

## اثر تغییرات وابسته به زمان در پاسخ گشادشدگی آئورت سینه‌ای به کوئرتستین در مدل تجربی دیابت قندی در موش صحرایی

مهرداد روغنی<sup>۱\*</sup>، توراندخت بلوچ‌نژاد مجرد<sup>۲</sup>

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی  
۲- دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران  
\* آدرس مکاتبه: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدالله‌زاده (دهکده)، دانشکده پزشکی شاهد، گروه  
فیزیولوژی، تلفن: ۸۸۹۶۴۷۹۲ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۹۶۶۳۱۰ (۰۲۱)  
پست الکترونیک: mehjour@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۴/۵/۴

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۰/۲۹

### چکیده

مقدمه و هدف: بیماری‌های قلبی عروقی در زمره شایع‌ترین عوارض ناشی از بیماری متابولیک دیابت قندی به ویژه در درازمدت محسوب می‌شوند. با توجه به این موضوع که در دیابت قندی با گذشت زمان پاسخگویی عروقی به مواد وازواکتیو تغییر می‌یابد لذا در تحقیق حاضر اثر تغییرات وابسته به زمان در آئورت سینه‌ای در مدل تجربی دیابت قندی در بروز پاسخ گشادشدگی عروقی فلاونوئید کوئرتستین در موش صحرایی نر مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: برای این منظور، موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. برای دیابتی نمودن حیوانات از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) به طور داخل صفاقی استفاده شد. میزان وزن و گلوکز سرم حیوانات در هفته قبل بررسی و در طی هفته‌های دوم، چهارم و هشتم پس از بررسی اندازه‌گیری شد. به علاوه ثبت پاسخگویی انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و نورآدرنالین و پاسخ شل‌شدگی نمونه‌ها به کوئرتستین به صورت وابسته به غلظت پس از گذشت یک و دو ماه انجام پذیرفت.

نتایج: پس از گذشت ۴ و ۸ هفته، اضافه نمودن فلاونوئید کوئرتستین از غلظت‌های ۰/۱ میکرومولار تا ۱ میلی‌مولار به طور معنی‌دار موجب ایجاد یک پاسخ شل‌شدگی وابسته به دوز در حلقه‌های پیش مقبض شده با نورآدرنالین و کلرور پتاسیم در هر دو گروه کنترل و دیابتی گردید. همچنین پاسخگویی شل‌شدگی القا شده بر اثر کوئرتستین در هفته هشتم در گروه دیابتی به طور معنی‌دار کمتر از نتایج همین گروه در هفته چهارم بود.

نتیجه‌گیری: به طور کلی می‌توان گفت که اثرات گشادکنندگی عروقی فلاونوئید کوئرتستین در مدل تجربی دیابت قندی با گذشت زمان کاهش می‌یابد.

کل واژگان: کوئرتستین، آئورت سینه‌ای، دیابت قندی، موش صحرایی



## مقدمه

توجه به این موضوع که در دیابت قندی با گذشت زمان پاسخگویی شل‌شدگی به استیل کولین کاهش می‌یابد لذا هدف اصلی تحقیق حاضر بررسی اثر تغییرات وابسته به زمان در پاسخ گشادشدگی آئورت سینه‌ای به کوئرستین در مدل تجربی دیابت قندی در موش صحرایی می‌باشد [۹].

## مواد و روش‌ها

در این بررسی از موش‌های صحرایی نر سفید نژاد Wistar (انستیتو پاستور، تهران) به تعداد ۳۸ در محدوده وزنی ۲۸۵ - ۲۲۵ در شروع بررسی استفاده گردید. تمام حیوانات در آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی در دمای  $21 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۴-۳ تایی در هر قفس قرار داده شدند. ضمناً حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش<sup>۱</sup> دسترسی داشتند. به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات به انجام رسید. سپس، حیوانات به طور تصادفی به دو گروه کنترل در دو زیر گروه یک [۱۰] و دو ماهه [۸] و تجربی در دو زیر گروه یک [۱۲] و دو ماهه [۸] تقسیم شدند. مدل تجربی دیابت قندی نوع ۱ (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی نر با یک بار تزریق داخل صفاقی STZ به میزان ۶۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن ایجاد گردید و از سرم فیزیولوژی سرد به عنوان حلال STZ استفاده شد. ملاک دیابتی بودن حیوانات، میزان گلوکز سرم بالاتر از ۲۵۰ mg/dl بود. پارامترهای مورد بررسی در این تحقیق، میزان وزن و گلوکز سرم حیوانات در هفته قبل بررسی و در طی هفته‌های دوم و چهارم و هشتم پس از بررسی بود. به علاوه ثبت پاسخگویی انقباضی و شل‌شدگی حلقه‌های آئورت سینه‌ای نمونه‌ها به کلرور پتاسیم، نورآدرنالین، و کوئرستین پس از گذشت یک و دو ماه در گروه‌های مربوط انجام پذیرفت [۳، ۴].

در پایان آزمایش‌ها، حیوانات با اتر بیهوش شده، پس از باز نمودن قفسه سینه، آئورت سینه‌ای جدا شده و در داخل محلول

بیماری‌های قلبی عروقی در زمره شایع‌ترین عوارض ناشی از بیماری متابولیک دیابت قندی به ویژه در درازمدت محسوب می‌شوند [۱]. نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که در این بیماری با گذشت زمان افزایش پاسخگویی عروقی (در بسترهای عروقی مختلف شامل عروق هدایتی و مقاومتی) به آگونیستهای آلفا-۱ آدرنوسپتورها و با خاصیت منقبض‌کنندگی نظیر فنیل‌افرین و نورآدرنالین رخ می‌دهد و از طرف دیگر پاسخ گشادشدگی عروقی به عواملی نظیر استیل کولین و حتی ترکیبات آزادکننده نیتریک اکسید کاهش می‌یابد که برای ظهور این وقایع در مدل تجربی بیماری القا شده توسط استرپتوزوتوسین به گذشت حداقل یک ماه نیاز می‌باشد [۲]. با این وجود مطالب ضد و نقیض متعددی در مورد مکانیسم دقیق ایجادکننده این وقایع و میزان تاثیر مدت زمان دیابتی بودن موجود یافت می‌شود و به علاوه میزان اطلاعات موجود به ویژه در چند ماه اول پس از دیابتی شده حیوان بسیار کمتر می‌باشد [۳]. در این ارتباط مشخص شده است که در بیماری دیابت با گذشت زمان تغییراتی در اندوتلیوم عروقی از نظر آزاد نمودن مواد موثر بر عروق نظیر نیتریک اکسید (با خاصیت گشادکنندگی)، اندوتلین‌ها و پروستاگلاندین‌ها به ویژه ترومبوکسان A2 (با خاصیت تنگ‌کنندگی) رخ داده، استرس اکسیداتیو (ناشی از افزایش تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن) به علت بروز هیپرگلیسمی تشدید می‌گردد و گزارش‌هایی در مورد افزایش بسیج کلسیم<sup>۱</sup> خارج سلولی یافت می‌شود [۴].

از طرف دیگر، کوئرستین (در خانواده فلاونوئیدها) در زمره فراوانترین پلی‌فنل‌های مشتق از گیاهان محسوب می‌شود که به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین فلاونوئیدها در رژیم غذایی در نظر گرفته می‌شود [۵]. این فلاونوئید پاسخ انقباضی القا شده بر اثر اضافه نمودن آگونیست‌های غیر اختصاصی نظیر کلرور پتاسیم و آگونیست‌های اختصاصی نظیر نورآدرنالین و فنیل‌افرین را کاهش داده و یک اثر گشادکنندگی عروقی در عروق هدایتی و مقاومتی بدن به وجود می‌آورد [۶، ۷، ۸]. با

<sup>1</sup> Standard pelleted food

<sup>1</sup> Calcium Mobilization



از کمترین تا بیشترین غلظت به صورت تجمعی و افزایش یابنده (۰/۱ میکرومولار تا ۱ میلی مولار) اضافه گردید تا به حداکثر پاسخ رفع انقباضی برسیم. سپس بافت به مدت حداقل نیم ساعت برای ۴-۳ بار با محلول کربس شستشو داده و پس از اطمینان از حصول ثبات پاسخ بافتی، آن را در معرض غلظت ۱ میکرومولار نورآدرنالین قرار داده شد. آنگاه پس از ایجاد حداکثر پاسخ انقباضی، مجدداً در معرض همان غلظت‌ها از کوئرتستین قرار گرفت. میزان پاسخ شل‌شدگی نهایتاً به صورت درصدی گزارش گردید. از نظر آماری نیز تمامی نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شد. برای مقایسه نتایج هر پارامتر در بین گروه‌ها از آزمون Student's t-test و Repeated measure ANOVA و Multiple Range test مربوطه استفاده گردید. به علاوه سطح معنی‌دار  $p < 0/05$  برای تمامی آنالیزها در نظر گرفته شد.

## نتایج

در بررسی حاضر، وزن موش‌ها و میزان گلوکز سرم در هفته قبل از بررسی و در طی هفته‌های دوم، چهارم و هشتم پس از بررسی تعیین گردید. در این رابطه مشخص شد که در هفته قبل از بررسی هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نمی‌شود. به علاوه، در موش‌های دیابتی یک کاهش معنی‌دار ( $p < 0/05$ ,  $p < 0/01$  و  $p < 0/005$ ) در وزن در هفته‌های دوم، چهارم و هشتم نسبت به هفته قبل از بررسی مشاهده گردید. در مورد گروه کنترل نیز افزایش وزن مورد انتظار در همین هفته‌ها نسبت به هفته قبل از بررسی مشاهده گردید. به علاوه، در موش‌های دیابتی، افزایش معنی‌دار سطح گلوکز در هفته‌های دوم، چهارم، و هشتم ( $p < 0/001$ ) پس از بررسی در مقایسه با هفته قبل از بررسی مشاهده گردید.

از نظر پاسخگویی عروقی به آگونیست‌های انقباضی، اضافه نمودن آگونیست اختصاصی نورآدرنالین (۱ میکرومولار) به حمام بافتی یک گشادشدگی حداکثر برابر با  $36/7 \pm 758/23$  و  $41/1 \pm 867/17$  گرم را به ترتیب در حلقه‌های آئورتی در دو گروه کنترل و دیابتی پس از گذشت یک ماه به وجود آورد. با اضافه شدن دوزهای تجمعی کوئرتستین، یک پاسخ شل‌شدگی وابسته به دوز در نمونه‌های دارای اندوتلیوم در هر

کربس (که به طور مداوم به داخل آن گاز کربوژن با ترکیب ۹۵ درصد اکسیژن و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن دمیده می‌شد) قرار گرفت. ترکیب شیمیایی محلول کربس مورد استفاده در تمام آزمایش‌ها به قرار زیر بود (بر حسب میلی‌مولار) [۱۰]:

NaCl ۱۱۸/۵, KCl ۴/۷۴, CaCl<sub>2</sub> ۵/۲, MgSO<sub>4</sub> ۱/۱۸, NaHCO<sub>3</sub> ۲۴/۹, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ۱/۱۸, Glucose ۱۰

در داخل محلول کربس سرد، آئورت به دقت از بافت پیوندی اطراف پاک و به حلقه‌هایی به طول حدوداً ۴ (۵-۳) میلی‌متر تقسیم می‌گردید. برای حصول اطمینان از سلامت آندوتلیوم در حلقه‌های دارای اندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت  $10^{-6}$  مولار نورآدرنالین، استیل‌کولین با غلظت  $10^{-5}$  مولار به حمام بافت اضافه می‌شد. مشاهده پاسخ شل‌شدگی بیشتر از ۳۰ درصد در حلقه‌های آئورت به عنوان ملاک سالم بودن آندوتلیوم در نظر گرفته شد. برای ثبت پاسخگویی حلقه‌های آئورتی، نمونه‌ها به کمک سیم‌های پلاتینی L شکل که به موازات هم قرار می‌گرفتند از یک طرف به قلاب فلزی و از طرف دیگر به ترانس دیوسر ایزومتریک F-60 (شرکت نارکو، آمریکا) متصل می‌شدند. سیگنال در ابتدا به کویلر و سپس به بورد آنالوگ به دیجیتال کامپیوتر (شرکت بهینه آرمان، تهران) منتقل می‌گردید. ضمناً برای ثبت و آنالیز داده از نرم‌افزار فیزیوگراف (نسخه ۱) همین شرکت استفاده گردید. در این بررسی کشش اولیه و استراحتی<sup>۱</sup> اعمال شده به حلقه‌های آئورتی ۲ گرم بود. پس از اعمال این کشش، ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به بافت اجازه داده می‌شد تا وضعیت ثابت و پایدار پیدا کند. محلول کربس داخل حمام بافت هم حداکثر هر ۳۰ دقیقه یک‌بار تعویض می‌شد. ضمناً تمام آزمایش‌های انقباضی در مورد نورآدرنالین در حضور تیمولول (۱ میکرومولار)، ایمی‌پرامین (۱ میکرومولار)، و پردنیزولون (۱ میکرومولار) برای حذف اثرات تداخلی بتا-آدرنوسپتورها، جذب نورونی آگونیست در محل پایانه و جذب غیر نورونی آن به انجام رسید.

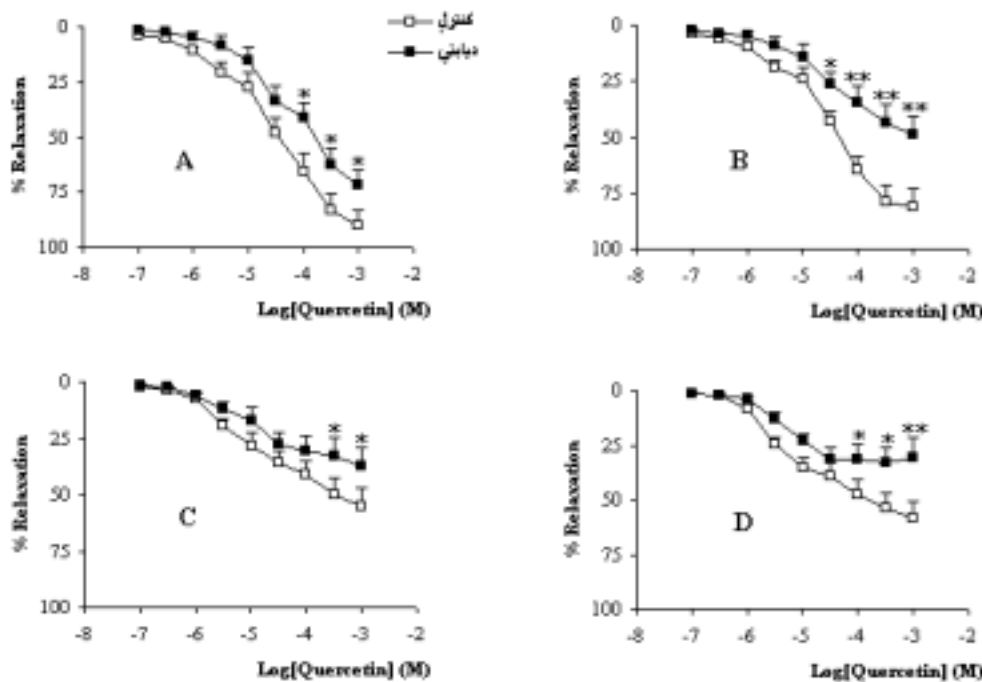
پس از حصول حالت تعادل، حلقه‌های آئورتی در معرض یک غلظت بالا از کلرور پتاسیم (۸۰ میکرومولار) قرار می‌گرفت و پس از رسیدن به حداکثر پاسخ انقباضی، کوئرتستین

<sup>1</sup> Resting tension

کنترل و دیابتی پس از گذشت یک ماه به وجود آورد (شکل شماره ۱C). با اضافه شدن دوزهای تجمعی کوئرستین، یک پاسخ شل‌شدگی وابسته به دوز در هر دو گروه مشاهده گردید. به علاوه اختلاف موجود بین دو گروه کنترل و دیابتی در مورد این نمونه‌ها فقط در غلظت‌های کوئرستین بالاتر از  $0.5 \times 10^{-5}$  میلی‌مولار معنی‌دار بود بدین صورت که پاسخ شل‌شدگی در گروه دیابتی کمتر از گروه کنترل بود. از طرف دیگر، اضافه شدن کلرور پتاسیم ( $80$  میلی‌مولار) به حمام بافتی یک گشادشدگی حداکثر برابر با  $17/1 \pm 289/18$  و  $30/6 \pm 491/13$  گرم را به ترتیب در حلقه‌های آئورتی دو گروه کنترل و دیابتی پس از گذشت دو ماه به وجود آورد (شکل شماره ۱D) و با اضافه شدن دوزهای تجمعی کوئرستین، یک پاسخ شل‌شدگی وابسته به دوز در هر دو گروه مشاهده گردید. به علاوه اختلاف موجود بین دو گروه کنترل و دیابتی در مورد این نمونه‌ها فقط در غلظت‌های کوئرستین بالاتر از  $0.1$  میلی‌مولار معنی‌دار بود.

دو گروه مشاهده گردید (شکل شماره ۱A). به علاوه اختلاف موجود بین دو گروه کنترل و دیابتی در مورد این نمونه‌ها فقط در غلظت‌های کوئرستین بالاتر از  $100$  میکرومولار معنی‌دار بود بدین صورت که پاسخ شل‌شدگی در گروه دیابتی کمتر از گروه کنترل بود. همچنین اضافه نمودن نورآدرنالین ( $1$  میکرومولار) یک گشادشدگی حداکثر برابر با  $38/40 \pm 783/14$  و  $34/57 \pm 1023/38$  گرم را به ترتیب در حلقه‌های آئورتی در دو گروه کنترل و دیابتی پس از گذشت دو ماه به وجود آورد. در همین خصوص، با اضافه شدن دوزهای تجمعی کوئرستین، یک پاسخ شل‌شدگی وابسته به دوز در نمونه‌های دارای اندوتلیوم در هر دو گروه مشاهده گردید (شکل شماره ۱B). به علاوه اختلاف موجود بین دو گروه کنترل و دیابتی در مورد این نمونه‌ها فقط در غلظت‌های کوئرستین بالاتر از  $5 \times 10^{-5}$  میکرومولار معنی‌دار بود.

اضافه نمودن کلرور پتاسیم ( $80$  میلی‌مولار) به حمام بافتی یک گشادشدگی حداکثر برابر با  $15/9 \pm 317/2$  و  $21/1 \pm 374/1$  گرم را به ترتیب در حلقه‌های آئورتی دو گروه



شکل شماره ۱- شکل پاسخ رفع انقباضی وابسته به غلظت حلقه‌های آئورت سینه‌ای موش صحرائی پیش منقبض شده با نورآدرنالین (A و B) و کلرور پتاسیم (C و D) به فلاونوئید کوئرستین در گروه‌های کنترل و دیابتی یک (A و C) و دو (B و D) ماه

\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.005$



## بحث و نتیجه گیری

در تحقیق حاضر تغییرات وابسته به زمان در آئورت سینه‌ای در مدل تجربی دیابت قندی در بروز پاسخ گشادشدگی عروقی کوثرستین در موش صحرایی نر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که که پاسخگویی انقباضی حلقه‌های آئورتی به نورآدرنالین و کلرور پتاسیم در موش‌های دیابتی بیشتر از موش‌های نرمال است. همچنین فلاونوئید کوثرستین یک پاسخ شل‌شدگی وابسته به غلظت را در نمونه‌های پیش منقبض شده با نورآدرنالین و کلرور پتاسیم در هر دو گروه کنترل و دیابتی به وجود می‌آورد و با گذشت زمان، پاسخ شل‌شدگی القا شده بر اثر این فلاونوئید کاهش معنی‌دار را نشان می‌دهد.

مکانیسم‌های متفاوتی در ایجاد اختلال در ساختمان و عملکرد عروق خونی در دیابت دخالت دارند که نهایتاً منجر به افزایش پاسخگویی عروقی به آگونیست‌های انقباضی می‌گردند. در دیابت قندی ظرفیت آندوتلیوم عروق در سنتز گشادکننده‌های عروقی مانند پروستاگلندین و نیتریک اکسید کم شده و تنگ‌کننده‌های عروقی مانند آندوتلین به مقدار زیادی تولید می‌شوند [۱۱، ۱۲]. هر چند که در مورد نقش هیپرگلیسمی در بروز عوارض ماکروواسکولار در حالت دیابت قندی شواهد قطعی وجود ندارد، ولی برخی از نتایج به دست آمده خود هیپرگلیسمی و تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از آن را دلیل بروز این عوارض می‌دانند [۱۳، ۱۴، ۱۵]. مطالعات گذشته نیز بیانگر افزایش پاسخ انقباضی آئورت موش‌های

صحرایی دیابتی به نور آدرنالین و کلرور پتاسیم در مقایسه با موش‌های صحرایی سالم می‌باشد [۱۰]. در توجیه اثرات وازودیلاتور کوثرستین چندین مکانیسم گزارش شده است. از یک طرف این اثر فلاونوئید به تولید ماده میانجی نیتریک اکسید در سلول‌های اندوتلیال عروقی وابسته است. در همین ارتباط مشخص شده است که اثر این فلاونوئید مستقل از آنزیم‌های گوانیلات سیکلاز و فسفودی استراز به انجام می‌رسد [۱۶]. از طرف دیگر شواهدی دال بر این موضوع یافت می‌شود که اثر عروقی این فلاونوئید به محصولات تولید شده از راه سیکلواکسیژناز (پروستاگلاندین‌ها) به ویژه پروستاگلندین PGI<sub>2</sub> وابستگی زیادی نشان می‌دهد [۱۷، ۱۸]. به علاوه گزارش‌هایی مبنی بر اثر وابسته به آندوتلیوم کوثرستین در برخی بسترهای عروقی نظیر آئورت و مزانتز یافت می‌شود [۱۸].

به طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که فلاونوئید کوثرستین یک پاسخ شل‌شدگی عروقی را در مراحل اولیه بیماری دیابت قندی در موش صحرایی ایجاد می‌نماید و این پاسخ شل‌شدگی عروقی با گذشت زمان کاهش می‌یابد.

## تشکر و قدردانی

بخشی از این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد (تهران) می‌باشد. ضمناً نویسندگان مراتب تشکر وافر خود را از همکاری صمیمانه سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد اعلام می‌دارند.

## منابع

1. Hayos D, Ziegler T, Bruner HR and Ruis J. Diabetes mellitus and vascular lesion. *Metabolism*. 1998; 47: 16-19.
2. Ishii H, Jirousek MR, Koya D, Takagi C, Xia P and Elermont A. Amelioration of vascular dysfunction in diabetic rats by an oral PKC inhibitor. *Science*. 1996; 272:728-731.
3. Zhu BH, Guan YY, Min J and He H. Contractile responses of diabetic rat aorta to phenylephrine at different stages of diabetic duration. *Acta Pharmacol. Sin*. 2001; 22: 445-449.
4. Poton L and Thomas ST. Endothelial control of vascular tone in diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1997; 40: 113-114.
5. Formica JV and Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem. Toxicol*. 1995; 33:1061-1080.
6. Ajay M, Gilani AU and Mustafa MR. Effects of

flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. *Life Sci.* 2003; 74: 603-612.

7. Chan ECH, Pannangpetch P and Woodman OL, Relaxation of flavones and flavonols in rat isolated thoracic aorta: mechanism of action and structure-activity relationships. *J. Cardiovas. Pharmacol.* 2000; 35: 326 – 333.

8. Chen CK and Pace-Asciak CR. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen. Pharmacol.* 1996; 27:363-366.

9. Macleod KM and McNeill JH. Alpha adrenoceptor mediated responses in aorta from three month streptozotocin diabetic rats. *Proc. West Pharmacol. Soc.* 1982; 25: 245-247.

10. Abebe W, Harris KH and Macleod KM. Enhanced contractile responses of arteries from diabetic rats to  $\alpha_1$ -adrenoceptor stimulation in the absence and presence of extracellular calcium. *J. Cardiovas. Pharmacol.* 1990; 16: 239 - 248.

11. Beatrix S, Toth M and Somogyi A. Role of endothelin-1 in diabetes mellitus. *Diabetes Metab. Rev.* 1998; 14: 171-175.

12. Honing MLH, Morrison PJ, Banaga D, Stores ES and Rabelink TJ. Nitric oxide availability in diabetes mellitus. *Diabetes Metab. Rev.* 1998; 14: 241-249.

13. Cariello A, Dello RP, Amstad P and Cerutti P.

High glucose induces antioxidant enzymes in human endothelial cell in culture: evidence linking hyperglycemia and oxidative stress. *Diabetes.* 1996; 45: 471-77.

14. Giugliano D, Ceriello A and Paoliss G. Oxidative stress and diabetic vascular complication. *Diabetic Care.* 1996; 19: 267-275.

15. Karasu C and Altan VM. The role of endothelial cells on the alterations in vascular reactivity induced by insulin-dependent diabetes mellitus: effects of insulin treatment. *Gen. Pharmacol.* 1993; 24: 743-755.

16. Duarte J, Perez-Vizcaino F, Utrilla P, Jimenez J, Tamargo J and Zarzuelo A. Vasodilatory effects of flavonoids in rat aortic smooth muscle. Structure-activity relationships. *Gen. Pharmacol.* 1993; 24: 857-862.

17. Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Vaez-Mahdavia MR and Roghani-Dehkordi F. Mechanisms underlying quercetin-induced vasorelaxation in aorta of subchronic diabetic rats: an *in vitro* study. *Vascular Pharmacol.* 2005; 42:31–35.

18. Fitzpatrick DF, Hirschfield SL and Coffey RG. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am. J. Physiol.* 1993; 265:H774–H778.

