

Myokardiyal iskemi reperfüzyon sonrası böbrek hasarında nitrik oksit'in rolü ve caffeic acid phenethyl ester (cape)'in etkisi

Mehmet Kaya Özer*, Ekrem Çiçek*, Osman Gökalp*, Ahmet Koyu**,
Hakan Parlakpınar***, Ahmet Acet***

* Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, Isparta

** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, Isparta

*** İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, Malatya

Özet

Myokardiyal iskemi-reperfüzyon (MI/R) sırasında perifere giden kan akımında bir değişiklik olduğu bilinmektedir. Bu durum fazla kanlanan organlardan biri olan böbreklerde hasara neden olmakta ve oluşan bu hasar myokardiyal revaskularizasyon ve benzeri kalp cerrahisinin yararlarını azaltmaktadır. Söz konusu olan bu böbrek hasarının nedenleri çok çeşitli olmakla birlikte, revaskularizasyon sırasında hipoperfüzyon, pulsatil perfüzyonun kaybolması, hemoliz ve sistemik inflamatuvar yanıt gibi faktörlerin etkili olduğu belirtilmiştir. Buna ek olarak, direkt yapılan böbrek iskemi reperfüzyonunda meydana gelen nitrik oksid (NO)'in süperoksit (O₂⁻) radikali ile birleşerek meydana getirdiği peroksinitrit (ONOO⁻) bu hasarın meydana gelmesinde önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada MI/R ile oluşan böbrek perfüzyon değişikliklerinde, hasarla ilişkili olduğu sanılan NO düzeyi üzerine antioksidan Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)'in etkisi araştırıldı. Yirmi bir yetişkin erkek Wistar sıçan kullanıldı. Hayvanlar; kontrol, MI/R ve CAPE+MI/R olmak üzere üç gruba ayrıldı. MI/R ve CAPE+MI/R grubundaki sıçanların sol koroner arteri 30 dakika süreyle kapatıldı (iskemi) ve 120 dakika süreyle de tekrar açıldı (reperfüzyon). CAPE+MI/R grubunda bulunan sıçanlara iskemiden on dakika önce başlanılarak reperfüzyon başlangıcına kadar CAPE (50 $\mu\text{mol kg}^{-1}$), perfüzyon pompasıyla uygulandı. Reperfüzyon sonrası böbrekler alınarak NO düzeyleri ve histolojik değişiklikler araştırıldı. MI/R grubu sıçanların böbreklerinde kontrol grubuna göre NO düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($p < 0.05$). CAPE MI/R'in neden olduğu böbrek NO düzeyindeki artışı önledi. Histopatolojik sonuçların da bu durumu desteklediği görüldü. Sonuç olarak, MI/R'in periferdeki kan perfüzyonunu değiştirerek böbreklerde NO düzeyini artırdığı, kalp cerrahisinde meydana gelen böbrek bozukluklarında muhtemelen NO düzeyindeki aşırı artışın da rol oynadığını ve bu zararlı etkinlerin CAPE ile önlenebileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Myokardiyal iskemi reperfüzyon, böbrek, nitrik oksit, Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)

Abstract

Role of nitric oxide in the renal damage after myocardial ischemia reperfusion and effect of caffeic acid phenethyl ester (cape)

It is known that there is a change peripheral blood flow during myocardial ischemia-reperfusion (MI/R). This situation causes damage in the kidneys which are one of the much perfusing organs. The above mentioned damage occurring in the kidneys reduces use of myocardial revascularization and such like heart surgery. However, even though the reasons of this kidney damage are various, it has been informed that it depends on factors such as hypoperfusion, disappearing of pulsatile perfusion, hemolysis and systemic inflammatory reply during revascularization. In addition, it has been informed that it is effective in the damage that nitric oxide (NO) combines with superoxid radical (O₂⁻) and forms peroxinitrit (ONOO⁻) in the kidney with ischemia reperfusion done directly. In the our study, we studied the effect of antioxidant Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on NO level which is thought to be related with the damage occurring kidney perfusion changes due to myocardial ischemia reperfusion (MI/R). Twenty one adult male Wistar rats were divided into tree groups as control, MI/R and CAPE+MI/R. The left coroner artery was occluded for 30 min and then reperused for 120 min more before the experiment was terminated in the MI/R and CAPE+MI/R groups, and CAPE (50 $\mu\text{mol kg}^{-1}$) was administered 10 min prior to ischemia and during

Yazışma Adresi: Yrd. Doç. Dr. Mehmet Kaya Özer
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi Farmakoloji AD 32260/Isparta
Tel: 0 246 211 36 22 Faks: 0 246 237 11 65
E-mail: mkozer@med.sdu.edu.tr

occlusion by infusion in the CAPE group. At the end of the reperfusion period, rats were sacrificed, and the kidneys were quickly removed for NO determination and histopathological analysis. Compared with control, MI/R was accompanied by a significant increase in NO production in the rat kidney. Administration of CAPE reduced NO production in the kidney. These beneficial changes in these biochemical parameters were also associated with parallel changes in histopathological appearance. Consequently, MI/R changes peripheral blood perfusion and increases NO level in the kidneys and thus, the excessive increase in NO level probably also plays a role in renal disorders during heart surgery. We can say that these harmful effects can be prevented by means of CAPE.

Key words: Myocardial ischemia reperfusion, kidney, nitric oxide, Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)

Giriş

Hipoksi ve iskemi böbreklerde önemli hasarlara neden olmaktadır. Hipoksi ve iskemi sırasında oluşan böbrek hasarının etiyopatogenezine ve önlenmesine yönelik çalışmalar günümüzde devam etmektedir. Hipoksiye bağlı böbrek hasarlarının patogenezinde serbest radikal ve antioksidan enzimlerin rolünün belirlenmesi, antioksidan tedavi denemelerini gündeme getirmiştir (1,2).

Propiller, güçlü antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antioksidan ve antineoplastik aktiviteleri olan ve bal arıları tarafından toplanan ürünlerdir. Propillerin aktif bir komponenti olan Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) bu biyolojik aktivitelerin tümünden sorumlu tutulmakta ve kullanıldığında insan nötrofillerinde reaktif oksijen radikallerini bloke ettiği gösterilmiştir (3). Yine son yıllarda yapılmış olan bir çok çalışmada antioksidan özelliğe sahip olan CAPE'nin iskemi reperfüzyondan direkt etkilenen organ ve dokularda reaktif oksijen ve nitrojen radikallerine bağlı olarak gelişen hasarları önlediği saptanmıştır (3,4). CAPE'nin direkt yapılan böbrek iskemi reperfüzyon hasarının önlenmesinde gösterdiği olumlu etkilerini ortaya koyan deneysel bir çalışmada, bu maddenin serbest radikallerin üretilmesindeki önleyici ve membran lipidlerini oksidatif hasardan koruyucu özellikleri ortaya konmuştur (5). Ancak, şimdiye kadar başka bir organda yapılan (örneğin; kalp) iskemi reperfüzyonun böbrek üzerindeki etkisinde serbest radikallerin bir rolünün olup olmadığı çalışılmamıştır. Oysaki koroner arterlerdeki revaskülarizasyonun böbreklerde hasar yaptığı ve gelişen akut böbrek yetmezliğinin kalp cerrahisinde ölüm nedenlerinden biri olduğu bilinmektedir (6-8). Bu nedenle koroner arterlerin revaskülarizasyonundan ve benzeri operasyonlardan beklenen yarar, söz konusu böbrek hasarı nedeniyle azalmaktadır. Bu hasarda koroner revaskülarizasyon sırasında meydana gelen hipoperfüzyon, pulsatil perfüzyonun kaybolması, hemoliz ve sistemik inflamatuvar yanıt gibi faktörlerin rol oynadığı söylenmektedir (9). Ancak, bu faktörlerin

böbreklerde yaptıkları hasarın serbest radikallerden olabileceği araştırılmamıştır. Bu çalışmada kalp iskemi reperfüzyonu yapıldı ve böbrekler alınarak nitrik oksit (NO) düzeyleri ve histolojik değişiklikler araştırıldı ve doku hasarının oluşmasına neden olduğu görülen NO üzerine CAPE'nin etkisine bakıldı. Çünkü iskemi esnasında oluşan NO, reperfüzyonda meydana gelen superoksit (O₂⁻) radikali ile birleşerek toksik bir oksijen metaboliti olan peroxinitrit (ONOO-) oluşturur. ONOO- ise dokularda hasar yapmaktadır (10-12).

Gereç ve Yöntem

Myokardiyal İskemi Reperfüzyonu

Bu çalışmada 200-250 g ağırlığında, 21 yetişkin erkek Wistar sıçan kullanıldı. Hayvanlar; kontrol (n: 7), MI/R (n: 7) ve MI/R+CAPE (n: 7) olmak üzere üç gruba ayrıldı. 1.2-1.4 g kg⁻¹ dozunda üretan ile intraperitoneal yolla anestezi yapıldı. Yapay solunum için trake solunum pompasına (1.5 ml/100g.'lık hacim ve 60 atım/dakikalık bir hızla oda havası-Harvard Animal Rodent Ventilator) bağlandı. İlaç uygulaması (CAPE, 50 imol kg⁻¹) için de juguler ven kanülasyonu yapıldı. Kan basıncı, kanüle edilen karotis arterden bir transdüser (Harvard model, 50-8952) ve kaydedici (Harvard Universal penrecorder) yardımıyla yazdırıldı (4,13,14). Sonra göğüs açıldı. Kalp uygun şekilde tutularak ucunda 6/0 ipek iplik takılı 10 mm'lik yuvarlak uçlu iğneyle sol ana koroner arterlerin altından myokard dokusunu da kısmen içine alacak şekilde geçildi. Daha sonra kalp göğüs içine yerleştirilerek 20 dakika stabilizasyon için bekletildi. Lanbeth Conventions metodunda (15) belirlenen değerlendirme kriterleri göz önüne alınarak bu işlemlere bağlı herhangi bir aritmi görülmesi ya da ortalama kan basıncının iskemi öncesi 70 mm/Hg'nin altına düşmesi halinde denek çalışma dışı bırakıldı. Konulmuş olan sütürlerin iplikleri 1 mm çap ve 1 cm boyunda ufak bir plastik tüp içinden geçirildi. 20 dakika stabilizasyon (bekleme) periyodu sonunda damar altına geçirilmiş olan ip bu plastik tüp ve bir

klemp yardımıyla sıkıştırılarak damarın kapatılması ile iskemi gerçekleştirildi. Bu çalışmada 30 dakika iskemi altında tutulan kalpte tüp gevşetilerek 120 dakika süreyle reperfüzyon yapıldı. Daha sonra deneye son verilerek NO ölçümü ve histopatolojik inceleme için böbrekler alındı. Kontrol grubuna ise iskemi reperfüzyon dışında diğer işlemler aynı şekilde yapıldı.

İlaç Uygulaması

Hayvanlar rasgele örnekleme metoduyla seçildi. CAPE etanolda çözdürüldü ve %0.9 NaCl ile %1'lik solüsyonu hazırlandı. Bu şekilde hazırlanan CAPE (50 imol kg⁻¹) iskemiden on dakika öncesinden başlanılarak reperfüzyon başlangıcına kadar, perfüzyon pompasıyla uygulandı. Kontrol ve MI/R gruplarına ise etanol ve serum fizyolojik aynı şekilde verildi.

NO Ölçümü

Yarılanma ömrünün kısa olması ve kimyasal yapısı nedeniyle, NO'nun direkt olarak saptanması zor olduğundan dolayı, NO değerlendirmesi için stabil son ürünleri olan nitrit ve nitrat ölçümü kullanılmaktadır. Nitrit ve nitrat düzeyleri spektrofotometrik metod ile böbrek dokusunda ölçüldü. Bu metod, nitrat redüktaz enzimi varlığında nitratın nitrite indirgenmesi ve oluşan nitritin de, sulfanilamid ve N-etilendiamin dihidroklorid ile reaksiyona girerek oluşturduğu kompleksin 545 nm'de verdiği absorbansın ölçümü prensibine dayanmaktadır (3).

Histopatolojik Değerlendirme

Böbrek dokusu %10 formalin ile fikse edildi. Parçalar (6 µm) mikrotom ile kesildi ve hemotoksilen-Eozin (H-E) ile boyandı. Hazırlanan preparatlardaki inflamatuvar değişiklikler ışık mikroskopunda incelendi (1,2).

İstatistik

Gruplar arası farklılıklar ANOVA test ile analiz edildi. Anlamlılık p<0.05 olarak tanımlandı.

Bulgular

Stabilizasyon periyodu süresince üç grubun kan basınçlarında bir değişiklik gözlenmedi. Ancak, iskemi sırasında MI/R ve CAPE+MI/R gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak kan basıncında bir azalma gözlemlendi. Reperfüzyonda ise, MI/R ve CAPE+MI/R gruplarındaki kan basınçları kontrol grubuyla aynı seviye yükseldi (Tablo 1). CAPE'nin solventine bağlı bir etki meydana gelmedi.

Tablo 1: Myokardiyal iskemi reperfüzyon (MI/R) yapılan (MI/R ve Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)+MI/R) ve yapılmayan (Kontrol) gruplardaki kan basıncı değişiklikleri.

Gruplar	Stabilizasyon sonrası	İskemi bitimi	30	60	120
Kan basıncı (mmHg)					
Kontrol	88±2	87±3	87±4	86±2	86±2
MI/R	87±3	73±5 ^a	92±5	88±3	84±3
CAPE+MI/R	91±5	74±5 ^a	94±4	93±3	94±3 ^{ab}

a: p0.05 Kontrol'e göre anlamlı, b: p0.05 MI/R'e göre anlamlı

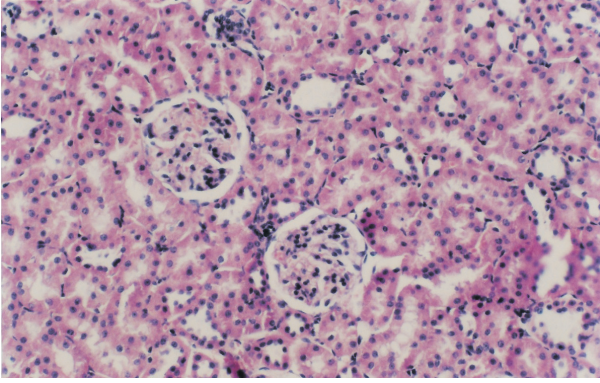
MI/R yapılan grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, böbrekte NO düzeyi anlamlı olarak arttı. CAPE uygulanan grupta yapılan MI/R ise, NO düzeyinde bir artış gözlenmedi. Bununla beraber anlamlı olmamakla (P>0.05) birlikte CAPE+MI/R kontrol grubuyla karşılaştırıldığında NO düzeyinde bir azalma da gözlemlendi (Tablo 2). Tablo 2: Myokardiyal iskemi reperfüzyon (MI/R) ve Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)'nin böbrekte nitrik oksit (NO) düzeyine etkileri. n=7 her grup için.

Tablo 2: Myokardiyal iskemi reperfüzyon (MI/R) ve Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)'nin böbrekte nitrik oksit (NO) düzeyine etkileri. n=7 her grup için.

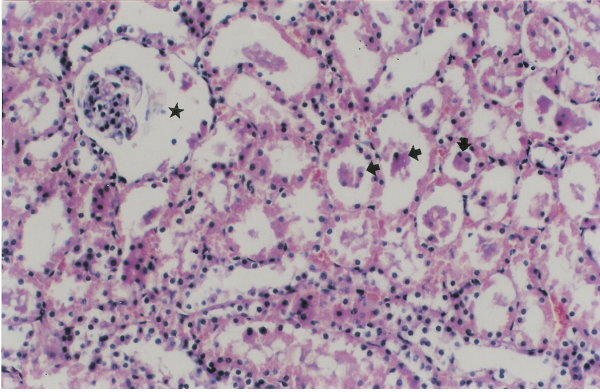
Groups	Kontrol	MI/R	CAPE+MI/R
NO (nmol g ⁻¹ doku)	322,15±15	533,57±42*	275,41±24**

*p<0.05, MI/R ile Kontrol arasındaki anlamlı fark
**p<0.05, CAPE+MI/R ile MI/R arasındaki anlamlı fark

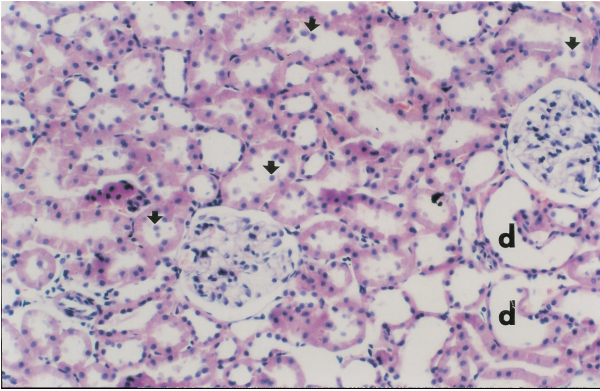
Böbrek dokularının ışık mikroskopuyla değerlendirilmesi sonucunda, kontrol grubunun böbrekleri normal histolojik özellikler gösterdi (Şekil 1). Ancak, MI/R grubunda şiddetli böbrek hasarları gözlemlendi. Bu hasarlar; proksimal tübül epitel hücrelerinde yaygın dökülme, tübüler dilatasyon ve epitel hücrelerin lümenal yüzeylerinde lümenal düzleşme (mikrovillus yapısının silindiği) görüldü. Tübüler hasara ek olarak böbrek cisimciklerinin bir kısmında glomerüller atrofiye bağlı olarak Bowman boşluğunda genişlemeler farkedildi (Şekil 2). Diğer taraftan, CAPE+MI/R grubunda ise hafif tübüler dilatasyon ve atrofi gibi değişiklikler dışında glomerüllerin çoğunda normal histolojik görüntü izlendi. Bu grupta tübüllerde epitel hücre dökülmesi ve epitelin lümenal yüzeylerinde düzleşme daha fokal görüldü (Şekil 3).



Şekil 1: Kontrol grubu; Glomerulus ve tubuluslar normal. (H-E X 66).



Şekil 2: MI/R grubu; Epitel hücrelerinde şiddetli döküleme ve tubuler lumende stoplazmik dözleşmeler (ok ile gösterilmiştir) gözükmemektedir. Ayrıca Bowman boşluğunda dilatasyon (yıldız ile gösterilmiştir) farkedildi. (H-E X 66).



Şekil 3: CAPE+ MI/R grubu; Glomerulus normal gözükmemekte fakat tubulusların bir kısmı dilate olmuş (d) ve yassılaştırmış epitelial hücrelerle astarlanmış görünümündedir. Tubulus lumenindeki epitelial hücrelerin dökülmesi (ok ile gösterilmiştir) daha seyrek olarak gözükmemektedir. (H-E X 66).

Tartışma

Kalp iskemisi esnasında periferik giden kan akımında azalma ve ardından yapılan reperfüzyonda ise artış olduğu bilinmektedir (4,13,14). Bu durum fazla kanlanan organlardan olan böbreklerde hasar oluşturmaktadır. Böbreklerde meydana gelen bu hasar, koroner arterlerin revaskülarizasyonunun ve benzeri

kalp cerrahisinin yararlarını azaltmaktadır (6-8). Bizim çalışmamızda iskemi sırasında kan basıncı, iskemi öncesine göre anlamlı olarak azaldı ve reperfüzyon sırasında tekrar eski düzeyine çıktı. Dolayısıyla diğer organların perfüzyonunda bir değişiklik oluştu. Bu kan basıncındaki değişiklik böbrekte çeşitli zararlı etkenleri tetikleyerek hasar yapabilir.

Bu çalışmada kalpte oluşturulan iskemi reperfüzyon esnasında böbrek dokusunda NO düzeyinde bir artış meydana geldi. Serbest bir radikal olan NO, birçok fizyolojik ve patolojik olaylardaki kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. İskemi, damar endotelinde hem inflamatuvar hücre infiltrasyonu hem de indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) aktivitesini artırır. Böylece iskemi sırasında NO seviyesi artarken, reperfüzyon sürecinde kan akımının yeniden başlamasıyla, büyük miktarlarda moleküler oksijen dokulara taşınır. Reperfüzyon hasarından sorumlu olduğu düşünülen çok miktarda serbest oksijen radikali ve O_2^- ortaya çıkar (10,11). İskemi sırasında oluşan aşırı miktardaki NO, ya bu radikalin stabil son ürünleri olan nitrit ve nitrate dönüşür, ya da O_2^- radikali ile reaksiyona girerek bir toksik oksijen metaboliti olan ONOO⁻'i oluşturur. ONOO⁻ ise dokularda hasar yapar (12). NO artışıdaki bir diğer muhtemel mekanizma ise, nötrofillerin aktivasyonu ve etkilenen dokuya sekestrasyonudur (16). Yapılan birçok çalışmada, iskemi reperfüzyona bağlı olarak yüksek miktarda meydana gelen NO ve ONOO⁻ oluşumu azaltılarak hasarın önlenilebileceği ileri sürülmüştür (17). Biz bu çalışmada NO artışının, MI/R esnasında böbreklerde meydana gelen perfüzyon değişikliğinde iNOS oluşumunun artışı ile ilgili olabileceğini ve dolayısıyla görülen histolojik hasarın NO'nin reperfüzyon esnasında oluşan O_2^- ile birleşmesiyle meydana gelen ONOO⁻'dan kaynaklanabileceğine bağladık. Çalışmamızda CAPE uygulanan sıçanlarda NO düzeyi anlamlı olarak düştü. Histolojik bulgularda ise, MI/R grubundaki şiddetli hasarın CAPE ile azaldığı görüldü. İskemi reperfüzyon hasarından direkt olarak etkilenen dokularda bu hasarın CAPE tarafından azaltıldığını gösteren çalışmalar bu bulgumuzu desteklemektedir (3,4). Çeşitli dokularda bir ilaca veya bir nedene bağlı olarak NO ve O_2^- 'in arttığını ve bunlara bağlı olarak oluşan doku hasarını CAPE'nin azalttığını gösteren çalışmalar vardır (18,19). Ancak, direkt yapılan böbrek iskemi reperfüzyon esnasında artan NO düzeyi bizim sonuçlarımızın aksine CAPE verilmesi ile daha da artmıştır. Söz konusu araştırmacılar, buna neden

olarak CAPE'nin insan nötrofillerinde reaktif oksijen türlerini (O_2^- gibi) tam olarak bloke etmesi ve böylece NO'nun serbest kalarak söz konusu bu radikaller tarafından kullanımının önlemesine bağlamışlardır (3). Ancak bu araştırmacılar CAPE'yi sadece iskemi öncesinde uygulamışlardır. Biz ise çalışmamızda CAPE'yi iskemi öncesinden başlayıp iskemi boyunca uyguladık. Yani reperfüzyon öncesinde de vermiş olduk. Çünkü bu güne kadar iskemi reperfüzyon hasarı konusunda yapılan yoğun çalışmalara karşın, iskemi reperfüzyon sürecinde NO'nun ne yönde etkilendiği pek açık değildi. Böylece inflamatuvar ve hipoksik bir süreçle sonlanan MI/R'nin iNOS oluşumunu ve dolayısıyla NO artışını iskemi öncesi ve iskemi süreci boyunca CAPE vererek önlemiş olduk. CAPE; antioksidan, antiinflamatuvar, reperfüzyon hasarı önleyici, antiproliferatif, immunostimülatör, antibakteriyel, antiviral, antikanser, antiaterosklerotik ve nöroprotektif özelliklere sahiptir. CAPE bu özelliklerini antioksidan, enzim inhibitörü veya spesifik reseptörlere bağlanarak göstermektedir (18). CAPE, antiinflamatuvar etkisini NOS'un gen oluşumu ve katalitik aktivitesini inhibe ederek oluşturmaktadır (18). Çalışmamızda CAPE bu özelliği ile NO düzeyini azaltmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada MI/R sırasında maynada gelen kan basıncındaki değişiklik böbrekte hasara neden olmuştur. Bu hasarda rol alan etkenlerden birinin artan NO'nun O_2^- radikali ile birleşmesi sonucu oluşan ONOO⁻ olabileceği düşünülebilir. CAPE antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleriyle NO'nun ve O_2^- 'in aşırı üretimini dolayısı ile ONOO⁻ oluşumunu azaltarak MI/R kaynaklı böbrek hasarını önleyebileceği kanısındayız.

Kaynaklar

1. Sahna E, Parlakpınar H, Cihan OF, Turkoz Y, Acet A. Effects of aminoguanidine against renal ischaemia-reperfusion injury in rats. *Cell Biochem Funct.* 2004;22: [Epub ahead of print]
2. Sahna E, Parlakpınar H, Ozturk F, Cigremis Y, Acet A. The protective effects of physiological and pharmacological concentrations of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Urol Res.* 2003;31(3):188-193.
3. Ozyurt H, Irmak MK, Akyol O, Sogut S. Caffeic acid phenethyl ester changes the indices of oxidative stress in serum of rats with renal ischaemia-reperfusion injury. *Cell Biochem Funct.* 2001;19(4):259-263.
4. Ozer MK, Parlakpınar H, Acet A. Reduction of ischemia-reperfusion induced myocardial infarct size in rats by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Clin Biochem.* 200;37(8):702-705.
5. Sud'ina GF, Mirzoeva OK, Puskareva MA, et al. Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett* 1993;329:21.
6. Boldt J, Brenner T, Lang J, Kumle B, Isgro F. Kidney-specific proteins in elderly patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg.* 2003 Dec;97(6):1582-1589.
7. Loeff BG, Epema AH, Navis G, Ebels T, van Oeveren W, Henning RH. Off-pump coronary revascularization attenuates transient renal damage compared with on-pump coronary revascularization. *Chest.* 2002;121(4):1190-1194.
8. Stallwood MI, Grayson AD, Mills K, Scawn ND. Acute renal failure in coronary artery bypasses surgery: independent effect of cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg.* 2004;77(3):968-972.
9. Loeff BG, Henning RH, Epema AH, Rietman GW, van Oeveren W, Navis GJ, Ebels T. Effect of dexamethasone on perioperative renal function impairment during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth.* 2004;93(6):793-798.
10. Ferdinandy P, Schulz R. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Br J Pharmacol.* 200;138(4):532-543
11. Ronson RS, Nakamura M, Vinten-Johansen J. The cardiovascular effects and implications of peroxynitrite. *Cardiovasc Res.* 1999;44(1):47-59.
12. Beckman JS. -OONO: rebounding from nitric oxide. *Circ Res.* 2001 Aug 17;89(4):295-297.
13. Ozer MK, Sahna E, Birincioglu M, Acet A. Effects of captopril and losartan on myocardial ischemia-reperfusion induced arrhythmias and necrosis in rats. *Pharmacol Res* 2002;45(4):257-263.
14. Sahna E, Acet A, Ozer MK, Olmez E. Myocardial ischemia-reperfusion in rats: reduction of infarct size by either supplemental physiological or pharmacological doses of melatonin. *J Pineal Res* 2002;33(4):234-238.
15. Walker MJ, Curtis MJ, Hearse DJ, Campbell RW, Janse MJ, Yellon DM, Cobbe SM, Coker SJ, Harness JB, Harron DW, et al. The Lambeth conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischemia infarction, and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1988; 22: 447-455.
16. Adams LB, Hibbs JB Jr, Taintor RR, Krahenbuhl JL. Microbiostatic effect of murine-activated macrophages for *Toxoplasma gondii*. Role for synthesis of inorganic nitrogen oxides from L-arginine. *J Immunol.* 1990;144(7):2725-2729.
17. James JP, Benedict RL. Mechanism of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1999;68:1905-1912
18. Parlakpınar H, Tasdemir S, Polat A, Bay-Karabulut A, Vardi N, Ucar M, Acet A. Protective role of caffeic acid phenethyl ester (cape) on gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Toxicology.* 2005;207(2):169-177.
19. Yagmurca M, Erdogan H, Iraz M, Songur A, Ucar M, Fadilloğlu E. Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats. *Clin Chim Acta.* 2004;348(1-2):27-34