Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi
dergipark.gov.tr/tutad
Araştırma Makalesi / Research Article

Turk J Agric Res
2018, 5(2): 125-130
© TÜTAD
ISSN: 2148-2306
e-ISSN: 2528-858X
doi: 10.19159/tutad.378717

Siklofosfamid Nedenli Hematoksisite Üzerine Karvakrolün Sitoprotektif Etkileri

Mustafa CENGİZ[1*], Öznur YEŞİLDAĞ[2], Adnan AYHANCI[2]

[1]*Siirt Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Matematik ve Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü, Siirt, TÜRKİYE*

[2]*Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir, TÜRKİYE*

Geliş Tarihi/Received: 14.01.2018 **Kabul Tarihi/Accepted:** 19.04.2018

ORCID ID (Yazar sırasına göre / by author order)
orcid.org/0000-0002-6925-8371 orcid.org/0000-0001-6800-7450 orcid.org/0000-0003-4866-9814
*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: mustafacengizogu@gmail.com

Özet: Siklofosfamid (SP) klinikte kanser ve malign olmayan hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan alkilleyici sitotoksik bir ilaçtır. Ancak yüksek doz SP, kan ve kemik iliğinde toksisiteye neden olmaktadır. Bu çalışma, deneysel olarak oluşturulmuş hematoksisitede uçucu yağların temel bileşeni olan ve antioksidan özellikleri bilinen karvakrol (KAR)'ün kan ve kemik iliğinde olası koruyucu etkilerini saptamak amacıyla yapılmıştır. Çalışma, Sprague-Dawley cinsi 63 adet erkek sıçan, her grupta 7 hayvan olacak şekilde 9 gruba ayrılmıştır. Anestezi altında intrakardiyak kan alımı yapıldıktan sonra sıçanların femurundan kemik iliği çıkarılmıştır. İntraperitonal (i.p.) SP uygulaması doz artışına paralel olarak sırasıyla lökosit (% 77, % 86), trombosit (% 30, % 35) ve kemik iliği çekirdekli hücre sayılarını (% 82, % 94) azalttı. Siklofosfamid ile birlikte 5 ve 10 mg kg^{-1} KAR verilen deney gruplarındaki lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayılarının sadece SP verilen gruplara göre önemli bir oranda arttığı görülmüştür ($p<0.001$). Siklofosfamid nedenli myelosupresyon ve hematoksisitenin önlenmesinde 10 mg kg^{-1} KAR, 5 mg kg^{-1} karvakrole göre daha koruyucu olmuştur. Veriler, KAR dozunun belirli oranlarda değiştirilmesiyle, artan SP dozuna karşı daha güçlü bir koruyucu etkinliğin sağlanabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Siklofosfamid, hematoksisite, karvakrol, hücre koruyucu

Cytoprotective Effects of Carvacrol on Cyclophosphamide Induced Hematoxicity

Abstract: Cyclophosphamide (CP) is an alkylating cytotoxic drug commonly used clinically for the treatment of cancer and non-malignant diseases. However, high doses of CP causes blood and bone marrow toxicity. This study was conducted to investigate the possible protective effects of carvacrol (CAR), which is the basic component of essential oils and has antioxidant properties, in blood and bone marrow in experimental hematoxicity. In the study, 63 male Sprague-Dawley rats were divided into 9 groups as 7 animals in each group. After receiving intracardiac blood from animals under anesthesia, the bone marrow from the femur of the rats was carefully removed. Intraperitoneal (i.p.) CP administration reduced leukocyte (77%, 86%), thrombocyte (30%, 35%) and bone marrow nucleated cell counts (82%, 94%), respectively, parallel to the dose increase. Leukocyte, thrombocyte and bone marrow nucleated cell counts in CP and 5 and 10 mg kg^{-1} CAR administered groups was significantly increased ($p<0.001$) compared to the CP alone. In the prevention of CP-induced myelosuppression and hematoxicity, 10 mg kg^{-1} CAR was more protective than 5 mg kg^{-1} CAR. The data suggest that by modifying the CAR dose at certain ratios, a stronger protective effect against the increased CP dose can be achieved.

Keywords: Cyclophosphamide, hematoxicity, carvacrol, cell protective

1. Giriş

Kemoterapi kanser tedavisinde, neoplastik hastalığın sürecini yavaşlatmak, geriletmek ya da durdurmak amacıyla antineoplastik ilaç kullanılmaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan antineoplastik ilaçların bazılarının kansere neden olduğu gerek insanlar üzerinde yapılan gözlemler gerekse hayvan deneylerinde kanıtlanmıştır (Fairchild ve ark., 1979; Ehrenfried ve ark., 1997). Antineoplastik ilaçların en fazla karsinojenik olanları alkilleyici (Siklofosfamid, karmustin, klorambusil, prokarbazin vb.) tipte olanlarıdır (Kayaalp, 1989). Alkilleyici ilaçların kemoterapide dozunu kısıtlayan en önemli etkisi ise bağışıklık baskılayıcılığıdır (Pool ve ark., 1988). Alkilleyici ilaçların immunosupressif etkilerine bağlı olarak lökopeni, trombositopeni ve lenfopeni gelişmektedir. Bu durum onların yüksek dozda ve/veya daha sık kullanılmasıyla daha güçlü bir terapötik etkinliğin sağlanmasını engeller (Kalaycıoğlu ve ark., 1995).

Siklofosfamid, kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan güçlü bir ilaçtır. Siklofosfamid; akut ve kronik lösemi, meme kanseri, multiplemyeloma, lenfoma, romatoidartrit tedavisinde ve kemik iliği nakillerinde sıkça kullanılır (Kumar ve Kuttan, 2004; Senthilkumar ve ark., 2006). Siklofosfamidinin başlıca yan etkileri hematopoietik depresyon, hemorajik sistit ve renal toksisitedir. Siklofosfamid, hematoksisite, ürotoksisite, teratojenite, mutajenite, karsinojenite ve kemik iliğinin baskılanması gibi düşündürücü toksik etkilere sahiptir (Kumar ve Kuttan, 2004).

Siklofosfamidinin iki aktif metaboliti fosforamid mustard ve akroleindir. Siklofosfamidin antineoplastik etkileri fosforamid mustard ile ilişkilidir. Fosforamid mustardın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, siklofosfamidinin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. Siklofosfamidin toksik etkisi aktif metaboliti olan akrolein ile ilgilidir. Akrolein doku antioksidan savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest oksijen radikali oluşumuna yol açar ve memeli hücreleri için mutajeniktir (Kawabata ve ark., 1990). Akrolein kaynaklı oluşan serbest radikaller; enzim, reseptör, iyon pompaları gibi moleküllerle birleşerek onların fonksiyonlarını bozarlar. Neoplastik hastalıklarda, SP kemoterapisi boyunca, Akroleinin toksik yan etkilerinden kaçınmak için bazı antioksidan ajanlar kullanılarak bu toksik etkilerin giderilmesi gerekir (Senthilkumar ve ark., 2006).

Siklofosfamidin toksik etkilerini önleyerek daha yüksek dozlarda kullanılmasına olanak sağlayan yöntemler geliştirilmiş ise de halen ilaç uygulama sistemleri daha duyarlı olabilecek metotların arayışı içindedir (Ayhanci ve ark., 2008). Son zamanlarda yapılan çalışmalar bazı fenolik bileşiklerin hücre koruyucu etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur.

Kekik yağının ve kekik suyunun ana bileşiği olan karvakrolün lipozom fosfolipidlerinin peroksidasyonunu inhibe ettiği ve çeşitli sentetik antioksidanlardan çok daha yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Uçucu bir monoterpen olan bu bileşik; antimikrobiyal, antifungal, doğal gıda koruyucu ve memelilerde yaşlanmayı geciktirici özelliklere sahiptir (Tran ve ark., 2006). Ayrıca karvakrolün güçlü bir antimutajenik ve antitümör etkilerinin olduğu ileri sürülmüştür (İpek ve ark., 2005).

Bu çalışmada, sıçanlarda deneysel olarak oluşturulmuş SP nedenli kan ve kemik iliği toksisitesine karşı karvakrolün olası koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Kimyasal maddeler ve gruplar

Çalışmada, % 99 saflıktaki KAR (Carvacrol Catalogue No: 282197-% 98) ve SP (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany) ticari olarak temin edilmiştir. Kimyasal madde enjeksiyonları i.p. olarak verilmiş ve sadece SP verilen 1 ve 2 gruptaki hayvanlar SP enjeksiyonundan 6 gün sonra anestezi edilmiştir. Siklofosfamid ile birlikte KAR verilen gruplarda KAR uygulamasına SP uygulamasından 3 gün önce başlanmış ve deney süresince devam edilmiştir. Daha sonra, 4. gün hayvanlar tekrar tartılarak, uygulanacak SP dozu belirlenmiş ve böylece 4. gün KAR+SP verilmiş; 7. gün hayvanlar anestezi edilerek kan ve kemik iliği alınmıştır (Ayhanci ve ark., 2008) (Etik Kurul No: 236-1/2011).

2.2. Deney grupları

Deney hayvanları arasından rastgele seçimle her birinden 7'şer sıçan olmak üzere kontrol dâhil toplam 9 grup oluşturulmuştur (Tablo 1).

2.3. Anestezi ve cerrahi uygulamalar

Tüm deneysel çalışmalar steril ortamda ve steril cerrahi aletler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ketamin/rompun (50/10 mg kg^{-1}) ile anestezi edilmiş hayvanlardan intrakardiyak kan alımı yapılmıştır. Kan örneklerinin 1/5'lik kısmı sitratlı tüplere konularak, Hemavet 850 marka ve model kan sayım cihazının sıçan kalibrasyonunda sayımı yapılmıştır (Sanz ve ark., 1998).

Tablo 1. Karvakrol ve siklofosfamid deney gruplama uygulama dozları ve günleri

Gruplar	Günler						
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Kontrol	SF	SF	SF	SF	SF	SF	Kesim
Grup 1	SF	SF	SF	100 mg kg^{-1} SP	SF	SF	Kesim
Grup 2	SF	SF	SF	150 mg kg^{-1} SP	SF	SF	Kesim
Grup 3	5K	5K	5K	5K	5K	5K	Kesim
Grup 4	10K	10K	10K	10K	10K	10K	Kesim
Grup 5	5K	5K	5K	5K + 100 mg kg^{-1} SP	5K	5K	Kesim
Grup 6	5K	5K	5K	5K + 150 mg kg^{-1} SP	5K	5K	Kesim
Grup 7	10K	10K	10K	10K + 100 mg kg^{-1} SP	10K	10K	Kesim
Grup 8	10K	10K	10K	10K + 150 mg kg^{-1} SP	10K	10K	Kesim

SF: Serum fizyolojik, 5K: 5 mg kg^{-1} KAR, 10K: 10 mg kg^{-1} KAR

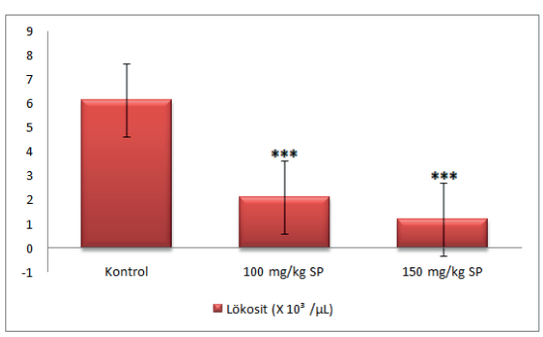
Kan alımından sonra hafif ketamin/rompun anestezisi ile öldürülecek hayvanların bir femuru kaslarından iyice temizlenerek ortaya çıkarılmıştır (Uyar ve ark., 1990). Kemik iki ucundan kesilerek bir pens yardımı ile tutularak, enjektördeki serum fizyolojik femurun bir ucundan basınçla fışkırtılarak iliğin tamamının tüpün içine geçmesi sağlanmıştır. Toplam 5 mL serum fizyolojik kemik iliği içeren dereceli tüpteki hücrelerin dağılımının homojen olması için aynı enjektör ile tüp içindeki hücreli sıvı birkaç kez çekilip boşaltılmıştır. Bu işlemler yapılırken sıvının köpürmemesine dikkat edilmiştir. Kemik iliği içeren tüpler 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek ve süpernatan enjektör ile alınmıştır. Dereceli tüpte 2 mL serum fizyolojik ile hücreleri içeren bu karışım tekrar enjektör ile birkaç kez çekilip boşaltılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra kan parametreleri sayımında olduğu gibi kemik iliği hücreleri de kan sayım cihazında sayılarak elde edilen veriler kaydedilmiştir (Ayhanci ve ark., 2008).

2.4. İstatistiksel değerlendirmeler

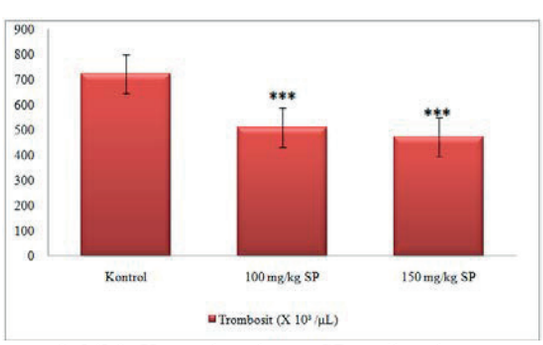
Çalışma sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde "SPSS 18.0 for Windows" versiyonu bilgisayar paket programı kullanılmıştır. Kan serumlarında analizi yapılacak olan periferik kan hücreleri (lökosit ve trombosit) ve kemik iliği hücre sayımından elde edilen veriler; gruplar arasındaki farklılık durumları "Kruskal Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks" ile değerlendirilmiştir. Tüm istatistik uygulamalar sonucunda sayısal değer (p) olarak ortaya çıkan deney grupları arasındaki farklar, $p<0.001$ olduğunda anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

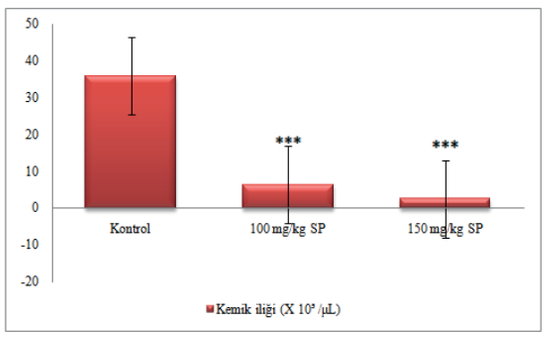
Bu çalışmada, siklofosfamidinin toksik aktivitesi ve koruyucu ajana (KAR) bağlı gelişen değişikliği belirlemek için periferik kan hücrelerini (lökosit, trombosit) ve kemik iliği çekirdekli hücrelerinin sayısal varyasyonlarındaki değişimleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada, sadece 100 ve 150 mg kg^{-1} SP uygulanan hayvanların lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayılarında sırası ile kontrole göre belirgin azalmaların olduğu kaydedilmiştir ($p<0.001$). Özellikle 150 mg kg^{-1} SP uygulanan deney grubuna ait lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısında sırasıyla % 85, % 34, % 94'e varan azalmalar meydana gelmiştir (Şekil 1, 2 ve 3). Gerek kemik iliğinde gerekse deperiferik kanda yapılan incelemelerden elde edilen bulgular, daha önce yapılan deneysel çalışmalarda araştırıcılar tarafından ileri sürülen bulgulara benzerlik gösterdiği görülmüştür.



Şekil 1. Kontrol grubu ve SP verilen deney gruplarının lökosit sayılarının ($x10^3$ μL^{-1}) ortalama değerlerinin karşılaştırılması
***: $p<0.001$ önemli farklılık



Şekil 2. Kontrol grubu ve SP verilen deney gruplarının trombosit sayılarının ($x10^3$ /µL) ortalama değerlerinin karşılaştırılması
***: $p<0.001$ önemli farklılık



Şekil 3. Kontrol grubu ve SP verilen deney gruplarının kemik iliği hücre sayılarının (x10^3 µL^{-1}) ortalama değerlerinin karşılaştırılması
***: p<0.001 önemli farklılık

Nitekim, deneysel bir çalışmada 20 ve 40 mg kg^{-1} siklofosfamidin sıçanlarda dalak ve kemik iliğinde mutajen etki gösterdiği belirtilmiştir (Moore ve ark., 1995). Benzer bir çalışmada, Trasler ve ark. (1987) yaptıkları deneysel çalışmalarında, SP uygulanan farelere ait kemik iliği çekirdekli hücre sayısı ve kemik iliğinde üretilen eritrosit ve lökosit sayılarında azalma meydana geldiği, yüksek doz SP uygulandığında ise, eritrosit ve lökosit sayılarına olan etkilerinin ise çok şaşırtıcı olduğunu rapor etmişlerdir.

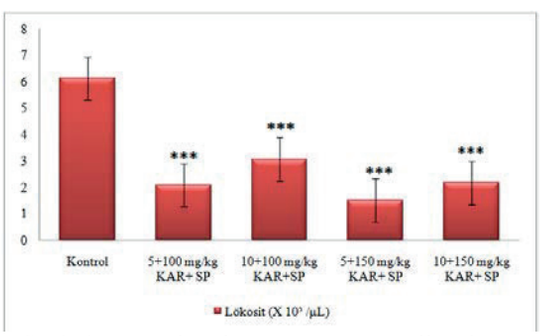
Siklofosfamid kemoterapisi esnasında, toksik yan etkilerinden korunmak için bazı antioksidan ajanlar kullanılarak bu toksik etkilerin bertaraf edilmesi gerekmektedir. Siklofosfamidin toksik etkilerini önleyerek daha yüksek dozlarda kullanılmasına olanak sağlayan yöntemler geliştirilmiş ise de halen arzulanan seviyelere gelinememiştir (Ayhanci ve ark., 2008). Son zamanlarda doğal fenolik bileşiklerin bedende oynadıkları rolün anlaşılması için yapılan birçok deneysel ve klinik çalışmalar mevcuttur. Bu fenolik bileşiklerden biri de karvakroldur. Karvakrol; güçlü bir antimutajenik ve antitümör etkilerinin yanısıra (İpek ve ark., 2005), çok güçlü bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu ve bu nedenle sentetik antioksidan katkı maddelerinin yerine kullanılabileceği düşünülmektedir (Aechbach ve ark., 1994). Siklofosfamidin sağlıklı hücrelere olan toksisitesini önlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiş olmasına rağmen, normal hücrelerde SP toksisitesini KAR ile önlemeyi amaçlayan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu çalışmada, 5 ve 10 mg kg^{-1} KAR verilen gruplarda kemik iliği çekirdekli hücre sayıları kontrollerinden farklı bulunmazken ($p>0.05$) trombosit sayıları her 2 grupta da kontrollerinden biraz yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Trombosit sayısının bir miktar artışı olası kanamaya karşı bir önlem olabilir. Diğer taraftan sadece 10 mg kg^{-1} KAR verilen grupta lökosit sayısı % 50'nin üzerinde bir artış göstermiştir (Yeşildağ, 2012) ($p<0.001$). Bu durum yüksek doz karvakrolün lökositoz yapabileceği anlamına gelmektedir. Nitekim bu grubun kemik iliği çekirdekli hücre sayılarında da istatistiksel açıdan anlamlı olmasa da bir artış gözlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Karvakrol (5 ve 10 mg kg^{-1}) verilen deney grupları ve bunların kontrol gruplarının lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücrelerinin ortalama değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

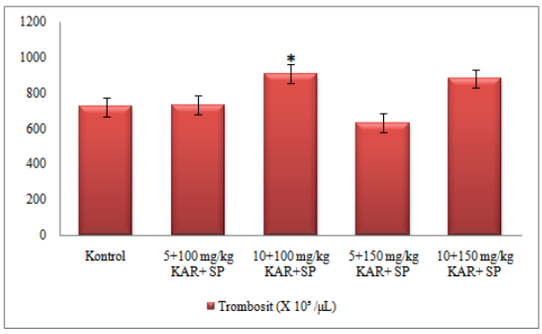
Gruplar (n= 7)	Lökosit (x 10^3 mm^{-3})	Trombosit (x 10^3 mm^{-3})	Kemik iliği (x 10^3 µL^{-1})
Kontrol	6.126 ± 0.562	722.286 ± 50.146	35.909 ± 1.134
5 mg kg^{-1} KAR	6.777 ± 0.210	913.429 ± 22.890*	34.937 ± 2.699
10 mg kg^{-1} KAR	9.671 ± 0.808***	936.286 ± 62.449*	37.891 ± 2.441

*: p<0.05 düzeyinde farklılık; ***: p<0.001 düzeyinde farklılık

Çalışmada, 100+5 ve 150+5 mg kg^{-1} KAR+SP verilen gruplar kontrol grubuna göre lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayıları bakımından karşılaştırıldığında sayısal bir azalma gösterirken sadece SP (100 ve 150 mg kg^{-1}) verilen gruplara göre ise sırasıyla % 77 ve % 85 oranında bir artış görülmüştür (Şekil 4 ve 5). Bu artışlar lökosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayılarında istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0.001$), trombosit sayıları bakımından anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Kemik iliği çekirdekli hücre sayılarındaki artış periferik kandaki lökositlere de yansımıştır. Benzer şekilde 10 mg kg^{-1} KAR aynı dozlardaki SP ile kullanıldığında, 10 mg kg^{-1} KAR, siklofosfamidinin oluşturduğu kemik iliği depresyonunu ve dolayısıyla



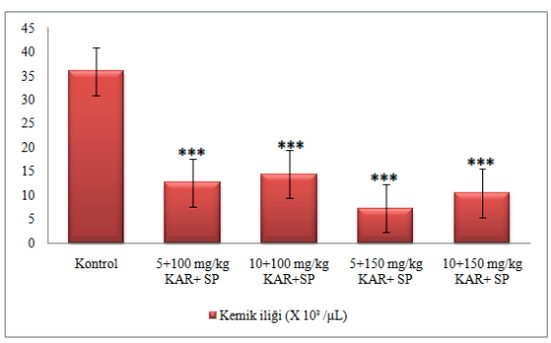
Şekil 4. Kontrol grubu ve KAR+SP verilen deney gruplarının lökosit sayılarının (x10^3 µL^{-1}) ortalama değerlerinin karşılaştırılması
***: p<0.001 önemli farklılık



Şekil 5. Kontrol grubu ve KAR+SP verilen deney gruplarının trombosit sayılarının ($x10^3$ μL^{-1}) ortalama değerlerinin karşılaştırılması

*: p<0.05 önemli farklılık

lökopeniyi 5 mg kg^{-1} karvakrolden daha fazla azaltmıştır (Şekil 6). Bulgularımız, karvakrolün 10 mg kg^{-1}'lık dozunun 5 mg kg^{-1}'a göre hematoksisiteyi azaltmada daha etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, karvakrolün antioksidan ve sitoprotektif etkileri olduğu yönündeki literatür bildirimlerine uygunluk göstermektedir.



Şekil 6. Kontrol grubu ve KAR+SP verilen deney gruplarının kemik iliği hücre sayılarının ($x10^3$ μL^{-1}) ortalama değerlerinin karşılaştırılması

***: p<0.001 önemli farklılık

4. Sonuçlar

Çalışmamızda, karvakrolün, kemik iliği veya kan hücreleri üzerine toksik etkisi belirlenmemiştir. Ancak SP, doza bağlı olarak kemik iliği, lökosit ve trombositler üzerine toksik etki yaptığı görülmüştür. Bununla birlikte, doza bağlı olarak KAR, siklofosfamidin toksik etkisinden periferik kan hücreleri ve kemik iliğini koruyabildiği belirlenmiştir. En iyi iyileşme 100 mg kg^{-1} SP+10 mg kg^{-1} KAR verilen grupta kaydedilmiştir. Bulgularımız, uygun konsantrasyonda karvakrolün SP nedenli oluşan hasarın önlenmesi ve tedavisinde potansiyel etkili bir partner olabileceği fikrini güçlendirmektedir.

Kaynaklar

Aechbach, R., Löliger, J., Scott, B.C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B., Aruoma, O.I., 1994. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxy tyrosol. *Food Chemical Toxicology*, 32(1): 31-36.

Ayhanci, A., Uyar, R., Aral, E., Kabadere, S., Appak, S., 2008. Protective effect of zinc on cyclophosphamide-induced hematoxicity and urotoxicity. *Biological Trace Element Research*, 126(3): 186-193.

Ehrenfried, J.A., Ko, T.C., Thompson, E.A., Evers, B.M., 1997. Cell cycle-mediated regulation of hepatic regeneration. *Surgery*, 122(5): 927-935.

Fairchild, W.V., Spencer, C.R., Solomon, H.D., Gangai, M.P., 1979. The incidence of bladder cancer after cyclophosphamide therapy. *Journal of Urology*, 122(2): 163-164.

İpek, E., Zeytinoğlu, H., Okay, S., Tüylü, B.A., Kürkcüoğlu, M., Başer, K.H.C., 2005. Genotoxicity and antigenotoxicity of origanum oil and carvacrol evaluated by ames Salmanella/microsomal test. *Food Chemistry*, 93(3): 551-556.

Kalaycıoğlu, M.E., Lichtin, A.E., Andrese, S.W., Tuason, L., Bolwell, B.J., 1995. High-dose busulfan and cyclophosphamide followed by autologous bone morrow transplantation and/or peripheral blood progenitor cell rescue for metastatic breast cancer. *American Journal of Clinical Oncolology*, 18(6): 491-494.

Kawabata, T.T., Chapman, M.Y., Kim, D.H., Stevens, W.D., Holsapple, M.P., 1990. Mechanism of in vitro immunusuppression by hepatocyte generated cyclophosphamide metabolites and 4-hydroxi cyclophosphamide. *Biochemical Pharmacology*, 40(5): 927-935.

Kayaalp, S.O., 1989. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Feryal Matbaacılık, Ankara.

Kumar, K.B.H., Kuttan, R., 2004. Chemoprotective activity of an extract of phyllanthus amarus against cyclophosphamide-induced toxicity in Mice. *Phytomedicine*, 12(6-7): 494-500.

Moore, F.R., Urda, G.A., Krishna, G., Theiss, J.C., 1995. An invivo/invitro method for assessing micronucleus and chromosome aberration induction in rat bone morrow and spleen. 1. Studies with cyclophosphamide. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 335(2): 191-199.

Pool, B.L., Bos, R.P., Niemeyer, U., Theuws, J.L.G., Schmalhl, D., 1988. Invitro/invivo effect of mesna on the genotoxicity and toxicity of cyclophosphamide a study aimed at clarifying theultmechanim of mesna's anticarsinogenic activity. *Toxicology Letters*, 41: 49-56.

Sanz, N., Fernandez, C.D., Simon, L.F., Alvarez, A.,

Cascales, M., 1998. Necrogenic and regeneratives responses of liver of newly weaned rats against a sublethal dose of thioacetamide. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1384(1): 66-78.

Senthilkumar, S., Devaki, T., Manohar, B.M., Babu, M.S., 2006. Effect of squalene on cyclophosphamide-induced toxicity. *Clinica Chimitica Acta*, 364(1-2): 335-42.

Tran, T., Casabianca, H., Loustalot, M.F.G., 2006. Deuterium/hydrogen ratio analysis of thymol, carvacrol, gamma-terpinene and p-cymene in thyme, savory and oregano essential oils by gas chromatography-pyrolysis-isotoperatio mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1132(1-2): 219-27.

Trasler, J.M., Hales, B.F., Robaire, B., 1987. A time-course study of chronic paternal cyclophosphamide treatment in rats: Effects on pregnancy outcome and the male reproductive and hematologic systems. *Biology of Reproduction*, 37(2): 317-326.

Uyar, R., Bayçu, C., Gürer, F., Erol, K., Cingi, M.Ġ., Özdemir, M., Alpan, R.S., 1990. Metotreksat'ın kemik iliğindeki toksisitesini verapamil ile azaltılabilir mi? *Osmangazi Tıp Dergisi*, 18(1): 29-39.

Yeşildağ, O., 2012. Siklofosfamid nedenli hematoksisite üzerine karvakrol'ün sitoprotektif etkileri. Yüksek lisans tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.