

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Mainz  
(2. Lehrstuhl: Prof. Dr. K. H. Büssler)

## Biokinetisches Verhalten und Stoffwechselwirkungen von Fructose bei hochdosierter Dauerinfusion an der Ratte\*)

W. Hassinger, R. H. Ackermann, K. Wagner  
und B. Schönerstedt

Mit 2 Abbildungen und 5 Tabellen

(Eingegangen am 5. November 1975)

Vor einiger Zeit haben wir am Beispiel des Glycerins die intrazelluläre Enzymkinetik mit den biokinetischen Daten bei Stoßbelastung und Dauerinfusion und dem Blutspiegel unter Steady-state-Bedingungen zu korrelieren versucht (1, 2). In der vorliegenden Arbeit soll gezeigt werden, daß die dabei ermittelten Gesetzmäßigkeiten auch für andere Substrate – hier Fructose – prinzipielle Gültigkeit haben. Fructose wurde deshalb gewählt, weil sie nicht nur einen wesentlichen Anteil an den Energielieferanten in unserer Nahrung hat, sondern darüber hinaus im Rahmen der Infusionstherapie und parenteralen Ernährung allein oder in Gemischen verabreicht wird und unzulässige Rückschlüsse aus biochemischen und pharmakologischen Untersuchungen mit praxisfremden Dosen und Applikationsraten einige Verunsicherung im Hinblick auf die kontrollierte Anwendung in Infusionen ausgelöst haben. Als Modell für diese Untersuchungen diente die Ratte, weil hier einerseits die Untersuchungen bis zu toxischen und letalen Dosen vorgetrieben werden können und andererseits aus zahlreichen Beobachtungen bekannt ist, daß die an diesem Modell erarbeiteten Gesetzmäßigkeiten ohne weiteres qualitativ auf den Menschen übertragen werden können; Abweichungen sind lediglich von quantitativer Art wegen mengenmäßig unterschiedlicher Enzymausstattung der beiden Spezies.

### Methodik

Versuchstiere waren männliche SIV-Ratten der Versuchstierzucht S. Ivanovas u. Co. (7967 Kisslegg) zwischen 230 und 260 g. Bis zum Versuchsbeginn wurden die Tiere ad libitum mit Standarddiät (Altromin 1324) gefüttert. Dauerinfusion erfolgte durch einen Vena-Cava-Katheter, der in Äthernarkose eingelegt wurde. Um den Katheter offenzuhalten, wurde bis zum Erwachen der Tiere eine Lösung mit 0,82 g NaCl + 0,03 g KCl pro 100 ml infundiert. Kontrolltiere erhielten weiterhin diese Lösung, Versuchstiere Fructoselösung in verschiedenen Konzentrationen mit einer Einlaufgeschwindigkeit von 1 ml/h. Während der ganzen Versuchsdauer stand den Tieren Trinkwasser ad libitum zur Verfügung. Blutentnahme erfolgte durch Kappen der Schwanzspitze, und zwar während der ersten zwölf Stunden zweistündlich und von der 21.–24. Stunde stündlich. Während der ganzen Infusionszeit wurde über einen Katheter der Harn gesamt-

\*) Mit Unterstützung der Jacques-Pfrimmer-Gedächtnisstiftung.

melt. Der Beginn der Infusion lag immer morgens zur gleichen Tageszeit. Zur Bestimmung der Enzymaktivitäten wurde 1 g Gewebe mit eiskalter 0,15 M KCl + 0,001 M Äthylendiamintetraacetat im Verhältnis 1:10 homogenisiert. Das Homogenat wurde eine Stunde bei 100 000 g zentrifugiert. 0,01–0,05 ml des klaren Überstandes wurde zur optischen Enzymmessung eingesetzt.

Organproben zur Substratmessung wurden durch Gefrierstop entnommen und im Verhältnis 1:5 mit 1 M eiskalter Perchlorsäure homogenisiert.

Fructose, Glucose, Glucose-6-phosphat und Fructose-6-phosphat wurde mit Hexokinase nach *Bernt und Bergmeier* (3) bestimmt. ATP, ADP, AMP, Pyruvat, Lactat und anorganisches Phosphat wurden mit Boehringer-Testpackungen bestimmt.

Die Proteinbestimmung erfolgte mit der Biuretmethode.

Zur Bestimmung der Aktivität von Ketohexokinase wurde das bei der Reaktion entstehende ADP im gekoppelten optischen Test mit Pyruvatkinase und Lactatdehydrogenase gemessen. Zusatz von N-Acetylglucosamin hemmt Hexokinase kompetitiv (4). Zudem wird die Spezifität der Messung von Fructokinase dadurch erleichtert, daß die für die Messung erforderlichen Fructosekonzentrationen ( $1,5 \cdot 10^{-3}$ ) mit Hexokinase noch kaum reagieren.

Ansatz zur Bestimmung von Ketohexokinase:

1,5 ml 0,1 M Triäthanolaminpuffer pH 7.5  
 0,2 ml 0,01 M Phosphoenolpyruvat + 1,3 M KCl + 0,4 M MgSO<sub>4</sub>  
 0,2 ml NADH (2,5 mg/ml)  
 0,05 ml 1 M NaF  
 0,05 ml 0,24 M ATP  
 0,05 ml 1 M N-Acetylglucosamin  
 0,02 ml Lactatdehydrogenase (1 mg/ml)  
 0,02 ml Pyruvatkinase (1 mg/ml)  
 0,01–0,05 ml Gewebsextrakt  
 Start mit 0,05 ml 0,06 M Fructose.  
 Registrierung der NADH-Oxidation am Photometer Eppendorf;  
 Meßtemperatur: 25° C.

## Ergebnisse

### *Blutspiegelverhalten im Steady-state in Abhängigkeit von der Infusionsgeschwindigkeit*

Die am Beispiel des Glycerins aufgezeigten Gesetzmäßigkeiten lassen sich auch bei Infusion von Fructose nachweisen. Der bei Dauerinfusion sich einstellende Steady-state-Spiegel im Blut steigt zunächst linear, später aber überproportional mit der Infusionsrate. Während bei Glycerin die Abweichung von der Linearität bereits bei Infusionsraten um 0,3 g/kg/h sichtbar wird, ist das bei Fructose erst ab 1,0 g/kg/h der Fall.

Entsprechend dem überproportionalen Blutspiegelanstieg nimmt die totale Clearance ab. Wie bei Glycerin wird auch bei Fructose die Streuung der Blutspiegel bei hohen Infusionsraten entsprechend individuellen Unterschieden der Enzymausstattung sehr groß und entspricht einer logarithmischen Normalverteilung.

Die Tatsache, daß der überproportionale Blutspiegelanstieg beim Menschen nicht beobachtet wurde, ist dadurch zu erklären, daß bei Infusionsraten über 1 g/kg/h Unverträglichkeitserscheinungen auftreten und deshalb Untersuchungen im Bereich der Nicht-Linearität nicht möglich sind.

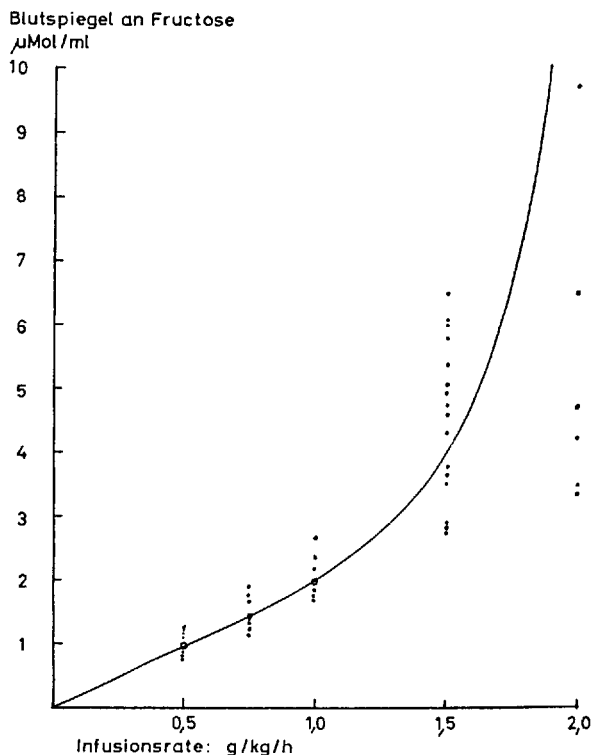


Abb. 1. Fructosespiegel im Blut im Steady-state in Abhängigkeit von der Infusionsrate.

Aus der doppelt reziproken Auftragung von Umsatzgeschwindigkeit (= Infusionsrate minus Ausscheidungsrate) gegen den Blutspiegel entsprechend einem *Lineweaver-Burk*-Diagramm (5) läßt sich die mittlere maximale Umsatzkapazität der Ratte für Fructose zu 3,5 g/kg/h extrapolieren, und der für halbmaximale Umsatzgeschwindigkeit erforderliche Blutspiegel ergibt sich zu 5,32  $\mu$ Mol Fructose pro ml (95,8 mg/100 ml).

#### Renale Ausscheidung

Auffallend gering ist die renale Ausscheidung der Fructose. Sie blieb bis zu Zufuhraten von 1,5 g/kg/h (mit Blutspiegeln um 5  $\mu$ Mol/ml bzw. 90 mg/100 ml) unter 3% der Zufuhr. Die renale Ausscheidung an anorganischem Phosphat nimmt mit zunehmenden Infusionsraten an Fructose ab 0,5 g/kg/h ab.

#### Glucose und anorganisches Phosphat im Blut

Bis zu Fructosedosierungen von 1,0 g/kg/h pendelt sich der Glucosespiegel im Blut nach einem vorübergehenden geringfügigen Anstieg (bei 1,0 g/kg/h um 20 mg/100 ml) im Verlaufe einer 24stündigen Infusion wieder auf den Ausgangswert ein. Erst bei einer Dosierung von 1,5 g/kg/h und mehr kommt es zu einem kontinuierlichen Anstieg der Blutglucose-

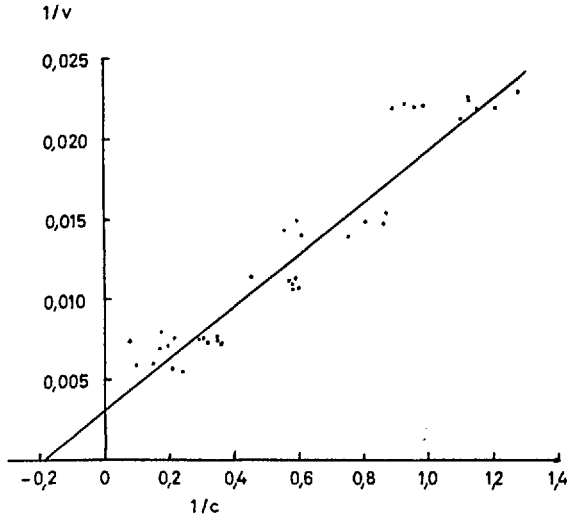


Abb. 2. Doppelt reziproke Auftragung von Umsatzgeschwindigkeit gegen Blutspiegel.  $v$  = Umsatzgeschwindigkeit (Infusionsrate minus Ausscheidungsrate) in  $\mu\text{Mol/kg/min}$ .  $c$  = Blutspiegel in  $\mu\text{Mol/ml}$ .

konzentration. Eine Abnahme der Konzentration an anorganischem Phosphat im Blut findet sich bei Dauerinfusion (im Gegensatz zu Stoßbelastungen) nicht. Es kommt im Gegenteil bei höheren Dosierungen im Verlaufe der Infusion zu einem Anstieg des anorganischen Phosphats, der möglicherweise mit der verringerten Ausscheidung im Harn zusammenhängt.

#### Metabolitkonzentrationen in Leber und Niere

Metabolitenkonzentrationen in Leber und Niere sind in den Tab. 3 und 4 zusammengestellt. Es ist auffallend, daß die langfristige Dauer-

Tab. 1. Ausscheidung von anorganischem Phosphat im Harn während 24 Stunden Dauerinfusion

Die Kontrollen erhielten eine Infusion mit einer Lösung von 0,82 g NaCl + 0,03 g KCl in 100 ml.

$m$  = Mittelwert,  $s$  = Standardabweichung,  $n$  = Zahl der Versuchstiere

	$n$	Ausscheidung von anorganischem Phosphat ( $\mu\text{Mol}/24 \text{ Std.}$ )	
		$m$	$s$
Kontrollen	7	1173	309
Fructose:			
0,5 g/kg/h	7	1072	182
0,75 g/kg/h	7	963	186
1,0 g/kg/h	10	840	143
1,5 g/kg/h	7	758	613

Tab. 2. Verhalten des Blutzuckers an anorganischem Phosphat während Dauerinfusion  
Die Kontrollen erhielten Infusionen mit einer Lösung von 0,82 g NaCl + 0,03 g KCl in 100 ml.  
m = Mittelwert, s = Standardabweichung, n = Zahl der Versuchstiere

	n	Anorganisches Phosphat im Blut ( $\mu\text{Mol/ml}$ ); Stunden nach Infusionsbeginn											
		0	2	4	6	8	10	12	21	22	23	24	
Kontrollen	8	m 2,32 s 0,20		2,90 0,36		2,59 0,54		2,40 0,17		2,53 0,22		2,74 0,175	
Fructose:													
0,5 g/kg/h	11	m 2,23 s 0,59	2,38 0,52	2,52 0,64	2,54 0,69	2,47 0,66	2,42 0,66	2,41 0,65	2,70 0,84	2,51 0,60	2,76 0,77	2,75 0,80	
0,75 g/kg/h	12	m 2,69 s 0,29	2,85 0,38	3,13 0,46	3,17 0,41	3,05 0,36	3,15 0,29	3,08 0,36	3,02 0,31	3,16 0,30	3,25 0,37	3,27 0,37	
1,0 g/kg/h	11	m 2,77 s 0,20	2,83 0,22	3,04 0,20	3,15 0,24	3,35 0,34	3,19 0,36	2,89 0,40	2,96 0,48	3,14 0,52	3,20 0,91	3,30* 0,46	
1,5 g/kg/h	8	m 2,71 s 0,21	2,67 0,34	2,95 0,34	3,24 0,25	3,46 0,33	3,70 0,31	3,94* 0,44	3,80* 0,82	3,92* 1,00	3,87* 1,10	4,06* 0,95	

Die mit \* bezeichneten Werte unterscheiden sich signifikant von den Werten vor Beginn der Infusion.

Tab. 3. Metabolitkonzentrationen in der Leber vor und nach 24 Std. Dauerinfusion  
 Alle Angaben bedeuten  $\mu\text{Mol/g}$  Leber Frischgewicht.  
 $n$  = Zahl der Versuchstiere,  $m$  = Mittelwert,  $s$  = Standardabweichung.  
 Kontrolltiere erhielten eine Lösung mit 0,82 g NaCl + 0,03 g KCl in 100 ml

	n	ATP	ADP	AMP	Summe AN	Pyruvat	Lactat	Lactat Pyruvat
Tiere ohne Infusion	16	m 2,99 s 0,55	1,07 0,19	0,30 0,13	4,36 0,37	0,10 0,04	1,15 0,41	11,5
Kontrolltiere nach 24 Std. Infusion	8	m 2,70 s 0,44	1,63 0,20	0,58 0,24	4,91 0,27	0,08 0,05	1,52 0,43	19,0
Nach 24 Std. Fructoseinfusion: 0,5 g/kg/h	12	m 2,91 s 0,39	1,37 0,18	0,39 0,09	4,67 0,31	0,15 0,08	2,06 0,84	13,7
1,0 g/kg/h	11	m 3,23 s 0,50	1,37 0,23	0,40 0,16	5,00 0,26	0,24 0,13	3,27 1,26	13,6
1,5 g/kg/h	8	m 2,78 s 0,68	1,34 0,30	0,52 0,35	4,64 0,60	0,20 0,06	3,57 2,60	17,9

Tab. 4. Metabolitkonzentrationen in der Niere vor und nach 24 Std. Dauerinfusion

Alle Angaben bedeuten  $\mu\text{Mol/g}$  Niere-Frischgewicht.

n = Zahl der Versuchstiere, n = Mittelwert, s = Standardabweichung.

Kontrolltiere erhielten eine Lösung mit 0,83 g NaCl + 0,03 g KCl in 100 ml

	n	ATP	ADP	AMP	Summe AN	Pyruvat	Lactat	Lactat Pyruvat
Tiere ohne Infusion	16	m 1,96 s 0,41	0,98 0,16	0,40 0,16	3,34 0,31	0,06 0,02	0,76 0,23	12,7
Kontrolltiere nach 24 Std. Infusion	8	m 1,80 s 0,49	0,88 0,14	0,29 0,12	2,97 0,58	0,12 0,05	2,00 0,71	16,7
Nach 24 Std. Fructoseinfusion: 0,5 g/kg/h	12	m 2,17 s 0,26	0,87 0,20	0,30 0,05	3,34 0,32	0,14 0,07	1,81 0,58	12,9
1,0 g/kg/h	11	m 1,94 s 0,35	0,89 0,17	0,36 0,09	3,19 0,51	0,16 0,06	3,03 0,93	18,9
1,5 g/kg/h	8	m 1,00* s 0,33	0,64* 0,13	0,32 0,13	1,96* 0,39	0,17 0,06	4,28 2,64	25,2

Die mit \* bezeichneten Adeninucleotidwerte unterscheiden sich signifikant von den Kontrollen.

infusion selbst bei toxischen Dosen (bei 1,0 g/kg/h starben 13%, bei 1,5 g/kg/h 43% der Tiere während der 24stündigen Infusion) nicht zu einer Abnahme der Adeninnucleotide in der Leber führte. Es kann demnach keine Rede davon sein, daß Fructose eine besondere „Lebertoxizität“ besitzt. Dagegen findet man in den Nieren nach 24stündiger Infusion von 1,5 g/kg/h Fructose einen signifikanten Abfall von ATP und Gesamt-Adeninnucleotiden. Zeichen von Nierenschädigung finden sich auch anderweitig. So nimmt die Harnausscheidung bei Dosierungen über 1,0 g/kg/h stark ab, die Nierengewichte nehmen zu. Da die Proteinkonzentration entsprechend der Gewichtszunahme abnimmt, ist anzunehmen, daß es sich um eine Wassereinlagerung handelt. Es ist anzumerken, daß die oben beschriebene Abnahme der Ausscheidung von anorganischem Phosphat zu beobachten ist, bevor die Harnausscheidung beeinträchtigt ist. In beiden Organen kommt es bei höheren Dosierungen zu einem Anstieg von Lactat und Pyruvat ohne wesentliche Änderung des Quotienten Lactat/Pyruvat.

#### *Ketohexokinase in Leber und Niere*

In Tab. 5 sind die Aktivitäten von Ketohexokinase (EC 2.7.1.3) in Leber und Niere vor und nach Infusionen zusammengestellt. Während bei einer Fructosedosierung von 1,5 g/kg/h nach 24 Stunden eine geringe Abnahme der Aktivität pro g Frischgewicht zu verzeichnen ist, bleiben die Gesamtaktivitäten auf das ganze Organ berechnet konstant. Die Abnahme der gewichtsbezogenen Aktivität zeigt also wie beim Proteingehalt eine Wassereinlagerung mit Gewichtszunahme des Organs bei hohen Dosierungen an. Bemerkenswert ist die hohe Ketohexokinaseaktivität der Nieren.

Tab. 5. Aktivität der Ketohexokinase in Leber und Nieren bei Kontrolltieren und nach 24stündiger Fructoseinfusion

Die Kontrollen erhielten Infusionen mit einer Lösung von 0,82 g NaCl + 0,03 g KCl in 100 ml.

m = Mittelwert, s = Standardabweichung, n = Zahl der Versuchstiere

	n	Aktivität der Ketohexokinase ( $\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{g}$ Frischgewicht)	
		Leber	Niere
Kontrolltiere ohne Infusion	16	m 6,35	3,42
		s 0,86	0,46
Infusion mit Elektrolytlösung	9	m 5,23	3,64
		s 1,38	1,24
Fructoseinfusion 0,5 g/kg/h	12	m 5,98	3,61
		s 1,13	0,81
0,75 g/kg/h	12	m 6,51	3,35
		s 0,58	0,60
1,0 g/kg/h	11	m 6,38	3,58
		s 1,01	0,61
1,5 g/kg/h	8	m 5,67	2,68
		s 1,14	0,68



### Diskussion

Die Untersuchung macht deutlich, welche erheblichen Unterschiede zwischen den Effekten nach einer Stoßbelastung und während einer kontinuierlichen Dauerinfusion bestehen. Effekte, die nach Stoßbelastungen beobachtet werden, können daher nicht maßgebend sein für die Beurteilung der Brauchbarkeit einer Substanz bei Dauerinfusion. Wir haben schon früher gezeigt, daß im Verhalten der Leber-Adeninnucleotide nach Fructose-Stoßbelastung und kontinuierlicher Infusion ein entscheidender Unterschied besteht (6). Der Abfall an ATP und Gesamt-Adeninnucleotiden nach Stoßbelastung ist bekannt (7, 8, 9). Aus den hier vorliegenden Untersuchungen geht hervor, daß selbst toxische Dosen von 1,5 g/kg/h nach 24stündiger Infusion keinen Einfluß auf die Adeninnucleotide der Leber haben. Selbst bei 2,0 g/kg/h – eine Dosis, die nicht 24 Stunden lang ertragen wurde (die Tiere starben meist zwischen der 12. und 20. Stunde) – war nach 12 Stunden kein Abfall der Adeninnucleotide der Leber festzustellen. Im Gegensatz dazu fanden wir in der gleichen Versuchsanordnung bei Infusion von 1,5 g Fructose pro kg und Std. nach 2 Stunden einen geringfügig, aber signifikant reduzierten ATP- und Gesamt-Adeninnucleotidgehalt der Leber von 80% der Kontrollwerte. Es scheint demnach so zu sein, daß die durch eine vorübergehende Störung der Homöostase veränderten Metabolitspiegel sich im Verlaufe längerer Infusionszeiten wieder zur Norm zurückstellen. Entsprechendes wurde ja weiter oben auch beim Verlauf des Blutglucosespiegels beschrieben. Aus diesem Grund erscheint es viel zweckmäßiger, Infusionen rund um die Uhr laufen zu lassen und nicht – wie es die Arzneimittelkommission empfiehlt (10) – nach jeweils 6 Stunden eine Pause einzulegen. Viel empfindlicher als die Leber reagiert die Niere, die als der eigentliche Ort der Schädigung bei hochdosierten Dauerinfusionen angesehen werden muß, wie wir schon am Beispiel des Glycerins gezeigt haben (1, 15).

Zur Todesursache können wir keine sicheren Aussagen machen; vermutlich aber spielen die hohen osmotisch wirksamen Konzentrationen im Blut dabei eine Rolle, die sich besonders beim Versagen der Nierensekretion einstellen.

Das Vorkommen von Kethexokinase (EC 2.7.1.3) in der Niere ist erstmals von *Hers* (11) beschrieben worden (zitiert bei 12) und wurde seitdem nur noch einmal erwähnt (13). Es kann nach der vorliegenden Untersuchung kein Zweifel bestehen, daß die Niere einen maßgebenden Anteil am Fructoseumsatz hat. Die Tatsache, daß wir höhere Kethexokinase-Aktivitäten finden als in der Literatur beschrieben (4, 13, 14), mag dadurch zu erklären sein, daß ADP – ein zu ATP kompetitiver Hemmstoff der Reaktion – in unserem Test laufend entfernt wird.

### Zusammenfassung

Bei 24stündigen Dauerinfusionen von Fructose an Ratten folgt der Steady-state-Blutspiegel an Fructose in Abhängigkeit vom Dosisstrom einer Sättigungskinetik. Selbst bei toxischen Dosen von 1,5 g/kg/h findet sich nach 24 Stunden kein Abfall der Adeninnucleotide in der Leber, wohl aber in der Niere. Ein kontinuierlicher Anstieg des Blutglucosespiegels erfolgt erst bei einer Dosierung von 1,5 g/kg/h. Der Blutspiegel an anorganischem Phosphat nimmt nicht ab,

sondern bei Dosierungen von 1,0 und 1,5 g/kg/h gegen Ende der Infusionszeit hin zu. Die Nieren nehmen – vermutlich durch Wassereinlagerung – an Gewicht zu, und die Harnsekretion nimmt bei Dosierungen über 1,0 g/kg/h stark ab. In den Nieren findet sich eine beträchtliche Aktivität an Ketohekinase.

### Summary

The steady-state blood level of fructose during 24 hours intravenous infusion in response to different doses follows saturation kinetics. Even after toxic doses of 1.5 g/kg/h no depletion of liver adenine nucleotides can be observed after 24 hours. In the kidneys, however, ATP, ADP and total adenine nucleotides were decreased after a dose of 1.5 g/kg/h of fructose. The blood glucose increased continuously at infusion rates of 1.5 g/kg/h. Inorganic phosphate in the blood increased at doses of 1.0 and 1.5 g/kg/h. The weight of the kidneys increased, presumably through water uptake. Urinary secretion was drastically reduced at doses above 1.0 g/kg/h. An appreciable activity of ketohekinase can be demonstrated in the kidneys.

### Literatur

1. Ackermann, R. H., K. H. Bässler, K. Wagner, Infusionstherapie 2, 9 (1975). – 2. Ackermann, R. H., K. H. Bässler, K. Wagner, Z. Physiol. Chem. 355, 576 (1974). – 3. Bernt, H., H. U. Bergmeyer, in: Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. II, 1266. 2. Aufl. (Weinheim/Bergstraße 1970). – 4. Sillero, M. A. G., A. Sillero, A. Sols, European, J. Biochem. 10, 345 (1969). – 5. Lineweaver, H., D. Burk, J. Amer. Chem. Soc. 56, 658 (1934). – 6. Brinkrolf, H., K. H. Bässler, Z. Ernährungswiss. 11, 167 (1972). – 7. Mäenpää, P. H., K. O. Raivio, M. P. Kekomäki, Science 161, 1253 (1968). – 8. Raivio, K., M. P. Kekomäki, P. H. Mäenpää, Biochem. Pharmacol. 18, 2615 (1969). – 9. Woods, H. F., L. V. Eggleston, H. A. Krebs, Biochem. J. 119, 501 (1970). – 10. Deutsches Ärzteblatt, Heft 52, 28. Dezember 1972. – 11. Hers, H., Le métabolisme du fructose (Bruxelles 1957). – 12. Leuthardt, F., K. Stuhlfauth, in: Medizinische Grundlagenforschung, Band III, 422 (Stuttgart 1960). – 13. Günther, M. A., A. Sillero, A. Sols, Enzym. biol. clin. 8, 341 (1967). – 14. Heinz, F., W. Lamprecht, J. Kirsch, J. Clin. Invest. 47, 1826 (1968). – 15. Ackermann, R. H., Z. ges. exper. Med., im Druck.

### Anschrift der Verfasser:

Dr. med. W. Hassinger, Johannes-Gutenberg-Universität,  
Fachbereich Theoretische Medizin, Physiologisch-chemisches Institut,  
Langenbeckstraße 1, D-6500 Mainz