

## Summary

*Prognostic factors for the development of diabetes mellitus complications. Doelman CJA, Bilo HJG, Dikkeschei LD Voorst tot Voorst E van, Ballegooie E van en Miedema K. Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 50-55.*

Diabetes mellitus is a frequent occurring disease in the Western world. Long-term effects of this disease are microvascular alterations, retinopathy, neuropathy and nephropathy. Chronic hyperglycaemia results in an improved risk for this diabetic complications. Many mechanisms have been proposed, but the exact pathophysiological pathway is still unknown. Formation of glycosylated proteins and advanced glycosylated endproducts, reactive oxygen species formation, changes in lipidprotein

profile, coagulation abnormalities and alterations in the arachidonic acid metabolism may all contribute to the genesis of diabetic complications. Some of these biochemical alterations may precede the clinical manifestation of these diabetic complications and may be used as a disease marker. Moreover pharmacologic intervention in one or more of these biochemical alterations may postpone the development of complications. Both biochemical and pharmaceutical investigations have been started in hospital De Weezenlanden in Insulin Dependent as well as in Non-Insulin Dependent Diabetic patients in order to receive more insight in the pathophysiology of diabetic complications and the way to interfere in this process

*Key-words: diabetes mellitus; long-term complications; glycoxidation.*

Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 55-63

## Magnesiumonderzoek in ontwikkeling

J. L. WILLEMS<sup>1</sup>, H. J. HUIJGEN<sup>2</sup>, H. E. van INGEN<sup>3</sup>, P. VIS<sup>4</sup>, J. LEMMERS<sup>1</sup>, W. B. GEVEN<sup>5</sup>  
en G. T. B. SANDERS<sup>2</sup>

Het is nog allerminst duidelijk welke parameter(s) gemeten moet(en) worden om uitspraken te kunnen doen over de magnesiumstatus van het lichaam. Het grote belang van dit element voor de stofwisseling kan worden afgeleid uit haar centrale rol in vele enzymatische processen zoals in de energievoorziening en in de RNA-, DNA- en eiwitsynthese. Ook in de processen, die verband houden met de regulatie van de intracellulaire kationconcentratie speelt  $Mg^{2+}$  in samenspel met  $Ca^{2+}$  een hoofdrol.

In klinisch opzicht is hypomagnesiëmie belangrijker dan hypermagnesiëmie. Bij de hypomagnesiëmie is het moeilijk te beoordelen of er sprake is van een magnesiumdeficiëntie. Een antwoord kan mogelijk met behulp van een magnesiumbelastingstest gegeven worden.

Technisch is het nu mogelijk om zowel de intracellulaire als ook de extracellulaire (bloed)  $Mg^{2+}$  concentraties te meten, waarbij bovendien onderscheid kan worden gemaakt in eiwit-, complexgebonden of vrije (geïoniseerde) vorm. Een overzicht van de meetmethoden wordt gegeven. Echter de correlatie van welke verschijningsvorm van  $Mg^{2+}$  dan ook in diverse soor-

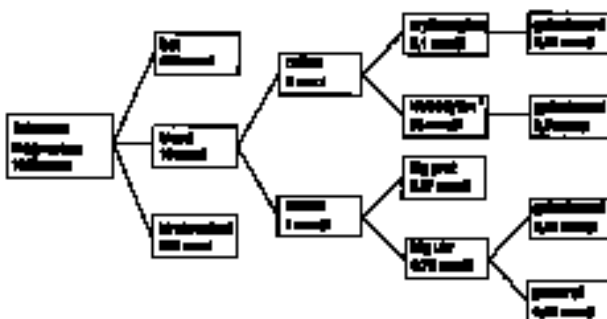
ten cellen met de in het serum voorkomende  $Mg^{2+}$  fracties is slecht. Veel onderzoek zal daarom nodig zijn om hierop een antwoord te kunnen geven, waarbij speciale aandacht zal moeten worden gegeven aan de bestudering van transport processen en aan de compartimentalisatie van  $Mg^{2+}$  in de cel.

Binnen de klinische chemie in Nederland wordt op enkele plaatsen gewerkt aan het verkrijgen van meer inzicht in de rol van magnesium in fysiologische, biochemische en andere processen in het menselijk lichaam. Een compleet overzicht over alle aspecten van dit element zou te ver voeren. De auteurs hebben de aandacht vooral gericht op de betekenis van het intracellulaire magnesium in relatie met het serum magnesium en de klinische implicaties hiervan.

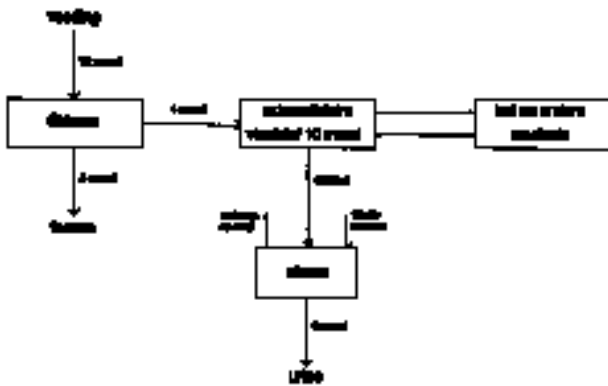
De totale hoeveelheid magnesium in het lichaam van volwassenen bedraagt ongeveer 1000 mmol, waarvan het grootste gedeelte (50 - 70%) in het skelet aanwezig is. De magnesiummoleculen in het bot zijn van wezenlijk belang voor de stevigheid van de matrix. De magnesium ionen zijn niet opgenomen in de apatiet-

*Afdeling Klinische chemie<sup>1</sup> en Kindergeneeskunde<sup>5</sup> van het Academisch ziekenhuis Nijmegen, St. Radboud; Afdeling Klinische chemie<sup>2</sup> van het Academisch Medisch Centrum bij de Universiteit van Amsterdam; Afdeling Klinische chemie<sup>3</sup> van de Dr. Daniel den Hoed Kliniek te Rotterdam; Afdeling Fysiologie<sup>4</sup> van de Faculteit der Medische Wetenschappen, Universiteit van Nijmegen.*

Correspondentie: Dr. J.L. Willems, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, Academisch ziekenhuis Nijmegen, St. Radboud, Geert Groteplein 8, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.



**Figuur 1.** Overzicht van alle magnesium fracties met hun referentie waarden.



**Figuur 2.** Magnesium turnover per dag bij een normale volwassene.

structuur maar komen voor in een schil rond het hydroxy-apatietkristal (1). De mogelijkheid om het botmagnesium te benutten is beperkt en neemt af met toenemende leeftijd (2). Het overige magnesium bevindt zich in de weefsels en organen. Het spierweefsel bevat ongeveer 30% van het lichaamsmagnesium (3). Een zeer klein deel (ongeveer 1%) van het lichaamsmagnesium bevindt zich in het bloed (figuur 1).

### Voeding, opname en uitscheiding

De opname van magnesium voor volwassenen moet 12 mmol per dag bedragen om de behoefte te dekken (4). Voor groeiende individuen en met name voor zuigelingen is de behoefte groter (5). Vooral groene groenten, zeevoedsel (schaaldieren) en vlees bevatten veel magnesium.

De resorptie van magnesium vindt voornamelijk plaats in het jejunum en ileum. Er wordt 30 tot 40 % geresorbeerd. De nier is het belangrijkste orgaan voor de regulatie van de magnesiumspiegel. Omdat ongeveer 30% van het magnesium in het plasma aan eiwit gebonden is, zal ongeveer 70% gefilterd worden, waarvan ongeveer 5% in de urine wordt uitgescheiden. Deze hoeveelheid (ongeveer 4 mmol/24 uur) kan verminderd worden tot < 0,5 mmol/24 uur bij een dreigend magnesium tekort.  $Mg^{2+}$  wordt voornamelijk teruggeresorbeerd in het opstijgende deel van de lis van Henle (60-70%) en in de proximale tubulus (20-30%) (figuur 2).

**Tabel 1.** Oorzaken magnesiumverlies

Renaal	Niet-renaal	
Diuretica	Reductie in opname	Verminderde intestinale absorptie
Ethanol toxiciteit		
Diabetische nefropathie	Gemengde oorzaken	short bowel syndroom
Congenitaal		
Cisplatinum		
Cyclosporine	acut myocard infarct	chronische diarree
Antibiotica	digitalis toxiciteit	malabsorptie syndromen
	insuline therapie	congenitaal

### Intracellulair magnesium (6)

In het cytoplasma van alle levende cellen is magnesium ( $Mg^{2+}$ ) een belangrijke component. Het komt daar in twee vormen voor, vrij ( $iMg^{2+}_{intra}$ ) en gebonden. De laatste vorm is in de meerderheid vanwege de grote affiniteit van dit tweewaardige kation voor veel intracellulaire verbindingen zoals eiwitten en ATP, waardoor er voor  $Mg^{2+}$  een grote buffercapaciteit bestaat. Ook al bestaat er nog geen eenduidigheid over de concentratie van  $iMg^{2+}_{intra}$ , in het algemeen neemt men aan dat deze tussen de 0,5 en 1,0 mmol/l ligt (7). Deze concentratie benadert de  $K_m$  van veel intracellulaire enzymen (8). Er zijn een aantal mogelijkheden gepostuleerd om het intracellulaire magnesiumniveau te reguleren. Dat zijn een elektrochemische gradiënt in combinatie met permeabiliteit van de plasmamembraan, een verondersteld  $Mg$ -ATPase of een  $Na^+/Mg^{2+}$  uitwisseling (via  $Mg^{2+}$  transporters), intracellulaire buffermechanismen (mogelijk door eiwitten), transport met behulp van intracellulaire organellen, en ook een magnesium-influx regulerend hormoon is verondersteld (8,9). De permeabiliteit van de plasma membraan en de veronderstelde magnesiumtransport-mechanismen in het membraan controleren naar men nu aanneemt de steady-state concentratie van het intracellulaire magnesium.

### Intracellulair magnesium in relatie tot de intracellulaire concentratie van kationen

$Mg^{2+}$  speelt intracellulair een cruciale rol door beïnvloeding van een groot aantal cellulaire functies zoals de activering van veel enzymen en de eiwitsynthese.  $Mg^{2+}$  is een essentiële cofactor voor enzymen die zijn betrokken bij glycolyse, celademhaling, en het transport van andere ionen zoals  $Na^+$ ,  $K^+$  en  $Ca^{2+}$  over membranen. Alle enzymatische reacties waarbij ATP is betrokken tonen een absolute noodzaak voor  $Mg^{2+}$ . Omdat de activiteit van het membraangebonden  $Na/K$ -ATPase, de natriumpomp, samenhangt met de  $iMg^{2+}_{intra}$  concentratie, is het  $iMg^{2+}_{intra}$  belangrijk voor de basale verdeling van  $Na^+$  en  $K^+$  over de membraan en dus voor de rustpotentialiaal.

Een ander zeer belangrijk transport enzym is het  $Ca$ /ATPase dat onder meer voorkomt in hart- en skeletspieren. Het handhaaft de zeer lage  $iCa^{2+}_{intra}$  con-

concentratie in alle cellen en heeft eveneens  $Mg^{2+}$  nodig voor zijn activering. Bovendien is het intracellulair  $Mg^{2+}$  van essentieel belang voor het spanningsafhankelijke gedrag van kalium- en calciumkanalen (10,11). Een algemeen aanvaarde visie is dat  $iMg^{2+}$  in-<sub>tra</sub> werkt als een blokkerend agens voor calciumkanalen (12). De kaliumgradiënt (intracellulair ~150 mmol/l; extracellulair ~4,5 mmol/l) zorgt voor de rustpotentiaal en de 10.000-voudige  $Ca^{2+}$ -gradiënt (de intracellulaire  $Ca^{2+}$  concentratie is ongeveer  $10^{-7}$  mol/l, extracellulair  $10^{-3}$  mol/l) zorgt voor de dremelpotentiaal over de celmembraan. Het verschil tussen deze twee potentialen bepaalt de hoogte van de impuls die nodig is om de cel te activeren (actiepotentiaal, ongeveer 20 millivolt). Bijvoorbeeld bij hypomagnesiëmie kan een belangrijke verstoring in de handhaving van de membraanrustpotentiaal ontstaan, doordat in de herstelfase van de cellulaire actiepotentiaal de uitwisseling van  $Na^+$ ,  $K^+$  en  $Ca^{2+}$  via de membraan wordt verstoord. Hierdoor kan de rustpotentiaal van de celmembraan stijgen. De gevolgen van magnesiumdeficiëntie op cellulair en moleculair niveau kunnen dan ook grotendeels worden verklaard uit het remmende effect van een intracellulair magnesiumtekort op zowel  $Na/K$ - als  $Ca$ -ATPasen. De hieruit resulterende verminderde capaciteit van de cel om  $K^+$  en  $Ca^{2+}$ -concentratiegradiënten te handhaven leidt tot het zogenaamde "sick cell syndrome". De intracellulaire concentraties van  $Na^+$  en  $Ca^{2+}$  zijn verhoogd, de intracellulaire  $K^+$  concentratie is verlaagd, terwijl tevens de intracellulaire  $Ca^{2+}$ -distributie verstoord is.

## Magnesium in de kliniek

### *Hypermagnesiëmie*

Door de hoge renale excretiecapaciteit voor magnesium, bestaat bij patiënten met een goede nierfunctie weinig risico op het ontstaan van hypermagnesiëmie. Dit treedt eigenlijk slechts in twee situaties op: bij acute of chronische nierinsufficiëntie, en bij een dermate snelle toevoer van exogeen magnesium dat de renale excretiecapaciteit wordt overschreden, zoals dat gebeurt bij de behandeling van eclampsie of het intraveneus of intramusculair suppleren van magnesium. Met name bij chronische nierinsufficiëntie wanneer tegelijkertijd magnesium bevattende medicatie toegediend wordt (antacida, laxantia, voedingssupplementen, dialysevloeistof) bestaat kans op het ontstaan van hypermagnesiëmie. Boven een concentratie van 2,0 mmol/l ontstaan hypotensie, ECG afwijkingen (2,5-5,0 mmol/l), verminderde peesreflexen (5,0 mmol/l), respiratoire paralyse (7,5 mmol/l) en uiteindelijk hartstilstand (12,5 mmol/l) (13,14). Het anaesthetisch effect van hypermagnesiëmie is waarschijnlijk het resultaat van cerebrale hypoxie secundair aan cardiale en respiratoire depressie, en niet het gevolg van een direct narcotisch effect van magnesium (14). Bij een snelle verhoging van de magnesiumconcentratie kan een gevoel van warmte optreden, gecombineerd met roodheid van de huid, hoofdpijn en duizeligheid.

Gezien de aspecificiteit van de symptomen van hypermagnesiëmie en de beperkte populatie waarin dit

op kan treden, is het niet nuttig de algemene ziekenhuispopulatie hierop te screenen. De indicaties voor het controleren op hypermagnesiëmie dienen beperkt te blijven tot de twee bovengenoemde situaties.

### *Hypomagnesiëmie en magnesiumdeficiëntie*

Hypomagnesiëmie is gedefinieerd als een magnesiumconcentratie in plasma, die kleiner is dan de ondergrens van het referentie-interval (0,73 - 1,05 mmol/l) (15). Magnesiumdeficiëntie kan omschreven worden als een pathologische situatie, ontstaan door een tekort aan magnesium in één of meerdere lichaamscompartimenten. Magnesiumdeficiëntie hoeft niet noodzakelijkerwijs gepaard te gaan met hypomagnesiëmie, terwijl algemeen aangenomen wordt dat hypomagnesiëmie het eindresultaat is van een langer durende of ernstige magnesiumdeficiëntie (16).

De oorzaken van magnesiumdeficiëntie en hypomagnesiëmie kunnen worden ingedeeld in renale (verlaagde tubulaire reabsorptie) en niet-renale oorzaken (zie tabel 1). Bij bepaalde categorieën van patiënten bestaat een verhoogde prevalentie van magnesiumdeficiëntie. Intensive care (IC) patiënten hebben een verhoogd risico op het ontwikkelen van magnesiumdeficiëntie door het gelijktijdig optreden van meerdere risicofactoren (verminderde opname via de voeding, verhoogd renaal verlies door een combinatie van intraveneuze hydratatie en diuretica toediening, metabole acidose en toediening van antibiotica). De prevalentie van hypomagnesiëmie in een IC-populatie kan variëren van 20-65% (17,18).

Ook in chronische alcoholisten komt een combinatie van meerdere risicofactoren voor: het magnesiumgehalte in de voeding is laag, de resorptie is laag door het optreden van diarree en braken, terwijl alcohol de renale tubulaire resorptie van magnesium remt (13).

Diabetes mellitus kan magnesiumdepletie veroorzaken door een verhoogde renale excretie (osmotische diurese, diabetische nefropathie) en een veranderde distributie over de lichaamscompartimenten (metabole acidose, insuline deficiëntie) (19).

Een vierde (diverse) populatie waarbij de klinicus verdacht moet zijn op het voorkomen van magnesiumdeficiëntie bestaat uit patiënten, die met bepaalde farmaca behandeld worden. Met name cisplatinum, cyclosporine, aminoglycosiden en de niet  $K^+$ -sparende diuretica stimuleren de renale magnesiumexcretie (20,21,22).

Vanwege het feit dat de ziektebeelden die magnesiumdeficiëntie veroorzaken vaak tegelijkertijd hypocalciëmie en hypokaliëmie bewerkstelligen zijn de symptomen, die ontstaan door tekorten van deze drie kationen (23) vaak moeilijk van elkaar te onderscheiden. Subklinische symptomen van een (intracellulaire) magnesiumdeficiëntie kunnen al optreden bij een normale plasma magnesiumconcentratie (24). Pas bij een extracellulaire magnesiumconcentratie die kleiner is dan 0,45 mmol/l treden duidelijk waarneembare neuromusculaire symptomen op (24).

### *Behandeling*

Het totale deficit aan magnesium bij een symptomati-

sche magnesiumdeficiëntie is 0,5-1,0 mmol magnesium per kg lichaamsgewicht (25). Behandeling hiervan kan plaatsvinden door intraveneuze toediening van 4-8 mmol magnesiumsulfaat in 5 minuten, gevolgd door 24-32 mmol magnesiumsulfaat intraveneus per dag gedurende 3-5 dagen (26). Vrij snel na het starten van de therapie zal het plasma magnesium normaliseren; om de depots aan te vullen is het echter noodzakelijk de therapie enkele dagen door te zetten (25,26).

Asymptomatische hypomagnesiëmie/magnesiumdeficiëntie behoeft geen acute behandeling. Er kan worden volstaan met het geven van voeding met een adequaat magnesiumgehalte. Bij magnesiumsuppletie dient de dosis gereduceerd te worden indien de patiënt een verminderde nierfunctie heeft.

De intraveneuze toediening van magnesiumsulfaat bij het acute hartinfarct leidt tot een vermindering van het overlijdensrisico (27). Een reductie van  $iMg^{2+}_{intra}$ , veroorzaakt door een infarct, zorgt voor een te hoge concentratie van  $Ca^{2+}$  in de hartspiercel door een verminderde werking van de Na/K-pomp (zie paragraaf over intracellulair magnesium). De contractie wordt daardoor verlengd wat leidt tot hypertensie en tachycardie. Toename van de prikkelbaarheid van de celmembraan kan bij ischemie door een kransvatafsluiting potentieel letale ritmestoornissen zoals ventrikeltachycardieën en ventrikelfibrileren doen ontstaan (28).

De behandeling van symptomatische hypermagnesiëmie begint met het staken van alle magnesium bevattende medicatie, tenzij deze toegediend wordt voor de behandeling van levensbedreigende situaties, zoals ernstige hartritme-stoornissen. Afhankelijk van de ernst van de situatie kan intraveneuze toediening van 1 gram calciumgluconaat geïndiceerd zijn. Het effect van calcium toediening is slechts tijdelijk. Bij patiënten met een goede nierfunctie kan de magnesiumexcretie door toedienen van een lisdiureticum gestimuleerd worden en zo bijdragen aan de correctie van de hypermagnesiëmie. Met name wanneer hypermagnesiëmie gepaard gaat met nierinsufficiëntie kan hemodialyse tegen een magnesiumvrij dialysaat de enige effectieve behandelingsmodaliteit zijn (29).

## METHODEN

### Metten van magnesium

Een magnesiumdeficiëntie wordt normaliter vastgesteld aan de hand van de totale magnesiumconcentratie in serum, die dus wordt beschouwd als zijnde representatief voor de magnesiumstatus van het menselijk lichaam. De keuze voor serum als monster voor het stellen van een diagnose of de monitoring van een patiënt ligt voor de hand. Bloed is gemakkelijk te verkrijgen en te bewerken, terwijl het nemen van biopten van weefsels voor het vaststellen van de magnesiumstatus, voor de patiënt zeer belastend is. Bovendien is de meting van magnesium in dit materiaal niet eenvoudig. Men kan zich afvragen of de serum magnesiumconcentratie voldoende inzicht in de magnesiumhuishouding biedt en dus de informatie geeft die nodig is voor een adequate behandeling.

Een betere benadering van de actuele magnesiumstatus wordt mogelijk gegeven door de intracellulaire magnesiumconcentratie van mononucleaire bloedcellen (lymfocyten en monocyten)(30,31). Ook magnesium in erythrocyten, granulocyten en trombocyten kan worden bepaald (30,31,32,33,34). Daarnaast is het mogelijk om intracellulair vrij, niet aan cel organellen of ATP gebonden, magnesium ( $iMg^{2+}_{intra}$ ) te meten.

Als gouden standaard voor het aantonen of uitsluiten van een magnesiumdeficiëntie van het lichaam wordt de magnesiumbelastingstest beschouwd. Daarbij wordt na het vaststellen van de basis magnesiumuitscheiding in de urine, een bekende hoeveelheid magnesiumsulfaat intraveneus toegediend. Vervolgens wordt in de daarop volgende 24 uur opnieuw de uitscheiding gemeten en de retentie van het geïnfundeerde magnesium berekend (35,36).

### Methoden van meten in het bloed

Aanvankelijk werd magnesium in serum bepaald door middel van precipitatie met ammonium en fosfaat (37,38). Colorimetrische methoden, later ook met behulp van enzymen, volgden snel (39,40,41,42). Andere bepalingmethoden zijn op basis van fluorescentie (43,44,45), vlamemissiespectrofotometrie (FES) (46) en atoomabsorptiespectrofotometrie (AAS) (47). De laatst genoemde techniek wordt nu beschouwd als de referentiemethode voor de bepaling van magnesium in serum (48).

In het serum komt het  $Mg^{2+}$  in drie vormen voor namelijk de eiwitgebonden, de complexeerde en de vrije of geïoniseerde fractie. Scheiding van de fracties kan worden bewerkstelligd door ultrafiltratie (49), waarna met behulp van AAS de concentratie wordt bepaald; hierbij wordt onderscheid gemaakt in eiwit gebonden en niet-eiwit gebonden (ultrafiltrabel) magnesium. Ook met eriochroom zwart T kan de concentratie vrij geïoniseerd magnesium worden gemeten, zij het in serumultrafiltraat (50).

Naast deze indirecte meetmethoden is de magnesium ion-selectieve elektrode (Mg-ISE) de enige directe techniek. Hiermee kan de concentratie vrij geïoniseerd magnesium worden bepaald. Rond 1980 was de selectiviteit van de Mg-ISE ten opzichte van calciumionen een groot probleem, maar na de ontwikkeling van nieuwe ionoforen en correctie methoden voor de calciuminterferentie, verschenen er in 1990 twee publikaties met als onderwerp de meting van  $iMg^{2+}_{extra}$  in serum (51,52). De introductie van de Mg-ISE heeft ertoe geleid dat alle tot dusver bekende serumfracties op een betrouwbare manier kunnen worden bepaald. De totale magnesiumconcentratie met AAS, de niet-eiwit gebonden fractie na ultrafiltratie ook met AAS en de geïoniseerde fractie met behulp van een Mg-ISE. Het verschil tussen ultrafiltrabel en geïoniseerd magnesium levert de complex gebonden fractie.

### Methoden van meten in de cel

Zoals genoemd kan in bloedcellen naast de totale magnesiumconcentratie ook de vrije fractie ( $iMg^{2+}_{intra}$ ) gemeten worden ter verbetering van de inzichten in het celmetabolisme. In alle metingen,

waarbij de diverse vormen van  $Mg^{2+}$  in de cel worden bepaald, is het van groot belang om de meting te verrichten in een energetische steady-state situatie en het liefst in de situatie die op het moment van afname in het lichaam voorkwam (53). Het is dus belangrijk om de cel gedurende de meting in een situatie te houden waarbij het ATP niveau constant blijft. Tot nu toe zijn er vijf verschillende methodieken gebruikt voor de meting van het  $iMg^{2+}_{intra}$ . Een karakteristiek van deze vijf methoden wordt met de voor- en nadelen kort besproken:

- Eriochroomblauw methode

Heinonen (54) beschrijft een methode waarbij gebruik wordt gemaakt van de kleurstof eriochroomblauw voor het meten van  $iMg^{2+}_{intra}$  in synaptosomen. Een groot nadeel van deze techniek vormt de gevoeligheid van deze kleurstof voor pH veranderingen, zeker als gebruik wordt gemaakt van ionoforen. Bovendien is een kalibratie moeilijk uitvoerbaar en niet alle cellen kunnen deze stof zonder meer opnemen. In de moderne literatuur wordt deze methode dan ook zelden meer toegepast.

- Nulpunttitratie

In Nature verscheen in 1977 een elegante methode om  $iMg^{2+}_{intra}$  te meten door middel van nulpunttitratie (55). Na isolatie van de cellen worden deze in diverse buffers gebracht met verschillende  $Mg^{2+}$ -concentraties. Als het membraan van de cel vervolgens permeabel wordt gemaakt voor  $Mg^{2+}$  door de ionofoor A23187 dan treedt afhankelijk van de pH een verplaatsing op van  $Mg^{2+}$  naar binnen of naar buiten. Bij die concentratie, waarbij geen netto  $Mg^{2+}$  over het celmembraan wordt getransporteerd, is de intracellulaire concentratie van vrije  $Mg^{2+}$  in evenwicht met de externe vrije  $Mg^{2+}$  concentratie in de buffer en kan vervolgens berekend worden wat de vrije  $Mg^{2+}$ -concentratie in de cel is. We hebben deze methode met succes toegepast (56) met de aantekening dat deze methode alleen kan worden toegepast voor erythrocyten omdat een groot aantal cellen ( $>0,5 \times 10^9$ ) per bepaling nodig is. Bovendien moeten bij de isolatie van

de cellen een aantal wasstappen worden uitgevoerd, hetgeen er toe leidt dat de oorspronkelijke energetische toestand van de cel verandert. Vandaar dat de cellen voor het experiment worden genotometreerd met 95%  $O_2$  and 5%  $CO_2$ .

- Polarografische methode

Door de ontwikkeling van een elektrode met een ion-selectief membraan naar het ontwerp van Simon (57) zijn polarografische methoden beschreven waarbij een microelektrode in de cel wordt geprikt zonder de cel doorlaatbaar te maken voor ionen. Alleen zeer grote cellen zoals bijvoorbeeld spiercellen zijn hiervoor geschikt (58). Er is op dit moment geen onderzoek bekend waarin deze techniek op bloedcellen is toegepast. Deze ontwikkeling vindt op dit moment zijn weg meer in de richting van metingen in de extracellulaire vloeistof zoals in bloed.

- NMR-methode

De meting van  $iMg^{2+}_{intra}$  met behulp van NMR heeft het grote voordeel dat geen isolatieprocedures nodig zijn. Wel wordt geadviseerd om de cellen te oxygenen om een stabiele energetische situatie te bereiken. Er wordt in deze methode (59) gebruik gemaakt van de verschuiving van het  $^{31}P$ -NMR signaal doordat  $Mg^{2+}$  bindt aan ATP en ADP. Door middel van de totale concentratie van ATP, ADP, DPG (2,3-difosfoglyceraat) en hemoglobine, hun bindingsconstante voor  $Mg^{2+}$  en de  $\Phi$  ("chemical shift"), die uit het NMR-spectrum afgeleid kan worden, wordt  $iMg^{2+}_{intra}$  berekend. De beperking van deze methodiek vormt de grote hoeveelheid cellen ( $3 \times 10^9$  cellen), die nodig zijn omdat de techniek nogal ongevoelig is, hetgeen betekent dat in de praktijk alleen erythrocyten kunnen worden gebruikt voor dit type onderzoek. Bovendien wordt er in de literatuur twijfel uitgesproken over de juistheid van de evenwichtsconstanten met name voor de belangrijke  $K_d$  voor  $Mg^{2+}$ -ATP van  $3,8 \times 10^5$  mol/l ( $37^\circ C$  en pH 7,2) omdat de omstandigheden waaronder deze  $K_d$ 's zijn bepaald anders zijn dan de intracellulaire.

**Table 2.** Literatuur overzicht van het geioniseerde intracellulaire magnesium ( $iMg^{2+}_{intra}$ ) in mmol/l en de gerapporteerde spreiding in variatiecoëfficiënten (VC)

Type cel	methode	$iMg^{2+}$	VC(%)	Auteur(ref)
Erythrocyten	NMR	0,22	4	Petersen(53)
	NMR	0,20	2	Geven(56)
	nulpunttitratie	0,30	?	Flatman(55)
	nulpunttitratie	0,55	22	Geven(56)
Mononucleaire cellen	mag-fura	0,15	26	Ng(71)
	mag-fura	0,56	21	eigen waarneming
Skeletspier	micro-electrode	3,80	11	Lopez(58)
	NMR	0,60	?	Gupta(72)
Synaptosomen	eriochroom blauw	0,35	7	Heinonen(54)
Hepatocyten	nulpunttitratie	0,37	?	Corky(73)
	mag-fura	0,59	?	Raju(60)
Hartcellen	mag-fura	0,48	6	Murphy(63)

- Fluorescentiemethode met mag-fura  
Tenslotte is de fluorescentie meting met behulp van mag-fura voor de toekomst de meest belovende techniek (60,61). Deze stof kan in de estervorm de celmembraan passeren, waarna in de cel de ester wordt gehydrolyseerd en mag-fura de cel niet meer uit kan. Mag-fura kan  $Mg^{2+}$  complexeren zonder de intracellulaire verhouding tussen  $iMg^{2+}_{intra}$  en het gebonden  $Mg^{2+}_{intra}$  te veranderen. Met behulp van een dubbele golflengte fluorescentie-techniek kan de verhouding van de vrije mag-fura en het  $Mg^{2+}$ -mag-fura-complex worden bepaald zonder dat de concentratie van het mag-fura zelf van belang is. Hierdoor kunnen veranderingen in de concentratie van het  $iMg^{2+}_{intra}$  worden gevolgd en kan een kalibratie met behulp van EDTA en ionofoor worden uitgevoerd. Deze fluorescentiemeting kan goed worden toegepast op leucocyten en andere niet hemoglobine bevattende cellen. Zoals eerder vermeld moet er voor de meting een isolatie procedure worden toegepast met eerder genoemde nadelen. Mag-fura ( $K_d$ : 1,5 mM) is ongevoelig voor pH veranderingen en voor geïoniseerd  $Ca^{2+}_{intra}$  in de fysiologische range.

De concentratie van de totale intracellulaire  $Mg^{2+}$ -concentratie wordt in bijna alle gevallen bepaald met AAS.

## RESULTATEN EN DISCUSSIE

Er worden veel verschillende concentraties aan  $iMg^{2+}_{intra}$  gerapporteerd afhankelijk van de techniek en het celttype (zie tabel 2). Met behulp van nulpunttitratie worden hogere  $Mg^{2+}$ -concentraties gemeten dan met NMR. Waarschijnlijk wordt met NMR niet alle  $Mg^{2+}$  zichtbaar gemaakt. In de nulpunttitratie-experimenten daarentegen daalt de ATP-concentratie door de wasprocedures, waardoor de vrije  $Mg^{2+}$ -concentratie toeneemt (56). Wel werd met beide technieken vastgesteld dat bij patiënten met een geïsoleerd renaal  $Mg^{2+}$ -verlies er een lager  $iMg^{2+}_{intra}$  bestaat in vergelijking met controles (56). In de cel bestaat geen homogene  $Mg^{2+}$ -verdeling. Gunther (62) toonde aan dat  $Mg^{2+}$  zich daar ophoopt, waar veel DNA, RNA en  $Mg^{2+}$ -bindende eiwitten aanwezig zijn. Het cytosolische  $Mg^{2+}$  is vooral verrijkt met  $Mg^{2+}$  aan de celmembraankant door  $Mg^{2+}$ -bindende eigenschappen van de fosfolipiden.

De concentratie van het  $iMg^{2+}_{intra}$  in de erythrocyt wordt gerapporteerd als 0,20 tot 0,55 mmol/l en bedraagt ongeveer 10% van het totale erythrocytaire  $Mg^{2+}$ . In mononucleaire cellen ligt de concentratie op ongeveer het gelijke niveau, hetgeen ongeveer 1% uitmaakt van de totale  $Mg^{2+}$ -hoeveelheid in deze cellen (zie figuur 1). In de publikatie van Murphy (63) wordt vermeld dat door een incubatie in een  $Na^+$ -vrij medium er een drievoudige toename van  $Mg^{2+}$  werd gevonden, dat verklaard werd door de toename van het cytoplasmatische  $Ca^{2+}$ , dat het  $Mg^{2+}$  verdringt van de bindingsplaatsen in de cel. Lopez (58) en Scarpa (64) rapporteren veel hogere  $iMg^{2+}_{intra}$ -concentraties, hetgeen kan duiden op onvoldoende specificiteit van

de door hen gebruikte methodieken.

Om inzicht te krijgen in de relatie tussen intra- en extracellulair magnesium en de relatie tussen de verschillende celtypen onderling met betrekking tot hun magnesiumconcentratie, zijn studies in zowel monsters van proefdieren als van patiënten uitgevoerd, resulterend in uiteenlopende resultaten. Tussen magnesium in lymfocyten en magnesium in hart- en skeletspierweefsel lijkt er een verband te bestaan. Geen relatie werd er gevonden tussen totaal magnesium in serum en erythrocyten en magnesium in bot en spierweefsel (65). Deze waarneming, dat magnesium in serum en erythrocyten een slechte parameter is voor de totale magnesiumvoorraad van het lichaam wordt door veel onderzoekers ondersteund (30,66,67). Alfrey et al (68) en Cohen et al (69) echter, toonden in patiëntenstudies wel een correlatie aan tussen magnesium in serum en magnesium in bot. Geven et al (70) tenslotte, vonden bij magnesiumdeficiënte honden een daling in het serum en bot maar geen magnesiumverandering in spierbiopten en lymfocyten. Magnesium in erythrocyten, dat ook significant was gedaald, bleef laag, terwijl magnesium in serum reeds was genormaliseerd.

## Nabeschuiving en suggesties voor verder onderzoek

Het nut van de magnesiumbelastingtest wordt in de praktijk beperkt enerzijds door de onevenredige belasting van de patiënt met een normomagnesiëmie en met lichte symptomatologie en anderzijds doordat de populaties van patiënten met een magnesiumdeficiëntie/normomagnesiëmie en van controles een grote overlap vertonen (34). Bovendien is het een nadeel dat (omdat het verzamelen van urine bij deze test zeer belangrijk is) de patiënt, die de magnesiumbelastingtest ondergaat, moet worden opgenomen. Een lage urine concentratie van magnesium (< 4 mmol/kg/dag) gepaard gaande met een normaal serummagnesium voldoet bijna even goed in de praktijk (74). Vervolgens dient nagegaan te worden of er externe omstandigheden zijn, die deze lage uitscheiding verklaren. Omdat de fysiologische werking van magnesium vooral intracellulair wordt uitgeoefend zullen betrouwbare bepalingen in de cel voor de toekomst van groot belang zijn. Op dit moment worden de beste resultaten bereikt met mag-fura waarbij het niet alleen mogelijk is metingen te verrichten met een groot aantal cellen tegelijk ( $2,0 \times 10^6$ ) maar ook met enkelvoudige celmetingen waarin de fluorescentie signalen worden gevolgd in één enkele cel. Op deze wijze kan ook informatie worden verkregen over de verschillen tussen de cellen onderling van hetzelfde type en tussen soorten cellen onderling (bijvoorbeeld tussen lymfocyten en monoccyten). De mag-fura experimenten maken het tevens mogelijk om transportstudies en de invloed van externe ionen op de magnesiumconcentratie in de cel te bestuderen. Daardoor kan inzicht in het ingewikkelde proces van het transport van magnesium over het celmembraan worden verkregen en misschien wordt er een antwoord gevonden op de vraag hoe de regulatie van de intracellulaire  $Mg^{2+}$ -homeostase zich verhoudt met de externe  $Mg^{2+}$ -concentratie.

tratie, die we gewend zijn dagelijks te meten. Ook onderzoek naar de compartimentalisatie van  $Mg^{2+}$  in de cel komt binnen het bereik van de technische mogelijkheden m.b.v. een combinatie van de mag-fura methode en video-imaging.

Uit de tot dusver uitgevoerde studies blijkt dat het zoeken naar correlaties tussen magnesium parameters nog geen resultaat heeft opgeleverd om het selecteren van een magnesium parameter, die de meest relevante informatie levert over het klinisch beeld van de patiënt, mogelijk te maken. Het is opmerkelijk dat de beste correlatie bestaat tussen erythrocyten en spiercellen (56,71) en dat de  $iMg^{2+}_{intra}$  in de rode bloedcellen het minst slecht de intracellulaire magnesiumstatus van het lichaam weerspiegelt (75).

Vooralsnog is de meting van totaal intracellulair magnesium zeer bewerkelijk en staat de meting van geïoniseerd intracellulair magnesium, welke nog complexer is, in de kinderschoenen. Een plaats in de algemene patiëntenzorg lijkt er voor deze analyse dan ook zeker niet weggelegd. Met betrekking tot de meting van magnesium in serum met behulp van een magnesium ionselectieve elektrode valt te verwachten dat de laatste hindernissen, zoals selectiviteit en levensduur van de membraan, binnen enkele jaren zijn opgelost. Echter, het meten van extracellulair geïoniseerd magnesium in de klinische praktijk zal vermoedelijk in uitzonderlijke gevallen meerwaarde opleveren ten opzichte van de meting van totaal extracellulair magnesium. Uitgebreide klinische studies, waarbij goed omschreven patiëntengroepen onontbeerlijk zijn, zullen nodig zijn om deze uitzonderlijke gevallen goed te kunnen definiëren.

Al deze studies zijn van belang om meer inzicht in de regulatie-mechanismen van de magnesiumhomeostase te krijgen. Ook zullen transportstudies in diverse soorten cellen ons mogelijk de betekenis van magnesium in metabole processen verder duidelijk maken. Het doel van het onderzoek zal in eerste instantie moeten zijn, dat de zin en onzin van het meten van magnesium in zijn diverse vormen in bloed, bloedcellen en urine wordt vastgesteld.

#### Literatuur

1. Brautbar N, Bruber HE, Magnesium and bone disease. *Nephron* 1986; 44: 1-2.
2. Hanse S. Der Mg stoffwechsel. Physiologie und klinik. George Thieme verlag, Stuttgart, 1964.
3. Agus ZS, Wasserstein A, Goldfarb S. Disorders of calcium and magnesium hemostasis. *Am J Med* 1982; 72: 473-488.
4. Seelig MS. Magnesium requirements in human nutrition. *Magnesium bull* 1981; 1: 26-47.
5. Care AD, Klooster AT. In vivo transport of magnesium and other cations across the wall of the gastrointestinal tract of sheep. *J Physiol (London)* 1965; 177: 174-191.
6. Alvarez-Leefmans FJ, Giraldez F, Gamino SM. Intracellular free magnesium in excitable cells; its measurement and its biological significance. *Can J Physiol Pharmacol* 1987; 65: 915-925.
7. Murphy E, Freudenrich CC, Lieberman M. Cellular magnesium and Na/Mg exchange in heart cells. *Annu Rev Physiol* 1991; 53: 273-287.
8. Gunther TH. Biochemistry and pathobiochemistry of magnesium. *Magnesium Bull* 1981; 3: 91-101.

9. White RE, Hartzell HC. Magnesium ions in cardiac function. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 859-867.
10. Wilde AAM. Het ATP-gevoelige kaliumkanaal; functie en de mogelijkheden van farmacologische beïnvloeding. *Ned Tijdschr Geneesk* 1993; 137: 1086-1090.
11. Agus ZS, Morad M. Modulation of cardiac ion channels by magnesium. *Annu Rev Physiol* 1991; 53: 299-307.
12. Iseri LT, French JH. Magnesium: nature's physiologic calcium blocker [editorial]. *Am Heart J* 1984; 108: 188-193.
13. Gambling DR, Laird Birmingham C, Jenkins LC. Magnesium and the anaesthetist. *Can J Anaesth* 1988; 35: 644-654.
14. Reinhardt RA. Magnesium metabolism: a review with special reference to the relationship between intracellular content and serum levels. *Arch Intern Med* 1988; 14: 2415-2420.
15. Ebel H, Gunther T. Magnesium metabolism: a review. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18: 257-270.
16. Whang R, Flink E, Dyckner T, Wester PO, Aikawa JK, Ryan MP. Magnesium depletion as a cause of refractory potassium depletion. *Arch Intern Med* 1985; 145: 1686-1689.
17. Fiaccadoni E, Del Canale S, Coffrini E et al. Muscle and serum magnesium in pulmonary intensive care unit patients. *Crit Care Med* 1988; 16: 751-760.
18. Ryzen E. Magnesium homeostasis in critically ill patients. *Magnesium* 1989; 8: 201-212.
19. Sjögren A, Florén CH, Nilsson Å. Magnesium deficiency in IDDM related to level of glycosylated hemoglobin. *Diabetes* 1986; 35: 459-463.
20. Kes P, Reiner Z. Symptomatic hypomagnesemia associated with gentamicin therapy. *Magn Trace Elem* 1990; 9: 54-60.
21. Abbasciano V, Manotta D, Vecchiatti G et al. Changes in serum, erythrocyte, and urinary magnesium after a single dose of cisplatin combination chemotherapy. *Magnesium Res.* 1991; 4: 123-125.
22. Scoble JE, Freestone A, Varghese Z et al. Cyclosporin-induced renal magnesium leak in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 1990; 5: 812-815.
23. Ruse KR. Physiology of magnesium metabolism and the important role of magnesium in potassium deficiency. *Am J Cardiol* 1989; 63: 319-349.
24. Classen HG, Nomitzki S. Die klinische Bedeutung von magnesium. *Fortschr Med* 1990; 8: 148-151.
25. Oster JR, Epstein M. Management of magnesium depletion. *Am J Nephrol* 1988; 8: 349-354.
26. Di Palma JR. Magnesium replacement therapy. *AFP Clin Pharmacol* 1990; 42: 173-176.
27. Woods KL, Fletcher S. Long-term outcome after intravenous magnesium sulphate in suspected acute myocardial infarction. *Lancet* 1994; 343: 816-819.
28. Stella PR, Kan G. Magnesium; veelbelovende aanvulling op de therapie bij het acute hartinfarct. *Ned Tijdschr Geneesk* 1993; 137: 1958-1961.
29. C. Cameron S, Davidson AM, Grunfeld JP, Ken D, Ritz E (editor). *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, volume 3, p.1816, Oxford University Press, Oxford 1992.
30. Elin RJ, Hosseini JM. Magnesium content of mononuclear blood cells. *Clin Chem* 1985; 31: 377-380.
31. Geven WB, Vogels-Mentink GM, Willems JL, de Boo Th, Lemmens W, Monnens LAH. Reference values of magnesium and potassium in mononuclear cells and erythrocytes of children. *Clin Chem* 1990; 37: 1323-1327.
32. Nelson D, Henningsen NC. Erythrocyte contents of electrolytes (Na, K, Mg, Zn) in healthy male controls and offspring to establish hypertensive patients: a follow-up study. *Scand J Clin Lab Invest* 1983; 43: 317-322.
33. Hosseini JM, Yang XY, Elin RJ. Determination of magnesium in granulocytes. *Clin Chem* 1989; 35: 1404-1407.
34. Touyz RM, Milne FJ. A method for determining the total magnesium, calcium, sodium and potassium contents of



- human platelets. *Miner Electrolyte Metab* 1991; 17: 173-178.
35. Ryzen E, Elbaum N, Singer FR, Rude RK. Parenteral magnesium tolerance testing in the evaluation of magnesium deficiency. *Magnesium* 1985; 4: 137-147.
  36. Gullestad L, Midtvedt K, Dolva ØL, Norseth J, Kjekshus J. The magnesium loading test: reference values in healthy subjects. *Scand J Clin Lab Invest* 1994; 54: 23-31.
  37. Briggs AP. A colorimetric method for the determination of small amounts of magnesium. *J Biol Chem* 1922; 52: 349-355.
  38. Denis W. The determination of magnesium in blood, plasma and serum. *J Biol Chem* 1922; 52: 411-415.
  46. Kunkel HO, Pearson PB, Schweigert BS. The photoelectric determination of magnesium in body fluids. *J Lab Clin Med* 1947; 32: 1027-1033.
  40. Barbour HM, Davidson W. Studies on measurement of plasma magnesium: application of the magnon dye method to the "Monarch" centrifugal analyser. *Clin Chem* 1988; 34: 2103-2105.
  41. Baum P, Czok R. Enzymatische bestimmung von ionisiertem magnesium im plasma. *Biochem Z* 1959; 332: 121-130.
  42. Wimmer MC, Artiss JD, Zak B. A kinetic colorimetric procedure for quantifying magnesium in serum. *Clin Chem* 1986; 32: 629-632.
  43. Diehl H, Olsen R, Spielholtz GI, Jensen R. Fluorometric and spectrophotometric determination of magnesium with o,o'-dihydroxyazobenzene. *Anal Chem* 1963; 35: 1144-1154.
  44. Cejas MA, Gomez-Hens A, Valcarel M. Fluorometric determination of magnesium by ternary complex formation with pyridoxal nicotinylhydrazone and amines. *Anal Chim Acta* 1981; 130: 73-79.
  45. Ioannou PC, Konstantianos DG. Fluorometric determination of magnesium in serum with 2-hydroxy-1-naphthaldehyde salicyloylhydrazone. *Clin Chem* 1989; 35: 1492-1496.
  46. Teloh HA. Estimation of magnesium in serum by means of flame spectrophotometry. *Am J Clin Path* 1958; 30: 129-132.
  47. Walsh A. The application of atomic absorption spectra to chemical analysis. *Spectrochim Acta* 1955; 7: 108-117.
  48. Külpmann WR, Ruschke D, Büttner J, Paschen K, Maibaum P. A candidate reference method for the determination of magnesium in serum. *J Clin Chem Clin Biochem* 1989; 27: 33-39.
  49. D'Costa M, Cheng PT. Ultrafiltrable calcium and magnesium in ultrafiltrates of serum prepared with the Amicon MPS-1 system. *Clin Chem* 1983; 29: 519-522.
  50. Walser M. Determination of free magnesium ions in body fluids; improved methods for free calcium ions, total calcium, and total magnesium. *Anal Chem* 1960; 32: 711-717.
  51. Rouilly M, Rusterholz B, Spichiger UE, Simon W. Neutral ionophore-based selective electrode for assaying the activity of magnesium in undiluted blood serum. *Clin Chem* 1990; 36: 466-469.
  52. Maj-Zurawska M, Lewenstam A. Fully automated potentiometric determination of ionized magnesium in blood serum. *Anal Chimica Acta* 1990; 236: 331-335.
  53. Petersen A, Fristensen SR, Jacobsen JP et al. <sup>31</sup>P-NMR measurements of ATP, ADP, 2,3-diphosphoglycerate and Mg<sup>2+</sup> in human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 1990; 1035: 169-174.
  54. Heinonen E, Akerman KEO. Intracellular free magnesium in synaptosomes measured with entrapped eriochrome blue. *Biochim Biophys Acta* 1987; 898: 331-337.
  55. Flatman P, Lew VL. Use of ionophore A23187 to measure and to control free and bound cytoplasmic Mg in intact red cells. *Nature* 1977; 267: 360-362.
  56. Geven WB, Vogels-Mentink GM, Willems JL et al. <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance and zero-point titration compared for measuring free magnesium concentration in erythrocytes. *Clin Chem* 1991; 37: 2076-2080.
  57. Simon W, Pretsch E, Morf WE et al. Design and application of neutral carrier-based ion-selective electrodes. *Analyst* 1984; 109: 207-209.
  58. Lopez JR, Alamo L, Caputo C et al. Direct measurement of intracellular free magnesium in frog skeletal muscle using magnesium-selective microelectrodes. *Biochim Biophys Acta* 1984; 804:1-7.
  59. Gupta RK, Gupta P, Yushok WD et al. On the noninvasive measurement of intracellular free magnesium by <sup>31</sup>P-NMR spectroscopy. *Physiol Chem Physics Med NMR* 1983; 15: 265-280.
  60. Raju B, Murphy E, Levy LA et al. A fluorescent indicator for measuring cytosolic free magnesium. *Am J Physiol* 1989; 256: C540-548.
  61. Illner H, McGuigan JAS, Luthi D. Evaluation of mag-fura-5, the new fluorescent indicator for free magnesium measurement. *Pflugers Arch* 1992; 422: 179-184.
  62. Gunther T. Functional compartmentation of intracellular magnesium. *Magnesium* 1986; 5: 53-59.
  63. Murphy E, Freudenrich CC, Levy LA et al. Monitoring cytosolic free magnesium in cultured chicken heart cells by use of the fluorescent indicator fura-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2981-2984.
  64. Scarpa A, Brinley FJ. In situ measurements of free cytosolic magnesium ions. *Federation Proc* 1981; 40: 2646-2652.
  65. Gupta RK, Gupta P. <sup>31</sup>P NMR measurement of intracellular free magnesium in cells and organisms, ed RK Gupta, 2: 33-43. Boca Raton, FL: CRC Press 1987.
  66. Raju B, Murphy E, Levy LA, Hall RD, London RE. A fluorescent indicator for measuring cytosolic free magnesium. *Am J Physiol* 1989; 256 (Cell Physiol 25): C540-C548.
  67. Chang C, Bloom S. Interrelationship of dietary Mg intake and electrolyte homeostasis in hamsters. I. Severe Mg deficiency, electrolyte homeostasis, and myocardial necrosis. *J Am Coll Nutr* 1985; 4: 173-185.
  68. Alfrey AC, Miller NL, Butkus D. Evaluation of body magnesium stores. *J Lab Clin Med* 1974; 84: 153-162.
  69. Cohen L, Kitzes R. Relationship of bone and plasma magnesium in magnesium deficient cirrhosis patients. *Is J Med Sci* 1982; 18: 679.
  70. Geven WB, Vogels-Mentink GM, Willems JL, de Boo Th, Lemmens W, Monnens LAH. Experimental magnesium depletion in the dog; influence on the magnesium content of mononuclear cells, erythrocytes, muscle and bone. *Magnesium Bul* 1988; 10: 45-50.
  71. Ng LL, Garrido MC, Davies JE, Brochwicz-Lewinski MJ, Tan LB. Intracellular free magnesium in lymphocytes from patients with congestive cardiac failure treated with loop diuretics with and without amiloride. *Br J Clin Pharmacol* 1992; 33: 329-332.
  72. Gupta RK, Moore RD. <sup>31</sup>P NMR studies of intracellular free Mg<sup>2+</sup> in intact frog skeletal muscle. *J Biol Chem* 1980; 256: 3987-3993.
  73. Corky BE, Duszynski J, Rick TL, Matschinsky B, Williamson JR. Regulation free and bound magnesium in rat hepatocytes and isolated mitochondria. *J Biol Chem* 1986; 261: 2567-2574.
  74. Paunier L, Borgeaud M, Wyss M. Urinary excretion of magnesium and calcium in normal children. *Helv Paed Acta* 1970; 25: 577-584.
  75. Rude RK, Stephen A, Nadler J. Determination of red blood cell intracellular free magnesium by nuclear magnetic resonance as an assessment of magnesium depletion. *Magn Trace Elem* 1991-1992; 10: 117-121.

---

## Summary

*Advances in the study of magnesium metabolism. Willems JL,*



Huijgen HJ, Ingen HE van, Vis P, Lemmers J, Geven WB en Sanders GTB. *Ned Tijdschr Klin Chem* 1995; 20: 55-63.

Which parameter can be used in the assessment of the magnesium status of the body is not yet clear. This ion has an important function in the enzymatic processes related to supply of energy and for DNA-, RNA- and protein synthesis. Moreover  $Mg^{2+}$  together with  $Ca^{2+}$  plays an important role in the regulation of the intracellular cation concentrations.

In clinical respect hypomagnesaemia is more important than hypermagnesaemia; it is difficult to judge whether the hypomagnesaemia is coupled with a magnesium deficiency. A magnesium loading test may give the answer.

Technically it is possible to measure the intracellular and the extracellular (blood)  $Mg^{2+}$  concentrations in the protein-, complex- and the free (ionized) forms. An overview of the methods of measurement is given. However, correlation between the  $Mg^{2+}$  fractions in different cell types and the fractions of  $Mg^{2+}$  in serum is lacking. To elucidate this problem more research have to be performed with special focus on transport mechanism of  $Mg^{2+}$  and the intracellular compartmentalization of  $Mg^{2+}$  in the cell.

*Key-words: pathophysiology of magnesium metabolism; hypomagnesaemia; hypermagnesaemia; methods of intracellular measurement.*