

JOURNAL FÜR HYPERTONIE

WESTERMANN GW, KISTERS K, RAHN KH, TOKMAK F

Erniedrigte Membran-Mg⁺⁺ Konzentrationen in einer Untergruppe von Hochdruckkranken - ein Membranmodell für die Pathogenese der primären Hypertonie

*Journal für Hypertonie - Austrian Journal of Hypertension 1999;
3 (3), 34-38*

Homepage:

www.kup.at/hypertonie

Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche

ZEITSCHRIFT FÜR HOCHDRUCKERKRANKUNGEN

Datenschutz:

Ihre Daten unterliegen dem Datenschutzgesetz und werden nicht an Dritte weitergegeben. Die Daten werden vom Verlag ausschließlich für den Versand der PDF-Files des Journals für Hypertonie und eventueller weiterer Informationen das Journal betreffend genutzt.

Lieferung:

Die Lieferung umfasst die jeweils aktuelle Ausgabe des Journals für Hypertonie. Sie werden per E-Mail informiert, durch Klick auf den gesendeten Link erhalten Sie die komplette Ausgabe als PDF (Umfang ca. 5–10 MB). Außerhalb dieses Angebots ist keine Lieferung möglich.

Abbestellen:

Das Gratis-Online-Abonnement kann jederzeit per Mausklick wieder abbestellt werden. In jeder Benachrichtigung finden Sie die Information, wie das Abo abbestellt werden kann.

Das e-Journal

Journal für Hypertonie

- ✓ steht als PDF-Datei (ca. 5–10 MB) stets internetunabhängig zur Verfügung
- ✓ kann bei geringem Platzaufwand gespeichert werden
- ✓ ist jederzeit abrufbar
- ✓ bietet einen direkten, ortsunabhängigen Zugriff
- ✓ ist funktionsfähig auf Tablets, iPads und den meisten marktüblichen e-Book-Readern
- ✓ ist leicht im Volltext durchsuchbar
- ✓ umfasst neben Texten und Bildern ggf. auch eingebettete Videosequenzen.

ERNIEDRIGTE MEMBRAN-MG⁺⁺- KONZENTRATIONEN IN EINER UNTERGRUPPE VON HOCHDRUCKKRANKEN – EIN MEMBRANMODELL FÜR DIE PATHOGENESE DER PRIMÄREN HYPERTONIE

Summary

The Mg⁺⁺ content of cell membranes (erythrocytes) of 18 untreated normotensive control persons and 19 untreated patients with essential hypertension was determined. The Mg⁺⁺ concentrations were measured by atomic absorption spectroscopy. The results show that in patients with essential hypertension the total Mg⁺⁺ content in membranes of erythrocytes was significantly decreased than compared to the control group ($0,28 \pm 0,05$ versus

$0,52 \pm 0,15$ mmol/g membrane protein, mean $\pm$ SD, $p < 0,001$). Additionally, plasma and free intracellular Mg⁺⁺ concentrations of platelets and lymphocytes were measured and showed no significant difference between both groups. Lowered total membrane Mg⁺⁺ concentrations in a subgroup of patients with primary hypertension may be involved in the pathogenesis of this disease, perhaps due to different buffer- or membrane-transport-systems.

Ergebnisse im intrazellulären Mg⁺⁺-Gehalt bei essentiellen Hypertonikern könnten in unterschiedlichen Analysetechniken oder in Untersuchungen an verschiedenen Zellpopulationen begründet sein. Prinzipiell können entweder ein gestörter transmembranöser Mg⁺⁺-Transport über eines der verschiedenen Mg⁺⁺-Transportsysteme oder Verschiebungen des intrazellulären Mg⁺⁺ zwischen den einzelnen Zellkompartimenten Ursache einer veränderten intrazellulären Magnesiumkonzentration sein. Es sind daher Untersuchungen – neben Studien bezüglich des freien intrazellulären Magnesiums – hinsichtlich der Membrankonzentration an Magnesium von besonderem Interesse, um die Ursache des erniedrigten intrazellulären Mg⁺⁺-Gehalts näher zu klären.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Mg⁺⁺ Gehalt von Erythrozytenmembranen 18 unbehandelter normotensiver Kontrollpersonen und 19 unbehandelter hypertensiver Patienten wurde bestimmt. Die Mg⁺⁺ Konzentrationen der Membranen wurden mit einem Atomabsorptionsspektroskop gemessen. Die Ergebnisse zeigen, daß bei Patienten mit essentieller Hypertonie der Mg⁺⁺ Gehalt der Erythrozytenmembranen signifikant niedriger gegenüber den normotensiven Kontrollpersonen lag ($0,28 \pm 0,05$ gegenüber $0,52 \pm 0,15$ mmol/g Membranprotein, Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, $p < 0,001$). Die außerdem bestimmten Konzentrationen von Mg⁺⁺ im Plasma sowie des freien intrazellulären Mg⁺⁺ in Thrombozyten und Lymphozyten ergaben hingegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Gruppen. Erniedrigte Konzentrationen

des Zellmembran-Magnesiums könnten bei einer Untergruppe essentieller Hypertoniker an der Pathogenese der primären Hypertonie beteiligt sein, z. B. infolge veränderter zellulärer Puffer- oder Membrantransportsysteme.

EINLEITUNG

Veränderungen im Mg⁺⁺-Metabolismus sind an der Pathogenese der primären Hypertonie beteiligt [1, 2]. Die Magnesiumkonzentrationen im Plasma spiegeln nur unzureichend Störungen im Magnesiumhaushalt bei Hypertonikern wider [3]. Daher sind freie und absolute intrazelluläre Magnesiumkonzentrationen bei essentiellen Hypertonikern von größerem Interesse [4]. In Erythrozyten essentieller Hypertoniker wurden erniedrigte intrazelluläre Konzentrationen an freiem Mg⁺⁺ beschrieben, wohingegen andere Untersucher dies nicht bestätigen konnten [3, 4]. Diese differenti-

PATIENTEN UND METHODEN

Es wurden 37 Patienten untersucht, die sich aus 19 unbehandelten essentiellen Hypertonikern und 18 Personen, welche als Kontrollen dienten, zusammensetzten. Keiner dieser Patienten erhielt eine antihypertensive, kardiovaskuläre oder diuretische Therapie zum Zeitpunkt bzw. seit wenigstens 6 Wochen vor Beginn der Studie. Die klinischen Daten der Patienten sind in der Tabelle 1 dargestellt. Bei jeder Person wurden der Plasmamagnesiumspiegel, das freie intrazelluläre Magnesium in Thrombozyten und Lymphozyten sowie das Membranmagnesium von Erythrozyten bestimmt.

Die Konzentrationen von Magnesium im Plasma wurden mit einem Atomabsorptionsspektroskop (Thermo Jarrell ASH Video 12, Thermo Jarrell Instrumentation Laboratory, Andover, MA, USA) gemessen [4]. Die Lymphozyten wurden aus 20 ml heparinisiertem Blut durch mehrmaliges Zentrifugieren gewonnen [4–6]. Danach wurde der freie intrazelluläre Magnesiumgehalt unter Verwendung des Fluoreszenz-Indikators mag-fura-2 (Molecular Probes, Eugene, OR) bestimmt [7, 8]. Die Kalibrierung des Fluoreszenzsignals bezüglich des intrazellulären Magnesiums erfolgte analog zu bereits früher beschriebener Methodik [5].

Das freie zelluläre Magnesium wurde entsprechend der Gleichung, die von Grynkiewicz et al. [9] aufgestellt wurde, errechnet: $Mg^{++} = K \cdot (R - R_{min}) / (R_{max} - R)$, wobei R_{min} für das Verhältnis in magnesium- und kalziumfreier Lösung, R_{max} für das Verhältnis bei Magnesium- und Kalzium-sättigung, und K für $1,5 \text{ mmol/l} \cdot F_{min}/F_{max2}$ stehen. Letzteres repräsentiert das Fluoreszenzminimum und -maximum bei 400 nm Exzitation. Die K_D von mag-fura-2 wurde bei 1,5 mmol/l bestimmt [7, 10].

Die Thrombozyten wurden wie die Lymphozyten durch wieder-

holtes Zentrifugieren von heparinisiertem Blut erhalten [11]. Die freie Magnesiumkonzentration im Zytosol (Mg^{++}) wurde nach Inkubation der Thrombozyten mit 10 $\mu\text{mol/l}$ mag-fura-2-Acetoxymethylester (Calbiochem, Bad Soden, Germany) und 0,1 % von dem nicht ionischen Detergens Pluronic F-127 (Molecular Probes, Eugene, OR) gemessen. Die Kalibrierung des Mg^{++} erfolgte entsprechend bereits anderweitig dargestellter Methodik [4, 5, 7]. Die maximale Fluoreszenzintensität (F_{max}) wurde nach Hinzugabe von 250 $\mu\text{mol/l}$ Digitonin und die minimale Fluoreszenzstärke (F_{min}) nach Hinzugabe von Ethylenglycol-bis-(aminoethyl-ether)-tetra-acetic acid (EGTA) erhalten. Das zytosolische Mg^{++} wurde wiederum nach der Gleichung von Grynkiewicz et al. berechnet [9]. Die K_D wurde mit Hilfe des Hanes Plot – wie von Jung et al. beschrieben – bestimmt [12].

Der Membranismagnesiumgehalt wurde in Erythrozytenmembranen bestimmt. Die Erythrozyten wurden dreimalig mittels Sedimentation in einer Zentrifuge (2300 g über 10 Minuten) gewaschen. Das so erhaltene Pellet wurde in dem fünffachen Volumen einer mit Phosphat gepufferten Salzlösung (150

mmol/l Natriumchlorid und 5 mmol/l Natriumphosphat, pH 8,0) resuspendiert. Der Überstand wurde jedesmal sorgfältig von der Oberfläche des Pellets aspiriert. Eine Hämolyse wurde durch schnelles und gründliches Mixen von 1 ml Zellen mit 40 ml einer Natriumphosphatlösung (5 mmol/l, pH 8,0) initiiert. Die Membranen wurden mittels Zentrifugation bei 22000 g für 10 Minuten abgesondert. Der Überstand wurde abpipettiert. Das Reagenzglas wurde daraufhin vorsichtig berührt und um die eigene Achse gedreht, so daß die losen Membranen von einem kleinen, harten Grund, welcher zahlreiche Proteasen enthielt, abglitten und anschließend aspiriert werden konnten. Nach zwei weiteren identischen Waschvorgängen waren die Membranen cremweiß und morphologisch intakt [13].

Das Membranpellet wurde anschließend in 1 ml bidestilliertem Wasser gelöst. Der Magnesiumgehalt in dieser Lösung wurde mittels einem Atomabsorptionsspektroskop (s.o.) gemessen. Danach wurde die Proteinmenge der Membranen unter Verwendung von Coomassie Blue (Serva) entsprechend der Bradford-Methode ermittelt [14]. Zuletzt wurde der Magnesiumgehalt der Zellmembranen auf den Gehalt an Membranprotein bezogen.

Tabelle 1: Klinische Daten von 18 normotensiven Kontrollpersonen (K) und 19 Patienten mit essentieller Hypertonie (HT); Mittelwerte $\pm$ SD; $p < 0,05$

	Kontrollpersonen (K)	Patienten (HT)
Systolischer Blutdruck (mmHg)	115,4 $\pm$ 10,1	178,4 $\pm$ 14,3
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	83,3 $\pm$ 7,8	106,9 $\pm$ 14,0*
Serumkreatinin (mg %)	1,02 $\pm$ 0,11	0,98 $\pm$ 0,12
Alter (Jahre)	48,6 $\pm$ 13,9	52,8 $\pm$ 8,7
Geschlecht (m/w)	9/9	9/10

Die statistischen Analysen erfolgten mittels ANOVA und Bonferroni post-hoc Test. Die Daten entsprechen den Mittelwerten $\pm$ der Standardabweichung (SD). Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant betrachtet.

ERGEBNISSE

Bei 18 normotensiven Personen und 19 essentiellen Hypertonikern wurden Plasmamagnesiumspiegel, freies intrazelluläres Magnesium in Thrombozyten und Lymphozyten und der Gehalt an Magnesium in Erythrozytenmembranen bestimmt.

Bezüglich der Plasmamagnesiumkonzentrationen bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Kontrollpersonen ($0,92 \pm 0,07$ mmol/l) und den Patienten ($0,88 \pm 0,07$ mmol/l). Die Plasmamagnesiumkonzentration lag außerdem bei beiden Gruppen im Normbereich von 0,8 bis 1,2 mmol/l.

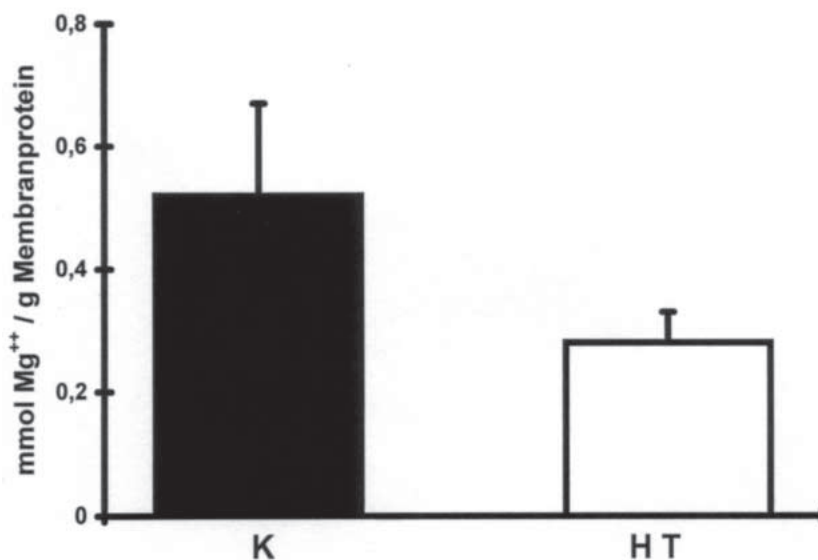
Die Konzentration des freien Magnesiums im Zytosol der Lymphozyten betrug bei den Normalpersonen $0,38 \pm 0,17$

mmol/l und bei den Hypertonikern $0,30 \pm 0,16$ mmol/l.

Auch bezüglich der Konzentration des freien Magnesiums in den Thrombozyten fand sich kein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($0,52 \pm 0,23$ mmol/l bei den gesunden Probanden gegenüber $0,47 \pm 0,27$ mmol/l bei den Patienten).

Der Magnesiumgehalt der Erythrozytenmembranen war in der Hypertoniegruppe deutlich gegenüber den Gesunden erniedrigt: $0,28 \pm 0,05$ gegenüber $0,52 \pm 0,15$ mmol/g Membranprotein; $p < 0,001$ (Abbildung 1). Innerhalb beider Gruppen bestand keine signifikante Korrelation zwischen dem freien intrazellulären Magnesium, dem Membranamagnesium der Erythrozyten, dem Plasmamagnesium und den Blutdruckwerten.

Abbildung 1: Magnesiumkonzentrationen von Erythrozytenmembranen von 18 normotensiven Kontrollpersonen (K) und von 19 Patienten mit essentieller Hypertonie (HT)



DISKUSSION

In Untersuchungen beim Menschen können lediglich Blutzellen routinemäßig zur Bestimmung des Membran- oder intrazellulären Magnesiums verwendet werden [1–4].

Die intrazelluläre Konzentration, bzw. genauer gesagt die Ionenaktivität des freien intrazellulären Magnesiums unterscheidet sich zwischen den einzelnen Zelltypen (z. B. Thrombozyten oder Lymphozyten) und ist auch innerhalb des Zytosols unterschiedlich [7, 10, 15]. Das System, welches aus freiem und gebundenem Magnesium besteht (ca. 90 % des gesamten Mg^{++} sind gebunden), repräsentiert einen Mg^{++} -Puffer [4]. Um die Rolle des Magnesiums in der Genese des zugrunde liegenden zellulären Defektes bei essentiellen Hypertonikern zu klären, sollten daher sowohl die freie zytosolische als auch die Membran- Mg^{++} -Konzentration betrachtet werden.

Wie unsere Ergebnisse zeigen, scheint es wahrscheinlich zu sein, daß ein spezifischer Defekt entweder im transmembranösen Mg^{++} -Transport oder im Membransystem an der Pathogenese der primären Hypertonie beteiligt ist. Trotzdem bleibt weiterhin unklar, ob erniedrigte intrazelluläre bzw. Membran- Mg^{++} -Konzentrationen Folge oder Ursache der essentiellen Hypertonie sind [4].

Die Rolle einer erniedrigten zellulären Mg^{++} -Konzentration mit nachfolgender Veränderung des Gefäßtonus wurde in der

Genese der essentiellen Hypertonie postuliert [1–3]. Resnick et al. fanden mittels NMR-Spektroskopie erniedrigte intrazelluläre freie Mg^{++} -Konzentrationen in Erythrozyten essentieller Hypertoniker [3]. Ähnliche Ergebnisse wurden bei spontan hypertonen Ratten gefunden [2]. Daher könnten ein intrazellulärer Magnesiummangel und möglicherweise ein Defekt von Magnesiumtransportsystemen der Zellmembran eine pathogene Rolle spielen. Experimentelle Daten zeigen, daß veränderte Magnesiumkonzentrationen zu Modifikationen der Antwort auf vasopressorische Hormone und zu einer Interaktion mit dem zellulären Kalziumhaushalt führen, denn extrazelluläre Mg^{++} -Konzentrationen können den Kalziummetabolismus der glatten Gefäßmuskulatur über eine Veränderung des Kalziumeinstroms durch die Zellmembran, welcher von der Phosphorylierung durch die zyklische Adenosin-Monophosphatase abhängt, beeinflussen. Zudem können Veränderungen der extrazellulären Mg^{++} -Konzentration inverse Veränderungen des Ca^{++} -Gehaltes innerhalb von glatten Gefäßmuskelzellen und im austauschbaren Ca^{++} bewirken. Eine Abnahme der freien intrazellulären Magnesiumkonzentration vermindert die Aktivität der Na^+/K^+ -ATPase der Zellmembran und die Ca^{++} -ATPase-Aktivität, und bewirkt als Folge davon einen erhöhten Na^+-Ca^{++} -Austausch und erhöhte intrazelluläre Na^+ - und Ca^{++} -Konzentrationen [4].

Die Variation der Magnesiumwerte innerhalb der Gruppe der Hypertoniker war größer als in der Gruppe der normotensiven Personen. Da methodische Unter-



Dr. Gerald W. Westermann

Geboren 1967 in Dortmund. Von 1987 bis 1994 Medizinstudium an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster. 1994 Promotion mit dem Thema „Kombinierte Eiweißfällung und Chromatographie zur Isolierung eines Hochdruck-erzeugenden Faktors“. Seit 1997 Untersuchungen in der Magnesiumarbeitsgruppe (Leiter: PD Dr. K. Kisters) der Medizinischen Poliklinik D (Direktor: Prof. Dr. K.H. Rahn).

Korrespondenzadresse:

Dr. med. Gerald W. Westermann
Medizinische Poliklinik D, Westfälische Wilhelms-Universität Münster
D-48149 Münster, Albert-Schweitzer-Straße 33

schiede als Ursache hierfür eher unwahrscheinlich sind, könnte ein Erklärungsmodell sein, daß die essentiellen Hypertoniker eine inhomogene Gruppe darstellen. Möglicherweise spielt ein erniedrigtes Gesamtmagnesium der Zelle oder ein erniedrigter Membrangehalt an Magnesium eine Rolle in der Pathogenese der essentiellen Hypertonie lediglich bei einer Untergruppe von Hypertonikern, die gegenwärtig nicht anhand klinischer Charakteristika identifiziert werden kann.

Literatur

1. Altura BM, Altura BT, Carella A. Magnesium deficiency-induced spasms of umbilical vessels: relation to preeclampsia, hypertension, growth retardation. *Science* 1983; 221: 376–8.
2. Seelig MS. Mg^{++} deficiency in the pathogenesis of disease. Plenum Press, New York, 1980.
3. Resnick LM, Gupta RK, Laragh JH. Intracellular free magnesium in erythrocytes of essential hypertension: relation to blood pressure and serum divalent cations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 6511–5.
4. Kisters K, Tepel M, Spieker C, Dietl KH, Barenbrock M, Rahn KH, Zidek W. Decreased cellular Mg^{2+} concentrations in a subgroup of hypertensives - cell models for the pathogenesis of primary hypertension. *J Hum Hypertens* 1997; 11: 367–72.
5. Tepel M, Theilmeier G, Bachmann J, Barenbrock M, Spieker C, Ganten D, Rahn KH, Zidek W. Increased cytosolic sodium and reduced Na^+ , K^+ -ATPase activity in transgenic rats. *Hypertension* 1994; 23: 1198–202.
6. Perper RJ, Zee TW, Mickelson MM. Purification of lymphocytes and platelets by gradient centrifugation. *J Lab Clin Med* 1968; 72: 842–8.
7. Raju B, Murphy E, Levy LA, Hall RD, London RE. A fluorescent indicator for measuring cytosolic free magnesium. *Am J Physiol* 1989; 256: C540–8.

8. Dai LJ, Quamme GA. Cyclic nucleotides alter intracellular free Mg^{2+} in renal epithelial cells. *Am J Physiol* 1992; 262: F1100–4.
9. Gryniewicz G, Poenie M, Tsien RY. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J Biol Chem* 1985; 260: 3440–50.
10. Okada K, Ishikawa S, Saito T. Cellular mechanisms of vasopressin and endothelin to mobilize $[Mg^{2+}]_i$ in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1992; 263: C873–8.
11. Bowry SK, Müller-Berghaus G. Aggregation of washed platelets from non-anticoagulated human blood is not reversible. *Thromb Haemost* 1986; 56: 172–7.
12. Jung DW, Apel LM, Brierley GP. Transmembrane gradients of free Na^+ in isolated heart mitochondria estimated using a fluorescent probe. *Am J Physiol* 1992; 262: C1047–55.
13. Forder J, Scriabine A, Rasmussen H. Plasma membrane calcium flux, protein kinase C activation and smooth muscle contraction. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 235: 267–73.
14. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248–54.
15. Pritchard K, Raine AE, Ashley CC, Castell LM, Somers V, Osborn C, Ledingham JG, Conway J. Correlation of blood pressure in normotensive and hypertensive individuals with platelet but not lymphocyte intracellular free calcium concentrations. *Clin Sci* 1989; 76: 631–5.

Mitteilungen aus der Redaktion

Abo-Aktion

Wenn Sie Arzt sind, in Ausbildung zu einem ärztlichen Beruf, oder im Gesundheitsbereich tätig, haben Sie die Möglichkeit, die elektronische Ausgabe dieser Zeitschrift kostenlos zu beziehen.

Die Lieferung umfasst 4–6 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Das e-Journal steht als PDF-Datei (ca. 5–10 MB) zur Verfügung und ist auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

☒ **Bestellung kostenloses e-Journal-Abo**

Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

☒ **Bilddatenbank**

☒ **Artikeldatenbank**

☒ **Fallberichte**

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

Impressum

Disclaimers & Copyright

Datenschutzerklärung