

Ratlarda Sevofluranın Oluşturduğu Histopatolojik Değişimlere Likopenin Etkisi

Ayşe Belin ÖZER¹
Songül ÖZER²

¹ Mardin Devlet Hastanesi
Anestezi Uzmanı
Mardin-TÜRKİYE

² Firat Üniversitesi
Veteriner Fakültesi,
Patoloji Anabilim Dalı
Elazığ-TÜRKİYE

Bu çalışma, sevofluran'ın parankim organlar üzerindeki morfolojik değişikliklere likopenin antioksidan etkisinin incelenmesi amacıyla yapıldı. Yirmidört adet albino Wistar rat kontrol, sevoflurane ve likopen olmak üzere üç eşit gruba ayrıldılar. On gün süreyle kontrol ve sevoflurane gruplarındaki ratlara gavajla plasebo (% 0.9 serum fizyolojik), likopen grubundakilere ise gavajla lycomato (Lyc-O-Mato, 40 mg/kg/gün) verildi. Daha sonra likopen ve sevoflurane grupları %50 Oksijen ve %50 N2O karışımı (4L/dk) içinde %3 sevofluran olacak şekilde 2 saat süreyle hazırlanan özel bir düzenek ile uygulandı. Anestezi sonlandırıldıktan hemen sonra bütün ratlar ötenazi edilerek nekropsileri yapıldı. Histopatolojik incelemede ışık mikroskopisi ile karaciğerde konjesyon, sentrolobuler dejenerasyon ve nekroz, böbrekte kortikal nekroz, tubulus epitellerinde dejenerasyon ve nekroz saptandı. Bu değişiklikler sevofluran grubunda şiddetli derecede, likopen grubundaki ratlarda ise daha hafif derecede idi. Histopatolojik skorlamanın istatistiksel değerlendirilmesi sonucu sevofluran verilen gruptaki histopatolojik değişimlerin sevofluran ve likopen verilen gruba göre önemli derecede ($P \leq 0.001$) daha yaygın olduğu ortaya kondu. Çalışmadan elde edilen sonuçlar likopenin sevoflurane'in zararlı etkilerini azalttığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: sevofluran, likopen.

Effects of lycopene supplementation on Morphological Changes Induced by sevoflurane in rats

This experiment was conducted to evaluate the effects of lycopene supplementation on histopathological changes in rats exposed to sevoflurane. Wistar-albino rats (n=24) were randomly assigned to 3 treatment groups as control, lycopene, sevoflurane plus lycopene. Placebo in physiological saline was given to animals in group control and group sevoflurane and lycopene (Lyc-O-Mato; 40mg/kg/d) was given to animals in group lycopene by gavage for ten days. After lycopene supplementation for 10 days, the group sevoflurane and group lycopene rats were exposed to an anesthetic gas mixture. Sevoflurane 3% (v/v) was given to animals in the vaporizer in 50% Oxygen and 50% N2O mixture (4L/minute). The gas mixture was administered for two hours. Then animals were euthanatized and necropsied. Microscopically, there were congestion, centrolobular degeneration and necrosis in liver and cortical necrosis, epithelial degeneration and necrosis of tubuli in kidney. This changes were more pronounced in sevoflurane group According to statistical analysis by using the histopathological scores, the lesions were more prevalent in sevofluran group than sevofluran +lycopene group ($P \leq 0.001$). The results of the study indicate that lycopene supplementation was decreased histopathological changes induced by sevoflurane.

Key Words: sevoflurane, lycopene.

Giriş

Sevofluranın kan ve dokularda çözünürlüğü bilinen anesteziyelere göre daha düşüktür(1). Hepatohüresel zedelenme bütün modern inhalasyon anesteziyelere göre genel anestezinin uygulamasından sonra görülebilmektedir (2). Karaciğer hasarının derecesinin kantitatif ölçümü zor olmasına rağmen geleneksel karaciğer fonksiyon testleri ile (aminotransferaz aktivitesi ve diğer daha spesifik enzim markerları gibi) hepatobiliyer hasar saptanabilmektedir. İnhalasyon anesteziyelere hepatotoksik etkileri için bir çok mekanizma ileri sürülmüştür. Bunlardan birinin inhalasyon anesteziyelere toksik metabolitlerinin oluşumu ile birlikte oksidatif biyotransformasyonu olduğu vurgulanmıştır (3). Hekzafluoroisopropanol (HFIP) ve inorganik flor, sevofluran metabolizmasının ana ürünleridir. HFIP ürünü HFIP-glukronide dönüşür ve hızla böbreklerden atılır. Sevofluran tek başına veya organik metabolitleri hepatoselüler hasara yol açabilir. Bu da, bir bağışıklık yanıtın başlamasına engel olabilen bu bileşiğin düşük kimyasal reaktivitesi ve protein bağlama kapasitesi tarafından desteklenmiştir (3, 4). Ayrıca sevofluran, doz bağımlı ve primer olarak organik ve inorganik flor düzeylerinin artışına dayanarak sitokrom P450 2E1 tarafından sınırlı hepatik biyotransformasyona uğrar.

Geliş Tarihi : 03.02.2007
Kabul Tarihi : 12.04.2007

Yazışma Adresi Correspondence

Ayşe Belin ÖZER
Mardin Devlet Hastanesi
Anestezi Uzmanı
Mardin-TÜRKİYE

abelinozer@hotmail.com

Fluorometil-2,2-difloro-1-(triflorometil)vinil eter (FDVE) sevofluranın en önemli yıkım ürünüdür ve karbon dioksit absorbanlı anestezi makinelerinde baz katalizli dehidroflorinasyon tarafından oluşur (7). Ratlara FDVE inhalasyon ile veya intraperitoneal olarak enjekte edildiğinde nefrotoksiktir (8).

Birçok klorlanmış ve florlanmış alkenler nefrotoksiktir ve nefrotoksitesiteleri hepatik glutatyon S- konjugat oluşumu, glutatyon S- konjugatların sistein S- konjugatlara enzimatik hidrolizi, sistein S-konjugatların renal uptake'i ve hücrel proteinler ile reaksiyonu sonucu hücre hasarı ve ölümüne yol açan renal sistein S-konjugat beta liyaz tarafından reaktif parçacıklara biyoaktivasyonu gibi çok basamaklı yollardan kaynaklanır (9).

Sevofluran, halotan ile kıyaslandığında hepatotoksitesitesi daha az olmakla birlikte (halotan için % 20, sevofluran için % 2-5), son zamanlarda yapılan çalışmalarda sevofluran anestezisinden sonra dejenerasyon ve nekrozla belirgin karaciğer hasarı tespit edilmiştir (12-14).

Sevofluran anestezisi için her ne kadar spesifik radikal molekül tespit edilmemişse de antioksidan vitaminlerin veya antioksidan enzimlerin düzeylerinin değişmesi gibi indirekt etkiler sevofluranın hepatotoksik etkileri ile ilişkili olabilir (15). Hipoksi veya azalmış hepatik kan akımı nedeniyle antioksidan vitamin düzeylerindeki azalma serbest radikal üretiminin muhtemel sebepleri olabilir.

Sevofluran kalbi protein kinaz C aktivasyonu, mitokondrial K+ATPaz kanallarının açılması ve reaktif oksijen parçacıklarının oluşumu yolu ile iskemi indüklü ATP depleasyonu, Ca²⁺ akımı ve oksidatif strese karşı kalbi korur (10). Fakat sevofluranın, kardiyak dokuda direk T ROS oluşumuna yol açtığı düşünülmektedir (11).

Anestezik maddeler karaciğerde kan akımını zayıflatarak hayvanlarda antioksidan durumdaki dengenin bozulmasına ve oksidatif strese neden olurlar (15-17). Hayvanlarda özellikle plazmada E ve C vitaminleri GSH-Px aktivitesi gibi antioksidan vitamin ve antioksidan enzimlerin düşük miktarlarda olduğu ve oksidatif hasarın arttığı gözlenmiştir (17-19). Artan oksidatif stress kanser, kalp damar hastalıkları, iskemi/reperfüzyon hasarı, nörodejeneratif bozukluklar, romatoid artrit ve nefrotoksitesite gibi kronik hastalıkların yüksek oluşma riski ile ilişkilidir. (20-26).

E vitamini ve selenyum gibi antioksidan katkılarla zenginleştirilmiş diyetlerin anestezik ajanların olumsuz etkilerine karşı kullanılabileceğini ve sonuçta oksidatif stresi azaltabileceğini göstermektedir (17). ROS'lar reaktif oksidan moleküller olup vücutta endojen olarak normal metabolik aktiviteler sonucunda meydana gelirler. ROS'lar hücrede bazı önemli biyomoleküllerle (lipit, protein, DNA) tepkimeye girerek oksidatif hasar meydana getirirler (27). Antioksidanlar ROS'u inaktif edebilme özelliğine sahiptir ve böylece oksidatif hasara karşı koruma sağlarlar (28, 29). Karotenoit ailesinin bir üyesi olan likopen güçlü antioksidan özelliklere sahip olup

reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hücrel hasara karşı koruma sağlar (27, 30-32). Bol miktarda likopen içeren domates ve domates ürünlerinin tüketimi sonucunda kan likopen seviyesi artar ve bu durum yağlar, proteinler ve DNA'nın oksidatif hasarının azalmasıyla ilişkilendirilebilir (33, 34). Diyete likopen ilavesi prostat kanser riskinin azalması (35, 36) ve meme tümörü insidansının düşmesi (37) ile ilişkili olabilir. Sevofluran uygulanan ratlarda likopenin antioksidan kapasitesini ortaya koyan bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmanın amacı, sevofluran anestezisi altındaki ratlarda diyete likopen katkısının dokulardaki histopatolojik değişimleri nasıl etkilediğini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Hayvanlar materyali, Diyet, Çalışma dizaynı

Çalışmada Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen albino Wistar ratlar (n=24; ortalama 200 g) kullanılmıştır. Deney Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesinde yürütüldü. Ratlar oda sıcaklığında kafeslerde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık aydınlatma periyodu uygulanmıştır. Ratlar kontrol (grup C), sevofluran (grup S) ve likopen (grup L) grubu olmak üzere üç deney grubuna rastgele ayrıldı. On gün süresince kontrol ve sevofluran gruplarındaki hayvanlara gavajla plasebo (%0,9 serum fizyolojik), likopen grubundaki hayvanlara gavajla Lycomato (Lyc-O-Mato; 40 mg/kg/gün) verildi. 10 günlük likopen uygulamasından sonra likopen ve sevofluran grupları anestezik gaz karışımına maruz bırakıldı. Anestezik gaz karışımı % 50 oksijen ve % 50 N₂O (4L/dk) içinde % 3 sevofluran olacak şekilde hayvanlara 2 saat süresince uygulandı. Bu uygulama anestezik gaz monitörizasyonuna sahip Draeger Cato-Edition Anestezik Cihazı (Lübeck, Germany) 40x40x70 boyutlarında camdan yapılmış, üstü kapalı, üst kısma yakın 2 cm'lik anestezik gaz girişi ve alt kısma yakın 2 cm'lik gaz çıkışı olan düzenek yardımıyla yapıldı.

Nekropsi uygulamasını takiben karaciğer, böbrek ve kalp dokuları % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Klasik işlemlerden geçirilen dokuların parafin blokları hazırlandı. Bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak, hematoksilin-eozin ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda incelendi (38).

Hepatik hasarın belirlenmesinde histopatolojik skorlama yöntemi kullanıldı. Bu skorlamadaki grade'ler 0,1,2,3,4,5 ve 6 şeklindedir. Grade 0: Hepatositlerde hasar yok, 1: Minimal sellüler değişiklikler, 2: Yalnızca hafif derecede sentrilobüler hasar, 3: Yalnızca ciddi sentrilobüler hasar, 4: Hafif sentrilobüler ve midzonal hasar, 5: Ciddi sentrilobüler ve midzonal hasar ve 6: Hepatositlerde tam bir bozulma şeklinde skorlandı (39).

Hepatik hasarın skorlanması ile elde edilen veriler varyans analizi ile değerlendirildi. Farklılık çıkması halinde Duncan testi uygulanarak hangi gruplar arasında farklılığın olduğu tespit edildi. İstatistiksel analizler SPSS 12.0 paket programıyla yapıldı.

Bulgular

I-Klinik Bulgular

Uygulaması 120 dakika sürdürülen sevofluran anestezisinin sonlandırılmasını takiben sevofluran grubundaki ratlar 5. dakikadan itibaren uyanmaya başladılar. Likopen grubu ratlar ise 3. dakikadan itibaren uyanmaya başladılar. Dokuzuncu dakikanın sonunda tüm ratlar tamamen uyandılar.

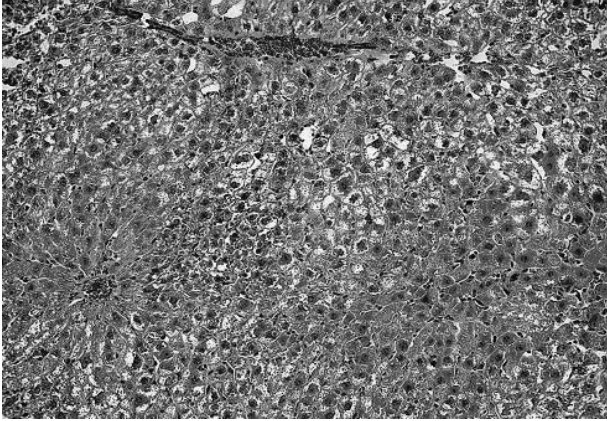
II-Makroskobik Bulgular

Makroskobik olarak iç organlarda kayda değer herhangi bir lezyon gözlenmedi.

Histopatolojik Bulgular

Karaciğer

Sevofluran grubundaki ratların karaciğerlerinde şiddetli hidropik dejenerasyon, sinuzoidal konjesyon ve dilatasyon ile birlikte hafif şiddette sentrilobüler nekroz ve ödem mevcuttu. Dejeneratif hepatositlerin sitoplazmalarında büyük vakuollerle birlikte parçalanmamış tek tük serpiştirilmiş tarzda piknotik çekirdeklerin bulunduğu izlendi (Şekil-1). Ayrıca bu hepatositlerin yer yer apoptotik değişimleri de içerdiği saptandı. Bunlara ek olarak periportal ve dejenerasyonun şiddetli olduğu alanlarda hafif derecede mononükleer hücre infiltrasyonları dikkati çekti.



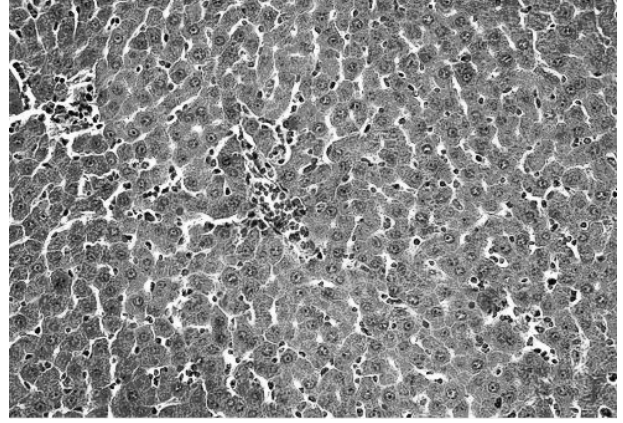
Şekil-1. Sevofluran ile anestezi sonrası karaciğerde şiddetli hidropik dejenerasyon (H&E, × 100).

Likopen grubundaki ratlarda hafif şiddetteki nekrotik değişimlerin hücre şişmesi ile sınırlı olduğu, sinuzoidal konjesyon, sentrilobüler ödem ve apoptotik değişimlerin ise kısmen azaldığı dikkati çekti (Şekil-2). Hepatoselüler dejenerasyon şiddeti bakımından Sevofluran grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta hidropik dejenerasyonun daha baskın bir görünümde olduğu saptandı.

İstatistiksel Bulgular

Karaciğer hasarının belirlenmesinde kullanılan skorlama yöntemine göre kontrol (0), likopen-sevofluran (1), ve sevofluran (3.25) olarak bulundu. Kontrol ve likopen-sevofluran grupları arasında istatistiksel farklılık önemsiz ($P>0.05$) iken, likopen- sevofluran ve kontrol

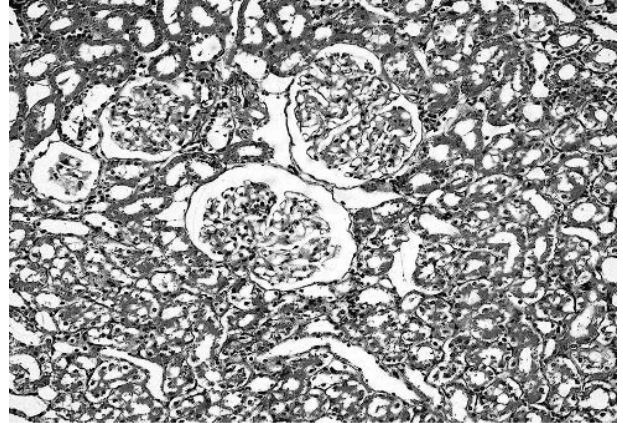
grubu sevofluran grubu ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel farklılığın oldukça belirgin ($P<0.001$) olduğu görüldü.



Şekil-2. Likopen uygulamasını takiben anestezi uygulanan grupta karaciğerde hafif şiddette sinuzoidal dilatasyon (H&E, × 100).

Böbrek

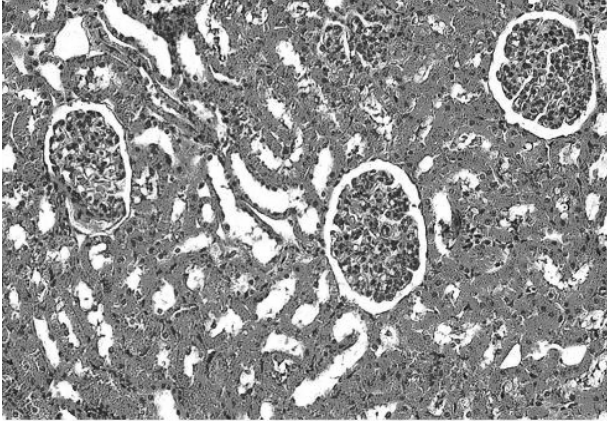
Sevofluran uygulanan ratların böbreklerinde özellikle hafif şiddette kortikal nekroz ve şiddetli dejenerasyonla karakterize değişimlerin olduğu saptandı. Böbreğin proksimal tubulus epitellerinde dejenerasyon ve deskuamasyonla birlikte intertubuler hemoraji baskın görünümdeki değişimler olarak kaydedildi. Dejenerasyonun yanı sıra bazı tubulus hücrelerinin çekirdeklerinde piknotik değişimler mevcuttu. Bu değişimlere ek olarak bazı tubullerin lümeni içerisinde eozinofilik görümlü hiyalin silindir formasyonları da vardı (Şekil-3). Yer yer bazı glomerulusların kapillar konjesyonuna bağlı olarak genişlediği dikkati çekti. Böbreğin medullar bölgesinde ise damarlarda şiddetli konjesyon ile birlikte intertubuler hemoraji odakları dikkate değer değişimlerdi.



Şekil-3. Sevofluran ile anestezi sonrası böbreğin proksimal tubulus epitellerinde dejeneratif ve nekrotik değişimler (H&E, × 100).

Likopen verilirken sevofluran uygulanan ratlarda dejeneratif değişimlerin Sevofluran grubuna göre daha hafif şiddette ve sitoplazma ile sınırlı bir görünümde

olduğu tespit edildi. Glomerular konjesyon ve intertubuler hemoraji bu grupta da benzer bir görünümde olup, tubuler lümen içerisinde hiyalin silindir formasyonlarına rastlanmadı (Şekil-4).



Şekil-4. Likopen uygulanan grupta böbreğin dejeneratif görünümü (H&E, x 100).

Mikroskopik olarak, diğer organlarda herhangi bir değişikliğe rastlanmadı.

Karaciğer hasarının belirlenmesinde kullanılan skorlama yöntemine göre kontrol, likopen+sevofluran ve sevofluran gruplarındaki skor değer ortalamaları sırasıyla; 0, 1.00 ± 0.53 ve 3.25 ± 1.66 olarak bulundu. Gruplar arasında yapılan değerlendirmelerde kontrol ve likopen arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsizken ($p \geq 0.061$), sevofluran grubuyla likopen+sevofluran grupları arasındaki farklılık ise önemli bulundu ($p \leq 0.001$).

Tartışma

Domateste bulunan likopen karotenoitler arasında yer alan antioksidanların en etkililerinden biridir. Likopenin biyolojik etkilerinden öncelikle antioksidan özellikleri sorumludur. Kanser ve kalp damar hastalıkları gibi oksidatif stresle ilişkili kronik hastalıklardan korunmada likopenin etkili olabileceği düşünülür. Çalışmalar kronik hastalıklarda likopenin koruyucu rolünü gösteren bulguları sağlamaktadır (34).

Anestezik ajanlara maruz kalan hayvanlarda karaciğer enzimlerinin ve antioksidan enzimlerin azaldığı bilinmektedir. (17,40-44). Çeşitli uygulamalarda karaciğer hasarından korunmak için özellikle

antioksidanların verilmesi yöntemi kullanılmıştır. (17, 45-48). Bazı çalışmalar laboratuvar hayvanlarında halojenli anestetiklerin bazı karaciğer enzimlerinin plazma aktivitelerini artırdığını bildirmişlerdir. (40, 49-53). Bu çalışmada likopen katkısının sevofluran uygulanmış hayvanlarda olumlu etkileri bulunmuştur. Bu çalışma, sevoflurana maruz bırakılmış ratlarda ölçülen bu parametreler üzerine likopenin etkisinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Sunulan bulgulara benzer olarak, halojenli anestetiklerin dokularda dejenerasyona sebep olduğu ve kan plazmasında AST, ALT ve ALP'nin aktivitelerini kısmen artırdığı bildirilmiştir (17, 49). Likopen bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentez edilebilirken hayvanlar tarafından sentez edilemez (27). Bu nedenle stres altındaki hayvanların likopen gereksinimi diyetle katkı yoluyla giderilmelidir. Likopen doğal karotenoidler arasında en güçlü tekli oksijen radikali yok edicisidir. (27, 31, 54, 55). Tekli oksijenlerin yanı sıra likopen, H₂O₂ ve NO₂ yi de yok eder (56). Agarwal ve Rao (33) diyetle likopen katkısı ile kan likopen seviyesinin arttığını göstermiştir. Buna ek olarak Obara ve ark (57) yeni doğanlarda anestezi ve cerrahi müdahale sırasında serum vitamin E seviyesinin azaldığı ve serum MDA seviyesinin arttığını bildirmişlerdir. Çalışmanın bulgularına benzer olarak Jain ve ark. (58) ratlarda likopen katkısının serum ve karaciğer likopen ve tiyollerin miktarını artırdığı ve serum tiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) konsantrasyonunu % 14 oranında azalttığını bildirmişlerdir. Bu, Rao ve Agarwal (59) in likopen katkısının yağ protein ve DNA'yı oksidasyona karşı koruduğunu gösterdikleri bulguları desteklemektedir. Sonuçlarımıza paralel olarak Muzandu ve ark (60) likopenin bu koruyucu etkilerinin ROS ve RNS'lerin yok edilmesine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Sevofluran'ın karaciğer ve böbreklerde değişikliğe neden olduğu bu çalışmada mikroskopik olarak karaciğerde sinüzoidal konjesyon, sentrilobuler dejenerasyon ve nekroz; böbrekte tubulus epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon gözlemlendi. Bu değişikliklerin derecesi Sevofluran grubunda şiddetli, likopen grubunda ise daha hafifti. Sonuç olarak ratlara anestezi öncesi likopen verilmesinin doku ve organlarda sevofluran'ın zararlı etkilerini önemli derecede önleyebildiği kanaatini uyandırmaktadır.

Kaynaklar

1. Eger EI, II. New inhaled anesthetics. *Anesthesiology* 1994;80:906–22.
2. Tiainen P, Lindgren L, Rosenberg PH. Changes in hepatocellular integrity during and after desflurane or isoflurane anaesthesia in patients undergoing breast surgery. *Br J Anaesth* 1998;80:87–9.
3. Kenna JG, Jones RM. The organ toxicity of inhaled anesthetics. *Anesth Analg* 1995;81:S51–66.
4. Frink EJ. The hepatic effects of sevoflurane. *Anesth Analg* 1995;81:S46–50.
5. Kharasch ED, Thummel KE. Identification of cytochrome P450 2E1 as the predominant enzyme catalyzing human liver microsomal defluorination of sevoflurane, isoflurane, and methoxyflurane. *Anesthesiology* 1993; 79:795–807.
6. Newman PJ, Quinn AC, Hall GM, Grounds RM. Circulating fluoride changes and hepatorenal function following sevoflurane anaesthesia. *Anaesthesia* 1994; 49:936–939.

7. Frink EJ Jr, Malan TP, Morgan SE et al. Quantification of the degradation products of sevoflurane in two CO₂ absorbants during low-flow anesthesia in surgical patients. *Anesthesiology* 1992;77:1064–1069.
8. Morio, M, Fujii K, Satoh N et al. Reaction of sevoflurane and its degradation products with soda lime: Toxicity of the byproducts. *Anesthesiology* 1992;77:1155–1164.
9. Dekant, W, Lash LH, Anders MW. Bioactivation mechanism of the cytotoxic and nephrotoxic S-conjugate S-(2-chloro-1,1,2-trifluoroethyl)-L-cysteine. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1987;84:7443–7447.
10. de Ruijter W, Musters RJ, Boer C et al. The cardioprotective effect of sevoflurane depends on protein kinase C activation, opening of mitochondrial K⁽⁺⁾(ATP) channels, and the production of reactive oxygen species. *Anesth. Analg* 2003;97:1370–1376.
11. Yoshida K, Okabe E. Selective impairment of endothelium-dependent relaxation by sevoflurane: oxygen free radicals participation. *Anesthesiology* 1992;76: 440–447.
12. Nishiyama T, Yokoyama T, Hanaoka K. Liver function after sevoflurane or isoflurane anaesthesia in neurosurgical patients. *Can. J. Anaesth.* 1998;45:753–756.
13. Nishiyama T, Yokoyama T, Hanaoka K. Liver and renal function after repeated sevoflurane or isoflurane anaesthesia. *Can. J. Anaesth.* 1998;45:789–793.
14. Shichinohe Y, Masuda Y, Takahashi H et al. A case of postoperative hepatic injury after sevoflurane anesthesia. *Masui* 1992;41:1802-1805
15. Morris DM, Smith HO, Liu W et al. Are antioxidant levels measured immediately postoperatively an indicator of magnitude of injury. *Am J Surg* 2000;180:212–216,
16. Schmidt CC, Suttner SW, Piper SN, Nagel D, Boldt J. Comparison of the effects of desflurane and isoflurane anaesthesia on hepatocellular function assessed by alpha glutathione S-transferase. *Anaesthesia* 1999;54:1204–1219.
17. Karakilcik AZ, Hayat A, Zerim M, Cay M. Effects of intraperitoneally injected selenium and vitamin E in rats anesthetized with halothane. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2003;17:33-38.
18. Dikmen B, Unal Y, Pampal HK et al. Effects of repeated desflurane and sevoflurane anesthesia on enzymatic free radical scavenger system. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2007;294:31-36.
19. Durak I, Kurtipek O, Ozturk HS et al. Impaired antioxidant defence in guinea pig heart tissues treated with halothane. *Can J Anaesth* 1997;44:1014-1020.
20. Kovacic P, Thurn LA. Cardiovascular toxicity from the perspective of oxidative stress, electron transfer, and prevention by antioxidants. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2005;3:107-117.
21. van Oostrom AJ, van Wijk J, Cabezas MC. Lipaemia, inflammation and atherosclerosis: novel opportunities in the understanding and treatment of atherosclerosis. *Drugs* 2004;64:19-41.
22. Szocs K. Endothelial dysfunction and reactive oxygen species production in ischemia/reperfusion and nitrate tolerance. *Gen. Physiol. Biophys.* 2004;23:265-295.
23. Rego AC, Oliveira CR. Mitochondrial dysfunction and reactive oxygen species in excitotoxicity and apoptosis: implications for the pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Neurochem. Res.* 2003;28:1563-1574.
24. Hadjigogos K. The role of free radicals in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Panminerva Med.* 2003;45:7-13.
25. Cousins MJ, Mazze RI. Methoxyflurane toxicity: a study of dose response in man. *JAMA*, 1973;225:1611-1616.
26. Crandell WB, Pappas SG, MacDonald A. Nephrotoxicity associated with methoxyflurane anesthesia. *Anesthesiology* 1966;27:591-607.
27. Rao AV, Agarwal S. Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutr Res.* 1999;19:305-323.
28. Halliwell B, Gutteridge JMC. Lipid peroxidation: A radical chain reaction. In: *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2nd edition, Oxford University Press, New York 1989;188-218.
29. Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994;344:793-795.
30. Mangles AR, Holden JM, Beecher GR, Forman MR, Lanza E. Carotenoid contents of fruits and vegetables: an evaluation of analytical data. *J. Am.Diet Assoc.* 1993;93:284-296.
31. DiMascio P, Kaiser S, Sies S. Lycopene as the most effective biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1989;274:532-538.
32. Sahin K, Onderci M, Sahin N et al. Effects of lycopene supplementation on antioxidant status, oxidative stress, performance and carcass characteristics in heat-stressed Japanese quail. *Journal of Thermal Biology* 2006;31:307-312.
33. Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and low-density lipoprotein oxidation: A human dietary intervention study. *Lipids* 1998;33:981-984.
34. Rao AV, Shen H. Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. *Nutr. Res.* 2002;22:1125-1131.
35. Kucuk O. Chemoprevention of prostate cancer. *Cancer Metast Rev.* 2002;21:111-124.
36. Kucuk O, Sarkar F, Sakr W et al. Phase II randomized clinical trial of lycopene supplementation before radical prostatectomy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10:861-868.
37. Sharoni Y, Giron E, Rise M, Levy J. Effects of lycopene-enriched tomato olerosin on 7, 12-dimethyl-benz [a] anthracene-induced rat mammary tumors. *Cancer Detect. Prev.* 1997;21:118-123.
38. Bancroft JD, Stevens A. Theory and practise of histological techniques. Third Edition. Churchill, Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne and New York. 1990;112-147.
39. Tsimoyiannis EC, Moutesidou KJ, Moschos CM et al. Trimetazidine for prevention of hepatic injury induced by ischemia and reperfusion in rats. *Eur J Surg.* 1993;159:89-93.

40. Lind RC, Gandolfi AJ, Hall PM. The role of oxidative biotransformation of halothane in the guinea pig model of halothane-associated hepatotoxicity. *Anesthesiology* 1989;70:649-653.
41. Hassal E, Israel DM, Gunesakaran TM. Halothane hepatitis in children. *J. Pedr. Gastroen. Nutr.* 1990;11:553-557.
42. Ray DC, Drummond GB. Halothane hepatitis. *Br. J. Anaesth.* 1991;67:84-99.
43. Comporti M. Biology of diseases: Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab. Invest.* 1985;53:599-623.
44. Knights KM, Gourlay GK, Hall PM, Adams JF, Cousins MJ. Halothane hepatitis in an animal model: Time course of hepatic damage. *Br J Exp Path* 1987;68:613-624.
45. Södergen E, Cederberg J, Vessby B, Basu S. Vitamin E reduces lipid peroxidation in experimental hepatotoxicity in rats. *Eur. J. Nutr.* 2001;40:10-16
46. Parola M, Leonarduzzi G, Biasi F et al. Vitamin E dietary supplementation protects against carbon tetrachloride-induced chronic liver damage and cirrhosis. *Hepatology* 1992;16:1014-1021
47. Brucato M, Sundlof SF, Bell JU, Edds GT. Aflatoxin B1 toxicosis in dairy calves pretreated with selenium vitamin E. *Am. J. Vet. Res.* 1986;47:179-183
48. Harvey RB, Kubena LF, Elissalde M. Influence of vitamin E on aflatoxicosis in growing swine. *Am. J. Vet Res.* 1994;55:572-577.
49. Durak I, Güven T, Birey M et al. Halothane hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in guinea pigs: the effects of vitamin E. *Can. J. Anaesth.* 1996;43:741-748
50. Younes M, Heger B, Wilhelm KP, Sieges CP. Enhanced in vivo lipid peroxidation associated with halothane hepatotoxicity in rats. *Pharmacol. Toxicol.* 1988;63: 52-56.
51. Johnson ME, Sill JC, Uhl CB, Van Dyke RA. Effect of halothane on hypoxic toxicity and glutathione status in cultured rat hepatocytes. *Anesthesiology* 1993;79:1061-1071.
52. Fee JPH, Black GW, Dundee JW et al. A prospective study liver enzyme and other changes following repeat administration of halothane and enflurane. *Br. J. Anaesth.* 1979;51:1133-1141.
53. Steffey EP, Zinkl J, Howland D Jr. Minimal changes in blood cell counts and biochemical values associated with prolonged isoflurane anaesthesia of horses. *Am. J. Vet. Res.* 1979;40:1646-1648.
54. Nguyen ML, Schwartz SJ. Lycopene: chemical and biological properties. *Food Tech.* 1999;53:38-45.
55. Agarwal S, Rao AV. Carotenoids and chronic diseases. *Drug Metabolism and Drug Interactions.* 2000;17:189-210.
56. Bohm F, Trinkler JH, Truscott TG. Carotenoids protect against cell membrane damage by nitrogen dioxide radical. *Nature Med.* 1995;1:98-99.
57. Obara H, Maekawa, N, Hoshina H. et al. Plasma levels of vitamin E and lipoperoxide during pediatric anaesthesia. *Can. Anaesth.Soc. J* 1985;32:358-363.
58. Jain CK, Agarwal S, Rao AV. The effect of dietary lycopene on bioavailability, tissue distribution, in-vivo antioxidant properties and colonic preneoplasia in rats. *Nutr Res.* 1999;19:1383-1391.
59. Rao AV, Agarwal S. Bioavailability and in vivo antioxidant properties of lycopene from tomato products and their possible role in the prevention of cancer. *Nutr Cancer.* 1998;31:199-203.
60. Muzandu K, Ishizuka M, Sakamoto KQ et al. Effect of lycopene and beta-carotene on peroxynitrite-mediated cellular modifications. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006;215:330-340.