltes in Ratten durch Fütterung mit verschiedenen Magnesiumkonzentrationen über 10 Tage auch direkt eine Veränderung des Katecholaminstatus bewirkt. Umgekehrt sollte eine 24stündige Katecholaminbehandlung von Ratten mit verschiedenem Magnesiumstatus eventuelle magnesiuminduzierte Veränderungen definierter Katecholaminwirkungen zeigen.

### Material und Methode

Es wurden 3 Gruppen von Sprague Dawley Ratten zu je 12 Individuen gebildet und die einzelnen Gruppen

10 Tage lang mit 250, 1500 oder 9000 ppm Magnesium, in Form von Magnesiumaspartat-Hydrochlorid (MAH, der Fa. VERLA PHARM., Tutzing), in der Nahrung gefüttert. Die erste Konzentration ist unterdosiert, die Zweite entspricht dem täglichen Magnesiumbedarf der Tiere, und die dritte ist stark überdosiert. Bei Versuchsbeginn, am 5. Tag und am 10. Tag, wurde eine bestimmte Anzahl von Tieren aus den verschiedenen Gruppen sorgfältig getötet [13, 14]. Nebenniere und Femur wurden entnommen, sofort in flüssigen Stickstoff verbracht und anschließend bis zur

## Nur übernormale Magnesiumaufnahme kann die Katecholaminsekretion während Streß vermindern

Untersuchung bei  $-70$  Grad Celsius aufbewahrt. Die Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin im Nebennierenmark erfolgte mittels PLC für Katecholamine. Der Femur der Tiere wurde mit Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) auf seinen Magnesiumgehalt untersucht.

In einer zweiten Versuchsserie wurde eine gleiche Anzahl von Ratten ebenfalls in 3 Gruppen unterteilt und mit den oben angeführten Magnesiumdosen 10 Tage lang gefüttert. Am 10. Tag wurden den Tieren in einer 10 Sekunden dauernden, unter Äthernarkose stattfindenden Operation, Adrenalin-Retardtabletten unter die Nackenhaut implantiert, die etwa  $1.1 \mu\text{g}$  Adrenalin/min/250 g stetig in das Tier eingaben [7, 11, 12].

Diese Behandlung wurde jeweils mit der Hälfte der Tiere jeder Gruppe durchgeführt, die andere Hälfte erhielt Placebo-Tabletten unter die Nackenhaut eingepflanzt. 24 Stunden später wurden die Tiere getötet, Nebenniere und Femur entnommen und wie o. a. bestimmt.

Lineare und zusammengesetzt exponentielle Korrelationen sowie Signifikanztests wurden mit einem IBM PS2/30 und mit kommerzieller ISI Software berechnet.

### Ergebnisse

1. Der Magnesiumgehalt des Femurs von Tieren, die mit verschiedenen Magnesiumdosen 10 Tage lang behandelt worden waren, zeigt eine der Fütterungskonzentration proportionale Zunahme oder Abnahme. Bei Tieren, die mit der höchsten Magnesiumdosis, nämlich 9000 ppm täglich, gefüttert wurden, steigt die Magnesiumkonzentration im Femur deutlich an, bei Normalmagnesium-Tieren bleibt sie unverändert, und bei magnesiumdepletierten Tieren kommt es zu einem Abfall, der allerdings nicht so deutlich ausfällt wie der durch hohe Magnesiumgabe erzielte Anstieg (Abb.1).

Sowohl der Noradrenalin- als auch der Adrenalin-gehalt in Nebennierenmark von Tieren, die mit verschiedenen Magnesiumkonzentra-

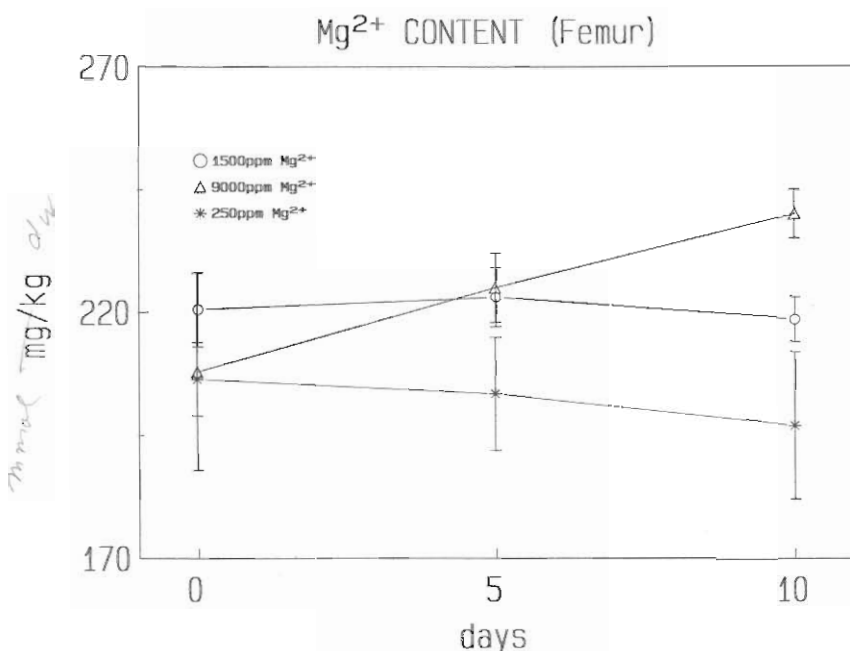


Abb. 1: Magnesiumgehalt des Femurs nach Fütterung mit unterschiedlichen Magnesiumkonzentrationen (250, 1500, 9000 ppm). Mittelwerte  $\pm$  SEM.

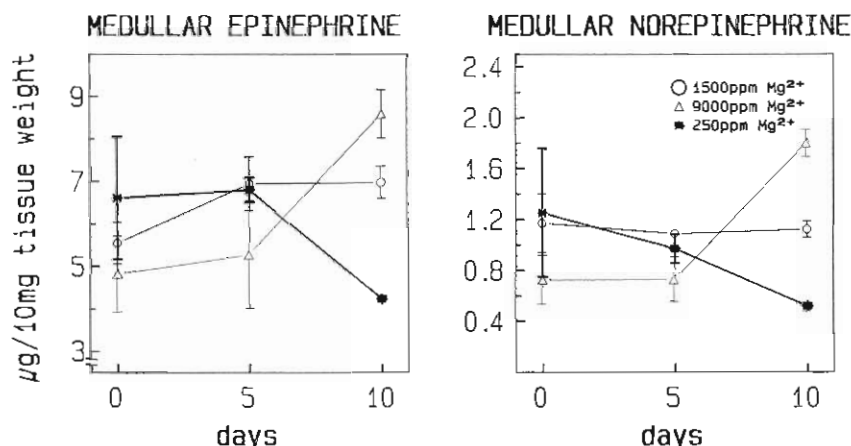


Abb. 2: Medulläre E- und NE-Werte nach Fütterung mit unterschiedlichen Magnesiumkonzentrationen (250, 1500, 9000 ppm). Mittelwerte  $\pm$  SEM.

tionen behandelt wurden, nimmt einen ähnlichen Verlauf wie der Magnesiumgehalt im Femur (Abb. 2). Bei mit hohen Magnesiumkonzentrationen behandelten Tieren steigt sowohl der Noradrenalin- als auch der Adrenalin-gehalt der Medulla nach 10 Tagen Fütterung an, bei Normalmagnesium-Tieren bleibt er gleich, und bei Tieren, die einer Magnesiumdepletion unterworfen waren, sinkt auch der Gehalt der beiden Katecholamine in der Medulla ab.

Die Berechnung von Korrelationen zwischen dem Magnesiumgehalt im Femur der verschiedenen Tiere und

ihrem Katecholamingehalt im Nebennierenmark ergibt trotzdem, weder im Fall einer Magnesiumdepletion, noch im Falle einer Fütterung mit Normalmagnesium-Konzentrationen, einen linearen oder exponentiellen Zusammenhang. Nur bei Tieren, die mit der höchsten Magnesiumkonzentration behandelt wurden, existiert ein signifikant exponentieller Zusammenhang zwischen dem Magnesiumanstieg im Femur und dem Anstieg der Noradrenalin- wie auch der Adrenalin-konzentration in der Medulla (Abb. 3 und Abb. 4).

# Nur übernormale Magnesiumaufnahme kann die Katecholaminsekretion während Streß vermindern

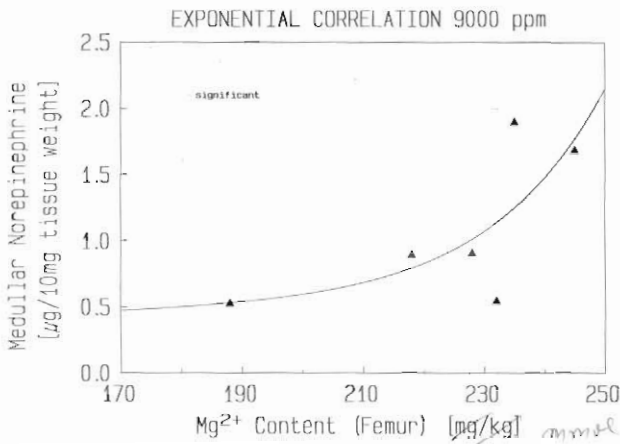


Abb. 3: Exponentielle Korrelation zwischen medullärem Norepinephrine und dem Magnesiumgehalt des Femurs.

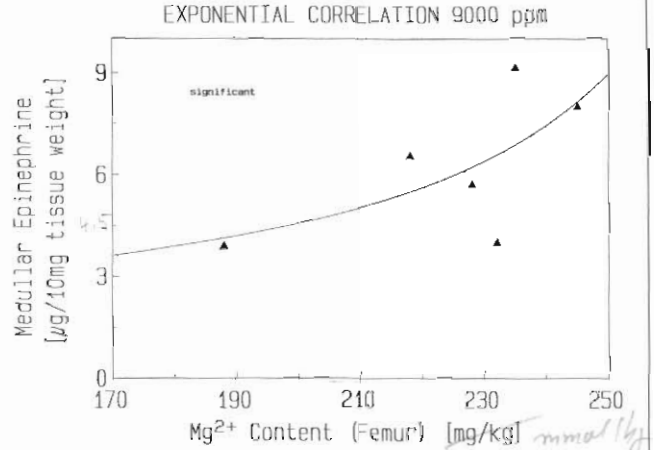


Abb. 4: Exponentielle Korrelation zwischen medullärem Epinephrine und dem Magnesiumgehalt des Femurs.

2. Wenn nun Tiere, die mit oben erwähnten Magnesiumdosen 10 Tage lang vorbehandelt wurden, durch Applikation einer Adrenalin-Retardtablette einem 24stündigen Streß ausgesetzt wurden, ergab sich folgender Befund: Bei Tieren, die mit normalen oder niedrigen Magnesiumdosen vorbehandelt wurden, verändert sich während der Streßsituation nicht. Ganz anders wiederum die Situation bei Tieren, die 10 Tage mit den höchsten Magnesiumdosen behandelt wurden, wo die nach 10 Tagen übernormal angestiegenen Werte während der Dauer des Streßes auf normale Werte absinken.

sätzliche Adrenalinausschüttung statt. Der Adrenalinegehalt der Drüse verändert sich nicht signifikant (Abb. 5). Der parallel dazu gemessene Magnesiumgehalt des Femurs (Abb. 6) von Tieren, die mit normalen oder niedrigen Magnesiumdosen vorbehandelt wurden, verändert sich während der Streßsituation nicht. Ganz anders wiederum die Situation bei Tieren, die 10 Tage mit den höchsten Magnesiumdosen behandelt wurden, wo die nach 10 Tagen übernormal angestiegenen Werte während der Dauer des Streßes auf normale Werte absinken.

## Diskussion

Es zeigt sich, daß nur bei Tieren, die 10 Tage lang mit überdosierten Ma-

gnesiumkonzentrationen (MAH) behandelt wurden, eine zusätzliche Magnesiumspeicherung im Knochen stattfindet. Die Existenz einer guten exponentiellen Korrelation zwischen Magnesiumanstieg im Knochen und Anstieg der Katecholamine im Nebennierenmark dieser Tiere weist darauf hin, daß nicht nur die Fütterung mit hohen Magnesiumdosen allein genügt, um die Katecholaminspeicherung in der Drüse zu fördern, sondern, daß erst nach geraumer Zeit dieser Fütterung, dann allerdings stark an Einfluß zunehmend, ein deutlicher Effekt zu sehen ist. Das heißt mit anderen Worten, daß Magnesium erst dann einen deutlichen Einfluß auf die Katecholamin-

## E-APPLICATION + Mg<sup>2+</sup>: MEDULLAR CATECHOLAMINES

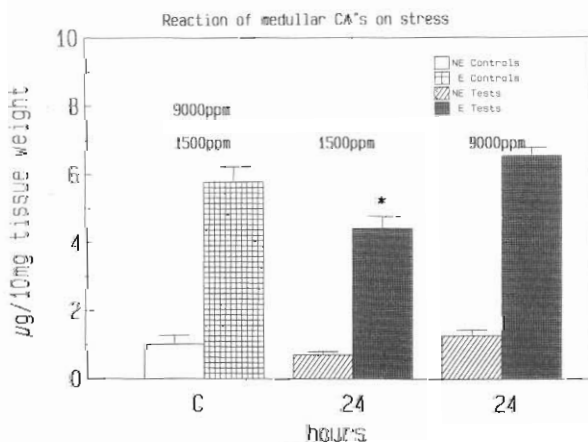


Abb. 5: Medulläre E- und NE-Werte nach Applikation einer 15 mg E-bitartrat-Retardtablette nach 10tägiger Fütterung mit verschiedenen Magnesiumdosen (1500, 9000 ppm). Mittelwerte  $\pm$  SEM. \*:  $p < 0.05$  gegenüber Kontrollen.

## EPINEPHRINE APPLICATION: Mg<sup>2+</sup>-CONTENT OF THE RAT'S FEMUR

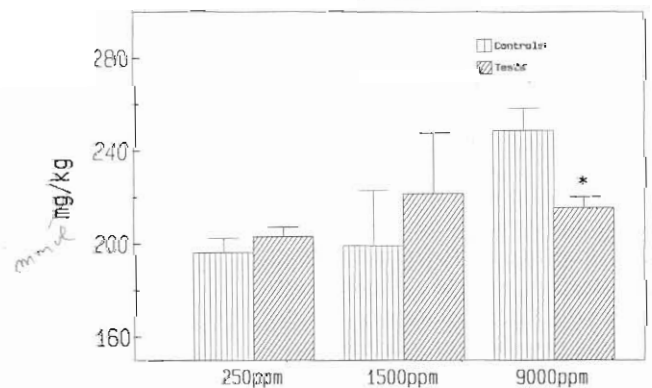


Abb. 6: Magnesiumgehalt des Femurs nach Applikation einer 15 mg E-bitartrat-Retardtablette nach 10-tägiger Fütterung mit unterschiedlichen Magnesiumkonzentrationen (250, 1500, 9000 ppm). Mittelwerte  $\pm$  SEM.

speicherfähigkeit der Drüse ausübt, wenn hohe Dosen über längere Zeit verabreicht werden.

Weiterhin fällt auf, daß Tiere, deren Magnesiumspiegel normal gehalten wurde, auf den zusätzlichen Reiz eines 24stündigen Dauerstreßes keine Magnesiumreserven mobilisieren konnten. Die dem Magnesium innewohnende inhibierende Wirkung auf die Katecholaminsynthese und -sekretion kann also bei normaler Magnesiumversorgung nicht entfaltet werden. Ganz anders ist die Situation bei Tieren, deren Speicher durch vorherige Hochmagnesiumbehandlung gefüllt waren. Durch die erst nach Saturierung der normalen Speicher stattfindende zusätzliche Magnesiumaufnahme in schneller verfügbare Speichersysteme kann Magnesium anschließend auch schneller wieder abgegeben werden und wirkt so sehr deutlich einer Hypersekretion von Katecholaminen während Streß entgegen. Dieser mittelbare Magnesium-Einfluß wirkt sich nun sicher auf alle Katecholamin-Zielorgane aus und tritt mit einem eventuellen lokalen Effekt in Wechselwirkung. Interessant ist, daß die mit der höchsten Magnesiumkonzentration gefütterten Tiere, während der 24 Stunden des anschließenden Streßes, Magnesium aus den Knochen verlieren, obwohl die Fütterung unvermindert anhält. Das muß heißen, daß während erhöhter Katecholaminspiegel die Netto-Magnesiumaufnahme in den Knochen, entweder aufgrund des unmittelbar erhöhten Bedarfes der Gewebe und/oder aufgrund eines katecholamininduzierten Hemmsystems gebremst wird.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß es durch Anwendung von Magnesiumaspartat-Hydrochlorid gelingt, die streßinduzierte Ausschwemmung von Katecholaminen aus der Medulla ganz bedeutend zu reduzieren, wenn man zwei Dinge beachtet:

1. Es muß sich um deutlich höhere Dosen handeln als normalerweise mit der Nahrung aufgenommen werden.

2. Es müssen diese längere Zeit präventiv verabreicht werden, da der Effekt auf das Nebennierenmark exponentiell zunimmt.

Es kann also nur Prävention mit außergewöhnlich hohen Magnesiumgaben die außergewöhnliche Situation eines starken, mittelfristigen Streßes günstig beeinflussen, was vor allem bei vorhersehbaren, ein, zwei Tage dauernden Streßsituationen angewandt werden kann. Daß dieses erhöhte Angebot von Magnesium an den Körper unter außergewöhnlichem Streß in keiner Weise unphysiologisch ist, unterstreichen auch die jüngst von Jakob et al. publizierten Daten [6], daß nämlich adrenerge Stimulation der Leber eine deutliche Magnesiumverarmung nach sich zieht. Das Argument, daß wir, in keiner Magnesiummangelgesellschaft lebend, normalerweise mit der Nahrung genügend Magnesium zu uns nehmen, wird insofern entkräftet, als mittelfristiger Streß eben keine normale Situation ist.

## Literatur

- [1] Döring, H. J., Schlicht, I.: Gesteigerte myogene Autoregulation (MA) der Koronargefäße bei extrazellulärem Mg-Mangel kann durch Ca-Antagonisten reduziert werden. 11. Hohenheimer Magnesium-Symposium, Universität Hohenheim, 29./30. September 1989.
- [2] Golf, S., Enzinger, D., Temme, H., Graef, V., Katz, N., Roka, L., Friemann, E., Lasch, H. G., Friemann, S., Tross, H., Morr, H.: Wirkungen von Magnesium bei der Theophyllinbehandlung von chronisch-obstruktiven Lungenerkrankungen. 11. Hohenheimer Magnesium-Symposium, Universität Hohenheim, 29./30. September 1989.
- [3] Golf, S., Riediger, H., Matthes, S., Kuhn, D., Baumgärtner, C., Graef, V., Temme, H., Katz, N., Roka, L., Cseke, J.: Einfluß einer Magnesiumbehandlung auf die Hyperlipidämie. 11. Hohenheimer Magnesium-Symposium, Universität Hohenheim, 29./30. September 1989.
- [4] Grimm, P., Illek, B., Classen, H. G., Leder, O.: Nierenveränderungen nach Mg-Mangel und anschließender Supplementierung - Elektrolyt-Studien. 11. Hohenheimer Magnesium-Sympo-

sium, Universität Hohenheim, 29./30. September 1989.

- [5] Hiller, V., Döring, H. J.: Erhöhung der extrazellulären Mg-Konzentration hemmt die hypoxiebedingte pulmonale Vasokonstriktion an isoliertperfundierten Rattenlungen. 11. Hohenheimer Magnesium-Symposium, Universität Hohenheim, 29./30. September 1989.
- [6] Jakob, A., Becker, J., Schöttl, G., Fritsch, G.:  $\alpha_1$ -Adrenergic stimulation causes  $Mg^{2+}$  release from perfused rat liver. *Febs Letters*, Vol. 246, number 1, 2 (1989) 127-130.
- [7] Korsatko, W., Porta, S., Sadjak, A., Supanz, S.: Implantierbare Adrenalin-Retardtabletten zur Langzeituntersuchung in Ratten. *Pharmazie* 37, 8 (1982) 565-576.
- [8] Porta, S., Egger, G., Klingenberg, H. G., Kubat, R., Sattelberger, R., Sadjak, A.: Adrenaline-depletion of the adrenal medulla during chronic treatment with adrenaline. *Pflügers Arch. Europ. Suppl. to Vol. 373*, (1978 a) 53.
- [9] Porta, S., Klingenberg, H. G., Englmaier, G., Kubat, R.: Evidence for the lack of a negative feedback system between suprarenal adrenaline-secretion and extraglandular adrenaline-concentration. *Pflügers Arch. Europ. J. Physiol.* 50. Meeting (1978 b).
- [10] Porta, S., Englmaier, G., Kubat, R., Egger, G., Sadjak, A.: Evidence for adrenaline secretion regardless of high extraglandular levels. *Exp. Path.* 17 (1979) 530-532.
- [11] Porta, S., Egger, G., Sadjak, A., Supanz, S., Pörstner, P., Höfler, H.: Peculiar effects during controlled release adrenaline application in rats on insulin, glucose and pancreas. *Front. Horm. Res.*, 12 (1984) 153-156, Karger, Basel.
- [12] Porta, S., Rinner, I., Egger, G., Rangtiner, B., Sadjak, A.: Enhancement of adrenal plasma-levels shortens adrenaline half-life. *Horm. Metab. Res.* 17 (1985) 264-265.
- [13] Sadjak, A., Egger, G., Supanz, S., Kink, E.: The influence of handling on catecholamine plasma levels. *Pflügers Arch. Europ. Phys. Suppl.* 391 (1981) 57.
- [14] Sadjak, A., Klingenberg, H. G., Egger, G., Supanz, S.: Effects of blood-sampling, handling and anesthesia on plasma catecholamines in the rat. *Z. Versuchstierkunde* 25 (1983) 245-250.

(Anschrift der Verfasser: Dr. W. Emsenhuber, Universität Graz, Mozartgasse 14, A-8010 Graz)