

T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA BLEOMİSİNE BAĞLI GELİŞEN AKCİĞER  
FİBROZİSİNDE TADALAFİL VE TELMİSARTANIN  
FİBROZİS ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF TADALAFIL AND  
TELMISARTAN ON BLEOMYCIN INDUCED PULMONARY  
FIBROSIS**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. İlke Onur KAZAZ**

**TRABZON 2013**

T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA BLEOMİSİNE BAĞLI GELİŞEN AKCİĞER  
FİBROZİSİNDE TADALAFİL VE TELMİSARTANIN  
FİBROZİS ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF TADALAFIL AND  
TELMISARTAN ON BLEOMYCIN INDUCED PULMONARY  
FIBROSIS**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. İlke Onur KAZAZ**

**Tez Danışmanı: Prof.Dr. Güner Kemal ÖZGÜR**

**TRABZON 2013**

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1.1 Testis Kanserleri Giriş.....	2
2.1.2 Etiyoloji.....	2
2.1.3 Epidemiyoloji .....	2
2.1.4 Klinik Bulgular .....	3
2.1.5 Histopatolojik Sınıflama.....	4
2.1.6 Tanı.....	5
2.1.7 Evreleme.....	7
2.1.8 Tedavi.....	8
2.1.9 İzlem.....	8
2.2 Bleomisin ve Bleomisine bağlı Akciğer Hasarı.....	9
2.3 Tadalafil.....	10
2.4 Telmisartan.....	12
3. MATERYAL ve METOD .....	14
3.1 Deney Hayvanları .....	14
3.2 Deney Grupları ve Yapılan İşlemler .....	14
3.3 Histopatolojik İnceleme .....	16
3.4 İstatiksel Analiz .....	16
4. BULGULAR .....	17
5. TARTIŞMA .....	23
6. SONUÇ .....	27
7. ÖZET.....	28
8. SUMMARY.....	29
9. KAYNAKLAR .....	30

## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Bleomisin *Streptomyces verticillustan* izole edilen antitümöral bir antibiyotiktir. Testis tümörleri gibi germ hücreli tümörler, baş ve boyunun skuamöz hücreli kanserleri, serviks, özafagus, Hodgkin ve non-Hodgkin lenfoma gibi çok çeşitli malignitelerin tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılır.

Bleomisin tedavisinin majör sınırlayıcı komplikasyonu ilacı kullanan hastaların %10'unda görülen, potansiyel olarak mortal seyredabilen interstisyel akciğer fibrozisidir. Daha az olarak organize pnömoni ve hipersensitivite pnömonisi yapabilir (1).

Fosfodiesteraz-5 inhibitörleri cGMP yıkımını engelleyerek dokularda nitrik oksitin etkisini arttıran ilaçlardır. Özellikle erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan bu ilaçların çeşitli dokularda antifibrotik etkiler gösterdikleri yapılan çalışmalarla ortaya konmuş olup Sildenafil'in bleomisine bağlı akciğer fibrozisinde etkili olabileceği yönünde veriler Yıldırım A. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada elde edilmiştir (2). Antihipertansif ajanlar olan Angiotensin II reseptör blokerinin kalp, böbrekler ve karaciğer gibi dokularda antiapoptotik ve antifibrotik etkileri olduğu bilinmektedir (3). Bu çalışmada bir Fosfodiesteraz -5 inhibitörü olan Tadalafil ve Angiotensin II reseptör blokörü olan Telmisartan'ın bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisi üzerine koruyucu etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 .1 Testis Kanseri Giriş

Testiküler malignansiler 15-35 yaş arası erkeklerde görülen en sık solid tümörler olmasına rağmen erkek popülasyonda görülen tüm solid tümörlerin ancak %1'ini oluşturur (4). Tümörlerin yaklaşık %95'i germinal dokudan kaynaklanır. Testisin germ hücreli tümörleri pür seminom ve nonseminomatöz germ hücreli tümörler olarak sınıflandırılırlar (5,6).

### 2.1.2 Etiyoloji

Testis tümörlerinin bilinen kesin bir nedeni olmamakla beraber, germ hücreli tümörlerin etyolojisinde hem konjenital hem de edinsel faktörlerin önemli olduğu bilinmektedir. Bu faktörler içinde de en güçlü ilişkiyi kriptorşidizm (inmemiş testis) göstermektedir. Testis tümürlü hastaların % 7-10'unda kriptorşidizm hikayesi vardır. Kriptorşidizmi olanlarda ise 5-15 misli daha fazla testis tümörüne yakalanma riski vardır. Ünilateral kriptorşidizmi ve testis tümörü olanlarda karşı testiste %5 - 15 tümör (sıklıkla seminom) görülebilmektedir. Malignite riski en yüksek intraabdominal testiste, inguinal testiste ise en düşüktür. İnmemiş testisin skrotum içine indirilmesi (orşiopeksi), muayene ve tümör tanımlanmasının kolaylaştırmakla beraber malignite potansiyelini değiştirmemektedir.

Gebelik sırasında dietilstilbestrol veya östrojen içeren oral kontraseptif kullanımı, fetusta testis tümörü rölatif insidansını %2.8-%5.3 artırmaktadır. Nonspesifik enfeksiyon veya kabakulak enfeksiyonu ile ilişkili testis atrofi veya travma gibi edinsel faktörlerin lokal hormonal dengesizliklere yol açarak malign transformasyona neden olduğu düşünülmektedir.

### 2.1.3 Epidemiyoloji

Testis tümörü insidansı ırk, ülke ve sosyoekonomik düzey ile değişiklik göstermektedir. En sık İskandinav ülkelerinde, en az ise Afrika ve Asya'da görülmektedir. 25-35 yaşları

arasında en sık görülen solid tümördür. En fazla görülen histolojik tip seminomun pik yaşı 35-39 yaşları arasındadır. Embriyonal karsinom ve teratokarsinom 25-35 yaşları arasında, koryokarsinom ise 20-30 yaşları arasında sık görülmektedir. Yolk sak tümör ve pür benign teratomlar erken çocukluk döneminde sık görülmekle beraber, bu iki histolojik tip diğer histolojik tiplerle kombine şekilde daha ileri yaşlarda görülür. Malign testiküler lenfomalar 50 yaşından sonra daha sık olup sağ testiste, yüksek kriptoorşidizm insidansına paralellik göstererek sola göre biraz daha sık görülür. Primer testis tümörleri yaklaşık %2-3 bilateraldir ve bu eş zamanlı veya farklı zaman dilimlerinde ortaya çıkabilmektedir. Bu tümörlerin yaklaşık %50'sinde tek veya çift taraflı inmemiş testis öyküsü bulunmaktadır. Bilateral testis tümörlerinden en sık görülen germ hücreli tümör seminomdur. Ancak en sık rastlanılan bilateral tümör malign lenfomadır.

İlk önce insitu intratübüler neoplazi gelişir ve sonunda testiküler parankimin bir kısmını veya tamamını kaplar. Tunika albuginea, epididim ve kord tutulumunu engeller. Pür seminom hastalarının 2/3-3/4'ünde testise lokalizedir. NSGCT'lü hastaların 2/3'ünde ise tanı konulduğunda metastaz vardır. Lenfatik dağılım vasküler dağılımdan önce olmaktadır. Erken vasküler invazyon pure koryokarsinomda görülmektedir. Akciğer, karaciğer ve kemikler vasküler invazyonun sık görüldüğü organlardır. Orşiektomi sonrasında testise lokalize olduğu düşünülen vakalarda % 30 organ dışı tutulum vardır (% 80 retroperitoneal, %20 uzak organ). Yetişkinlerde rastlanan tüm germinal hücreli tümörler malign olarak kabul edilmeli ve tedavi edilmelidir. Bu hastalıkta spontan gerileme çok nadirdir ve hastalığa bağlı ölümlerin büyük çoğunluğu tanı konulduktan sonraki 3 yıl içerisinde olmaktadır (7,8).

#### **2.1.4 Klinik Bulgular**

Testis tümörleri çoğunlukla nodül veya gonadlarda büyüme ile sağlık kuruluşuna başvururlar. Bu, hasta veya cinsel partneri tarafından insidental olarak tespit edilir(9). Tipik olarak kitle serttir ve hassas değildir. Kolayca epididimden ayırt edilir. Hastaların %30-40'ı alt abdominal bölgede, anal bölgede veya skrotumda hafif sızlama yada ağırlık hissi ile başvurabilir. Hastaların %10'u testis içi kanama veya tümörle ilişkili epididimit nedeniyle akut ağrı ile başvururlar. Metastatik hastalığa bağlı olarak %10 hasta boyunda kitle (supraklaviküler lenf nodu metastazı), dispne gibi solunum problemleri, gastrointestinal metastazlara bağlı anoreksi ve bulantı-kusma, kemik ağrıları, santral ve periferik sinir sistemi

bulguları ve hatta iliak veya vena kava obstruksiyonuna bağlı olarak tek taraflı yada bilateral alt ekstremite ödemi ile karşımıza gelebilir. Retroperitoneal hastalığı gözden kaçırmamak için batin muayenesi dikkatli bir biçimde yapılmalıdır. Özellikle Leydig hücreli ve Sertoli hücreli tümörlerde olmak üzere diğer germ hücreli tümörlerde de jinekomasti olabileceği akılda tutulmalıdır (10,11).

### 2.1.5 Histopatolojik Sınıflama

**Tablo1. Testis Tümörlerinde Histopatolojik Sınıflama**

<b><u>Primer neoplaziler</u></b>	<b><u>Sekonder neoplaziler</u></b>
1. <i>Germinal neoplaziler</i> (%90 - %95)	1.Retiküloendotelial neoplaziler
a. Seminom (%40)	2.Metastaz
(1) Klasik (tipik)	<b><u>Paratestiküler neoplaziler</u></b>
(2) Anaplastik	1. Adenomatoid
(3) Spermatoisitik	2. Epididim kistadenomu
b. Embriyonal karsinom (%20 - %25)	3. Mezenşimal neoplaziler
c. Teratom (%5 - %10)	4. Mezotelyoma
(1) Matür	5. Metastaz
(2) İmmatür	
d. Koryokarsinom (<%1)	
e. Yolk sak tümörü ( endodermal sinüs tümörü)	
f. Mikst hücre tipi ( en sık teratokarsinom)	
(%40)	
2. <i>Nongerminal neoplaziler</i>	
a. Özel gonadal stromal tümörler	
(1) Leydig hücreli tümör	
(2) Diğer gonadal stromal tümörler	
b. Gonadoblastom	
c. Diğer neoplaziler	
(1) Karsinoid	
(2) Adrenal rest tümör	
(3) Mezenkimal neoplaziler	
(4) Rete testisin adenokarsinomu	

## 2.1.6 Tanı

Solid, sert intratestiküler kitlelere aksi ispat edilene kadar testis tümörü gibi yaklaşılmalıdır. Genç popülasyon daha çok etkilendiğinden ayırıcı tanıda mutlaka düşünülmelidir. Tanıda temel görüntüleme yöntemi olarak kullanılan transskrotal ultrasonografi testisteki intraparenkimal kitlenin varlığını gösterebilmekte ve diğer selim süreçlerden (hidrozel ve epididimit) ayırt edebilmektedir ve aynı anda diğer testiste incelenebilmektedir. İnguinal (radikal) orşiektomi: Primer lezyonun en iyi şekilde çıkarılması, spermatik kordun internal ringe yakın yerden klemplenip testisin tümünün çıkarılmasıyla olmaktadır. Nadir vakalarda eksplorasyon ve frozen biopsi gerekebilmektedir. İnguinal lenfatiklerin kontaminasyonu açısından skrotal yaklaşımdan kaçınılmalıdır. Tanı konulduktan sonra olası metastaz alanları göz önünde bulundurularak standart AC grafisi ve retroperitoneal bölge CT'si çekilmelidir (7,8).

Tümör belirleyicileri:

$\beta$ -hCG (human koryonik gonadotropin): Normal yetişkin erkeklerde seviyesi çok düşüktür. Bazı germ hücreli tümörlerde sinsiyotrofoblastik dokular bu maddeyi üretir. Bu nedenle koryokarsinomların tümünde, embriyonal hücreli karsinomlarda %40-60 ve pür seminomlarda %7 oranında tespit edilebilmektedir. Seminomlarda nadiren normalin 2 katının üzerine çıkarlar.

AFP (alfa fetoprotein): Bir onkofetal protein olup testis ve karaciğer tümörlerinde tespit edilirler. Yarı ömrü 5-7 gündür. Embriyonel karsinom, teratom, teratokarsinom, yolk sak tümörlerinde yükselirken pür seminomlarda ve koryokarsinomlarda yükselmez.

LDH (Laktat dehidrogenaz): LDH normalde 5 izoenzimi olan hücresel bir enzimdir. Kas dokusunda, karaciğerde, böbrek ve beyinde bulunur. Testis tümörü için spesifik değildir, ancak tümörün büyüklüğü hakkında fikir verebilmektedir. İleri evre seminomların ve tümör belirleyicileri yükselmeyen persistan nonseminomların takibinde rolü olabileceği düşünülmektedir.

Plasental alkalin fosfataz: İleri evre tümörlerde yükselbilmektedir. Yoğun sigara içenlerde de yükseldiği bilinmektedir.

Gama Glutamil Transpeptidaz: Hepatoselüler enzimdir ve sıklıkla karaciğerin benign ve malign hastalıklarında yükselmektedir. Seminomlarda değeri yükselbilmektedir.



Sonuç olarak tüm evreler göz önüne alındığında, nonseminomatöz tümörlerin %90'ında tümör belirleyicilerin biri veya ikisi yükselmektedir. %50-70 hastada AFP, %40-60 hastada ise  $\beta$ -hCG yükselmektedir. Tedavi sonrası tümör belirleyicilerinin seviyesi yarılanma ömürlerine göre düşüş gösterir. Seviyenin yüksek kalması veya düşmedeki yavaşlık rezidüel hastalığı düşündürürken normale düşmesi tedavide kür sağlandığı anlamına gelmemektedir (12).



### 2.1.8 Tedavi (orşiektomi sonrası)

Seminom: Seminomların çoğunluğu lokaldir ve radyoterapiye çok duyarlıdırlar. Evre 1 seminomlu hastalarda radikal orşiektomi sonrası retroperitoneal radyoterapi (2500-3000 cGy) önerilmektedir. Düşük evreli hastalarda kür oranı % 99'a ulaşmaktadır. Seminom ayrıca platinum içeren kemoterapi kombinasyonlarına da duyarlıdır ve radyoterapi sonrası kurtarma tedavisi olarak kemoterapi uygulanmalıdır. Daha ileri evrelerde ve AFP yükselmesine neden olan büyük kitlelerde öncelikle kemoterapi uygulanmalıdır. Sıklıkla kemoterapi sonrası kitleler fibrozise uğrar . Ancak halen rezidüel kitle varsa cerrahi tedavi yapılmalıdır. Halen günümüzde seminomların tümüne 3 kür BEP veya 4 kür sisplatin + etoposid verilmektedir.

Nonseminomatöz germ hücreli tümör: Evre 1 hastalığı olanlarda standart ve en iyi tedavi RPLND 'dur. Erken evre hastalıkta hastaların %75'i yalnızca orşiektomi ile iyileşir. RPLND transabdominal veya torakoabdominal yaklaşımla olabilmektedir. Bu şekilde tedavi edilen hastaların sadece %10'unda nüks görülmektedir ve bunların tamamı yakını takibi ve tedavisi kolay olan akciğerdedir. Bu yaklaşımla kür oranı %99'dur. Orşiektomi sonrası başka bir tedavi yapılmaksızın yoğun takip edilen hastalarda 4 yıl içinde nüks oranı %30 dur (akciğer ve retroperiton). RPLND'nin uzun dönemdeki major komplikasyonu sempatik sinir liflerinin zedelenmesine bağlı olarak ejakülasyon problemleri ve infertilitedir. Geliştirilen cerrahi tekniklerle morbidite oranının minimuma indirilmesine çalışılmaktadır. Yüksek evreli büyük retroperitoneal kitlesi olan hastalarda Platinum içeren kemoterapi kombinasyonları bu tümörlerin tedavisinde çığır açmıştır. Kullanılan tedavi protokolleri sisplatin + vinkristin + bleomisin (PVB) veya vinblastin + siklofosamid + daktinomisin + bleomisin + sisplatin (VAB-6) şeklindedir. Kemoterapi sonrası rezidüel kitleye yönelik cerrahi yapılmalıdır (7,8).

### 2.1.9 İzlem

Hastaların tümü düzenli takip altında tutulmalıdır. Hastalar olası lenf nodu metastazları ve nüks intraabdominal kitle nedeniyle dikkatli fizik muayeneye tabi tutulmalıdırlar. Laboratuvar araştırmaları içinde tam kan sayımı ve tümör marker düzeylerine (AFP,  $\beta$ HCG, LDH) bakılmalıdır. Akciğer metastazına yönelik akciğer radyogramı çekilmeli ve daha seyrek olarak da abdominal BT ile batın içi nüks araştırılmalıdır.

## 2.2 Bleomisin ve Bleomisine bağlı Akciğer Hasarı

Bleomisin 1966 yılında Umezewa ve arkadaşları tarafından *Streptomyces verticillustan* izole edilen antitümöral bir antibiyotiktir. Bleomisin lenfoma, germ hücreli tümör ve baş-boyun kanserleri gibi çeşitli malignensilerin tedavisinde kullanılan sitotoksik bir antibiyotiktir. İlaç deri ve akciğerlerde birikir; major toksisitesini de bu organlar üzerinde gösterir. Kullanımının sınırlı olması onun potansiyel pulmoner toksisitesinden kaynaklanır. Bleomisinin indüklediği akciğer hasarının toplam insidansı %3'ten %40'a kadar değişir. Bu ilacı alan hastaların %1-2'si pulmoner toksisite sonucu hayatlarını kaybederler (13,14).

Diğer çoğu kemoteropatiklerden farklı olarak BLM ile ilişkili pulmoner toksisite, hasarlanma mekanizması, inflamasyon hayvan modellerinde yaygın olarak çalışılmıştır. Bütün ilaç indüklü bozukluklarda uygulanabilir olmamasına rağmen bleomisin kemoteropatiklerin akciğeri nasıl hasarladığına dair iyi bir model teşkil eder. Bleomisinin neden olduğu akciğer hasarı oksidan bağımlı gibi görünmektedir. Bleomisinin süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen metabolitleri oluşturduğu bilinmektedir. Bu reaktif türler DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, akciğer prostoglandin sentezinde değişiklikler, degradasyon ve akciğer kollejen sentezinde artış gibi birçok etkisi vardır (14).

Hasarın major alanı tip1 alveolar epitelyal hücreler ve pulmoner kapiller endotelyal hücrelerdir. Alveolar epitellerdeki tip1 pnömosit hasarını tip 2 pnömosit hiperplazisi ve displazisi izler. Hava kirliliği gibi inhalasyon toksinlerinin neden olduğu akciğer hasarına göre sitotoksik ilaç indüklü akciğer hasarında tamir süreci daha geç işler. Sonuçta önce granülositlerin, sonra da lenfosit, eozinofil ve plazma hücreleriyle infiltrasyon, inflamasyon ve sitokin salınımıyla sonuçlanır (14).

Bleomisinin indüklediği akciğer hastalığının patogenezinde; Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-1, IL-5, IL-6, platelet derived growth factor (PDGF) ve çeşitli kemokin sitokinler gibi çok çeşitli sitokinler rol oynarlar, TGF- $\beta$ , IL-1 ve TNF- $\alpha$  bu tip hasarda rol oynayan önemli örneklerdir. Bleomisinle tedavi edilen farelerde TGF- $\beta$  mRNA alveolar makrofajlarda birikirler; anti TGF- $\beta$  antikorlarının uygulanması ilaç indüklü pulmoner cevapları minimize eder. Benzer olarak bleomisin duyarlı IL-1 ve TNF- $\alpha$  artmış miktarda üretilir ve IL-1 reseptör antagonistleri, anti-TNF antikorları ve çözünür TNF reseptörleri bleomisin indüklü pulmoner fibrozisi azaltır (14).

Bleomisin uygulamasını takiben gelişen hasar, inflamasyon ve sitokin disregülasyonunun sonucu olarak fibroblastlar aktive olur. Fibroblast ve miyofibroblast üretimi artar, kollejen degradasyonu inhibe olduğunda kollejen üretimi artar ve fibrozis gelişir. Sonuçta sitotoksik ilaç indüklü pulmoner hasarın görüntüsü interstisyel inflamasyon ve fibrozistir (14).

### 2.3 Tadalafil

Tadalafil erektil disfonksiyon ve pulmoner arteryel hipertansiyon tedavisinde kullanılan bir PDE5 enzim inhibitörüdür. 2003 yılında FDA, diğer PDE5 enzim inhibitörleri olan sildenafil sitrat ve vardenafilden sonra tadalafilin erektil disfonksiyon tedavisinde kullanımına onay vermiştir. 2011 yılında benign prostat hiperplazisinin semptomatik tedavisinde kullanılmak üzere FDA onayı almıştır. Eretil disfonksiyon tedavisinde 5 mg, 10 mg, ve 20 mg dozlarda, pulmoner arteryel hipertansiyon tedavisinde 40 mg dozlarda kullanılmaktadır. Eretil disfonksiyon hastalarında uygulandıktan 30 dakika sonra etkindir; fakat zirve etkinliği yaklaşık 2 saat sonra ortaya çıkar. Ortalama yarı ömrü 17,5 saattir ve etkinliği 36 saat boyunca devam eder. Etkinliği besinlerden etkilenmez ve önerilen başlangıç dozu ED tedavisinde 10 mg dır ve hastanın yan etki profiline göre doz ayarlaması yapılır (15,16).

Baş ağrısı, yüz kızarması, baş dönmesi, dispepsi ve nazal konjesyon PDE5 inhibitörlerinin sık görülen yan etkileridir. Sildenafil ve vardenafil ile hastaların %2'den azında görme bozuklukları saptanmışken, tadalafil ile hastaların %6'sında sırt ağrısı ve kas ağrısı saptanmıştır. Ancak, yan etkiler genellikle hafif seyretmektedir, sürekli kullanım durumunda bir süre sonra kaybolmaktadır ve yan etkilere bağlı tedaviyi bırakma oranı plasebo ile benzerdir. Nitrat veya nitrik oksit donörleri (Amyl nitrat vb.) kullanan hastalar PDE5 inhibitörleri kullanmamalıdır. PDE5 inhibitörleri ve nitratlar cGMP üzerinden vazodilatasyon yaparlar. Birlikte kullanımı kan basıncında klinik olarak önemli düşüslere neden olup fatal seyredebilir. Bir hastada PDE5 inhibitörü kullanırken anjina gelişirse nitrogliserin yerine diğer antiaanjina ilaçları kullanılır veya uygun zamanın geçmesi beklenir (17,18,19).

Tüm PDE5 inhibitörlerinin klinik çalışma ve pazarlama sonrası verilerinde miyokard infarktüsü oranlarında artış gösterilememiştir. Hiçbir PDE5 inhibitörü stabil anjinası bulunan

erkeklerde efor testi sırasında toplam efor zamanını veya iskemiye kadar geçen zamanı olumsuz etkilememiştir. Gerçekte efor testlerini iyileştirme olasılıkları vardır (20,21).

Genelde PDE5 inhibitörünün yan etki profili hasta çoklu antihipertansif ajan almakta iken bile kötüleşmemektedir. Tüm PDE5 inhibitörlerinin alfa-blokerler ile etkileşebileceği ve bazı koşullar altında ortostatik hipotansiyon ortaya çıkabileceği görülmektedir. Tadalafil tamsulosin dışındaki alfa blokerleri alan hastalarda kontraindikedir (22,23).

Ereksiyon, korpus kavernozumdaki Nitrik Oksit miktarının artması sonucu aktive olan cGMP yolağı sonucunda oluşur. PDE5 enzimi korpus kavernozum düz kasında yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve cGMP'deki fosfodiester bağlarını hidrolize ederek cGMP'yi yıkar, kavernoza dokudaki cGMP düzeylerini düşürür. PDE5 enzim inhibisyonu cGMP yıkımını engeller ve konsantrasyonunu arttırarak penil ereksiyon oluşumuna neden olur. Damarlarda ve korpus kavernozumda artan cGMP sonucu kavernoza düz kas relaksasyonu, seksüel stimülasyon sonrası erektil cevabın oluşmasını, kolaylaştırır. Seksüel stimülasyon ve nitrik oksit salınımı PDE5 inhibitörlerinin erektojenik etkisi için gereklidir (24,25).

PDE5 inhibitörlerinin antifibrotik ve iskemi reperfüzyon injurisindeki iyileştirici etkileri, yapılan klinik çalışmalarda çeşitli dokularda çalışılmıştır. Iacono ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada sildenafilin fibroblastlar üzerinde antiproliferatif etki göstererek radikal prostatektomi yapılan hastalarda kavernoza fibrosis üzerine koruyucu etkileri olduğunu göstermişlerdir (26). Yine bir başka çalışmada bir PDE5 inhibitörü olan sildenafilin gastrik kan akımı üzerine olumlu etkiler göstererek indometasine bağlı gastropati oluşumu üzerine iyileştirici etkileri olduğu gözlenmiştir (27). Yıldırım A. ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada bleomisine bağlı akciğer fibrozisi oluşturulan ratlarda sildenafil sitrat uygulanmasının lipid peroksidasyonunu önleyerek, sitokin üretimini azaltarak ve nötrofil birikimini azaltarak fibrosis üzerine olumlu etkilerinin olduğunu göstermişlerdir (2). Biz de yaptığımız bu çalışmada bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisinde bir başka PDE5 inhibitörü olan tadalafilin histopatolojik etkilerini araştırmayı planladık.

## 2.4 Telmisartan

Telmisartan esansiyel hipertansiyon tedavisinde kullanılmak üzere lisanslandırılmış bir nonpeptid yapıda anjiotensin II reseptör antagonistidir. Bazı diğer anjiotensin II reseptör antagonistleri kandesartan, irbesartan, losartan ve valsartandır.

Telmisartan selektif olarak anjiotensin II AT<sub>1</sub> reseptör subtipini etkilerken kardiyovasküler regülasyonda görev alan diğer reseptör sistemlerini etkilemez (28). AT II ile uyarılan yüksek kan basıncını 80 mg dozunda tamamen inhibe eder. Telmisartan bradikinini de azaltan anjiotensin konverting enzimini (kininaz II) inhibe etmez (29).

Telmisartan sağlıklı gönüllülerde 40 mg oral alımından bir saat sonra hızlıca emilerek pik plazma konsantrasyonu olan 44,7 µg/L seviyesine ulaştığı gösterilmiştir. (28). Bununla beraber emilim miktarı değişkenlik gösterebilir. Telmisartanın ortalama mutlak biyoyararlanımı yaklaşık %50 kadardır (29). Kararlı durum plazma konsantrasyonlarına yaklaşık 7 günde ulaşır (28). Plazma proteinlerine %99 oranında bağlanırken, dağılım hacmi yaklaşık 500 L'dir. Telmisartan farmakolojik aktivitesi bulunmayan glukuronide konjuge olarak metabolize edilir (29). Telmisartan, ortalama eliminasyon yarı ömrü yaklaşık olarak 24 saat olup, kandesartandan 9 saat, irbesartandan 11-15 saat, losartandan 6-9 saat ve valsartandan 6 saat daha uzundur (30).

Telmisartan kan ilaç düzeyinin en düşük olduğu ve kardiyovasküler olay riskinin en yüksek olduğu son 4 saati de içeren (sabah erken kan basıncı) tüm gün 24 saat kan basıncı kontrolünü sağladığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (31,32). Sistolik/diyastolik kan basıncı 120/70 mmHg üstünde olan hipertansiyon hastalarında günlük 40 mg, 130/100 mmHg üstünde olan hipertansiyon hastalarında günlük 80 mg önerilir.

Telmisartan iyi tolere edilebilen bir ilaçtır. Baş ağrısı, üst solunum yolu enfeksiyonu, ağrı, sırt ağrısı, halsizlik, ishal, sinüzit, grip benzeri semptomlar, dispepsi, myalji, öksürük, göğüs ağrısı, üriner sistem enfeksiyonları, mide bulantısı, farenjit ve karın ağrısı yaptığı rapor edilmiştir . Öksürük ACE inhibitörlerine göre oldukça düşük orandadır (33).

Anjiotensin II reseptör blokörlerinin bleomisinle indüklenen akciğer fibrozisindeki etkilerini araştırmak için çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Waseda ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bir anjiotensin II reseptör blokörü olan olmesartan medoksemilin bleomisinle oluşturulan akciğer fibrozisindeki etkilerini araştırmış ve olumlu sonuçlar bulmuşlardır (3).

Yine bir başka anjiotensin II reseptör antagonisti olan losartanın bleomisine indüklenen akciğer fibrozisi üzerindeki olumlu etkileri Li X. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda gösterilmiştir (34). Otsuka ve arkadaşları yapmış oldukları bir başka çalışmada da candesartan cilexetilin bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisini azalttığını ortaya koymuşlardır (35). Biz de çalışmamızda telmisartanın akciğer fibrozisi üzerindeki etkilerini araştırdık.



### **3. MATERYAL ve METOD**

Ratlarda Bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisinde tadalafil ve telmisartanın fibrozis üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakóltesi Cerrahi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Bölümü Laboratuvarı ve Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekteşirilmiştir. Çalışma öncesinde Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakóltesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

#### **3.1. Deney Hayvanları**

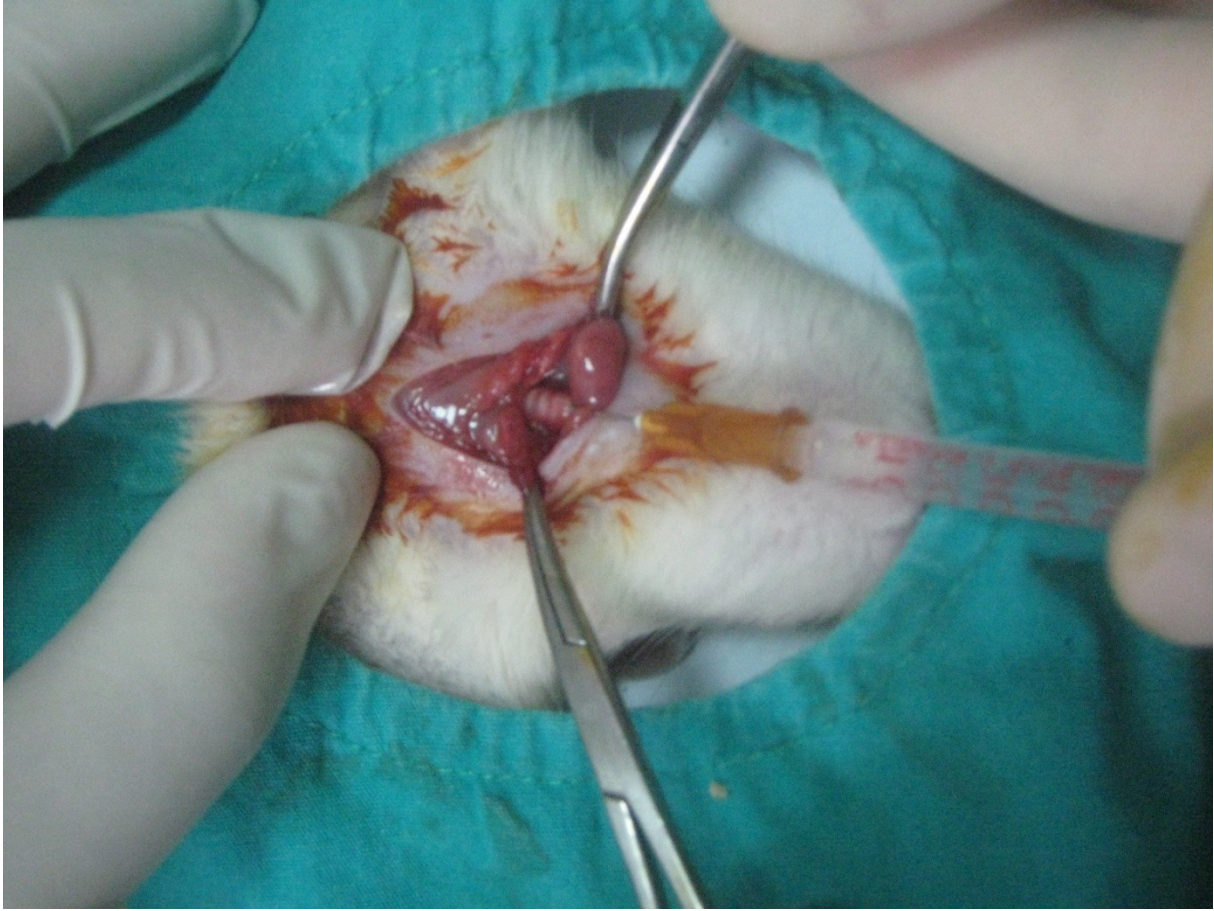
Çalışmada kullanılan Sprague Dawley cinsi, 250-350 gr ağırlığındaki ratlar Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakóltesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Toplam 32 adet rat ağırlıklarına göre homojenize edilmiş ve her bir grupta sekiz adet rat olacak şekilde dört gruba ayrılmıştır. Cerrahi Araştırma Merkezi'nden sağlanan 32 adet rat adaptasyon süreci için bir hafta önce kafeslerine alınarak standart biçimde beslenmiştir. Kafesleri, oda sıcaklığı 24-27o C arasında tutulup, 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ışıklar ayarlandı.

#### **3.2. Deney Grupları ve yapılan işlemler**

Çalışmada kullanılacak 32 adet Sprague Dawley rat ,8 rattan oluşan 4 gruba ayrıldı. Gruplardan 3 tanesi ilaç grubu, 1 tanesi ise kontrol grubu yapıldı. 1.grup kontrol grubu, 2. grup bleomisin grubu, 3. grup bleomisin ve tadalafil grubu, 4. grup bleomisin ve telmisartan grubu olarak ayrıldı.

Tüm gruplarda intratrakeal bleomisin ve intratrakeal steril serum fizyolojik uygulama günü 0. gün olarak kabul edildi. Bleomisin ve steril serum fizyolojik uygulaması anestezi altında yapıldı. Anestezi için 1 mg/kg xyalzine ile 0.5 ml/kg dozunda ketamin aynı enjektöre çekilerek intraperitoneal olarak uygulandı. Daha sonra ratların refleksleri kontrol edilerek anesteziye girmeleri beklendi. Bu sürede bleomisinin 15 mg flakon formu steril serum fizyolojik içinde çözdürüldü. Anestezi altındaki ratların boyun ön bölgesi orta hat kesisi ile açıldı, cilt altı dokular klemp yardımı ile dikkatlice ekarte edilerek trakeaya ulaşıldı. Trakea

içerisine 100 u'lık insülin enjektörü ile girilerek kontrol grubuna intratrakeal 0,2 mL steril serum fizyolojik verildi. Diğer gruplara da hazırlanan bleomisin 5 mg/kg dozunda intratrakeal olarak uygulandı. Bleomisinin ve steril salinin akciğere tam ulaşabilmesi için ratların kafa kısmı yukarı kaldırılarak 30 sn kadar beklendi. İşlem bittikten sonra kesi bölgeleri sütür ile kapatılarak, enfeksiyon gelişmemesi yönünden günlük antiseptik iyotlu solüsyon ile silinerek yara bakımı yapıldı.



**Resim 1. Deneğe anestezi altında intratrakeal yolla bleomisin uygulanması**

Ardından kafeslerine alınan deney hayvanlarına ilaçları ve fizyolojik serumları her 24 saatte bir oral gavaj yolu ile verildi. Kontrol grubu (Grup 1) ve bleomisin grubuna (Grup 2) 14 gün süreyle oral gavaj ile fizyolojik sıvı verildi. 3. gruba 14 gün süreyle oral gavajla 10 mg/kg dozunda serum fizyolojik içinde süspansiyon haline getirilen tadalafil uygulandı. 4. Gruba ise 14 gün süreyle oral gavajla 10 mg/kg dozunda serum fizyolojik içinde süspansiyon haline

getirilen telmisartan uygulandı. Tüm ilaç uygulamaları her sabah aynı saatte (08:00'de) yapıldı. 14 gün süren bu deney tamamlandığında bir günlük aradan sonra organların izolasyonu için ratlar yüksek doz ketamin ile sakrifiye edilmiştir. Torakoabdominal orta hat insizyon ile girilerek ratların sağ ve sol akciğerleri çıkarılmıştır. Akciğerler hassas terazi ile tartılıp sağ akciğerler %10 formaldehit içinde patoloji laboratuvarına teslim edilmiştir.

### 3.3 Histopatolojik İnceleme

Sağ akciğerler %10 formalinde fikse edilip parafin blok haline getirildi ve 3 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler Hematoksilen-Eozin (HE) ve fibrozisin değerlendirilmesi bakımından Masson Trichrom (MT) boyası ile boyandı. Fibrozisin derecelendirilmesi; MT ile boyalı kesitlerde X 100'lük büyütmede rastgele seçilen 10 alanda Ashcroft skorlamasına (36) göre 0-8 arasında derecelendirildi (tablo 3).

**Tablo 3: Akciğer fibrozisinin derecelendirilmesi**

Derece	Histolojik özellik
Grade 0	Normal akciğer
Grade 1	Alveolar ya da bronşial duvarda minimal fibröz kalınlaşma
Grade 3	Akciğer yapısında hasar olmaksızın duvarda orta derecede fibröz kalınlaşma
Grade 5	Akciğer yapısında hasarla birlikte artmış fibrozis, fibröz bant formasyonu veya küçük fibröz kitleler
Grade 7	Şiddetli hasar ve geniş fibrozis
Grade 8	Total fibröz obliterasyon

### 3.4. İstatiksel Analiz

Ağırlık ölçülmesi ile elde edilen veriler tek yönlü Anova istatistiksel analizi ile incelenmiştir. Diğer verileri değerlendirmek için ise Kruskal-Wallis Testi (post hoc olarak Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U Testi) kullanılmıştır. P değeri 0,05 olarak seçilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Ratlarda bleomisine bağılı gelişen akciğer fibrozisinde tadalafil ve telmisartanın fibrozis üzerine etkilerinin incelendiğı bu çalışmada tüm gruplardan alınan sağ ve sol akciğerler hassas terazi ile tartılmıştır. Sağ ve sol akciğer ağırlıkları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 4).

**Tablo 4. Tüm deneklerin sağ ve sol akciğer ağırlıkları**

	<b>Sağ akciğer Ağırlığı (mg)</b>	<b>Sol Akciğer Ağırlığı (mg)</b>
<b>Grup 1 (Kontrol Grubu)</b>		
Denek 1	1200	1100
Denek 2	1300	800
Denek 3	1100	1000
Denek 4	1000	800
Denek 5	1100	700
Denek 6	1500	1000
Denek 7	1000	600
Denek 8	900	600
<b>Grup 2 (Bleomisin Grubu)</b>		
Denek 1	1600	700
Denek 2	1500	900
Denek 3	1400	800
Denek 4	1300	1100
Denek 5	1700	1100
Denek 6	1100	900
Denek 7	1300	800
Denek 8	1500	800
<b>Grup 3 (Bleomisin ve tadalafil grubu)</b>		
Denek 1	2000	1000
Denek 2	1800	1300
Denek 3	1600	900
Denek 4	1200	800
Denek 5	1400	800
Denek 6	2500	400
Denek 7	1300	1000
Denek 8	1500	1000
<b>Grup 4 (Bleomisin ve telmisartan grubu)</b>		
Denek 1	1200	800
Denek 2	1400	1000
Denek 3	1500	1000
Denek 4	1100	1100
Denek 5	900	800
Denek 6	1600	1100
Denek 7	1400	1000
Denek 8	1200	1000

Dört gruptan elde edilen ağırlık verilerine göre hesaplanmış ortalama değer ve standart sapmalar aşağıdaki tabloda verilmiştir (tablo 5).

Tablo 5. Ağırlık verilerine göre hesaplanmış ortalama değer ve standart sapmalar

	Sağ akciğer (mg)	Sol akciğer(mg)
<b>Grup 1 (Kontrol Grubu)</b>	1138 ± 192	825 ± 191
<b>Grup 2 (Bleomisin Grubu)</b>	1425 ± 191	888 ± 146
<b>Grup 3 (Bleomisin ve tadalafil grubu)</b>	1663 ± 428	900 ± 256
<b>Grup 4 (Bleomisin ve telmisartan grubu)</b>	1288 ± 230	975 ± 116

Sağ akciğer ağırlık verileri Anova istatistiksel analizi ile değerlendirildiğinde aralarında fark olduğu görüldü (P = 0,0058). Sol akciğer ağırlık verileri Anova istatistiksel analizi ile değerlendirildiğinde aralarında fark olmadığı görüldü. Sağ akciğer ağırlık veri grupları için yapılan alt analizlerde kontrol grubu ve bleomisin grubu arasında veya bleomisin grubu ile bleomisin+tadalafil grubu arasında veya bleomisin grubu ile bleomisin+telmisartan grubu arasında fark ortaya konmadı. Farkın sadece bleomisin+tadalafil grubu ile kontrol grubu arasında olduğu ortaya çıkarıldı.

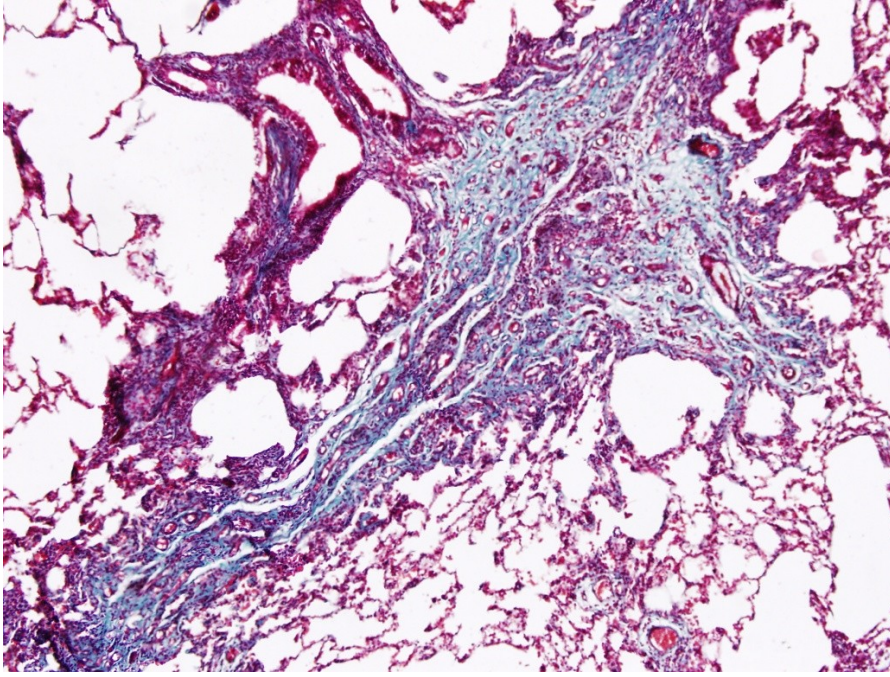
Deney gruplarındaki deneklerin histopatolojik değerlendirmelerinden elde edilen verilerin Ashcroft Skorlamasına göre fibrozis skorlaması aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. Deneklerin histopatolojik olarak fibrozis skorlaması

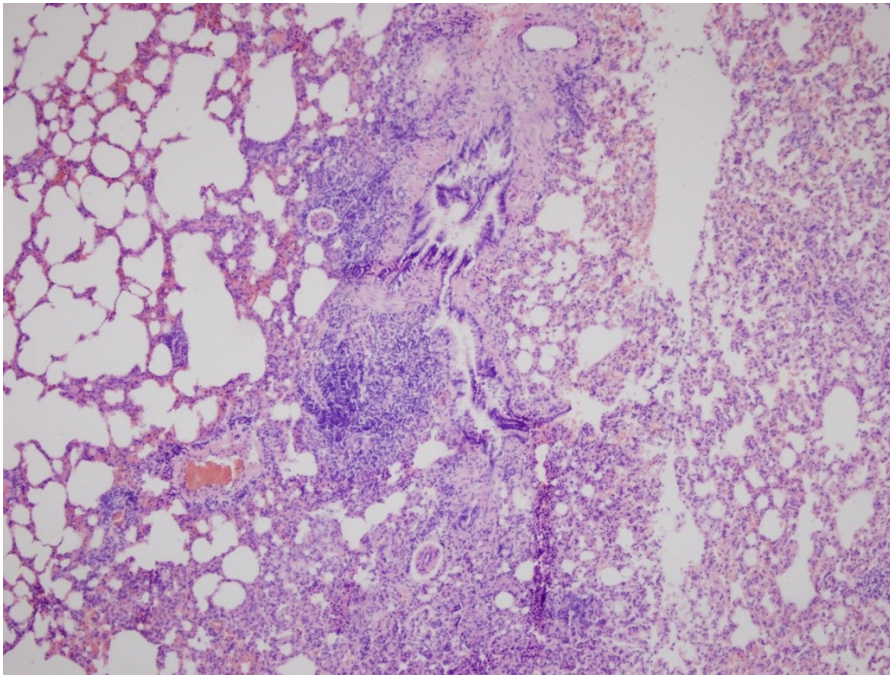
	Grup 1 (Kontrol Grubu)	Grup 2 (Bleomisin Grubu)	Grup 3 (Bleomisin ve tadalafil grubu)	Grup 4 (Bleomisin ve telmisartan grubu)
<b>Denek 1</b>	1	5	1	1
<b>Denek 2</b>	3	3	1	3
<b>Denek 3</b>	3	3	1	1
<b>Denek 4</b>	3	7	3	3
<b>Denek 5</b>	3	7	1	3
<b>Denek 6</b>	3	3	3	1
<b>Denek 7</b>	1	3	3	1
<b>Denek 8</b>	1	3	1	1

Deney grubundaki deneklerin sağ akciğer dokularının histopatolojik değerlendirmelerinden elde edilen veriler Kruskal-Wallis testi ile istatistiksel olarak

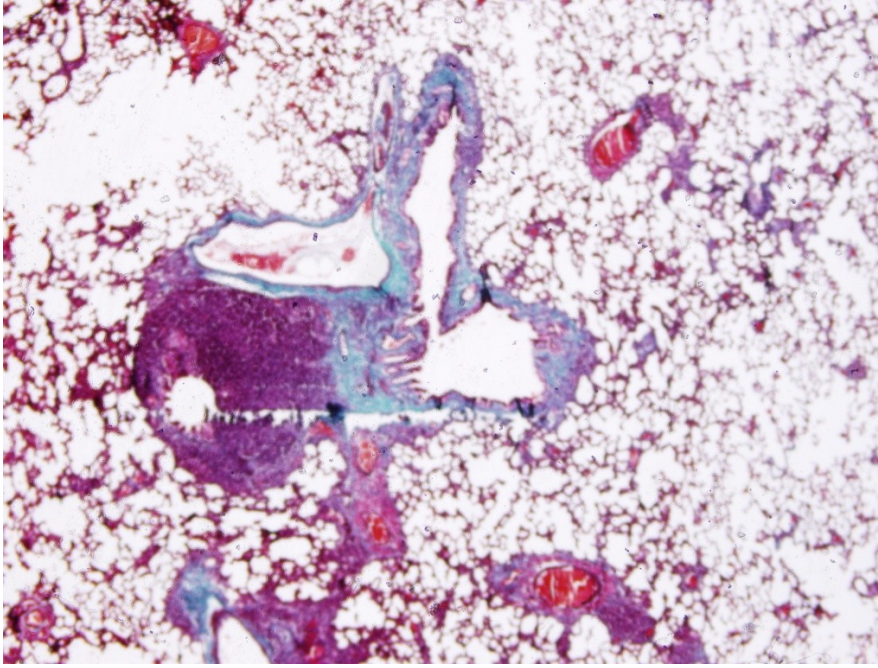
değerlendirilmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya konmuştur ( $P=0,0215$ ). Ardından grupların birbirleri ile kıyaslanması için Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. Kontrol grubu ile bleomisin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ( $P=0,0228$ ). Bleomisin grubu ile bleomisin+tadalafil grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $P=0,0059$ ). Bleomisin grubu ile bleomisin+telmisartan grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $P=0,0059$ ).



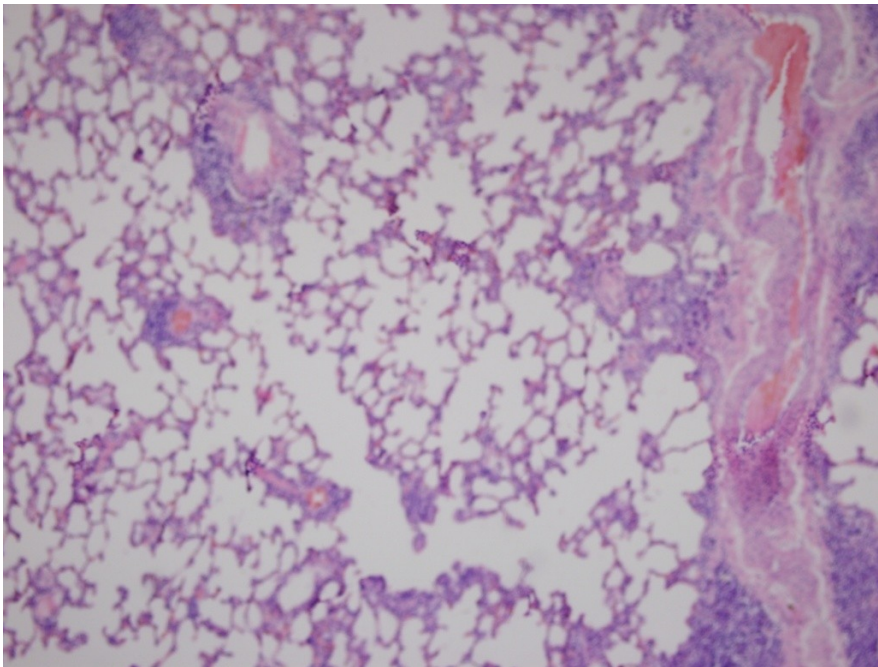
**Resim 2. Bleomisin grubuna ait denegin akciğerinden elde edilen kesitin Trikrom Masson ile boyanan histopatolojik görünümü**



**Resim 3. Bleomisin grubuna ait denegin akciğerinden elde edilen kesitin Hemotoksilen eosin ile boyanan histopatolojik görünümü**

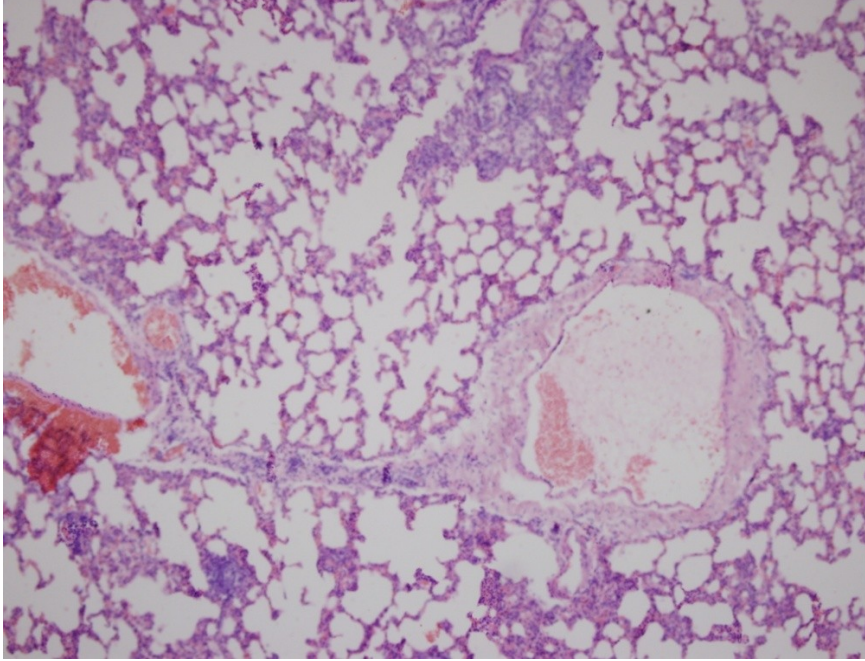


**Resim 4. Bleomisin ve tadalafil grubuna ait deneğin akciğerinden elde edilen kesitin Trikróm Masson ile boyanan histopatolojik görünümü**

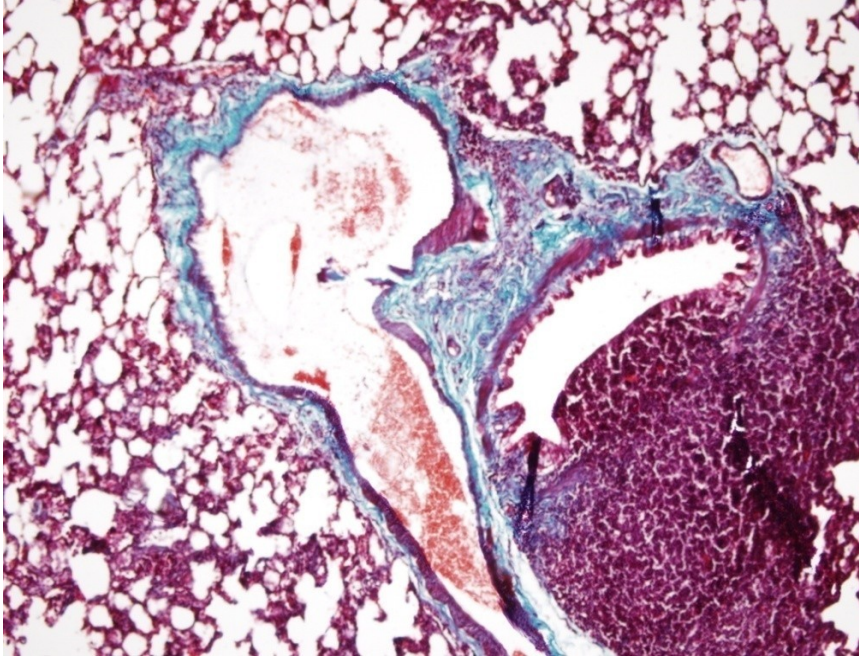




**Resim 5. Bleomisin ve tadalafil grubuna ait deneğin akciğerinden elde edilen kesitin Hemotoksilen eosin ile boyanan histopatolojik görünümü**



**Resim 6. Bleomisin ve telmisartan grubuna ait deneğin akciğerinden elde edilen kesitin Trikrom Masson ile boyanan histopatolojik görünümü**



**Resim 7. Bleomisin ve telmisartan grubuna ait deneğin akciğerinden elde edilen kesitin Hemotoksilen eosin ile boyanan histopatolojik görünümü**

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada telmisartan ve tadalafilin, bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisi üzerine etkileri incelenmiş olup, histopatolojik olarak telmisartan ve tadalafilin bleomisinle oluşturulan akciğer fibrozisinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.

Bleomisin 1966 yılında Umezewa ve arkadaşları tarafından *Streptomyces verticillustan* izole edilen antitümöral bir antibiyotiktir. Hodgkin ve non-Hodgkin lenfoma, germ hücreli tümörler, serviks, özefagus ve baş-boyunun epidermoid hücreli karsinomları gibi çeşitli malignensilerin tedavisinde kullanılmaktadır. Kullanımının sınırlı olması onun potansiyel pulmoner toksisitesinden kaynaklanır. Bleomisine bağlı bilinen pulmoner sendromlar; organize pnömoniyle beraber bronşiyolitis obliterans (BOOP), eozinofilik pnömoni ve sıklıkla görülen fibrozisle sonuçlanan interstisyel pnömonitistir. Hastaların yaklaşık %10'unda görülen hayatı tehdit edebilen interstisyel pulmoner fibrozis, bleomisin tedavisinde en korkulan ve doz kısıtlamalarına neden olan yan etkidir (37,38).

Bleomisin, +2 değerlikli demir ile kompleks yapar, demirin +3'e okside olmasına neden olur. Bu esnada serbest oksijen radikalleri meydana gelir ve DNA kırıkları ile hücre ölümüne neden olur. İlacın antitümör etkisi bu mekanizma ile olurken tümör anjiyogenezini de inhibe etmesi etkinliğine katkıda bulunur. İlaç intravenöz, intramusküler, subkütan ve intraplevral veya intraperitoneal olarak kullanılabilir. Böbreklerden itrah edilir. Bununla beraber daha çok karaciğer, dalak, kemik iliği ve barsaklarda bulunan bleomisin hidrolaz enzimi ile inaktive edilir (39-43). Bazen fatal yan etkilere yol açabilir. Bleomisin hidrolaz enziminin akciğerlerde ve ciltte olmaması nedeniyle major toksisitesini de bu organlar üzerinde gösterir (44).

Bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisi çeşitli hayvan deneylerinde çalışılmıştır. Hayvan deneylerinde geliştirilen akciğer fibrozisinde öncelikle endotelial hasara bağlı akciğer vaskularitesinin bozulması sonucu gelişen ödem gözlenmiştir. Bu durumu makrofajlar, lenfositler ve nötrofiller gibi inflamatuvar hücrelerinin akciğer parankimine göçü takip eder. Daha sonra da fibroblastların öncülük ettiği fibrozis gelişir (45). Pulmoner fibrozisin başlamasına neden olan primer endotelial hasarın mekanizması kesin olarak

bilinmemektedir, serbest radikaller ve sitokinlerin suçlu olabileceği düşünülmektedir (46). Oluşan fibrozisde transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-1 başta olmak üzere IL-5, IL-6, platelet derive edici growth factor (PDGF) ve çok çeşitli sitokinler rol oynar. Bleomisinle akciğer fibrozisi oluşturulan ratlarda TGF- $\beta$ , mRNA alveolar makrofajlarda birikir; anti TGF- $\beta$  antikorlarının uygulanması ilaç indüklü pulmoner cevapları minimize eder. Benzer olarak bleomisin duyarlı IL-1 ve TNF- $\alpha$  artmış miktarda üretilir ve IL-1 reseptör antagonistleri, anti-TNF antikorları ve çözünür TNF reseptörleri bleomisin indüklü pulmoner fibrozisi azaltır. Ayrıca demir şelatörlerinin de serbest radikal oluşumunu azaltarak bleomisinin akciğer toksisitesini in vitro ve in vivo azalttığı gösterilmiştir (14).

Bleomisinin akciğerlerdeki doz kısıtlayıcı ve fatal seyredabilen bu yan etkisi üzerinde, anjiotensin II reseptör blokerlerinin etkilerinin incelendiği literatür çalışmaları mevcuttur. Waseda ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ratlarda bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisinde anjiotensin II tip 1 reseptör blokörü olmesartan ve anjiotensin II tip 2 reseptör blokörü PD-123319 etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada olmesartanın akciğer fibrozis skorunda ve doku hidroksiprolin düzeylerinde anlamlı bir düşüşe neden olduğunu, bronkoalveoler lavajda TNF- $\alpha$  düzeylerinde, makrofaj ve lenfosit sayılarında azalmaya neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Anjiotensin II tip 2 reseptör blokörü olan PD-123319 ile de aynı etkileri gözlemlemişlerdir. Her iki subtip reseptör blokajının akciğer fibrozisi üzerinde koruyucu etkileri mevcuttur (3). Anjiotensin II tip 1 reseptör blokajının hem bleomisine bağlı hem de amiodorane bağlı oluşan akciğer fibrozisinde inhibitör etkileri mevcuttur (34,47,48). Anjiotensin II tip 1 reseptör blokörlerinin kalp ve böbrekteki fibrozis modellerinde de inhibitör etkileri olduğu gösterilmiştir. Anjiotensin II tip 1 reseptör blokörlerinin organ dan bağımsız olarak antifibrotik etkileri olduğuna inanılmaktadır. Kalpteki fibroblastlar, vasküler düz kas hücreleri, bronşiyal düz kas hücreleri ve böbrek mezengiyal hücrelerinin in vitro anjiotensin II ile oluşturulan kültürlerinde yüksek TGF- $\beta$ 1 düzeyleri gözlenmiştir (35,49-51).

Li ve arkadaşları yaptıkları çalışmada losartanın bleomisinle indüklenmiş akciğer fibrozisindeki etkilerini araştırmışlardır. Losartanın akciğerde antifibrotik etkileri olduğunu bu etkinin olası mekanizmalarından birinin vasküler tonusu azaltması, vasküler permeabilityyi azaltması ve fibroblast aktivitesini değiştirmesi olduğundan bahsetmişlerdir. Ayrıca anjiotensin resptör blokerlerinin sistemik ve pulmoner hidrostatik basıncı azaltarak da etkili olabilecekleri vurgulanmıştır (34).

Otsuka ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bir başka anjiotensin II reseptör blokörü olan kandesartanın etkilerini araştırmışlardır. Bleomisin ile fibrozis oluşturdukları ratların akciğer dokularında anjiotensin II tip 1 reseptör ekspresyonunun upregüle olduğunu göstermişlerdir. Yaptıkları deneyde kandesartan verilen grupta bronkoalveoler lavaj sıvısında total protein, albumin, nötrofil ve diğer inflamatuvar hücre sayılarında azalma olduğunu ortaya koymuşlardır (35).

PDE5 inhibitörleri cGMP'nin fosfodiesteraz enzimi ile inhibe olmasını engelleyerek korpus kavernozum arteriyollerindeki düz kas hücrelerini gevşetirler. Yapılan çalışmalarda fibroblastlar üzerinde antiproliferatif etkileri olduğu gözlemlenmiştir (26). Santos ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sildenafilin ratlarda indometazinle oluşturulan gastropati üzerinde koruyucu etkileri olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu etkisini lökosit adhezyonunu azaltarak ve gastrik kan akımını arttırarak meydana getirdiğini göstermişlerdir (27). Yıldırım A. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sildenafilin, ratlarda bleomisinle indüklenen akciğer fibrozisindeki etkilerini araştırmışlardır. Sildenafil ile tedavi edilen rat grubunda histopatolojik akciğer skorlarında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde etmişlerdir. Ayrıca sildenafil grubunda doku malon dialdehit, myeloperoksidaz aktivitesi ve serum pro-inflamatuvar sitokin düzeylerinin anlamlı olarak daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Sildenafil sitrat uygulanmasının lipid peroksidasyonunu önleyerek, sitokin üretimini azaltarak ve nötrofil birikimini azaltarak fibrozis üzerine olumlu etkilerinin olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca sildenafil proinflamatuvar sitokinlerin upregulasyonunu azalttığı da bu çalışmada gösterilmiştir (2).

Bizim çalışmamızda da bir anjiotensin reseptör blokörü olan telmisartan ve bir PDE5 inhibitörü olan tadalafilin ratlarda bleomisinle oluşturulan akciğer fibrozisindeki etkileri araştırıldı. Elde ettiğimiz verilere göre telmisartan ile akciğer fibrozisinde histopatolojik olarak iyileşme olduğu görüldü. Yapılan çalışmalarda invitro olarak anjiotensinin TGF- $\beta$ 1 düzeylerini artırarak çeşitli dokularda fibrozis oluşturduğu gösterilmiştir. Telmisartanın akciğer dokusundaki antifibrotik etkisi muhtemelen anjiotensinin etkisini bloke etmesine, vasküler tonusu azaltmasına, vasküler permeabiliteyi azaltması, fibroblast aktivitesini değiştirmesi ve proinflamatuvar sitokin düzeylerini azaltmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. PDE5 inhibitörlerinin antifibrotik ve iskemi reperfüzyon injurisindeki iyileştirici etkileri, yapılan klinik çalışmalarla araştırılmış, bir çok organ ve dokuda PDE5 inhibitörlerinin fibroblastlar üzerinde antifibrotik etkileri olduğu gösterilmiştir. Literatürde akciğer fibrozisinde PDE5

inhibitörlerinin etkileri ile ilgili çok az sayıda çalışma mevcuttur. Yıldırım A. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sildenafil, ratlarda bleomisinle indüklenen akciğer fibrozisinde olumlu etkileri olduğunu ortaya koymuşlardır. Bizim çalışmamızda da bir başka PDE5 inhibitörü olan tadalafil ile akciğer fibrozisinde histopatolojik olarak anlamlı düzelme elde edildi ve sağ akciğer ağırlıklarında diğer gruplara göre artış olduğu gözlemlendi. Bu durumun ilacın akciğerlerde meydana getirdiği vazodilatasyon ve ödem sonucu olduğu düşünülmüştür. Tadalafilin, alveoler duvarlarda fibroblast proliferasyonunu ve iskemi reperfüzyon hasarını azaltarak, inflamatuvar sitokin düzeylerini düşürerek akciğerlerde olası antifibrotik etkiler gösterdiğine inanmaktayız. PDE5 inhibitörlerinin bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisindeki teröpatik etkilerini araştırmak için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

## 6. SONUÇLAR

- 1- Bleomisin uygulaması ile ratların akciğer ağırlıklarında anlamlı değişiklik ortaya konulamamıştır.
- 2- Bleomisine ek olarak tadalafil uygulanan grupta histopatolojik olarak akciğer fibrozisinde anlamlı iyileşme ortaya konulmuştur.
- 3- Bleomisine ek olarak telmisartan uygulanan grupta histopatolojik olarak akciğer fibrozisinde anlamlı iyileşme ortaya konulmuştur.
- 4- Tadalafil grubunda sağ akciğer ağırlıklarının farklılığı ilacın etkisiyle gelişen vazodilatasyon ve ödeme bağlı olduğuna kanaat getirilmiştir.

## 7. ÖZET

Bleomisin testis tümörlerinin tedavisinde sık kullanılan antineoplastik bir ajandır. Bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisi bleomisin tedavisinde en korkulan ve doz kısıtlamalarına neden olan yan etkidir. Bu çalışmada ratlarda bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisinde tadalafil ve telmisartanın fibrozis üzerine etkilerinin incelenmesi planlanmıştır.

Çalışmada 1.grup kontrol grubu, 2. grup bleomisin grubu, 3. grup bleomisin ve tadalafil grubu, 4. grup bleomisin ve telmisartan grubu olarak ayrıldı. Kontrol grubuna intratrakeal serum fizyolojik, diğer üç gruba da intratrakeal bleomisin uygulandı. Ardından 3. Gruba 14 gün süreyle oral tadalafil, 4. Gruba da 14 gün süreyle oral telmisartan verildi. Sonrasında ratların akciğer dokuları histopatolojik olarak incelendi ve ağırlıkları ölçüldü.

Çalışma sonucunda “bleomisin + tadalafil” ve “bleomisin + telmisartan” gruplarında “bleomisin” grubuna göre daha düşük histopatolojik skorların bulunduğu görüldü. Sonuç olarak, bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisinde tadalafil ve telmisartanın yararlı olabileceği kanısına varıldı.

### **Anahtar sözcükler:**

Akciğer fibrozisi, bleomisin, tadalafil, telmisartan

## **8. SUMMARY**

### **Investigation of the effects of tadalafil and telmisartan on bleomycin-induced pulmonary fibrosis**

Bleomycin is widely used in the treatment of testicular tumors. However, bleomycin is not without side effects, mainly being pulmonary fibrosis. In this study, the effects of tadalafil and telmisartan on bleomycin-induced fibrosis was investigated.

Four groups, namely control, bleomycin, bleomycin + tadalafil, bleomycin + telmisartan, consisting of 8 rats each were included into the study. Physiological serum or bleomycin were applied intratracheally, while tadalafil and telmisartan were given orally for 14 days beginning the day after intratracheal drug application. At the end of the study, lungs were excised, weights of each were measured and histopathological examination were done.

Rats from the groups “bleomycin + tadalafil” and “bleomycin + telmisartan” were found to have better histopathological scores compared to “bleomycin” group, concluding that tadalafil and telmisartan may have beneficial effects on bleomycin-induced pulmonary fibrosis.

#### **Keywords :**

Pulmonary fibrosis, bleomycin, tadalafil, telmisartan



## 1.KAYNAKLAR

- 1- Sleijfer, S. Bleomycin-induced pneumonitis. *Chest* 2001; 120:617.
- 2- Phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate in a rat model of bleomycin-induced lung fibrosis. Yildirim A, Ersoy Y, Ercan F, Atukeren P, Gumustas K, Uslu U, Alican I. *Pulm Pharmacol Ther.* 2010 Jun;23(3):215-21. Epub 2009 Nov 27.
- 3- Waseda Y, Yasui M, Nishizawa Y, Inuzuka K, Takato H, Ichikawa Y, Tagami A, Fujimura M, Nakao S. Angiotensin II type 2 receptor antagonist reduces bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Respir Res.* 2008 May 23;9:43. doi: 10.1186/1465-9921-9-43.
- 4- Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: The impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61:212.
- 5- Ulbright TM. The most common, clinically significant misdiagnoses in testicular tumor pathology, and how to avoid them. *Adv Anat Pathol* 2008; 15:18.
- 6- Ulbright TM. Germ cell tumors of the gonads: a selective review emphasizing problems in differential diagnosis, newly appreciated, and controversial issues. *Mod Pathol* 2005; 18 Suppl 2:S61.
- 7- Presti JC. Genital Tumors. In Tanagho EA, Mc Aninch JW(eds): *Smithh's General Urology*, Chapt.23 Lange Medical Books New York.2004:375-387
- 8- Richie JP, Steele GS Neoplasms of the Testis, in *Campbell's Urology* , eds:Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ.Eigth Edition, Saunders, Philadelphia, 2002;81:2876-2914
- 9- Bosl GJ, Motzer RJ. Testicular germ-cell cancer. *N Engl J Med* 1997; 337:242.
- 10- Tseng A Jr, Horning SJ, Freiha FS, et al. Gynecomastia in testicular cancer patients. Prognostic and therapeutic implications. *Cancer* 1985; 56:2534.

- 11- Gabrilove JL, Nicolis GL, Mitty HA, Sohval AR. Feminizing interstitial cell tumor of the testis: personal observations and a review of the literature. *Cancer* 1975; 35:1184.
- 12- Bower M, Rustin GJ. Serum tumor markers and their role in monitoring germ cell cancers of the testis. In: *Textbook of Genitourinary Oncology*, 2nd, Vogelzang NJ, Scardino PT, Shipley, WU, Coffey, DS (Eds), Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia 2000. p.931.
- 13- Umezawa H, Meaada K, Takeuchi T, et al. New antibiotics, bleomycin A and B. *J Antibiot Ser A* 1966; 19:200–205.
- 14- Tanoue LT. Pulmonary Toxicity Associated with Chemotherapeutic Agents. In: Fishman AP (editor), *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. Third edition. New York: McGraw-Hill 1998; 1003-1016.
- 15- Daugan, A; Grondin P, Ruault C, Le Monnier de Gouville AC, Coste H, Kirilovsky J, Hyafil F, Labaudinière R (October 9, 2003). "The discovery of tadalafil: a novel and highly selective PDE5 inhibitor. 1: 5,6,11,11a-tetrahydro-1H-imidazo[1',5':1,6]pyrido[3,4-b]indole-1,3(2H)-dione analogues". *Journal of Medicinal Chemistry* 46 (21): 4525–32. doi:10.1021/jm030056e.PMID 14521414
- 16- Porst H, Padma-Nathan H, Giuliano F, et al. Efficacy of tadalafil for the treatment of erectile dysfunction at 24 and 36 hours after dosing: a randomized controlled trial. *Urology* 2003 Jul;62(1): 121-5; discussion 125-6.
- 17- Pfizer Limited Summary of Product Characteristics: Viagra 25mg, 50mg, 100mg. [www.emc.vhn.net](http://www.emc.vhn.net). Updated 18/4/02. Accessed: May 2002.
- 18- Bayer PLC. Summary of Product Characteristics: Levitra (Vardenafil). [www.emc.vhn.net](http://www.emc.vhn.net). Updated 6/3/2003. Accessed: May 2002
- 19- Eli, Lilly, and, Company, Limited. Summary of Product Characteristics: Cialis. [www.emc.vhn.net](http://www.emc.vhn.net). Updated Nov 2002. Accessed: May 2002
- 20- Kloner RA. Novel phosphodiesterase type 5 inhibitors: assessing hemodynamic effects and safety parameters. *Clin Cardiol* 2004 Apr;27(4 Suppl 1):I20-5.
- 21- Thadani U, Smith W, Nash S, et al. The effect of vardenafil, a potent and highly selective phosphodiesterase-5 inhibitor for the treatment of erectile dysfunction, on the

- cardiovascular response to exercise in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2002 Dec;40(11):2006-12.
- 22- Auerbach SM, Gittelman M, Mazzu A, et al. Simultaneous administration of vardenafil and tamsulosin does not induce clinically significant hypotension in patients with benign prostatic hyperplasia. *Urology* 2004 Nov;64(5):998-1003; discussion 1003-4.
- 23- Kloner RA, Jackson G, Emmick JT, et al. Interaction between the phosphodiesterase 5 inhibitor, tadalafil and 2 alpha-blockers, doxazosin and tamsulosin in healthy normotensive men. *J Urol* 2004 Nov;172(5 Pt 1):1935-40.
- 24- Montorsi F, Salonia A, Deho' F, Cestari A, Guazzoni G, Rigatti P. Pharmacological management of erectile dysfunction. *BJU International* 2003; 91(5):446-454
- 25- Vitezic D, Pelcic JM. Erectile dysfunction: oral pharmacotherapy options. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2002; 40(9):393-403.
- 26- Iacono F, Prezioso D, Somma P, Chierchia S, Galasso R, Micheli P. Histopathologically proven prevention of post-prostatectomy cavernosal fibrosis with sildenafil. *Urol Int.* 2008;80(3):249-52. doi: 10.1159/000127335. Epub 2008 May 14. PMID:18480625
- 27- Santos CL, Souza MHL, Gomes AS, Lemos HP, Santos AA, Cunha FQ, et al. Sildenafil prevents indomethacin-induced gastropathy in rats: role of leukocyte adherence and gastric blood flow. *Br J Pharmacol* 2005;146: 481-6.
- 28- McClellan KJ and Markham A Telmisartan. *Drugs*, Dec 1998;56(6):1039-1044.
- 29- Micardis. Summary of Product Characteristics, Dec 1998.
- 30- Anon Pharmacy and Therapeutics Review - Telmisartan. *The Formulary*, Jan 1999:13-18.
- 31- Lacourciere Y et al A comparison of the efficacies and duration of action of the angiotensin II receptor blockers telmisartan and amlodipine. *Blood Press Monit*, 1998;3:295-302.
- 32- Mallion JM et al ABPM comparison of the antihypertensive profiles of the selective angiotensin II receptor antagonists telmisartan and losartan in patients with mild to moderate hypertension. *J Human Hypertens*, 1999;13:657-664

- 33-Neutel JM and Smith DHG Dose response and antihypertensive efficacy of the AT1 receptor antagonist telmisartan in patients with mild to moderate hypertension. *Adv Ther*, Jul/Aug 1998;15(4):206-217.
- 34-Li X, Rayford H, Uhal BD. Essential roles for angiotensin receptor AT1a in bleomycin-induced apoptosis and lung fibrosis in mice. *Am J Pathol*. 2003 Dec;163(6):2523-30.
- 35-Otsuka M, Takahashi H, Shiratori M, Chiba H, Abe S. Reduction of bleomycin induced lung fibrosis by candesartan cilexetil, an angiotensin II type 1 receptor antagonist. *Thorax*. 2004 Jan;59(1):31-8.
- 36-Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. *J Clin Pathol* 1988; 41: 467-470.
- 37-Santrach PJ, Askin FB, Wells RJ, et al. Nodular form of bleomycin-related pulmonary injury in patients with osteogenic sarcoma. *Cancer* 1989; 64:806–811
- 38-Holoye PY, Luna MH, Mackay B, et al. Bleomycin hypersensitivity pneumonitis. *Ann Intern Med* 1978; 88:47–49
- 39-Sausville EA, Peisach J, Horwitz SB. Effect of chelating agents and metal ions on the degradation of DNA by bleomycin. *Biochem* 1978; 17:2740–2746
- 40-Sausville EA, Stein RW, Peisach J, et al. Properties and products of the degradation of DNA by bleomycin and iron. *Biochemistry* 1978; 17:2746–2754
- 41-Burger RM, Pesach J, Horwitc SB. Activated bleomycin: a transient complex of drug, iron and oxygen that degradates DNA. *J Biol Chem* 1981; 256:11636–11644
- 42-Crooke ST, Comis RL, Einhorn LH, et al. Effects of variations in renal function on the clinical pharmacology of bleomycin administrated as an iv bolus. *Cancer Treat Rep* 1977; 61:1631–1636
- 43-Umezawa H, Takeiuechi T, Hosi S, et al. Studies on the mechanism of antitumor effect of bleomycin in squamous cell carcinoma. *J Antibiot* 1972; 25:409–420
- 44-Ohnuma T, Holland JF, Masuda H, et al. Microbiological assay of bleomycin: inactivation, tissue distribution, and clearance. *Cancer* 1974; 33:1230–1238

- 45- Adamson IYR, Bowden DH. The pathogenesis of bleomycin induced pulmonary fibrosis in mice. *Am J Pathol* 1974; 77:185–191
- 46- Piguet PF, Rosen H, Vesin C, et al. Effective treatment of the pulmonary fibrosis elicited in mice by bleomycin or silica with anti-CD-11 antibodies. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147:435–441
- 47- Yao HW, Zhu JP, Zhao MH, Lu Y: Losartan attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Respiration* 2006,73(2):236-242
- 48- Uhal BD, Wang R, Laukka J, Zhuang J, Soledad-Conrad V, Filippatos G: Inhibition of amiodarone-induced lung fibrosis but not alveolitis by angiotensin system antagonists. *Pharmacol Toxicol* 2003, 92(2):81-87.
- 49- Kim S, Ohta K, Hamaguchi A, Yukimura T, Miura K, Iwao H: Angiotensin II induces cardiac phenotypic modulation and remodeling in vivo in rats. *Hypertension* 1995, 25(6):1252-1259.
- 50- Harada K, Sugaya T, Murakami K, Yazaki Y, Komuro I: Angiotensin II type 1A receptor knockout mice display less left ventricular remodeling and improved survival after myocardial infarction. *Circulation* 1999, 100(20):2093-2099.
- 51- Kim S, Ohta K, Hamaguchi A, Omura T, Yukimura T, Miura K, Inada Y, Wada T, Ishimura Y, Chatani F, *et al.*: Contribution of renal angiotensin II type I receptor to gene expressions in hypertension- induced renal injury. *Kidney Int* 1994, 46(5):1346-1358