

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 65—68, Januar 1970

Wasser- und Elektrolytverteilung in einigen Organen von Mg-arm ernährten Ratten

Von TH. GÜNTHER

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

(Eingegangen am 29. September 1969)

An jungen männlichen Albinoratten wurde nach 38-tägiger Mg-armer Ernährung in Leber, Niere, Herz und Skelettmuskel der H₂O-, Na-, K- und Mg-Gehalt und in Leber und Skelettmuskel zusätzlich die Größe der extra- und intrazellulären Flüssigkeit sowie die intrazelluläre Na- und K-Konzentration bestimmt.

Im Skelettmuskel nahm die extrazelluläre Flüssigkeit zu und die intrazelluläre K-Konzentration ab. In der Leber verringerte sich die extrazelluläre Flüssigkeit und die intrazelluläre K-Konzentration, die intrazelluläre Na-Konzentration stieg an. Die Ergebnisse werden mit einer Abnahme des aktiven Alkaliionentransportes erklärt und diskutiert.

Electrolyte distribution in some organs of rats with a dietary deficiency of Mg

Young male albino rats were fed a Mg-deficient diet for 38 days. The content of H₂O, Na, K and Mg in kidney and heart, in the liver and skeletal muscle, the volume of the extra- and intracellular fluid, and the concentration of intracellular Na and K were also determined. The extracellular fluid increased in the skeletal muscle and the intracellular concentration of K decreased. In the liver, the extracellular fluid and the intracellular concentration of K were decreased and the intracellular concentration of Na was increased. The results are explained and discussed on the basis of a decrease in the active transport of alkali ions.

Bei Zellen von *E. coli*, deren Mg-Gehalt nach Wachsen in Mg-armen Medium von etwa 20 mMol/kg auf 5 mMol/kg abgenommen hatte (1), war der aktive K-Transport in die Zelle erheblich vermindert (2). An tierischen Organen dagegen läßt sich keine signifikante oder nur eine geringfügige Abnahme des Mg-Gehaltes erreichen, besonders wenn man junge, noch wachsende Tiere „Mg-frei“, d. h. Mg-arm ernährt (3, 4, 5, Übersicht s. 6). Auch hierbei wurde eine Abnahme des K-Gehaltes in einigen Organen, hauptsächlich im Muskel, aber nicht in allen untersuchten Organen gefunden (3, 5).

Aus den bisherigen Untersuchungen an tierischen Geweben lassen sich jedoch keine Aussagen über das Verhalten der intrazellulären Na- und K-Konzentrationen und damit über das Verhalten des aktiven Transportes machen, da die Größe der extrazellulären Flüssigkeit nicht ermittelt wurde. Lediglich WHANG und Mitarbeiter (4) bestimmten im Skelettmuskel den Cl-Raum, der aber für die extrazelluläre Flüssigkeit zu hohe Werte ergibt und kein richtiges Maß für die Größe der extrazellulären Flüssigkeit darstellt (7).

In der vorliegenden Mitteilung wurde deshalb zusätzlich die Größe der extrazellulären Flüssigkeit in Leber und Muskel als Rohrzuckerverteilungsraum und mit ihrer Hilfe die Verteilung des H₂O, Na und K zwischen intra- und extrazellulärem Raum sowie die intrazelluläre Alkaliionenkonzentration bestimmt.

Methodik

Wir benutzten männliche Albinoratten (Wistar) mit einem durchschnittlichen Gewicht von 114 ± 6 g. 28 Tiere erhielten Mg-armes, 9 Kontrolltiere Mg-reiches Futter und bident. Wasser. Das Futter war wie folgt zusammengesetzt: 200 g Casein (Merck, nach Hammarsten), 100 g Olivenöl, 660 g Rohrzucker, 1 g einer Mischung von Spurenelementen (Zusammensetzung der Salz-

mischungen nach MACINTYRE und DAVIDSON (3)) sowie 40 g der Salzmischung C (3) für die Kontrolltiere bzw. 36,7 g der Salzmischung D (3) für die Mg-arm ernährten Tiere. An Vitaminen wurde zugesetzt:

Vitamin A	12000 I. E.
Thiaminmononitrat	18 mg
Riboflavin	18 mg
Pyridoxin · HCl	24 mg
Cyanokobalamin	12 µg
Ascorbinsäure	600 mg
α-Tocopherolacetat	24 mg
Vitamin D ₃	600 I. E.
Vitamin K (Synkavit)	5 mg
Nicotinsäureamid	120 mg
Folsäure	3 mg
Ca-Panthotenat	48 mg
Biotin	2 mg
Inosit	200 mg
p-Aminobenzoesäure	200 mg
Cholinchlorid	2 g

Die Nahrung enthielt (nach eigener Analyse) Na: 63 mMol/kg, K: 149 mMol/kg, Ca: 145 mMol/kg, Mg: 16 mMol/kg (Mg-reich) bzw. 0,5 mMol/kg (Mg-arm).

Diese Diät wurde 38 Tage lang verfüttert. Während dieser Zeit starben 15 der Mg-arm ernährten Tiere. Am Versuchsende (nach 38 Tagen) wurde den Tieren zur Bestimmung der extrazellulären Flüssigkeit 1 ml 14proz. Rohrzuckerlösung in eine Schwanzvene injiziert. 15 Min. danach wurde den Tieren in Äthernarkose mit einer Injektionsspritze Blut aus dem Herzen abgesaugt, anschließend wurden identische Herz-, Leber-, Nieren- und Muskel-(Oberschenkel)-Proben entnommen und von anhaftendem Blut, Binde- und Fettgewebe befreit. Die Gewebeproben wurden gewogen, in flüssiger Luft eingefroren und im Vakuum über Silicagel bei etwa 0,5 Torr gefriergetrocknet.

In den Seren wurde die Na-, K-, Mg-, Ca- und die Rohrzuckerkonzentration, von den Geweben der Wassergehalt, die extrazelluläre Flüssigkeit, der Na-, K- und Mg-Gehalt, wie früher ausführlich beschrieben (7, 8), bestimmt. Die Ca-Konzentration im Serum wurde durch photometrische Titration mit EDTA ermittelt (9).

Die Analysenergebnisse der Organe wurden auf Feuchtgewicht bezogen. Vom Gesamt Na- und K-Gehalt wurde zur Ermittlung der intrazellulären Werte der extrazelluläre Na- und K-Gehalt in Leber und Muskel abgezogen. Der extrazelluläre Na- und K-Gehalt wurde aus dem extravasalen und intravasalen Anteil, dessen Verhältnis mit 1:3 angenommen wurde, unter Berücksichtigung des Donnanfaktors (0,95) ermittelt. Zur Ermittlung der intrazellulären Na-K-Konzentration wurde durch die Menge des intrazellulären Wassers geteilt (genaue Berechnung s. (7, 8)).

Ergebnisse und Diskussion

Nach etwa 10 Tagen stellten sich bei den Mg-arm ernährten Tieren die typischen von allen Untersuchern beschriebenen Mg-Mangelerscheinungen, Vasodilatation und Hyperämie der Ohren, ein, die etwa eine Woche andauern und woran sich Nekrosen an den Ohrändern anschließen. Gleichzeitig treten bei einigen Tieren Ödeme an den Pfoten auf (3, 4, 5, 6).

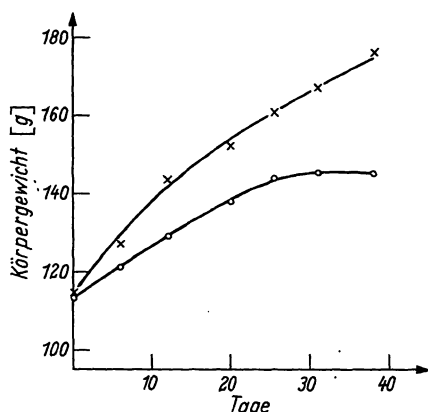


Abb. 1
Wachstumskurve von Magnesium-reich (x) und Magnesium-arm (o) ernährten Ratten

Die Mg-arm ernährten Tiere zeigten anfangs eine geringere Gewichtszunahme als die Kontrolltiere. Von der vierten Woche an bis zum Versuchsende nahm ihr Gewicht nicht mehr zu (Abb. 1). Bei längerer Versuchsdauer kann sogar Gewichtsverlust eintreten (3, 5).

Tab. 1
Na-, K-, Ca- und Mg-Konzentration im Serum (mMol/l)

	Na	K	Ca	Mg
Kontrolltiere	147,4 ± 0,7	7,01 ± 0,07	2,50 ± 0,07	0,90 ± 0,04
Mg-arm	146,0 ± 1,2	6,79 ± 0,21	2,70 ± 0,08	0,23 ± 0,02

Nach 38-tägiger Mg-armer Ernährung war gegenüber der Kontrollgruppe die Na- und K-Konzentration im Serum unverändert, die Mg-Konzentration von 0,90 auf 0,23 mMol/l abgesunken und die Ca-Konzentration von 2,50 auf 2,70 mMol/l angestiegen (Tab. 1).

Während der 38-tägigen Mg-armen Ernährung nahm der Mg-Gehalt in der Niere um 5%, in der Leber um 10%, im Herzmuskel um 14% und im Skelettmuskel um 21% ab (Tab. 3). Die Abnahme des Mg-Gehaltes in den Geweben ist also gegenüber der Abnahme im Serum sehr gering. Daraus folgt, daß die Serum-Mg-Konzentration ein empfindlicher Indikator für einen Mg-Mangel des Organismus ist und eine Substitution mit Mg nur bei verminderter Serum-Mg-Konzentration sinnvoll ist. Der K-Gehalt verhielt sich ähnlich wie das Mg. In der Niere fanden wir keine signifikante Änderung, in der Leber und im Herzmuskel eine geringe und im Skelettmuskel die größte Abnahme (Tab. 2).

Der Na-Gehalt verhielt sich reziprok: In der Niere änderte er sich nicht signifikant, in Leber und Herz nahm er wenig und in der Skelettmuskulatur stark zu.

Ein analoges Verhalten zeigte auch der Wassergehalt. In Niere und Herz blieb er konstant, in der Leber nahm er etwas und im Skelettmuskel am stärksten zu (Tab. 2). Die Größe der extrazellulären Flüssigkeit konnte wegen der dazu benötigten Substanzmenge nur in Leber und Skelettmuskel ermittelt werden. In der Leber nahm sie von 22,4% auf 15,0% ab, im Skelettmuskel von 9,9% auf 22,0% zu (Tab. 2).

Tab. 3
Na-, K- und Mg-Gehalt in Rattenorganen bezogen auf Feuchtigkeit

	Na mMol/kg	K mMol/kg	Mg mMol/kg
Kontrolltiere			
Herz	49,1	71,5	8,58
Leber	31,7	89,0	10,9
Niere	65,7	62,1	8,61
Muskel	30,9	96,5	12,0
Mg-arm			
Herz	53,9	68,5	7,36
Leber	35,7	85,1	9,85
Niere	66,5	64,5	8,17
Muskel	43,2	75,4	9,44

Die starke Zunahme der extrazellulären Flüssigkeit im Muskel läßt sich, wie gleichzeitig ausgeführte elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben (10), auf eine geringe Vergrößerung des interstitiellen Raumes und auf eine Erweiterung des transversalen Tubulus-

Tab. 2
Analysen der gefriergetrockneten Organe

	H ₂ O %	extrazelluläre Flüssigkeit %	Na mMol/kg Trockensubstanz	K mMol/kg Trockensubstanz	Mg mMol/kg Trockensubstanz
Kontrolltiere					
Herz	75,46 ± 0,24	—	200,0 ± 7,2	290,9 ± 6,3	34,9 ± 0,5
Leber	68,33 ± 0,27	22,4 ± 2,2	99,8 ± 2,4	280,5 ± 2,5	34,3 ± 0,9
Niere	76,34 ± 0,37	—	277,3 ± 6,6	261,9 ± 6,6	36,3 ± 0,7
Muskel	73,83 ± 0,32	9,9 ± 0,4	117,8 ± 2,2	368,3 ± 11,0	45,9 ± 1,0
Mg-arm					
Herz	75,20 ± 0,22	—	217,3 ± 9,9	276,1 ± 6,1	29,7 ± 1,4
Leber	69,80 ± 0,34	15,0 ± 1,2	118,7 ± 3,7	281,9 ± 6,0	32,6 ± 0,6
Niere	76,01 ± 0,41	—	277,6 ± 6,0	268,2 ± 4,4	34,0 ± 0,6
Muskel	76,40 ± 0,28	22,0 ± 1,6	182,9 ± 7,6	319,6 ± 7,3	40,0 ± 2,1

systems zurückführen, das mit der extrazellulären Flüssigkeit in Verbindung steht (11, 12, 13, 14) und das sich auch unter anderen Bedingungen, z. B. Behandlung mit Methylthiouracil, erweitert (15). Möglicherweise sind auch die im Mg-Mangel vermehrt auftretenden submembranösen Cysternen an der Zunahme der extrazellulären Flüssigkeit beteiligt (10).

Die Kenntnis der Größe der extrazellulären Flüssigkeit gestattet es, die Menge des intrazellulären Wassers und

Tab. 4

Extrazellulärer (EZ) und intrazellulärer (IZ) Na- und K-Gehalt sowie intrazelluläre Na- und K-Konzentration in den Organen der normalen und Mg-arm ernährten Ratten

	[Na] _{EZ} mMol/ kg	[Na] _{IZ} mMol/ kg	[Na] _{IZ} mMol/ l	[K] _{EZ} mMol/ kg	[K] _{IZ} mMol/ kg	[K] _{IZ} mMol/ l
Kontrolltiere						
Leber	31,7	0	0	1,51	87,5	194
Muskel	14,0	16,9	26,4	0,66	95,8	150
Mg-arm						
Leber	21,6	14,1	25,5	0,98	84,1	152
Muskel	30,9	12,3	22,7	1,43	74,0	136

daraus, wenn man annimmt, daß das intrazelluläre Wasser vollständig zum Lösen des gesamten intrazellulären Na bzw. K zur Verfügung steht, die intrazellulären Alkali-Konzentrationen zu berechnen.

Der vermehrten extrazellulären Flüssigkeit im Muskel entspricht ein vergrößerter Na-Gehalt. Die Berechnung des extra- und intrazellulären Na-Gehaltes sowie der intrazellulären Na-Konzentration zeigt, daß die Zunahme des Na-Gehaltes nur extrazellulär erfolgt (s. Tab. 4). Die auf gleiche Weise erhaltene intrazelluläre K-Konzentration im Muskel ist bei den Mg-arm ernährten Tieren von 150 mMol/l auf 136 mMol/l abgesunken (Tab. 4).

Die intrazelluläre K-Konzentration in der Leber hat noch stärker, nämlich von 194 auf 152 mMol/l abgenommen. Die intrazelluläre Na-Konzentration in der Leber verhält sich entgegengesetzt. Sie steigt von 0 bei den Kontrolltieren auf 25,5 mMol/l bei den Versuchstieren an (Tab. 4).

Das Verhalten der intrazellulären K-Konzentration in Leber und Muskel läßt sich mit einer Abnahme des K-Influges oder Zunahme des K-Effluxes erklären. Das reziproke Verhalten des Na in der Leber deutet auf eine Kopplung des K- und Na-Transportes. Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß der aktive Na-K-Transport durch die Zellmembran, der für die unterschiedliche Na- und K-Verteilung zwischen intra- und extrazellulärer Flüssigkeit verantwortlich ist, bei den Mg-Mangel-tieren verringert ist. Hiermit stimmt überein, daß der K-Verlust bei Mg-Mangeltieren nicht durch eine verminderte Nierenleistung erklärt werden konnte (16) und auch bei erhöhter K-Zufuhr mit der Nahrung erfolgte (4). Eine Abnahme des aktiven Alkaliionentransportes bei Mg-arm ernährten Tieren entspräche auch der Abnahme des aktiven K-Transportes, die wir früher bei Mg-arm gewachsenen Zellen von *E. coli* gefunden haben (2).

Die Mg-Werte (Tab. 3) wurden nicht in gleicher Weise behandelt wie die Na- und K-Werte, denn der extra-

zelluläre Mg-Anteil beträgt gegenüber dem intrazellulären Mg nur etwa 1% und kann daher vernachlässigt werden. Eine berechnete intrazelluläre Mg-Konzentration würde nichts über das Verhalten der intrazellulären Mg-Ionenkonzentration und des Mg-Transportes aussagen, denn das Mg in der Zelle ist zu etwa 80% komplex gebunden (17); der Rest ist ionisiert und Bestandteil des intrazellulären Mg-Puffersystems (18), so daß die Konzentration des ionisierten Mg in der Zelle in einem größeren Bereich nahezu unabhängig vom Gesamt-Mg sein wird. Dieses Verhalten konnte bei *E. coli* direkt gemessen werden (1). Es ist also anzunehmen, daß in der tierischen Zelle bei der wesentlich geringeren Abnahme des Mg-Gehaltes die intrazelluläre Mg-Ionenaktivität auch praktisch konstant bleibt und die intrazellulären Mg-Ionen nicht im Diffusionsgleichgewicht mit den extrazellulären Mg-Ionen stehen. Daraus ergibt sich die Frage, wie die Änderungen der Wasser-, Na- und K-Verteilung zustande kommen.

Bei *E. coli*-Zellen wurde der verminderte aktive Transport Mg-armer Zellen durch Zugabe von Mg nicht normalisiert, obgleich die Zellen innerhalb weniger Minuten den gleichen Mg-Gehalt wie die Kontrollzellen hatten. Der K-Transport normalisierte sich erst, wenn die Bakterien wuchsen und Protein synthetisieren konnten (2). Offenbar mußte erst ein Enzym oder Protein gebildet werden, das während der Ausbildung des Mg-Mangels nicht mehr in ausreichender Menge gebildet wurde. Geringe Änderungen der Enzymaktivitäten konnten wir auch bei tierischen Zellen feststellen (19), ob die verminderte Menge eines Proteins für den veränderten Na-K-Transport verantwortlich ist, ist nicht bekannt.

Bei Mg-verarmten *E. coli*-Zellen sind Glykolyse und oxydative Phosphorylierung vermindert (20). Es besteht daher zweitens die Möglichkeit, daß eine für den aktiven K-Transport erforderliche energiereiche Verbindung nicht in ausreichender Konzentration vorhanden ist. Ob dies auch für den verminderten aktiven Transport tierischer Zellen zutrifft, bleibt offen, da der Stoffwechsel Mg-verarmter tierischer Zellen nicht untersucht ist. Herzmuskelsarcosomen aus Mg-arm ernährten Ratten waren zwar in vitro entkoppelt (21), besonders bei Mg-freier Inkubation (22). Die Abnahme des P/O-Quotienten konnte aber von anderen Untersuchern nicht bestätigt werden (23).

Eine andere Möglichkeit wäre die Aktivitätsabnahme der am Na-K-Transport bei tierischen Zellen beteiligten Mg-abhängigen Na-K-aktivierbaren ATPase der Zellmembran. Infolge der starken Abnahme der extrazellulären Mg-Konzentration könnte das Enzym an der Außenseite der Zellmembran nicht mehr mit Mg gesättigt sein.

Außerdem sind wahrscheinlich Mg-Komplexe mit Bestandteilen der Zellmembran durch die starke Abnahme der extrazellulären Mg-Konzentration dissoziiert. Dadurch könnten Eigenschaften der Zellmembran und z. B. ihre Permeabilität für Alkaliionen geändert sein.

Literatur

1. GÜNTHER, TH. und F. DORN, *Zschr. Naturfor.* 24b, 713 (1969). —
2. GÜNTHER, TH. und P. MARISS, *Zschr. Naturfor.* 23b, 334 (1968). —
3. MACINTYRE, I. und D. DAVIDSON, *Biochem. J.* 70, 456 (1958). —
4. WHANG, R. und L. G. WELT, *J. Clin. Invest.* 42, 305 (1963). —
5. MARTINDALE, L. und F. W. HEATON, *Biochem. J.* 92, 119 (1964). —
6. WALSER, M., *Erg. Physiol* 59, 185 (1967). —
7. DULCE, H. J. und TH. GÜNTHER, *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exper. Pathol. Pharmacol.* 238, 368 (1960). —
8. GÜNTHER, TH. und CH. ALTER, *diese Z.* 5, 67 (1967). —
9. SIEGMUND, P. und H.-J. DULCE, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie* 320, 149 (1960). —
10. MERKER, H. J. und TH. GÜNTHER, *diese Z.* 8, 71 (1970). —
11. FRANZINI-ARMSTRONG, C., *Fed. Proc.* 23, 887 (1964). —
12. FORSSMANN, W. G. und L. GIRARDIER, *Zschr. Zellforsch.* 72, 249 (1966). —
13. HILL, D. K., *J. Physiol.* 179, 368 (1965). —
14. ZADUNAISKY, J. A., *J. Cell Biol.* 31, C 11 (1966). —
15. GÜNTHER, TH., C. GOECKE und J. WOLFF, *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exper. Pathol. u. Pharmacol.* 258, 280 (1967). —
16. MAURITIUS, A. und F. H. EPSTEIN, *J. Clin. Invest.* 42, 208 (1963). —
17. GÜNTHER, TH., *Zschr. Naturfor.* 22b, 149 (1967). —
18. GÜNTHER, TH., *Zschr. Naturfor.* 21b, 1174 (1966). —
19. GÜNTHER, TH., *diese Z.* 8, 69 (1970). —
20. GÜNTHER, TH., und P. MARISS, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie* 349, 623 (1968). —
21. VITALE, J. J., M. NAKAMURA und D. M. HEGSTED, *J. biol. Chemistry* 228, 573 (1957). —
22. GIORGIO, J. D., J. J. VITALE und E. E. HELLERSTEIN, *Biochem. J.* 82, 184 (1962). —
23. BEECHY, R. B., N. ALCOCK, S. HANNA und I. MACINTYRE, *Biochem. J.* 71, 181 (1959).

Prof. Dr. Th. Günther
1000 Berlin 33, Arnimallee 22