

# بررسی مکانیسم اثر سولفات منیزیم خوراکی بر جریان خون پوست در موش‌های صحرایی دیابتی

علی حیدریان پور<sup>۱</sup>، مهناز آزادی مقتدر<sup>۲</sup>، عفت صادقیان<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> استادیار فیزیولوژی گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه بوعلی سینا

<sup>۲</sup> مربی و عضو هیأت علمی آموزش پرستاری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تویسرکان

<sup>۳</sup> مربی و عضو هیأت علمی آموزش روان‌پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی همدان

نشانی نویسنده مسئول: همدان، بلوار شهید فهمیده، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده ادبیات، گروه تربیت بدنی و علوم ورزشی، مهناز آزادی مقتدر

E-mail: heidarian317@gmail.com

وصول: ۸۷/۹/۷، اصلاح: ۸۷/۱۰/۲۵، پذیرش: ۸۷/۱۲/۱۵

## چکیده

**زمینه و هدف:** اخیراً کمبود منیزیم به عنوان فاکتور جدید در پاتوژنز عوارض بیماری دیابت نظیر اختلالات عروقی پیشنهاد شده است ولی مکانیسم اثر آن به طور کامل مشخص نشده است. در این مطالعات، مکانیسم اثر سولفات منیزیم خوراکی بر جریان خون پوست در موش‌های صحرایی دیابتی مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق تجربی، از ۵۰ سر موش از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم در دو گروه دیابتی و یک گروه کنترل استفاده شد. یکی از گروه‌های دیابتی به مدت ۱۰ هفته سولفات منیزیم (۱۰ گرم در یک لیتر آب آشامیدنی) دریافت می‌کردند سایر گروه‌ها فقط آب دریافت می‌کردند. بعد از ۱۰ هفته حیوانات بعد از بیهوشی کامل روی پد حرارتی که کنترل‌کننده دمای بدن حیوان در حدود  $37 \pm 0.5$  سانتیگراد بود، قرار می‌گرفتند و از دستگاه جریان سنج لیزری برای اندازه‌گیری تغییرات جریان خون پوستی استفاده می‌شد. به مدت ۱۰ دقیقه، جریان خون پایه اندازه‌گیری می‌شد تا به حالت پایدار برسد. سپس داروهای استیل کولین (ACh)، سدیم نیتروپروساید (SNP) و (L-NNA + سولفات منیزیم) توسط پمپ تزریق به طور موضعی به ناحیه کف پای حیوانات تزریق می‌شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آماری تی استیودنت و آنالیز واریانس یک طرفه با سطح معناداری  $P < 0.05$  در نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

**یافته‌ها:** اثر گشادکنندگی عروقی سدیم نیتروپروساید و استیل کولین در موش‌های دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم به ترتیب به طور معناداری نسبت به گروه دیابتی کنترل ( $P < 0.01$ )، سالم کنترل ( $P < 0.05$ ) و گروه دیابتی کنترل ( $P < 0.05$ ) افزایش یافت. همچنین تزریق موضعی سولفات منیزیم (۰/۱ مولار) باعث افزایش معنادار جریان خون در تمام گروه‌های آزمایشی شد ( $P < 0.01$ ) که این افزایش با تزریق L-NNA کاهش می‌یافت ( $P < 0.05$ ) ولی حذف نشد.

**نتیجه‌گیری:** باتوجه به یافته‌های این تحقیق به نظر می‌رسد که مصرف مزمن سولفات منیزیم با تقویت مسیر نیتریک اکساید باعث بهبود عروق پوست در حیوانات دیابتی می‌شود. (مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی سبزوار، دوره ۱۵/شماره ۴/صص ۲۰۶-۲۰۰).

**واژه‌های کلیدی:** سولفات منیزیم؛ دیابت؛ جریان خون عروق ریز پوست.

**مقدمه**

و فشار خون می‌شود، فشار خون یکی از فاکتورهای خطر در بیماران دیابتی می‌باشد. منیزیم همچنین باعث تغییر در مرفولوژی و تون میوزنیک عروقی می‌شود (۴). در مطالعات گذشته نشان داده شده است که منیزیم باعث کاهش تون پایه و انقباض عروقی القاء شده توسط فنیل افرین شده است (۵). بعضی محققین معتقدند که اتساع عروقی ناشی از منیزیم از طریق آنتاگونیسم کردن عمل یون کلسیم بر روی عضلات صاف عروقی می‌باشد. علاوه بر آن مشخص شده است که منیزیم نه تنها به طور مستقیم روی عضلات صاف عروقی تأثیر دارد بلکه اثرات تعدیلی نیز روی اندوتلیوم عروقی دارد (۶) ولی تا به حال گزارشی مبنی بر مکانیسم اثر آن بر روی اندوتلیال و عضله صاف عروقی ارائه نشده است و همچنین تمام مطالعاتی که درباره اثرات عروقی منیزیم تاکنون انجام شده است به صورت *in vitro* بوده که در این تحقیق با استفاده از تکنیک لیزر داپلر محقق در صدد تعیین اثرات منیزیم خوراکی بر روی عروق پوست و تعیین اثرات اندوتلیالی و غیر اندوتلیالی آن در شرایط *in vivo* می‌باشد.

**مواد و روش‌ها**

در این تحقیق تجربی، از ۵۰ سر موش از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم در دو گروه دیابتی و یک گروه کنترل هم سن (تعداد حیوانات مورد استفاده در هر گروه ۸ سر می‌باشد) استفاده شد که یکی از گروه‌های دیابتی به مدت ۱۰ هفته سولفات منیزیم (۱۰ گرم در یک لیتر آب آشامیدنی) دریافت می‌کردند و سایر گروه‌ها فقط آب دریافت می‌کردند. **روش دیابتی شدن حیوانات:** در این تحقیق از داروی استرپتوزوسین (۵۰ mg/kg)، خریداری شده از شرکت سیگما) به صورت تک دوز به منظور دیابتی کردن حیوانات استفاده شد. به این ترتیب که به ازای ۱ گرم استرپتوزوسین ۹/۵ میلی‌لیتر سالین استریل به آن اضافه می‌شد و پس از حل شدن، محلول زرد رنگی به وجود

دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیکی است که به وسیله افزایش قند خون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها، همراه با افزایش خطر ایجاد بیماری‌های عروقی مشخص می‌شود. حداقل مشخصه تعریف شده برای شناسای دیابت، بالا بودن قند خون مزمن و پایدار است (۱). این بیماری توسط نقص کامل یا نسبی ترشح انسولین و یا عمل انسولین ایجاد می‌شود که بر این اساس به دو گروه مهم دیابت نوع یک و نوع دو تقسیم می‌شود. گزارش‌های متعددی وجود دارد که بیماران دیابتی نوع یک از نارسایی عروق ریز رنج می‌برند. امروزه مشخص شده است که اختلال در میزان تولید و ترشح میانجی‌های عروقی مترشحه از اندوتلیال اولین و مهم‌ترین عامل نارسایی عروق ریز در دیابت می‌باشد.

با وجود شدت و پیچیدگی عوارض عروقی حاصل از دیابت و این‌که عوارض عروقی به عنوان منشأ سایر اختلالات ایجاد شده در دیابت مطرح است، اطلاعات اندکی مخصوصاً در مورد پاتوژنز، پیشگیری و درمان عوارض عروقی دیابت در دسترس می‌باشد (۱). یکی از فاکتورهایی که در بیماران دیابتی نوع یک کاهش می‌یابد، منیزیم است که احتمالاً به علت دیورز اسموزی که در این بیماری اتفاق می‌افتد، این کمبود حاصل می‌شود. از طرفی کمبود منیزیم اخیراً به عنوان فاکتور جدید در پاتوژنز عوارض بیماری دیابت پیشنهاد شده است (۲).

همچنین شواهدی وجود دارد مبنی بر این‌که کمبود منیزیم، ممکن است سیگنالینگ انسولین را مختل کند (۳). از آن‌جا که اختلالات عروقی یکی از مهم‌ترین عوارض دیابت می‌باشد، در حیوانات آزمایشگاهی نشان داده شده است که این اختلالات عروقی تا حد زیادی ناشی از کمبود منیزیم می‌باشد، مکانیسم کمبود منیزیم در ایجاد اختلالات عروقی به طور واضح مشخص نشده است ولی با این حال کاهش منیزیم منجر به افزایش کلسیم داخل سلولی شده، در نتیجه باعث انقباض عروقی

ارائه شد. برای بیان اختلاف بین گروه‌های موش‌های سالم NC و دیابتی (کنترل DC، درمان شده با سولفات منیزیم DMg) از آزمون آنالیز واریانس چند فاکتوری استفاده شده است. حداقل سطح تفاوت معنادار که از لحاظ آماری قابل قبول باشد،  $P < 0/05$  در نظر گرفته شده است.

### یافته‌ها

در این مطالعه مصرف سولفات منیزیم قند خون حیوانات دیابتی را به طور معناداری نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش داد. با این حال، قند خون گروه درمان شده با سولفات منیزیم نسبت به گروه کنترل سالم به طور معناداری افزایش نشان داد (نمودار ۱). تزریق موضعی استیل کولین یک درصد به پوست کف پای حیوانات برای بررسی اتساع عروق وابسته به اندوتلیال مورد استفاده قرار گرفت که باعث افزایش معناداری در جریان خون این ناحیه در حیوانات دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم در مقایسه با حیوانات دیابتی کنترل شد. با این حال، افزایش جریان خون حاصل از تزریق استیل کولین در حیوانات دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم نسبت به گروه کنترل سالم به طور معناداری کاهش داشته است (نمودار ۲).

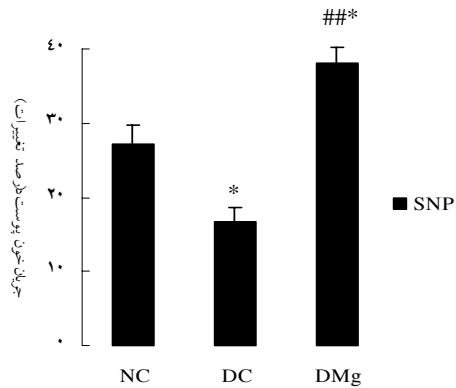
تزریق موضعی سدیم نیتروپروساید یک درصد برای بررسی اتساع عروق غیر وابسته به اندوتلیال مورد استفاده قرار گرفت که باعث افزایش معناداری در جریان خون این ناحیه در حیوانات دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم در مقایسه با حیوانات دیابتی کنترل شد. افزایش جریان خون حاصل از تزریق سدیم نیتروپروساید در حیوانات دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم نسبت به گروه کنترل سالم به طور معناداری افزایش داشته است (نمودار ۳).

تزریق L-NNA (مهارکننده eNOS) با غلظت  $0/1$  مولار (۱۰ مولار) قبل از سولفات منیزیم با غلظت  $0/1$  مولار کاهش معناداری بر اثرات گشادکنندگی عروقی ناشی از سولفات منیزیم در موش‌های سالم، دیابتی و دیابتی درمان

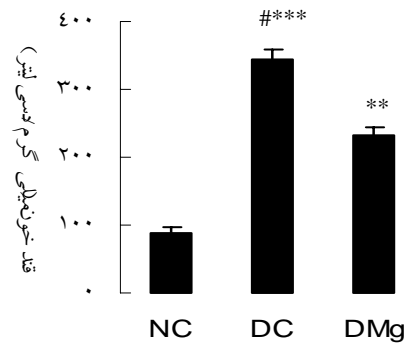
می‌آمد. موش‌های صحرایی با وزن  $250 - 200$  گرم را که ۲۴ ساعت قبل گرسنه نگه داشته، با اتر بیهوش کرده و قبل از تزریق استرپتوزوسین، باروش قطع دم (Tail prick) از حیوان یک قطره خون گرفته می‌شد و با استفاده از نوار گلوکز یاب و دستگاه گلوکز یاب قند خون ناشتا را اندازه گرفته و پس از آن استرپتوزوسین به صورت زیر جلدی در ناحیه پشت دو گوش تزریق می‌شد (۷). سه روز پس از تزریق استرپتوزوسین، با روش قطع دم از حیوانات خون گرفته و با روش ذکر شده در بالا میزان قند خون حیوانات مشخص می‌شد. حیواناتی که قند خون آن‌ها بیشتر از  $300 \text{ mg/dl}$  بود، به عنوان دیابتی در نظر گرفته می‌شدند (۸،۹).

**روش ثبت جریان خون پوست:** از دستگاه جریان سنج لیزری (moor instrument, AX minster, U.K MBF.ZD) برای اندازه‌گیری تغییرات جریان خون پوستی استفاده می‌شد. به این ترتیب که در ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه جریان خون پایه اندازه‌گیری می‌شد تا به حالت پایدار برسد، سپس داروهای استیل کولین (ACh)، سدیم نیتروپروساید (SNP) و L-NNA + سولفات منیزیم ( $0/1$  مولار) توسط پمپ تزریق و سرنگ هامیلتون (با سرعت ۵ میکرولیتر در دقیقه) به طور موضعی به حیوانات تزریق می‌شدند.

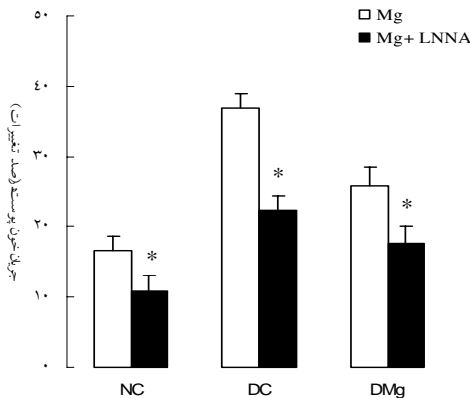
**تحلیل داده‌ها:** اندازه‌گیری‌ها به صورت Perfusion units بیان می‌شوند، که واحد قراردادی هستند. بنابراین اعداد مورد نظر نسبی‌اند و مقادیر مطلق جریان خون را نشان نمی‌دهند. متنها صحت و سقم نتایج حاصله با این روش توسط سایر پژوهشگران مورد تأیید قرار گرفته است. نرم-افزار مورد استفاده برای جمع‌آوری داده‌ها شامل نرم-افزار Moorsoft و Winsoft جهت ثبت تغییرات جریان خون از دستگاه جریان سنج لیزری می‌باشد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم نمودارها و جداول از برنامه نرم-افزاری statistica و Excel استفاده شد. در همه نمودارها یافته‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای انحراف از میانگین



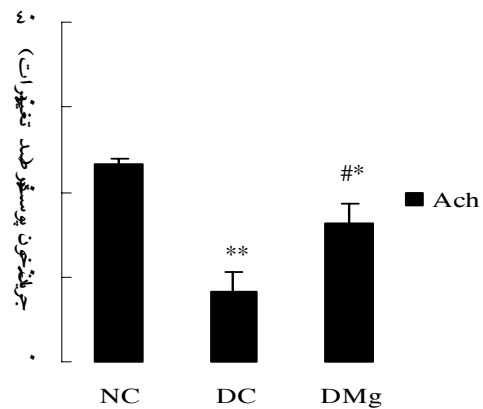
نمودار ۳: درصد تغییرات جریان خون پوست در پاسخ به تزریق موضعی یک درصد سدیم نیتروپروساید در موش‌های سالم (NC) و دیابتی (کنترل DC، درمان شده با سولفات منیزیم DMg). مقادیر به صورت  $Mean \pm SEM$  نمایش داده شده اند.  $P < 0.05$ ،  $P < 0.001$  به ترتیب در مقایسه با موش‌های سالم (NC) و دیابتی کنترل DC



نمودار ۱: تغییرات میزان قند خون در موش‌های سالم (NC) و دیابتی (کنترل DC، درمان شده با سولفات منیزیم DMg). مقادیر به صورت  $Mean \pm SEM$  نمایش داده شده اند  $P < 0.01$ ،  $P < 0.001$  و  $P < 0.05$  به ترتیب در مقایسه با موش‌های سالم (NC) و دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم DMg.



نمودار ۴: درصد تغییرات جریان خون پوست در پاسخ به تزریق موضعی L-NNa (مهار کننده eNOS) با غلظت  $10^{-2}$  مولار قبل از سولفات منیزیم با غلظت ۰/۱ مولار. اثرات گشادکنندگی عروقی سولفات منیزیم در موش‌های سالم (NC) و دیابتی (کنترل DC، درمان شده با سولفات منیزیم DMg). مقادیر بصورت  $Mean \pm SEM$  نمایش داده شده اند.  $P < 0.05$  در مقایسه با گروهی که سولفات منیزیم به تنهایی دریافت کرده اند.



نمودار ۲: درصد تغییرات جریان خون پوست در پاسخ به تزریق موضعی یک درصد استیل کولین در موش‌های سالم (NC) و دیابتی (کنترل DC، درمان شده با سولفات منیزیم DMg). مقادیر به صورت  $Mean \pm SEM$  نمایش داده شده اند.  $P < 0.05$ ،  $P < 0.01$  و  $P < 0.05$  به ترتیب در مقایسه با موش‌های سالم (NC) و دیابتی کنترل DC.

درمان شده با سولفات منیزیم در مقایسه با حیوانات دیابتی کنترل شد. با این حال، افزایش جریان خون حاصل از تزریق استیل کولین در حیوانات دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم نسبت به گروه کنترل سالم به طور معناداری کاهش داشته است که نشان می‌دهد مصرف سولفات منیزیم به مدت ۱۰ هفته در حیوانات دیابتی از نارسایی اندوتلیال پیشگیری و یا محافظت نموده است. اختلال در اتساع وابسته به اندوتلیال در بستر عروقی

شده با سولفات منیزیم داشت ولی این اثرات را به طور کامل حذف نکرد (نمودار ۴).

## بحث

در مطالعه حاضر، تزریق موضعی استیل کولین یک درصد به پوست کف پای حیوانات باعث افزایش معناداری در جریان خون این ناحیه در حیوانات دیابتی

نواحی مختلف بدن در مدل‌های مختلف دیابت تجربی در حیوانات مشاهده شده است (۱۲-۱۰). نتایج تحقیق قبلی ما نیز نشان داد که اتساع عروقی حاصل از استیل‌کولین که نشان‌دهنده اتساع وابسته به اندوتلیال می‌باشد، به طور قابل ملاحظه‌ای در حیوانات دیابتی دچار اختلال شده است (۹، ۱۳). اما مطالعاتی نیز وجود دارد که نشان‌دهنده افزایش یا عدم تغییر در اتساع عروقی وابسته به اندوتلیال در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزیسین را نشان می‌دهد (۱۴، ۱۵). این تناقض در نتایج ممکن است وابسته به زمان تغییرات در عملکرد اندوتلیوم عروق در بیماری دیابت باشد به طوری که شواهد نشان داده است در مراحل اولیه ایجاد دیابت، اختلالی در اندوتلیوم عروق به وجود نمی‌آید.

پیشنهاد شده است که افزایش بیش از حد گلوکز پلاسما، چربی بد خون، کلسترول، اندوتلین، آنژیوتانسین II و رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در دیابت اتفاق می‌افتد در ایجاد و پیشرفت نارسایی عروقی در نواحی مختلف بدن از جمله پوست دخالت دارند. در واقع شواهد متعددی امروزه پیشنهادکننده آن است که در دیابت نوع یک نارسایی اندوتلیوم عروقی ممکن است در اثر غیر فعال شدن مسیر نیتریک اکساید باشد (۱۶، ۱۷). بنابراین به نظر می‌رسد سولفات منیزیم با پیشگیری از اختلال در مسیر نیتریک اکساید و یا تقویت کردن این مسیر می‌تواند اتساع وابسته به اندوتلیال را در حیوانات دیابتی بهبود ببخشد که این نتیجه در راستای نتایج مطالعاتی است که نشان می‌دهد سولفات منیزیم باعث افزایش عملکرد اندوتلیوم می‌شود (۵، ۱۸).

در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که پاسخ انقباضی مزاتر بدون اندوتلیوم موش‌های دیابتی ۸ هفته پس از تزریق STZ در مقایسه با گروه شاهد افزایش می‌یابد (۵). از سوی دیگر، گروهی پس از بررسی اندوتلیوم عروق حیوانات دیابتی، اختلال در مواد هایپرپلازیه کننده‌ی مشتق شده از اندوتلیوم مزاتر را ۱۲-۸ هفته پس

از دیابتی کردن گزارش کردند. در حالی که مطالعه‌ای دیگر، نتیجه‌ی متفاوتی را مبنی بر بی اثر بودن دیابت شیرین بر مواد هایپرپلازیه کننده‌ی مشتق شده از اندوتلیوم آئورت حیوانات دیابتی پس از ۸ هفته نشان داده است (۱۹). به نظر می‌رسد علت تناقض در یافته‌های مطالعات مختلف، از تفاوت در نژادهای موش‌ها، طول مدت دیابتی بودن حیوان، مقدار تزریق برای دیابتی کردن و نیز بستر عروقی مورد مطالعه، ناشی گردیده است.

تزریق موضعی سدیم نیتروپروساید یک درصد باعث افزایش معناداری در جریان خون در حیوانات دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم در مقایسه با حیوانات دیابتی کنترل هم سن شد، نشان‌دهنده آن است که سولفات منیزیم به طور غیر وابسته به اندوتلیوم و مسیر نیتریک اکساید باعث افزایش جریان خون می‌شود. در مطالعات قبلی نیز که در شرایط *in vivo* در عروق قلب انسان انجام شده است نشان داده‌اند که سولفات منیزیم غیروابسته به اندوتلیوم باعث گشاد شدن عروق کرونر می‌شود (۶). در حالی که شواهد زیادی مبنی بر گشادی عروق حاصل از سولفات منیزیم وابسته به اندوتلیوم و مسیر نیتریک اکساید وجود دارد (۵، ۱۸، ۲۰). این اختلاف در نتایج ممکن است به علت اختلاف در نوع گونه، بستر عروقی و طول مدت دیابت و غلظت متفاوت سولفات منیزیم مورد استفاده باشد.

با این حال در بررسی حاضر، افزایش جریان خون حاصل از تزریق سدیم نیتروپروساید در حیوانات دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم نسبت به گروه کنترل سالم به طور معناداری افزایش نشان داد که ممکن است به علت حساسیت بیشتر در گروه دیابتی به سولفات منیزیم و یا درگیری مسیر سیگنالینگ دیگری مطرح باشد. برای بررسی دقیق‌تر تزریق موضعی L-NNA (مهارکننده eNOS) قبل از سولفات منیزیم با غلظت ۰/۱ مولار تأثیر معناداری روی اثرات گشادکنندگی عروقی از سولفات منیزیم در موش‌های سالم، دیابتی و دیابتی درمان شده با

دهد که مصرف مزمن سولفات منیزیم باعث بهبود اتساع وابسته و غیر وابسته به اندوتلیال در حیوانات دیابتی شده و مسیر نیتریک اکساید را در عروق پوست تقویت می‌کند.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تویسرکان بدلیل حمایت مالی از این مطالعه و از جناب آقای دکتر محمد محمد زاده به جهت بازبینی علمی مقاله صمیمانه تقدیر بعمل می‌آید.

سولفات منیزیم داشت. جالب است که اولاً تزریق موضعی سولفات منیزیم اثر گشاد کنندگی بیشتری در حیوانات دیابتی کنترل نسبت به گروه کنترل سالم و دیابتی درمان شده با سولفات منیزیم دارد. ثانیاً تزریق موضعی L-NNA قبل از سولفات منیزیم اثرات گشاد کنندگی سولفات منیزیم را حذف نکرد. این مسأله خود تأییدی بر دخالت داشتن مکانیسمی غیر از مسیر نیتریک اکساید و غیر وابسته بودن به اندوتلیوم اثرات گشاد کنندگی سولفات منیزیم در حیوانات دیابتی می‌باشد که نیاز به مطالعه بیشتری دارد. به طور کلی، یافته‌های این تحقیق نشان می‌-

### References

1. Zdychova J, Komers R. Emerging Role of Akt kinase/protein kinase B signaling in pathophysiology of diabetes and its complications. *Physiol Res*. 2005; 54(1): 1-16.
2. Forst T, Dufayet D, Kunt T, Goitom K, Pohlmann T, Schneider S, et al. Effects of proinsulin C-peptide on nitric oxide, microvascular blood flow and erythrocyte Na, K-ATPase activity in diabetes mellitus type I. *Clin Sci.(Lond)* 2000; 98(3): 283-90.
3. Wallerath T, Kunt T, Forst T, Closs EI, Lehmann R, Flohr T, et al. Stimulation of endothelial nitric oxide synthase by proinsulin C- peptide. *Nitric Oxide*. 2003; 9(2): 95-102.
4. Jensen ME, Messina EJ. C-peptide induces concentration- dependent dilation of skeletal muscle arterioles only in presence of insulin. *Am J Physiol*. 1999; 276 (4 Pt 2): H1223-8.
5. 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(1-3): 177-81.
6. Touyz RM. Role of magnesium in the pathogenesis of hypertension. *Mol Aspects Med*. 2003; 24(1-3): 107-36.
7. Hajduch E, Darakhshan F, Hundal HS. Fructose uptake in rat adipocytes: GLUT5 expression and the effects of streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 1998; 41(7): 821-8.
8. De Angelis KL, Oliveira AR, Dall'Ago P, Peixoto LR, Gadonski G, Lacchini S, et al. Effects of exercise training on autonomic and myocardial dysfunction instreptozotocin-diabetic rats. *Braz J Med Biol Res*. 2000; 33(6): 635-41.
9. Hajizadeh S, Shiran K, Fathollahi Y. Responsiveness of vascular alpha1-adrenoceptors of diabetic rat knee joint to phenylephrine in acute inflammation. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2005; 16(4):301-9.
10. Shivakumar K, Kumar BP. Magnesium deficiency enhances oxidative stress and collagen synthesis in vivo in the aorta of rats. *Int J Biochem Cell Biol*. 1997; 29(11): 1273-8.
11. Atabek ME, Kurtoglu S, Pirgon O, Baykara M. Serum magnesium concentrations in type 1 diabetic patients: relation to early atherosclerosis. *Diabetes Res Clin Pract* 2006; 72(1): 42-7.
12. Diederich D, Skopec J, Diederich A, Dai FX. Endothelial dysfunction in mesenteric resistance arteries of diabetic rats: role of free radicals. *Am J physiol*. 1994; 266(3 Pt 2): H1153-61.
13. Laurant P, Touyz RT. Physiological and pathophysiological role of magnesium in the cardiovascular system: implication in hypertension. *J Hypertens*. 2000; 18(9): 1177-91.

14. Yang ZW, Gebrewold A, Nowakowski M, Altura BT, Altura BM. Mg(2+)-induced endothelium-dependent relaxation of blood vessels and blood pressure lowering: role of NO. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000; 278(3): R628-39.
15. Wang J-S. Effects of exercise training and detraining on cutaneous microvascular function in man: the regulatory role of endothelium- dependent dilation in skin vasculature. *Eur J Appl Physiol.* 2005; 93(4): 429-34.
16. Matsumoto T, Yoshiyama S, Wakabayashi K, Kobayashi T, Kamata K. Effects of chronic insulin on endothelial dysfunction of basilar arteries from established streptozotocin diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2004; 504(1-2): 119–27.
17. Pieper GM. Enhanced, unaltered and impaired nitric oxide-mediated endothelium dependent relaxation in experimental diabetes mellitus: importance of disease duration. *Diabetologia.* 1999; 42(2): 204–13.
18. Heidarianpour A, Hajizadeh S, Khoshbaten A, Ghanbari Niaki A, Bigdili MR, Pourkhalili KH. Effects of chronic exercise on endothelial dysfunction and insulin signaling of cutaneous microvascular in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007; 14(6): 746-52.
19. Kobayashi T, Matsumoto T, Kamata K. The PI3-K/Akt pathway: roles related to alterations in vasomotor responses in diabetic models. *J Smooth Muscle Res.* 2005; 41(6): 283–302.
20. Cipolla MJ, Harker CT, Porter JM. Endothelial function and adrenergic reactivity in human type-II diabetic resistance arteries. *J Vasc Surg.* 1996; 23(5): 940–9.