

amin-Antipoden zeigen auch die Transaminasebestimmungen in der Leber. Während die Konzentration der Aspartataminotransferase in der Leber durch D-Penicillamin gar nicht, durch L-Penicillamin nur geringfügig vermindert wird, ist die Konzentration der Alaninaminotransferase auch nach D-Penicillamin vermindert (20%) und wird durch L-Penicillamin erheblich gesenkt (50%).

Über vergleichende Untersuchungen der Wirkung der Penicillaminantipoden und ihrer Kondensationsprodukte mit Pyridoxalphosphat auf isolierte Enzyme werden wir in einer weiteren Mitteilung berichten (30).

Fraülein Brigitte Clemens (†) danken wir für ihre stets zuverlässige technische Assistenz.

Literatur

1. WILSON, J. E. und V. DU VIGNEAUD, *Science (New York)* 107, 635 (1948). — 2. WILSON, J. E. und V. DU VIGNEAUD, *J. biol. Chemistry* 184, 63 (1950). — 3. KUCHINSKAS, E. J. und V. DU VIGNEAUD, *Arch. Biochem. Biophysics* 66, 1 (1957). — 4. KUCHINSKAS, E. J., A. HORVATH und V. DU VIGNEAUD, *Arch. Biochem. Biophysics* 68, 69 (1957). — 5. DU VIGNEAUD, V., E. J. KUCHINSKAS und A. HORVATH, *Arch. Biochem. Biophysics* 69, 130 (1957). — 6. ASATOOR, A. M., *Nature (London)* 203, 1382 (1964). — 7. JAFFE, I. A., K. ALTMAN und P. MERRYMAN, *J. Clin. Invest.* 43, 1869 (1964). — 8. GIBBS, K. und J. M. WALSHE, *Lancet (London)* I, 175 (1966). — 9. BENESCH, R. und R. E. BENESCH, Determination of -SH Groups in Proteins; in: *Methods of Biochemical Analysis*, Bd. X, S. 43. Hrsg. D. Glick, Interscience Publishers, Inc. New York-London (1962); BOYER, P. D., *J. Amer. chem. Soc.* 76, 4331 (1954). — 10. SCHLOSSMANN, K., J. BRÜGGEMANN und F. LYNEN, *Biochem. Z.* 336, 258 (1962). — 11. TOENNIES, G. und R. P. HOMILLER, *J. Amer. chem. Soc.* 64, 3054 (1942). — 12. HERKEN, H., G. SENFT und H. WILUTZKY, *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol.* 229, 123 (1956). — 13. WACHSTEIN, M. und A. GUDAITIS, *Amer. J. Clin. Path.* 22, 652 (1952). — 14. WEBER, F. und O. WISS, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 331, 124 (1963). — 15. HOHORST, H.-J. und M. REIM, Oxalacetat, in: *Methoden der enzymatischen Analyse*, Hrsg. H.-U. Bergmeyer, S. 535, Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. (1962). — 16. BÜCHER, TH., R. CZOK, W. LAMPRECHT und E. LATZKO, Pyruvat, in: *Methoden der enzymatischen Analyse*, Hrsg. H.-U. Bergmeyer, S. 253, Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. (1962). — 17. LEWIS, R. E., A. L. KUNZ und R. E. BELL, *Laborat. Animal Care* 16, 505 (1966). — 18. PERSSON, B. H., *Acta Soc. med. Upsal.* 65, 96 (1960). — 19. THIELE, V. F. und M. BRIN, *J. Nutrit.* 90, 347 (1966). — 20. CHATTERJEE, A. K., S. C. JAMDAR und B. B. GHOSH, *Experientia*, Basel 22, 794 (1966). — 21. SIEGMUND, P., *diese Z.* 1, 97 (1963). — 22. SIEGMUND, P., F. KÖRBER und G. HASENBANK, *diese Z.* 4, 307 (1966). — 23. HEDDLE, J. G., E. W. MCHENRY und G. H. BEATON, *Canad. J. Biochem.* 41, 1215 (1963). — 24. WACKER, A., P. CHANDRA und E. HEYL, *Arzneimittel-Forsch., Aulendorf* 16, 825 (1966). — 25. ROTZSCH, W., *Acta biol. med. german.* 16, 329 (1966). — 26. KÖRNER, W. F. und H. NOWAK, *Int. Z. Vitaminforsch.* 36, 264 (1966). — 27. HUGHES, P. A. M. und D. N. RAINE, *Clin. chimica Acta (Amsterdam)* 14, 399 (1966). — 28. COON, W. W., *Amer. J. Clin. Path.* 46, 345 (1966). — 29. KÖRNER, W. F. und H. NOWAK, *Int. Z. Vitaminforsch.* 37, 89 (1967). — 30. HASENBANK, G., F. KÖRBER und P. SIEGMUND, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* im Druck und in Vorbereitung.

Privat-Dozent Dr. P. Siegmund
1 Berlin 33, Arnimallee 22

Über die Mg-Aufnahme in Erythrocyten und Ascites-Tumorzellen

Von H. EBEL und TH. GÜNTHER

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Schütte)

(Eingegangen am 20. Juli 1967)

An glykolysierenden Menschenerythrocyten, atmenden Vogelerythrocyten und glykolysierenden und atmenden Ascites-Tumorzellen wurde die Mg-Aufnahme bei einer auf 6 bis 7 mMol/l erhöhten extrazellulären Mg-Konzentration untersucht.

Alle untersuchten Zellen nehmen mit 1,5 mMol/l Zellen gleichviel Mg auf.

Die Mg-Aufnahme ist nicht durch einfache Diffusion bedingt und setzt sich aus Adsorption an die Zelloberfläche und stoffwechsellabhängiger Mg-Aufnahme in die Zelle zusammen.

Die Mg-Aufnahme wird durch Glucose und Phosphat gefördert und durch Phlorrhizin und Arsenat gehemmt.

Die Mg-Aufnahme ist ATP-abhängig und wird durch Strophanthin-g gehemmt.

Steigende Na⁺-Konzentrationen fördern die Mg-Aufnahme bis zu einem Maximum bei physiologischen Na⁺-Konzentrationen. Bei physiologischer Na⁺-Konzentration liegt das Maximum der die Mg-Aufnahme fördernden K⁺-Konzentration bei 7,5 mMol/l; höhere K⁺-Konzentrationen wirken hemmend.

Es wird diskutiert, daß die membrangebundene Mg²⁺-Na⁺-K⁺-ATPase an der Mg-Aufnahme beteiligt ist.

The uptake of Mg by glycolysing human erythrocytes, respiring bird erythrocytes, and glycolysing and respiring Ascites tumor cells was studied at increased levels (6–7 mM) of extracellular Mg.

In all the cells, the uptake of Mg was the same, i. e., 1,5 mmoles/l cells.

The uptake of Mg is not the result of simple diffusion; it is due to the combined effects of adsorption onto the cell surface and the metabolic-dependent uptake of Mg into the cell.

The uptake of Mg is promoted by glucose and phosphate and inhibited by phlorrhizin and arsenate.

The uptake of Mg is ATP-dependent and is inhibited by strophanthin-g.

Increasing concentrations of Na⁺ promote the uptake of Mg to a maximum corresponding to the physiological concentration of Na⁺. At physiological concentrations of Na⁺, the optimum concentration of K⁺ for the promotion of Mg-uptake was 7.5 mM; higher concentrations of K⁺ were inhibitory.

It is suggested that the membrane-bound Mg²⁺-Na⁺-K⁺-ATPase is involved in the uptake of Mg.

Aus Versuchen am Ganztier ist bekannt, daß Zellmembranen für Mg permeabel sind: Der Mg-Bestand von Leber, Niere, Herzmuskel und Tumorzellen wird innerhalb von drei Stunden vollständig gegen intraperitoneal injiziertes ^{28}Mg ausgetauscht (1, 2). Durch Permeabilitätsmessungen allein kann jedoch nicht entschieden werden, ob Mg passiv oder aktiv aufgenommen wird. Dies läßt sich erst beurteilen, wenn die elektrische Potentialdifferenz der betreffenden Zelle und ihre intrazelluläre Mg-Ionenkonzentration bekannt sind. Bei Ascites-Tumorzellen gelang es, eine elektrische Potentialdifferenz von $-11,1$ mV zu messen (3). Für die intrazelluläre Mg-Ionenkonzentration wurde ein Wert von $1,6$ mMol/l ermittelt (4). Da die extrazelluläre Mg-Ionenkonzentration nur etwa $0,6$ mMol/l beträgt, muß es sich bei der Mg-Aufnahme in Mg-reiche Zellen, z. B. Ascites-Tumorzellen, aus thermodynamischen Gründen um einen aktiven Transport handeln.

Weil aktive Transportleistungen energieabhängig sind, haben wir in der vorliegenden Arbeit mit verschiedenen Stoffwechselgiften den Einfluß des Stoffwechsels auf die Mg-Aufnahme bei drei verschiedenen Zelltypen untersucht. Wir verwendeten Erythrocyten vom Menschen als rein glykolyisierende, Hühnererythrocyten als nur atmende und Ascites-Tumorzellen als atmende und glykolyisierende Zellen. Zur weiteren Charakterisierung prüften wir außerdem den Einfluß von Strophanthin-g und verschiedenen extrazellulären Ionen auf die Mg-Aufnahme.

Methodik

Prinzip

Die Zellen wurden in Ringerlösung, deren Mg-Konzentration bei den Versuchen mit Erythrocyten auf 7 mMol/l und bei den Versuchen mit Ascites-Tumorzellen auf 6 mMol/l erhöht war, inkubiert. Aus der Abnahme der extrazellulären Mg-Konzentration während der Inkubation wurde die Mg-Aufnahme in die Zelle für dieselbe Zeit berechnet und als ΔMg^{2+} (mMol/l Zellen) angegeben. Die Zellen wurden jeweils solange inkubiert, bis die extrazelluläre Mg-Konzentration auf einen konstanten Wert abgesunken war: Die Inkubationszeit betrug bei Humanerythrocyten und Ascites-Tumorzellen 60 Min., bei Hühnererythrocyten 90 Min. (Abb. 1).

Gewinnung der Zellen

Blut wurde aus den Armvenen gesunder männlicher Versuchspersonen oder aus den Flügelvenen erwachsener Hähne in heparinisierte Gläser abgelassen und sofort 5 Min. bei 3000 g zentrifugiert. Serum und Leukocyten wurden abgesaugt.

Ehrlich Ascites-Tumorzellen (ELD) wurden $7-9$ Tage nach intraperitonealer Inokulation durch Punktion der Bauchhöhle gewonnen und zur Vermeidung mechanischer Schädigung bei 600 g zentrifugiert. Mit zwei- bis dreimaligem Waschen wurden die Blutbeimengungen aus den Ascites-Tumorzellen entfernt.

Inkubation der Zellen

Die Zellen wurden in Mg-freier Ringerlösung mit einem Glucosegehalt von 195 mg/100 ml in Warburg-Gefäßen suspendiert. Die Zellkonzentrationen betragen bei Erythrocyten etwa 25% (v/v) und bei Ascites-Tumorzellen etwa 12% (v/v). Die Gefäße wurden bei 38° mit Luft geschüttelt. Die Frequenz betrug bei Versuchen mit Erythrocyten 120 /Min., bei Versuchen mit Ascites-Tumorzellen 160 /Min. Die Amplitude betrug 2 cm. Zum Temperaturausgleich wurden die Zellen 15 Min. bei 38° vorinkubiert. Anschließend wurde die Mg-Aufnahme durch Zugabe von MgCl_2 -Lösung gestartet. Sofort nach Versuchsbeginn und am Ende der Inkubation wurde ein aliquoter Teil der Zellsuspension entnommen

und 5 Min. bei 3000 g zentrifugiert. Im Zellsediment wurde das extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen und im Überstand die Mg-Konzentration bestimmt.

Bestimmung der EZF

Die extrazelluläre Flüssigkeit (EZF) zwischen den sedimentierten Zellen wurde mit Rohrzucker nach WAHLER bestimmt (5). Sie betrug 15% (v/v) bei Erythrocyten und 18% (v/v) bei Ascites-Tumorzellen.

Mg-Bestimmung

Zur Mg-Bestimmung wurde der Überstand $1:7$ mit bidest. Wasser verdünnt und im Verhältnis $1:11$ mit 10% (w/v) Trichloressigsäure enteweiß. Im klaren Überstand wurde Mg mit der Titan-gelbmethode von ORANGE und RHEIN (6) bei 546 nm in Küvetten mit 5 cm Schichtdicke im Eppendorf Photometer bestimmt. Die Standardabweichung der Methode war bei Vierfachbestimmungen $\pm 3\%$.

Ergebnisse

Zeitabhängigkeit der Mg-Aufnahme

Erythrocyten und Ascites-Tumorzellen nehmen bis zur Einstellung eines neuen Gleichgewichtes etwa gleichviel Mg auf (Abb. 1, Tab. 1). Für die maximale Mg-Aufnahme benötigen Erythrocyten vom Menschen 50 Min., Hühnererythrocyten 90 Min. und Ascites-Tumorzellen 60 Min. Die Menge des aufgenommenen Mg ist also unabhängig von der intrazellulären Mg-Konzentration (Summe des komplex gebundenen und ionisierten Mg).

Tab. 1

Geschwindigkeit und Größe der maximalen Mg-Aufnahme verschiedener Zellen. Es sind Mg_i = intrazelluläre Mg-Konzentration (eigene Messung), Mg_e = extrazelluläre Mg-Konzentration, ΔMg^{2+} = Mg-Aufnahme, t_m = Zeit bis zum Erreichen der maximalen Mg-Aufnahme

Zellart	Mg_i (mMol/l)	Mg_e (mMol/l)	ΔMg^{2+} (mMol/l Zellen)	t_m (Min.)
Menschenerythrociten	2,4	7	$1,44 \pm 0,18^*$	50
Hühnererythrocyten	8,1	7	$1,52 \pm 0,13$	90
Ascites-Tumorzellen	8,1	6	$1,56 \pm 0,15$	60

*) mittlerer Fehler des Mittelwertes

Mg-Aufnahme als Funktion der extrazellulären Mg-Konzentration

In einer weiteren Versuchsserie haben wir an Hühnererythrocyten die Mg-Aufnahme als Funktion der extrazellulären Mg-Konzentration untersucht. Hierzu wurden die Zellen nach Waschen in Mg-freier Ringerlösung mit zunehmenden Mg-Konzentrationen inkubiert. Wir fanden, daß die Mg-Aufnahme asymptotisch einem Maximalwert zustrebt, der etwa bei 20 mMol Mg/l erreicht wird. Daraus folgt, daß die Mg-Aufnahme keine reine Diffusion sein kann (Abb. 2).

Mg-Aufnahme in Abhängigkeit vom Stoffwechsel

Es wurde zunächst geprüft, ob die Mg-Aufnahme überwiegend von einer physikalischen oder chemischen Reaktion abhängig ist. Hierzu untersuchten wir die Mg-Aufnahme bei verschiedenen Temperaturen. Wir fanden, daß die Mg-Aufnahme mit ansteigender Temperatur bis zu einem optimalen Wert bei 38° zunimmt und bei höherer Temperatur wieder abnimmt (Tab. 2). Für die Mg-Aufnahme zwischen 28° und 38° berechneten wir einen Temperaturkoeffizienten von $Q_{10} = 1,38$ und eine Aktivierungsenergie von $5,7$ kcal \cdot Mol $^{-1}$.

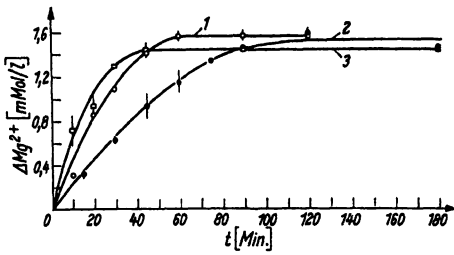


Abb. 1

Zeitlicher Verlauf der Mg-Aufnahme.

1 = Ascites-Tumorzellen, Zellkonzentration 12% (v/v), 2 = Hühnererythrocyten, Zellkonzentration 25% (v/v), 3 = Menschenerythrocysten, Zellkonzentration 29% (v/v). Die Zellen waren in einer Ringerlösung mit 195 mg/100 ml Glucose suspendiert. Die Mg-Konzentration betrug 7 mMol/l bei Erythrocyten, 6 mMol/l bei Ascites-Tumorzellen. Die Wasserbadtemperatur betrug 38°, die Schüttelfrequenz bei Erythrocyten 120/Min., bei Ascites-Tumorzellen 160/Min., die Amplitude 2 cm

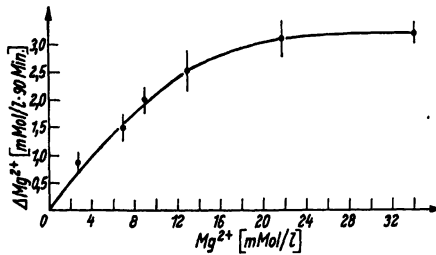


Abb. 2

Mg-Aufnahme von Hühnererythrocyten als Funktion der extrazellulären Mg-Konzentration. Die Zellen wurden vor dem Versuch einmal in Mg-freier Ringerlösung gewaschen

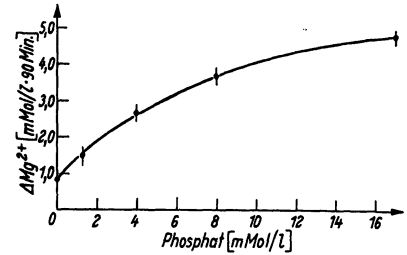


Abb. 3

Mg-Aufnahme von Hühnererythrocyten in Abhängigkeit von der Phosphatkonzentration. Die Zellen wurden vor dem Versuch einmal in Phosphat- und Mg-freier Ringerlösung gewaschen

Für die Mg-Aufnahme von Hefezellen ist die Anwesenheit von Glucose in der extrazellulären Flüssigkeit erforderlich (7, 8). Wir untersuchten daher, ob dies auch für die Mg-Aufnahme von Erythrocyten und Ascites-Tumorzellen gilt, indem wir den Glucosetransport dieser

Tab. 2

Mg-Aufnahme von Hühnererythrocyten bei verschiedenen Temperaturen. Die Mg-Aufnahme wurde nach 10 Min. Temperaturlausgleich mit MgCl₂-Lösung gestartet. Die Mg-Aufnahme bei 38° wurde gleich 100% gesetzt

Temperatur	Δ Mg ²⁺ (mMol/l · 90 Min.)	%
0°	0,65 ± 0,04	43
28°	1,10 ± 0,03	72
38°	1,52 ± 0,13	100
48°	0,66 ± 0,04	42

Zellen mit Phlorrhizin hemmten. Wir fanden, daß unter diesen Bedingungen die Mg-Aufnahme aller drei Zelltypen auf die Hälfte des Kontrollwertes absinkt (Tab. 3). Da Glucose nur nach Phosphorylierung in der Zelle umgesetzt wird, prüften wir den Einfluß von Phosphat (in Gegenwart von Glucose) auf die Mg-Aufnahme von Hühnererythrocyten. Es ergab sich, daß mit zunehmender extrazellulärer Phosphatkonzentration und zugleich vermehrtem Phosphattransport in die Zelle auch zunehmende Mengen von Mg aufgenommen werden (Abb. 3).

Die Abhängigkeit der Mg-Aufnahme von der Phosphatkonzentration ließ sich noch zusätzlich durch ihre kompetitive Hemmbarkeit mittels Arsenat zeigen. Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, wird bei Erythrocyten und As-

cites-Tumorzellen die Mg-Aufnahme in Gegenwart von Phosphat durch Arsenat um 50% gehemmt.

Die weitere Analyse der an der Mg-Aufnahme beteiligten chemischen Reaktionen gelang mit Stoffwechsellinhibitoren. Wird die Glykolyse durch Zusatz von Monojodacetat gehemmt, wobei z. B. der ATP-Gehalt in Menschenerythrocysten um 90% abnimmt (9), so sinkt die Mg-Aufnahme von Hühnererythrocyten und Ascites-Tumorzellen auf etwa 60% der Kontrolle ab. Bei den atmenden Hühnererythrocyten ist die Unterbrechung der Glykolyse ohne Wirkung (Tab. 3).

Hemmten wir dagegen die Atmung durch Blausäure, was z. B. bei Taubenerythrocysten eine Abnahme des ATP um etwa 80% zur Folge hat (9), so sinkt nur bei Hühnererythrocyten und Ascites-Tumorzellen die Menge des aufgenommenen Mg, während man an den gärenden Menschenerythrocysten keinen Effekt feststellen kann (Tab. 3).

Die Wirkung der Atmung ließ sich durch die Entkopplung der Atmungskettenphosphorylierung mit 2,4-Dinitrophenol weiter differenzieren. Wir fanden, daß bei atmenden Hühnererythrocyten und Ascites-Tumorzellen die Mg-Aufnahme durch Entkopplung auf die Hälfte des Kontrollwertes gesenkt wird (Tab. 3).

Einfluß von Strophanthin-g auf die Mg-Aufnahme

Der aktive Na⁺- und K⁺-Transport an tierischen Zellen wird durch Strophanthin-g gehemmt; wir prüften deshalb den Einfluß von Strophanthin-g auf die Mg-Aufnahme. Wir fanden, daß Strophanthin-g in einer Kon-

Tab. 3

Wirkung verschiedener Stoffwechselgifte auf die Mg-Aufnahme. Die Zellen wurden 15 Min. mit dem jeweiligen Inhibitor vorinkubiert

Inhibitor	Humanerythrocyten		Hühnererythrocyten		Ascites-Tumorzellen	
	Δ Mg ²⁺ (mMol/l · 60 Min.)	(%)	Δ Mg ²⁺ (mMol/l · 90 Min.)	(%)	Δ Mg ²⁺ (mMol/l · 60 Min.)	(%)
Kontrolle	1,44 ± 0,18	100	1,52 ± 0,13	100	1,56 ± 0,15	100
Phlorrhizin 1 mMol/l	0,65 ± 0,03	45	0,70 ± 0,01	46	0,83 ± 0,02	53
Arsenat 3 mMol/l	0,78 ± 0,08	54	0,79 ± 0,01	52	0,65 ± 0,01	42
Jodacetat 3 mMol/l	0,82 ± 0,16	57	1,57 ± 0,12	103	0,92 ± 0,05	59
Kaliumcyanid 1 mMol/l	1,44 ± 0,02	100	0,72 ± 0,02	47	0,97 ± 0,01	62
2,4-Dinitrophenol 0,2 mMol/l	1,44 ± 0,18	100	1,28 ± 0,10	83	1,39 ± 0,05	89
2,0 mMol/l	1,48 ± 0,04	103	0,93 ± 0,00	60	0,78 ± 0,00	55
Strophanthin-g 0,1 mMol/l	0,71 ± 0,04	49	—	—	—	—
1,0 mMol/l	—	—	0,80 ± 0,03	53	0,74 ± 0,02	48

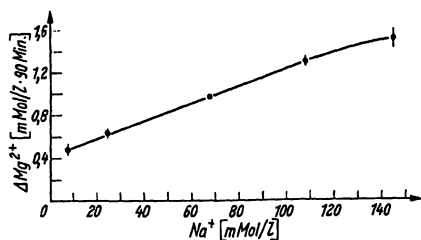


Abb. 4

Mg-Aufnahme von Hühnererythrocyten in Abhängigkeit von der extrazellulären Na⁺-Konzentration. Die Zellen wurden vor dem Versuch in Na⁺- und Mg-freier Ringerlösung gewaschen. Das NaCl wurde beim Waschen und im Versuch durch isosmolare Konzentration von Cholinchlorid ersetzt. Die K⁺-Konzentration betrug jeweils 7,5 mMol/l

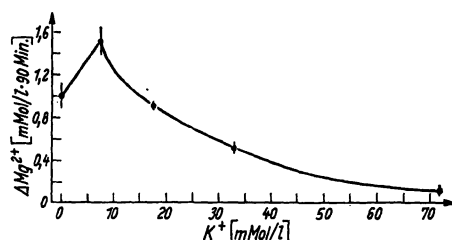


Abb. 5

Mg-Aufnahme von Hühnererythrocyten in Abhängigkeit von der extrazellulären K⁺-Konzentration. Die Zellen wurden vor dem Versuch einmal in K⁺- und Mg-freier Ringerlösung gewaschen. Die Na⁺-Konzentration betrug jeweils 140 mMol/l

zentration von 0,1—1,0 mMol/l die Mg-Aufnahme der Erythrocyten und Ascites-Tumorzellen auf die Hälfte des Kontrollwertes senkt (Tab. 3).

Mg-Aufnahme als Funktion der extrazellulären Na⁺- und K⁺-Konzentration

Bei tierischen Zellen ist der aktive Na⁺- und K⁺-Transport unter anderem von der extrazellulären Na⁺- und K⁺-Konzentration abhängig. Daher untersuchten wir bei Hühnererythrocyten den Einfluß der extrazellulären Na⁺- und K⁺-Konzentration auf die Mg-Aufnahme.

Wir fanden, daß mit zunehmender extrazellulärer Na⁺-Konzentration bei konstanter K⁺-Konzentration die Mg-Aufnahme vergrößert wird. Maximale Mg-Aufnahme erfolgt bei physiologischer extrazellulärer Na⁺-Konzentration, halbmaximale bei etwa 50 mMol/l (Abb. 4).

Bei steigender K⁺-Konzentration und physiologischer Na⁺-Konzentration nimmt die Mg-Aufnahme bis zu einem Optimum bei 7,5 mMol/l K⁺ zu. Durch höhere K⁺-Konzentrationen wird die Mg-Aufnahme zunehmend gehemmt (Abb. 5).

Diskussion

Aus den Experimenten folgt, daß die Mg-Aufnahme in Erythrocyten und Ascites-Tumorzellen bei erhöhten extrazellulären Mg-Konzentrationen aus einem stoffwechselunabhängigen und einem stoffwechselabhängigen Teil besteht. Die Mg-Aufnahme ist infolge der gewählten hohen extrazellulären Mg-Konzentration bergab gerichtet. Unter unseren Versuchsbedingungen beträgt der Quotient aus extra- und intrazellulärer Mg-Ionenkonzentration z. B. bei Ascites-Tumorzellen 3, 75.

Den stoffwechselunabhängigen Anteil der Mg-Aufnahme mißt man, wenn der Zellstoffwechsel durch Abkühlen auf 0° verlangsamt oder durch Gifte gehemmt wird. Unter diesen Bedingungen sinkt die Mg-Aufnahme von Erythrocyten und Ascites-Tumorzellen auf die Hälfte ab. Wegen der einwärts gerichteten Gradienten der Mg-Ionenkonzentrationen könnte man die ver-

bleibende Mg-Aufnahme durch Diffusion erklären. Gegen diese Annahme spricht aber, daß die Mg-Aufnahme mit steigenden extrazellulären Mg-Ionenkonzentrationen nicht linear zunimmt. Sie ähnelt vielmehr einer LANGMUIRSchen Adsorptionsisotherme mit einer Sättigung bei 20 mMol/l Mg. Eine entsprechende Beziehung wurde auch für die stoffwechselabhängige Mg-Aufnahme in Hefezellen (8) und für die transzelluläre Mg-Aufnahme entlang dem elektrochemischen Gradienten im Darm von Ratten (10) und Schafen (11) gefunden. Die einge-

hende Analyse der Mg-Aufnahme von Hefezellen ergab bei höheren Mg-Konzentrationen keine Übereinstimmung mit der LANGMUIRSchen Formel. Die Aufnahme ließ sich besser beschreiben, wenn sie aus der Summe zweier Langmuir-Gleichungen mit zwei verschiedenen Gleichgewichtskonstanten berechnet wurde (8). Da die Langmuir-Gleichung und die Michaelis-Menten-Gleichung formal gleich sind, weil beide einen Vorgang beschreiben, bei dem unter unseren Bedingungen ein membrangebundener Reaktionspartner limitierend wirkt (12), könnte man sich die Aufnahmekurven von Hefezellen und Erythrocyten aus einer Adsorptionsisothermen und einer stoffwechselabhängigen Michaelis-Menten-Kinetik zusammengesetzt vorstellen. Für die Bindung kämen vor allem Carboxyl- und Phosphatgruppen in Frage, wie es für die Mn- und Mg-Adsorption an Hefezellen angegeben wird (13).

Die bergab verlaufende Mg-Aufnahme ist energieabhängig. Wird die Glucoseaufnahme mit Phlorrhizin gehemmt, dann sinkt die Mg-Aufnahme von Erythrocyten und Ascites-Tumorzellen auf die Größe der stoffwechselunabhängigen Adsorption ab. Auch die Hemmung der Phosphataufnahme bzw. die Hemmung einer phosphorylierenden Reaktion mit Hilfe von Arsenat hat eine Abnahme der Mg-Aufnahme bei allen drei Zelltypen zur Folge. Dieses Verhalten ist auch von Hefezellen bekannt, bei denen ein Teil der Mg-Aufnahme an die gleichzeitige Aufnahme von Glucose und Phosphat gebunden ist (7, 8). Auch bei isolierten intakten Mitochondrien ist die stoffwechselabhängige Mg-Aufnahme maximal, wenn gleichzeitig Phosphat aufgenommen wird (14).

Die ATP-Abhängigkeit der Mg-Aufnahme ergibt sich aus folgenden Versuchen: Hemmt man die Glykolyse von Menschenerthrocyten und Ascites-Tumorzellen durch Monojodacetat, dann wird kein Mg mehr aufgenommen. Das gleiche hat eine Hemmung der Atmung mit Cyanid und die Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung mit 2,4-Dinitrophenol bei Hühnererythrocyten zur Folge. Hiermit stimmt überein, daß der transzelluläre ²⁸Mg influx am Meerschweinchendarm durch Cyanid und Jodacetat gesenkt, der efflux hingegen

gesteigert wird (15). Isolierte atmende Mitochondrien beziehen die Energie für die aktive Mg-Aufnahme ebenfalls vom ATP oder vom Elektronentransportsystem (16).

Aus diesen Untersuchungen kann über die Art der Kopplung zwischen Mg-Aufnahme und intrazellulärer ATP-Konzentration nichts ausgesagt werden. Es ist möglich, daß die Mg-Aufnahme von einer ATP-benötigenden enzymatischen Reaktion abhängig ist. Es ist aber nicht auszuschließen, daß mit der starken Abnahme der intrazellulären ATP-Konzentration unter der Einwirkung der Stoffwechselgifte eine Zunahme des ionisierten Mg^{2+} verbunden ist, wenn das vorher an ATP komplex gebundene Mg nicht vollständig von anderen intrazellulären Komplexbildern gebunden wird. Dadurch würde der einwärts gerichtete Mg-Ionengradient abnehmen und die Mg-Aufnahme geringer werden.

Die Mg-Aufnahme von Erythrocyten und Ascites-Tumorzellen wird durch Strophanthin-g, das auch andere aktive Transporte ohne Verminderung der ATP-Konzentration blockiert (17, 18), gehemmt. Hieraus kann man ableiten, daß Mg über einen durch Strophanthin hemmbaren Trägermechanismus aufgenommen wird, dessen Energiebedarf von ATP oder einem Zwischenprodukt der oxydativen Phosphorylierung gedeckt wird. Über den genauen Angriffspunkt von Strophanthin-g läßt sich nichts sagen. Es kann sich dabei um eine direkte Wirkung auf den Mg-Trägermechanismus handeln. Es wäre aber auch möglich, daß der Mg-Transport mit dem Na^+ -Transport gekoppelt ist. Eine derartige Beziehung wurde auch für den transzellulären Mg-Transport im Darm angenommen (19). Strophanthin-g könnte demnach den Mg-Transport hemmen, indem es den aktiven Na^+ -Transport unterbindet. Im letzten Fall würden somit gleiche Bedingungen wie beim aktiven Glucosetransport im Darm herrschen, wo die

Hemmung des Glucosetransports durch Strophanthin-g durch eine Hemmung des Na^+ -Transports erklärt wird (20).

Die Erhöhung des Mg-Transports durch Na^+ und K^+ erfolgt bei Na^+ - und K^+ -Konzentrationen, die auch die Mg^{2+} - Na^+ - K^+ -ATPase der Zellmembran stimulieren. Die membrangebundene ATPase der menschlichen Erythrocyten ist bei einer K^+ -Konzentration von 20 mMol/l und einer Na^+ -Konzentration von 120 mMol/l maximal aktiviert (21). Bei Hühnererythrocyten ist die Mg-Aufnahme bei einer K^+ -Konzentration von 7,5 mMol/l und einer Na^+ -Konzentration von 150 mMol/l maximal. Beide Systeme sind durch Strophanthin-g hemmbar. Die membrangebundene Mg^{2+} - Na^+ - K^+ -ATPase menschlicher Erythrocyten ist bei 0,6 mMol/l Strophanthin-g vollständig gehemmt (21). Bei menschlichen Erythrocyten wird die Mg-Aufnahme durch 0,13 mMol/l Strophanthin-g vollständig gehemmt.

Aus diesen Übereinstimmungen kann man schließen, daß die membrangebundene Mg^{2+} - Na^+ - K^+ -ATPase auch an der Mg-Aufnahme beteiligt ist. Legt man das von Skou entwickelte ATP-ase Modell (22, 23) für den aktiven Na^+ - und K^+ -Transport zugrunde, so könnte

$$Mg \text{ außen in den } \begin{matrix} K \\ E \\ Na \end{matrix} Mg_2 \text{ ATP Komplex eintreten.}$$

Wenn beim Transportvorgang ATP zu ADP und Phosphat gespalten wird und sich dieser Komplex über

$$\begin{matrix} K \\ E \sim P + 2 Mg + ADP \text{ zu } E + P_i \text{ umwandelt,} \\ Na \end{matrix}$$

könnte Mg^{2+} innen freigesetzt werden, denn die Stabilitätskonstante des sich auf der Innenseite ergebenden Mg-Chelates ist kleiner. Über dieses System könnte auch unter *in-vivo*-Bedingungen mit niedrigeren extrazellulären Mg-Ionenkonzentrationen Mg aktiv aufgenommen werden.

Literatur

1. ROGERS, T. A. und P. E. MAHAN, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 100, 235 (1959). — 2. ROGERS, T. A., F. L. HAVEN und P. E. MAHAN, J. Nat. Cancer Inst., Wash. 25, 887 (1960). — 3. HEMPLING, H. G., J. Cellul. Comp. Physiol., Philadelphia 60, 181 (1962). — 4. GÜNTHER, TH., Z. Naturforsch. 22b, 149 (1967). — 5. WAHLER, B. E., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 306, 84 (1956). — 6. ORANGE, M. und H. C. RHEIN, J. biol. Chemistry 189, 379 (1951). — 7. ROTHSTEIN, A., A. HAYES, D. JENNINGS und D. HOOPER, J. gen. Physiol. 41, 585 (1958). — 8. NETTER, H. und L. SACHS, Biochem. Z. 334, 18 (1961). — 9. GERLACH, E. und K. LÜBBEN, Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere 269, 520 (1959). — 10. ROSS, D. B., J. Physiology 160, 417 (1962). — 11. CARE, A. D. und A. TH. VAN'T KLOOSTER, J. Physiology 177, 174 (1965). — 12. ASCHHEIM, E., Experientia (Basel) 16, 305 (1960). — 13. ROTHSTEIN, A. und A. D. HAYES, Arch. Biochem. Biophysics 63, 87 (1956). — 14. CARAFOLI, E., C. S. ROSSI und A. L. LEHNINGER, J. biol. Chemistry 239, 3055 (1964). — 15. ROSS, D. B. und A. D. CARE, Biochem. J. 82, 21 P (1962). — 16. BIERLEY, G. B., E. MURER und D. E. GREEN, Science (Washington) 140, 60 (1963). — 17. SCHATZMANN, H. J., Helv. physiol. pharmakol. Acta 11, 346 (1956). — 18. WHITTAM, R., J. Physiology 140, 479 (1958). — 19. ROSS, D. B., Nature (London) 189, 840 (1961). — 20. CSÁKY, T. Z. und Y. HARA, Amer. J. Physiol. 209, 467 (1965). — 21. POST, R. L., C. R. MERITT, C. R. KINSOLVING und C. D. ALBRIGHT, J. biol. Chemistry 235, 1796 (1960). — 22. Skou, J., Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) 42, 6 (1960). — 23. Skou, J., in: Progress in biophysics and molecular biology, Edt. J. A. V. Butler und H. E. Huxley Bd. 14, S. 131, Pergamon Press, Oxford (1964).

Priv.-Doz. Dr. Th. Günther
1 Berlin 33, Arnimallee 22