

흰쥐에서 대사작용 억제에 의한 혈중 Mg^{2+} 조절

김종식 · 김상진 · 김진상

전북대학교 수의과대학
(1999년 1월 7일 접수)

Regulation of circulating Mg^{2+} in the rat by metabolic inhibition

Jong-shick Kim, Shang-jin Kim, Jin-shang Kim

College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University
(Received Jan 7, 1999)

Abstract : Magnesium (Mg^{2+}) plays an important role in the regulation of a range of intracellular processes. Regulation of extracellular Mg^{2+} contents was studied in the anesthetized Sprague-Dawley (SD) rats. Animals were injected intraperitoneally with sodium nitrite ($NaNO_2$), and circulating Mg^{2+} ($[Mg^{2+}]_c$) was measured after the injection and then 10 and 20 minutes later. A dose-dependent increase in $[Mg^{2+}]_c$ was observed in animals injected with $NaNO_2$ at a dose of 10mg/kg or higher. Pretreatment with methylene blue prevented the $NaNO_2$ -induced increase in $[Mg^{2+}]_c$. $[Mg^{2+}]_c$ displayed an inverse linear correlation with hemoglobin and exponential correlation during $NaNO_2$ injection. Injection of KCN or rotenone also induced an increase in $[Mg^{2+}]_c$. An increase in $[Mg^{2+}]_c$ was observed when respiration rate was reduced from 100/min (140ml/min) to 10/min (14ml/min) during 30 min. These results indicate that changes in $[Mg^{2+}]_c$ inversely reflect alteration of ATP in a model of metabolic inhibition.

Key words : magnesium, chemical hypoxia, methemoglobin, sodium nitrate.

서 론

Mg^{2+} 은 생체의 생리적 기능에 필수적인 이온으로 중요한 역할에 대해서는 잘 알려져 있으며^{1,2} 이 중요성이 밝혀짐에 따라 최근에 Mg^{2+} 의 조절에 대한 연구가 활발

해지고 있다. 특히 심장질환이 Mg^{2+} 감소와 관련되는데 이는 Mg^{2+} 이 세포 구성성분에서 Ca^{2+} 길항제로써 작용하기 때문인 듯하다³. 또한 저산소증이나 허혈은 ATP 결핍, 세포내 또는 mitochondria 내의 Ca^{2+} 증가, 세포막 지질과괴 및 자유 radical을 형성함으로써 세포손상을 일으킨다^{4,5}. 이와같이 저산소증이나 허혈이 직접적으로 세포

이 논문은 1999년도 전북대학교 부속 생체안전성연구소 학술연구비의 일부 지원으로 이루어졌음(CNU-BSRI, No. 99-).
Address reprint requests to Dr. Jin-shang Kim, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Chonbuk 561-756, Republic of Korea(Tel : 82-652-270-2554).

손상을 일으킬 수 있지만 ATP 결핍에 의한 세포내 유리형 Mg^{2+} 이 증가하여 세포밖으로 Mg^{2+} 이 유출된다면 이는 세포내 Mg^{2+} 의 감소에 기인한 Ca^{2+} 의 작용이 강화되어 세포의 손상이 일어날 가능성이 크다. 대부분의 세포내 Mg^{2+} 이 ATP와 결합되어 있기 때문에 ATP 감소는 세포내 Mg^{2+} 농도를 크게 변동시켜 생체의 생리적 기능에 영향을 미친다. 따라서 세포내·외의 Mg^{2+} 농도는 심장 질환의 지표가 될 만큼 중요하다.

여러 조직 및 세포에서 ATP 결핍으로 세포내 Mg^{2+} 농도증가가 관찰되었다는 보고⁴⁻⁶는 많지만 세포밖으로의 유출에 대한 보고가 없을 뿐만 아니라 저산소증에 의한 혈중 Mg^{2+} 농도변동에 대해서는 알려진 바 없다. 단지 Scarpa 연구진에 의해서 혈중 Mg^{2+} 농도가 호르몬 자극에 의해 증가됨이 관찰되었고⁷ 이는 조직 및 세포에서 호르몬 자극에 의해 Mg^{2+} 이 유리될 수 있다는 결과^{8,9}로 뒷받침하였다. 또한 생체에서 ATP 결핍에 의한 혈중 Mg^{2+} 농도증가는 조직 또는 세포로부터 Mg^{2+} 의 유리와 일치할 수 있기 때문에 ATP를 변동시킬 수 있는 생리적 조건에 따라 세포내·외의 Mg^{2+} 이 조절될 수 있다. 따라서 세포내 유리형 Mg^{2+} 이 ATP 결핍으로 증가한다는 연구보고^{5,6}를 근거로 대사역제 또는 저산소증시 혈중 Mg^{2+} 의 변동을 관찰하고자 하였다. 조직이나 세포에서 호르몬 자극에 의해서 Mg^{2+} 이 유리된다는 보고⁸⁻¹⁰는 있지만 세포내 유리형 Mg^{2+} 증가 자체 또는 ionic 전위차에 의한 Mg^{2+} 유리에 대한 보고는 없었다. 따라서 흰쥐에서 저산소증, cyanide 중독증 및 methemoglobin(Met-Hb) 혈중 등에 의한 순환혈액내 Mg^{2+} 변동에 대해 알아보기 위하여 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

흰쥐 혈액의 채취와 혈장의 분리 : 실험동물은 전북대학교 생체안전성 연구소로부터 구입한 흰쥐(Sprague-Dawley rat, 200-250g)를 실험 90분전에 pentobarbital sodium (30mg/kg)을 복강내 투여하여 마취하고 약 30분 동안 안정시킨 후 대퇴동맥에 catheter를 삽입하여 반복적인 채혈이 용이하도록 하였고 catheter에는 heparin(1000IU/ml)이 함유된 생리식염수를 채워서 혈액응고를 억제하였다. 원활한 산소공급을 위해 기관에 catheter를 삽입하고 rodent ventilator(Harvard, USA)를 설치하여 호흡수 및 호흡량을 조절할 수 있도록 하였으며 약물은 대퇴정맥이나 복

강내로 투여하였다. 채혈은 약물투여 10분전부터 매 10분 간격으로 실시하였으며(약물투여 시간은 실험결과에서 0 min으로 표기), 약물투여전 채취한 혈액을 대조액으로 사용하였다.

혈액은 약 0.3ml를 채혈하여 일부(약 200 μ l)는 Met-Hb의 측정에 사용하였으며 나머지는 즉시 heparin(1000IU/ml)을 가한 Eppendorff centrifuge tube(1.5ml)에 담아 14,000 rpm으로 5분간 원침하여 혈장을 얻었다. 얻은 혈장 50 μ l를 1.5ml의 10% nitric acid 용액에 혼합하여 10분간 실온에서 방치한 후 침전(1,500rpm, 10분)시켜 혈장내의 단백질 등을 제거한 후 상층액을 채취하였다.

시료의 Mg^{2+} 농도측정 : Mg^{2+} 농도는 상기의 방법에 의해 채취한 상층액에서 원자 흡광 분광광도계(AnaLab 9200A)를 이용하여 파장 285.2nm에서 측정하였다.

혈중 methemoglobin(Met-Hb) 및 헤모글로빈(Hb) 농도측정 : Met-Hb 측정은 Evelyn과 Malloy¹¹의 방법에 의해서 5% PBS 9.8ml에 채혈된 200 μ l의 혈액을 가하여 잘 혼합하고 이 혼합액을 편의상 각각 A액 그리고 B액으로 5ml씩 나눴다. 2.5% $K_3Fe(CN)_6$ 용액을 20 μ l 첨가한 B액과 A액에서 분광광도계(Milton Roy, USA)를 이용하여 5% PBS를 대조액으로 하여 630nm에서 흡광도를 측정하였으며 이 값들을 A_1 및 B_1 이라고 하였다. A_1 및 B_1 액에 각각 20 μ l의 2% KCN을 가하여 잘 혼합한 후 30분간 실온에 방치한 후 이 용액들을 같은 방법으로 2% KCN을 가한 5% PBS를 대조액으로 하여 630nm에서 흡광도를 측정하여 이 값들을 A_2 및 B_2 라고 하였다. 이렇게 하여 측정된 흡광도를 $Met-Hb(\%) = A_1 - A_2 / B_1 - B_2 \times 100$ 의 공식에 대입하여 Met-Hb(%) 농도를 산출하였다.

혈중 Hb 측정은 Tietz¹²의 방법에 의해서 5ml Drabkin 용액에 혈액 20 μ l를 첨가하고 잘 혼합하여 10분간 상온에서 방치한 후 원침하여(3,000rpm, 10분) 상층액을 취하고 이를 분광광도계를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다. Hb 농도는 흡광도(540nm)값 / 0.0295(Hb 상수)로 환산하여 g/100ml로 표기하였다.

사용약물 : Rotenone, methylene blue, KCN, NaCN 및 $NaNO_2$ 등은 Sigma Co.로부터 구입하여 사용하였다.

통계처리 : 실험성적은 Mean \pm SEM으로 나타냈고 각 군간의 유의성 검정은 Student's *t*-test에 의해 분석하였다.

결 과

NaNO₂가 흰쥐의 혈중 Mg²⁺ 농도에 미치는 영향 : Fe³⁺ 이온을 가진 methemoglobin(Met-Hb)은 산소 운반능력이 없기 때문에 조직 및 세포에 저산소증이 나타날 수

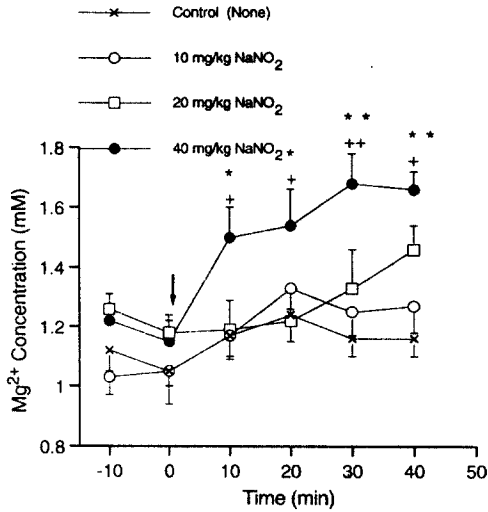


Fig 1. Time course of changes in [Mg²⁺]_c induced by sodium nitrite in the anesthetized rat. Arrow indicates the time of injection of sodium nitrite(I.P.). Data are expressed as mean ± SEM of 4 experiments. *p < 0.05, **p < 0.01 vs. 0 minute value; *p < 0.05, **p < 0.01 vs. corresponding values with the control time points.

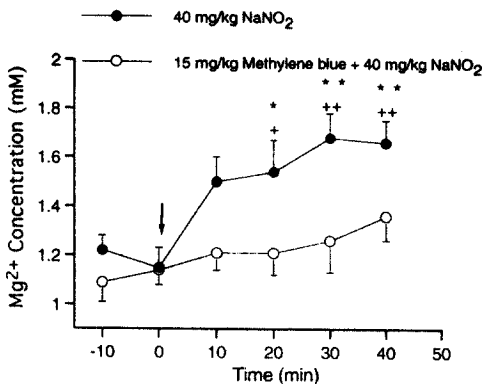


Fig 2. Change in [Mg²⁺]_c induced by injection of sodium nitrite in the absence or in the presence of methylene blue pre-treatment (I.V.). Arrow indicates the time of injection of sodium nitrite (I.P.). Data are expressed as mean ± SEM of 4 experiments. *p < 0.05, **p < 0.01 vs. 0 minute value; *p < 0.05, **p < 0.01 vs. corresponding values with the 40mg NaNO₂ time points.

있다. 따라서 흰쥐에 Met-Hb 혈증을 유발시키는 NaNO₂ (10, 20 및 40mg/kg)를 복강내 투여한 결과 흰쥐의 혈중 Mg²⁺ 농도는 NaNO₂ 농도에 의존적으로 증가되었다(Fig 1).

Methylene blue가 NaNO₂에 의한 혈중 Mg²⁺ 증가에 미치는 영향 : NaNO₂(40mg/kg)에 의한 혈중 Mg²⁺ 증가효과는 Met-Hb 혈증 치료제로 알려진 methylene blue(15mg/kg)의 투여에 의해 억제되었다(Fig 2).

NaNO₂에 의한 혈중 Mg²⁺ 농도증가와 Met-Hb 농도와의 관계 : NaNO₂(40mg/kg)를 복강내 투여한 후 연속된 채혈에 따른 혈액량 감소와 혈중 Mg²⁺ 농도변동과의 관계를 관찰한 결과 혈액량 감소의 지표인 Hb치는 감소하였으나 혈중 Mg²⁺ 농도는 상반되게 증가하여 이들 관계는 무관함을 알 수 있었고(Fig 3, panel A), 혈중 Met-Hb 농도증가는 혈중 Mg²⁺ 농도증가와 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었다(Fig 3, panel B).

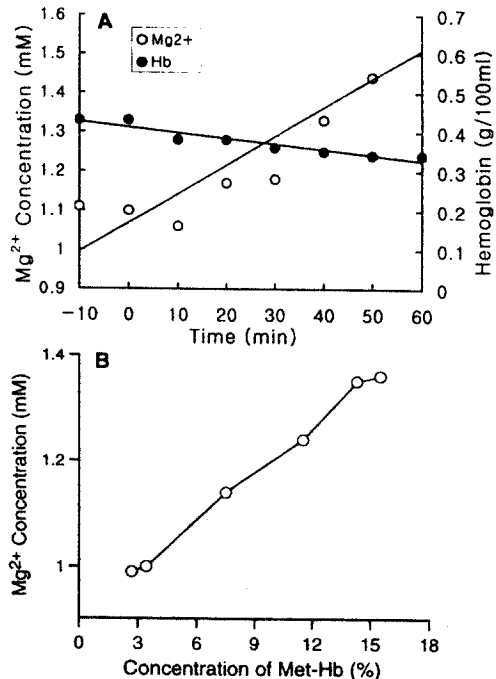


Fig 3. Relation between [Mg²⁺]_c and hemoglobin concentration (A), [Mg²⁺]_c and methemoglobin (Met-Hb) concentration (B) in animals injected with sodium nitrite. Arrow indicates the time of injection of sodium nitrite.

혈중 Mg²⁺ 농도에 미치는 세포호흡 억제제의 효과 : Cytochrome oxidase 활성을 억제하여 세포내 ATP 감소를

유발시키는 KCN과 전자전달계의 site I 을 억제하는 rotenone을 복강내 투여한 후 혈중 Mg^{2+} 의 농도를 측정한다. 결과 흰쥐에서 4mg/kg KCN 및 900 μ g/kg rotenone은 혈중 Mg^{2+} 의 농도를 시간에 따라 증가시켰다(Fig 4).

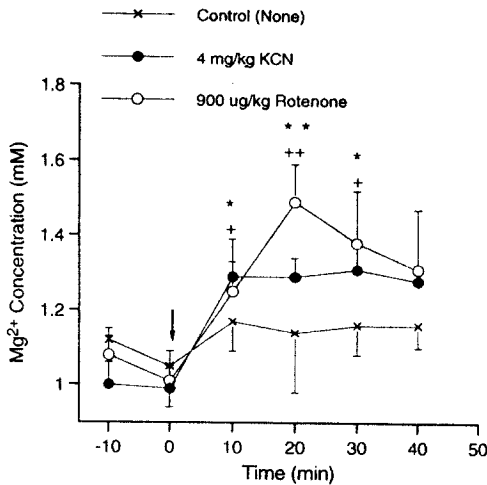


Fig 4. Change in $[Mg^{2+}]_c$ induced by the infusion of potassium cyanide or rotenone. Arrow indicates the time of injection of chemicals. Data are expressed as mean \pm SEM of 5 experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. 0 minute value; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. corresponding values with the control $NaNO_2$ time points.

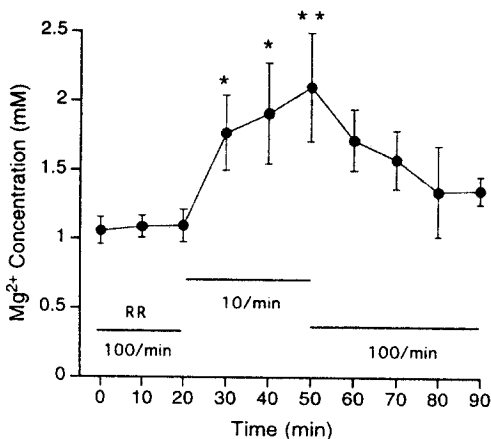


Fig 5. Change in $[Mg^{2+}]_c$ induced by respiratory hypoxia in the anesthetized rat. Respiration rate (RR) was reduced at 20 min from 100/min to 10/min and returned to 100/min at 50min. Data are expressed as mean \pm SEM of 4 experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. 0 minute values.

호흡수 변동에 의한 혈중 Mg^{2+} 농도에 미치는 효과 : 흰쥐에 직접적으로 호흡수를 조절하면서 혈중 Mg^{2+} 농도를 측정하였다. 흰쥐의 정상 호흡수, 약 100회/min(140 ml/min)으로 공급하였을 때 보다 약 10회/min(14ml/min)으로 공급하였을 때 혈중 Mg^{2+} 농도는 유의성 있게 증가하였고 다시 정상 호흡수로 전환하여 공급하였을 때 혈중 Mg^{2+} 농도는 감소되었다(Fig 5). 역시 호흡수 감소에 의한 Met-Hb 증가를 육안적으로 관찰할 수 있었다.

고 찰

Mg^{2+} 은 생체내에 필수적인 이온으로써 많은 생리적 역할을 담당하고 있으며 이에 대한 연구는 활발히 진행되었으나^{1,2,13,14} 생체내 Mg^{2+} 의 항상성 유지 및 조절기전에 대해서는 비교적 잘 밝혀져 있지 않다. 몇몇 연구자에 의해 giant cell, bacteria 및 닭 적혈구 등에서 Mg^{2+} 농도 조절기전에 대한 연구보고^{5,15}는 있지만 대사억제에 의한 Mg^{2+} 의 조절기전과 *in vivo*에서 혈중 Mg^{2+} 의 농도 변동에 대한 연구는 많지 않다. 특히 세포호흡의 억제에 세포내 유리형 Mg^{2+} 의 증가를 일으키고 이러한 세포내 유리형 Mg^{2+} 의 증가는 세포밖으로의 Mg^{2+} 유동에 관여하는 것으로 알려져²⁵⁻²⁷ 세포호흡의 억제와 혈중 Mg^{2+} 농도와의 관계를 규명하고자 하였다.

생체내의 Mg^{2+} 의 재분배는 간^{8,16}, 심장^{8,9}, 적혈구¹⁷ 및 췌장¹⁸ 등의 세포막을 통하여 빠르게 일어난다. 생체내에서 Mg^{2+} 의 항상성 조절에 대한 연구는 첫째, 세포내 Mg^{2+} 또는 세포내 소기관내의 Mg^{2+} 은 상호 전환이 빠르게 이루어져야 하며 둘째, 세포막을 통한 Mg^{2+} 의 유동은 세포내·외가 서로 대조적인 양상을 나타낼 것이고 셋째, 혈중 Mg^{2+} 농도는 kidney의 여과에 의해 조절될⁷을 고려해야 하므로 혈중 Mg^{2+} 의 조절부위를 논하기는 어렵다. 따라서 *in vivo* 연구에서 보고⁷된 바와 같이 혈중 Mg^{2+} 의 변동현상만을 제시하고 유리부위를 추론할 수 밖에 없는 단점이 있다. 본 연구에서 Met-Hb 혈증을 유발시키는 $NaNO_2$ 의 처치는 시간에 따라 그리고 농도에 의존적으로 혈중 Mg^{2+} 농도를 증가시켰으며(Fig 1), Met-Hb 혈증 치료제로 알려진 15mg/kg methylene blue의 투여에 의해 혈중 Mg^{2+} 증가효과는 억제되었고(Fig 2) 혈중 Met-Hb 농도와 혈중 Mg^{2+} 증가효과가 상호존적인 결과임을(Fig 3, panel B) 관찰한 바 Mg^{2+} 증가효과는 $NaNO_2$ 에 의한 직접적인 효과로 생각하기 어렵고 이차적인 Met-

Hb 증가에 기인된 것으로 생각된다. 또한 호흡수의 감소는 혈중 Mg^{2+} 증가효과를 나타냈다(Fig 5). 이는 ischemia, hypoxia 시 세포내 유리형 Mg^{2+} 의 증가로^{5,19} 세포막을 통한 Mg^{2+} 유동이 증가하였거나 산소 공급억제 및 ATP 감소 등에 의한 세포의 구조적 변화에 기인될 가능성도 있으나 본 연구로써 확인하기는 어렵다.

세포내에 존재하는 90% 이상의 Mg^{2+} 이 ATP와 결합하고 있기 때문에²⁰ 세포 독성학적으로 세포내 ATP가 감소되는 상태 즉, ischemia, hypoxia 또는 cyanide 중독증과 같은 상황이 유발되면 세포내 유리형 Mg^{2+} 이 증가될 수 있다.^{5,6,21} 세포내 cytochrome oxidase를 억제하는 cyanide 중독시 세포내 ATP는 현저히 감소할 것이고 세포내 유리형 Mg^{2+} 은 증가될 것이다. 세포독성에 의한 ATP 감소가 세포내 유리형 Mg^{2+} 을 현저히 증가시켰고 유리형 Mg^{2+} 은 결합형 Mg^{2+} 보다도 세포막의 투과가 용이하므로 혈중 Mg^{2+} 을 증가시킬 수 있다. 본 실험에서는 세포내 유리형 Mg^{2+} 을 직접적으로 측정할 수 없었으나 간접적으로 ischemic 심장에서 ³¹P NMR spectroscopy를 이용하여 ATP의 감소를 확인한 바 있고²¹ 최근 Kim *et al*²²은 NaCN 투여 1분 이내에 약 80% 이상의 세포내 ATP가 감소되어 세포내 유리형 Mg^{2+} 이 증가되고 이러한 유리형 Mg^{2+} 의 증가는 호르몬 자극에 의해 세포외로 유리를 증가시킬 수 있을 것이라고 하였다. 본 실험에서도 세포내 ATP의 생성을 억제하는 cyanide와 rotenone의 투여는 시간에 의존적으로 혈중 Mg^{2+} 농도를 증가시켰다(Fig 4). Cyanide와 rotenone에 의한 혈중 Mg^{2+} 농도의 증가는 심장을 비롯한 모든 세포에서 ATP 생성을 억제하여 혈중 Mg^{2+} 증가시켰을 것이므로 정확한 Mg^{2+} 유리 부위를 논하기는 어렵다. 또한 세포의 Mg^{2+} 의 조절은 강력한 항부정맥제로 작용할 수 있다는 보고²³와 ischemia 시 세포내 Ca^{2+} 의 증가로 부정맥이 발생되며 심근경색 및 ischemia 심장에서 세포의 Mg^{2+} 을 증가시켰을 때 부정맥을 억제한다는 보고²⁴⁻²⁶로 미루어 세포내 유리형 Mg^{2+} 의 증가는 세포내 Ca^{2+} 증가에 대해 길항작용을 갖게 됨으로 ischemia 및 hypoxia 시 세포내 유리형 Mg^{2+} 의 증가는 초기에 부정맥을 억제할 수 있으므로 심근세포 및 심장을 보호할 수 있는 기전으로 추측되나 이에 대한 연구는 더욱 수행하여야 할 것으로 생각된다.

이전 연구와 본 연구를 비교 검토해보면 많은 Mg^{2+} 이 세포내 구성성분에서 ATP와 결합하고 있기 때문에 ATP 감소시 유리형 Mg^{2+} 이 증가될 수 있고 세포내 구성성분

또는 세포밖으로 재분포 될 수 있다. 따라서 Met-Hb 혈중과 대사억제제에 의한 ATP 감소는 세포내 유리형 Mg^{2+} 농도를 증가시킬 수 있고 이 증가된 Mg^{2+} 가 혈중으로 재분포되어 혈중 Mg^{2+} 이 증가된 것으로 사료된다.

결론

Mg^{2+} 은 생체의 생리적 기능을 위한 필수적 이온이기 때문에 비록 Mg^{2+} 변동이 소량일지라도 생체에 많은 영향을 미칠 수 있다. 최근 많은 연구자들은 호르몬 또는 병리학적 조건에서 조직 및 세포내의 Mg^{2+} 변동 및 조절 기전에 대한 연구보고를 하였다. 그러나 저산소증에 의한 혈중 Mg^{2+} 변동에 대한 연구보고는 없었다. 세포내 많은 Mg^{2+} 이 ATP와 결합되어 있기 때문에 ATP 결핍시 유리형 Mg^{2+} 이 증가하고 세포내 구성성분으로 재분포될 수 있다는 이전의 연구를 기초로 본 연구에서는 ATP 감소와 혈중 Mg^{2+} 농도관계를 규명하기 위하여 Met-Hb 혈중, 대사억제제 및 호흡수 감소에 의한 Mg^{2+} 변동을 마취한 흰쥐의 혈장에서 관찰하였다. 혈중 Mg^{2+} 농도는 각각의 50분간 10분 간격으로 채혈한 혈장에서 atomic absorption spectrophotometer를 이용하여 측정하였다. Sodium nitrite(10, 20, 40mg/kg, IP)는 농도에 따라 혈중 Mg^{2+} 농도를 증가시켰고 이러한 Mg^{2+} 농도 증가효과가 Met-Hb 혈중 치료제인 methylene blue에 의해 억제되었다. 연속된 채혈에 의한 혈중 Hb은 시간에 따라 감소하였으나 nitrite에 의한 혈중 Mg^{2+} 농도는 시간에 따라 증가하여 Hb 감소와 혈중 Mg^{2+} 농도와는 무관하였으나 nitrite에 의한 Mg^{2+} 농도 증가효과가 Met-Hb 형성과 매우 밀접함을 알 수 있었다. 이는 Met-Hb 혈중에 의한 ATP 감소에 따른 혈중 Mg^{2+} 농도증가로 추측하고 이를 확인하기 위하여 대사억제제인 KCN과 rotenone(90µg/kg, IP) 역시 혈중 Mg^{2+} 농도를 시간에 따라 증가시켰다. 또한 호흡조절기를 이용하여 정상 호흡수(100회/분, 140ml/min)에서 호흡수를 감소(10회/분, 14ml/min) 시켰을 때 역시 혈중 Mg^{2+} 농도와 Met-Hb이 증가하였다.

따라서 상기와 같은 결과에 의하면 Met-Hb 혈중 또는 대사억제제에 의한 혈중 Mg^{2+} 농도 증가효과는 ATP 감소에 의한 결과 즉, 세포내 유리형 Mg^{2+} 농도증가에 의해서 Mg^{2+} 세포밖으로 유출된 결과로 사료된다. 그러나 *in vivo* 실험이기 때문에 Mg^{2+} 의 유리부위(조직 또는 기관)는 알 수 없다.

참 고 문 헌

1. Grubbs RD, Maguire ME. Magnesium as a regulatory cation: Criteria and evaluation. *Magnesium*, 6:113-127, 1987.
2. White RE, Hartzell HC. Magnesium ions in cardiac function: Regulation of channel and second messengers. *Biochem Pharmacol*, 38:859-867, 1989.
3. Altura BM, Altura BT. New perspectives on the role of magnesium in the pathophysiology of the cardiovascular system. *Magnesium*, 4:226-244, 1985.
4. Kirkels JH, van Echteld CJA, Ruigrok TJ. Intracellular magnesium during myocardial ischemia and reperfusion: possible consequences for postischemic recovery. *J Mol Cell Cardiol*, 21:1209-1218, 1989.
5. Murphy E, Steenbergen C, Levy LA, et al. Cytosolic free magnesium levels in ischemic rat heart. *J Biol Chem*, 264:5622-5627, 1989.
6. Headrick JP, Willis RJ. Cytosolic free magnesium in stimulated, hypoxic and underperfused rat heart. *J Mol Cell Cardiol*, 23:991-999, 1991.
7. Keenan D, Romani A, Scarpa A. Differential regulation of circulating Mg^{2+} in the rat by β_1 - and β_2 -adrenergic receptor stimulation, *Circ Res*, 77:973-983, 1995.
8. Romani A, Marfella C, Scarpa A. Regulation of Mg^{2+} uptake in isolated rat myocytes and hepatocytes by protein kinase C. *FEBS Lett*, 296:135-140, 1992.
9. Romani A, Marfella C, Scarpa A. Regulation of magnesium uptake and release in the heart and in isolated ventricular myocytes. *Circ Res*, 72:1139-1148, 1993.
10. Romani A, Scarpa A. Hormonal control of Mg^{2+} transport in the heart. *Nature*, 346:841-844, 1990.
11. Evelyn KA, Malloy HT. Microdetermination of oxyhaemoglobin in a single sample of blood. *J Biol Chem*, 126:655-662, 1938.
12. Tietz NW. Measurement of haemoglobin concentration in whole blood. In fundamentals in clinical chemistry edited by saunders Co philadelphia. 411-413, 1970.
13. Maguire ME. Hormone-sensitive magnesium transport and magnesium regulation of adenylate cyclase. *Trends Pharmacol Sci*, 5:73-77, 1984.
14. Gunther T. Functional compartmentation of intracellular magnesium. *Magnesium*, 5:53-59, 1986.
15. Snavely MD, Gravina SA, Cheung TBT, et al. Magnesium transport in *Salmonella typhimurium*: Regulation of mgtA and mgtB expression. *J Biol Chem*, 266: 824-829, 1991.
16. Jakob A, Beckert J, Schottli G, et al. α_1 -Adrenergic stimulation causes Mg^{2+} release from perfused rat liver. *FEBS Lett*, 246:127-130, 1989.
17. Feray J, Garay R. Demonstration of a $Na^+ : Mg^{2+}$ exchange in human red cells by its sensitivity to tricyclic antidepressant drugs. *Naunyn-Schmid Arch Pharmacol*, 338:332-37, 1988.
18. Henquin JC, Tamagawa T, Nenquin M, et al. Glucose modulates Mg^{2+} fluxes in pancreatic islet cells. *Nature*, 301:73-74, 1983.
19. Garfinkel L, Altschuld RA, Garfinkel D. Magnesium in cardiac energy metabolism. *J Mol Cell Cardiol*, 18: 1003-1013, 1986.
20. Veloso D, Guynn RW, Oskarsson M, et al. The concentrations of free and bound magnesium in rat tissue. *J Biol Chemistry*, 248:4811-4819, 1973.
21. Kirkels JH, van Echteld CJA, Ruigrok TJ. Intracellular magnesium during myocardial ischemia and reperfusion: possible consequences for postischemic recovery. *J Mol Cell Cardiol*, 21:1209-1218, 1989.
22. Kim JS, Scarpa A. Regulation of magnesium release by cAMP during chemical hypoxia in the rat heart and isolated ventricular myocytes. *Kor J Vet Res*, 38: suppl. 18, 1998.
23. Schneider AJ, Murray WB, Mentzer SC, et al. "Helper": A critical events prompter for unexpected emergencies. *J Clin Monitor*, 11:358-364, 1995.
24. Tosaki A, Das DK. Extracellular Mg^{2+} manipulation prevents the proarrhythmic activity of cromakalim in ischemic/reperfused diabetic hearts. *J Pharmacol Exp Ther*, 282(1):309-17, 1997.
25. Yamamoto K, Bando S. Effects of verapamil and magnesium sulfate on electrophysiologic changes during a

cute myocardial ischemia and following reperfusion in dog: comparative effects of administration by intravenous and coronary sinus retroperfusion routes. *Angiology*, 47(6):557-68, 1996.

26. Prielipp RC, Butterworth JF, Roberts PR, *et al.* Mag-

nesium antagonizes the actions of lysophosphatidylcholine (LPC) in myocardial cells: a possible mechanism for its antiarrhythmic effects. *Anesth Analg*, 80(6): 1083-7, 1995.