

Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel İntestinal İskemi Reperfüzyon Modelinde Quercitrinin Etkileri

The Effects Of Quercitrin In Experimental Rat Model Of Intestinal Ischemia-Reperfusion

Filiz YILDIZ ¹, Yunus DÖNDER ², Türkmen B. ARIKAN³

ÖZET

Amaç: Antioksidan özelliği bilinen quercitrinin deneysel intestinal iskemi reperfüzyon (İ-R) modelinde reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştırmak.

Araçlar ve Yöntem : Çalışmada 30 adet Wistar–Albino sıçan kullanıldı. Sham grubu (n=10), İ-R (kontrol) grubu (n=10) ve quercitrin+iskemi-reperfüzyon (Q+İ-R) grubu (n=10) olmak üzere 3 grup oluşturuldu. Sham grubundaki sıçanlar laparotomiye takiben 3 saat gözlem sonrası sakrifiye edildi. İ-R grubuna 1 saat iskemi ve takiben 2 saat reperfüzyon uygulandı. Q+İ-R grubuna 24 saat önce gastrik gavaj ile 5 mg/kg dozunda quercitrin verildi. Histopatolojik inceleme ve doku malondialdehit (MDA), süperoksiddismutaz (SOD), glutatyonperoksidaz (GSH-Px), nitrik oksit (NO) ve 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OHdG) aktivitesi ölçümü için ileum rezeksiyonu yapıldıktan sonra sıçanlar sakrifiye edildi.

Bulgular: Histopatolojik olarak Q+İ-R ve İ-R grupları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$). Q+İ-R grubunda MDA, NO ve 8-OHdG aktivitesinde azalış istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.001$). GSH-Px ve SOD aktivitesinde İ-R göre daha fazla azalmakta idi ve sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı. ($p<0.001$).

Sonuç: Quercitrinin İ-R ile oluşan oksidatif stresi önlemiş ancak vücudun doğal oksidatif stres koruyucuları üzerinde etki yapmamıştır.

Anahtar Kelimeler: İskemi, reperfüzyon, quercitrin, ince barsak

ABSTRACT

Purpose: To investigate effects of quercitrin known for its antioxidant features on experimental model of intestinal ischemia-reperfusion (I-R).

Material and Method: Thirty Wistar-Albino rats were used in the study. Rats were assigned into 3 groups including sham group (n=30), I-R group (n=30) and quercitrin plus I-R group (n=10). In the sham group, rats were sacrificed after 3-hours after laparotomy. In I-R groups, rats underwent one hour of ischemia followed by 2 hours of reperfusion. In quercitrin plus reperfusion group, 5 mg/kg quercitrin was given to rats 24 hours before laparotomy by gastric lavage. Rats were sacrificed after resection of ileum for histopathological examination and measurements of tissue malonyldialdehyde (MDA), super oxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), nitric oxide (NO) and 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) activities.

Results: Significant differences were detected in histopathological examination between quercitrin plus I-R and I-R groups ($p<0.001$). MDA, NO and 8-OHdG activities were significantly decreased in quercitrin plus I-R group ($p<0.001$). The extent of decrease in GSH-Px and SOD activities was greater when compared to I-R group while it was significantly greater when compared to sham group ($p<0.001$).

Conclusion: Quercitrin prevented oxidative stress induced by I-R but had no effect on native defenders against oxidative stress.

Keywords: Ischemia, reperfusion, quercitrin, small intestine

Gönderilme tarihi: 5.10.2017; Kabul edilme tarihi:9.11.2017

¹ Ağrı Devlet Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, Ağrı

² Kilis Devlet Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, Kilis

³ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Kliniği, Kayseri

Sorumlu Yazar : Op.Dr. Yunus DÖNDER, Kilis Devlet Hastanesi Genel Cerrahi Kliniği, Kilis
E-posta : ydonder@hotmail.com

GİRİŞ

İskemi, arteriyel veya venöz kan akımı azalmasından kaynaklı doku ve organların yetersiz perfüzyonu neticesinde doku veya organların oksijenden mahrum kalması olarak tanımlanır. İskemi sonucu hücrenin enerji depoları boşalır ve toksik atıkların birikmesi sonucunda hücre ölümü olmaktadır. İskemik alana hem hücrenin yenilenmesi, hem de toksik atıkları uzaklaştırmak için yeniden kan akımına ihtiyaç vardır.

Fakat, iskemik alanın yeniden kanlanması o alanda paradoksal bir şekilde çok daha önemli bir yıkıma neden olur.¹ Reperfüzyona sekonder oluşan doku hasarında, hücrenin içine oksijen girmesiyle hemen meydana gelen serbest oksijen radikal (SOR) türevleriyle birlikte pekçok mekanizma rol oynamaktadır. Reperfüzyon etkisine en çok hassas olan hücresel yapılar, membrada bulunan lipitler ve protein, nükleik asit ve deoksiribonükleik asit gibi moleküllerdir.²

İskemi-reperfüzyonun etkisiyle oluşan hücresel yıkımın mekanizması tam olarak aydınlatılamamakla birlikte birçok etiyolojik etken suçlanmaktadır. Genel olarak bunlar; proteaz ve fosfolipaz aktivasyonu, kalsiyum konsantrasyonundaki değişiklikler, ATP tüketimi, serbest radikaller tarafından oluşturulan hücre hasarı, nitrik oksit sentezinin inhibisyonu, sitokinler ve bunlara ek olarak hücrenin immün sisteminde aktif rolü olan nötrofillerdir.³

Vücutta oksidan ve antioksidan savunma sistemleri bir denge halindedir. Bu dengenin oksidasyon lehine dönmesi ile oksidatif hasar oluşabilir. Serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırmak için organizmada bulunan sistemler antioksidan sistemler olarak adlandırılır. Antioksidan enzimler, serbest oksijen radikallerini, dokulara hasar vermeden önce daha zararsız moleküllere dönüştürürler ayrıca başka moleküllerden radikal yapımını önleyerek etkilerini gösterirler.^{4,5}

Quercitrin, doğada yaygın bulunan bir flavonoid türevidir. Yapılan çalışmalarda çok kuvvetli bir süperoksit radikali tutucusu olan quercitrin in vitro ortamda lipid peroksidasyonunu engellediği ve antikarsinojenik olduğu ortaya konmuştur.⁶ Diyetimizin bir parçası olan flavonoidlerin çok çeşitli biyolojik (Antitümör, antiviral, antirombotik, antiinflamatuvar, antialerjik) aktiviteleri vardır. Bunlar içinde en iyi tanımlanmış olanı antioksidan aktiviteleridir.⁷ Biz de çalışmamızda quercitrinin deneysel intestinal iskemide reperfüzyon modelinde reperfüzyon hasarı üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

ARAÇLAR ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) Aralık 2013'te Etik Kurul onayı ile yapıldı (Etik Kurul Karar Tarihi: 11.12.2013, Karar No: 13/138). Çalışmada ağırlıkları 225–290 gram arasında değişen 30 adet erkek Wistar–Albino tipi sıçan kullanıldı. Gruplar randomize olarak her biri 10'ar sıçandan oluşan 3 gruba ayrıldı. Tüm sıçanlar deney gününe kadar standart laboratuvar yemi ile beslendiler. Sıçanlar randomize olarak sham, İ-R(kontrol) ve Q+İ-R(çalışma) gruplarına ayrıldı. Q+İ-R grubuna deneyden 24 saat önce gastrik gavaj yöntemi kullanılarak 5 mg/kg/gün dozunda quercitrin verildi.⁸

Çalışma öncesinde su içmelerine izin verilmek koşulu ile 12 saat aç bırakıldı. Sıçanların tümünde cerrahi girişim, intraperitoneal 50mg/kg ketamin (Ketalar®, Pfizer-İstanbul) ve 10mg/kg xylazin(Rompun®, Bayer-İstanbul) anestezisi altında yapıldı. Deney süresince sıçanlar spontan solunuma bırakıldı.

Sıçanların cildi traş edildikten sonra povidon iyot ile temizlendi. Ksifoidden başlayan vertikal insizyon ile laparotomi yapıldı. İ-R ve Q+İ-R gruplarında, intestinal yapılar retrakte edildikten sonra SMA aortadan çıktığı yerden bulundu ve bulldog klemp ile klemp edildi. Bir saat iskemide sonrası klemp açılarak 2 saat reperfüzyon sağlandı.

Grup I. Sham grubu (n=10): Bu gruptaki deneklere yukarıda tariflendiği şekilde laparotomi yapıldıktan sonra SMA izolasyonu yapılarak 3 saat gözlem yapıldı.

Grup II. İ-R(kontrol) grubu (n=10): Bu gruptaki deneklere ise laparotomi sonrası SMA'nın klemplenmesiyle 1 saat iskemide ve klempin açılmasıyla birlikte 2 saat reperfüzyon yapılarak İ-R hasarı oluşturuldu.⁹

Grup III. Q+İ-R(çalışma) grubu (n=10):Deneklere 24 saat öncesinde gastrik gavaj yöntemi kullanılarak 5 mg/kg/gün dozunda quercitrin verildi. 24 saati dolduran deneklere laparotomi yapıldıktan sonra SMA izolasyonu yapıp 1 saat iskemide sonrasında 2 saat reperfüzyon sağlandı.⁹

Doku örnekleme için ileoçekal valvin 10 cm proksimalindeki yaklaşık 3 cm'lik ileum segmenti rezeke edildi. Dokuda SOD, GSH-Px, NO, 8-OHdG ve MDA düzeyleri çalışıldı.

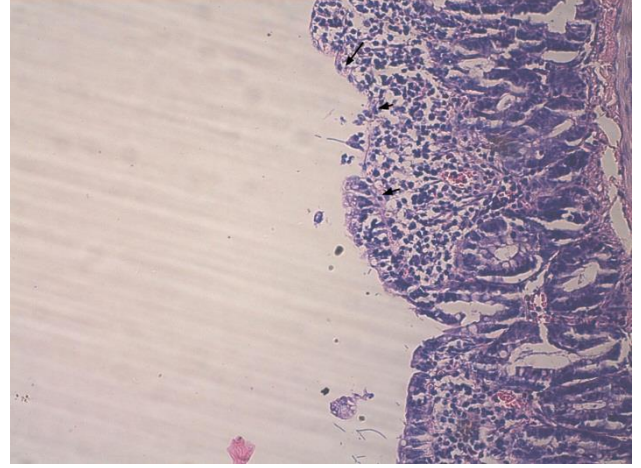
Histopatolojik değerlendirme için jejunum örnekleri Hematoksilen&Eozin (H&E) boyası ile boyandı. Boyanan preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirildi. Tüm histopatolojik değerlendirmelerde bakılan preparatın hangi gruba ait olduğu

patolog tarafından bilinmemekteydi. İskemi-reperfüzyon hasarına bağlı ileumda oluşan histopatolojik değişiklikler Chiu ve arkadaşlarının değerlendirmesine göre yapıldı (Tablo-1).¹⁰

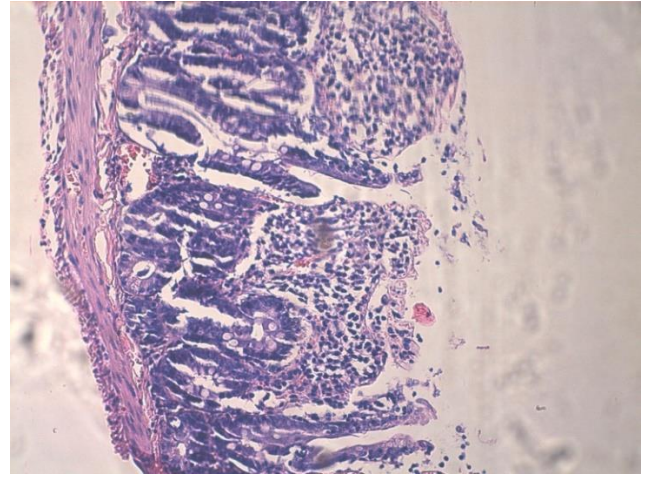
Veriler IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0 (Armonk, New York, ABD: IBM Corp.) istatistik paket programında değerlendirildi. Özet istatistik olarak birim sayısı (n), medyan, birinci ve üçüncü çeyreklik [Medyan(Q1-Q3)] değerleri verildi. Sayısal değişkenlerin normal dağılımı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Student-Newman-Keuls testi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

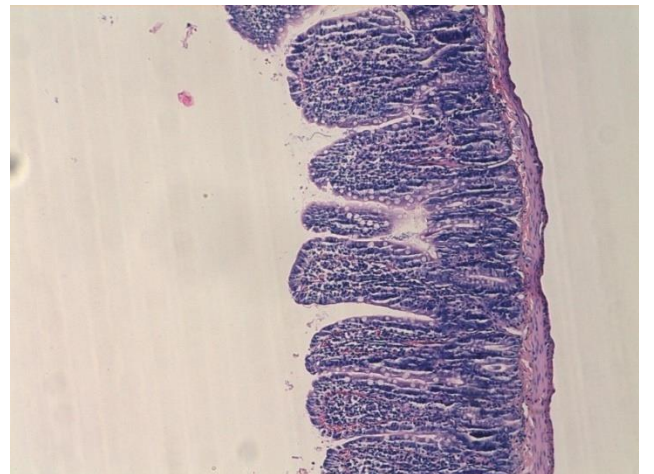
Sıçanlardan elde edilen ince bağırsak dokuları histopatolojik olarak Chiu skorlamasına göre skorlandı. Mikroskopik görüntülerde evre-1 de kapiller konjesyonun geliştiği bununla birlikte villus apeksinde boşlukların oluştuğu Resim 1’de gösterilmiştir. Evre-2’de subepitelyal alan genişlemiş ve epitelyum dokusunun lamina propriadan hafif derecede ayrıldığı resim-2 de gösterilmiştir. Evre-3’te ise epitelin ileri derecede ayrıldığı, villus uç kesimlerde konjesyon olduğu yer yer ülserasyonlar olduğu görülmüştür (resim-3). Sonuçları ise tablo-2’de belirtilmektedir. Çoklu karşılaştırma testine göre sham grubu ile Q+İ-R ve İ-R grupları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p < 0.001$).



Resim-1. Chiu histopatolojik hasar skorlaması evre - 1



Resim -2. Chiu histopatolojik hasar skorlaması evre 2



Resim -3. Chiu histopatolojik hasar skorlaması evre 3

Evre 0	Normal mukoza
Evre 1	Genellikle kapiller konjesyonla birlikte ve vilusların apeksinde subepitelyal Guenhagen boşluklarının oluşturulması
Evre 2	Subepitelyal alanın genişlemesi ve epitelin Lamina Propria’dan hafif derece ayrılması
Evre 3	Villusların üst kısımlarında yaygın epitelyal ayrılma
Evre 4	Lamina Propria ve villuslarda dökülme, kapiller dilatasyon, Lamina Propria’da artmış selülarite
Evre 5	Lamina Propria’da sindirilme ve bütünlüğünde bozulma, kanama ve ülserasyon

Tablo 1 : Chiu skorlama sistemi ²⁵.

	Sham Median (min-max)	İ-R(kontrol) Median (min-max)	Quercitrin+İ-R (çalışma) Median (min-max)
Chiu skoru	0,00 (0,00-0,00)	3,5(3,00-4,00)	3 (3,00-4,00)

Tablo 2 : Grupların Chiu skoru sonuçları.

GSH-Px değerleri ng/mg olarak çalışıldı ve Sham Medyan, İ-R(kontrol) Medyan ve Q+İ-R(çalışma) Medyan değerleri sırasıyla 7,149(5,016-10,344), 3,793(3,251-5,034) ve 1,862(1,595-2,735) olarak bulundu. Değerler kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,001$).

SOD değerleri ng/mg cinsinden çalışıldı. Sham Medyan, İ-R Medyan ve Q+İ-R Medyan sonuçları sırasıyla 0,135 (0,0956-0,167), 0,0704 (0,05890,0861), ve 0,0418 (0,0369-0,0519) olarak bulundu. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,001$).

MDA değerleri nmol/mg protein olarak çalışıldı ve sonuçları Sham Medyan 0,344 (0,245-0,381) İ-R Medyan 0,208 (0,176-0,233) ve Q+İ-R Medyan 0,175 (0,132-0,194) olarak bulundu. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,001$).

NO değerleri $\mu\text{mol/mg}$ olarak çalışıldı ve sonuçları Sham Medyan 4,315(3,663-5,459), İ-R Medyan 2,342(2,138-2,852) ve Q+İ-R Medyan 1,405(1,112-1,806) olarak bulundu. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

8-OHdG değerleri ng/mg olarak çalışıldı sonuçları Sham Medyan 0,985(0,884-1,340), İ-R Medyan 0,505(0,375-0,665) ve Q+İ-R Medyan 0,280(0,200-0,295) olarak bulundu. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında sonuçlar anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

TARTIŞMA

İntestinal iskemide oksijen ve doku kanlanması azalır ve doku hasarı oluşur. İntestinal reperfüzyon ile doku hasarı daha da şiddetlenir.^{11,12}

Quercetin güçlü bir antioksidandır ayrıca Fe ve Cu gibi geçiş metalleri şelatlayarak bu iyonların fenton reaksiyonu yolu ile H₂O₂'den OH• radikali oluşumunu engelleyerek lipid peroksidasyonunu önlemektedir.^{13,14}

Camuesco ve ark. kolit modelinde quercitrinin anti-inflamatuar etkinliğini iNOS'üninhibe ederek gösterdiği ortaya konulmuştur.

Ayrıca bu çalışmada immüno-histokimyasal olarak makrofajların ve granülositlerin infiltrasyonunun azaldığı gösterilmiştir.¹⁵ Sánchez de Medina ve ark.'nın yaptığı bir diğer çalışma ise quercitrinin trinitrobenzenülfonik asit ile oluşturulan deneysel kolit modelinde quercitrinin antiinflamatuar özelliği gösterilmiştir. Bu çalışmada 1 ve 5 mg/kg/gün dozlarında quercitrinin kolitinin erken safhalarındaki (24 saat) etkisi araştırılmıştır. Flavonoidle tedavi kolonik malonaldehit artışını engellemiş nitrikoksitsentaz ve ALP aktivitesini inhibe etmiştir ancak görünürdeki hasara etkisi olmamıştır. Nötrofil infiltrasyonuna etkisi (myeloperoksidaz) gösterilememiştir. Quercitrinin trinitrobenzenülfonik asit kronik kolitindeki yararlı etkilerinin hidroelektrik transporttaki bozukluklarda düzelme ve buna bağlı olarak inflamatuvar kaskadın erken dönemde bloke edilmesine bağlı olduğu düşünülmüştür.⁸

Biyolojik moleküllerin hepsi serbest radikaller biyolojik moleküllerin tamamını etkilemekle birlikte lipit yapıda biyomoleküller en çok etkilenirler. Çoklu doymamış yağ asitlerine kolesterolün oksidatif hasara uğraması lipit peroksidasyonu olarak tanımlanmaktadır. Hücre membranındaki yağ asitleri ve kolesterol, serbest radikaller ile reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri meydana getirirler. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran yıkımı geri dönüşümsüzdür. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünü olduğundan lipid peroksidasyonunu ve serbest oksijen radikal oluşumunu MDA'yı ölçerek izlemek mümkündür.¹⁶

Flavonoidlerin lipidperoksidasyonu üzerindeki etkileri birçok araştırmacı tarafından çalışılmış ve MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdükleri gösterilmiştir.^{13,17-20}

Çalışmamızda MDA düzeyinin quercitrin verilen grupta azaldığı görülmüş olup istatistiksel açıdan baktığımızda anlamlı düşüş olduğu görülmüştür ($p < 0,001$). Quercitrin verilen grupta MDA düzeyinin İ-R grubuna göre düşmüş olması daha önceki çalışmalarla uyum göstermektedir. Bu MDA değerlerinin düşmesi quercitrinin antioksidan özelliğini göstermektedir.

SOD süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. SOD un görevi, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikallerinin olumsuz etkilerine karşı korumaktır. Bu sayede lipit peroksidasyonunu önler.^{21,22} Reperfüzyon öncesi uygulanan SOD bağırsak lümenine olan net sıvı kaybını önler ve mukozal lezyonların ilerlemesini engeller.²³

GSH-Pxfagositik hücrelerde de hayati görevleri bulunmaktadır. Öteki antioksidanlarla beraber GSH-Px oluşum patlaması esnasında

serbest radikal etkisiyle fagositik hücrelerin hasar görmesini engeller. Eritrositlerde oluşan oksidatif strese karşı en etkili antioksidan GSH-Px'dir.²⁴

Serbest radikallerin oluşumu ister kazara ister kasıtlı olsun çok sayıda hastalıkta önemli yer tutmaktadır ve serbest radikalleri süpürücü etkisi olduğu gösterilmiş olan quercitrinin bu tür hastalıklarda ve iskemi-reperfüzyona bağlı doku hasarında koruyucu bir etkisi olduğu gösterilmiştir.²²

Hipoksi, elektriksel uyarı, kan akımındaki artış, süperoksitdismutaz (SOD) enzimi, sitokrom-C ve L-arginin'in fazlalığı NO'nin etkinliğini artırır.²⁵ Quercetin, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) aktivitesini etkileyerek iskemi-reperfüzyon hasarının azalmasına neden olmaktadır. Nitrik oksit, endotelial hücreler ve makrofajları da içeren birçok hücre tarafından üretilmektedir.

Nitrik oksitin erken yapısal NOS tarafından salınması kan damarlarının dilatasyonunun sağlanmasında önemli olmakla birlikte, iNOS tarafından makrofajlardan salınmasına neden olan nitrik oksidin yüksek konsantrasyonlarda bulunması oksidatif hasara yol açabilir. Bu durumda aktive olan makrofajlar nitrik oksitle birlikte süperoksit anyonu üretme kapasitelerini de büyük ölçüde artırır. Nitrik oksit de serbest radikallere reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturur. Oldukça toksik olan peroksinitrit ise doğrudan LDL oksidasyonuna neden olarak hücre membranında geri dönüşü olmayan hasara yol açar. Quercetin ise bu serbest radikalleri ortamdaki süpürdüğü için nitrik oksitle reaksiyona giremezler ve daha az hasar oluşturur.^{26,27}

Çalışmamızda NO düzeyinin quercitrin verilen grupta azaldığı görülmüş olup istatistiksel açıdan baktığımızda anlamlı düşüş olduğu görülmüştür ($p < 0.001$).

NO değerlerinin düşmesi quercitrinin iskemi-reperfüzyon hasarının azalmasında etkili olduğunu göstermektedir.

8-OHDG DNA, protein ve lipid peroksidasyonları ile ilişkili araştırmalarda oksidatif stres belirteci olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. DNA oksidasyonunun en fazla ürünü olup aynı zamanda mutajenik potansiyeline bağlı olarak en fazla çalışılan oksidasyon lezyonudur.²⁸ Bizim çalışmamızda 8-OHDG'in quercitrin verilen grupta diğerlerine göre azaldığı görülmüş olup istatistiksel açıdan baktığımızda anlamlı düşüş olduğu görülmüştür ($p < 0.001$). Bu durum quercitrinin bunu serbest radikalleri süpürücü etkisine bağlı olabilir.

İntestinal İ-R hasarının histopatolojik değerlendirilmesinde birçok skorlama sistemi geliştirilmiştir. Chiu ve ark. tarafından tanımlanan histopatolojik sınıflama intestinal İ-R hasarı ve buna karşı kullanılan antioksidan ajanların etkisinin histopatolojik olarak değerlendirilebildiği sık kullanılan, basit ve sade bir morfolojik skorlama sistemidir.²⁸

Histopatolojik hasar yönünden gruplar değerlendirildiğinde en fazla hasarın İ-R grubunda olduğu görüldü. Sham grubu ile Q+İ-R ve İ-R grupları arasındaki fark anlamlı bulundu. Quercitrin grubunda histolojik hasar diğer İ-R grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Biyokimyasal olarak oksidatif stresi önleyen quercitrinin bu etkisi histopatolojik olarak da gösterilmiştir.

Sonuç olarak histolojik olarak quercitrinin iskemi sonrası reperfüzyona bağlı intestinal mukoza hasarını azaltıcı etkisi mevcuttur. Bu çalışmada MDA, NO ve 8-OHDG aktivitelerinde ki azalmanın quercitrinin oksidatif stres üzerinde önleyici etkisini göstermektedir. Quercitrinin SOD ve GSH-Px gibi vücudun doğal antioksidanların üzerinde bir etkiye sahip değildir. Sepsis döneminde vücudun doğal dengesinin bozulduğu durumlarda morbidite ve mortaliteyi önlemek üzerine hastaya destek olarak quercitrin kullanılabilirliği için daha fazla çalışmaya gerek duyulmaktadır.

Teşekkür:

Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezine ve istatistik konusunda yardımlarından dolayı Doç.Dr. Ferhan Elmalı'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Zimmerman BJ and Granger DN. Reperfusion Injury. Surg Clin North Am, 1992; 72(1):65-83.
2. Wilhelm J. Metabolica Aspects of Membrane Lipid Peroxidation. Acta Univ Carol Med Monogr. 1990; 137:1-53.
3. Bilbao G, Contreras JL, Eckhoff DE et al. Reduction of Ischemia-reperfusion Injury of the Liver by in vivo Adenovirus-mediated gene transfer of the antiapoptotic Bcl-2 gene. Ann Surg, 1999; 230(2):185-93.
4. Girotti AW. Lipid Hydroperoxide Generation, Turnover, and Effect or Action in Biological Systems. J Lipid Res, 2000. 39: p. 1529-1542.
5. Ertan T, Soran A, Kılıç M ve ark. Kan Malondialdehid ve Total Antioksidan Seviyesinin Önemi. Cerrahi Tıp Bülteni, 2001; 2:154-167.
6. Nackz M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006; 21:1523-42.
7. Stavric B, Role of chemopreventers in human diet. Clin Biochem, 1994; 27:319-332.
8. Medina F, Vera B, Gálvez J et al. Effect of quercitrin on the early stages of haptan induced colonic inflammation in therat. Life Sci, 2002; 70:3098-108.

9. Zhao HD, Zhang F, Shen G, et al. Sulforaphane protect sliver injury induced by intestinal ischemia reperfusion through Nrf2-ARE pathway. *World J Gastroenterol*, 2010; 28:3002-10.
10. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, et al., Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *ArchSurg*, 1970; 101(4):478-83.
11. Walter JB. Ischaemia and infarction. *Walter&Israel General Pathology Seventh Edition*, 1996. 709-722.
12. Kazez A, Demirbağ M, Ustündağ B ve ark. the role of melatonin in prevention of intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of Pediatric Surgery*, 2000;35: 1444-1448.
13. Kahraman A, Erkasap N, Serteser M, et al. Protective effect of quercetin on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *J Nephrol*, 2003. 16: 219-24.
14. Schroeter H, Spencer JPE, Rice-Evans C, Current status of the potential role of flavonoids in neuro protection. *Critical reviews of oxidative stress and aging : advances in basic science, diagnostics and intervention*. World Scientific Publishing, 2003; 1:137.
15. Camuesco D, Comalada M, Rodríguez-Cabezas ME, et al. The intestinal anti-inflammatory effect of quercitrin is associated with an inhibition in iNOS expression. *Br J Pharmacol*, 2004. 143: p. 908-18.
16. Bird RP, Draper HH, Comparative studies on different methods of malonaldehyde determination. *Methods Enzymol*, 1984; 105:299-305.
17. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hooft DE. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. *Clin. Nutr*, 2001; 74:418-425.
18. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 2000; 52: 673-751.
19. Devi PS, Shyamala DC. Protective effect of quercetin in cisplatin induced cell injury in the rat kidney. *Indian J. Pharmacol*, 1999; 31:422-426.
20. Nakagawa K, Kawagoe M, Yoshimura M, et al. Differential effects of flavonoid quercetin on oxidative damages induced by hydrophilic and lipophilic radical generator in hepatic lysosomal fractions of mice. *J. Health Science*, 2000; 46:509-512.
21. Haga S, Remington SJ, Morita N, et al., Hepatic ischemia induced immediate oxidative stress after reperfusion and determined the severity of the reperfusion-induced damage. *AntioxidRedoxSignal*, 2009; 11(10): 2563-72.
22. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, 1994;344(8924): p. 721-4.
23. Schoenberg MH, Beger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *CritCareMed*. 1993; 21:1376-1386.
24. Masella R, DiBenedetto R, Vari R et al. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J NutrBiochem*, 2005; 16(10):577-86.
25. Chiu, C.J., et al., Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg*, 1970. 101(4): p. 478-83.
26. Shoskes DA. Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. *Transplantation*, 1998; 66:147-52.
27. Huk I, Brovkovich V, Nanobashvili J, et al. Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia-reperfusion injury: an experimental study. *Br J Surg*, 1998; 85:1080-5.
28. Harri M, Kasai H, Mori T. Analysis of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in urine using high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007; 853(1-2):242-6.