

Rezene Uçucu Yağının Carboplatin'e Bağlı Hepatotoksisite Üzerine Koruyucu Etkisi

Hanefi Özbek*, Serdar Uğraş**, Süleyman Alıcı***

Özet:

Amaç: Bu çalışmada antineoplastik bir ajan olan carboplatinin sıçan karaciğerinde yaptığı toksisite üzerine rezene uçucu yağı (RUY), C vitamini ve E vitamininin koruyucu etkileri karşılaştırmalı olarak araştırıldı.

Yöntem: Beş çalışma grubu (n=6) oluşturuldu ve sırasıyla serum fizyolojik (SF), carboplatin, carboplatin+RUY, carboplatin+C vitamini ve carboplatin+E vitamini intraperitoneal yoldan beş gün süreyle uygulandı.

Bulgular: Çalışma sonunda histopatolojik yönden çalışma gruplarına ait karaciğerlerde patolojik bir bulguya rastlanmadı. Biyokimyasal olarak carboplatin grubunun serum alanin aminotransferaz (ALT), alkalin fosfataz (ALP) ve indirekt bilirubin değerlerinin kontrol (SF) grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu, RUY, C vitamini ve E vitamini gruplarında ise serum ALT ve ALP değerlerinin carboplatin grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu saptandı. C vitamini grubuna ait indirekt bilirubin düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi. RUY ve E vitamini gruplarına ait indirekt bilirubin seviyelerinin ise kontrol grubu ile aralarında anlamlı bir fark olmadığı, carboplatin grubundan ise anlamlı derecede düşük olduğu saptandı.

Sonuç: Carboplatin'le birlikte C vitamini, E vitamini veya RUY kombinasyonlarının carboplatin'e bağlı karaciğer toksisitesini önleyebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *Foeniculum vulgare* Miller, rezene uçucu yağı, carboplatin, C vitamini, E vitamini, karaciğer toksisitesi.

Antineoplastik bir ajan olan carboplatin, bir platin analogudur. Cisplatin kadar güçlü antineoplastik etkinliğe sahip olması nedeniyle cisplatin'in bir alternatifi olarak da kullanılmaktadır (1). Carboplatin'in endikasyon alanı kısıtlıdır. Genellikle önceden yapılan kemoterapiden sonra nükseden over kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır (2). Bunun dışında mesane kanseri tedavisi için gemcitabin ile kombinasyonunun (3), metastatik-refrakter meme kanseri için ifosfamid ve etoposid'le kombinasyonunun (4) ve küçük hücreli akciğer kanseri tedavisinde yine etoposid'le kombinasyonunun (5) iyi bir seçenek olabileceği bildirilmektedir.

Foeniculum vulgare Miller, ülkemizde "rezene, razıyane, arapsaçı, irziyan ve mayana" adları ile bilinir (6); tatlı rezene (var. *dulce*) ve acı rezene (var. *vulgare*) olmak üzere iki çeşittir (7).

Bunlardan yalnızca tatlı rezene kullanılmaktadır. Rezene ülkemizin Kuzey Anadolu bölgesinde (Ordu ve Trabzon) yabani olarak bulunur (8). Acı rezene Akdeniz kökenlidir. Tatlı rezene ise Güney ve Batı'da yetiştirilir, bazı bölgelerde rakı üretiminde anason yerine kullanılır (7). Meyveleri sabit yağ (% 10-20), uçucu yağ (% 3-7), protein (% 15-20), flavonoid, sterol, şeker ve apiol içermektedir. Uçucu yağında % 60-80 *trans*-anethol, % 5-10 fenchon, limonen, methyl chavicol, α -felandren, anisaldehyde, *cis*-anethol, anisik asit, anisketon, monoterenler ve çeşitli alkoller içerir. 100 g baharatta (tatlı rezenede) 345 kcal enerji, 8.8 g su, 15.8 g protein, 14.9 g yağ, 52.3 g karbonhidrat, 15.7 g lif, 8.2 g kül, 1196 mg Ca, 19 mg Fe, 385 mg Mg, 487 mg P, 1694 mg K, 88 mg Na, 4 mg Zn, 6 mg niacin ve 135 IU A vitamini bulunur (6,7). Yaprağı yara iyileştirici, kökü idrar söktürücü olarak kullanılmaktadır. Tohumlarından yapılan % 2'lik infüzyonu gaz söktürücü ve süt artırıcı etkilere, ayrıca antispazmodik ve sekretolitik

Bu çalışma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Neuroscience Araştırma Birimi (NAB) Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

*Farmakoloji AD, ** Patoloji AD, *** Onkoloji BD.

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Van

Yazışma adresi: Dr. Hanefi ÖZBEK

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi

Farmakoloji Anabilim Dalı

Maraş Caddesi Araştırma Hastanesi

65300 VAN.

Tablo I: Rezene uçucu yağının gaz-kromatografisi analizi sonuçları.

Bileşik	Bulunma oranı (%)
(E)-anethole	74.8
limonene	11.1
methyl chavicol	4.7
fenchone	2.5
α -pinene	1.3
(Z)- β -ocimene	1.2

TabloII : Çalışma gruplarına ait biyokimya sonuçları (Ortalama \pm S.H.O*).

Gruplar	ALT	ALP	AST	İnd. Bilirubin
SF**	35,33 \pm 3.48	274.00 \pm 40.99	137.33 \pm 06,09	0.016 \pm 0.003
Carboplatin	^b 54.00 \pm 4.27	^c 829.50 \pm 48.91	159.66 \pm 07.54	^e 0.085 \pm 0.006
C vitamini	41.33 \pm 2.26	^f 368.50 \pm 25.16	129.83 \pm 07.64	^a 0.060 \pm 0.012
E vitamini	^d 37.40 \pm 3.90	^f 346.40 \pm 67.21	^e 112.20 \pm 09.10	^e 0.028 \pm 0.009
RUY	^e 29.25 \pm 2.65	^f 414.25 \pm 58.93	^g 157.25 \pm 10.87	^d 0.035 \pm 0.011
ANOVA <i>F-değeri</i>	6.667	23.116	5.754	9.998
<i>P-değeri</i>	0.001	0.000	0.003	0.001

*S.H.O.: Standart hata ortalaması.

**SF: Serum fizyolojik.

Post-hoc Tukey HSD (Tukey's honestly significant difference test) sonuçları:

- a: p<0.05 (serum fizyolojik grubu ile karşılaştırma),
b: p<0.01 (serum fizyolojik grubu ile karşılaştırma),
c: p<0.001 (serum fizyolojik grubu ile karşılaştırma),
d: p<0.05 (Carboplatin grubu ile karşılaştırma),
e: p<0.01 (Carboplatin grubu ile karşılaştırma),
f: p<0.001 (Carboplatin grubu ile karşılaştırma),
g: p<0.05 (Vitamin E grubu ile karşılaştırma).

etkilere sahiptir (6, 9). Ayrıca rezeneye Sağlık Bakanlığı tarafından "Phyto-coff" ismi ile bitkisel ilaç olarak üretim ruhsatı verilmiştir (10).

Rezene ile ilgili olarak; uçucu yağ içeriği, antifungal, antibakteriyel ve antiseptik etkileri (11-13), hipotansif aktivitesi (14), antioksidan etkinliği (15), erkek ve dişi sıçanlarda genital organlar üzerine etkisi (16), kronik kolit üzerine etkisi (17), hipoglisemik (18), hepatoprotektif (19,20) ve analjezik (21) etkileri hakkında çalışmalar yapılmıştır. Özbek ve arkadaşları, RUY'nın farelerdeki medyan letal dozunu (LD₅₀) 1.038 mL/kg olarak hesaplamışlardır (18).

Carboplatin'in emetik etkisi, renal toksisitesi, ototoksitesisi ve nörotoksitesisi cisplatin'den belirgin derecede daha düşük, fakat myelosupresif etkinliği daha fazladır. Kan hücrelerinden özellikle trombositlerin düzeyini düşürmektedir (1,2).

Carboplatin'in renal ve hepatik majör organ toksisitesi yapabileceği, ayrıca periferik nörotoksitesiteye sebep olabileceği de bildirilmektedir (22). Carboplatin, hepatik venooklüziv hastalık (23-25), pulmoner toksisite (24), alopesi (3), mukozit (26,27), halüsinasyon (28) ve hemorajik sistit (29) yapabilmektedir. Bazı çalışmalarda ise carboplatin'in hepatik ve/veya renal toksik etkisine rastlanmadığı belirtilmektedir (4,30,31).

Ettinger ve arkadaşları (32); carboplatin verilen rekürren ALL'li çocuklarda hepatik ve renal disfonksiyon bulgularının hafif ve nadiren görüldüğünü bildirirken, Welborn ve arkadaşları (33) refrakter AML'li 37 yetişkin hastaya carboplatin uygulaması sonucu bunlardan 12'sinde fatal düzeyde toksisite ortaya çıktığını, bu 12 hastadan dördünün intraserebral hemoraji, üçünün infeksiyon, beşinin ise karaciğer ve/veya böbrek toksisitesi nedeniyle öldüğünü bildirmişlerdir.

Carboplatin gibi ilaçlar, karaciğer ve böbrek gibi majör organlara farklı derecelerde zarar verseler de kanser tedavisi için kullanılmaktadır. Bu durumda organ toksisitesini en aza indirmeye çalışmak, tedavinin sağlıklı yürümesi ve hasta sağlığı açısından gereklidir. Bu çalışmada carboplatin'in sıçan karaciğerinde yaptığı toksisite üzerine RUY, E vitamini ve C vitamininin etkileri karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bitki materyali:

Foeniculum vulgare Mill. meyveleri Van'daki baharatçılardan temin edildi. Referans için örnek rezene meyveleri laboratuvarında (örnek no: B-02) bulundurulmaktadır.

Bitki materyalinin ekstraksiyonu:

Kurutulmuş meyveler elektrikli değirmende öğütülüp, Clevenger cihazına konularak kaynatıldı. Cihazda toplanan uçucu yağ tüplere alınarak saklandı, uçucu yağ verimi % 5 olarak hesaplandı.

Kimyasallar:

Carboplatin (Carboplatin DBL®); ORNA İlaç, C vitamini (Redoxon®); Roche ve E vitamini (Evigen®); Aksu-Farma'dan sağlandı.

2.3. Uçucu yağ analizi:

Rezene uçucu yağı analizi "Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi, Eskişehir"de gaz kromatografi cihazı aracılığıyla yapıldı. Gaz kromatografi cihazına ve yapılan işlemlere ait bilgi aşağıda verilmiştir:

- Gaz kromatograf modeli: Shimadzu GC-9A,
- Kolon: Thermon-600 T capillary column (50 mL., 0.25 mm I.D.),
- Entegratör: C-R4A,
- Taşıyıcı gaz: Azot,
- Split oranı: 60:1,
- Sıcaklık programı: 70 °C – 10' // 2 °C/dakika // 180 °C - 30'.
- Dedektör: FID,
- Dedektör sıcaklığı: 250 °C,
- Enjeksiyon sıcaklığı: 250 °C.

2.4. Deney hayvanları:

Bu çalışmada Sprague-Dawley ırkı 200-250 gram ağırlığında erkek ve dişi cinsiyette sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden temin edildi. Sıçanlar, 12 saat ışık 12 saat karanlık ritminde ışıklandırılan, 22±2 °C'deki odalarda, çeşme suyu ve standart pelet yem (Van Yem Fabrikası) ile beslendi, yem ve su alımı serbest

birakıldı. Deney hayvanları standart plastik kafeslerde (Değişim Ltd., İstanbul) barındırıldı. Çalışma yapılmadan önce Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'undan onay alındı (Karar sayısı: 2002/03-03).

Deney prosedürü:

Her birinde altışar adet olacak şekilde, her iki cinsiyetten 30 adet sıçan beş gruba ayrıldı. I. gruba (normal kontrol grubu) 0.2 mL serum fizyolojik (SF), II. gruba 25 mg/kg carboplatin, III. gruba 25 mg/kg carboplatin+50 mg/kg C vitamini, IV. gruba 25 mg/kg carboplatin+50 mg/kg E vitamini ve V. gruba 25 mg/kg carboplatin+0.5 mL/kg RUY çalışma süresince (beş gün) günde bir kez intraperitoneal (i.p.) yolla uygulandı. RUY ile ilgili önceden yapılmış bir çalışmada RUY'nın LD₁₀ düzeyi 0.654 mL/kg olarak hesaplandığı için (18) bu çalışmada LD₁₀ dozunun altında kalan 0.5 mL/kg dozu kullanıldı. Carboplatin dozu ise Hannemann ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptığı çalışma referans alınarak belirlendi (34). Hayvanlar, çalışma süresince günlük olarak gözlemlendi. Çalışmanın bitiminde (altıncı gün) hafif eter anestezisi altında sıçanlardan intrakardiyak yolla kan alınarak serumu ayrıldı, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkalen fosfataz (ALP) ve indirekt bilirubin değerlerine bakıldı. Sıçanlar çalışma süresince her gün tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi. Vücut ağırlığındaki günlük değişim aşağıdaki formüle göre 100 üzerinden standardize edilerek kaydedildi:

Vücut ağırlığı değişimi (%) = 100 X (Ağırlık_n - Ağırlık_{ilk}) / Ağırlık_{ilk}

Ağırlık_{ilk}: birinci gün ölçülen vücut ağırlığı.

Ağırlık_n: 2., 3., ... 6. gün ölçülen vücut ağırlığı.

Karaciğer fonksiyonlarının ölçümü:

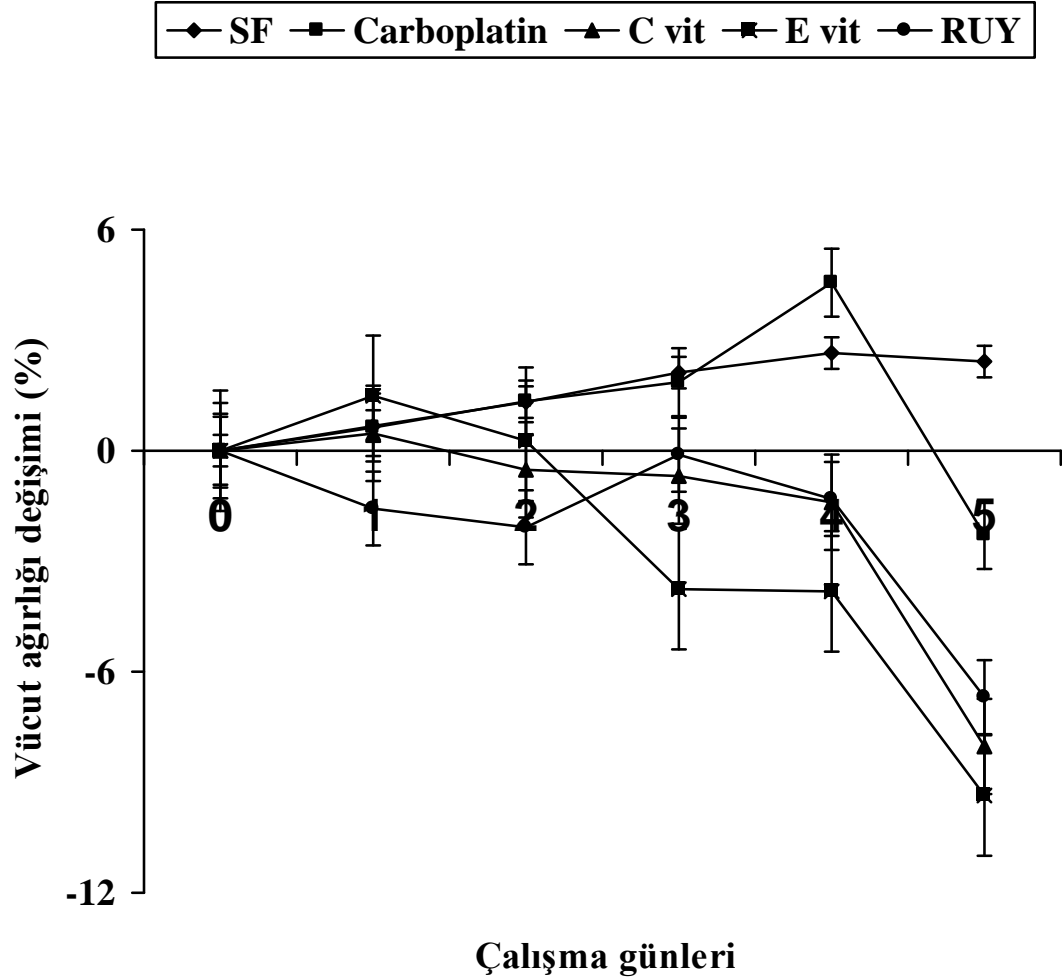
Serum ALT, ALP, AST ve indirekt bilirubin konsantrasyonları, Roche Modular Autoanalyzer cihazında ölçüldü.

Karaciğerin histopatolojik incelemesi:

Sıçanlara ait karaciğerler % 10'luk tamponlu-formalin ile fikse edilip parafin bloklara gömüldü. 4 µm kalınlığında kesilerek Hematoxylin-eosin (HE) ile boyandı. Preparatlar, her 10 büyük büyütme alanında balon dejenerasyonu gösteren hepatosit sayısı, mitoz sayısı ve asidofilik cisim sayısı belirlenip kaydedilecek şekilde değerlendirildi.

İstatistiksel analiz:

Grupların serum enzim seviyeleri ortalama ± standart hata ortalaması (Ort ± SHO) olarak ifade edildi. Verilere One-sample Kolmogorov-Smirnov testi uygulanarak dağılım yönünden analizleri yapıldı. Buna göre istatistiksel analiz



Grafik 1. Çalışma gruplarına ait sıçanların günlük vücut ağırlığı değişimi (%).

için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Bu teste anlamlı çıkan gruplara post-hoc Tukey HSD testi (Tukey's honestly significant difference test) uygulandı ve $p < 0.05$ olasılık değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. (35).

Bulgular

RUY'nın gaz kromatografik inceleme sonuçları Tablo 1'de, çalışma gruplarının vücut ağırlığı takibi Grafik 1'de ve karaciğer fonksiyonları ile ilgili biyokimya sonuçları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1 incelendiğinde RUY'nı oluşturan majör bileşiklerin (E)-anethole, limonene ve methyl chavicol olduğu görülmektedir.

Grafik 1'de SF ve carboplatin grubundaki hayvanların vücut ağırlıklarının çalışma süresince birbirine paralel seyrettiği, yalnızca çalışmanın son gününde carboplatin grubundaki

hayvanların vücut ağırlığında bir azalma olduğu izlenmektedir. RUY, C vitamini ve E vitamini gruplarındaki hayvanların vücut ağırlığının ise SF grubuna göre çalışma süresince tedricen azaldığı görülmektedir. Deney gruplarında çalışmanın ilk günü yapılan vücut ağırlığı ölçümü ile son günü yapılan vücut ağırlığı ölçümü arasındaki % fark aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

SF grubu	: % +2.42,
Carboplatin grubu	: % -2.29,
C vitamini grubu	: % -8.03,
E vitamini grubu	: % -9.36,
RUY grubu	: % -6.69.

("+" simgesi vücut ağırlığındaki artışı, "-" simgesi ise azalmayı göstermektedir).

Sıçan karaciğerlerinin makroskopik ve histopatolojik incelemesinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

Çalışma gruplarına ait serum ALT, ALP, AST ve indirekt bilirubin düzeyleri incelendiğinde;

carboplatin grubunun ALT ve ALP değerlerinin diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu, bu gruba ait indirekt bilirubin değerlerinin ise C vitamini grubu dışında diğer gruplara göre anlamlı derecede yükselmiş bulunduğu görülmektedir. Serum AST değerleri ise gruplar arasında anlamlı sayılabilecek bir artış göstermemiştir.

Tartışma

Yalnızca carboplatin verilen gruba ait histopatolojik sonuçlar değerlendirildiğinde carboplatin'in ışık mikroskobu düzeyinde belirgin bir organ ve doku toksisitesi yapmadığı, serum ALT, ALP ve indirekt bilirubin düzeyleri dikkate alındığında (Tablo 2) ise carboplatin'in biyokimyasal enzimler yönünden istatistiksel olarak anlamlı hepatotoksik etkiye sebep olduğu saptanmıştır. Histopatolojik herhangi bir bulguya rastlanılmayışı histopatolojik değişikliklerin ultrastrüktürel düzeyde sınırlı kalmasına bağlanabilir. Diğer çalışma gruplarına ait dokularda da histopatolojik yönden herhangi bir patolojiye rastlanmamış, ancak serum ALT ve ALP değerlerinin RUY, C vitamini ve E vitamini gruplarında carboplatin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük, kontrol grubundan ise farksız olduğu saptanmıştır. Ayrıca serum indirekt bilirubin değerleri de carboplatin grubunda anlamlı derecede artmış bulunurken RUY ve E vitamini grubunda carboplatin grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Carboplatin'in biyokimya sonuçlarına göre karaciğer hasarı yaptığı kabul edilmiş, çalışma sonuçları Chang, Wiedemann ve Bacha'nın sonuçları ile paralellik göstermiştir (4,30,31). RUY, C vitamini ve E vitamini gruplarından elde edilen biyokimyasal veriler ise bunların carboplatin'e bağlı karaciğer hasarını önlediği yönünde değerlendirilmiştir. C vitamini ve E vitamininin carboplatin toksisitesine karşı karaciğer üzerindeki koruyucu etkisi; güçlü antioksidan özelliklerine bağlanmıştır. Özbek ve arkadaşları, sıçanlarda karbon tetraklorürle oluşturulmuş deneysel akut karaciğer toksisitesi üzerine RUY'nın karaciğeri koruyucu etkiye sahip olduğunu (19), Ruberto ve arkadaşları da RUY'nın antioksidan özelliğe sahip olduğunu (15) bildirmişlerdir. Bunlara dayanarak RUY'nın carboplatin'e bağlı karaciğer toksisitesini önleyici etkisi antioksidan özelliğe sahip oluşuna bağlanmıştır.

Sonuç olarak, beş gün süreyle deney hayvanlarına carboplatin uygulamasının biyokimyasal veriler dikkate alındığında sıçan

karaciğerinde ALT, ALP ve indirekt bilirubin yükselmesi ile kendini gösteren bir hasara yol açtığı, buna karşılık carboplatin'le birlikte vitamin C, vitamin E veya RUY verilmesi durumunda karaciğer fonksiyonlarının olumsuz yönde etkilenmediği söylenebilir. RUY'na ait etki mekanizmasının ve karaciğeri koruyucu etkiden sorumlu asıl bileşik veya bileşiklerin ortaya konulabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Teşekkür

Yazarlar rezene bitkisinin identifikasyonundaki yardımları için Prof. Dr. Mehmet Koyuncu'ya teşekkür ederler.

The Preventive Role of *Foeniculum vulgare* (fennel) Essential Oil, Vitamin C and Vitamin E on The Hepatotoxicity of Carboplatin in Rats

Abstract:

Aim: In this study, the protective effect of *Foeniculum vulgare* Miller essential oil (FEO), vitamin C and vitamin E were comparatively investigated on carboplatin toxicity in liver tissue in rats.

Method: Thirty Sprague-Dawley rats were divided into five groups (n=6), and the groups were treated for five days by i.p. injections of isotonic saline solution (ISS), carboplatin, carboplatin+FEO, carboplatin+vitamin C and carboplatin+vitamin E respectively.

Results: At the end of the study, there were no histopathological changes in the study groups. Serum alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and indirect bilirubin levels of carboplatin group were significantly increased compared to the control group. Serum ALT and ALP levels of FEO, vitamin C and vitamin E groups were not different from the controls, but significantly lower than the carboplatin group. Serum indirect bilirubin level of the vitamin C group was significantly increased compared to the control group. Serum indirect bilirubin levels of FEO and vitamin E groups were not different from the controls, but significantly lower than carboplatin group.

Conclusion: As a result, carboplatin-induced hepatotoxicity was diminished when combined with the vitamin C, vitamin E or FEO.

Key words: *Foeniculum vulgare* Miller, fennel essential oil, carboplatin, vitamin C, vitamin E, hepatotoxicity.

Kaynaklar

1. Salmon SE, Sartorelli AC: Basic&Clinical Pharmacology, In: Cancer Chemotherapy.

- Edited by Katzung BG. 6th edition, Lebanon 1995, p: 831.
2. Kayaalp SO: Rasyonel tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt I, dokuzuncu baskı, Ankara, Hacettepe TAŞ, 2000, p: 397.
 3. Carles J, Nogue M, Domenech M et al: Carboplatin-gemcitabine treatment of patients with transitional cell carcinoma of the bladder and impaired renal function. *Oncology Jun*;59(1): 24-27, 2000.
 4. Chang AY, Hui L, Asbury R et al: Ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) in metastatic and refractory breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 44 Suppl: S26-28, 1999.
 5. Shi TZ, Yan JL: Therapeutic effect of carboplatin and etoposide combinative therapy on 123 lung cancer cases. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi Sep*;16(5): 384-386, 1994.
 6. Baytop T: Therapy with Medicinal Plants in Turkey. 2nd Edition, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1999, p: 320.
 7. Akgül A: Baharat Bilimi & Teknolojisi. Birinci Baskı, Ankara, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 15, Ankara, 1993, pp:137-139.
 8. Zeybek N: Medical Plants of Turkey (I. The North-Eastern "Pontus" of Anatolia). First Edition, İzmir, Ege Üniversitesi Matbaası, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Neşriyatı No: 8, 1960, p: 28.
 9. Ernst E: The Desktop Guide to Complementary and Alternative Medicine. Mosby, Toronto, 2001, p: 168.
 10. Özçelikay G, Şar S, Asil E: 1989-1995 yılları arasında Sağlık Bakanlığı tarafından bitkisel ilaçlar için verilen ithal ve üretim ruhsatları üzerine bir çalışma. XI. BIHAT, 22-24 Mayıs 1997 Ankara, Bildiri kitabı. Ed: Coşkun M, Ankara Üniv Ecz Fak Yay No: 75: 482-490.
 11. Mimica-Dukic N, Kujundzic S, Sokovic M, Couladis M: Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. obtained by different distillation conditions. *Phytother Res Apr*;17(4): 368-371, 2003.
 12. Aridogan BC, Baydar H, Kaya S et al: Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Arch Pharm Res Dec*;25(6): 860-864, 2002.
 13. Kim DH, Ahn YJ: Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. *Pest Manag Sci Mar*;57(3) :301-306, 2001.
 14. El Bardai S, Lyoussi B, Wibo M, Morel N: Pharmacological evidence of hypotensive activity of *Marrubium vulgare* and *Foeniculum vulgare* in spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Hypertens May*;23(4): 329-343, 2001.
 15. Ruberto G, Baratta MT, Deans SG et al: Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Med Dec*;66(8): 687-693, 2000.
 16. Malini T, Vanithakumari G, Megala N, Anusya S, Devi K, Elango V: Effect of *Foeniculum vulgare* Mill. seed extract on the genital organs of male and female rats. *Indian J Physiol Pharmacol Jan-Mar*;29(1): 21-26, 1985.
 17. Chakurski I, Matev M, Koichev A et al: Treatment of chronic colitis with an herbal combination of *Taraxacum officinale*, *Hipericum perforatum*, *Melissa officinalis*, *Calendula officinalis* and *Foeniculum vulgare*. *Vutr Boles* 20(6): 51-54, 1981.
 18. Özbek H: *Foeniculum vulgare* Mill. (rezene) meyvesi uçucu yağının lethal doz 50 (LD₅₀) düzeyi ve sağlıklı ve diyabetli farelerde hipoglisemik etkisinin araştırılması. *Van Tıp Dergisi*, 9(4): 98-103, 2002.
 19. Özbek H, Uğraş S, Dülger H et al: Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil. *Fitoterapia* 74(3): 317-319, 2003.
 20. Özbek H, Bayram İ, Öztürk M, Taş A, Urgan İ, Erdoğan E, Kösem M, Öztürk A: Investigation of effectiveness of volatile oil of *Foeniculum vulgare* in prevention of carbon tetrachloride-induced liver injury. 5th International Congress of Turkish Society of Toxicology, p: 164, Antalya-TURKEY.
 21. Özbek H, Taş A, Ceylan E et al: Fareler üzerinde *Foeniculum vulgare* Miller (rezene) meyvesi uçucu yağ ekstresinin analjezik etkisinin araştırılması. 5. Ulusal Veteriner İç Hastalıkları Kongresi, p: 184, Van-TÜRKİYE.
 22. Chabner BA, Allegra CJ, Curt GA, Calabresi P: Antineoplastic agents, In: Goodman Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th ed. Edited by Hardman GJ, Limbird Lee E, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG. International edition, The McGraw-Hill Companies, 1996, p: 1237.
 23. Holland HK, Dix SP, Geller RB et al: Minimal toxicity and mortality in high-risk breast cancer patients receiving high-dose cyclophosphamide, thiotepa, and carboplatin plus autologous marrow/stem-cell transplantation and comprehensive supportive care. *J Clin Oncol Apr*;14(4): 1156-1164, 1996.
 24. Ghalie R, Williams SF, Valentino LA et al: Tandem peripheral blood progenitor cell transplants as initial therapy for metastatic breast cancer. *Biol Blood Marrow Transplant Nov*;1(1): 40-46, 1995.
 25. Jones RB, Shpall EJ, Ross M et al. High-dose carboplatin, cyclophosphamide, and BCNU with autologous bone marrow support: excessive hepatic toxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 26(2): 155-156, 1990.
 26. Demirer T, İlhan O, Mandel NM et al: A phase I dose escalation study of high-dose thiotepa, melphalan and carboplatin (TMCb) followed by autologous peripheral blood stem cell

- transplantation (PBSCT) in patients with solid tumors and hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant* Apr;25(7): 697-703, 2000.
27. Welborn JL, Kopecky KJ, Meyers FJ et al: Carboplatin infusion in relapsed and refractory acute myeloid leukemia—a Southwest Oncology Group trial. *Leukemia* Jul;9(7): 1126-1129, 1995.
 28. Chu G, Mantin R, Shen YM et al: Massive cisplatin overdose by accidental substitution for carboplatin. Toxicity and management. *Cancer* Dec 15;72(12): 3707-3714, 1993.
 29. Ettinger LJ, Krailo MD, Gaynon Pset al: A phase I study of carboplatin in children with acute leukemia in bone marrow relapse. A report from the Childrens Cancer Group. *Cancer* Aug 1;72(3): 917-922, 1993.
 30. Wiedemann GJ, d'Oleire F, Knop E et al: Ifosfamide and carboplatin combined with 41.8 degrees °C whole-body hyperthermia in patients with refractory sarcoma and malignant teratoma. *Cancer Res* Oct 15;54(20): 5346-5350, 1994.
 31. Bacha DM, Caparros-Sison B, Allen JA et al: Phase I study of carboplatin (CBDCA) in children with cancer. *Cancer Treat Rep* Jul;70(7): 865-869, 1986.
 32. Ettinger LJ, Ivy P, Gaynon PS et al: A phase II study of carboplatin as a treatment for children with acute leukemia recurring in bone marrow: a report of the Children's Cancer Group. *Cancer* Jul 15;80(2): 311-316, 1986.
 33. Welborn JL, Kopecky KJ, Meyers FJ et al: Carboplatin infusion in relapsed and refractory acute myeloid leukemia--a Southwest Oncology Group trial. *Leukemia* Jul;9(7): 1126-1129, 1995.
 34. Hannemann J, Duwe J, Baumann K: Iron- and ascorbic acid-induced lipid peroxidation in renal microsomes isolated from rats treated with platinum compounds. *Cancer Chemother Pharmacol* 28(6): 427-433, 1991.
 35. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V: *Biyostatistik*, 10. baskı, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi, 2002, pp: 76-86.