

- agonisten auf die renale Magnesiumausscheidung. Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. **75** (1969) 935.
- [2] Fleckenstein, A., Janke, J., Frey, M., Hein, B.: Zum Mechanismus der kardioprotektiven Wirkung von Triamteren an Rattenherzen-Myokardschutz durch Steigerung der extrazellulären K^+ - und Mg^{++} -Konzentration. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **27** (1977) 382—389.
- [3] Grebhan, B., Geissler, H. E., Knauf, H., Mutschler, E., Schnippenkoetter, I., Völger, K.-D., Wais, U.: Zur Pharmakokinetik von Triamteren und seinen wirksamen Metaboliten bei eingeschränkter Nierenfunktion. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **28** (1978) 1420.
- [4] Hänze, S.: Untersuchungen zur Wirkung verschiedener Diuretika auf die renale Magnesium- und Calcium-Ausscheidung. *Klin. Wschr.* **38** (1960) 1168.
- [5] —, Seyberth H.: Untersuchungen zur Wirkung der Diuretica Furosemid, Etacrynsäure und Triamteren auf die renale Magnesium- und Calciumausscheidung. *Klin. Wschr.* **45** (1967) 313.
- [6] Lehmann, K.: Trennung, Isolierung und Identifizierung von Stoffwechselprodukten des Triamterens. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **15** (1965) 812.
- [7] Leilich, G.: Einfluß von Triamteren und Hydroxytriamteren-Schwefelsäureester auf Diurese und Salurese von Ratten nach oraler und intravenöser Applikation. Dissertation, Frankfurt/M. 1979.
- [8] —, G., Knauf, H., Mutschler, E., Völger, K.-D.: Ausscheidung von mono- und bivalenten Kationen im Rattenharn nach Applikation von Triamteren und seinem Phase-II-Metaboliten. *Magnesium-Bulletin* **1** (1980) 8.
- [9] Meng, K., Loew, D.: Diuretika. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, 188—189.
- [10] Sachs, H.: Statistische Methoden. Springer Verlag, Berlin — Heidelberg — New York 1964.
- [11] Sotornik, J., Schück, O.: Influence of diuretics on renal excretion of magnesium. *Cas. Lek. ces.* **114** (1975) 16.
- [12] Vollmer, G.: Über die Synthese und pharmakologische Prüfung von sauren und neutralen Ethern des Hydroxytriamteren. Dissertation, Frankfurt/M. 1980 (in Vorbereitung).

(Anschrift der Verfasser über: Prof. Dr. Dr. med. E. Mutschler, Direktor des Pharmakologischen Instituts für Naturwissenschaftler, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Sandhofstraße 75 A, 6000 Frankfurt/Main)

Die Nierenschädigung bei Magnesiummangel*)

Von O. Leder, K. Paschen und T. Günther

Anatomisches Institut der Universität Freiburg i. Br., Zentrallaboratorium und Blutbank des Städtischen Krankenhauses Kaiserslautern, Institut für Molekularbiologie und Biochemie der Freien Universität Berlin

Zusammenfassung

Die Ernährung von Ratten mit 220 ppm Mg enthaltendem Futter über 4 Wochen hatte eine Verlegung und schwere Schädigung von proximalen Tubuli im Außenstreifen der Außenzone des Nierenmarks und eine Nephrohydropse zur Folge. Der Magnesiummangel führte nicht zu Myokardnekrosen und verstärkte auch nicht eine Isoproterenol-bedingte Zerstörung von Myokardfasern.

Summary

Rats fed a diet with 220 ppm Mg for 4 weeks showed an obstruction of proximal kidney tubules within the outer strip of the outer zone of the medulla, a severe degeneration of their epithelium and a nephrohydropse. The deprivation of Magnesium produced no myocardial necroses and did not augment isoproterenolinduced myocardial fibres damage.

Résumé

La nutrition des rats avec une diète contenant 220 ppm Mg mena à une obstruction des parties rectilignes des tubes proximales dans la zone médullaire, une dégénération sévère des cellules épithéliales et une nephrohydropse. Le dénuement du Magnésium ne provoqua point des nécroses du myocarde et n'aggrava pas la lésion des fibres myocardiales provoqué par isoprénaline.

* * *

Seit langem sind Nierenveränderungen bei einem experimentellen Magnesiummangel bekannt

*) Herrn Professor Dr. Jochen Staubesand zum 60. Geburtstag gewidmet.

[15, 18, 20]. Geschädigt werden vor allem der Außenstreifen der Außenzone des Nierenmarks [3, 5, 8, 9, 13, 14, 16, 17] oder der Innenstreifen und die Nierenrinde bzw. dicke, aufsteigende Teile der Henle-Schleife, gewundene distale Tubuli und Sammelrohre [8, 12, 13, 22, 23]. In Anbetracht dieser unterschiedlichen Angaben der Literatur sollen eigene Beobachtungen über Nierenschäden nach chronischem Magnesiummangel mitgeteilt werden. Dies ist um so mehr angebracht, als die festgestellten Veränderungen sehr ausgeprägt sind und solche Schäden bei Untersuchungen über die Folgen eines Magnesiummangels am Myokard unter Umständen von Bedeutung sind.

Methode

Männliche Siv-50-Ratten mit einem Gewicht von 80—100 g wurden 2 Tage vor Versuchsbeginn zufällig auf 4 Gruppen mit je 6 Tieren verteilt. Die Ratten einer Gruppe wurden zu dritt in Plastikwannen mit 13 l Rauminhalt in unserem Tierstall bei einer Temperatur von 23 bis 24° C versorgt. Der Raum wurde zwischen 7.00 und 19.00 MEZ künstlich beleuchtet. Die Ratten der Gruppe I und II wurden mit dem magnesiumarmen Futter Altromin C 1035, das mit Mg^{++} auf 220 ppm angereichert war, ernährt. Die Diät enthielt nach Angaben der Fa. Altrotge-Spezialfut-

terwerk, 4937 Lage, 0,95 % Ca, 0,65 % P sowie 500 I. E. Vitamin D₃/kg. Die Tiere der Gruppe III und IV erhielten als Kontrollen Altromin 1324 mit 0,9 % Ca, 0,75 % P, 0,2 % Mg und 600 I. E. Vitamin D₃/kg. Nach eigenen Analysen enthielt das Futter C 1035 0,63 % Ca und Altromin 1324 0,84 % Ca und 0,25 % Mg. Alle Tiere hatten freien Zugang zu Futter und Wasser (Mg-Mangeltiere Aqua bidest.). In der 4. Woche wurde den Tieren der Gruppe II und IV täglich zwischen 8.30 und 9.00 MEZ 0,1 mg Isoproterenolsulfat/kg Körpergewicht als Aludrin (mit einer salzsauren Lösung auf das 100fache verdünnt) s. c. injiziert. Die Tiere von Gruppe I und III erhielten die entsprechende Menge Verdünnungsflüssigkeit. Am 29. Tag des Versuchs vormittags wurden die Ratten mit 1 Nembutal narkotisiert. Bei geöffnetem Brustkorb wurden ihnen 3 ml Blut mit einer heparinisierten Venüle aus dem rechten Vorhof entnommen. Die Herzen wurden exstirpiert, in physiologischer Kochsalzlösung gespült und in Bouinscher Lösung fixiert. Die Nieren je eines mangelhaft ernährten Tieres und einer Kontrollratte wurden gewogen. Die Nieren aller Ratten wurden in Bouinscher Lösung fixiert. Nach Überführung der Nieren in 70%igen Alkohol wurden sämtliche Nierengewichte bestimmt. Von jeder Ratte wurde eine Niere in der Querrichtung gehälftet. Aus einer Hälfte wurden als Wahrscheinlichkeitsstichprobe je 2 Paraplastschnitte von 4 µm Dicke für

die HE und die PAS-Färbung entnommen. Nach der Entfernung der Vorhöfe wurden die Herzen ebenfalls in Paraplast eingebettet. Aus jedem Herzen wurde eine eindimensionale, systematische Stichprobe von 30 Schnitten mit der Dicke von 10 µm entnommen. Die Flächen des Ventrikelmyokards innerhalb der Schnitte wurden mit dem MOP AM 02 der Fa. Kontron, 8057 Eching, bei 8,25facher Vergrößerung auf dem Auswertetablett vermessen. Zur Bestimmung der Myokardschädigung wurden die Schnitte verschlüsselt und zufällig angeordnet. Die Schnitte wurden auf ein quadratisches Punktnetz (Gitterkonstante 2 cm) projiziert. Ein Punkt entsprach 0,1248 mm². Als Nekrosen wurden alle Punkte gezählt, die auf eosinophile Nekrosen, Infiltratzellen anstelle von Myokardfasern und auf Granulationsgewebe zu liegen kamen. Die Nekrosehäufigkeit in Volumen-Prozent wurde als Verhältnisschätzung berechnet [10]. Das Plasma wurde atomabsorptionsphotometrisch auf CA⁺⁺ und Mg⁺⁺ analysiert.

Ergebnisse

Die mangelhaft mit Magnesium versorgten Ratten zeigten ein vermindertes Wachstum (vgl. Tab.). Hautveränderungen wurden nicht beobachtet. Bei der Obduktion der magnesiumarm ernährten Tiere fanden sich große, weiße, gesprenkelte Nieren. Mikroskopisch waren vor al-

Quantitative Befunde am 29. Versuchstag

Gruppe	1 Tiergewichte g	2 Nierengewichte Mg*)	3 Ca ⁺⁺ mval/l	4 Mg ⁺⁺ mval/l	5 Myokardschädigung vol %
I 220 ppm Mg ⁺⁺	208,5 ± 10,0	3 025 ± 203	5,35**) ± 0,08	1,09**) ± 0,07	0,008 ± 0,006
II 220 ppm Mg ⁺⁺ + Iso	230,3 ± 5,0	3 354 ± 215	5,12 ± 0,10	1,01 ± 0,06	0,371 ± 0,145
III***) K	307,3 ± 7,7	2 099 ± 31	5,50 ± 0,07	2,14 ± 0,05	0,015 ± 0,011
IV***) K + Iso	308,5 ± 10,5	2 212 ± 82	5,16 ± 0,04	2,12 ± 0,06	0,399 ± 0,173

*) geschätzt durch Division der Gewichte der in 70 %igem Alkohol aufbewahrten Nieren durch 0,78 bei den mangelhaft ernährten Tieren (Gruppe I, II) und durch 0,82 bei den normal ernährten Tieren (Gruppe III, IV).

**) nur Plasma von 4 Tieren untersucht.

***) Die Kontrolltiere erhielten Leitungswasser mit 2,67 mg Mg⁺⁺/l.

- 1) Tiergewichte: Mann-Whitney U-Test einseitig: I und II p=0,066; I und III p=0,001; II und III p=0,001; II und IV p=0,008.
- 2) Nierengewichte: I und III p=0,004; I und IV p=0,013; II und III p=0,001; II und IV p=0,001
- 3) Ca⁺⁺: I und III p=0,005; I und IV p=0,005; II und III p=0,001; II und IV p=0,001
- 4) Mg⁺⁺: I und III p=0,005; I und IV p=0,005; II und III p=0,001; II und IV p=0,001
- 5) Myokardschädigung: I und II p=0,002; I und IV p=0,001; III und IV p=0,004

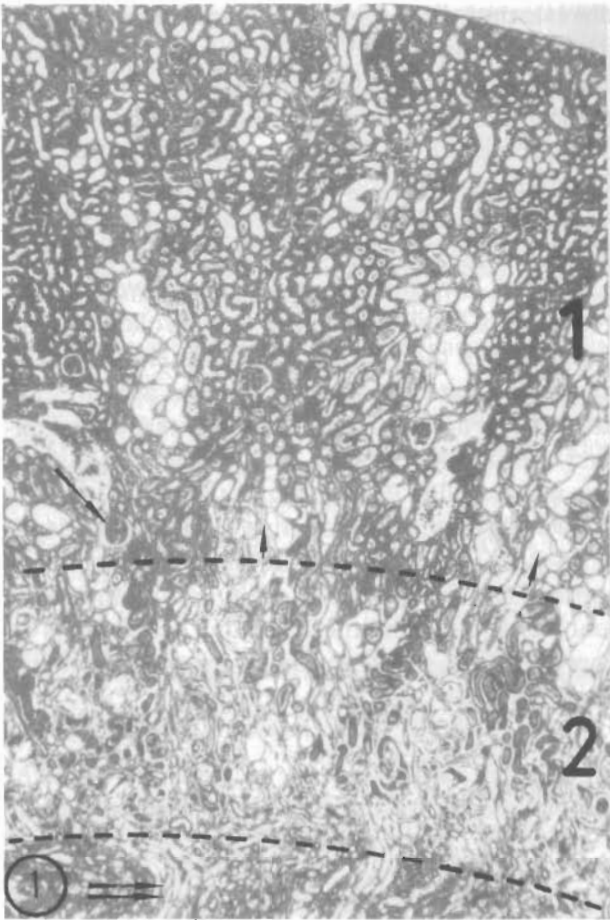


Abb. 1: Ratte GLP 1. Fütterung mit Mg-Mangeldiät. Paraplastschnitt 4 μ m dick. HE. Maßstab 35 : 1.
1 Nierenrinde, 2 Außenstreifen der Außenzone des Nierenmarks. Langer Pfeil Nierenkörperchen, kurze Pfeile Markstrahlen, Doppelpfeil Gefäßbündel im Innenstreifen der Außenzone des Nierenmarks.

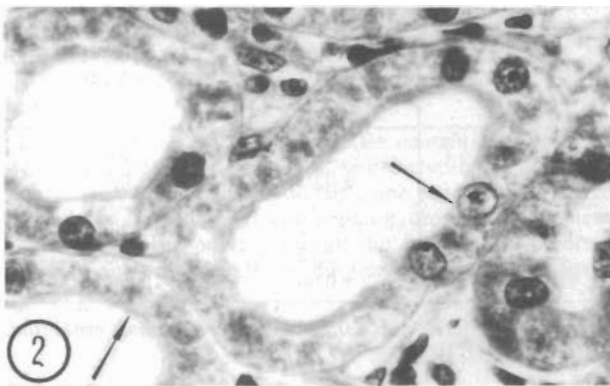


Abb. 2: Ratte GLP 15 Fütterungen mit Mg-Mangeldiät, Isoproterenol, Paraplastschnitt 4 μ m dick. HE. Maßstab 723 : 1
Die Abbildung zeigt oberflächennahe gewundene proximale Tubuli mit weitem Lumen und atrophischem Bürstensaum, der an einigen Stellen (Pfeile) vollständig fehlt.

lem Ausgüsse und Zerstörungen von Tubuli im Außenstreifen der Außenzone des Nierenmarks festzustellen (vgl. Abb. 1). Neben atropischen Epithelzellen fanden sich Nekrosen und mehrkernige Riesenzellen. Häufig fehlten Epithelzellen im Bereich der Ausgüsse. Das Interstitium war fibrosiert und enthielt Leukozyten. In der Nierenrinde war ein Teil der Tubuli stark erweitert. Diese Tubuli besaßen oft ein flaches, atrophisches Epithel. Ebenso wie an den verlegten und zerstörten Tubuli des Außenstreifens war auch in der Nierenrinde eine Strukturdiagnose nicht an jedem Tubulusanschnitt möglich. Sowohl im Außenstreifen als auch in der Nierenrinde waren jedoch immer wieder Zellen mit Bürstensäumen in den geschädigten Tubuli festzustellen. In Abb. 2 ist der Beginn des Verlusts der Bürstensäume wiedergegeben. Es bestand demnach eine durch Obstruktion von proximalen, geraden Tubuli im Außenstreifen bedingte Nephrohydrose. Außer diesen schweren Schäden waren insbesondere mit der PAS-Färbung Ausgüsse von Tubuli im Innenstreifen und in der Innenzone des Nierenmarks sowie im Nierenlabyrinth zu beobachten. Die Kapseln der Nierenkörperchen waren verdickt. Dicke, aufsteigende Teile der *Henle*-Schleife enthielten pyknotische Zellkerne. Solche Pyknosen fanden sich jedoch auch bei den normal ernährten Ratten. Die Verabreichung von Isoproterenol führte nur zu einer geringen Schädigung des Ventrikelmyokards (vgl. Tab.). Der beträchtliche Magnesiummangel hatte auf das Ausmaß der Nekrotisierung keinen Einfluß.

Besprechung

Die auffälligsten Nierenveränderungen finden sich in der vorliegenden Untersuchung ebenso wie in zahlreichen anderen Arbeiten [3, 5, 7, 8, 13, 14, 16, 17] im Außenstreifen der Außenzone des Marks. Der Schaden scheint jedoch in unseren eigenen Untersuchungen stärker als in der Literatur beschrieben [3, 5—8, 13, 15—17, 19] ausgeprägt zu sein, obwohl die von uns verwandte Diät mit 220 ppm vergleichsweise viel Mg^{++} enthielt. Der Kalziumgehalt des magnesiumarmen Futters C 1035 lag mit 0,63 % im gleichen Bereich wie bei den meisten anderen Magnesiummangel-Versuchen [5, 6, 8, 9, 12, 13, 16, 17, 19] und entsprach der von einem Ausschuß von Fachleuten vorgeschlagenen Menge von 0,6 % [2]. Ein Überwiegen von Ca über P, das als wichtig zur Vermeidung von Nierenschäden angesehen wird [1—3], ist in

unseren Versuchen anscheinend nicht voll gegeben. Die Magnesiummangelernährung hatte keine Myokardnekrotisierung zur Folge und führte — ebenso wie in vorangegangenen Experimenten [11] — auch nicht zu einer Verstärkung von isoproterenolbedingten Schäden. Myokardnekrosen aufgrund eines Magnesiummangels sind jedoch von anderer Seite beschrieben worden [6, 16, 17, 21]. Möglicherweise verhindern die dargestellten, schweren Nierenveränderungen den schädigenden Einfluß eines Magnesiummangels auf das Herz. Dagegen spricht allerdings, daß die Myokardschädigung in Gruppe II nach Magnesiummangel und zusätzlicher Isoproterenolgabe praktisch ebenso stark wie in Gruppe IV nach alleiniger Isoproterenolinjektion ist. Sicher ist lediglich, daß Magnesiummangel-Versuche an Ratten keine optimalen Modelle für die Kardiologie darstellen, solange das Magnesiumangebot im Futter extrem niedrig ist und Nierenschädigungen zu beobachten sind.

Literatur

- [1] *Clapp, M. J. L.*: The effect of diet on some parameters measured in toxicological studies in the rat. *Laboratory Animals* **14** (1980) 253—261.
- [2] *Clarke, H. E., Coates, M. E., Eva, J. K., Ford, D. J., Milner, C. K., O'Donoghue, P. N., Scott, P. P., Ward, R. J.*: Dietary standards for laboratory animals: report of the Laboratory Animal Centre Diets Advisory Committee. *Laboratory Animals* **11** (1977) 1—28.
- [3] *Cramer, W., Edin, D. Sc., Berlin, Ph. D., Eng, M. R. C. S.*: Experimental production of kidney lesions by diet. *Lancet* **II** **223** (1932) 174—175.
- [4] *Forbes, R. M.*: Effects of varying dietary rations of calcium, magnesium und phosphorus. *J. Nutrition* **80** (1963) 321—326.
- [5] *Greenberg, D. M., Lucia, S. P., Tufts, E. V.*: The effect of magnesium deprivation on renal function. *Amer. J. Physiol.* **121** (1938) 424—430.
- [6] *Heggveit, H. A., Herman, L., Mishra, R. K.*: Cardiac necrosis and calcification in experimental magnesium deficiency. *Amer. J. Pathol.* **45** (1964) 757—782.
- [7] *Hellerstein, E. E., Vitale, J., Whithe, P. L., Hegsted, D. M., Zamcheck, N., Nakamura, M.*: Influence of dietary magnesium on cardiac and renal lesions of young rats fed an atherogenic diet. *J. exp. Med.* **106** (1957) 767—775.
- [8] *Kashiwa, H. K.*: Magnesium deficiency in intact, in adrenalectomized and in hypophysectomized rats. *Endocrinology* **68** (1961) 80—91.
- [9] *Ko, K. W., Fellers, F. X., Craig, J. M.*: Observations on magnesium deficiency in the rat. *Laboratory Invest.* **11** (1962) 294—305.
- [10] *Leder, O.*: Stichprobenmethoden für die experimentelle und klinische Morphologie. *Acta histochem. Suppl.* **21** (1980) 253—256.
- [11] —, *Günther, T., Paschen, K.*: Pilot study on the effects of diets with low Mg⁺⁺ content on isoproterenol induced myocardial necrosis. *Magnesium-Bulletin* **1** (1979) 149.
- [12] *Loewenhaupt, E., Schulman, M. P., Greenberg, D. M.*: Basic histologic lesions of magnesium deficiency in the rat. *Archives Pathology* **49** (1950) 427—433.
- [13] *Manitius, A., Epstein, F. H.*: Some observations on the influence of a magnesium deficient diet on rats with special reference to renal concentration ability. *J. clin. Invest.* **42** (1963) 208—215.
- [14] *Mc Coy, R. H.*: Dietary requirements of the rat. In: *Farris, E. J., Griffith, J. Q.* (Eds.): *The rat in laboratory investigation*. Hafner, New York (1962) 68—103.
- [15] *Medes, G.*: Magnesium metabolism on purified diets. *J. Biol. Chem.* **68** (1926) 295—310.
- [16] *Mishra, R. K.*: Studies on experimental magnesium deficiency in the albino rat. I. Functional and morphologic changes associated with low intake of Mg. *Rév. Canad. Biol.* **19** (1960) 122—135.
- [17] —: Studies on experimental magnesium deficiency in the albino rat. 7. The influence of dihydrotachysterol on certain manifestations associated with Mg-deficient regime. *Rév. Canad. Biol.* **19** (1960) 168—174.
- [18] *Orent, E. R., Kruse, H. D., Mc Collum, E. V.*: Studies on magnesium deficiency in animals. VI. Chemical changes in the bone, with associated blood changes, resulting from magnesium deprivation. *J. biol. Chem.* **106** (1934) 573—593.
- [19] *Schrader, G. A., Prikett, C. O., Salmon, W. D.*: Symptomatology and Pathology of potassium and magnesium deficiencies in the rat. *J. Nutrition* **14** (1937) 85—109.
- [20] *Tufts, E. V., Greenberg, D. M.*: The biochemistry of magnesium deficiency. Chemical changes resulting from magnesium deprivation. *J. biol. Chem.* **122** (1937/38) 693—714.
- [21] *Vormann, J.*: Influence of the cardiotoxic effects of adrenaline in rats by decreased and increased magnesium-supply. (abstract) *Magnesium-Bulletin* **2** (1980) 2.
- [22] *Welt, L. G.*: Experimental magnesium depletion. *The Yale J. Biol. Med.* **36** (1964) 325—349.
- [23] *Whang, R., Oliver, J., Mc Dowell, M., Welt, L. G., Chapel-Hill, N. C., Summit, N. J.*: The renal lesions of magnesium depletion. *Clin. Res.* **10** (1962) 257.

(Anschrift der Verfasser über: Prof. Dr. med. Ortwin Leder, Anatomisches Institut der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg — Lehrstuhl II —, Albertstraße 17, 7800 Freiburg i. Br.)