

## اثر منیزیم خوراکی بر انقباض پذیری آنورت ایزوله‌ی موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

الهام نورصادقی<sup>۱</sup>، دکتر اصغر قاسمی<sup>۲</sup>، دکتر مهدی هدایتی<sup>۳</sup>، دکترمهناز آذرنیا<sup>۴</sup>، دکتر صالح زاهدی اصل<sup>۲</sup>

۱) گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران - شمال؛ ۲) مرکز تحقیقات غدد، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی؛ ۳) مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی؛ ۴) گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه تربیت معلم؛ نشانی

مکاتبه‌ی نویسندگی مسئول: تهران، صندوق پستی ۴۷۶۳ - ۱۹۳۹۵؛ دکتر صالح زاهدی اصل

e-mail: zahedi@erc.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** گروهی از بررسی‌ها نشان می‌دهند که کمبود منیزیم در عوارض قلبی - عروقی مرتبط با دیابت شیرین نقش دارد. از این رو، در این مطالعه اثر طولانی‌مدت مصرف خوراکی منیزیم در پاسخ‌دهی آنورت ایزوله به کلرید پتاسیم و فنیل‌افرین بررسی گردید. **مواد و روش‌ها:** ۶۰ عدد موش صحرایی نر با نژاد ویستار (۲۵۰-۱۸۰ گرم) به دو دسته‌ی دیابتی و دو دسته‌ی شاهد تقسیم شدند. یک گروه از هر دسته حیوانات دیابتی و سالم سولفات منیزیم اضافه شده در آب آشامیدنی و گروه دیگر تنها آب معمولی دریافت کردند. در انتهای ۸ هفته، آنورت سینه‌ای با دقت جدا، به حلقه‌های ۲-۳ میلی‌متری تقسیم و به حمام بافت منتقل گردید. پس از آن بافت در معرض غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ میلی‌مولار کلرید پتاسیم و نیز غلظت‌های  $10^{-9}$ ،  $10^{-8}$ ،  $10^{-7}$ ،  $10^{-6}$ ،  $10^{-5}$  مولار فنیل‌افرین به صورت تجمع‌ی قرار گرفت و پاسخ‌های انقباضی با استفاده از ترانس دیوسر ایزومتریک ثبت شد. هم‌چنین در طول این مدت، هر ۲ هفته یک‌بار، از حیوانات برای اندازه‌گیری گلوکز پلاسما خونگیری به عمل آمد. **یافته‌ها:** پاسخ‌های انقباضی عروق به کلرید پتاسیم و فنیل‌افرین در گروه کنترل به طور معنی‌داری بالاتر از گروه دیابتی بود ( $P < 0.05$ ) و تفاوت معنی‌داری بین موش‌های درمان شده با منیزیم و موش‌های درمان نشده، یافت نشد. داده‌های حاصل از حداکثر پاسخ انقباضی عروق به کلرید پتاسیم  $2.91 \pm 0.31$ ،  $2.79 \pm 0.18$ ،  $2.37 \pm 0.16$  و  $2.42 \pm 0.11$  و بیشترین پاسخ به فنیل‌افرین  $3.25 \pm 0.17$ ،  $3.12 \pm 0.25$ ،  $3.57 \pm 0.33$  و  $2.73 \pm 0.21$  (گرم به ازای میلی‌متر مربع) به ترتیب در گروه‌های شاهد، شاهد دریافت‌کننده منیزیم، دیابتی و دیابتی دریافت‌کننده منیزیم بوده است. از سوی دیگر، بین موش‌های درمان شده با منیزیم و موش‌های درمان نشده تفاوت معنی‌داری در گلوکز پلاسما مشاهده نشد. **نتیجه‌گیری:** مصرف خوراکی منیزیم به مدت ۸ هفته تأثیر قابل ملاحظه‌ای در انقباض پذیری آنورت ایزوله‌ی مدل تجربی دیابت نوع ۱ ندارد.

**واژگان کلیدی:** منیزیم، آنورت سینه‌ای، موش صحرایی، دیابت، استرپتوزوتوسین

دریافت مقاله: ۸۶/۲/۱۱ - دریافت اصلاحیه: ۸۶/۵/۸ - پذیرش مقاله: ۸۶/۵/۱۰

### مقدمه

از مردم جهان از آن رنج می‌برند و به نظر می‌رسد که این تعداد تا سال ۲۰۳۰ به ۳۶۶ میلیون نفر افزایش یابد.<sup>۲</sup> دیابت قندی با نواقص متابولیسمی به خصوص افزایش قند خون مشخص می‌شود و گسترش آن می‌تواند عوارضی مانند

دیابت شیرین یکی از بیماری‌های رایج دنیا<sup>۱</sup> و مهم‌ترین بیماری متابولیک انسان است<sup>۲</sup> که در حدود ۱۷۱ میلیون نفر

مینیزم در درمان مشکلاتی مانند انقباض عروق بیماران دیابتی و پرفشاری خون، در این مطالعه اثر طولانی مدت مصرف خوراکی مینیزم در پاسخ‌دهی آئورت ایزوله به کلرید پتاسیم و فنیل‌افرین در موش‌های سالم و دیابتی بررسی گردید.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۶۰ عدد موش صحرایی نر نژاد ویستار (اتاق حیوانات دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی) با میانگین وزن ۱۸۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط دمایی  $22 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد، چرخه‌ی تاریکی - روشنایی ثابت (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و دسترسی به آب و غذای (شرکت خوراک دام پارس، تهران) کافی نگهداری شدند. حیوانات به طور تصادفی به ۲ گروه دیابتی و سالم تقسیم و دیابت از طریق تزریق درون صفاقی ۵۰ میلی‌گرم استرپتوزوتوسین (حل شده در سیترات ۰/۱ مولار) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ایجاد گردید.<sup>۲۶</sup> ۷ روز پس از تزریق، در صورت بالاتر بودن گلوکز پلاسما از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر حیوانات دیابتی محسوب شدند.<sup>۲۷</sup> سپس به یک گروه از حیوانات دیابتی و یک گروه از حیوانات سالم سولفات مینیزم (BDH، انگلستان) اضافه شده در آب آشامیدنی (۱۰ گرم در لیتر) و به ۲ گروه دیگر تنها آب معمولی داده شد.<sup>۲۸</sup> در طول هشت هفته، در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست و هشتم و چهل و دوم مجدداً به صورت ناشتا از حیوانات خونگیری به عمل آمد. در هر بار خونگیری از طریق بریدن انتهای دم، ۱ میلی‌لیتر خون در اپندورف حاوی ۱۰ واحد بین‌الملل هپارین جمع‌آوری،<sup>۲۹</sup> توسط میکروسانتریفیوژ (۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰ دور در دقیقه) پلاسما جدا و برای اندازه‌گیری گلوکز پلاسما در فریزر با دمای -۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.<sup>۳۰</sup> گلوکز با استفاده از رنگ‌سنجی آنزیمی (روش گلوکز اکسیداز) (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران)، اندازه‌گیری گردید. ضریب تغییرات درون و برون آزمونی گلوکز به ترتیب ۲/۰٪ و ۳/۵٪ بود.

انتهای هفته‌ی هشتم، حیوان توسط ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کتامین (شرکت Rotexmedica، آلمان) و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن زایلازین

بیماری‌های چشمی، عصبی، کلیوی و همچنین نارسایی‌های قلبی - عروقی را در پی داشته باشد.<sup>۴</sup> مشکلات ناشی از بیماری‌های قلبی - عروقی یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در بیماران دیابتی به شمار می‌آید.<sup>۵-۷</sup> برخی از یافته‌ها نشان می‌دهند که افزایش واکنش‌پذیری عروق به مواد منقبض کننده یا اختلال در اتساع عروق در عوارض بیماری‌های قلبی - عروقی مرتبط با دیابت شیرین مؤثر است.<sup>۸،۹</sup> همچنین گروهی از پژوهشگران پیشنهاد کرده‌اند که یکی از عوامل مؤثر در دیابت و عوارض عروقی آن، کاهش مینیزم خون می‌باشد.<sup>۱۰-۱۲</sup> مینیزم دومین کاتیون داخل سلولی است که دارای نقش‌های اساسی مانند کوفاکتور در واکنش‌های آنزیمی مختلف<sup>۱۱</sup> اکسیداسیون و متابولیسم کربوهیدرات‌ها، نقش در ترشح، اتصال و فعالیت انسولین<sup>۱۱،۱۲،۱۳</sup> و نیز اثر بر کانال‌های کلسیمی می‌باشد<sup>۱۵-۱۷</sup> مینیزم همچنین نقش مهمی را در کنترل عملکرد ماهیچه‌ی صاف عروق از طریق تنظیم تنوس عروقی و پاسخ‌های انقباضی به محرک‌های مختلف فیزیولوژیک ایفا می‌کند.<sup>۱۷</sup> امروزه ارتباط بین کاهش مینیزم پلاسما با مقاومت انسولینی،<sup>۱۸،۱۹</sup> افزایش کلسیم داخل سلولی و انقباض عروق از یک سو و نیز افزایش واکنش‌پذیری عروق به مواد منقبض‌کننده مانند نورآدرنالین، کاهش پاسخ به گشادکننده‌ها، پرفشاری خون، تصلب شرایین<sup>۲۰،۲۱</sup> و دیابت<sup>۱۱،۱۲،۲۱</sup> مشاهده شده است. برخی از پژوهشگران پیشنهاد می‌کنند که مصرف مکمل‌های مینیزمی به واسطه‌ی افزایش مینیزم پلاسما و کاهش کلسیم عضله‌ی صاف و تنوس عروقی می‌تواند در کنترل فشار خون و درمان بیماری‌های قلبی - عروقی<sup>۱۵،۱۶،۲۱</sup> و نیز به دلیل افزایش ترشح انسولین و کاهش قند خون در جلوگیری از گسترش دیابت شیرین و عوارض حاصل از آن مؤثر باشد.<sup>۲۲،۲۳،۲۴</sup> یافته‌های گروهی از مطالعه‌های *in vitro* نشان داد که مینیزم خارج سلولی باعث اتساع آئورت و کاهش پاسخ‌دهی عروق به فنیل‌افرین در موش‌ها می‌شود.<sup>۲۴</sup> همچنین یک بررسی *in vivo*، افزایش پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین را در آئورت سینه‌ای موش‌های دچار کمبود مینیزم پس از ۳۰ روز، گزارش کرد.<sup>۲۵</sup> از سوی دیگر، گروهی از پژوهشگران فرضیه‌ی نقش اصلی مینیزم را در تنظیم تنوس عروقی بیماران دیابتی بیان نمودند و با پژوهشی، کاهش پاسخ انقباضی مزانتر موش‌های دیابتی را ۸ هفته پس از مصرف مکمل‌های مینیزمی نشان دادند.<sup>۲۵</sup> بنابراین، با توجه به قابل بحث بودن یافته‌های گزارش شده و نقش احتمالی مکمل‌های

پس از اتمام آزمایش، طول قطعه‌ی آئورت و وزن آن پس از زدودن رطوبت تعیین و تانسینون از رابطه‌ی دانسیته (میلی‌گرم بر میلی‌مترمکعب)  $\times$  طول (میلی‌متر) / وزن (میلی‌گرم) = سطح مقطع (میلی‌مترمربع) و با در نظر گرفتن دانسیته‌ی عضله‌ی صاف عروقی معادل ۱/۰۵ میلی‌گرم بر میلی‌مترمکعب محاسبه گردید.<sup>۳۷</sup>

یافته‌های کمی به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد بیان شد. به منظور بررسی وجود اختلاف در گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و بین گروه‌های دیابتی و شاهد و منیزیم دریافت کرده و منیزیم دریافت نکرده از آنالیز واریانس دو طرفه به همراه آزمون توکی استفاده گردید. مقدار  $p$  کمتر از ۰/۰۵ معیار معنی‌دار بودن تفاوت‌ها تلقی شد.

### یافته‌ها

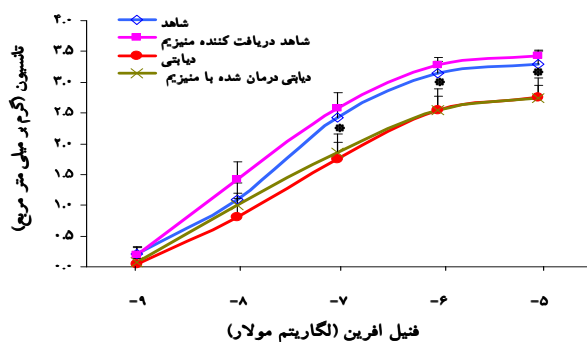
مقایسه‌ی گلوکز ناشتای پلازما بین گروه‌های شاهد و دیابتی افزایش غلظت گلوکز پلازما را به طور معنی‌داری در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست و هشتم، و چهل و دوم در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه‌های شاهد ( $p < 0.05$ ) نشان داد. از سوی دیگر، کاهش گلوکز پلازما در گروه‌های دیابتی درمان شده با منیزیم نسبت به گروه‌های دیابتی درمان نشده در روزهای چهاردهم، بیست و هشتم مشاهده شد اما این کاهش معنی‌دار نبود. همچنین تفاوت بارزی بین گروه‌های شاهد و شاهد دریافت‌کننده‌ی منیزیم در طول آزمایش یافت نشد (جدول ۱).

(شرکت Alfasan، هلند) بیهوش شد.<sup>۳۱</sup> پس از باز کردن قفسه‌ی سینه، آئورت با دقت جدا، در محلول کربس قرار داده شد و بافت چربی آن تمیز گردید. سپس آئورت به حلقه‌های ۲-۳ میلی‌متر تقسیم و توسط دو قلاب L شکل به داخل حمام بافت حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محلول کربس با محتوای NaCl (۱۱۸)، KCl (۴/۷)، MgSO<sub>4</sub> (۱/۲)، KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (۱/۲)، NaHCO<sub>3</sub> ۲۵، Dextrose.H<sub>2</sub>O ۱۰، CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (۲/۵) میلی‌مول در لیتر (شرکت Merk، آلمان) و pH ۷/۴ منتقل و به طور مداوم توسط محلول کربوژن (۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی‌اکسیدکربن) هوادهی شد.<sup>۳۲-۳۴</sup> یکی از دو قلاب متصل شده به قطعه‌ی آئورت ثابت بود و قلاب دیگر توسط یک رابط به ترانس دیوسر ایزومتریک UF1 با دقت ۱٪ (بیوساینس، انگلستان) متصل گردید. سپس بافت به مدت ۶۰ دقیقه در محلول کربس با تانسینون ۲ گرم و دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد تا به تانسینون پایدار برسد. در طول این مدت هر ۱۵ دقیقه یکبار محلول تعویض شد.<sup>۳۴،۳۵</sup> سپس کلرید پتاسیم ۸۰ میلی‌مولار (شرکت Merk، آلمان) اثر داده شد تا بافت برای پاسخ‌دهی انقباضی آماده گردد.<sup>۳۴</sup> پس از پایداری تانسینون و شستشو و ۱۰ دقیقه استراحت، غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ میلی‌مولار کلرید پتاسیم و مجدداً بعد از شستشو و ۱۰ دقیقه استراحت، غلظت‌های ۱۰<sup>-۸</sup>، ۱۰<sup>-۹</sup>، ۱۰<sup>-۷</sup>، ۱۰<sup>-۶</sup>، ۱۰<sup>-۵</sup> مولار فنیل افرین (شرکت Sigma، آمریکا) به صورت تجمعی به محیط اضافه گردید و پاسخ انقباضی توسط اسیلوگراف هاروارد ثبت شد.<sup>۳۶</sup> در انتها از استیل کولین ۱۰<sup>-۵</sup> مولار (شرکت سیگما، آمریکا) برای اطمینان از حضور اندوتلیوم استفاده شد.<sup>۳۶</sup>

جدول ۱- مقایسه‌ی غلظت گلوکز پلازما (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) در گروه‌های دیابتی، دیابتی دریافت‌کننده‌ی منیزیم، شاهد و شاهد دریافت‌کننده‌ی منیزیم

گروه	روز			
	هفتم	چهاردهم	بیست و هشتم	چهل و دوم
شاهد	۱۲۷/۷ $\pm$ ۴/۲	۱۲۷/۲ $\pm$ ۵/۳	۱۱۵/۱ $\pm$ ۴/۸	۱۰۹/۵ $\pm$ ۴/۷
شاهد دریافت‌کننده منیزیم	۱۲۸/۹ $\pm$ ۷/۳	۱۱۸/۰ $\pm$ ۵/۰	۱۱۶/۵ $\pm$ ۵/۴	۱۰۸/۶ $\pm$ ۳/۴
دیابتی	۳۸۹/۹ $\pm$ ۱۴/۳*	۴۰۸/۹ $\pm$ ۳۱/۷*	۳۵۵/۶ $\pm$ ۲۷/۱*	۲۶۹/۸ $\pm$ ۴۲/۴*
دیابتی دریافت‌کننده منیزیم	۴۱۲/۸ $\pm$ ۱۵/۲*	۳۲۵/۹ $\pm$ ۲۹/۰*	۲۸۲/۷ $\pm$ ۳۲/۵*	۲۳۲/۴ $\pm$ ۳۸/۳*

مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد برای ۱۵ عدد حیوان بیان شده است؛ \* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد و شاهد دریافت‌کننده‌ی منیزیم در سطح  $p < 0.05$

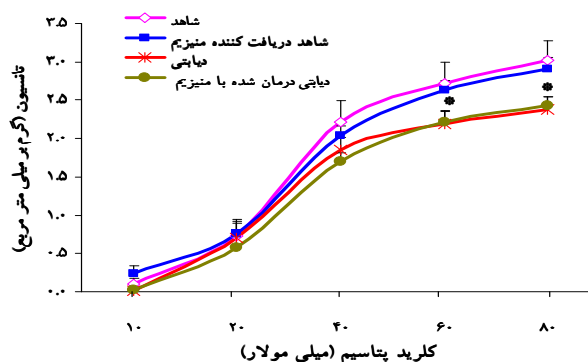


نمودار ۲- پاسخ‌های انقباضی آئورت سینه‌ای به فنیل‌افرین در حضور اندوتلیوم در گروه‌های دیابتی، دیابتی دریافت‌کننده منیزیم، شاهد و شاهد دریافت‌کننده منیزیم (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد برای ۱۵ حیوان) \* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد در سطح  $p < 0.05$

## بحث

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر ۸ هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، نشان داد که حداکثر پاسخ انقباضی عروق به کلرید پتاسیم و فنیل‌افرین در گروه شاهد به صورت بارزی بالاتر از گروه دیابتی است. این در حالی است که پژوهش‌های مختلف، پاسخ‌های متفاوتی مانند کاهش، عدم تغییر و حتی افزایش را نسبت به آگونیست‌های منقبض‌کننده‌ی عروق نظیر فنیل‌افرین در بسترهای عروقی ایزوله شده حیوانات دیابتی گزارش کرده‌اند.<sup>۹،۱۳</sup> یک مطالعه با نتیجه‌ی مشابه بررسی حاضر، ۸ هفته پس از دیابتی شدن موش‌ها، کاهش حداکثر پاسخ انقباضی آئورت با اندوتلیوم را به کلرید پتاسیم و فنیل‌افرین نشان داده و این کاهش را به دلیل کاهش متابولیسم کلسیم در سلول‌های ماهیچه‌ای صاف و در نتیجه کاهش قدرت انقباضی آئورت بیان کرده است، از سوی دیگر در آن مطالعه با بررسی آئورت خرگوش‌های دیابتی شده پس از ۸ هفته، هیچ‌گونه تفاوتی در پاسخ‌دهی به کلرید پتاسیم و فنیل‌افرین مشاهده نشد و علت تفاوت یافته‌ها بین موش‌ها و خرگوش‌های مورد مطالعه را در تفاوت نوع حیوانات دانستند.<sup>۲۸</sup> بررسی دیگر ۱۰ هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، کاهش حداکثر پاسخ انقباضی به کلرید پتاسیم را در آئورت حیوانات دیابتی با احتمال کاهش سطح پروتئین کالمودولین در سلول‌های ماهیچه‌ای صاف و عدم تغییر پاسخ به فنیل‌افرین را در موش‌های دیابتی در مقایسه

یافته‌های حاصل از اثر غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ میلی‌مولار کلرید پتاسیم و مجدداً بعد از شستشو و ۱۰ دقیقه استراحت، غلظت‌های  $10^{-5}$ ،  $10^{-6}$ ،  $10^{-7}$ ،  $10^{-8}$ ،  $10^{-9}$  مولار فنیل‌افرین به صورت تجمعی نشان داد که پاسخ‌های انقباضی عروق به کلرید پتاسیم در حضور اندوتلیوم در گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر از گروه دیابتی است ( $p < 0.05$ ). آنالیز واریانس دو طرفه، و تفاوت معنی‌داری بین موش‌های درمان شده با منیزیم و موش‌های درمان نشده نمی‌باشد. یافته‌های حاصل از حداکثر پاسخ انقباضی عروق به کلرید پتاسیم (۸۰ میلی‌مولار)  $2.791 \pm 0.118$ ،  $2.911 \pm 0.31$ ،  $2.422 \pm 0.111$ ،  $2.377 \pm 0.16$  (گرم بر میلی‌متر مربع) به ترتیب در گروه‌های شاهد، شاهد درمان شده با منیزیم، دیابتی، و دیابتی درمان شده با منیزیم بود (نمودار ۱).



نمودار ۱- پاسخ‌های انقباضی آئورت سینه‌ای به کلرید پتاسیم در حضور اندوتلیوم در گروه‌های دیابتی، دیابتی دریافت‌کننده منیزیم، شاهد و شاهد دریافت‌کننده منیزیم (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد برای ۱۵ موش) \* تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه شاهد در سطح  $p < 0.05$

همچنین پاسخ‌های انقباضی عروق به فنیل‌افرین در حضور اندوتلیوم در گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر از گروه دیابتی بود ( $p < 0.05$ ) و تفاوت معنی‌داری بین موش‌های درمان شده با منیزیم و موش‌های درمان نشده یافت نشد. یافته‌های حاصل از بیشترین پاسخ عروق به فنیل‌افرین ( $10^{-5}$  مولار)  $2.57 \pm 0.23$ ،  $3.12 \pm 0.25$ ،  $3.25 \pm 0.17$  و  $2.73 \pm 0.21$  (گرم بر میلی‌متر مربع) به ترتیب در گروه‌های شاهد، شاهد درمان شده با منیزیم، دیابتی، و دیابتی درمان شده با منیزیم بود (نمودار ۲).

با گروه شاهد نشان داده است.<sup>۳۶</sup> بنابر گزارش‌های گروهی مبنی بر تأثیر احتمالی طول مدت دیابتی بودن حیوان در نوع پاسخ‌دهی<sup>۹،۳۶</sup> احتمالاً تفاوت یافته‌های پاسخ‌دهی به فنیل‌افرین به علت یکسان نبودن طول مدت دیابتی بودن حیوان بوده است. در تأیید این فرضیه مطالعه‌ای به بررسی پاسخ‌دهی آئورت با اندوتلیوم در دو زمان متفاوت به فنیل‌افرین و استیل‌کولین و شیوه‌ی این اثرگذاری در موش‌های دیابتی نوع ۲ نژاد گوتو کاکیزاکی پرداخته است. یافته‌های این مطالعه ۱۲ هفته پس از دیابتی بودن، کاهش پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین و افزایش پاسخ اتساعی به استیل‌کولین به همراه افزایش NO را نشان داد. در صورتی که پس از ۲۶ هفته دیابتی بودن موش‌ها، عدم تغییر پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین و کاهش پاسخ اتساعی به استیل‌کولین به همراه کاهش کل NO بدن مشاهده گردید. تفاوت یافته‌های حاصل در هفته‌های ۱۲ و ۲۶ می‌تواند دلیلی بر اهمیت طول مدت دیابتی بودن حیوان در نوع عکس‌العمل عروق به حساب آید.<sup>۳۹</sup> از سوی دیگر برخی از بررسی‌ها یافته‌های کاملاً متفاوتی را گزارش کرده‌اند. آب و همکاران، ۱۲ هفته پس از القای دیابت نوع ۱، افزایش پاسخ‌دهی عروق آئورت سینه‌ای و مزانتر را به فنیل‌افرین نشان دادند و علت آن را تحریک بیشتر گیرنده‌های آدرنرژیک  $\alpha_1$ ، افزایش متابولیسم فسفواینوزیتیدها، تولید اینوزیتول تری فسفات و دی‌آسیل گلیسرول، و رهاسازی کلسیم درون سلولی و فعالیت پروتئین‌کیناز C بیان کردند.<sup>۴۰</sup> حال آن‌که، نتیجه‌ی حاصل از مطالعه‌ای دیگر ۲۸ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین، علی‌رغم افزایش پاسخ‌دهی آئورت موش‌های دیابتی به فنیل‌افرین و سروتونین، کاهش متابولیسم فسفواینوزیتیدها بوده است.<sup>۴۱</sup> همچنین یافته‌های حاصل از تحقیقی دیگر نشان داده است که حداکثر پاسخ آئورت ایزوله با اندوتلیوم به کلریدپتاسیم و فنیل‌افرین، ۱ هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین در دو گروه دیابتی و شاهد یکسان است در حالی که ۴ هفته پس از تزریق، پاسخ به فنیل‌افرین در موش‌های دیابتی به طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد و پاسخ به کلریدپتاسیم هم‌چنان یکسان می‌باشد. در آن مطالعه دلیل افزایش پاسخ‌دهی به فنیل‌افرین را افزایش پروستاگلانئیدهای مشتق شده از اندوتلیوم، افزایش ورود کلسیم خارج سلولی به سلول‌های ماهیچه‌ای صاف و همچنین عدم تغییر در رهاسازی کلسیم درون سلولی القا شده توسط اینوزیتول تری‌فسفات و از سوی دیگر افزایش

رهاسازی نیتریک اکساید در گروه دیابتی بعد از ۴ هفته نشان دادند و فرضیه‌ی افزایش پاسخ‌دهی به فنیل‌افرین را به دلیل نقص در رهاسازی نیتریک اکساید در گروه دیابتی رد کردند. همچنین این گروه در پی مشاهده‌ی تفاوت نتایج پاسخ‌دهی در هفته‌های اول و چهارم، نقش طول مدت دیابتی بون حیوان را در نوع پاسخ‌دهی مؤثر دانستند.<sup>۹</sup> به نظر می‌رسد علت تناقض در یافته‌های مطالعه‌های مختلف، تفاوت در نژادهای موش‌ها، طول مدت دیابتی بودن حیوان، مقدار تزریق برای دیابتی کردن و نیز بستر عروقی مورد مطالعه باشد.<sup>۹،۳۶</sup>

در بررسی حاضر تجویز خوراکی منیزیم نتوانست تفاوت معنی‌داری را در پاسخ‌دهی آئورت سینه‌ای با اندوتلیوم به کلرید پتاسیم و فنیل‌افرین بین حیوانات شاهد و دیابتی درمان شده و درمان نشده، ایجاد کند. حال آن‌که گروهی از مطالعه‌ها نشان می‌دهند که منیزیم می‌تواند از طریق عملکرد آنتاگونیستی با یون کلسیم و نیز تأثیر مستقیم بر سلول‌های ماهیچه‌ای صاف باعث کاهش تونوس پایه و گشاد شدن عروق شود.<sup>۴۲</sup> مطالعه‌های *in vitro* با بررسی سلول‌های ماهیچه‌ای صاف راه‌های تنفسی خرگوش، نقش اتساعی سولفات منیزیم را ممانعت از ورود کلسیم به داخل سلول از طریق بلوکه کردن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ بیان نمودند و نقش مهارتی منیزیم در رهاسازی کلسیم از شبکه سارکوپلاسمیک به واسطه اثر بر کانال‌های کلسیمی وابسته به لیگاند رد کردند.<sup>۴۳</sup> باید توجه داشت که بررسی ذکر شده به تأثیر منیزیم به صورت *in vitro* و بر عروق خارج از بدن حیوان پرداخته، حال آنکه بررسی حاضر اثر منیزیم را به صورت *in vivo* مورد مطالعه قرار داده است. یک مطالعه در پی مشاهده‌ی افزایش پاسخ‌دهی عروق مزانتر موش‌های دیابتی به فنیل‌افرین، نقش منیزیم خوراکی را پس از ۸ هفته کاهش پاسخ عروق مزانتر موش‌های دیابتی بیان کرده است. آن مطالعه نقش اتساعی منیزیم را در گروه شاهد به واسطه‌ی تولید نیتریک‌اکساید و در گروه دیابتی نامعلوم گزارش کرد.<sup>۲۸</sup> به نظر می‌رسد یکی از دلایل اختلاف یافته‌های اثر منیزیم آن مطالعه با بررسی حاضر، تفاوت بستر عروقی مورد مطالعه باشد. همچنین احتمال دیگر این است که در بررسی حاضر بر خلاف مطالعه‌ی ذکر شده، دیابت موجب کاهش پاسخ‌دهی گردیده است و شاید به این دلیل منیزیم نتوانسته اثر احتمالی خود را مبنی بر کاهش پاسخ‌دهی نشان دهد.

گلوکز پلاسما نیاز است. به طور خلاصه، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که مصرف خوراکی منیزیم به مدت ۸ هفته تاثیر بارزی در انقباض‌پذیری آئورت ایزوله‌ی مدل تجربی دیابت نوع ۱ ندارد و آگاهی دقیق از اثر سودمند تجویز منیزیم در این پاسخ‌دهی نیاز به بررسی بیشتری دارد.

**سپاسگزاری:** هزینه‌ی این پژوهش توسط پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی تأمین شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات و راهنمایی‌های خانم‌ها فرجی، خراسانی، حبیبی، بهدادفر، پادیاب، میکائیلی، دلبرپور، دانشپور، اشراقی، بهنامی و افراسیابی صمیمانه تشکر می‌نمایند.

یافته‌های بررسی حاضر افزایش میزان گلوکز ناشتای پلاسما را در گروه‌های دیابتی و عدم تأثیر منیزیم خوراکی را در میزان گلوکز پلاسمای گروه‌های شاهد و دیابتی در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست و هشتم و چهل و دوم نشان داد. با این وجود، گروهی از مطالعه‌های تجربی مصرف منیزیم را عاملی برای کاهش گلوکز خون بیان کرده‌اند.<sup>۴۴</sup> یافته‌های حاصل از مطالعه‌های سلطانی و همکاران در موش‌های دیابتی نشان داد که مصرف سولفات‌منیزیم به مدت ۸ هفته می‌تواند موجب طبیعی شدن قند خون موش‌های دیابتی گردد. آنها دلیل این اثر را، نقش منیزیم به عنوان کوفاکتور در انتقال گلوکز و دیگر روندهای آنزیمی درگیر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها بیان کردند.<sup>۳۸</sup> به نظر می‌رسد تفاوت یافته‌های حاصل از نقش منیزیم بر میزان گلوکز پلاسمای مدل‌های دیابتی، از عدم برابری طول مدت دیابتی بودن حیوان ناشی شود و بررسی‌های بیشتری در زمان‌های مختلف برای روشن شدن اثر منیزیم خوراکی بر میزان

## References

- Hrabak A, Szabo A, Bajor T, Korner A. Differences in the nitric oxide metabolism in streptozotocin-treated rats and children suffering from Type 1 diabetes. *Life Sci* 2006; 78: 1362-70.
- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15: 539-53.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 2568-9.
- Carey RM, Siragy HM. The intrarenal renin-angiotensin system and diabetic nephropathy. *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14: 274-81.
- Abebe W, MacLeod KM. Enhanced arterial contractility to noradrenaline in diabetic rats is associated with increased phosphoinositide metabolism. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69: 355-61.
- Majithiya JB, Balaraman R. Metformin reduces blood pressure and restores endothelial function in aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 2006; 78: 2615-24.
- Paskaloglu K, Sener G, Ayangolu-Dulger G. Melatonin treatment protects against diabetes-induced functional and biochemical changes in rat aorta and corpus cavernosum. *Eur J Pharmacol* 2004; 499: 345-54.
- Majithiya JB, Parmar AN, Trivedi CJ, Balaraman R. Effect of pioglitazone on L- NAME induced hypertension in diabetic rats. *Vascul Pharmacol* 2005; 43: 260-6.
- Xavier FE, Davel AP, Rossoni LV, Vassallo DV. Time-dependent hyperreactivity to phenylephrine in aorta from untreated diabetic rats: role of prostanoids and calcium mobilization. *Vasc Pharmacol* 2003; 40: 67-76.
- Paolisso G, Barbagallo M. Hypertension, diabetes mellitus and insulin resistance the role of intracellular magnesium. *Am J Hypertens* 1997; 10: 346-55.
- Hans CP, Saily R, Bansal DD. Magnesium deficiency and diabetes mellitus. *curr sci* 2002; 83: 1456-63.
- Djurhuus MS, Klitgaard NA, Pedersen KK, Blaabjerg O, Altura BM, Altura BT, et al. Magnesium reduces insulin-stimulated glucose uptake and serum lipid concentrations in type 1 diabetes. *Metabolism* 2001; 50: 1409-17.
- Lopez-Ridaura R, Willett WC, Rimm EB, Liu S, Stampfer MJ, Manson JE, Hu FB. Magnesium intake and risk of type 2 diabetes in men and women. *Diabetes Care* 2004; 27: 134-40.
- Song Y, Manson JE, Buring JE, Liu S. Dietary magnesium intake in relation to plasma insulin levels and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2004; 27: 59-65.
- Lauranta P, Touyz RM. Physiological and pathophysiological role of magnesium in the cardiovascular system: implications in hypertension. *J Hypertens* 2000; 18: 1177-91.
- Touyz RM. Role of magnesium in the pathogenesis of hypertension. *Mol Aspects Med* 2003; 24: 107-36.
- Brown RA, Ilg KJ, Chen AF, Ren J. Dietary Mg supplementation restores impaired vasoactive responses in isolated rat aorta induced by chronic ethanol consumption. *Eur J Pharmacol* 2002; 442: 241-50.
- Reis MAB, Reyes FGR, Saad MJA, Velloso LA. Magnesium deficiency modulates the insulin signaling pathway in liver but not muscle of rats. *J Nutr* 2000; 130: 133-8.
- de Lordes Lima M, Cruz T, Pousada JC, Rodrigues LE, Barbosa K, Cangucu V. The effect of magnesium

- supplementation in increasing doses on the control of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21: 682-6.
20. Sakaguchi H, Nishio A. Mechanisms of the enhanced contractile response to phenylephrine in thoracic aorta isolated from rats with dietary magnesium deficiency. *Jpn J Pharmacol* 1994; 64: 265-72.
  21. Morrill GA, Gupta RK, Kostellow AB, Ma GY, Zhang A, Altura BT. Mg<sup>2+</sup> modulates membrane lipids in vascular smooth muscle: a link to atherogenesis. *FEBS Lett* 1997; 408: 191-4.
  22. Matthiesen G, Olofsson K, Rudnicki M. Ionized magnesium in Danish children with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 1216-7.
  23. Kao WH, Folsom AR, Nieto FJ, Mo JP, Watson RL, Brancati FL. Serum and dietary magnesium and the risk for type 2 diabetes mellitus: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Arch Intern Med* 1999; 159: 2151-9.
  24. Yang Z, Gebrewold A, wakowski M, Altura BM, Altura BT. Mg-induced endothelium-dependent relaxation of blood vessels and blood pressure lowering: role of NO. *Am J Physiol* 2000; 278: R628-39.
  25. Soltani N, Keshavarz M, Sohanaki H, Zahedi Asl S, Dehpour AR. Relaxatory effect of magnesium on mesenteric vascular beds differs from normal and streptozotocin induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 508: 177-81.
  26. Sevak RJ, Koak W, France CP. Streptozotocin-induced diabetes differentially modifies haloperidol-and gamma-hydroxybutyric acid (GHB)-induced catalepsy. *Eur J Pharmacol* 2005; 517: 64-7.
  27. Montanaro MA, Bernasconi AM, Gonzalez MS, Rimoldi OJ, Brenner RR. Effects of fenofibrate and insulin on the biosynthesis of unsaturated fatty acids in streptozotocin diabetic rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005; 73: 369-78.
  28. Soltani N, Keshavarz M, Sohanaki H, Dehpour AR, Zahedi Asl S. Oral magnesium administration prevents vascular complications in STZ-diabetic rats. *Life Sci* 2005; 76: 1455-64.
  29. Storey RF, May JA, Heptinstall S. Potentiation of platelet aggregation by heparin in human whole blood is attenuated by P2Y<sub>12</sub> and P2Y<sub>1</sub> antagonists but not aspirin. *Thromb Res* 2005; 115: 301-7.
  30. Rude RK, Gruber HE, Norton HJ, Wei LY, Frausto A, Kilburn J. Dietary magnesium reduction to 25% of nutrient requirement disrupts bone and mineral metabolism in the rat. *Bone* 2005; 37: 211-9.
  31. Demirag K, Cankayali I, Eris O, Moral AR, Pehlivan M. The comparison of therapeutic effects of atropine and pralidoxime on cardiac signs in rats with experimental organophosphate poisoning. *Adv Ther* 2005; 22: 79-86.
  32. Ozcelikay AT, Tay A, Guner S, Tasyaran V, Yildizoglu-Ari N, Dincer UD, et al. Reversal effects of L-arginine treatment on blood pressure and vascular responsiveness of streptozotocin-diabetic rats. *Pharmacol Res* 2000; 41: 201-9.
  33. Li W, Zheng T, Altura BT, Altura BM. Magnesium modulates contractile responses of rat aorta to thiocyanate: A possible relationship to smoking-induced atherosclerosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999; 157: 77-84.
  34. Yang ZW, Wang J, Zheng T, Altura BT, Altura BM. Low [Mg (2+)]<sub>o</sub> induces contraction of cerebral arteries: roles of tyrosine and mitogen-activated protein kinases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H185-94.
  35. Pieper GM. Enhanced, unaltered and impaired nitric oxide-mediated endothelium- dependent relaxation in experimental diabetes mellitus: importance of disease duration. *Diabetologia* 1999; 42: 204-13.
  36. Kobayashi T, Kamata K. Effect of insulin treatment on smooth muscle contractility and endothelium-dependent relaxation in rat aorta from established STZ-induced diabetes. *Br J Pharmacol* 1999; 127: 835-42.
  37. Abebe W, Harris KH, MacLeod KM. Enhanced contractile responses of arteries from diabetic rats to alpha 1-adrenoceptor stimulation in the absence and presence of extracellular calcium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 16: 239-48.
  38. Head RJ, Longhurst PA, Panek RL, Stitzel RE. A contrasting effect of the diabetic state upon the contractile responses of aortic preparations from the rat and rabbit. *Br J Pharmacol* 1987; 91: 275-86.
  39. Kobayashi T, Matsumoto T, Ooishi K, Kamata K. Differential expression of alpha2D-adrenoceptor and eNOS in aortas from early and later stages of diabetes in Goto-Kakizaki rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H135-43.
  40. Abebe W, MacLeod KM. Protein kinase C-mediated contractile responses of arteries from diabetic rats. *Br J Pharmacol* 1990; 101: 465-71.
  41. Legan E. Effects of streptozotocin-induced hyperglycemia on agonist-stimulated phosphatidylinositol turnover in rat aorta. *Life Sci* 1989; 45: 371-8.
  42. Laurant P, Berthelot A. Influence of endothelium on Mg(2+)-induced relaxation in noradrenaline-contracted aorta from DOCA-salt hypertensive rat. *Eur J Pharmacol* 1994; 258: 167-72.
  43. Gourgoulialis KI, Chatziparasidis G, Chatziefthimiou A, Molyvdas PA. Magnesium as a relaxing factor of airway smooth muscle. *J Aerosol Med* 2001; 14: 301-7.
  44. Saggese G, Federico G, Bertelloni S, Baroncelli GI, Calisti L. Hypomagnesemia and the parathyroid hormone-vitamin D endocrine system in children with insulin- dependent diabetes mellitus: effects of magnesium administration. *J Pediatr* 1991; 118: 220-5.

Original Article

## The Effects of Orally Administrated Magnesium on Isolated Aorta Contractility in Streptozotcin Induced Diabetic Rats

Noursadeghi E<sup>1</sup>, Ghasemi A<sup>2</sup>, Hedayati M<sup>3</sup>, Azarnia M<sup>4</sup>, Zahedi Asl S<sup>2</sup>

1) Department of Biology, School of Science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, 2) Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine sciences, Shahid Beheshti University, (M.C.); 3) Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine sciences, Shahid Beheshti University, (M.C.); 4) Department of Biology, Faculty of Sciences, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran  
e-mail: zahedi@endocrine.ac.ir

### Abstract

**Introduction:** Some studies suggest that magnesium deficiency contributes to the cardiovascular complications associated with diabetes mellitus. Hence the present study investigated the effects of orally administrated magnesium on isolated aorta contractility in response to KCl and Phenylephrine (Phe). **Materials and Methods:** Sixty male Wister rats (180–250 g) were divided into two diabetic and two control groups. One sub group of each received magnesium sulfate in their drinking water, while two other groups, had only tap water. After 8 weeks, thoracic aorta was isolated, cut into 2-3 mm rings and mounted in an organ bath. The tissue was then exposed to cumulative doses of KCl (10, 20, 40, 60 and 80mM) and Phe (10-9, 10-8, 10-7, 10-6, and 10-5M) and contractions were measured by an isometric transducer. During the mentioned time, fasting blood samples were drawn every 2 weeks to measure plasma glucose level. **Results:** Vasoconstrictive responses to KCl and Phe were significantly higher in control groups, compared to diabetic groups ( $P < .05$ ) and there were no significant differences between Mg-treated and non Mg-treated rats. Maximal contractions to KCl were  $2.91 \pm 0.31$ ,  $2.79 \pm 0.18$ ,  $2.37 \pm 0.16$  and  $2.42 \pm 0.11$  and the maximal responses to Phe were  $3.25 \pm 0.17$ ,  $3.12 \pm 0.25$ ,  $2.57 \pm 0.33$  and  $2.73 \pm 0.21$  in control, Mg-treated control, diabetes and Mg-treated diabetic groups, respectively. No significant difference was found in plasma glucose between Mg-treated groups and non mg-treated groups. **Conclusion:** Oral administration of magnesium for 8 weeks has no effect on isolated aorta contractility in diabetic rats.

**Key word:** Magnesium, Thoracic aorta, Rat, Diabetes, Streptozotocin