

Aus dem medizinischen Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin

Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. R. F. Maier

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

Titel der Dissertation:

**Intra- und extrazelluläre Magnesiumkonzentrationen  
bei Patienten mit renalem Magnesiumverlust**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten  
Humanmedizin dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Alke Rörig (geb. Laumeier) aus Flensburg

Marburg 2015

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>I Abkürzungsverzeichnis</b>	6
<b>II Abbildungsverzeichnis</b>	8
<b>III Tabellenverzeichnis</b>	10
<b><u>1. Einleitung</u></b>	11
<u>1.1 Magnesium</u>	11
1.1.1 Magnesium im Körper	11
1.1.2 Regulation des Magnesiumhaushalts	12
1.1.3 Intrazelluläres Magnesium	14
1.1.4 Einflussgrößen auf den Magnesiumhaushalt	15
1.1.4.1 Calcium	15
1.1.4.2 Säure-Basen-Status	16
<u>1.2 Folgen eines Magnesiummangels</u>	18
<u>1.3 Erkrankungen, die mit einem Magnesiummangel einher gehen</u>	19
1.3.1 Hereditäre renale Salzverlusterkrankungen	19
1.3.1.1 Gitelman-Syndrom	19
1.3.1.2 klassisches Bartter-Syndrom (CLCKB-Mutation)	21
1.3.1.3 antenatales Bartter-Syndrom (ROMK- und NKCC2-Mutation)	22
1.3.2 Erworbene Magnesiumverluste	23
1.3.2.1 Patienten unter Cyclosporin A Therapie	24
<u>1.4 Klinische Korrelation zwischen Serummagnesiumspiegel und Symptomen eines Magnesium-Mangels</u>	26
<b><u>2. Fragestellungen</u></b>	27
<u>2.1 Ideenentwicklung zur Studie</u>	27
<u>2.2 Hauptfragestellungen</u>	28

2.2.1 Korrelation zwischen intraerythrozytärem und Serum-Magnesium	28
2.2.2 Unterschiede der gemessenen Magnesiumwerte in den verschiedenen Gruppen	28
2.2.3 Zusammenhang zwischen intraerythrozytärem und Serum-magnesium und Magnesiummangelsymptomen	28
<b><u>2.3 Nebenanalysen</u></b>	29
2.3.1 Korrelation zwischen Magnesiumkonzentration und Alter der Studienteilnehmer	29
2.3.2 Vergleich der Nierenfunktion zwischen GS- und aBS-Patienten	29
2.3.3 Vergleich des Säure-Basen-Status zwischen GS- und aBS-Patienten	29
<b><u>3. Material und Methoden</u></b>	30
<b><u>3.1 Untersuchte Kollektive</u></b>	30
3.1.1 Einschlusskriterien	30
3.1.2 Ausschlusskriterien	30
3.1.3 Kontrollgruppe	31
3.1.4 Hereditärer renaler Salzverlust ohne Magnesiumverlust (interne Kontrolle)	31
3.1.5 Hereditärer renaler Salz- und Magnesiumverlust	31
3.1.6 Erworbener Magnesiumverlust	32
<b><u>3.2 Ablauf der Studie</u></b>	33
3.2.1 Fragebögen	35
3.2.1.1 Elternbefragung	35
3.2.1.2 Patientenbefragung	36
<b><u>3.3 Labormethoden</u></b>	37
3.3.1 Untersuchtes Material	37
3.3.1.1 Gewinnung der Proben	37
3.3.1.2 Allgemeine Vorbereitung der Proben	37
3.3.1.3 Vorbereitung der Proben für die Messung des intrazellulären Magnesiums	37
3.3.2 Durchführung der Messungen	38

3.3.2.1 Messung der Routineparameter im Labor der Universitätsklinik Marburg	38
3.3.2.2 Messung des intrazellulären Magnesiums im externen Labor	38
<u>3.4 Statistische Analysen</u>	41
<b><u>4. Ergebnisse</u></b>	44
<u>4.1 Klinische und biochemische Charakterisierung der Kollektive</u>	44
4.1.1 Kontrollgruppe	44
4.1.2 Interne Kontrollgruppe	45
4.1.3 Hereditäre Salz- und Magnesiumverlustkrankungen	46
4.1.4 Erworbene Magnesiumverluste	46
<u>4.2 Beantwortung der Hauptfragen</u>	48
4.2.1 Korrelation zwischen intra- und extrazellulärem Magnesium	48
4.2.2 Unterschiede der gemessenen Magnesiumwerte in den verschiedenen Gruppen	50
4.2.3 Zusammenhang zwischen intraerythrozytärem und Serummagnesium und Magnesiummangelsymptomen	54
<u>4.3 Auswertung der Nebenanalysen</u>	56
4.3.1 Korrelation zwischen Magnesiumkonzentration und Alter der Studienteilnehmer	56
4.3.2 Nierenfunktion von GS- und aBS-Patienten	57
4.3.3 Säure-Basen-Status von GS- und aBS-Patienten	58
<b><u>5. Diskussion</u></b>	60
<u>5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse</u>	60
<u>5.2 Klinische Unterschiede der Gruppen</u>	61
<u>5.3 Zusammenhang zwischen intraerythrozytärem und Serum- Magnesium</u>	63
<u>5.4 Bedeutung der Ergebnisse für die Untergruppen</u>	64
<u>5.5 Warum sind Gruppenunterschiede aufgetreten?</u>	65
<u>5.6 Es wurden nur Erythrozyten untersucht – Unterschiede bei anderen Zellen?</u>	66
<u>5.7 Korrelation der Ergebnisse mit den abgefragten Symptomen</u>	67

<u>5.8 Stärken und Schwächen der Studie</u>	69
<b><u>6. Zusammenfassung</u></b>	71
<b><u>7. Englische Zusammenfassung</u></b>	73
<b><u>8. Literaturverzeichnis</u></b>	75
<b><u>9. Verzeichnis der akademischen Lehrer</u></b>	82
<b><u>10. Danksagung</u></b>	83
<b><u>11. Anhang</u></b>	84

## I Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
aBS	antenatales Bartter-Syndrom
ANOVA	analysis of variance
AP	Angina Pectoris
ATP	Adenosintriphosphat
BE	Base Excess
BGA	Blutgasanalyse
BMI	Body mass index
Ca	Calcium
ca.	circa
cBS	classic Bartter-Syndrom
CLCKB	Chloridkanal Typ B
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CSA	Cyclosporin A
d	Tag
d. h.	das heißt
°C	Grad Celsius
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
evtl.	eventuell
Fa.	Firma
FEP	Fluorethylenpropylen
g	Gramm
GS	Gitelman-Syndrom
H <sup>+</sup>	Proton
HCl	Salzsäure
HRST	Herzrhythmusstörungen
inkl.	inklusive
intra.	intrazellulär
K	Kalium
KA	Krampfanfall
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht

KHK	koronare Herz-Krankheit
Konzentrationsstör.	Konzentrationsstörungen
l	Liter
LSD-Test	Least Significant Difference Test
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
mg	Milligramm
Mg	Magnesium
mmol/l	Millimol pro Liter
µl	Mikroliter
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
NCCT	Natrium-Chlorid-Co-Transporter
Nephr. Syndrom	Nephrotisches Syndrom
NKCC2	Natrium-Kalium-2-Chlorid-Kotransporter
NTX	nierentransplantiert
o. g.	oben genannt
P	Phosphat
Pat.	Patient
%	Prozent
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ROMK	Renal Outer Medullary Potassium Channel
RR	Blutdruck nach Riva Rocci
s.	siehe
SPSS	Eigenname (früher: "Superior Performing Software System")
TRPM 6	Transient receptor potential channel melastatin Subtype 6
Tuckey-HSD-Test	Tuckey-honestly significant difference-Test
u. A.	unter Anderem
vs	versus
z. B.	zum Beispiel

## II Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Histogramme inklusive Normalverteilungskurven für das Serum- und das intrazelluläre Magnesium.

Seite: 41

Abbildung 2: Graphik zur Darstellung der optimalen Regressionsfunktion im Vergleich zum linearen Zusammenhang zwischen intrazellulärem und Serum-Magnesium auf Grundlage der erhobenen Werte der gesunden Kontrollgruppe.

Seite: 49

Abbildung 3: Histogramme inklusive Normalverteilungskurven für das Serum- und das intrazelluläre Magnesium.

Seite: 51

Abbildung 4: Diagramm zur Darstellung der Fragebogenauswertung bezüglich des ersten erfragten Symptoms (Muskelkrämpfe) in den verschiedenen Gruppen.

Seite: 54

Abbildung 5: Übersicht über die angegebenen Symptome, die auf einen Magnesiummangel hinweisen könnten, in den unterschiedlichen Gruppen.

Seite: 55

Abbildung 6: Graphik zur Darstellung der gemessenen Magnesium-Werte (sowohl intraerythrozytär als auch im Serum) in Abhängigkeit zum Alter des Studienteilnehmers.

Seite: 56

Abbildung 7: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Tachykardien als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 86

Abbildung 8: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Herzrhythmusstörungen (außer Tachykardien) als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 86



Abbildung 9: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Angina-Pectoris Beschwerden als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 87

Abbildung 10: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von arterieller Hypertonie als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 87

Abbildung 11: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Obstipation als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 88

Abbildung 12: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Konzentrationsstörungen als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 88

Abbildung 13: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Antriebslosigkeit als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 89

Abbildung 14: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Parästhesien als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 89

Abbildung 15: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von erhöhter Reizbarkeit als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 90

Abbildung 16: Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Krampfanfällen als mögliches Symptom eines Magnesiummangels.

Seite: 90

### III Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die Charakteristika der untersuchten Gruppen.

Seite: 47

Tabelle 2: Berechnung eines signifikanten Unterschiedes zwischen der optimalen Regressionsfunktion und einem linearen Zusammenhang zwischen den gemessenen Magnesium-Werten (im Serum und intraerythrozytär) der gesunden Kontrollgruppe.

Seite: 50

Tabelle 3: Berechnung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen in Bezug auf das intraerythrozytär gemessene Magnesium.

Seite: 52

Tabelle 4: Berechnung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen in Bezug auf die Magnesium-Werte im Serum.

Seite: 53

Tabelle 5: Vergleich der Magnesium-Ausscheidung im Urin zwischen GS-/cBS- und aBS-Patienten.

Seite: 57

Tabelle 6: Vergleich der fraktionierten Magnesium-Exkretion im Urin zwischen GS-/cBS- und aBS-Patienten.

Seite: 58

Tabelle 7: Vergleich der Schwartz-Clearance zwischen GS-/cBS- und aBS-Patienten.

Seite: 58

Tabelle 8: Vergleich der pH-Werte zwischen GS-/cBS- und aBS-Patienten.

Seite: 59

Tabelle 9: Vergleich des Base-Excesses zwischen GS-/cBS- und aBS-Patienten.

Seite: 59

## 1. Einleitung

### 1.1 Magnesium

Magnesium ist ein Element aus der zweiten Hauptgruppe des Periodensystems (Erdalkaligruppe). Es ist ein leicht verformbares Leichtmetall, das für Menschen, Tiere und Pflanzen einen lebenswichtigen Mineralstoff darstellt. Wegen seiner extrem hohen Reaktionsbereitschaft kommt es in der Natur elementar gar nicht vor, sondern nur in Verbindungen. Am Aufbau der Erdkruste ist Magnesium zu etwa zwei Prozent beteiligt und damit das achthäufigste Element. Wenn man Magnesium auf mehr als 500°C erhitzt, verbrennt es mit sehr heller Flamme und ist schwer zu löschen. [www.medizinwelt.info] Der Mensch kann Magnesium nicht selbst herstellen und muss es zur ausreichenden Versorgung des Körpers mit der Nahrung aufnehmen. [www.medizinfo.de/endokrinologie/stoffwechsel/magnesium.htm]

#### 1.1.1 Magnesium im Körper

Magnesium ist ein wichtiger Elektrolyt für die Proteinsynthese, die Stabilität der Nukleinsäuren, die oxidative Phosphorylierung und die neuromuskuläre Erregbarkeit. Es ist das zweithäufigste intrazelluläre Kation im Körper. [Konrad et al. 2003] Der Großteil des Magnesiums befindet sich intrazellulär in Knochen, Muskelzellen und weichen Geweben. Weniger als 1% des gesamten Magnesiums des Organismus befindet sich im Blut. [Elin RJ 1994] Im Blut liegt das Magnesium in drei verschiedenen Formen vor: ionisiert, an Albumin gebunden oder in Komplexen mit Phosphaten, Citraten oder anderen Anionen. Biologisch aktiv ist aber nur das ionisierte und damit freie Magnesium. [Schlingmann et al. 2003]

Insgesamt enthält der Körper ca. 24 g Magnesium. [Elin RJ 1994] Die für einen ausgeglichenen Haushalt nötige minimale tägliche Magnesiumaufnahme eines Erwachsenen beträgt 6 mg/kgKG/d. [Seelig MS 1964] Durchschnittlich nehmen in den USA und in Europa Erwachsene Personen aber nur 4 mg/kgKG/d durch die Nahrung auf. [EU-SCOF 2001] Das führt zu einer hohen Prävalenz (14%) von Hypomagnesiämie in der Bevölkerung. [Schimatschek HF et al. 2001] In der Wachstumsphase benötigt man eine positive Magnesiumbilanz, so dass Kinder im Verhältnis mehr Magnesium aufnehmen

müssen als Erwachsene, um eine ausreichende Versorgung zu gewährleisten.  
[Institute of Medicine, Washington DC 1999]

### 1.1.2 Regulation des Magnesiumhaushaltes

Der Magnesiumgehalt des Körpers wird durch die intestinale Absorption und die renale Ausscheidung gesteuert. Der normale Spiegel des Magnesiums im Blut beträgt 0,7-1,1 mmol/l. Unter physiologischen Bedingungen kann der Magnesiumspiegel des Blutes durch die intestinale Absorption und die renale Elimination in diesem Bereich gehalten werden. Diese Transportprozesse werden durch metabolische und hormonale Faktoren beeinflusst. [Kerstan D et al. 2002; Quamme GA et al. 2000]

Die intestinale Resorption erfolgt hauptsächlich im Dünndarm, ein kleiner Teil wird auch im Colon resorbiert. Die Aufnahme erfolgt sowohl aktiv durch die Zelle als auch passiv zwischen den Zellen hindurch. Die aktive Aufnahme wird durch eine limitierte Anzahl an Transportern begrenzt. Deshalb nimmt die resorbierte Magnesiummenge bei zunehmender enteraler Zufuhr prozentual ab. Insbesondere wird Magnesium über den Ionenkanal TRPM6 in der Darmwand aufgenommen. [Walder RY et al. 2000] Für die passive Aufnahme ist kein Transporter nötig, so dass sie lediglich dem Konzentrationsgefälle zwischen dem Darmlumen und dem Blut unterliegt. [Kerstan D et al. 2002; Fine KD et al. 1991]

Die extrazelluläre Magnesiumkonzentration wird streng reguliert: Parathormon und Calcitriol stimulieren zum einen die Magnesiumaufnahme im Dünndarm und zum anderen den passiven Transport aus dem Darm in den Extrazellulärraum. Daraus resultiert ein Anstieg der extrazellulären freien Magnesiumkonzentration. [Biesalski HK et al. 1999]

Auch die Niere spielt eine wichtige Rolle in der Regulation des Magnesiumhaushalts.

In der Niere werden ca. 80% des freien Serummagnesiums in den Glomeruli filtriert, davon werden aber unter physiologischen Bedingungen mehr als 95% entlang des Nephrons wieder rückresorbiert - ca. 15-20% im proximalen Tubulus, ca. 70% in der Henleschen Schleife und 5-10% im distalen Tubulus. Der Hauptteil der Rückresorption erfolgt im dicken aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife durch passiven Transport zwischen den Zellen hindurch

entlang des elektrochemischen Gradienten zwischen Lumen und Blut. Im distalen Konvolut dagegen erfolgt der Transport aktiv durch die Zellen hindurch mit Hilfe eines Kanals (TRPM6), der durch Spannungsunterschiede über der Membran gesteuert wird. [Dai LJ et al. 2001; Seo JW et al. 2008] Der Mechanismus, wie das Magnesium an der basolateralen Seite die Zelle wieder verlässt ist bisher unbekannt. Es wird aber vermutet, dass es sich um einen Natrium-abhängigen Austausch handelt. [Quamme GA 1997] Dieser vermeintliche Natrium-Magnesium-Austauscher scheint aber nicht der limitierende Faktor in der Magnesiumrückresorption im distalen Konvolut zu sein, sondern vielmehr die Aufnahme in die Zelle aus dem Lumen. [Dai LG et al. 2001]

Letztendlich werden unter physiologischen Bedingungen 3-5% des filtrierten Magnesiums mit dem Urin ausgeschieden.

Gesteuert werden diese Vorgänge unter anderem durch das Parathormon und 1,25-Dihydroxy-Vitamin D. Liegt ein erniedrigter Magnesiumspiegel vor, wird Parathormon in den Nebenschilddrüsen vermehrt gebildet. Das Parathormon fördert an der Niere die Expression der 1 $\alpha$ -Hydroxylase und damit die Bildung des Calcitriols. Parathormon und Calcitriol stimulieren die tubuläre Magnesiumrückresorption und hemmen die renale Magnesiumausscheidung. [Bundesinstitut für Risikobewertung: Domke A et al. 2004]

Außerdem gibt es in der Niere an der basolateralen Zellseite einen Sensor, der durch unterschiedliche Calcium-Konzentrationen im Blut die Magnesiumrückresorption steuert. [Weber S et al. 1999] Der Calcium-sensitive Rezeptor reagiert unter anderem auch auf Veränderungen der Magnesiumkonzentration und reguliert damit unter anderem die aktive Calcium- und Magnesiumrückresorption aus dem Urin. Außerdem verändert er über verschiedene Mechanismen den elektrochemischen Gradienten, so dass auch die parazellulären Wege für Calcium und Magnesium beeinflusst werden. [Hebert et al. 1997, Ferre S 2012]

Bei erhöhtem Magnesium-Serumspiegel ist Calcitonin für die Senkung der extrazellulären Magnesiumkonzentration zuständig.

Neben Calcitonin kann die renale Rückresorption von Magnesium durch Aldosteron, ADH, Thyreoidhormon, Wachstumshormon und eine hohe Zufuhr

von Calcium herabgesetzt werden. [Biesalski HK et al. 1999; Bundesinstitut für Risikobewertung: Domke A et al. 2004]

### 1.1.3 Intrazelluläres Magnesium

Der Großteil des Magnesiums im Körper liegt intrazellulär vor. Besonders in Knochen, Muskeln und weichen Geweben ist viel Magnesium vorhanden. [Elin RJ 1994] Auch im Blut, in dem sich nur ein geringer Teil des Gesamtmagnesiums des Körpers befindet, liegt der Großteil des Magnesiums intrazellulär vor. Der Ausgleich zwischen dem Serum-Magnesium und den intrazellulären Magnesiumspeichern geht nur langsam vonstatten. [Elin RJ 1994] Magnesium gehört mit Kalium zu den bedeutendsten intrazellulären Elementen. Etwa 95 % des gesamten Magnesiumbestandes im Körper befindet sich intrazellulär, das heißt in den Körperzellen. Davon sind 50-70 % in gebundener Form – Magnesium bindet an Hydroxylapatit – in den Knochen lokalisiert. Das Skelett stellt damit den größten Magnesiumspeicher dar. Circa 28 % des intrazellulär vorhandenen Magnesiums sind in der Muskulatur und der restliche Anteil des Mineralstoffs im Weichteilgewebe gespeichert. [Biesalski HK et al. 1999; Elin RJ 1990; Sigel H et al. 1999] Das im Weichteilgewebe vorhandene Magnesium (35 % des Gesamtmagnesiums) ist zu 90 % an ATP, Phospholipide, Nukleinsäuren und Polyamine gebunden. Ungefähr 10 % liegen in ionisierter, freier Form vor. [Biesalski HK et al. 2002] Das freie Magnesium im Intrazellulärraum wird in engen Grenzen durch Anpassung von Influx und Efflux reguliert. [Biesalski HK et al. 2002; Bundesinstitut für Risikobewertung: Domke A et al. 2004] Bei erhöhter intrazellulärer Magnesiumkonzentration wird vermehrt Magnesium aus der Zelle transportiert – Mg-Efflux. Kommt es zu einem Abfall des zytosolischen Spiegels, wird umgekehrt der Magnesiumeinstrom in die Zelle gefördert – Mg-Influx. Die intrazelluläre Magnesiumkonzentration kann unter Anderem aufgrund von fehlenden Bindungsstellen – zum Beispiel bei exzessivem ATP-Verbrauch – abfallen. Unter diesen Umständen wird nicht von einem Magnesiummangel, sondern von einer Magnesiumdepletion gesprochen. Damit die zytosolische Magnesiumkonzentration wieder ihren normalen Stand erreicht, muss sowohl die Magnesiumzufuhr erhöht als auch die Synthese von

Bindungsstellen stimuliert werden. Zum Beispiel kann durch die Gabe von Orotsäure die ATP-Synthese gesteigert werden. [Biesalski HK et al. 2002]

#### 1.1.4 Einflussgrößen auf den Magnesiumhaushalt

##### 1.1.4.1 Calcium

Calcium ist ein physiologischer Gegenspieler des Magnesiums. [www.medizinwelt.info] Die intrazelluläre Bereitstellung von Calcium wird durch Magnesium gehemmt. [Herold G et al. 2006] Calcium ist zusammen mit Phosphat ein Hauptbestandteil von Knochen und Zähnen. Außerdem ist es an der Aktivierung des Komplementsystems, an der Übertragung von neuromuskulären Impulsen und an der Aufrechterhaltung des Säure-Basen-Gleichgewichts beteiligt.

[www.medizininfo.de/endokrinologie/stoffwechesl/kalzium.htm]

Reguliert wird der Calciumhaushalt durch Parathormon, das in der Nebenschilddrüse synthetisiert wird, durch das Calcitonin, das in den C-Zellen der Schilddrüse synthetisiert wird, und durch Calcitriol. Im Normalfall liegt das Calcium im Serum zwischen 2,2 und 2,65 mmol/l. Die Regulation des Calcium-Haushaltes erfolgt durch Resorption aus dem Darm, Ausscheidung über die Nieren und Freisetzung bzw. Aufnahme in die Knochen.

[www.medizininfo.de/endokrinologie/stoffwechsel/kalzium.htm]

Das Gesamt-Calcium im Blut besteht aus drei Fraktionen: Freies oder ionisiertes Calcium macht ca. 50 % des Gesamt-Calciums im Blut aus, ca. 45 % ist an Proteine gebunden (vorwiegend an Albumin) und ca. 5 % ist komplexgebundenes Calcium (zum Beispiel Laktat, Citrat, Phosphat, Bicarbonat). [Labor Info 03/2012 Dr. Limbach & Kollegen] Die gemessene Calcium-Konzentration im Blut wird durch das Gesamtprotein bzw. noch stärker durch die Albumin-Konzentration beeinflusst, zum Beispiel kommt es bei zu langer Stauung im Rahmen der Blutentnahme oder bei Dehydratation des Patienten zu einer artifiziellen Konzentrierung der Proteine und damit zu einer Erhöhung der Gesamt-Calcium-Konzentration. [Labor Info 03/2012 Dr. Limbach & Kollegen] Außerdem wird die Calcium-Konzentration im Blut durch den pH beeinflusst. Bei Azidose wird Calcium von Protonen aus der Proteinbindung verdrängt, bei Alkalose ist es umgekehrt – Calcium verdrängt Protonen aus

der Proteinbindung. Der optimale pH zur Messung des ionisierten Calciums beträgt 7,4. [Labor Info 03/2012 Dr. Limbach & Kollegen]

Die Rückresorption in der Niere erfolgt wie die vom Magnesium unter Anderem abhängig vom lumenpositiven elektrischen Potential. Wird dieses Potential zum Beispiel durch Schleifendiuretika aufgehoben, nehmen Calcium- und Magnesium-Ausscheidung im Urin deutlich zu. Das schon oben erwähnte Parathormon hemmt die Ausscheidung von Calcium und Magnesium. [Deetjen P et al. 1999]

Durch das Calcitriol wird die enterale Resorption des Calciums gesteigert. Im Normalfall wird nur ca. 1/3 des mit der Nahrung aufgenommenen Calciums im Darm resorbiert, durch das Calcitriol wird dieser Anteil deutlich gesteigert. [Deetjen P et al. 1999] Langfristig sorgt Calcitriol, vermutlich indirekt, auch dafür, dass Calcium-Posphat wieder in den Knochen eingebaut wird.

#### 1.1.4.2 Säure-Basen-Status

Der Säure-Basen-Status ist durch den pH-Wert, die Bicarbonatkonzentration und den CO<sub>2</sub>-Partialdruck regulierbar. Der pH-Wert ist dabei als der negativ dekadische Logarithmus der H<sup>+</sup>-Konzentration definiert. Der Säure-Basen-Haushalt ist sehr wichtig für zahlreiche Enzymaktivitäten und die Ionenleitfähigkeit von Membranen und wird deshalb in sehr engen Grenzen auf einen konstanten Wert zwischen den pH-Werten 7,35 und 7,45 reguliert. [Deetjen P et al. 1999] Für die notwendige Konstanz der H<sup>+</sup>-Ionenkonzentration sorgen chemische und physiologische Puffermechanismen sowie diverse Organe.

Das Bicarbonat wird u. A. in Erythrozyten hergestellt und die Serumkonzentration liegt physiologischerweise bei 24 mmol/l. Die Regulation der Bicarbonatproduktion wird durch Leber und Niere übernommen.

Der CO<sub>2</sub>-Partialdruck hängt von der alveolären Ventilation ab und liegt normalerweise bei 40 mmHg.

H<sup>+</sup>-Ionen können in der Niere von Tubuluszellen produziert werden, andererseits kann die Niere verstärkt H<sup>+</sup>-Ionen oder auch Bicarbonat ausscheiden. Die Niere hat drei Möglichkeiten, saure Valenzen zu eliminieren: die Ausscheidung von freier Säure, von titrierbarer Säure (H<sup>+</sup>-Ionen werden



von Nicht-Bicarbonat-Puffern abgepuffert) und von Ammoniak (effektivste Methode, saure Valenzen zu eliminieren). [Deetjen P et al. 1999]

Zusätzlich bilden anorganische Phosphate und Proteine weitere Puffersysteme im Blut. Sie haben die Eigenschaft als Anionen schwacher Säuren  $H^+$  binden zu können, weshalb sie als Pufferbasen bezeichnet werden. Im Normalfall liegt die Konzentration der Pufferbasen im arteriellen Blut bei 48 mmol/l. Der Anteil an Bicarbonatpuffern und Nicht-Bicarbonat-Puffern hängt unter Anderem vom  $CO_2$ -Partialdruck ab. Bei Bindung eines Protons an Bicarbonat zerfällt dieses letztlich zu  $CO_2$  und Wasser und anders herum, so dass Bicarbonat und  $CO_2$  ein fließendes Gleichgewicht bilden und damit den pH im Blut stabil halten. [Deetjen P et al. 1999]

Beim Vorliegen einer Azidose werden Kalium und Magnesium vom Intrazellulär- in den Extrazellulärraum verschoben um die Säuren abzupuffern. Bei chronischen Übersäuerungen kann es deshalb extrazellulär zu einer Hypermagnesiämie und Hyperkaliämie kommen, was zu einer erhöhten Ausscheidung über die Nieren führt. [www.drjacobsinstitut.de; Bollaerr et al. 1993, Burnell et al. 1974] Zur Beurteilung des aktuellen Magnesiumhaushaltes ist es deshalb wichtig, den aktuellen Säure-Basen-Status zu kennen.

## 1.2 Folgen eines Magnesiummangels

Eine Hypomagnesiämie ist häufig asymptomatisch. Wenn klinische Symptome auftreten, sind diese meist unspezifisch. Außerdem kommt es häufig vor, dass ein Magnesiummangel mit anderen Elektrolytveränderungen einhergeht. Zusätzlich korrelieren die klinischen Symptome nicht unbedingt mit dem Ausmaß eines Magnesiummangels, was die Diagnostik erschwert. Andererseits gibt es aber eine Assoziation zwischen Hypomagnesiämie und Volkskrankheiten wie z.B. Diabetes mellitus, KHK, arterielle Hypertonie und Asthma. Aus diesem Grund ist es sehr wichtig die Diagnose zu stellen und den Magnesiummangel zu behandeln. [Schlingmann et al. 2003]

Die häufigsten Symptome eines Magnesiummangels sind folgende: Bauchschmerzen, Übelkeit, Lethargie, Schwäche, gesteigerte neuromuskuläre Erregbarkeit, z.B. Tremor, Spasmen, Muskelkrämpfe, Tetanien und generalisierte Krampfanfälle, kardiale Manifestationen wie z.B. Tachykardien, verlängertes QT-Intervall und Torsades des pointes; zusätzlich kann es durch einen Magnesiummangel durch eine gesteigerte Natriumausscheidung in der Henleschen Schleife und im Sammelrohr zu einer Hypokaliämie kommen. [Agus ZS 1999]

Um eine Hypomagnesiämie zu diagnostizieren wird allgemein das Serum-Magnesium gemessen, wobei die Grenzen der Aussagekraft dieses Wertes bekannt sind: es liegt nur ein sehr kleiner Teil des Magnesiums im Körper im Serum vor und der Ausgleich zwischen dem Serummagnesium und den intrazellulären Magnesiumspeichern des Körpers erfolgt nur langsam, wobei noch nicht bekannt ist, wovon dieser Ausgleich abhängt oder wie er genau funktioniert. [Elin RJ 1994] Es wurde außerdem versucht ausschließlich das ionisierte und damit biologisch aktive Magnesium zu messen, aber auch das brachte keine genaueren Angaben. [Herbert P et al. 1997]

Bei der Hypomagnesiämie muss aber beachtet werden, dass normalerweise unter diesem Begriff ein erniedrigtes Gesamtmagnesium im Plasma verstanden wird. Bei Patienten mit Magnesium-Verlust-Erkrankungen wäre es zum Beispiel aber auch wichtig den Anteil des ionisierten Magnesiums im Blut zu messen, weil dieses die eigentlich biologisch aktive Form ist, um damit einen wirklichen Eindruck über die Magnesium-Versorgung des Patienten zu bekommen. [Marsoner HJ et al. 1994; Hafen G et al. 1996]

### 1.3 Erkrankungen, die mit einem Magnesium-Mangel einhergehen

Es gibt sehr viele verschiedene Erkrankungen, die einen Magnesiummangel zur Folge haben.

#### 1.3.1 Hereditäre renale Salzverlusterkrankungen

Im Folgenden werden die für diese Studie relevanten hereditären renalen Salzverlusterkrankungen kurz vorgestellt.

##### 1.3.1.1 Gitelman-Syndrom

Beim Gitelman – Syndrom handelt es sich um eine inaktivierende Mutation des Gens für den Thiazid - sensitiven Natrium – Chlorid – Kotransporter (NCCT-Kanal), der sich im distalen Konvolut des Nephrons befindet. [Warnock DG 2002] Untersuchungen zeigen, dass es wahrscheinlich sehr viele verschiedene Mutationen gibt, die zum Gitelman – Syndrom führen können. [Lemmink HH et al. 1998; Mastroianni N et al. 1996; Simon DB et al. 1998]

Durch die Inaktivierung des NCCT kommt es zu renalen NaCl-Verlusten und Hypovolämie. Durch diesen Salzverlust fehlt das Chlorid als Base, weshalb mehr Bicarbonat rückresorbiert wird. Außerdem wird durch die Hypovolämie das Renin – Angiotensin – Aldosteron – System (RAAS) stimuliert und es kommt zur gesteigerten Natriumrückresorption und erhöhten H<sup>+</sup> - Sekretion, wodurch eine hypokaliämische metabolische Alkalose entsteht. [Bhandari S 1999] Außerdem wird durch die niedrigen intrazellulären Natriumkonzentrationen die Calciumrückresorption im distalen Konvolut gesteigert, so dass es zu einer Hypokalzurie kommt. [Barakat AJ et al. 2001] Magnesium geht dabei durch die apikalen Magnesium – Natrium – Austauscher verloren. Dieser Prozess wird durch das negative transepitheliale Potential noch gesteigert. [Barakat AJ et al. 2001] Die Patienten haben also eine hypokaliämische metabolische Alkalose, eine Hypokalzurie und eine Hypomagnesiämie.

Da die Bindung des Magnesiums an Plasma – Liganden pH-abhängig ist und Gitelman – Syndrom – Patienten oft eine Alkalose haben, kann es passieren, dass das gemessene Gesamtmagnesium zwar im Normbereich ist, aber das ionisierte Magnesium trotzdem erniedrigt ist. [Tosi F et al. 2004] Daher ist es wichtig bei Gitelman – Syndrom – Patienten auch das ionisierte Magnesium zu

messen – was nicht zur klinischen Routine gehört – um eine gute Einschätzung über die Menge des biologisch aktiven Magnesiums möglich zu machen.

In der Therapie des Gitelman – Syndroms versucht man möglichst oral Magnesium zu substituieren, weil man durch einen Ausgleich des Magnesiumhaushalts auch die Hypokaliämie günstig beeinflussen kann. [Elin RJ 1988] Ein Mangel an Magnesium vermindert u. A. die Kaliumresorption im Darm. [Bundesinstitut für Risikobewertung: Domke A et al. 2004; Schmidt E et al. 2004] Außerdem erhöht sich bei Hypomagnesiämie an der Zellmembran die Permeabilität für Kalium durch Beeinflussung der Kalium-Kanäle. [Marktl W 2003] Magnesium ist also u. A. für den Transport von Kalium in die Zelle notwendig. [www.nestmann.de/PDF/Artikel/KaliumMagnesium.pdf]

Hypomagnesiämie führt zusätzlich zu renalen Kaliumverlusten. [Stühlinger HG 2003]

Wenn man aber Magnesium oral substituiert, wird vom Gastrointestinaltrakt weniger als die Hälfte resorbiert und die Ausscheidung durch die Nieren noch weiter gesteigert. [Elin RJ 1988] Außerdem verursacht die orale Verabreichung von Magnesium Nebenwirkungen, wie z. B. Diarrhoe. Es gelingt in der klinischen Praxis also meist nur unter Schwierigkeiten einen vollständigen Ausgleich des Magnesiumhaushalts durch orale Substitution zu erreichen. [Elin RJ 1988]

Da ein ausgeglichener Magnesiumhaushalt nicht nur Einfluss auf die Kaliumwerte hat, sondern auch für das Zusammenwirken von calcitropischen Hormonen und Calcium von entscheidender Bedeutung ist, ist es eines der wichtigsten Therapieziele dem Körper ausreichend Magnesium zur Verfügung zu stellen. [Bettinelli A et al. 1999] Da aber ein Gesamtmagnesium im Normbereich nicht unbedingt garantieren kann, dass dem Körper genügend biologisch verfügbares Magnesium zur Verfügung steht, kann es vorkommen, dass Patienten trotz ausreichendem Gesamtmagnesium Magnesiummangelsymptome zeigen.

### 1.3.1.2 Classic Bartter-Syndrom (CLCKB-Mutation)

Beim klassischen Bartter – Syndrom handelt es sich um eine schwerere angeborene Nierenschädigung als beim Gitelman – Syndrom, die oft schon früher – meist im ersten Lebensjahr – klinisch in Erscheinung tritt. Es ist aber oft sehr schwer zu unterscheiden, ob es sich um ein Gitelman – oder ein Bartter – Syndrom handelt, da sich die Patienten phänotypisch sehr ähnlich sind. [Jeck et al. 2000] Patienten mit dem klassischen Bartter – Syndrom zeigen meist Dehydratation, Schwäche, Wachstumsstörungen, Hypokaliämie, metabolische Alkalose, Hyperreninämie und Hyperaldosteronämie. [Jeck et al. 2000] Die Hypomagnesiämie wurde oft als Differenzierungsmerkmal zwischen Gitelman – und Bartter – Syndrom benutzt, aber es hat sich herausgestellt, dass ca. ein Drittel der Patienten mit Bartter – Syndrom auch eine Hypomagnesiämie entwickeln. [Jeck et al. 2000]

Patienten mit klassischem Bartter-Syndrom haben durch die Mutation im CLCKB-Gen auf Chromosom 1p36 eine Störung im Chloridkanal, der an der basolateralen Membran des dicken aufsteigenden Teils der Henle-Schleife sitzt. Dieser Kanal spielt eine wichtige Rolle in der Steuerung des Chloridtransports. Durch die gestörte Steuerung des Transportes kommt es zu den oben genannten Symptomen mit Elektrolyt- und Wasserverlusten über die Niere. [Kurtz et al. 1998] Dieser Chloridkanal kommt in verschiedenen Varianten im ganzen Körper vor, der hier betroffene CLCKB ist allerdings ausschließlich in der Niere zu finden, so dass sich die klinische Manifestation einer Mutation in diesem Kanal in der Niere zeigt. [Kurtz et al. 1998] Allerdings sind auch hier verschiedene Mutationen bekannt. Ist die Beta-Untereinheit Barttin von der Mutation mitbetroffen, ist auch ein Chlorid-Kanal im Innenohr in seiner Funktion gestört, der für die Sekretion der Endolymphe zuständig ist, so dass es bei diesen Patienten zu einer angeborenen Taubheit kommt. [Reinalter et al. 2002]

Therapeutisch muss darauf geachtet werden, dass in ausreichendem Maß Flüssigkeit und Elektrolyte substituiert werden. Besonders im Neugeborenenalter bestehen durch die Imbalancen im Flüssigkeitshaushalt die Gefahren des prärenalen Nierenversagens, des Durstfiebers und zerebraler Krampfanfälle.

Die renale Prostaglandinausscheidung ist nur mäßig oder gar nicht erhöht.

Bei gesteigerter Prostaglandin E<sub>2</sub>-Produktion können durch einen Cyclooxygenase-Inhibitor die renalen Elektrolytverluste reduziert werden.

Prognostisch ist eine frühe Diagnosestellung und ein früher Therapiebeginn entscheidend, besonders um der Gedeihstörung vorzubeugen. [Konrad M et al. 2000]

#### 1.3.1.3 Das antenatale Bartter-Syndrom (ROMK- und NKCC2-Mutation)

Es gibt allerdings nicht nur ein klassisches Bartter – Syndrom sondern auch antenatale Formen des Bartter – Syndroms. Diese schweren Formen des Bartter – Syndroms werden auch Hyperprostaglandin E – Syndrom genannt und beginnen meist schon vor der Geburt des Patienten (s. unten). [Kockerling A et al. 1996]

Bei der Mutation des Natrium-Kalium-2-Chlorid-Kotransporters handelt es sich um eine Störung der Chloridrückresorption im dicken aufsteigenden Ast der Henleschen Schleife. Dadurch, dass durch eine basolaterale Natrium-Kalium-ATPase das intrazelluläre Natrium niedrig gehalten wird, kann der NKCC2 passiv Natriumchlorid mit Kalium in das Zytosol transferieren. Zum Aufrechterhalten des Transportmechanismus ist eine permanente Rückführung von Kalium aus der Zelle ins Lumen nötig. Das geschieht u. A. über einen apikalen Kalium-Kanal (renal outer medullary Kalium channel: ROMK). Die Funktion des NKCC2 ist also von der Funktion des ROMK abhängig. Ein Funktionsausfall eines dieser beiden Proteine hat also einen ganz ähnlichen klinischen Effekt, was als antenatales Bartter-Syndrom zusammengefasst wird. [Konrad et al. 2000]

Typische klinische Zeichen für das Hyperprostaglandin E – Syndrom sind schon im Mutterleib Polyurie, was sich als Polyhydramnion äußert und dadurch zur Frühgeburt führt, Hyperkalzurie und als Folge davon Nephrokalzinose, Isosthenurie oder Hyposthenurie. Außerdem haben die Patienten einen Mangel des Tamm – Horsfall – Proteins, was ebenfalls auf eine Störung des dicken aufsteigenden Teils der Henleschen Schleife hindeutet. [Peters M et al. 2003]

Durch Versuche, in denen man Hyperprostaglandin E – Syndrom – Patienten Furosemid gegeben hat, konnte durch weitgehende Resistenz der Patienten

auf dieses Diuretikum belegt werden, dass es sich um eine Störung in diesem Teil des Nephrons handeln muss.

Die erhöhten Prostaglandinwerte stellen einen sekundären Effekt dieser Störung dar. [Kockerling A et al. 1996, Nüsing R et al. 2005] Der Zusammenhang zwischen den erhöhten Prostaglandinwerten und der genetischen Störung wird folgendermaßen vermutet: Da Hyperprostaglandin E2 – Patienten einen ständigen Salz – und Wasserverlust haben, kommt es zur peripheren Vasokonstriktion. Um aber die glomeruläre Filtrationsrate aufrecht halten zu können, setzt die Niere das vasodilatierende Prostaglandin E2 frei, das dann durch Antagonisierung des Vasopressin – abhängigen Wasserflusses noch zusätzlich zur Polyurie führt. [Kockerling A et al. 1996]

Bei der ROMK-Mutation handelt es sich wie oben beschrieben um eine Störung der Kaliumkanäle im distalen aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife. Sie scheiden Kalium aus. Die Bildung der Kanäle wird durch Aldosteron induziert. [Bhandari S et al. 1998; Biesalski HK et al. 2004; Bundesinstitut für Risikobewertung: Domke A et al. 2004; Giebisch G 1998; Hahn A et al. 2006; Mennitt PA et al. 2000]

Es handelt sich also beim antenatalen Bartter-Syndrom ebenfalls um eine renal bedingte, genetische Störung des Elektrolythaushalts, ohne dass ein Magnesiummangel vorliegt.

Dieses Patientenkollektiv eignet sich deshalb hervorragend als interne Kontrollgruppe, besonders um den Vergleich mit den Patienten mit hereditärem Salz- und Magnesiumverlust herstellen zu können, da in beiden Gruppen ähnliche Voraussetzungen herrschen, aber der Magnesiumverlust ein entscheidender Unterschied zwischen den Gruppen ist. Aus diesem Grund sind Patienten mit antenatalem Bartter-Syndrom als interne Kontrollgruppe in diese Studie mit aufgenommen worden.

### 1.3.2 Erworbene Magnesiumverluste

Erworbene Magnesiumverluste können verschiedene Ursachen haben. In dieser Studie werden nur Kinder berücksichtigt, die durch Cyclosporin-A-Therapie einen Magnesiummangel entwickelt haben.

Die Entstehung des Magnesiummangels unter Cyclosporin-A-Therapie wird im Folgenden näher erläutert.

### 1.3.2.1 Patienten unter Cyclosporin A-Therapie

Zu den erworbenen bzw. iatrogenen Elektrolytverschiebungen zählt unter Anderem die Behandlung mit Cyclosporin A.

Cyclosporin A ist ein Immunsuppressivum, das bevorzugt in der Abstoßungsprophylaxe nach Transplantationen eingesetzt wird und abhängig von der Dosis unter Anderem nephrotoxisch wirken kann. Es konnte eine Störung der mitochondrialen Funktion mit vermehrter Autophagozytose der Mitochondrien und dementsprechend mehr Vakuolen im Zytoplasma der mit Cyclosporin behandelten Tubuluszellen nachgewiesen werden. Es wird vermutet, dass es sich dabei um eine Ursache der Nephrotoxizität von Cyclosporin A handelt. [Verpooten GA et al. 1986]

Cyclosporin A führt in den Tubuluszellen außerdem zu einer erhöhten intrazellulären Calcium-Konzentration durch Freisetzung aus intrazellulären Speichern und vermehrtem Einstrom aus dem Extrazellulärraum. Dadurch kommt es zu einer gesteigerten Aktivität des luminalen Natrium-Protonen-Austauschers und damit zu einer vermehrten Natrium-Rückresorption, was die Entstehung einer arteriellen Hypertonie begünstigt. [Hartmann K 2003]

Es wurde außerdem beobachtet, dass Patienten, die Cyclosporin A erhalten haben im Vergleich zu Patienten, die andere Immunsuppressiva erhalten haben, niedrigere Magnesiumwerte aufweisen. [Vannini SD et al. 1999]

Sowohl die Gesamtmagnesiumwerte als auch die Werte für das ionisierte Magnesium wurden erfasst und beide waren signifikant niedriger als in den Kontrollgruppen. Die Fraktion des ionisierten Magnesiums an dem Gesamtmagnesium war allerdings in allen Gruppen gleich. [Vannini SD et al. 1999] Cyclosporin A bewirkt eine erhöhte Magnesiumausscheidung mit dem Urin und führt damit zu einer Hypomagnesiämie. [Gouadon E et al. 2012] Ein für die Magnesium-Aufnahme wichtiger Magnesium-Kanal (TRPM6) liegt an der apikalen Membran der Tubuluszellen. Durch die Therapie mit Cyclosporin A nimmt die Anzahl dieser Magnesium-Kanäle ab und führt zu einer verminderten Aufnahme des Magnesiums in die Zelle und damit zu einer vermehrten Ausscheidung mit dem Urin. [Ikari A 2009]

Außerdem gibt es die Theorie, dass die Aufnahme des Magnesiums in Zellen hinein durch Cyclosporin A gefördert wird, so dass es zu einer erniedrigten Konzentration im Serum kommt. [Vannini SD 1999]



Cyclosporin A - Therapien haben also einen direkten Effekt auf den Magnesiumhaushalt der behandelten Patienten.

Es ist aber auch noch eine umgekehrte Korrelation zwischen Magnesium und Cyclosporin A beschrieben: Bekommt ein Patient, der eine Hypomagnesiämie hat, Cyclosporin A, dann erhöht sich für diesen Patienten die Wahrscheinlichkeit gefährliche Nebenwirkungen des Cyclosporins, wie z. B. die Neurotoxizität, zu entwickeln. [Al-Rasheed AK et al. 2000]

In diese Studie wurden Patienten unter Cyclosporin A-Therapie exemplarisch für iatrogen verursachten Magnesiummangel eingeschlossen.

#### 1.4 Klinische Korrelation zwischen Serummagnesiumspiegel und Symptomen eines Magnesium-Mangels

Die Idee zu dieser Studie ist unter Anderem aus klinischen Überlegungen aus der täglichen Patientenbetreuung entstanden. Aus diesem Grund wird auch ein Schwerpunkt auf die Korrelation zwischen Serum-Magnesium-Werten und Symptomen eines Magnesium-Mangels gelegt.

In der täglichen Routine wird in aller Regel das Magnesium nur im Serum und nicht intrazellulär bestimmt, obwohl der größte Teil des Magnesiums intrazellulär vorliegt. Durch diese Studie soll nun eruiert werden, ob diese gängige Praxis sinnvoll in der Therapiesteuerung von Patienten mit Magnesiummangel ist oder ob die intrazelluläre Messung des Magnesiums doch mehr in den Fokus gestellt werden sollte. Aus diesem Grund wurden allen Studienteilnehmern Fragebögen vorgelegt, mit denen klinische Symptome eines Magnesiummangels abgefragt wurden.

Folgende Symptome können Folge eines Magnesiummangels sein und wurden abgefragt: Unruhe, Reizbarkeit, Konzentrationsstörungen, Parästhesien, Kopfschmerzen, Muskelkrämpfe, rasche Erschöpfbarkeit, Energielosigkeit, Obstipation, Herzrhythmusstörungen, Bluthochdruck und Angina pectoris-Beschwerden.

[[www.medizinfo.de/endokrinologie/stoffwechsel/magnesium.htm](http://www.medizinfo.de/endokrinologie/stoffwechsel/magnesium.htm)]

Viele der Magnesiummangelsymptome sind sehr unspezifisch und es kommen auch viele andere Ursachen für die o. g. Symptome in Frage, so dass es im klinischen Alltag oft schwierig ist, eines der genannten Symptome direkt mit einem Magnesiummangel in Verbindung zu bringen. In dieser Studie wird versucht, den Zusammenhang zwischen den Symptomen und den tatsächlichen Magnesium-Werten durch den Fragebogen und das Messen des Magnesiums herzustellen.

## **2. Fragestellungen**

### **2.1 Ideenentwicklung zur Studie**

Die langjährige klinische Erfahrung mit Patienten mit verschiedensten renalen Erkrankungen zeigt, dass einige Kinder Symptome aufweisen, die auf einen Magnesiummangel hinweisen, bei denen aber die Serummagnesiumkonzentration im Normbereich ist. Es blieb also die Frage, woher die Symptome kommen könnten. Da der Großteil des Magnesiums im Blut intrazellulär vorliegt, entstand der Verdacht, dass diese Patienten evtl. einen intrazellulären Magnesiummangel aufweisen, der dann für die Symptome verantwortlich sein könnte. Vor diesem Hintergrund entstand der Gedanke, sich genauer mit dem intrazellulären Magnesium zu befassen. Es wurde unter anderem die Frage in den Raum geworfen, ob eine Korrelation zwischen intrazellulärem und Serum-Magnesium besteht. Gleichzeitig wurde beschlossen, nicht nur gesunde Probanden und deren intrazelluläres Magnesium zu untersuchen, sondern auch Patienten mit einem Magnesiummangel – angeboren oder erworben – und andere Salzverlustkrankungen miteinzubeziehen, um festzustellen, ob sich das intrazelluläre Magnesium in diesen Gruppen anders verhält. Zur klinischen Charakterisierung von potentiellen Magnesiummangelsymptomen wurde jedem Studienteilnehmer ein Fragebogen vorgelegt, mit dem evtl. vorhandene Magnesiummangelsymptome erfasst wurden. Zur Rekrutierung des Studienkollektivs wurden Patienten, die sich regelmäßig in Behandlung in der kindernephrologischen Ambulanz befanden, herangezogen.

## 2.2 Hauptfragestellungen

Im Folgenden werden die drei Hauptfragestellungen der Studie festgelegt. Die oben beschriebene Ideenentwicklung eröffnet folgende Fragen:

### 2.2.1 Korrelation zwischen intraerythrozytärem und Serum-Magnesium

Gibt es eine direkte Korrelation zwischen intraerythrozytären Magnesiumkonzentrationen und Serummagnesiumkonzentrationen und wenn es eine direkte Korrelation gibt, welcher Art ist sie dann?

### 2.2.2 Unterschiede der gemessenen Magnesiumwerte in den verschiedenen Gruppen

Gibt es Unterschiede in der Höhe des intraerythrozytären und des Serum-Magnesiums bei angeborenen und erworbenen Magnesiummangelerkrankungen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe und untereinander?

### 2.2.3 Zusammenhang zwischen intraerythrozytärem und Serum-Magnesium und Magnesiummangelsymptomen

Besteht ein Zusammenhang zwischen Magnesiummangelsymptomen und den Magnesiumkonzentrationen im Serum und/oder in den Erythrozyten?

### 2.3 Nebenanalysen

Neben den Hauptfragestellungen werden auch noch einige zusätzliche Daten ausgewertet. Insbesondere wird ein Augenmerk auf die interne Kontrollgruppe gelegt um zu zeigen, wie die Vergleichbarkeit zwischen interner Kontrollgruppe und Patienten mit hereditärem Salz- und Magnesium-Verlust zustande kommt. Außerdem drängt sich gerade bei Studien mit Kindern die Frage auf, ob die erhobenen Daten altersabhängig sind. Aus diesen Gründen werden folgende Fragestellungen erörtert:

#### 2.3.1 Korrelation zwischen Magnesiumkonzentration und Alter des Studienteilnehmers

Gibt es einen direkten Zusammenhang zwischen dem Alter eines Studienteilnehmers und der Höhe des gemessenen intraerythrozytären Magnesiums und des Serum-Magnesiums?

#### 2.3.2 Vergleich der Nierenfunktion zwischen Gitelmann-Syndrom-Patienten und Patienten mit antenatalem Bartter-Syndrom

Ist die Nierenfunktion der Patienten mit einem hereditären Salz- und Magnesium- Verlust- Syndrom ähnlich wie die der Patienten mit einem hereditären Salz- ohne Magnesium- Verlust- Syndrom und sichert so die Vergleichbarkeit zwischen der Patienten- und der internen Kontrollgruppe?

#### 2.3.3 Vergleich des Säure-Basen-Status zwischen den Gitelmann-Syndrom-Patienten und Patienten mit antenatalem Bartter-Syndrom

Haben Patienten mit einem hereditären Salz- und Magnesium- Verlust- Syndrom einen anderen Säure-Basen-Haushalt und damit andere Bindungseigenschaften des Magnesiums an Proteine und in Komplexe als Patienten mit einem hereditären Salz- ohne Magnesium- Verlust- Syndrom?

### **3. Material und Methoden**

Die Studie wurde mit Genehmigung der Ethikkommission in Marburg (Aktenzeichen 47/07) durchgeführt.

#### **3.1 Untersuchte Kollektive**

In die vorliegende Studie wurden insgesamt 63 Kinder und Jugendliche aufgenommen, von denen 37 an chronischen Nierenerkrankungen litten, die zu Elektrolytstörungen führten (Patienten), und 26 keine bekannte Störung des Magnesiumhaushalts aufwiesen (Probanden). Bei all diesen Patienten und Probanden wurden im Zeitraum von August 2007 bis November 2008 routinemäßig im Rahmen der Grunderkrankung bzw. bei Kontrolluntersuchungen bei anderen Erkrankungen, die nichts mit einem Salzverlust zu tun haben (Probanden), Blutentnahmen durchgeführt, bei denen die Elektrolyte, Kreatinin, Albumin und ein kleines Blutbild untersucht wurden. Die Untersuchungen fanden bis auf eine alle in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätskliniken Gießen und Marburg, Standort Marburg, statt. Ein Patient wurde aus dem Wilhelmsstift in Hamburg rekrutiert.

##### **3.1.1 Einschlusskriterien**

In die Studie wurden alle Patienten bzw. Probanden eingeschlossen, die folgende Kriterien erfüllten: Alter zwischen sechs Monaten und 30tem Lebensjahr, gesichertes Vorliegen einer hereditären Salz- und Magnesium-Verlust- Tubulopathie (Gitelman-Syndrom, klassisches Bartter-Syndrom) oder gesichertes Vorliegen einer hereditären Salz- ohne Magnesium- Verlust-Tubulopathie (antenatales Bartter-Syndrom in Folge einer Mutation im ROMK oder NKCC2) oder aktuelle Therapie mit Cyclosporin A aufgrund eines nephrotischen Syndroms oder einer Nierentransplantation.

Für die Kontrollgruppe wurden Probanden aufgenommen, die keine bekannte Störung des Magnesium-Haushaltes aufweisen.

##### **3.1.2 Ausschlusskriterien**

Aus der Studie ausgeschlossen wurden alle Patienten bzw. Probanden, bei denen eines oder mehrere der nachfolgenden Kriterien zutraf bzw. zutraten:

Elektrolytstörungen nicht - renaler Ursache, Therapie mit Antiepileptika zum Zeitpunkt der Untersuchung, Leberinsuffizienz, primäre Hypophyseninsuffizienz, Magnesiumsubstitution in den letzten zwei Tagen (Ausnahmen: Magnesiumwerte von  $< 0,5$  mmol/l oder starke Magnesiummangelsymptome trotz Substitution oder sofortiges Einsetzen von Magnesiummangelsymptomen nach Absetzen der Substitution) und fehlende Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie.

### 3.1.3 Kontrollgruppe

In die Kontrollgruppe wurden Probanden eingeschlossen, die zum Zeitpunkt der Untersuchung keine Störungen des Magnesiumhaushaltes aufwiesen, keine akuten schweren Erkrankungen durchlitten, keine Antiepileptikatherapie bekamen, keine Lebererkrankungen aufwiesen und nicht unter einer primären Hypophyseninsuffizienz litten. Entweder wurden die Probanden in der Kinderklinik tagesklinisch betreut oder es handelt sich um freiwillige gesunde Studienteilnehmer. Da es für alle Probanden einen erheblichen Aufwand bedeutet hätte, einen Sammelurin mit in die Klinik zu bringen, und außerdem im Urin keine pathologischen Werte erwartet werden konnten, wurde bei den Kontrollpatienten auf die Urinuntersuchung verzichtet. Das Durchschnittsalter in dieser Gruppe lag zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 16,0 Jahren.

### 3.1.4 Hereditärer renaler Salz- ohne Magnesium-Verlust (interne Kontrolle)

Die Gruppe der internen Kontrolle umfasst Patienten, die zwar auch eine angeborene Salzverlusttubulopathie haben, aber darunter keinen Magnesiummangel entwickeln. Hierbei handelt es sich um 12 Patienten, die entweder eine ROMK- (6) oder eine NKCC2-Mutation (6), also ein antenatales Bartter-Syndrom, aufweisen. Wenn möglich wurde von diesen Patienten ebenfalls der Sammelurin untersucht, um einen Überblick über die Nierenfunktion und die Elektrolytausscheidung zu erhalten. Das Durchschnittsalter in dieser Gruppe lag bei 14,7 Jahren.

### 3.1.5 Hereditärer renaler Salz- und Magnesiumverlust

Die Gruppe der Patienten mit angeborenen Salz- und Magnesiumverlusterkrankungen setzt sich aus sechs Patienten mit Gitelman-

Syndrom und einem Patienten mit einer CLCKB-Mutation, der aber einen Gitelman-Syndrom – ähnlichen Phänotyp aufweist, zusammen. Das Durchschnittsalter der Patienten in dieser Gruppe lag bei 17,6 Jahren. Bei drei der sieben Patienten war es aufgrund von sofort auftretenden Symptomen nicht möglich die vorhandene Magnesiumsubstitution zwei Tage vor der Untersuchung abzusetzen. Diese Patienten wurden also unter Substitution in die Studie eingeschlossen, was dazu führt, dass die gemessenen Magnesiumwerte als über dem für den Patienten normalen Wert angesehen werden müssen.

In diesem Kollektiv wurde nicht nur das Blut untersucht, sondern - wenn möglich - auch der mitgebrachte Sammelurin. Die Urin-Untersuchung in dieser Gruppe diente dazu, einen Überblick über die Nierenfunktion und die Elektrolytausscheidung zu bekommen. Leider konnten aufgrund mangelnder Compliance nicht von allen Patienten Urinuntersuchungen vorgenommen werden, sodass keine vollständige Auswertung der Nierenfunktion und der Elektrolytausscheidung möglich war.

### 3.1.6 Erworbener Magnesiumverlust

Mit 18 Studienteilnehmern war diese Gruppe die größte der Kollektive der nierenerkrankten Patienten. Drei Patienten litten unter einem nephrotischen Syndrom, die 15 weiteren Patienten waren nierentransplantiert. Die immunsuppressive Therapie mit Cyclosporin A war bei allen Patienten für den erworbenen Magnesiumverlust verantwortlich. Das Durchschnittsalter in dieser Gruppe lag zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 14,4 Jahren. Bei zweien der 18 Patienten war es aufgrund sofortigen Auftretens von Symptomen nicht möglich die Magnesiumsubstitution für einige Tage zu unterbrechen, um für die Studie unverfälschte Werte zu erhalten. Die gemessenen Werte der beiden Patienten sind also eher als zu hoch anzusehen.



### 3.2 Ablauf der Studie

Es wurden 37 Patienten mit verschiedenen Elektrolytstörungen (s. oben) untersucht und mit 26 Probanden verglichen, die keine Elektrolytstörungen hatten.

Da Magnesiumverluste besonders durch renal-tubuläre Funktionsstörungen entstehen können, wurden die Kinder und Jugendlichen mit Elektrolytstörungen aus dem KfH-Nierenzentrum für Kinder und Jugendliche am Universitätsklinikum Gießen und Marburg, Standort Marburg, rekrutiert. Ein Patient aus dem Wilhelmsstift in Hamburg wurde ebenfalls in die Studie eingeschlossen. Die Patienten wurden in folgende Kategorien eingeteilt: angeborener Salz- und Magnesiumverlust, angeborener Salz- ohne Magnesiumverlust und erworbener Magnesiumverlust. Es wurden also drei Gruppen aus dem Patientenkollektiv gebildet. Zu den Patienten mit angeborenen Salz- und Magnesiumverlustkrankungen wurden Gitelman-Syndrom-Patienten (6) und ein Patient mit CLCKB-Mutation aber Gitelman-Syndrom-ähnlichem Phänotyp gezählt.

In der Kategorie angeborener Salz- ohne Magnesiumverlust wurden Patienten mit antenatalem Bartter-Syndrom (6 x ROMK- und 6 x NKCC2-Mutation) zusammengefasst.

Die Gruppe der Patienten mit erworbenem Magnesiumverlust setzt sich aus nierentransplantierten Patienten (15) und Patienten mit nephrotischem Syndrom (3), die immunsuppressiv mit Cyclosporin A behandelt wurden, zusammen.

Die Gruppe der stoffwechselgesunden Kinder besteht aus Patienten, die sich in tagesklinischer Behandlung befanden ( 5 x Asthmaabklärung, 4 x Kleinwuchsabklärung, 1 x Kollagenosenabklärung, 1 x Hämoptoeabklärung, 1 x Bauchtraumaabklärung, 1 x Appendizitisnachuntersuchung, 1 x Übelkeitsabklärung, 1 x Kontrolle der Wachstumshormontherapie, 1 x Helicobacter pylori Infektion, 1 x Hochwuchsabklärung), und gesunden freiwilligen Probanden (9). Die für die Studie benötigten Blutentnahmen erfolgten jeweils gemeinsam mit den Blutentnahmen, die zur Abklärung der Grunderkrankung nötig waren, also während des Aufenthaltes in der Klinik.

Bei allen teilnehmenden Patienten und Probanden wurden identische Untersuchungsverfahren angewendet und es wurden immer die gleichen

Laborparameter erhoben, um eine Vergleichbarkeit der Daten zu bekommen. Von jedem einzelnen Studienteilnehmer wurden jeweils eine Serum-, eine EDTA- Blutprobe und zusätzlich zwei EDTA – Röhrchen à 2,6 ml für die Bestimmung des intrazellulären Magnesiums entnommen. Die Patienten mit den Elektrolytstörungen wurden gebeten, einen Sammelurin mit zum Untersuchungstag zu bringen. Von den Probanden wurden keine Urinproben entnommen.

Folgende Parameter wurden im Blut untersucht: die Serummagnesiumkonzentration (mmol/l), die Konzentration des Magnesiums in den Erythrozyten (mmol/l), die Serumcalciumkonzentration (mmol/l), die Serumnatriumkonzentration (mmol/l), die Serumkaliumkonzentration (mmol/l), die Serumphosphatkonzentration (mmol/l), das Albumin im Serum (g/l), das Kreatinin im Serum (mg/dl), die Erythrozytenzahl (T/l) und der Hämoglobinwert (g/l). Außerdem wurde jeweils eine Blutgasanalyse durchgeführt, um den pH, das Bicarbonat (mmol/l) und den Base-Excess (mmol/l) zu bestimmen. Im Sammelurin wurden die folgenden Parameter untersucht: die 24-Stunden-Urinmenge (ml/d), die Urinsammelzeit (h), die Magnesiumausscheidung (mmol/l), die Calciumausscheidung (mmol/l), die Natriumausscheidung (mmol/l), die Kaliumausscheidung (mmol/l), die Phosphatausscheidung (mmol/l), das Albumin (mg/l) und das Kreatinin (mg/dl).

Alle o. g. Messwerte, außer das intraerythrozytäre Magnesium, das in einem gesonderten Verfahren gemessen wurde, wurden vom Labor für Klinische Chemie in Marburg unter der Leitung von Prof. Dr. H. Renz bestimmt. Die für die Messung des intraerythrozytären Magnesiums zusätzlich abgenommenen EDTA-Röhrchen wurden im Forschungslabor der Kinderklinik vorbereitet, damit im Labor Enders in Stuttgart die eigentliche Messung erfolgen konnte (s. unten).

Zusätzlich zu den oben genannten Werten wurden auch noch allgemeine Daten zu den Studienteilnehmern wie das Alter, die Körpergröße, das Gewicht, der Blutdruck und eventuelle weitere Erkrankungen, die einen Einfluss auf den Magnesiumhaushalt haben könnten, erhoben. Diese Daten sind wichtig um eine Vergleichbarkeit zwischen den Patienten und Probanden herstellen zu können. Außerdem wurde erfragt, ob eine Magnesiumsubstitution zum Zeitpunkt der Untersuchung bestand. Falls eine

Magnesiumsubstitution erfolgte, wurden die Patienten und Probanden gebeten, diese zwei Tage vor dem geplanten Untersuchungstermin abzusetzen. In insgesamt fünf Fällen war das Absetzen aufgrund sofortigen Auftretens von Magnesiummangelsymptomen nicht möglich (bei zwei Patienten mit erworbenem Magnesium-Verlust und bei drei Patienten mit hereditärem Salz- und Magnesium-Verlust).

Die erfassten Daten wurden im Hinblick auf die oben genannten Fragestellungen statistisch ausgewertet (s. unten).

### 3.2.1 Fragebögen

Zur Erfassung von Symptomen, die auf einen Magnesiummangel hinweisen könnten, wurde ein standardisierter Fragebogen verwendet (s. Anhang). Durch diesen Fragebogen wurde nicht nur das Vorhandensein von Symptomen erfragt, sondern semiquantitativ auch die Ausprägung („Wie oft treten die Symptome auf? - oft, manchmal oder selten?“). Folgende Symptome wurden durch den Fragebogen erfasst: Muskelkrämpfe an einem oder mehreren Muskeln, Herzrasen, Arrhythmien, Angina pectoris Beschwerden, bekannte arterielle Hypertonie, Obstipation, Konzentrationsstörungen, Antriebslosigkeit, Kribbelparästhesien, verstärkte Reizbarkeit, epileptische und andere Krampfanfälle.

Dieser Fragebogen wurde je nach Alter des Kindes entweder dem Studienteilnehmer selbst oder den Eltern zur Beantwortung vorgelegt.

Die Auswertung der Fragebögen erfolgte rein deskriptiv. Es wurden keine statistischen Beweise für evtl. vorhandene Gruppenunterschiede erbracht (s. unten).

#### 3.2.1.1 Elternbefragung

Eine Befragung der Eltern wurde dann vorgenommen, wenn der Studienteilnehmer noch keine 13 Jahre alt war oder nicht in der Lage war, den Fragebogen selbst zu lesen oder das eigene Beantworten der Fragen ablehnte, einer Beantwortung durch die Eltern aber zustimmte.

### 3.2.1.2 Patientenbefragung

Studienteilnehmern, die älter als 13 Jahre zum Zeitpunkt der Untersuchung waren und sich zur Beantwortung bereit erklärten, wurde ein Fragebogen mit direkter Anrede des Patienten vorgelegt und damit die Patienten um eine eigene Einschätzung ihrer Symptome gebeten.

### 3.3 Labormethoden

Im Folgenden soll erläutert werden, wie die Blut- und Urinproben im Labor bearbeitet und wie die Messungen durchgeführt wurden.

#### 3.3.1 Untersuchtes Material

Es wurde folgendes Material untersucht: EDTA-Blut, Serum, wenn vorhanden 24-Stunden-Sammelurin und eine venöse BGA.

##### 3.3.1.1 Gewinnung der Proben

Es erfolgte ein Standard-Blutentnahme-Verfahren mit Stauschlauch und handelsüblichen Kanülen (venös). Das Sammeln des 24-Stunden-Sammelurins übernahmen die Eltern der Patienten.

##### 3.3.1.2 Allgemeine Vorbereitung der Proben

Sowohl die gewonnenen Blutproben – außer das EDTA-Blut zur Messung des intrazellulären Magnesiums - als auch der von den Eltern gesammelte Urin wurden ohne weitere Zwischenschritte schnellstmöglich in das Labor der Universitätsklinik Marburg unter der Leitung von Prof. Dr. Renz übergeben, um dort sofort mit der Auswertung beginnen zu können.

##### 3.3.1.3 Vorbereitung der Proben für die Messung des intrazellulären Magnesiums

Nach der Blutentnahme wurden die Proben zeitnah in das Forschungslabor der Kinderklinik gebracht und dort für fünf Minuten bei 4000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Das dann überstehende Plasma wurde abpipettiert und verworfen. Anschließend wurde das Röhrchen mit 0,9 %iger NaCl-Lösung wieder aufgefüllt und erneut fünf Minuten bei 4000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren wurde der Überstand erneut abpipettiert und verworfen. Dieser Vorgang wurde so oft wiederholt bis ein klarer Überstand entstanden war. Dafür wurden durchschnittlich drei Spülvorgänge durchgeführt. Sobald ein klarer Überstand vorhanden war, wurde dieser komplett abpipettiert und verworfen. Der zurückgebliebene Blutkuchen wurde dann bei – 18 °C eingefroren. Im

Tiefkühlfach wurden die Proben gesammelt und als Sammelbestellung ohne Unterbrechung der Tiefkühlkette nach Stuttgart ins Labor Enders geschickt.

### 3.3.2 Durchführung der Messungen

Im Folgenden werden die Methoden zu den Messungen der Blutwerte in den Laboren näher erläutert.

#### 3.3.2.1 Messung der Routineparameter im Labor der Universitätsklinik Marburg

Die oben angegebenen Werte wurden im Labor für klinische Chemie unter der Leitung von Prof. Dr. Renz durch übliche Standardverfahren maschinell bestimmt. Das Gerät zur Bestimmung der klinischen Chemie ist von der Firma „Beckman Coulter“ und das der Hämatologie von „Sysmex“.

#### 3.3.2.2 Messung des intrazellulären Magnesiums im externen Labor

Im Labor Enders in Stuttgart wurde das intraerythrozytäre Magnesium durch die Flammen-Atomabsorptionsspektroskopie mit Untergrundkompensation mittels einer Deuteriumlampe gemessen.

Für diese Methode wurden sowohl eine Verdünnungslösung als auch eine Additionslösung benötigt, die beide vor Beginn der Messungen hergestellt werden mussten.

Die Verdünnungslösung wurde folgendermaßen hergestellt: 11,9 g Lanthan(III)-oxid (Fa. Merck) mit 1,2 g Cäsiumchlorid (Fa. Merck) wurden in 100 ml 30 %iger HCl suprapur (Fa. Merck) in einer 100 ml Weithalsflasche aus FEP-Teflon gelöst. Bei der Herstellung musste darauf geachtet werden, dass immer zuerst die Säure vorgelegt und dann die Reagenzien dazu gefügt wurden. Das Reagenziengemisch wurde auf 10 l mit destilliertem oder entmineralisiertem Wasser aufgefüllt. Damit war die Verdünnungslösung fertig. Die Additions-Stammlösung wurde folgendermaßen hergestellt: 500 µl einer 1 g/l Magnesium-Stammlösung (Fa. Merck) wurden in 25 ml Messkolben pipettiert und dann mit destilliertem oder entmineralisiertem Wasser auf 25 ml aufgefüllt. Dadurch entstand eine Magnesiumlösung mit 0,82 mmol/l, die als Additions-Stammlösung verwendet wurde.

Als die Verdünnungs- und Additions-Stamm-Lösungen fertig waren, wurde das AAS 1100B-Gerät mit Flammentechnik kalibriert und auf die automatische Kalibrationsart „Add. Verf.“ eingestellt. Da es für die Messung des intraerythrozytären Magnesiums keine kommerziell erhältlichen Kontrollen gibt, wurden in jeder Messreihe zwei Erythrozytenpools (ein Mal Normbereich und ein Mal pathologischer Bereich) als Präzisionskontrolle mitgeführt.

Jede Patientenprobe wurde doppelt in 12 ml Plastikröhrchen aus Polystyrol angesetzt.

Für den Proben 0-Wert (Kontrolle) wurden 975 µl Verdünnungslösung, für die erste Patientenprobe 950 µl Verdünnungslösung + 25 µl Additionslösung und für die zweite Patientenprobe 925 µl Verdünnungslösung + 50 µl Additionslösung vorgelegt. Dann wurden die Erythrozyten mit einer Varipipette in die Röhrchen pipettiert. Zum Schluss wurde zum Proben 0-Wert (Kontrolle) noch 4975 µl, zum ersten Patientenansatz noch 4950 µl und zum zweiten Patientenansatz 4925 µl Verdünnungslösung dazu pipettiert. Mit Hilfe des Vortexers wurde das Gemisch so lange vermengt bis eine klare Flüssigkeit entstanden war.

Als die Proben so weit vorbereitet waren, musste man die Lampenenergie des AAS 1100B mit Flammentechnik auf > 60 Einheiten einstellen. Dann konnten die eigentlichen Messungen vorgenommen werden.

Jedes Mal, wenn der zweite Patientenansatz gemessen wurde, wurde die dazugehörige Eichkurve mit Korrelationskoeffizient ausgedruckt. Wenn der Korrelationskoeffizient < 0,950 war, wurde der komplette Probenansatz wiederholt.

Wenn innerhalb der Doppelbestimmung (z. B. zwischen den beiden ersten Patientenansätzen eines Patienten) ein Variationskoeffizient von > 5 % auftrat, wurde der komplette Probenansatz erneuert und noch einmal gemessen.

Nach der Messung der Probenansätze und des Kontrollansatzes wurde entschieden, ob der Messwert innerhalb des zulässigen Bereichs liegt. Wenn die Messwerte zu starke Abweichungen aufwiesen, wurde der komplette Probenansatz (inklusive Kontrolle) wiederholt.

Aus den beiden Messungen wurde dann letztendlich der Mittelwert gebildet und dieser Mittelwert als das endgültige Ergebnis angesehen, wenn die

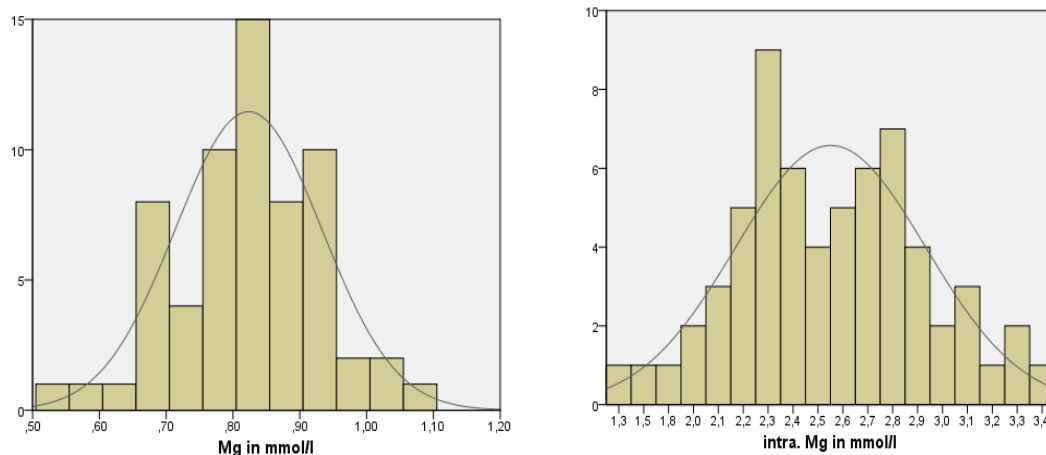
Einzelwerte nicht mehr als 10 % vom Mittelwert abweichen. Wenn die Abweichungen größer waren, wurden weitere Messungen durchgeführt.

Bei der Berechnung des Ergebnisses muss man beachten, dass man die zu messende Patientenprobe im Verhältnis 1:4 vorverdünnt hat (z. B. 25 µl Erythrozyten + 750 µl Verdünnungslösung im ersten Patientenansatz). Die Ergebnisse der intraerythrozytären Magnesiumkonzentration werden in mmol/l angegeben, wobei die untere Bestimmungsgrenze bei 0,1 mmol/l liegt.



### 3.4 Statistische Analysen

Bevor mit der statistischen Auswertung begonnen werden konnte, musste erst einmal festgestellt werden, ob die erhobenen Daten annähernd normal verteilt sind, weil davon die Auswahl der statistischen Verfahren abhing. Eine Normalverteilung der Werte für das intrazelluläre und das Serum-Magnesium konnte aus folgenden Gründen angenommen werden: die Mittelwerte stimmten nahezu mit den Durchschnittswerten überein (Mittelwerte: Serum-Magnesium: 0,83 mmol/l, intrazelluläres Magnesium: 2,55 mmol/l; Durchschnittswerte: Serum-Magnesium: 0,82 mmol/l, intrazelluläres Magnesium: 2,54 mmol/l) und die Histogramme inkl. Normalverteilungskurve zeigten graphisch annähernd eine Normalverteilung:



**Abbildung 1:** Histogramme zur Verteilung der gemessenen intrazellulären und Serum-Magnesium-Werte der Studienteilnehmer. Die Balken geben die Anzahl der Patienten in absoluten Zahlen an (Y-Achse), die jeweils das in der X-Achse angegebene Magnesium aufwiesen. Über die Balken wurde eine Normalverteilungskurve gelegt.

Die Feststellung der statistischen Signifikanz beruht jeweils auf dem 5%-Niveau. Unter diesen Voraussetzungen wurde die Beantwortung der Fragen in Angriff genommen.

Um zu klären, welcher statistische Zusammenhang zwischen intrazellulärem und extrazellulärem Magnesium besteht, wurde zuerst eine Korrelationsanalyse durchgeführt.

Die Korrelationsanalyse untersucht, ob zwischen zwei oder mehreren Variablen ein Zusammenhang besteht. Dabei unterscheidet man positive von negativen Korrelationen. Bei einer positiven Korrelation gehen hohe Werte der einen Variablen mit hohen Werten der anderen Variablen einher. Eine negative Korrelation besteht, wenn hohe Werte der einen niedrige Werte der

anderen Variable bedingen. Zur Berechnung wird bei intervallskalierten Variablen meist der Pearson-Korrelationskoeffizient verwendet. Zusätzlich führt SPSS automatisch einen Signifikanztest durch. Der Korrelationskoeffizient nimmt grundsätzlich Werte zwischen -1 und +1 an. -1 zeigt die perfekte negative Korrelation, +1 die perfekte positive Korrelation an. Je näher sich der Wert des Koeffizienten an 0 annähert, desto schwächer ist die Korrelation. Die Signifikanz gibt dabei die Wahrscheinlichkeit an, dass die beiden Variablen in der Grundgesamtheit nicht miteinander korreliert sind.

Die Korrelationsanalyse wurde unter den oben genannten Voraussetzungen mit Hilfe von SPSS durchgeführt.

Im Anschluss daran wurde mit Hilfe von SPSS eine einfache Regression durchgeführt. Der Sinn einer einfachen Regression ist es, die Abhängigkeit einer Variablen von einer zweiten zu untersuchen. Das Modell setzt intervallskalierte, normalverteilte Variablen voraus, was bei den gemessenen Magnesiumwerten zutrifft. In diesem Fall wurde die Abhängigkeit der intrazellulären Magnesiumkonzentration vom Serum-Magnesium untersucht. Als die abhängige Variable (y) wurde die Serum-Magnesium-Konzentration definiert, die unabhängige Variable (x) war die intrazelluläre Konzentration. Die Abhängigkeit der Zielvariablen „Serum-Magnesium-Konzentration“ vom Prädiktor „intrazelluläre Magnesiumkonzentration“ wurde durch die Regression untersucht und quantifiziert.

Die Nullhypothese zu dieser Untersuchung wurde in Form einer quadratischen Funktion angenommen ( $y=ax^2+bx+c$ ). Diese Nullhypothese postuliert also, dass es intrazellulär zu einem Sättigungseffekt der Magnesiumkonzentration kommt, wenn das Serum-Magnesium steigt. Um diesen Zusammenhang nachzuweisen, wurden ausschließlich die Daten der gesunden Probanden (26) verwendet um einer Verfälschung durch krankheitsbedingte Veränderungen des Magnesiumhaushaltes vorzubeugen. Die jeweils gemessenen Werte des Serum- und des intrazellulären Magnesiums der gesunden Studienteilnehmer in der Kontrollgruppe wurden in SPSS eingegeben. Um rechnerisch trotz der quadratischen Funktion eine lineare Regression durchführen zu können, wurden die Werte der intrazellulären Magnesiumkonzentrationen quadriert. Es war also zum Nachweis der Nullhypothese die quadrierte intrazelluläre Magnesiumkonzentration die unabhängige Variable.

Mit Hilfe von SPSS wurde anschließend die Sättigungsfunktion nach dem Modell  $y=ax^2+bx+c$  berechnet, die optimal zu den vorhandenen Daten passt. Das heißt, dass die Funktion, die die Abhängigkeit der Daten abbildet, die Quadratsumme der Abweichungen der einzelnen Daten von der Funktion minimiert. Große Abweichungen tragen dementsprechend besonders stark zur Positionierung der Funktion bei. In dieser Funktion wurden  $a = 0$ ,  $b = 0,069$  und  $c = 0,692$  als jeweils optimaler Wert berechnet.

Als weitere mögliche Form der Abhängigkeit wurde ein linearer Zusammenhang zwischen intra- und extrazellulärem Magnesium erwogen. Durch die Berechnung der einfachen linearen Regression in SPSS wurde geprüft, ob es einen statistisch signifikanten Unterschied der Sättigungsfunktion zu einem linearen Zusammenhang gibt.

Um die Frage der Gruppenunterschiede bei verschiedenen Erkrankungen zu klären, wurde mit SPSS eine ANOVA durchgeführt. Zur weiteren Differenzierung der einzelnen Gruppen wurden zusätzlich Post-Hoc-Tests (LSD- und Tuckey-HSD- Tests) durchgeführt, wodurch statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen aufgeschlüsselt wurden. Es konnte also genau gezeigt werden, zwischen welchen Gruppen es statistisch signifikante Unterschiede gibt und zwischen welchen nicht.

Die Auswertung der Fragebögen, die die Grundlage der Auswertung der Frage nach einer Korrelation sowohl der intrazellulären als auch der Serum-Magnesiumwerte mit Symptomen der Patienten war, erfolgte rein deskriptiv mit Hilfe von Diagrammen. Die Graphiken wurden mit Hilfe von Excel erstellt.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1 Klinische und biochemische Charakterisierung der Kollektive**

#### **4.1.1 Kontrollgruppe**

Die Probanden der Kontrollgruppe setzten sich aus freiwilligen Teilnehmern und Patienten aus der Tagesklinik ohne Störungen des Magnesiumhaushaltes zusammen. Das Durchschnittsalter dieser Gruppe lag bei 16,0 Jahren (Range von 3 bis 30 Jahren). Der durchschnittliche BMI lag bei 21,3 kg/m<sup>2</sup> (Range von 13,8 kg/m<sup>2</sup> bis 32,6 kg/m<sup>2</sup>).

Die Probanden gaben in den Fragebögen erwartungsgemäß am wenigsten Symptome an, die auf einen Magnesiummangel hinweisen könnten. Durchschnittlich 4,2 % der Fragen wurden mit ja beantwortet, wobei als häufigste Symptome (jeweils 11,5 % der Befragten antworteten mit ja) Konzentrationsstörungen und Parästhesien genannt wurden. Andere Symptome, die mit einem Magnesiummangel einhergehen können, wie zum Beispiel Muskelkrämpfe wurden in dieser Gruppe nicht ein einziges Mal angegeben. Von den mit ja beantworteten Fragen wurde in 83,3 % im zweiten Frageschritt „selten“ oder „manchmal“ angegeben, nur zwei Probanden (16,8 %) gaben an, die Symptome oft zu haben (s. Auswertung der Fragebögen unter 4.2.3).

Es zeigten sich bei den gesunden Probanden sowohl im Serum als auch intraerythrozytär normale Werte für das Magnesium. Da bei keinem Probanden eine Hypo- oder Hypermagnesiämie nachgewiesen werden konnte, erfüllten diese Studienteilnehmer die Funktion als gesunde Kontrollgruppe optimal.

Aufgrund der Histogramme und der Ähnlichkeit von Median und Durchschnitt (s. oben) kann sowohl beim intrazellulären als auch beim Serum-Magnesium von einer Normalverteilung der Daten ausgegangen werden.

Auch das Calcium war bei sämtlichen Probanden im Normbereich, so dass kein Einfluss auf das gemessene Magnesium anzunehmen ist.

Nicht von allen Probanden der Kontrollgruppe konnte ein Säure-Basen-Status erhoben werden, aber bei den vorhandenen Werten zeigte sich eine Tendenz zur Azidose (4 von 13 gemessenen Patienten waren azidotisch mit einem pH < 7,35 und keiner alkalisch mit einem pH von > 7,45, das Bicarbonat lag bei den

gemessenen Patienten zwischen 19,9 mmol/l und 32,7 mmol/l, der BE zwischen - 4,9 mmol/l und +4,1 mmol/l).

#### 4.1.2 Interne Kontrollgruppe

In der internen Kontrollgruppe wurden Patienten mit ROMK- und NKCC2-Mutation untersucht. Das Durchschnittsalter in dieser Gruppe betrug zum Zeitpunkt der Untersuchung 14,7 Jahre (Range von 4 bis 25 Jahren). Der durchschnittliche BMI der internen Kontrollgruppe lag bei 18,8 kg/m<sup>2</sup> (Range von 11,7 kg/m<sup>2</sup> bis 33,2 kg/m<sup>2</sup>). Damit handelt es sich um das Patientenkollektiv mit dem durchschnittlich geringsten BMI im Vergleich zu den anderen Gruppen.

In den Fragebögen zu Magnesium-Mangel-Symptomen wurden insgesamt 23,5 % der Fragen mit ja beantwortet, wobei in der Gruppe der Patienten mit ROMK-Mutation durchschnittlich 19,7 % der Fragen mit ja beantwortet wurden und bei den Patienten mit NKCC2-Mutation 27,3 %. Also besteht innerhalb der internen Kontrollgruppe eine gewisse Heterogenität was die klinische Manifestation von Elektrolytstörungen betrifft. Besonders häufig wurden Konzentrationsstörungen angegeben (67,9 % der Befragten). Die weiteren meistgenannten Symptome sind Antriebslosigkeit (46,5 % der Befragten) und Parästhesien (30,9 % der Befragten).

Wie erwartet ergaben sich bei der Messung der intrazellulären und der Serum-Magnesium-Werte keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe, wodurch die Voraussetzungen für die Funktion als interne Kontrollgruppe gegeben sind.

Aufgrund der geringen Anzahl von Patienten in dieser Gruppe ist eine Normalverteilung der Daten statistisch nicht sicher nachzuweisen.

Auffälligkeiten in den Messungen des Calciums haben sich nicht ergeben, so dass kein Einfluss auf das Magnesium zu erwarten ist.

Von den erhobenen Daten bezüglich des Säure-Basen-Status zeigte ein Drittel der Patienten dieser Gruppe eine leichte Alkalose mit einem pH von > 7,45, die anderen Patienten hatten einen unauffälligen Säure-Basen-Status.

#### 4.1.3 Hereditäre Salz- und Magnesium-Verlust-Erkrankungen

In dieser Gruppe wurden Patienten mit GS oder cBS untersucht. Das durchschnittliche Alter in dieser Gruppe lag bei 17,6 Jahren (Range von 6 bis 22 Jahren). Damit handelt es sich um die älteste der untersuchten Kollektive. Der durchschnittliche BMI in dieser Gruppe lag zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 21,6 kg/m<sup>2</sup> (Range von 15,3 kg/m<sup>2</sup> bis 32,7 kg/m<sup>2</sup>).

Es wurden insgesamt 43,9 % der Fragen zu Magnesium-Mangel-Symptomen mit ja beantwortet, es wurden also insgesamt erheblich mehr Symptome angegeben als in der Kontrollgruppe (4,2 % Ja-Antworten) oder in der internen Kontrollgruppe (23,5 % Ja-Antworten) oder als bei Patienten mit erworbenem Magnesium-Mangel (23,6 % Ja-Antworten). 91,7 % der Befragten dieser Gruppe gaben an, unter Antriebslosigkeit zu leiden. Danach folgten Parästhesien (83,4 %), Konzentrationsstörungen (75 %), Reizbarkeit (58,4 %), Muskelkrämpfe (50 %) und Tachykardien (50 %) in der Häufigkeit der angegebenen Symptome.

Bei den Patienten dieser Gruppe war sowohl das Magnesium im Serum als auch das intraerythrozytäre Magnesium erniedrigt. Ein sowohl intrazellulärer als auch extrazellulärer Mangel korreliert somit mit den stärksten klinischen Symptomen bei den Studienteilnehmern.

Eine Normalverteilung der Daten kann aufgrund der geringen Patientenzahl statistisch nicht sicher angenommen werden. Eine Beeinflussung der Magnesiumwerte durch das Calcium ist nicht zu erwarten, da bei sämtlichen Patienten aus dieser Gruppe ein normwertiges Calcium gemessen wurde. Von den sieben Patienten dieser Gruppe zeigten zwei eine Alkalose (pH > 7,45), die anderen hatten einen unauffälligen pH. Das Bicarbonat lag in dieser Gruppe zwischen 28,1 mmol/l und 30,3 mmol/l, der BE zwischen 3,4 mmol/l und 6,9 mmol/l.

#### 4.1.4 Erworbene Magnesium-Verluste

In dieser Gruppe sind Patienten eingeschlossen, die entweder aufgrund einer Nierentransplantation oder aufgrund eines nephrotischen Syndroms mit Cyclosporin A behandelt wurden.

Das durchschnittliche Alter in dieser Gruppe lag bei 14,4 Jahren und damit handelte es sich um die insgesamt jüngste der vier Gruppen (Range von 8 bis

21 Jahren). Der durchschnittliche BMI lag in dieser Gruppe zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 24,2 kg/m<sup>2</sup> (Range von 15,0 kg/m<sup>2</sup> bis 42,3 kg/m<sup>2</sup>). Damit weisen diese Patienten im Vergleich den durchschnittlich höchsten BMI der vier Gruppen auf.

In dieser Gruppe wurden in den Fragebögen insgesamt 23,6 % der Fragen mit ja beantwortet. Als häufigstes Symptom wurde eine arterielle Hypertonie mit 59,5 % der Befragten angegeben, danach folgten mit 54,8 % Muskelkrämpfe.

Es zeigt sich, dass Patienten unter Cyclosporin-A Therapie bei nephrotischem Syndrom oder nach Nierentransplantation annähernd genauso häufig Symptome angeben, die auf einen Magnesiummangel hinweisen können, wie Patienten der internen Kontrollgruppe.

Wenn man die Magnesiumwerte im Serum und in den Erythrozyten auswertet, zeigt sich ein niedrigeres Serummagnesium als in der Kontroll- oder internen Kontrollgruppe, aber ein normales Magnesium in den Erythrozyten.

In dieser Gruppe konnte anhand von Histogrammen und der Ähnlichkeit von Median und Durchschnitt eine annähernde Normalverteilung der Daten statistisch angenommen werden.

Das gemessene Calcium sämtlicher Patienten war im Normbereich, so dass kein Einfluss auf das Magnesium zu erwarten ist.

In dieser Gruppe gibt es – ähnlich wie in der Kontrollgruppe - eine Tendenz zur Azidose: drei der elf gemessenen Patienten zeigten eine Azidose mit einem pH < 7,35 und keiner eine Alkalose mit einem pH > 7,45.

### Übersicht über die Charakteristika der untersuchten Gruppen

	Kontrollen	interne Kontrollen	GS und cBS	CSA-Therapie
durchschnittliches Alter in Jahren	16 (Range 3-30) 21,31	14,7 (Range 4-25) 18,79	17,6 (Range 6-22) 21,56	14,4 (Range 8-21) 24,19
durchschnittlicher BMI in kg/m <sup>2</sup>	(Range 13,8-32,6)	(Range 11,7-33,2)	(Range 15,3-32,7)	(Range 15-42,3)
Serum-Mg-Werte in mmol/l	normwertig	normwertig	erniedrigt	erniedrigt
intra. Mg-Werte in mmol/l	normwertig	normwertig	erniedrigt	normwertig
Calcium-Werte	normwertig	normwertig	normwertig	normwertig
Säure-Basen-Haushalt	Tendenz zur Azidose	Tendenz zur Alkalose	Tendenz zur Alkalose	Tendenz zur Azidose
Fragebogenauswertung	4,2% Ja-Antworten	23,5% Ja-Antworten	43,9% Ja-Antworten	23,6% Ja-Antworten
durchschnittliche Schwartz-Clearance in ml/min/1,73 m <sup>2</sup>	122,38 (Range 65,28-195,83)	128,21 (Range 62,9-295)	78,49 (Range 51,12-95,42)	67,06 (Range 25,38-149,04)

**Tabelle 1:** Diese Tabelle zeigt die im Text beschriebenen Gruppenzusammensetzungen der Studienteilnehmer in Bezug auf Alter, BMI, Magnesiumwerte im Blut (Serum und intrazellulär), Calciumwerte im Blut, Säure-Basen-Status, Fragebogenauswertung und Nierenfunktion.

## 4.2 Beantwortung der Hauptfragen

Im Folgenden werden die drei Hauptfragestellungen der Studie beantwortet und die Antworten erläutert.

### 4.2.1 Korrelation zwischen intra- und extrazellulärem Magnesium

Gibt es eine direkte Korrelation zwischen intraerythrozytären und Serum – Magnesium-Konzentrationen und wenn es eine direkte Korrelation gibt, welcher Art ist sie dann?

Zur Beantwortung dieser Frage wurden nur die Werte der gesunden Kontrollpatienten (26) verwendet, um Verfälschungen durch Elektrolytstörungen oder sonstige Veränderungen durch die jeweiligen Grunderkrankungen vorzubeugen.

Die intraerythrozytären und die Serum – Magnesium – Werte in mmol/l wurden in Excel in eine Graphik eingetragen. Anhand dieser Daten wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet: 0,5.

Diese Graphik bestätigt außerdem den Verdacht, dass zwischen den beiden Werten sowohl ein linearer als auch ein quadratischer Zusammenhang denkbar ist. Ein linearer Zusammenhang würde bedeuten, dass bei steigendem Serum-Magnesium das intrazelluläre Magnesium proportional mit ansteigt. Die quadratische Funktion würde bedeuten, dass es bei dem intrazellulären Magnesium zu einer Sättigung kommt, wenn das Serum-Magnesium steigt.

Beide o. g. Möglichkeiten wurden jeweils als Funktion in der Graphik dargestellt, um beurteilen zu können, welche besser zu den erhobenen Daten passt.

Erhofft wurde ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Regressionsfunktionen, um eine sichere Aussage darüber treffen zu können, welche Funktion besser zu den erhobenen Daten passt, das heißt, welcher Art die Korrelation ist.

Als Funktion für den Sättigungseffekt des intrazellulären Magnesiums wurde folgende Regressionskurve festgelegt:

$$y=ax^2+bx+c,$$

wobei „x“ = intrazelluläres und „y“= extrazelluläres Magnesium ist (s. oben).



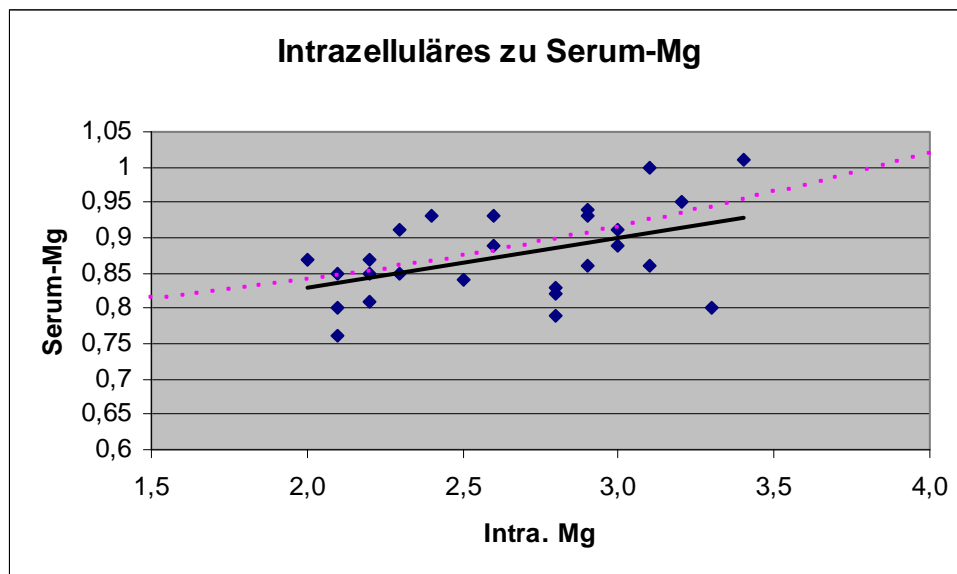
Für diese Regressionsfunktion wurden mit Hilfe von SPSS die Werte für die Variablen berechnet, die die Funktion ergaben, die optimal zu den erhobenen Werten passt:

$$a = 0$$

$$b = 0,069$$

$$c = 0,692$$

Diese Regressionsfunktion wurde als Nullhypothese definiert, die es zu beweisen bzw. zu widerlegen galt.



**Abbildung 2:** Graphik zur Darstellung der berechneten optimalen Regressionsfunktion (pinke gepunktete Linie) im Vergleich zum linearen Zusammenhang (schwarze durchgezogene Linie) zwischen intrazellulärem und Serum-Magnesium auf der Grundlage der erhobenen Werte der gesunden Kontrollgruppe (blaue Markierungen).

Nach dem Berechnen der Funktionen wurde der Versuch unternommen, statistisch zu beweisen, dass eine der beiden Funktionen besser zu den erhobenen Daten passt als die andere. Dazu wurde eine einfache lineare Regression durchgeführt, die mit Hilfe von SPSS berechnet wurde:

Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
1 (Konstante)	,838	,546		1,536	,138
_ Intra	-,044	,418	-,290	-,104	,918
2 quadriertIntra	,021	,079	,752	,270	,790

**Table 2:** Berechnung eines signifikanten Unterschiedes zwischen der optimalen Regressionsfunktion und einem linearen Zusammenhang zwischen den gemessenen Magnesium-Werten (im Serum und intraerythrozytär) der gesunden Kontrollgruppe. In dem Modell wurden die Werte für das intrazelluläre Magnesium zum Berechnen der Sättigungsfunktion quadriert, um trotz der quadratischen Funktion eine lineare Regression durchführen zu können. Die Zeile „Intra“ beinhaltet die Originaldaten ohne vorherige Anpassung und beschreibt damit den linearen Zusammenhang. In der Zeile „quadriertIntra“ wurden die Werte für das intrazelluläre Magnesium vor der Berechnung der linearen Regression quadriert, um die Sättigungsfunktion darzustellen. In der obigen Tabelle entspricht die Abkürzung „Sig.“ der Signifikanz und damit den p-Werten.

Wie oben abzulesen ist, waren alle p-Werte  $> 0,05$ , so dass die Nullhypothese nicht statistisch signifikant abgelehnt werden konnte.

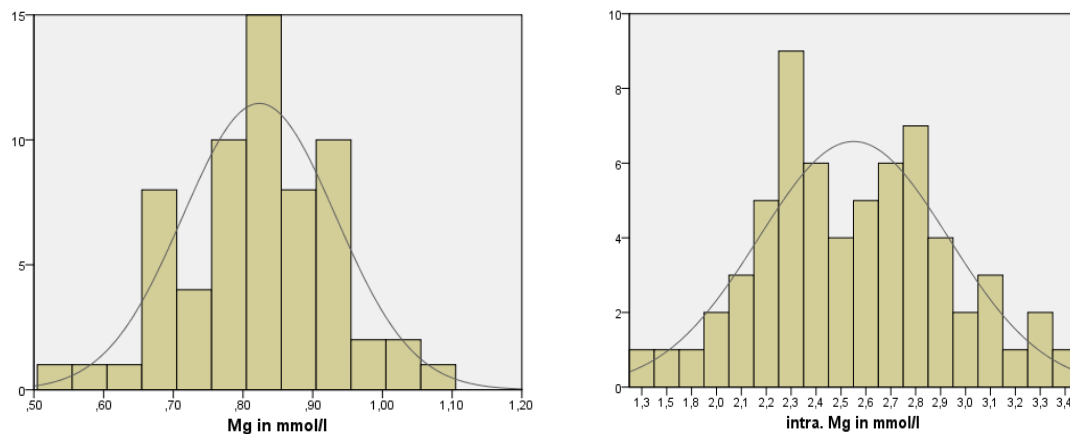
Daraus muss man folgern, dass statistisch keine genaue Aussage über die Art der Korrelation zwischen intraerythrozytärem und Serum – Magnesium möglich ist, weil keine der beiden Funktionen signifikant besser zu den Daten passt als die andere. Es ist also sowohl eine lineare als auch eine aufsättigende Korrelation möglich.

Wenn man sich allerdings rein deskriptiv die beiden Funktionen in der Graphik anschaut, bemerkt man, dass die optimal passende berechnete Sättigungsfunktion im Bereich der gemessenen Werte nahezu parallel zu der linearen Funktion verläuft. Man könnte daraus ableiten, dass im Bereich der gemessenen Werte ein nahezu linearer Zusammenhang zwischen intraerythrozytärem und Serum – Magnesium besteht. Diese Aussage ist aber rein deskriptiv und nicht statistisch zu beweisen oder zu widerlegen.

#### 4.2.2 Unterschiede der gemessenen Magnesiumwerte in den verschiedenen Gruppen

Gibt es Unterschiede des intraerythrozytären und des Serum – Magnesiums bei angeborenen oder erworbenen Magnesiummangelkrankungen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe und untereinander?

Um diese Frage mittels einer ANOVA zu beantworten, musste zuerst festgestellt werden, ob man bei den erhobenen Daten von einer Normalverteilung ausgehen konnte. Um die Annahme einer Normalverteilung zu bestätigen, wurden zwei verschiedene Verfahren gewählt: zuerst wurde der Mittelwert der Gruppendaten mit dem jeweiligen Median verglichen. Da Median und Mittelwert sehr ähnlich waren, war das der erste Hinweis darauf, dass die Daten annähernd normal verteilt waren. Zur Sicherung dieser Hypothese wurden Histogramme, sowohl mit den intrazellulären Werten, als auch mit den Serum – Werten angefertigt:



**Abbildung 3:** Histogramme zur Darstellung der annähernden Normalverteilung der erhobenen Magnesium-Werte, sowohl der Serum-Werte als auch der intrazellulären Werte ( jeweilige X-Achse). Auf der jeweiligen Y-Achse sind die absoluten Patientenzahlen abgebildet. Es wurde jeweils ein Balkendiagramm erstellt, über das eine Normalverteilungskurve gelegt wurde.

Auch die Histogramme bestätigten eine annähernde Normalverteilung der Daten, so dass auf einen statistischen Beweis verzichtet wurde und für die folgenden Berechnungen eine Normalverteilung angenommen wurde.

Daraufhin wurde eine allgemeine ANOVA mit Hilfe von SPSS durchgeführt, die ergab, dass sowohl intraerythrozytär als auch im Serum statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen vorhanden waren (s. unten).

Um die festgestellten Unterschiede genauer zu klassifizieren wurden Post-Hoc-Tests (Tuckey-HSD- und LSD-Tests) jeweils für die Serum – und für die intrazellulären Magnesiumwerte durchgeführt, mit denen die statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen berechnet wurden.

### Abhängige Variable: Intrazelluläres Magnesium

	(I) Gruppe	(J) Gruppe	Mittlere Differenz (I-J)	Standard Fehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
						Untergrenze	Obergrenze
Tukey-HSD	1	2	,5747 <sup>*</sup>	,1617	,004	,147	1,002
		3	,0378	,1326	,992	-,313	,388
		4	,1295	,1165	,684	-,178	,437
	2	1	-,5747 <sup>*</sup>	,1617	,004	-1,002	-,147
		3	-,5369 <sup>*</sup>	,1807	,022	-1,015	-,059
		4	-,4452	,1692	,052	-,893	,002
	3	1	-,0378	,1326	,992	-,388	,313
		2	,5369 <sup>*</sup>	,1807	,022	,059	1,015
		4	,0917	,1416	,916	-,283	,466
	4	1	-,1295	,1165	,684	-,437	,178
		2	,4452	,1692	,052	-,002	,893
		3	-,0917	,1416	,916	-,466	,283
LSD	1	2	,5747 <sup>*</sup>	,1617	,001	,251	,898
		3	,0378	,1326	,776	-,227	,303
		4	,1295	,1165	,271	-,104	,363
	2	1	-,5747 <sup>*</sup>	,1617	,001	-,898	-,251
		3	-,5369 <sup>*</sup>	,1807	,004	-,898	-,175
		4	-,4452 <sup>*</sup>	,1692	,011	-,784	-,107
	3	1	-,0378	,1326	,776	-,303	,227
		2	,5369 <sup>*</sup>	,1807	,004	,175	,898
		4	,0917	,1416	,520	-,192	,375
	4	1	-,1295	,1165	,271	-,363	,104
		2	,4452 <sup>*</sup>	,1692	,011	,107	,784
		3	-,0917	,1416	,520	-,375	,192

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

**Tabelle 3:** Berechnung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf das intraerythrozytär gemessene Magnesium.

In der Tabelle wurden die Patienten den Gruppen wie folgt zugeordnet:

Gruppe 1 = gesunde Kontrollgruppe

Gruppe 2 = GS- und CLCKB- Patienten (hereditärer Salz- und Magnesium-Verlust)

Gruppe 3 = ROMK- und NKCC2- Patienten (hereditärer Salz- ohne Magnesium-Verlust als interne Kontrollgruppe)

Gruppe 4 = nierentransplantierte Patienten und Patienten mit nephrotischem Syndrom unter Cyclosporin-A-Therapie mit erworbenem Magnesium-Verlust

## Abhängige Variable: Magnesium im Serum

	(I) Gruppe	(J) Gruppe	Mittlere Differenz (I-J)	Standard Fehler	Signifikanz	95%-Konfidenzintervall	
						Untergrenze	Obergrenze
Tukey-HSD	1	2	,22071 <sup>*</sup>	,03687	,000	,1232	,3182
		3	,02500	,03022	,841	-,0549	,1049
		4	,07833 <sup>*</sup>	,02655	,023	,0081	,1485
	2	1	-,22071 <sup>*</sup>	,03687	,000	-,3182	-,1232
		3	-,19571 <sup>*</sup>	,04118	,000	-,3046	-,0868
		4	-,14238 <sup>*</sup>	,03857	,003	-,2444	-,0404
	3	1	-,02500	,03022	,841	-,1049	,0549
		2	,19571 <sup>*</sup>	,04118	,000	,0868	,3046
		4	,05333	,03227	,358	-,0320	,1387
	4	1	-,07833 <sup>*</sup>	,02655	,023	-,1485	-,0081
		2	,14238 <sup>*</sup>	,03857	,003	,0404	,2444
		3	-,05333	,03227	,358	-,1387	,0320
LSD	1	2	,22071 <sup>*</sup>	,03687	,000	,1469	,2945
		3	,02500	,03022	,411	-,0355	,0855
		4	,07833 <sup>*</sup>	,02655	,005	,0252	,1315
	2	1	-,22071 <sup>*</sup>	,03687	,000	-,2945	-,1469
		3	-,19571 <sup>*</sup>	,04118	,000	-,2781	-,1133
		4	-,14238 <sup>*</sup>	,03857	,000	-,2196	-,0652
	3	1	-,02500	,03022	,411	-,0855	,0355
		2	,19571 <sup>*</sup>	,04118	,000	,1133	,2781
		4	,05333	,03227	,104	-,0112	,1179
	4	1	-,07833 <sup>*</sup>	,02655	,005	-,1315	-,0252
		2	,14238 <sup>*</sup>	,03857	,000	,0652	,2196
		3	-,05333	,03227	,104	-,1179	,0112

\*. Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

**Tabelle 4:** Berechnung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf die gemessenen Magnesium-Werte im Serum.

In der Tabelle wurden die Patienten den Gruppen wie folgt zugeordnet:

Gruppe 1 = gesunde Kontrollgruppe

Gruppe 2 = GS- und CLCKB- Patienten (hereditärer Salz- und Magnesium-Verlust)

Gruppe 3 = ROMK- und NKCC2- Patienten (hereditärer Salz- ohne Magnesium-Verlust als interne Kontrollgruppe)

Gruppe 4 = nierentransplantierte Patienten und Patienten mit nephrotischem Syndrom unter Cyclosporin-A-Therapie mit erworbenem Magnesiumverlust

Inhaltlich lassen sich aus den o. g. Tabellen folgende Kernaussagen machen:

A) GS/cBS-Patienten zeigen sowohl intraerythrozytär als auch extrazellulär signifikant niedrigere Magnesiumwerte als alle anderen Gruppen.

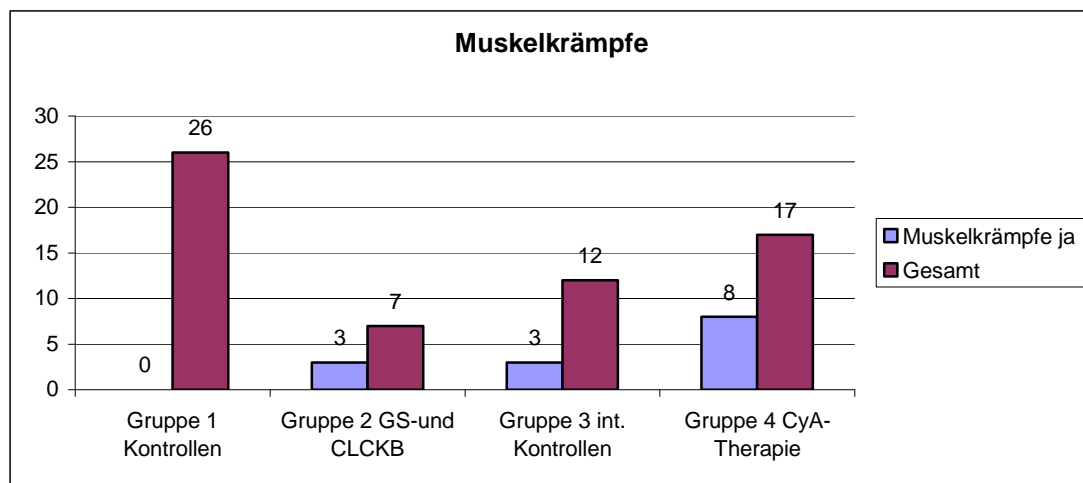
B) Patienten mit iatrogen verursachtem Magnesium-Verlust durch Cyclosporin A – Therapie nach Nierentransplantation oder bei nephrotischem Syndrom weisen extrazellulär einen statistisch signifikant niedrigeren Magnesiumwert auf als die gesunden Kontrollen. Intraerythrozytär konnte aber kein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

C) Die Patienten der internen Kontrollgruppe (Patienten mit aBS) zeigen weder im intraerythrozytären noch im extrazellulären Magnesium einen statistisch signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe.

#### 4.2.3 Zusammenhang zwischen intraerythrozytärem und Serummagnesium und Magnesiummangelsymptomen

Besteht ein Zusammenhang zwischen Magnesiummangelsymptomen und den Magnesiumkonzentrationen im Serum und/oder in den Erythrozyten?

Diese Frage wurde rein deskriptiv beantwortet, d. h. es wurden keine statistischen Beweise für evtl. Unterschiede zwischen den Gruppen berechnet. Um einen Überblick über die Auswertung der Fragebögen zu bekommen, wurden Diagramme erstellt:



**Abbildung 4:** Übersicht über die Angaben in den Fragebögen zum Auftreten von Muskelkrämpfen in den verschiedenen Gruppen. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele der Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.

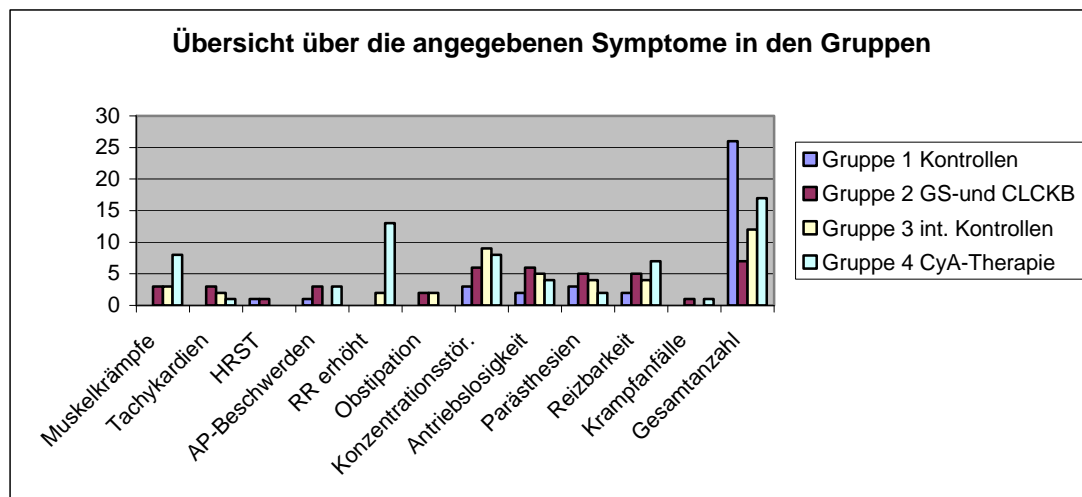
Für jedes abgefragte Symptom wurde solch ein Diagramm erstellt (die weiteren Abbildungen finden sich im Anhang der Dissertation). Inhaltlich lässt sich aus der Zusammenfassung der Auswertung folgendes aussagen:

A) GS/cBS-Patienten haben am häufigsten Symptome, die auf einen Magnesiummangel hinweisen können.

B) Die interne Kontrollgruppe (aBS-Patienten) und die Gruppe mit dem iatrogen verursachten Magnesiummangel (nierentransplantierte Patienten und Patienten mit nephrotischem Syndrom unter Cyclosporin-A-Therapie) haben in der Gesamtauswertung ungefähr gleich viele Symptome, die auf einen Magnesiummangel hinweisen könnten. Bei den verschiedenen Gruppen stehen jeweils unterschiedliche Symptome im Vordergrund: aBS-Patienten haben z. B. sehr häufig Konzentrationsstörungen (85,7 % der NKCC2- und 50 % der ROMK-Patienten), während Patienten unter Cyclosporin-A-Therapie eher zu arterieller Hypertonie neigen (85,7 % der nierentransplantierten und 33,3 % der Patienten mit nephrotischem Syndrom).

C) Die Kontrollgruppe zeigt mit Abstand am wenigsten Symptome, die auf einen Magnesiummangel hinweisen könnten. Durchschnittlich 4,2 % der Fragen wurden mit „Ja“ beantwortet, dabei handelt es sich besonders um Konzentrationsstörungen und Parästhesien, bei denen jeweils 11,5 % der Befragten mit „Ja“ antwortete.

Gesamtübersicht über die erfragten Symptome:



**Abbildung 5:** Übersicht über die jeweils angegebenen Symptome in den einzelnen Gruppen. Die Y-Achse beschreibt in absoluten Zahlen die Anzahl der Studienteilnehmer. Die Balken geben an, wie viele der Patienten die Frage nach dem jeweiligen Symptom mit „Ja“ beantwortet haben. Zur besseren Vergleichbarkeit zwischen den Gruppen ist zum Schluss noch mal die jeweilige Gesamtanzahl der Gruppenteilnehmer aufgeführt, wobei deutlich wird wie unterschiedlich groß die Gruppen sind, d. h. wie unterschiedlich man die Höhe der Balken beurteilen muss.

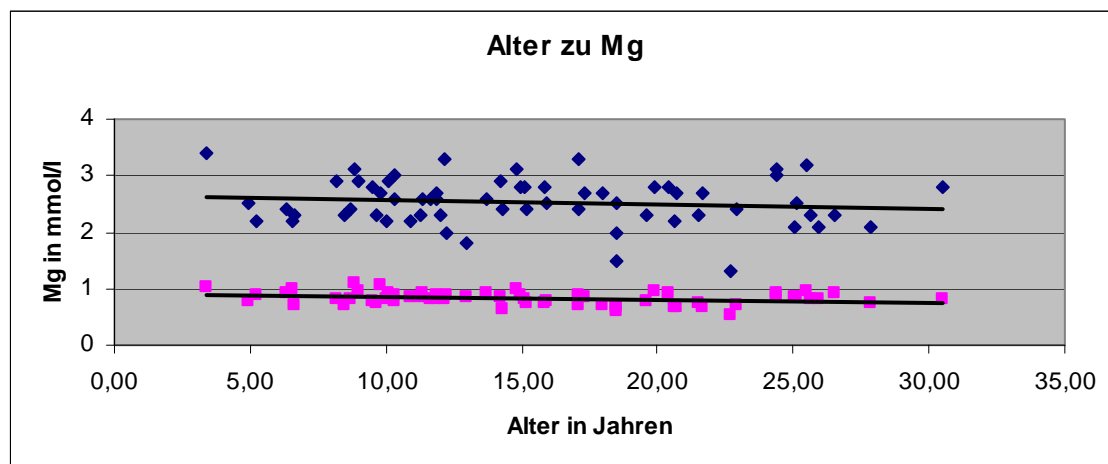
### 4.3 Auswertung der Nebenanalysen

Im Folgenden werden die oben aufgeführten Nebenanalysen bezüglich der Korrelation von den gemessenen Magnesiumwerten und dem Alter der Patienten und bezüglich der Vergleichbarkeit der internen Kontrollgruppe mit der Gruppe der Patienten mit hereditärem Salz- und Magnesium- Verlust ausgewertet.

#### 4.3.1 Korrelation zwischen Magnesiumkonzentration und Alter der Studienteilnehmer

Gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Alter der Patienten/Probanden und den intrazellulären oder extrazellulären Magnesiumkonzentrationen?

Um diese Frage zu beantworten wurden sowohl die intrazellulären als auch die extrazellulären Werte in Abhängigkeit vom Alter in eine Graphik eingetragen und jeweils eine Trendlinie hinzugefügt:



**Abbildung 6:** Graphik zur Darstellung der gemessenen Magnesium-Werte (sowohl intraerythrozytär – blaue Markierungen - als auch im Serum – pinke Markierungen) in Abhängigkeit zum Alter des Studienteilnehmers in Jahren (X-Achse) mit jeweiliger Trendlinie.

Zusätzlich zu der Graphik wurden jeweils die Korrelationen zwischen Alter und Magnesiumwert berechnet:

Korrelation zwischen Alter und Serum-Magnesium = -0,27

Korrelation zwischen Alter und intrazellulärem Magnesium = -0,13

Sowohl die Graphik als auch die Berechnungen zeigen also eine minimale Tendenz dazu, dass sowohl das intrazelluläre als auch das extrazelluläre Magnesium mit zunehmendem Alter etwas absinkt. Ein direkter statistisch



nachweisbarer Zusammenhang zwischen Alter und Magnesiumkonzentrationen kann aber aufgrund der niedrigen Korrelationswerte nicht festgestellt werden.

#### 4.3.2 Nierenfunktion von GS-/cBS-Patienten und Patienten mit aBS

Ist die Nierenfunktion zwischen den GS/cBS-Patienten und den aBS-Patienten vergleichbar?

Patienten mit einer ROMK-/NKCC2-Mutation wurden in die Studie als interne Kontrollgruppe aufgenommen, weil ausgeschlossen werden sollte, dass Verfälschungen der Ergebnisse auftreten, die durch die eingeschränkte Nierenfunktion entstehen und nicht durch Veränderungen des Magnesiumhaushalts. Da es sich bei Patienten mit aBS ebenfalls um Studienteilnehmer mit einer renalen Salzverlusttubulopathie handelt, bestehen ähnliche Grundvoraussetzungen wie bei GS-/cBS-Patienten. Der für diese Studie gravierende Unterschied ist der Verlust von Magnesium im Patientenkollektiv (GS/cBS) und der fehlende Verlust in der internen Kontrollgruppe (aBS). Aus diesen Gründen werden diese beiden Gruppen miteinander verglichen. Um Verfälschungen der Ergebnisse auszuschließen wurden die folgenden Nebenanalysen zu diesen beiden Gruppen unternommen: Beurteilung der Nierenfunktion und des Säure-Basen-Status zum Zeitpunkt der Untersuchung.

Um die beiden Gruppen in Bezug auf die Nierenfunktion miteinander vergleichen zu können, wurden jeweils der Mittelwert und der Median von der Magnesiumausscheidung im Urin (mmol/l), von der fraktionierten Exkretion des Magnesiums und von der Schwartz-Clearance gebildet um dann miteinander verglichen werden zu können.

Magnesiumausscheidung im Urin in mmol/l					
GS/cBS	Mittelwert	2,537	aBS	Mittelwert	1,62
	Median	2,005		Median	1,625

**Tabelle 5:** Tabelle zum Vergleich der Magnesium-Ausscheidung mit dem Urin der Patienten mit GS und cBS und den Patienten der internen Kontrollgruppe mit aBS.

Fraktionierte Exkretion von Magnesium in %					
GS/cBS	Mittelwert	7,132	aBS	Mittelwert	5,055
	Median	5,645		Median	4,68

**Tabelle 6:** Tabelle zum Vergleich der fraktionierten Magnesium-Exkretion über den Urin der Patienten mit GS und cBS und Patienten der internen Kontrollgruppe mit aBS.

Schwartz-Clearance					
GS/cBS	Mittelwert	78,494	aBS	Mittelwert	128,214
	Median	84,19		Median	110,615

**Tabelle 7:** Tabelle zum Vergleich der Schwartz-Clearance der Patienten mit GS und cBS und der Patienten der internen Kontrollgruppe mit aBS.

Man kann aus diesen Vergleichen schließen, dass die Patienten der internen Kontrollgruppe wie erwartet weniger Magnesium im Urin ausscheiden als die Patienten mit hereditärem Salz- und Magnesium-Verlust. Außerdem zeigt sich bei Patienten mit aBS eine höhere Schwartz-Clearance als bei GS/cBS-Patienten. Im Hinblick auf die Nierenfunktion zeigen sich also wider Erwarten zum Zeitpunkt der Untersuchung eindeutige Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

#### 4.3.3 Säure-Basen-Status von GS-/cBS-Patienten und Patienten mit aBS

Ist der Säure-Basen-Status zwischen GS-/cBS-Patienten und Patienten mit aBS vergleichbar?

Der aktuelle Säure-Basen-Status ist für die Magnesiummessungen enorm wichtig, da er die Magnesiumwerte direkt beeinflusst (s. oben).

In beiden oben genannten Gruppen neigen die Patienten aufgrund der Grunderkrankung zur Ausbildung einer Alkalose. Der Chloridverlust führt zur erhöhten Bicarbonatrückresorption und damit zur Alkalose. Bei GS-Patienten wird durch die vermehrte NaCl-Ausscheidung zusätzlich das RAAS aktiviert und dadurch die Protonen-Sekretion gesteigert (s. oben). Um zu prüfen, ob sich diese Hypothese auch in dieser Studie bestätigt, wurde in diesen beiden Gruppen ein besonderes Augenmerk auf den Säure-Basen-Haushalt gelegt.

Um diesen Vergleich anzustellen, wurden jeweils Mittelwert und Median von den pH-Werten und den Base-Excessen der beiden Gruppen gebildet und miteinander verglichen:

pH-Werte					
GS/cBS	Mittelwert	7,45	aBS	Mittelwert	7,43
	Median	7,45		Median	7,43

**Tabelle 8:** Tabelle zum Vergleich der pH-Werte der Patienten mit GS und cBS und den Patienten der internen Kontrollgruppe mit aBS.

Base-Excess					
GS/cBS	Mittelwert	5,41	aBS	Mittelwert	2,97
	Median	5,1		Median	2,3

**Tabelle 9:** Tabelle zum Vergleich des BE der Patienten mit GS und cBS und Patienten der internen Kontrollgruppe mit aBS.

Es zeigt sich aus diesen Vergleichen, dass der pH relativ nah beieinander liegt, der BE aber wesentliche Unterschiede zwischen den Gruppen aufzeigt. Es fällt auf, dass in beiden Gruppen die Tendenz eher zu einer Alkalose als zu einer Azidose geht, was zu der generellen Klinik der Vorerkrankungen passt. Eine leichte Gruppendifferenz zeigt, dass die Patienten mit GS/cBS noch etwas mehr zur Alkalose neigen, als die Patienten der internen Kontrollgruppe, was evtl. an unterschiedlicher Begleitmedikation liegen könnte. Aufgrund der geringen Patientenzahlen kann man aber keine statistisch gesicherte Aussage über den Säure-Basen-Status der beiden Gruppen machen.

## **5. Diskussion**

### **5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse**

Das intraerythrozytäre Mg korreliert mit dem Serum- Mg bei den Kontrollen ( $r=0,50$ ), wobei eine intrazelluläre Sättigungsfunktion des Magnesiums bei steigenden Serumkonzentrationen nicht statistisch signifikant abgelehnt werden konnte. Im gemessenen Bereich sind die Sättigungs- und die lineare Funktion fast deckungsgleich. GS/cBS-Patienten haben sowohl intra- als auch extrazellulär niedrigere Magnesiumwerte als alle anderen Gruppen ( $p < 0,05$ ). Cyclosporin A-induzierter Mg-Mangel führt zu niedrigeren Serumwerten als in der Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ), wobei die intrazellulären Werte im Normalbereich blieben. In der internen Kontrollgruppe der antenatalen Salzverlusttubulopathien war, wie erwartet, kein Unterschied in beiden Magnesium-Konzentrationen zur Kontrollgruppe festzustellen.

GS/cBS-Patienten zeigen von allen Gruppen die meisten potentiellen Magnesium-Mangelsymptome (100% der befragten Patienten antworteten bei mindestens einem der abgefragten Symptome mit „Ja“). Sowohl die Patienten mit aBS als auch die mit Cyclosporin A-induziertem Magnesium-Mangel gaben Symptome an, die auf einen Magnesiummangel hindeuten könnten. Allerdings wurden deutlich weniger Beschwerden angegeben und die Schwerpunkte der Symptome lagen anders als in der Gruppe mit GS/cBS-Patienten (s. Abbildung 5).

## 5.2 Klinische Unterschiede der Gruppen

Die Studienteilnehmer der verschiedenen Gruppen wurden aus unterschiedlichen Quellen rekrutiert – freiwillige Probanden und tagesklinisch betreute Patienten in der Kontrollgruppe und Patienten aus der kindernephrologischen Ambulanz im KfH bei ambulanten Kontrollen. Daraus ergibt sich eine gewisse klinische Heterogenität zwischen den Gruppen. Die Gruppe mit den durchschnittlich ältesten Teilnehmern war die Gruppe mit GS- und cBS-Patienten (durchschnittliches Alter: 17,6 Jahre). Die durchschnittlich jüngste Gruppe wurde aus den Patienten unter Cyclosporin A Therapie gebildet (durchschnittliches Alter: 14,4 Jahre). Auch im BMI zeigten sich Unterschiede zwischen den untersuchten Kollektiven: den höchsten durchschnittlichen BMI zeigten die Kinder unter Cyclosporin A Therapie (BMI 24,2 kg/m<sup>2</sup>), wobei dieser Umstand evtl. auch der Begleitmedikation mit Cortisonpräparaten geschuldet ist, wie bei Patienten nach Nierentransplantation beschrieben. [Tönshoff et al. 2006, Höcker et al. 2010] Der durchschnittlich niedrigste BMI zeigte sich in der internen Kontrollgruppe (BMI 18,8 kg/m<sup>2</sup>). Hier handelt es sich ausschließlich um ehemalige Frühgeborene. Für ehemalige Frühgeborene konnte gezeigt werden, dass sie zumindest bis zum 6-8. Lebensjahr eine kleinere Körpergröße und einen deutlich niedrigeren BMI als Normalgeborene aufweisen. [Hartke, 2005]

Da nicht von allen Patienten ein aktueller Säure-Basen-Status erhoben werden konnte, ist es nicht möglich eine verlässliche Aussage über gravierende Unterschiede zwischen den Gruppen zu machen. Allerdings fällt auf, dass die Patienten mit angeborenen Nierenerkrankungen (GS/cBS und auch aBS) pathophysiologischerweise zur Alkalose neigen, während die gesunden Probanden und die Patienten mit medikamenteninduziertem Magnesiummangel eher zur Azidose neigen. [Kurtz et al. 1998, Jeck et al. 2001, Bettinelli et al. 2003] Der Grund für die eher azidotische Stoffwechsellage in dieser Gruppe ist unklar. Zu berücksichtigen ist, dass es sich um venöse Blutgasanalysen handelt. Der pH-Wert kann z. B. durch längeres Stauen durch Anstieg des Kohlendioxidpartialdrucks iatrogen in den azidotischen Bereich verlagert werden.

Auch in der Magnesiumsubstitution bzw. im Ausmaß des Magnesiumverlustes zeigten sich klinische Unterschiede. In der Gruppe mit GS/cBS war es fast der

Hälfte der Patienten (3 von 7) nicht möglich eine bestehende Magnesiumsubstitution aufgrund von sofort auftretenden Magnesiummangelsymptomen abzusetzen. Sowohl in der Kontrollgruppe als auch in der internen Kontrollgruppe waren erwartungsgemäß keine Studienteilnehmer, die einer dauerhaften Magnesiumsubstitution bedurften. In der Gruppe mit Cyclosporin A-induziertem Magnesiummangel waren 28 % der Teilnehmer zum Zeitpunkt der Untersuchung unter Magnesiumsubstitution. Bei diesen Patienten war es aber allen bis auf einem möglich, die Magnesiumsubstitution einige Tage vor der Blutentnahme für die Studienteilnahme abzusetzen, ohne dass sofortige Mangelsymptome auftraten. Die Bedeutung des Magnesiumverlustes bei nierentransplantierten Kindern und Jugendlichen wird unterschiedlich eingeschätzt und hängt unter anderem von der aktuellen immunsuppressiven Therapie und der Funktion des Transplantats ab. Calcineurin-Inhibitoren führen beispielsweise zu einem Magnesiummangel (s. oben). Bei nicht optimaler Transplantatfunktion ist häufig auch die Magnesiumrückresorption gestört, so dass es zu einer vermehrten Ausscheidung von Magnesium kommen kann. [Revusova et al. 1984] Die Häufigkeit und Höhe der Magnesiumsubstitution bei Patienten nach Nierentransplantation oder mit nephrotischem Syndrom richtet sich in der Regel nach dem klinischen Erscheinungsbild.

Patienten unter CSA-Therapie waren im Vergleich zu den anderen Studienteilnehmern die durchschnittlich jüngsten. In der Auswertung der Nebenanalysen zeigt sich eine minimale Tendenz zu sinkenden Magnesiumwerten (sowohl intrazellulär als auch im Serum) mit zunehmendem Alter. Es konnte allerdings statistisch keine Korrelation zwischen dem Alter und der Magnesium-Konzentration nachgewiesen werden, weshalb dieser Einfluss hier vernachlässigt werden kann.

### 5.3 Zusammenhang zwischen intraerythrozytärem und Serummagnesium

Es konnte eine Korrelation zwischen intraerythrozytärem und Serum-Magnesium nachgewiesen werden, auch wenn statistisch nicht sicher eine Form der Korrelation bewiesen werden konnte. Im gemessenen Bereich liegen die Funktionen der linearen Korrelation und der Sättigung und damit quadratischen Korrelation sehr nahe beieinander, so dass im gemessenen Bereich am ehesten von einer linearen Korrelation ausgegangen werden kann. Durch das relativ kleine Kollektiv und durch die graphische Nähe der beiden Funktionen war es leider nicht möglich die angenommene Sättigungsfunktion zu widerlegen oder zu beweisen.

In anderen Studien, in denen das intraerythrozytäre und das Serum-Magnesium bei gesunden Kindern untersucht wurden, konnte keine Korrelation zwischen diesen beiden Magnesium-Konzentrationen hergestellt werden. [de Lucas N et al. 2000] Allerdings ist auch in der genannten Studie nur ein relativ kleines Kollektiv (insgesamt 37 Kinder) untersucht worden, so dass auch hier von keiner gesicherten Aussage ausgegangen werden kann. Um eine statistisch beweisbare Aussage treffen zu können, wird eine größere Anzahl von Probanden benötigt.

#### 5.4 Bedeutung der Ergebnisse für die Untergruppen

Das Ergebnis dieser Studie besagt, dass es nicht nur im Serum Unterschiede in der Versorgung des Körpers mit Magnesium gibt, sondern auch intrazellulär. Eine ganz wichtige Bedeutung hat diese Studie für die Patienten mit angeborenem Salz- und Magnesium-Verlust. Wir konnten zeigen, dass es bei diesen Patienten nicht nur zu einem Mangel an extrazellulärem, sondern auch an intrazellulärem Magnesium kommt. Möglicherweise reicht es deshalb nicht aus, regelmäßig das Magnesium im Serum zu kontrollieren, da diese Patienten zusätzlich unter einem intrazellulären Magnesium-Mangel leiden können. Diese Erkenntnis könnte für die Therapieentscheidung bezüglich einer Substitution von Magnesium und bezüglich der Höhe der Substitution von enormer Wichtigkeit sein. So bedürfen diese Patienten nach den Ergebnissen dieser Studie einer höheren Substitution als Patienten mit iatrogen verursachtem Magnesium-Verlust.

Bei den Patienten, die unter Cyclosporin-A-Therapie standen, zeigte sich kein signifikanter intrazellulärer Magnesium-Mangel. Für diese Patienten reichen laut dieser Studie also regelmäßige Kontrollen des Serum-Magnesiums aus. Allerdings ist zu beachten, dass in dieser Gruppe knapp 1/3 der Patienten mit Magnesium substituiert waren und nur ein kurzer Auslassversuch zwei Tage vor der Untersuchung durchgeführt wurde. Möglicherweise hat diese Zeit nicht ausgereicht, um auch die intrazellulären Magnesiumspiegel abzusenken. Zur endgültigen Klärung dieser Frage müsste noch eine größere Anzahl an Cyclosporin A-behandelten Patienten ohne jegliche Magnesiumsubstitution untersucht werden.

Für die interne Kontrollgruppe mit den hereditären Salz- ohne Magnesiumverlust-Tubulopathien zeigten sich erwartungsgemäß normale Magnesiumwerte, obwohl viele Patienten Symptome angaben, die mit einem Magnesium-Mangel einhergehen können. Bei diesem Kollektiv bleibt zu klären, ob die angegebenen Symptome auch andere Ursachen im Rahmen der Grunderkrankung haben können. Diese Frage müsste durch genauere Untersuchung und Befragung von Patienten mit aBS geklärt werden.



### 5.5 Warum sind Gruppenunterschiede aufgetreten?

Es waren schon bei Beginn der Studie Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen zu erwarten. Die Teilnehmer wurden entsprechend ihres Magnesium-Haushalts ausgewählt. Die entstandenen Ergebnisse zeigen die erwarteten Unterschiede zwischen den Gruppen. Überraschend ist allerdings, dass ein hereditärer Magnesium-Verlust zu einem zusätzlichen intrazellulären Magnesiummangel führt, während iatrogen verursachter Magnesium-Mangel durch Cyclosporin-A-Therapie nur zu einem Absinken des Serum-Magnesiums führt. Ob es bei Patienten mit hereditärer Salz- und Magnesium-Verlust-Tubulopathie einen zusätzlichen Defekt eines Transportmoleküls in Erythrozytenmembranen gibt, der das Absinken des intraerythrozytären Magnesiums verursacht, bleibt noch genauso zu klären, wie ob sich das Magnesium in anderen Körperzellen beim Absinken des Serum-Magnesiums ähnlich verhält wie in den Erythrozyten.

## 5.6 Es wurden nur Erythrozyten untersucht – Unterschiede bei anderen Zellen?

In dieser Studie wurde nur das intrazelluläre Magnesium in den Erythrozyten untersucht. Die intraerythrozytäre Magnesiumkonzentration muss nicht zwangsläufig mit der Konzentration in anderen Körperzellen übereinstimmen. Es wurde in anderen Studien beispielsweise versucht, Magnesium in Thrombozyten mittels Fluss-Zytometrie zu messen, um eine Methode zu entwickeln, mit der standardisiert intrazelluläres Magnesium gemessen werden kann. Allerdings ist auch dabei nur ein kleines Patientenkollektiv untersucht worden, so dass auch zu diesen Ergebnissen keine statistisch gesicherte Aussage getroffen werden kann. [Fox CH et al. 2007]

Da intrazelluläres Magnesium in hohem Maße an DNA gebunden ist, haben kernhaltige Zellen grundsätzlich eine höhere intrazelluläre Magnesiumkonzentration als kernlose Zellen. Außerdem ist das Magnesium innerhalb der Zellen im Cytosol unterschiedlich verteilt und es sind demnach in unterschiedlichen Teilen der Zelle verschiedene Werte zu messen. Allerdings sind auch diese Daten nicht bewiesen, da es bei den Messmethoden noch Ungenauigkeiten gibt und damit die Messergebnisse nicht ganz sicher sind. [Günther T 2006]

Aus den o. g. Gründen bleibt es in weiteren Studien noch endgültig zu klären, ob sich Magnesium in anderen Körperzellen ähnlich wie in den Erythrozyten verhält. Die klinische Korrelation der Symptomatik mit den gemessenen Werten lässt allerdings darauf schließen, dass sich der Magnesiumhaushalt in anderen Körperzellen ähnlich verhält wie in den Erythrozyten.

### 5.7 Korrelation der Ergebnisse mit den abgefragten Symptomen

Die Auswertung der Fragebögen ergab eine gute Korrelation zu den Magnesiumwerten im Blut.

Die gesunden Kontroll-Probanden gaben am wenigsten Magnesium-Mangelsymptome an, was wiederum zu den im Serum und in den Erythrozyten gemessenen Werten passt. Trotzdem wurden durchschnittlich 4,2 % der Fragen von Gesunden mit „Ja“ beantwortet. Besonders häufig wurden Konzentrationsstörungen und Parästhesien (jeweils 11,5 %) angegeben. Beide Symptome sind relativ unspezifisch und besonders Konzentrationsstörungen können viele Ursachen haben. Bei den durchweg normalen Magnesiumwerten kann allerdings ein Magnesiummangel als Ursache der Beschwerden ausgeschlossen werden. Bei den mit „ja“ beantworteten Fragen wurde in dieser Gruppe zu über 80 % angegeben, dass die Symptome manchmal oder selten auftreten, was für eine geringe klinische Relevanz der angegebenen Symptome spricht. Eine genauere Abklärung der angegebenen Symptome müsste durch eine weitere Anamneseerhebung und genaue Untersuchung der Probanden erfolgen.

Die Patienten, die sowohl im Blut, als auch in den Erythrozyten erniedrigtes Magnesium aufwiesen, gaben die häufigsten und stärksten Magnesium-Mangel-Symptome an. Es handelt sich dabei um die Studienteilnehmer mit einem hereditären Salz- und Magnesium-Verlust.

Patienten, die durch Cyclosporin-A-Therapie einen Magnesium-Mangel entwickelten, hatten intraerythrozytär normale Magnesium-Werte, während das Serum-Magnesium statistisch signifikant erniedrigt war. Diese Gruppe zeigte erheblich mehr Symptome eines Magnesium-Mangels als die Kontrollgruppe, aber weniger als die Patienten mit einem hereditären Salz- und Magnesium-Verlust.

Daraus lässt sich schließen, dass ein niedriges Serum-Magnesium zwar Magnesium-Mangel-Symptome verursachen kann, aber dass ein zusätzlich erniedrigtes intraerythrozytäres Magnesium die Symptomatik verschlechtert.

Interessant ist die Beobachtung, dass die Studienteilnehmer der internen Kontrollgruppe mit hereditären Salzverlust-Tubulopathien ohne Magnesium-Verlust bei unauffälligen Magnesium-Werten genauso häufig Symptome angegeben haben, die zu einem Magnesium-Mangel passen, wie Patienten

unter CSA-Therapie. Allerdings lagen die Schwerpunkte der angegebenen Symptomatik anders als bei Patienten mit iatrogen verursachtem Magnesium-Mangel. Diese Tatsache könnte darauf hinweisen, dass die angegebenen Symptome ggf. auch mit anderen Elektrolytverlusten oder anderen Mechanismen im Rahmen der Grunderkrankung in Verbindung stehen könnten. Das ist allerdings eine rein hypothetische Überlegung und durch keinerlei Evidenz basiert.

### 5.8 Stärken und Schwächen der Studie

Im Folgenden sollen die Stärken und Schwächen der Studie näher erläutert werden.

Ein klarer Nachteil der Studie sind die geringen Patientenzahlen. Es wären wesentlich größere Gruppen sinnvoll, um die durch diese Studie aufgestellten Thesen zu belegen oder zu widerlegen und die Aussagen statistisch zu festigen. Das in dieser Studie ausgewählte Patienten und Probanden-Kollektiv ist so klein, dass es schwer fällt, die Ergebnisse auf die gesamte Bevölkerung zu übertragen. Die Zahlen sind deshalb so klein, weil die eingeschlossenen Erkrankungen sehr selten auftreten. Es gibt in Deutschland nur eine sehr geringe Anzahl von Patienten, die an einer der in die Studie eingeschlossenen Erkrankungen leiden. Aus diesem Grund war es nicht möglich, eine Studie mit einer höheren Anzahl an Teilnehmern pro Gruppe durchzuführen.

Weiterhin bleibt bei dieser Studie offen, ob sich das intrazelluläre Magnesium in allen Körperzellen ebenso verhält wie in den Erythrozyten, weil nur die roten Blutkörperchen untersucht wurden. Es wurden in dieser Studie ausschließlich Erythrozyten untersucht, weil eine intrazelluläre Messung in verschiedenen Körperzellen extrem aufwendig ist und in Laboren nicht standardisiert durchgeführt wird. Durch die Einführung neuer Messmethoden könnten Messfehler entstehen, die eine Vergleichbarkeit zwischen den verschiedenen Körperzellen schwierig werden lassen, sodass darauf verzichtet wurde.

Ein weiterer kritischer Punkt ist die Auswertung der Fragebögen. Die Fragebögen wurden je nach Alter des Patienten entweder den Eltern oder den Patienten selbst vorgelegt. Durch die subjektiv unterschiedliche Einschätzung der Eltern und des Patienten könnten bei der Beantwortung der Fragen Verfälschungen aufgetreten sein. Außerdem wurden die Fragen rein deskriptiv ausgewertet und auf eine statistische Auswertung verzichtet (s. oben). Durch die vorgelegten Fragebögen sollte ein Eindruck über den Leidensdruck der Patienten gewonnen werden. Durch die unterschiedlichen ausfüllenden Personen (Eltern oder Patient selbst) kann nicht von absoluter Vergleichbarkeit der angegebenen Daten ausgegangen werden. Aus diesem Grund wäre eine statistische Auswertung so kritisch zu beurteilen, dass darauf in Rücksprache mit der Abteilung für Biostatistik in Marburg verzichtet wurde.

Bei einigen Patienten mit erworbenem Magnesiumverlust und mit hereditärem Salz- und Magnesium-Verlust war das Absetzen der aktuellen Magnesiumsubstitution aus klinischen Gründen nicht möglich, was zu Verfälschungen der Ergebnisse führt. Allerdings führt die beibehaltene Substitution eher zu etwas erhöhten Magnesiumwerten. In beiden Gruppen war das gemessene Serum-Magnesium statistisch signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe, so dass durch die Weiterführung der Substitution die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen etwas reduziert und damit die statistische Signifikanz schwieriger zu erreichen ist, aber keine Verfälschung der Kernaussagen der Studie zu erwarten ist.

Diese Studie zeigt eindeutige, statistisch signifikante Ergebnisse, die klinische Eindrücke bestätigen und damit zu Therapieentscheidungen beitragen können. Bei Kindern mit hereditären Salz- und Magnesium-Verlust-Tubulopathien reicht es nicht aus, regelmäßig das Serum-Magnesium zu bestimmen um einen Eindruck über den aktuellen Magnesiumhaushalt zu bekommen, da bei diesen Patienten auch das intrazelluläre Magnesium absinkt. Diese Erkenntnis ist von erheblicher klinischer Relevanz bei der Betreuung der Patienten mit hereditären Salz- und Magnesium-Verlust-Tubulopathien.

## **6. Zusammenfassung**

Hintergrund: Renale Magnesium-Verlusterkrankungen sind eine wichtige Ursache zur Entwicklung eines Magnesiummangels. Der Großteil des Magnesiums im Blut liegt intrazellulär vor. Klinisch besteht der Eindruck, dass Symptome des Magnesiummangels nicht streng mit den Serum-Magnesium-Konzentrationen assoziiert sind. Routinemäßig messbar sind aber nur die Serum-Magnesium-Werte.

Frage: Gibt es einen direkten Zusammenhang zwischen intrazellulärem- und Serum-Magnesium? Gibt es eine Korrelation zwischen intra- und/oder extrazellulärem Magnesium und Magnesium-Mangelsymptomen? Bestehen Unterschiede in der intraerythrozytären Magnesium-Konzentration bei Patienten mit angeborenem vs. Cyclosporin A -assoziiertem Magnesium-Verlust?

Design: Bei (gesunden) Kontrollprobanden ohne Anhalt für eine Nieren- oder Elektrolytstörung (n=26), Patienten mit angeborenen Salzverlusttubulopathien mit (n=7 GS/cBS) und ohne (n=12 Patienten mit antenatalem Bartter-Syndrom: 6 x ROMK- und 6 x NKCC2- Mutation) Magnesium-Verlust und 18 Patienten mit Cyclosporin A-assoziiertem Magnesiummangel wurden sowohl das intraerythrozytäre Magnesium mittels Flammen-Atom-Absorptionspektroskopie, sowie das Serum-Magnesium gemessen. Außerdem wurden alle Patienten mittels Fragebogen zu potentiellen Magnesiummangelsymptomen befragt.

Ergebnisse: Das intraerythrozytäre Mg korreliert mit dem Serum- Magnesium bei den Kontrollen ( $r=0,50$ ), wobei eine intrazelluläre Sättigungsfunktion des Magnesiums bei steigenden Serumkonzentrationen nicht statistisch signifikant abgelehnt werden konnte. Im gemessenen Bereich sind die Sättigungs- und die lineare Funktion fast deckungsgleich. GS/cBS-Patienten haben sowohl intra- als auch extrazellulär niedrigere Magnesiumwerte als alle anderen Gruppen ( $p < 0,05$ ). Cyclosporin A-induzierter Magnesiummangel führt zu niedrigeren Serumwerten als in der Kontrollgruppe ( $p < 0,05$ ), wobei die intrazellulären Werte im Normalbereich blieben. In der internen Kontrollgruppe der antenatalen Salzverlusttubulopathien war, wie erwartet, kein Unterschied in beiden Magnesium-Konzentrationen zur Kontrollgruppe festzustellen.

GS/cBS-Patienten zeigen von allen Gruppen die meisten potentiellen Magnesiummangelsymptome. Sowohl die Patienten mit dem antenatalen Bartter-Syndrom als auch die mit dem Cyclosporin A-induzierten Magnesiummangel zeigten Symptome, allerdings gaben die Patienten verschiedene Schwerpunkte an.

Schlussfolgerung: Die intraerythrozytären Magnesium-Spiegel korrelieren mit der extrazellulären Magnesium-Konzentration, wobei eine Sättigungsfunktion nicht ausgeschlossen werden konnte. Angeborene renale Magnesium-Verlusterkrankungen nicht aber Cyclosporin A-Behandlung führen zu erniedrigtem intraerythrozytärem Magnesium. Magnesiummangelsymptome korrelieren am stärksten mit einem sowohl intra- als auch extrazellulär vorhandenen Magnesium-Mangel.



## **7. Englische Zusammenfassung**

Background: Hypomagnesemia is often caused by renal magnesium wasting. Intracellular magnesium is the main component of magnesium in blood. In clinical observations you get the impression that serum magnesium values do not always correlate with the symptoms of hypomagnesemia. However, usually serum level only and not intracellular magnesium is checked during the treatment of patients.

Questions: Is there a direct correlation between intracellular and serum magnesium? Is there any correlation between magnesium values (intracellular and serum) and the symptoms of hypomagnesemia? Are there any differences in the intraerythrocytic magnesium concentration between patients with hereditary renal magnesium wasting and patients with Cyclosporin A associated magnesium wasting?

Design: Healthy probands without any problems in magnesium homeostasis (n = 26), patients with hereditary salt losing disorders with renal magnesium wasting (n = 7 GS/cBS), patients with hereditary salt losing disorders without renal magnesium wasting (n = 12, 6 x ROMK, 6 x NKCC2) and patients with Cyclosporin A associated magnesium wasting (n = 18) take part in the study. The values for intraerythrocytic and serum magnesium were measured from each participant taking part in the study. Additionally they were asked for the symptoms of hypomagnesemia by a questionnaire.

Results: In healthy probands there is a correlation between the values of serum magnesium and intraerythrocytic magnesium ( $r = 0,5$ ). Nevertheless it remains unproven, if the correlation has the form of saturation or has a linear outline. The study shows that the saturation and the linear correlation are very similar to each other. Patients with GS/cBS have lower intraerythrocytic and serum magnesium values than patients of any other group ( $p < 0,05$ ). Cyclosporin A associated magnesium wasting leads to lower serum magnesium, but there is no influence on the intraerythrocytic values. Healthy probands and patients with aBS have no abnormalities in magnesium homeostasis. The worst clinical symptoms of hypomagnesemia have patients with GS/cBS. Both patients with aBS and Cyclosporin A associated

magnesium wasting have symptoms of hypomagnesemia, but not as much as patients with GS/cBS.

Conclusion: Intraerythrocytic magnesium values correlate with extracellular magnesium concentration. The form of the correlation could not be defined. Hereditary renal magnesium wasting leads to lower intraerythrocytic and serum magnesium values. Cyclosporin A associated magnesium wasting does not lead to an intracellular magnesium deficiency, but to lower values in serum. Patients with intracellular and serum magnesium deficiency have the worst and most frequently symptoms of hypomagnesemia.

## **8. Literaturverzeichnis**

1. Agus ZS (1999) Hypomagnesemia. *J Am Soc Nephrol* 10:1616-1622
2. Al-Rasheed AK, Blaser SI, Minassian BA, Benson L, Weiss SK Cyclosporin A neurotoxicity in a patient with idiopathic renal magnesium wasting. *Pediatr Neurol.* 2000 Oct;23(4):353-6
3. Barakat AJ, Rennert OM – Department of Pediatrics and Nephrology, Georgetown University Medical Center, Washington DC – USA, Department of Pediatrics, Georgetown University Medical Center and Special Department of National Institutes of Child Health and Human Development Gitelman`s Syndrome (Familial Hypokalemia-hypomagnesemia) *J Nephrol* 2001; 14:43-47
4. Bettinelli A, Basilico E, Metta MG, Borella P, Jaeger P, Bianchetti MG (1999) Magnesium supplementation in Gitelman syndrome. *Pediatr Nephrol* 13:311-314
5. Bettinelli A, Tedeschi S (2003) Hypokalemia and hypomagnesemia of hereditary renal tubular origin. Bartter and Gitelman syndromes. *Acta Bio Medica Ateneo Parmense*; 74:163-167
6. Bhandari S (1999) The pathophysiological and molecular basis of Bartter´s and Gitelman`s syndromes. *Post Grad Med J* 75:391-6
7. Bhandari S., Hunter M. (1998) Inward rectifier renal potassium channel (ROMK), the low-conductance channels for potassium secretion. *Nephrol Dial Transplant*; 13: 3019-3023
8. Biesalski, H. K., Fürst, P., Kasper, H., Kluthe, R., Pölerl, W., Puchstein, Ch., Stähelin, H., B. *Ernährungsmedizin.* 163-164, 170-172 Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1999
9. Biesalski H. K., Fürst P., Kasper H. et al. (2004) *Ernährungsmedizin.* Nach dem Curriculum Ernährungsmedizin der Bundesärztekammer. 3. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
10. Biesalski, H. K.; Köhrle, J.; Schümann, K. *Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe.* 132-137 Georg Thieme Verlag; Stuttgart/New York 2002
11. Bollaert PE, Robin-Lherbier B, Mallie JP, Guillaud JC, Straczek J, Larcen A. (1993). Effect of chronic potassium depletion on muscle

- bioenergetics in rats. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 121(5): 668-74.
12. Bundesinstitut für Risikobewertung: Domke A., Großklaus R., Niemann B., Przyrembel H., Richter K., Schmidt E., Weißenborn A., Wörner B., Ziegenhagen R. (Hrsg.) *Verwendung von Mineralstoffen in Lebensmitteln - Toxologische und ernährungsphysiologischen Aspekte Teil 2*. BfR-Hausdruckerei Dahlem, 2004
  13. Burnell JM, Teubner EJ, Simpson DP (1974). Metabolic acidosis accompanying potassium deprivation. *American Journal of Physiology*. 227:pp. 329-33
  14. Dai LJ, Ritchie G, Kerstan D, Kang HS, Cole DE, Quamme GA (2001) Magnesium transport in the renal distal convoluted tubule. *Physiol Rev* 81:51-84
  15. Deetjen P, Speckmann EJ (1999) *Physiologie*. Urban & Fischer Verlag, 3. Auflage; 9(1)-10(3): 371-416
  16. de Lucas N, Lopez-Herce J, Munoz R, Munoz MA, Merello C, Cuesta A (2000) Normal values for serum, ultrafilterable and intraerythrocytic magnesium in children. *Magnes Res*. 13(2):103-10
  17. Elin RJ (1988) Magnesium metabolism in the health and disease. *Dis Mon* 34:161-218
  18. Elin R.J. (1990) The assessment of magnesium status in humans. In: *Metal Ions in Biological Systems. Volume 26: Compendium on Magnesium and its Role in Biology, Nutrition, and Physiology*
  19. Elin RJ (1994) Magnesium: the fifth but forgotten electrolyte. *Am J Clin Pathol* 102:616-622
  20. EU-SCOF (2001) Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Magnesium. European Commission Health and Consumer Protection Directorate-Generale, Brussels, pp 1-16
  21. Ferre S, Hoenderop JG, Bindels RJ (2012) Sensing mechanisms involved in Calcium and Magnesium homeostasis. *Kidney Int*. 82(11): 1157-66

22. Fine KD, Santa Ana CA, Porter JL, Fordtran JS (1991) Intestinal absorption of magnesium from food and supplements. *J Clin Invest* 88:396-402
23. Fox CH, Timm EA Jr, Smith SJ, Touyz RM, Bush EG, Wallace PK (2007) A method for measuring intracellular free magnesium concentration in platelets using flow cytometry. *Magnes Res. Sept*; 20(3):200-7
24. Giebisch G. (1998) Renal potassium transport: mechanism and regulation. *Am J Physiol*; 274: F817-F833
25. Gouadon E., Lecerf F., German-Fattal M. (2012) Differential effects of cyclosporin A and tacrolimus on magnesium influx in Caco2 cells. *J Pharm Pharm Sci* 15(3): 389-98
26. Günther T (2006) Concentration, compartmentation and metabolic function of intracellular free magnesium. *Magnesium Research*, Volume 19, Number 4, 225-36
27. Hafen G, Laux-End R, Truttmann AC et al (1996) Plasma ionized magnesium during acute hyperventilation in humans. *Clin Sci (Lond)* 91:347-351
28. Hahn A., Ströhle A., Wolters M. (2006) Ernährung. Physiologische Grundlagen, Prävention, Therapie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
29. Hartke I, (2005) Growth of preterm children up to preschool age. Dissertation an der Philipps Universität Marburg
30. Hartmann K (2003) Einfluss von Cyclosporin A auf intrazelluläre Regulationsmechanismen des apikalen Na-H-Austauschers der proximalen Tubuluszelle – ein in vitro Modell. *Urn:nbn:de:bsz:25-opus-11169*, [www.freidok.uni-freiburg.de/volltexte/1116/](http://www.freidok.uni-freiburg.de/volltexte/1116/)
31. Hebert P, Mehta N, Wang J, Hindmarsh T, Jones G, Cardinal P (1997) Functional magnesium deficiency in critically ill patients identified using a magnesium-loading test. *Crit Care Med* 25:749-755
32. Hebert SC, Brown EM, Harris HW (1997) Role of the Calcium-sensing receptor in divalent mineral ion homeostasis. *The journal of Experimental Biology* 200, 295-302

33. Herolt G und Mitarbeiter (2006) Innere Medizin Eine vorlesungsorientierte Darstellung
34. Höcker B, Weber LT, Feneberg R, Drube J, John U, Fehrenbach H, Pohl M, Zimmering M, Fründ S, Klaus G, Wühl E, Tönshoff B (2010) Improved growth and cardiovascular risk after late steroid withdrawal: 2-year results of a prospective, randomised trial in paediatric renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 25: 617-624
35. Ikari A (2009) Molecular physiological study of electrolyte transporters in renal tubular epithelial cells. *Yakugaku Zasshi* Sept.;129(9):1025-31
36. Jeck N, Derst C, Wischmeyer E, Ott H, Weber S, Rudin C, Seyberth HW, Daut J, Karschin A, Konrad M (2001) Functional heterogeneity of ROMK mutations linked to hyperprostaglandin E syndrome. *Kidney International*, Vol. 59, pp.1803-1811
37. Jeck N, Konrad M, Peters M, Weber S, Bonzel KE, Seyberth HW (2000) Mutations in the chloride channel gene, CLCNKB, leading to a mixed Bartter-Gitelman phenotype. *Pediatr Res* 48:754-758
38. Kerstan D, Quamme G (2002) Physiology and pathophysiology of intestinal absorption of magnesium. In: Massry SG, Morii H, Nishizawa Y (eds) *Calcium in internal medicine*. Springer-Verlag, London, Berlin, Heidelberg, pp 171-183
39. Kockerling, A., Reinalter, SC, Seyberth, HW Impaired response to furosemide in hyperprostaglandine E syndrome: evidence for a tubular defect in the loop of Henle *Pediatr.* 1996 Oct. 129 (4):519-28
40. Konrad M, Jeck N, Heß M, Seyberth HW der Universitätskinderklinik Marburg (2000) Erbliche hypokaliämische Salzverlusttubulopathien
41. Konrad M, Weber S (2003) Recent advances in molecular genetics of hereditary magnesium-losing disorders. *J Am Soc Nephrol* 14:249-260
42. Kurtz I, Cohen JJ, Harrington JT, Madias NE, Zusman CJ (1998) Molecular pathogenesis of Bartter's and Gitelman's syndromes. *Kidney International*, Vol. 54 pp.1396-1410
43. Labor Info 03/2012, KlinLab Abteilung KlinikLaboratorien Labor Dr. Limbach & Kollegen in Heidelberg
44. Lemmink HH, Knoers NVAM, Karolyi L, van Dijk H, Niaudet P, Antignac C, Guay-Woodford, LM, Goodyer PR, Carel J-C, Hermes A, Seyberth

- HW, Monnens LAH, van den Heuvel LPWJ (1998) Novel mutations in the thiazide-sensitive NaCl cotransporter gene in patients with Gitelman's syndrome with predominant localization to the C-terminal domain. *Kidney Int* 54:720-730
45. Marktl W. (2003) Physiologie der Interaktion zwischen Kalium und Magnesium. *J Miner Stoffwechs*; 10: 5-7
46. Marsoner HJ, Spichinger UE, Ritter C et al (1994) Measurement of ionized magnesium with neutral carrier based ISE's. Progress and results with the AVL 988-4 magnesium analyzer. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 217:45-51
47. Mastroianni N, Bettinelli A, Bianchetti M, Colussi G, de Fusco M, Sereni F, Ballabio A, Casari G (1996) Novel molecular variants of the NaCl cotransporter gene are responsible for Gitelman's syndrome. *Am J Hum Genet* 59:1019-1026
48. Mennitt P.A., Frindt G., Silver R.B., Palmer L.G. (2000) Potassium restriction downregulates ROMK expression in rat kidney. *Am Physiol Renal Physiol*; 278: F916-F924
49. Nüsing R., Treude A., Weissenberger C., Jensen B., Bek M., Wagner C., Narumiya S., Seyberth H. W. (2005) Dominant role of Prostaglandin E2 EP4 Receptor in Furosemid-Induced Salt-Losing Tubulopathy: A Model for Hyperprostaglandin E Syndrome/Antenatal Bartter Syndrom. *J Am Soc Nephrol* 16: 2354-2362
50. Peters M., Konrad M., Seyberth H. W. (2003) Hereditary Hypokalemic Salt-losing Tubular Disorders. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* Jul-Sep;14(3):386-97
51. Quamme GA (1997) Renal magnesium handling: new insights in understanding old problems. *Kidney Int* 52:1180-1195
52. Quamme GA, Rouffignac C de (2000) Epithelial magnesium transport and regulation by the kidney. *Front Biosci* 5:D694-D711
53. Reinalter SC, Jeck N, Brockhausen, C, Watzer B, Nüsing RM, Seyberth HW, Kömhoff M (2002) Role of cyclooxygenase-2 in hyperprostaglandin E syndrome/antenatal Bartter syndrome. *Kidney International*, Vol. 62, pp.253-260

54. Revusova V, Gratzlova J, Zvara V, Borosova E, Pribylincova V (1984) Impaired tubular reabsorption of magnesium after renal transplantation. *Int Urol Nephrol.* 16(1):77-82
55. Schimatschek HF, Rempis R (2001) Prevalence of hypomagnesemia in an unselected German population of 16,000 individuals. *Magnes Res* 14:283-290
56. Schlingmann KP, Konrad M, Seyberth HW (2003) Review: Genetics of hereditary disorders of magnesium homeostasis
57. Schmidt E. und Schmidt N. (2004) Leitfaden Mikronährstoffe. Orthomolekulare Prävention und Therapie. 1. Auflage. Urban & Fischer Verlag, München
58. Seelig MS (1964) The requirement of magnesium by the normal adult. Summary and analysis of. *J Am Coll Nutr* 14:342-390
59. Seo JW, Park TJ (2008) Magnesium Metabolism. *Electrolyte Blood Press.* Dec; 6(2):86-95.
60. Sigel H., Sigel A. (Eds.) Marcel Dekker, Inc., New York , Basel , p. 579-596; Martini L.A., Mayer J. (1999) Magnesium supplementation and bone turnover. *Nutr. Rev.* 57: 227-229
61. Simon DB, Crut DN, Lu Y, Lifton RP (1998) Genotype-phenotype correlation of the NCCT and Gitelman`s syndrome. *J Am Soc Nephrol* 9:111A
62. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes FNB, Institute of Medicine (1999) Magnesium. In: National Academy of Sciences (ed) Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. National Academies Press, Washington D.C., pp 190-249
63. Stühlinger H.G. (2003) Magnesium und Kalium in der Notfallmedizin. *J Miner Stoffwechs;* 10: 8-17
64. Tosi F, Bianda NDF, Truttmann AC, Crosazzo L, Bianchetti MG, Bettinelli A, Ramelli GP (2004) Normal plasma total magnesium in gitelman syndrome. *Am J Med*, Volume 116, Issue 8, Pages 573-574
65. Tönshoff B, Höcker B (2006) Treatment strategies in pediatric solid organ transplant recipients with calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *Pediatr Transplant* 10(6):721-9



66. Vannini SD, Mazzola BL, Rodoni L, Truttmann AC, Wermuth B, Bianchetti MG, Ferrari P Permanently reduced plasma ionized magnesium among renal transplant recipients on cyclosporine. *Transpl Int.* 1999;12(4):244-9
67. Verpooten GA, Wybo I, Pattyn VM, Hendrix PG, Giuliano RA, Nouwen EJ, Roels F, De Broe ME (1986) Cyclosporine nephrotoxicity: comparative cytochemical study of rat kidney and human allograft biopsies. *Clin Nephrol.* 25 Suppl 1:S18-22
68. Walder RY, Landau D, Meyer P, Shalev H, Tsolia M, Borochowitz Z, Boettger MB, Beck GE, Englehardt RK, Carmi R, Sheffield VC (2002) Mutation of TRPM6 causes familial hypomagnesemia with secondary hypocalcemia. *Nat Genet* 31:171-174
69. Warnock DG (2002) Genetic forms of renal potassium and magnesium wasting. *Am J Med* 112:235-236
70. Weber S, Konrad M (1999) Angeborene Magnesiumverlustkrankungen. *Dt. Ärzteblatt* 18:A1230-A1238
71. [www.drjacobsinstitut.de](http://www.drjacobsinstitut.de)
72. [www.medizin-welt.info](http://www.medizin-welt.info)
73. [www.medizinfo.de/endokrinologie/stoffwechesl/kalzium.htm](http://www.medizinfo.de/endokrinologie/stoffwechesl/kalzium.htm)
74. [www.medizinfo.de/endokrinologie/stoffwechsel/magnesium.htm](http://www.medizinfo.de/endokrinologie/stoffwechsel/magnesium.htm)
75. [www.nestmann.de/PDF/Artikel/KaliumMagnesium.pdf](http://www.nestmann.de/PDF/Artikel/KaliumMagnesium.pdf)

## **9. Verzeichnis der akademischen Lehrer/ -innen**

Meine akademischen Lehrer/ -innen in Marburg:

Basler, Baum, Daut, Dettmeyer, Feuser, Gudermann, Gress, Grzeschik,  
Herrmann-Lingen, Hertel, Hilt, Hoyer, Junclass, Kann, Koolman, Klose, Krieg,  
Kroll, Lenz, Lill, Lohoff, Maier, Maisch, Martin, Moll, Moosdorf, Mueller,  
Neubauer, Oertel, Renz, Richter, Rothmund, Schäfer, Schmidt, Schnabel,  
Scheider, Schrader, Sundermeyer, Tibesku, Vogelmaier, Wagner, Weihe,  
Werner, Wulf

## **10. Danksagung**

Ich danke Prof. Dr. G. Klaus für die stets freundliche, außerordentlich geduldige und kompetente Unterstützung bei der Durchführung der Studie, der Dissertation und der Veröffentlichung.

Ich danke Dr. K. P. Schlingmann für die tatkräftige Unterstützung bei der praktischen Umsetzung der Studie.

Ich danke dem gesamten Team der kindernephrologischen Ambulanz der Universitätsklinik Marburg für die hervorragende Zusammenarbeit.

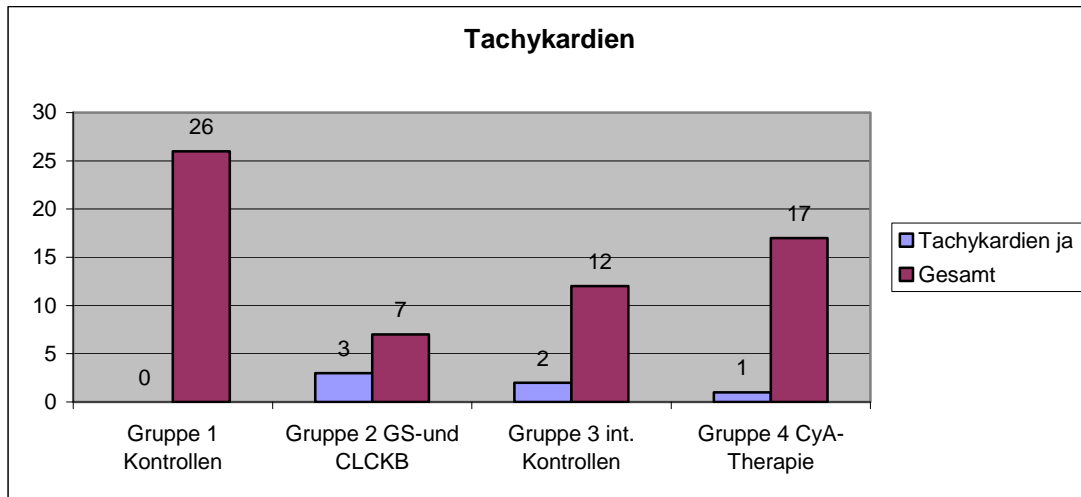
Ich danke S. Irle vom Institut für Mathematik und Informatik der Universität Marburg für die kompetente statistische Beratung.

Ich danke dem gesamten Team des Labor Enders in Stuttgart für die sehr gute Zusammenarbeit.

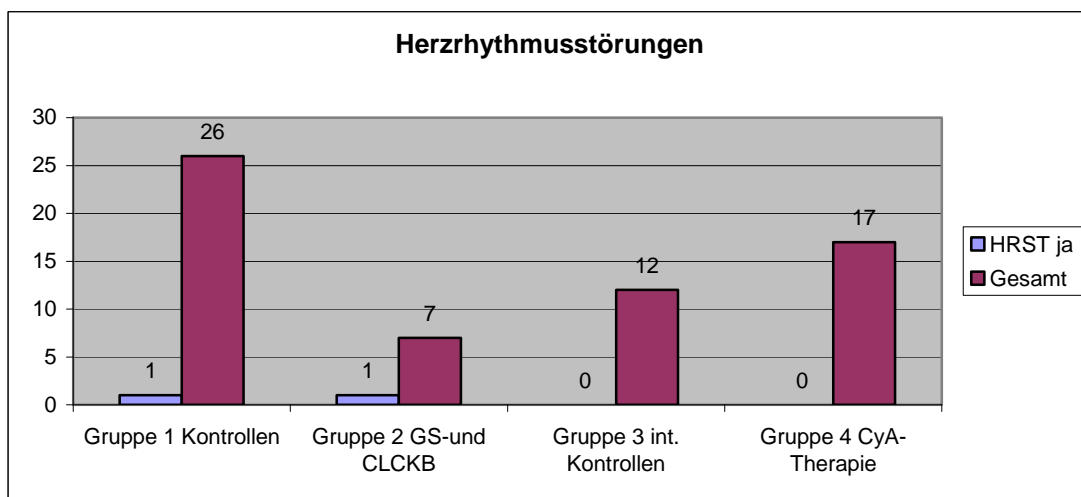
Ich danke meiner Familie für die Geduld, die hervorragende Unterstützung und das ständige Ermutigen.

## 11. Anhang

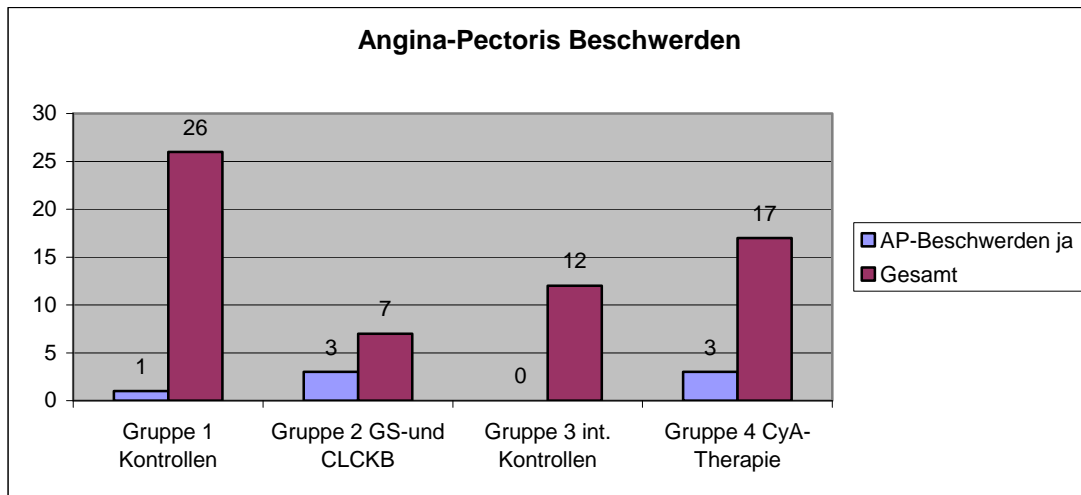
Diagramme zur Auswertung der Fragebögen zu den Magnesiummangel-Symptomen:



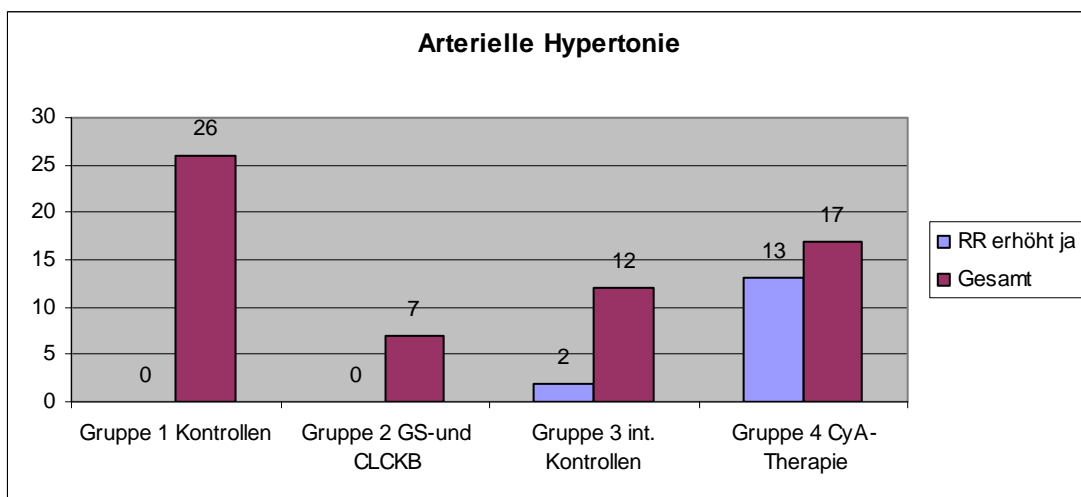
**Abbildung 7:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit der Tachykardie als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



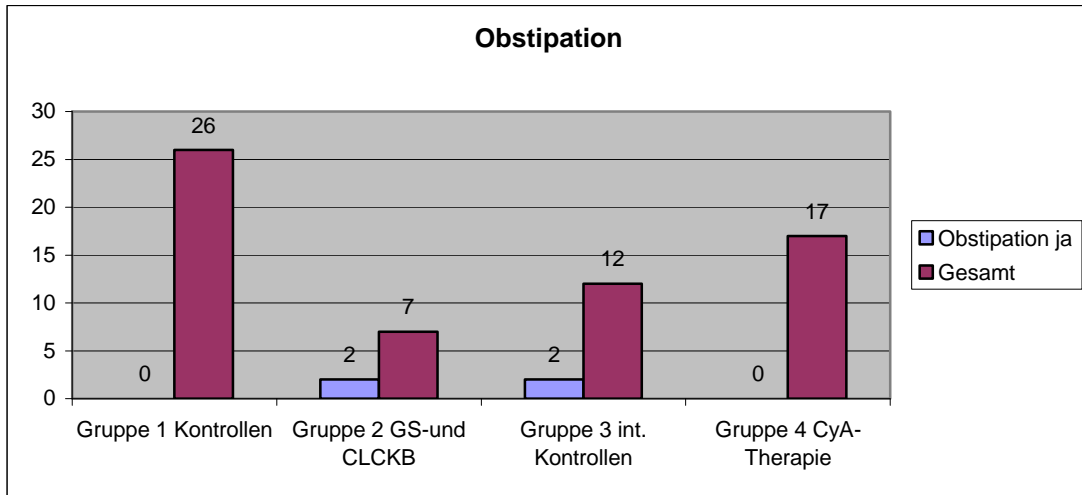
**Abbildung 8:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Herzrhythmusstörungen als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



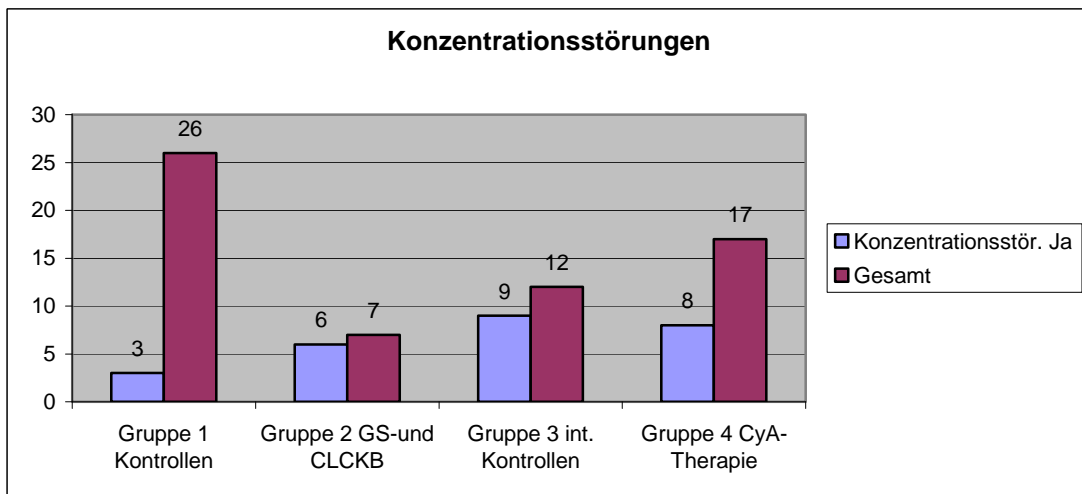
**Abbildung 9:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Angina-Pectoris Beschwerden als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



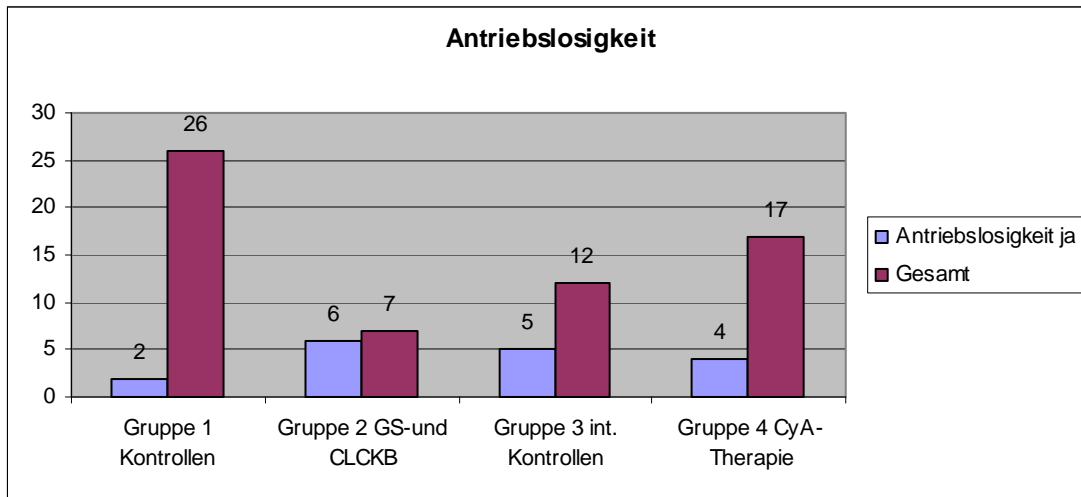
**Abbildung 10:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von arterieller Hypertonie als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



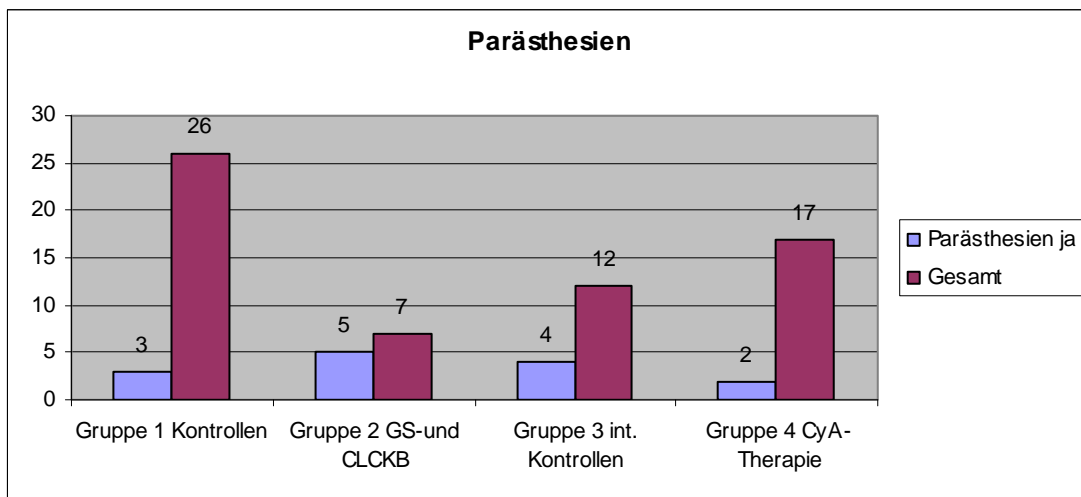
**Abbildung 11:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Obstipation als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



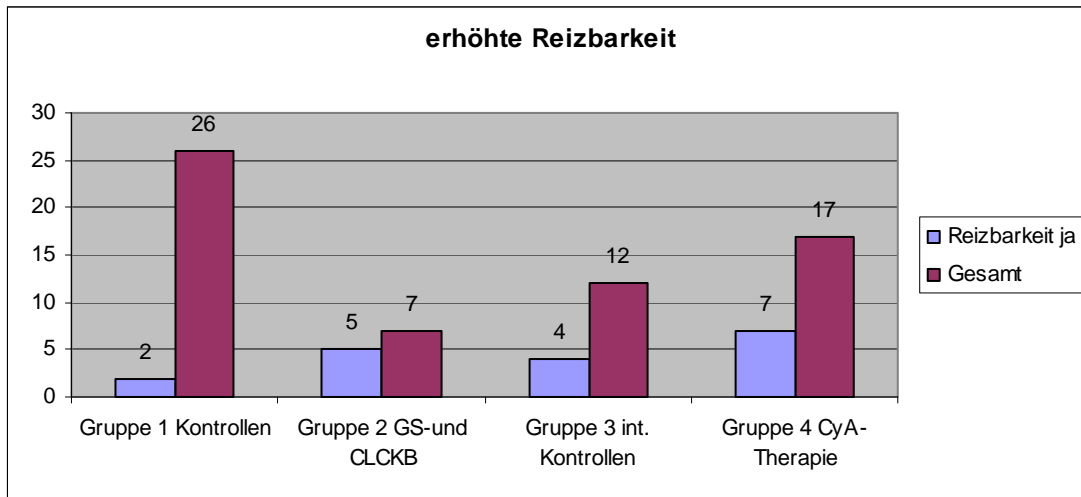
**Abbildung 12:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Konzentrationsstörungen als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



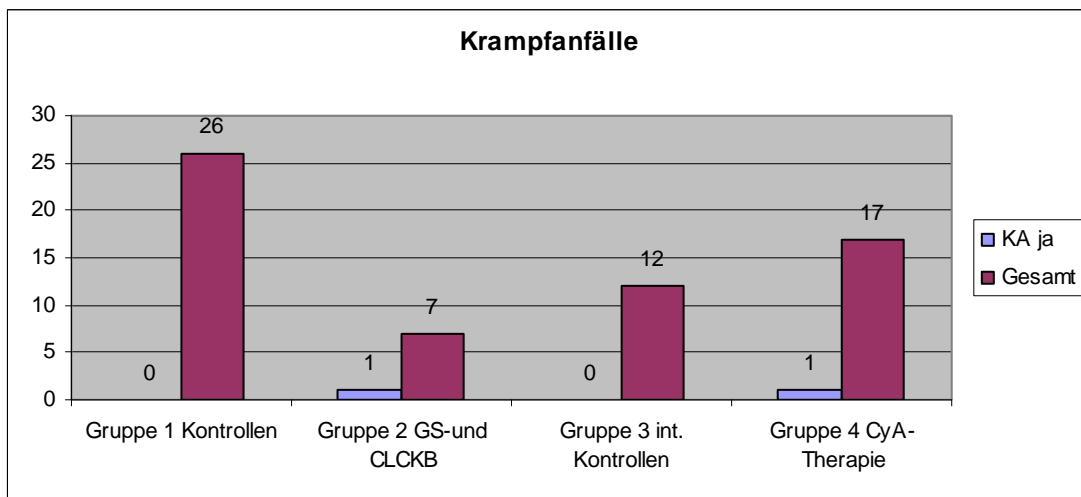
**Abbildung 13:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Antriebslosigkeit als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



**Abbildung 14:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Parästhesien als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



**Abbildung 15:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von erhöhter Reizbarkeit als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



**Abbildung 16:** Diagramm zur Darstellung der in den Fragebögen angegebenen Häufigkeit von Krampfanfällen als mögliches Symptom eines Magnesiummangels. Der blaue Balken gibt jeweils an, wie viele Patienten in absoluten Zahlen die Frage mit „Ja“ beantwortet haben. Der violette Balken zeigt die Gesamtanzahl der in dieser Gruppe befragten Patienten.



Fragebogen zur Erfassung von Symptomen eines Magnesium-Mangels bei direkter Anrede des Patienten:

Liebe Patientin, lieber Patient,  
im Rahmen der Studie zur Untersuchung intrazellulärer Magnesiumkonzentrationen bei Kindern mit renalen Magnesiumverlustkrankungen möchten wir Dir einige Fragen stellen, um herauszufinden ob Du eventuell an Symptomen leidest, die auf einen Magnesium-Mangel hinweisen könnten. Wir bitten Dich deshalb, die für Dich zutreffenden Antworten anzukreuzen. Die *kursiv* gedruckten Fragen sind für Dich nur relevant, wenn Du die darüber stehende Frage mit „ja“ beantwortet hast.

Wenn Du Fragen hast, wende Dich bitte an einen der verantwortlichen Ärzte Prof. Dr. G. Klaus oder Dr. K. Schlingmann.

Vielen Dank für Deine Mithilfe!

Leidest Du an Muskelkrämpfen?

ja                       nein

*Wenn ja, wie viele Muskeln sind bei den Krämpfen betroffen?*

*nur einer*                       *mehrere*

*Wenn ja, wie häufig treten die Muskelkrämpfe auf?*

*oft*                       *manchmal*                       *selten*

Leidest Du an Herzrasen?

ja                       nein

*Wenn ja, wie häufig tritt das Herzrasen auf?*

*oft*                       *manchmal*                       *selten*

Leidest Du an Herzstolpern?

ja                       nein

*Wenn ja, wie häufig tritt das Herzstolpern auf?*

*oft*                       *manchmal*                       *selten*

Hast Du Druckgefühl oder Schmerzen in der Brust?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig treten diese Schmerzen auf?*

oft  manchmal  selten

Ist bei Dir ein Bluthochdruck bekannt?

ja  nein

Leidest Du an Verstopfungen?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig treten die Verstopfungen auf?*

oft  manchmal  selten

Leidest Du an Konzentrationsstörungen?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig sind die Konzentrationsstörungen?*

oft  manchmal  selten

Leidest Du unter Antriebslosigkeit?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig ist die Antriebslosigkeit?*

oft  manchmal  selten

Kribbelst Dich oder pocht es manchmal in den Fingern oder hast Du ähnliche Empfindungen ohne erkennbare Ursache?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig hast Du Empfindungen ohne erkennbare Ursache?*

oft  manchmal  selten

Bist Du oft gereizt?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig bist Du gereizt?*

oft  manchmal  selten

Leidest Du an epileptischen oder anderen Krampfanfällen?

ja                       nein

*Wenn ja, wie häufig treten diese Anfälle auf?*

oft                       manchmal                       selten

Fragebogen zur Erfassung von Symptomen eines Magnesium-Mangels bei Anrede der Eltern des Patienten:

Liebe Eltern,

im Rahmen der Studie zur Untersuchung intrazellulärer Magnesiumkonzentrationen bei Kindern mit renalen Magnesiumverlustkrankungen möchten wir Ihnen einige Fragen stellen, um herauszufinden ob Ihr Kind eventuell an Symptomen leidet, die auf einen Magnesium-Mangel hinweisen könnten. Wir bitten Sie deshalb, die für Ihr Kind zutreffenden Antworten anzukreuzen. Die *kursiv* gedruckten Fragen sind für Sie nur relevant, wenn Sie die darüber stehende Frage mit „ja“ beantwortet haben.

Wenn Sie Fragen haben, wenden Sie sich bitte an einen der verantwortlichen Ärzte Prof. Dr. G. Klaus oder Dr. K. Schlingmann.

Vielen Dank für Ihre Mithilfe!

Leidet Ihr Kind an Muskelkrämpfen?

ja  nein

*Wenn ja, wie viele Muskeln sind bei den Krämpfen betroffen?*

*nur einer*  *mehrere*

*Wenn ja, wie häufig treten die Muskelkrämpfe auf?*

*oft*  *manchmal*  *selten*

Leidet Ihr Kind an Herzrasen?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig tritt das Herzrasen auf?*

*oft*  *manchmal*  *selten*

Leidet Ihr Kind an Herzstolpern?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig tritt das Herzstolpern auf?*

*oft*  *manchmal*  *selten*

Klagt Ihr Kind über Druckgefühl oder Schmerzen in der Brust?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig treten diese Schmerzen auf?*

oft  manchmal  selten

Ist bei Ihrem Kind ein Bluthochdruck bekannt?

ja  nein

Leidet Ihr Kind an Verstopfungen?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig treten die Verstopfungen auf?*

oft  manchmal  selten

Leidet Ihr Kind an Konzentrationsstörungen?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig sind die Konzentrationsstörungen?*

oft  manchmal  selten

Leidet Ihr Kind unter Antriebslosigkeit?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig ist die Antriebslosigkeit?*

oft  manchmal  selten

Klagt Ihr Kind über Kribbeln oder Pochen oder ähnliche Empfindungen ohne erkennbare Ursache?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig beschreibt Ihr Kind Empfindungen ohne erkennbare Ursache?*

oft  manchmal  selten

Neigt Ihr Kind zu verstärkter Reizbarkeit?

ja  nein

*Wenn ja, wie häufig ist Ihr Kind gereizt?*

oft  manchmal  selten

Leidet Ihr Kind an epileptischen oder anderen Krampfanfällen?

ja                       nein

*Wenn ja, wie häufig treten diese Anfälle auf?*

oft                       manchmal                       selten