

# Quercetin'in Koruyucu Etkisinin İncelendiği Ratlarda Alt Ekstremitte İskemi-Reperfüzyon Hasarında TAS-TOS Düzeyleri

*TAS-TOS Levels in Lower Extremity Ischemia-Reperfusion Damage in Rats Examined the Protective Effect of Quercetin*

H. Turan Akkoyun<sup>1\*</sup>, Mahire Bayramoğlu Akkoyun<sup>1</sup>, Aydın Şükrü Bengü<sup>2</sup>, Sevinç Aydın<sup>3</sup>, Ceyhan Birinci<sup>4</sup>, Tuğçe Atçalı<sup>5</sup>, Halit Demir<sup>6</sup>, Okan Arıhan<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Temel Bilimler Bölümü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Siirt

<sup>2</sup>Bingöl Üniversitesi SHMYO, Bingöl

<sup>3</sup>Munzur Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Tunceli

<sup>4</sup>Ondokuzmayıs Üniversitesi Yaşar Doğu Spor Bilimler Fakültesi, Samsun

<sup>5</sup>Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Temel Bilimler Bölümü, Bingöl

<sup>6</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Van

<sup>7</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Van

## ÖZET

**Amaç:** Alt ekstremitte iskemi reperfüzyon (I/R) hasarını önlemede Quercetin'in koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada 30 adet 250-350 gr ağırlığında Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar üç gruba ayrıldı. Birinci gruptaki sıçanlara iskemi-reperfüzyon işlemi yapılmaksızın anestezi işlemi, ikinci gruptaki sıçanların sol alt ekstremitelerine turnike yardımıyla 2 saat iskemi, 2 saat reperfüzyon, üçüncü gruba ise iskemi başlatılmadan 45 dk. önce 50 mg/kg (ip) quercetin uygulamasının ardından 2 saat iskemi, 2 saat reperfüzyon uygulaması yapıldı. Süre sonunda sıçanlardan doku örnekleri alınarak, total antioksidan kapasite (TAS) ve total oksidan statüsü (TOS) düzeyleri değerlendirildi.

**Bulgular:** TAS değerlendirildiğinde; I/R grubunda kontrol grubuna oranla meydana gelen azalışın ( $p<0.001$ ) anlamlı, kontrol grubuna oranla I/R+Q grubundaki azalışın ( $p<0.05$ ), yine I/R grubuna oranla, I/R+Q grubunda meydana gelen artışın ( $p<0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. TOS miktarları değerlendirildiğinde I/R grubunda kontrol grubuna oranla meydana gelen artışın ( $p<0.001$ ), kontrol grubuna oranla I/R+Q grubundaki artışın ( $p<0.05$ ), I/R grubuna oranla, I/R+Q grubunda meydana gelen azalışın ( $p<0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi.

**Sonuç:** Sıçanlarda deneysel Alt Ekstremitte İskemi-Reperfüzyon Hasarında Quercetin'in koruyucu etkisi olduğu ve meydana gelen hasarı azalttığı belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** İskemi/reperfüzyon yaralanması, Quercetin, alt ekstremitte

## ABSTRACT

**Objective:** It was aimed to determine the protective effectiveness of quercetin in preventing lower extremity ischemia-reperfusion (I/R) injury.

**Material and Methods:** 30 Sprague-Dawley male rats weighing 250-350 g were divided into three groups. Anaesthesia was applied to the first group of rats without ischemia-reperfusion process. To the second group two hours of ischemia and two hours of reperfusion, with the help of left lower extremities tourniquet, were applied. To the third group, 50mg/kg (ip) quercetin application was performed 45 minutes before the ischemia was initiated, two hours of ischemia and two hours of reperfusion application were carried out. At the end of the process, by taking the tissue samples, total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) levels were evaluated.

**Results:** When TAS was evaluated, it was determined that the decrease ( $p<0.001$ ) occurring in I/R group in comparison with the control group was significant, the decrease ( $p<0.05$ ) in I/R+Q group in comparison with control group, and again the increase ( $p<0.001$ ) in I/R+Q group in comparison with I/R group was also significant. When the TOS amounts were evaluated, it was determined that the increase ( $p<0.001$ ) occurring in I/R group in comparison with control group, the increase in I/R+Q group in comparison with control group ( $p<0.05$ ), the decrease in I/R+Q group in comparison with I/R group was statistically significant.

**Conclusion:** It has been determined that quercetin has protective effect and decrease the injury occurred in experimental Lower Extremity Ischemia-Reperfusion Injury in Rats.

**Key Words:** Ischemia/reperfusion injury, Quercetin, lower extremity

Bu çalışma SÜ BAP tarafın'dan 2014- SÜVET-05 Nolu Proje olarak desteklenmiştir.

\*Sorumlu Yazar: Yrd. Doç. Dr. H. Turan Akkoyun, Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Siirt

Tlf: 0 (507) 749 56 43, E-mail: turanakkoyun@hotmail.com

Geliş Tarihi: 24.05.2017, Kabul Tarihi: 11.06.2017

## Giriş

İskemi hücrelerin fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için gerekli olan kan akımının azalması yada doku perfüzyonu azalması sonucunda gelişen oksijen azlığı durumudur (1). İskemi ciddi sonuçları olan genel klinik bir olaydır. Hücrede enerji düzeyinin azalmasını ve toksik olan maddelerin birikmesine sebep olarak hücre disfonksiyonu ve bunu takiben ölüme kadar gidebilen biyokimyasal reaksiyonlar dizisini başlatır. İskemik dokunun reperfüzyonu ise kesilen kan akımının tekrar sağlanması ile gerçekleşir (2). İskemi / reperfüzyon hasarı miyokardial infarktüs, serebrovasküler oklüzyon ve organ nakilleri gibi pekçok durumda gözlenen önemli boyutta bir sorundur. Özellikle kas ve iskelet sisteminde ekstremitelerin travması sonrası ve ameliyat içinde turnike uygulamasına bağlı olarak sıklıkla meydana gelir. Bir süre sonra kan akımının tekrar sağlanması durumunda dokunun kandaki oksijen ve besinle tekrar karşılaşmasıyla normal fonksiyonların geri gelmesinin yanı sıra inflamasyon, oksidatif hasar ve nitrosatif hasar meydana gelir (3). Bu tepkimeler ve hasar neticesinde oksidan miktarı artarken antioksidanların miktarı azalır ve oksidatif stres gelişir. TAS vücut sıvılarındaki ve plazmadaki bütün antioksidanların etkisini yansıtırken TOS bütün oksidanların toplam etkisini yansıtır (4). Alt ekstremitte iskemi reperfüzyonu oldukça sık gözlemlenen durumlardan bir tanesidir iskemide hasar azken, reperfüzyon ile birlikte hem lokal hemde sistematik hasar başlamış olur. İskeminin ardından reperfüzyonun sağlanması neticesinde multisistem organ disfonksiyonu gözlemlenebilir ve mortaliteye sebep olur (5). İskemi reperfüzyon hasarının önlenmesine yönelik antioksidan maddeler sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan son çalışmalarda quercetin'in eşsiz bir bioflavonoid ve oksidatif hasara karşı koruyucu olduğu kanıtlanmıştır (6). Quercetin in vitro mükemmel bir antioksidan aktiviteye ve süperoksit gibi reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türlerini tarayıcı etkiye sahiptir (7). Quercetin antioksidan aktivitesinin yanı sıra anti ülser, antitümör, immunodilator etkilere sahiptir. Ayrıca lipoproteinlerin oksidasyonunu önleyici etkiye'de sahip olduğu belirlenmiştir (8). Bu çalışmada, quercetin uygulanan ratlarda deneysel alt ekstremitte iskemi- reperfüzyon hasarında, total antioksidan statüsü (TAS) ve total oksidan statüsü (TOS) düzeyleri incelendi.

## Gereç ve Yöntem

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın 26.09.2014 tarih ve 09/01 sayılı kararı ile onaylandıktan sonra deneyde ağırlıkları 250-350 gr olan Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanılarak çalışmaya başlandı. Sıçanlar randomize olarak üç gruba bölündü.

**Kontrol grubu (n=10):** Bu gruptaki sıçanlara sadece anestezi işlemi uygulandı ve 4 saat sonunda sol alt ekstremitte derileri soyulduktan sonra alt ekstremiteden gastrokinemius kas doku örnekleri alındı.

**I/R grubu (n=10):** Sıçanlar anestezi altına alındıktan sonra sol alt ekstremiteleri olabildiğince proksimalden elastik bir turnike yardımıyla sıkıca bağlanarak alt ekstremitte iskemi modeli oluşturuldu. Kan akımının kesilmesi, deride mor renk oluşumu ve ısı düşüşü ile doğrulandı. Sıçanlarda uyanma belirtileri görüldüğünde, anestezi dozları tekrarlandı. İki saatlik iskemi süresinin sonunda turnike çözülerek doku kan akımı tekrardan sağlandı (9-10). Ardından kas doku örnekleri alındı.

**I/R+Quercetin grubu (n=10):** Sıçanlar anestezi altına alınıp sol alt ekstremitelerinde turnike yardımıyla iskemi başlatılmadan 45 dk önce 50 mg/kg (i.p) dozunda quercetin uygulandı. Ardından bu gruptaki sıçanlara 2 saat iskemi, 2 saat reperfüzyon uygulanarak kas doku örnekleri alındı.

**Numunelerin Hazırlanması:** Doku ekstraksiyon işlemlerine derin dondurucuda (-80°C) muhafaza edilen kas doku örneklerinin oda sıcaklığına gelinceye kadar kademeli olarak çözündürülmesiyle başlandı. Çözünen kas doku örnekleri Xia ve ark. (11) kullandıkları metod kullanılarak analize hazır hale getirildi.

**Total Antioksidan Statüsü (TAS) Tayini:** TAS düzeyleri ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Bulgular mmol Trolox equvalan/L olarak ifade edildi (12).

**Total Oksidan Statüsü (TOS) Tayini:** TOS düzeyleri ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Bulgular mmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> equvalan/L olarak ifade edildi (12).

**İstatistiksel Analizler:** Elde edilen sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verildi. Non-Parametrik testlerden Kruskal-Wallis varyans analiz testi uygulandı. İstatistiksel açıdan fark görülen parametrelerde, Mann Whitney-U testi kullanılarak karşılaştırmalar yapıldı. Hesaplamalar Windows uyumlu SPSS 15.0 istatistik programı kullanılarak yapıldı.

## Bulgular

**Total Antioksidan Kapasite (TAS):** Çalışmada ölçülen total antioksidan kapasite (TAS) değerleri arasındaki istatistiksel anlamlar değerlendirildiğinde; I/R grubunda kontrol grubuna oranla meydana gelen azalışın ( $p<0.001$ ) anlamlı, kontrol grubuna oranla I/R+Q grubundaki azalışın ( $p<0.05$ ) anlamlı, yine I/R grubuna oranla, I/R+Q grubunda meydana gelen artışın ( $p<0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Tablo 1).

**Tablo 1.** Gruplara ait TAS düzeyleri

Gruplar	N	TAS(mmol/g)
Kontrol	10	1.32±0.13 <sup>a,c</sup>
I/R	10	0.99±0.08 <sup>a,a1</sup>
I/R+Q	10	1.22±0.06 <sup>c,a1</sup>

a, a1:  $p<0.001$ , c:  $p<0.05$

**Total Oksidan Kapasite (TOS):** Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlar değerlendirildiğinde I/R grubunda kontrol grubuna oranla meydana gelen artışın ( $p<0.001$ ) anlamlı, kontrol grubuna oranla I/R+Q grubundaki artışın ( $p<0.05$ ) anlamlı, yine I/R grubuna oranla, I/R+Q grubundaki azalışın ( $p<0.001$ ) istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (Tablo 2).

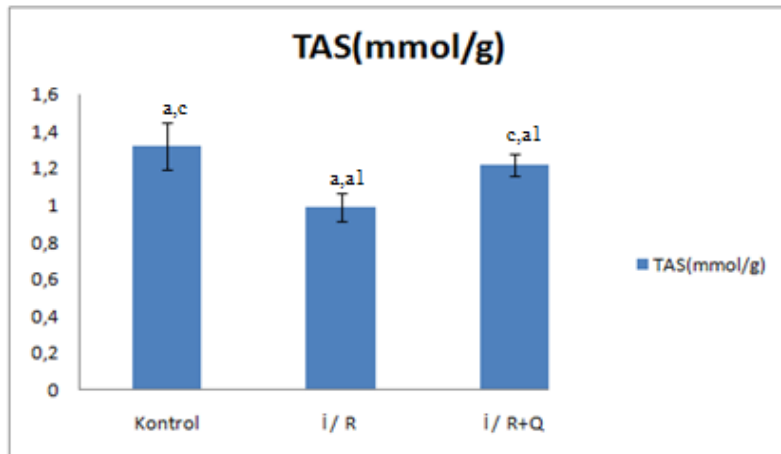
**Tablo 2.** Gruplara ait TOS düzeyleri

Gruplar	N	TOS (mmol/g)
Kontrol	10	3.08±0.47 <sup>a,c</sup>
I/R	10	4.35±0.35 <sup>a,a1</sup>
I/R+Q	10	3.52±0.37 <sup>a1,c</sup>

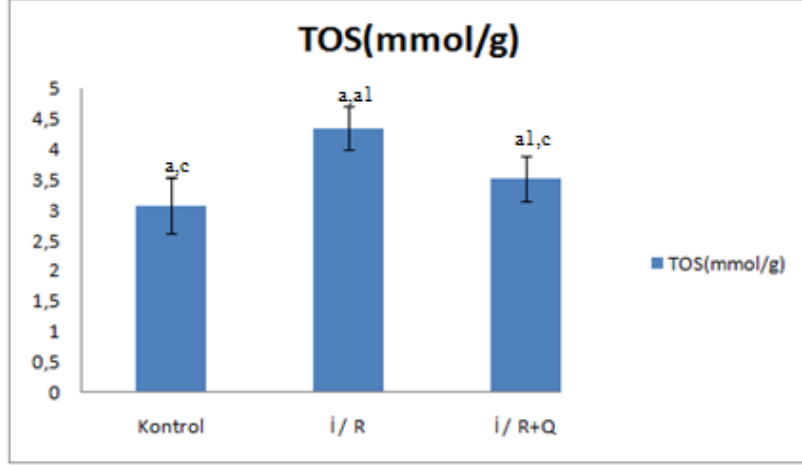
a,a1:  $p<0.001$ , c:  $p<0.05$

## Tartışma

İskemi, hücrede enerji seviyesinin azalması ve toksik metabolitlerin dokuda birikmesine sebep olarak hücre fonksiyonu bozukluğuna ve ardından hücre ölümüne neden olabilecek biyokimyasal reaksiyonu başlatır (2). İskemi oluşumu sonucunda hasar meydana gelir oksidan düzeyi yükselir ve antioksidant savunma sistemi düzeyi düşer bunun sonucu olarak oksidatif stres oluşur. TAS vücut sıvılarındaki ve plazmadaki bütün antioksidanların etkisini yansıtırken TOS bütün oksidanların toplam etkisini yansıtır (4). Yapılan bir literatür çalışmasında iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesine yönelik bazı antioksidan aktivite çalışmaları mevcuttur. Özellikle quercetin oksidatif hasara karşı koruyucu olduğu yönünde çalışmalar yapılmıştır (6). Yapılan bir çalışmada ise iyi bir antioksidan olan quercetin deneysel diabet oluşturulan sıçanlarda böbrek fonksiyon bozukluğunda iyileşmeye sebep olduğu tespit edilmiştir. (13). Yapılan bir çalışmada egzersiz sonucunda ratlarda quercetin kas dokusu üzerine etkisi incelenmiş olup MDA seviyesinin anlamlı olarak azaldığı görülmüştür (14). Benzer bir çalışmada iki hafta boyunca quercetin uygulanan sıçanlarda MDA seviyesinde anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir (15). Yapılan başka bir çalışmada ise ratların beyin hasarına karşı quercetin ile ön tedavi yapıldığında MDA seviyelerinde belirgin bir azalmanın olduğunu belirtmişlerdir (16). Keza, Yao ve ark. (17) yürüttükleri araştırmada üç hafta boyunca quercetin verilen ratlarda MDA seviyesinin düştüğünü belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise gruplara ait (TOS) değerleri gruplar arasındaki istatistiksel anlamlar değerlendirildiğinde (Şekil 1).



**Şekil 1.** TAS düzeyleri (Sonuçlar  $X \pm SD$  olarak verilmiştir.  $p<0.05$  a,a1:  $p<0.001$ , c:  $p<0.05$ )



**Şekil 2.** TOS düzeyleri (Sonuçlar  $X \pm SD$  olarak verilmiştir.  $p < 0.05$ ), a,a1:  $p < 0.001$ , c:  $p < 0.05$

I/R grubunda kontrol grubuna oranla meydana gelen artışın  $p < 0.001$  düzeyinde anlamlı, kontrol grubuna oranla I/R+Q grubundaki artışın  $p < 0.05$  düzeyinde anlamlı, yine I/R grubuna oranla, I/R+Q grubunda meydana gelen azalışın  $p < 0.001$  düzeyinde anlamlı olduğu belirlendi. Mevcut bulgularımız literatür verileri ile uyuşmaktadır. Sonuç olarak, TOS düzeyinin bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA gibi oksidatif stres markırı özelliği taşıdığı söylenebilir. Phachonpai ve ark. (18) yürüttükleri bir araştırmada sıçanlara verilen quercetin SOD, CAT, GPx gibi bazı antioksidant enzim aktivitelerinde yükselmenin olduğunu bildirmişlerdir. İskemi/reperfüzyon üzerinde yapılan bir deneysel çalışmada, reperfüzyon sonrasında antioksidan enzim aktivitesinin azaldığı tesbit edilmiş, yükselen oksidatif stres sebebiyle bazı enzimlerin kullanımının artmasına bağlanmıştır (19,20). Literatürde yapılan bir başka araştırmada, ondört gün boyunca quercetin verilen ratlarda SOD, CAT, GPx antioksidant gibi enzim aktivitelerinde önemli derecede yükseliş belirlenmiştir (21). İskemik dokuda oksidanlara bağlı olarak iskemi boyunca glutasyon düzeyinin düştüğü buna karşın, SOD, CAT ve GPx gibi antioksidant enzim aktivitelerinin arttığı ve aynı zamanda hücrelerin reperfüzyon boyunca hücrelerin, oluşan serbest radikallerinin etkisine oldukça duyarlı bir hal aldığı bildirilmiştir (22). Yapılan bir çalışmada melatoninin iskelet kası iskemi-reperfüzyon yaralanması üzerine koruyucu etkisi incelenmiş SOD, GPx ve CAT'ın melatonin sonrası antioksidant aktiviteleri I/R' ye göre düştüğü tesbit edilmiştir (23). Quercetin üzerinde yapılan bir deneysel çalışmada ise sıçanlarda SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinin yükseldiğini bildirmişlerdir (24). Sıçanlarda böbrek

iskemi/reperfüzyon hasarında nasetilsisteinin etkileri üzerinde yapılan bir çalışmada nasetilsisteinin antioksidant enzimler olan SOD, CAT, GPx ve GSH düzeylerinde anlamlı bir düşüş gözlemlenmiştir (25). Yapılan bu çalışmada ise TAS değerler arasındaki istatistiksel anlamlar değerlendirildiğinde (Şekil 2) I/R grubunda kontrol grubuna oranla meydana gelen azalışın  $p < 0.001$  düzeyinde anlamlı, kontrol grubuna oranla I/R+Q grubundaki azalışın  $p < 0.05$  düzeyinde anlamlı, yine I/R grubuna oranla, I/R+Q grubunda meydana gelen artışın  $p < 0.001$  düzeyinde anlamlı olduğu belirlendi. Yaptığımız bu çalışma literatür verileri ile paralellik göstermektedir. Quercetin üzerinde yapılan bu deneysel rat çalışmasında TAS düzeyi önemli bulunmuştur ve hastalığın patogenezinde önemli rol oynayabilir.

Bu çalışmada, sıçanlara uygulanan alt ekstremitte iskemi-reperfüzyonuna (I/R) bağımlı gelişen iskelet kası hasarı üzerine quercetin koruyucu etkisi çalışması literatürde ilk çalışmadır ve literatüre katkı yapacağı kanısındayız. Bu konu ile ilgili daha fazla çalışma yapılmalıdır.

## Kaynaklar

1. Bilal SM, Sarioğlu T. İskemik miyokard İnjurisi ve intraoperatif miyokard korunmasına genel bakış. GKD Cer Dergisi 1992; 1(2): 118-126.
2. Welbourn CR, Goldman G, Paterson IS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischaemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. Br J Surg 1991; 78(6): 651-655.
3. Koca K, Yurttaş Y, Yıldız C, Çaycı T, Uysal B, Korkmaz A. Hiperbarik oksijen ve ozon ön uygulamasının sıçan iskelet kasında turnikenin neden olduğu iskemi reperfüzyona bağlı oluşan

- oksiatif/nitrosatif stres üzerine etkisi. *Acta Orthopaedica Traumatologica Turcica* 2010; 44(6): 476-483.
4. Aslan R, Kutlu R, Civi S, Tasyürek E. The correlation of the total antioxidant status (TAS) total oksidan status (TOS) and paraoxonase activity with smoking. *Clinical Biochemistry* 2014; 47(6): 393-397.
  5. Tekeli A, Akgün S, Civelek A, İşbir S, Ak K, Demirtaş G, ve ark. Alt ekstremitte İskemi reperfüzyonu sonucunda gelişen akciğer hasarının önlenmesinde farklı bir ajan FK 506. *Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 9(4): 242-246.
  6. Chow J, Shen S, Huan SK, Lin H, Chen Y. Quercetin, but not rutin and quercetrin, prevention of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – induced apoptosis via antioksidant activity and heme oxygenase 1 gene expression in macrophages. *Biochemical Pharmacology* 2005; 69(12): 1839-1851.
  7. Ramyaa P, Krishnaswamy R, Padma V. Quercetin modulates OTA-induced oxidative stres and redox signalling in HepG2 cells-up regulation of Nrf2 expression and down regulation of NF-KB and COX-2. *Biochimica et Biophysica Acta* 2014; 1840(1): 681-692.
  8. Mahmoud MF, Hassan NA, Bassory HM, Fahmy A. Quercetin Protects aganist Diabets- Induced Exaggerated Vasoconstriction in Rats: Effect on Low Grade Inflammation. *Journal prone* 2013; 8(5): 1-11.
  9. İnal M, Altın M, Bilgin MD. The effect of quercetin on renal ischemia and reperfusion injury in the rat. *Cell Biochem Funct* 2002; 20(4): 291-296.
  10. Gürsul C. Sıçanlarda deneysel oluşturulan iskemi /reperfüzyon hasarında leflumanidinin koruyucu etkinliği. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi 2012.
  11. Xia E, Rao G, Remmen HV, Heydari A, Richardson A. Activites of Antioxidant Enzymes in various Tissues of Male Fischer 344 Rats are altered by food restriction. *Biochemical and Molecular Roles of Nutrients* 1994; 125: 195-201.
  12. Aslan R, Kutlu R, Civi S, Tasyurek E. The correlation of the total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and paraoxonase activity (PON1) with smoking. *Clin Biochem* 2014; 47(6): 393-397.
  13. Edremitlioğlu M, Andiç MF, Sayın DB, Korkut O, Kısa Ü. Güçlü bir antioksidan bio flavonoid olan quercetin uzun süreli deneysel diabetes mellitustaki böbrek fonksiyon bozukluğunu azaltır. *Marmara Medical Journal* 2011; 24(2): 88-99.
  14. Gai-ning D. Effect of quercetin on Free radical Metabolism in Muscle and Exercise Performance of Trained Rat. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research* 2006; 23(2): R24-33.
  15. Zhao L, Wu J, Yang J, Wei J, Gao W, Guo C. Dietary quercetin supplementation increases serum antioxidant capacity and alters hepatic gene expression profile in rats. *Exp Biol Med (Maywood)* 2011; 236(6): 701-706.
  16. Pandey AK, Hazari PP, Patnaik R, Mishra AK. The role of ASIC1a in neuroprotection elicited by quercetin in focal cerebral ischemia. *Brain Res* 2011; 1383:289-299.
  17. Yao F, Zhang R, Fu R, He W. Preventive and therapeutic effects of quercetin on hyperuricemia and renal injury in rats. *Wei Sheng Yan Jiu* 2011; 40(2): 175-177.
  18. Phachonpai W, Wattanathorn J, Muchimapura S, Tong-Un T, Preechagoon D. Neuroprotective effect of quercetin encapsulated liposomes: a novel therapeutic strategy against Alzheimer's disease. *American Journal of Applied Sciences* 2010; 7(4): 480-485.
  19. Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ, Enzan H, Miyahara Y. Protective effect of melatonin against mitochondrial injury induced by ischemia and reperfusion of rat liver. *Eur J Pharmacol* 2003; 469(1-3): 145-152.
  20. Sener G, Sehirli AO, Keyer-Uysal M, Arbak S, Ersoy Y, Yeğen BC. The protective effect of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *J Pineal Res* 2002; 32(2): 120-126.
  21. Sriraksa N, Wattanathorn J, Muchimapura S, Tiamkao S, Brown K, Chaisiwamongkol K. Cognitive-enhancing effect of quercetin in a rat model of Parkinson's disease induced by 6hydroxydopamine. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012: 1-10.
  22. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109(8): 655-678.
  23. Erdem M, Bostan B, Güneş T, Özkan F, Şen C, Özyurt H, ve ark. Melatoninin iskelet kası iskemi-reperfüzyon yaralanması üzerine koruyucu etkisi. *Eklemler Hastalık Cerrahisi* 2010; 21(3): 166-171.
  24. Coşkun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res* 2005; 51(2): 117-123.
  25. Aydoğdu N, Kaymak K, Yalçın Ö. Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında NAsetilisteinin Etkileri, *Fırat Tıp Dergisi* 2005; 10(4): 151-155.