

KOÇ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ



**ANTİ-İTERLÖKİN-6 RESEPTÖR
ANTİKORLARININ RADYASYON İLİŞKİLİ
AKCİĞER HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN
FARE MODELİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Merve Duman

**RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Uğur Selek

İSTANBUL 2025

Ulusal Tez Merkezi Referans No:

KOÇ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ



**ANTİ-İTERLÖKİN-6 RESEPTÖR
ANTİKORLARININ RADYASYON İLİŞKİLİ
AKCİĞER HASARI ÜZERİNE ETKİSİNİN
FARE MODELİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Merve Duman

**RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Uğur Selek

İSTANBUL 2025

Ulusal Tez Merkezi Referans No:

Anti-interlökin-6 Reseptör Antikorlarının Radyasyon İlişkili Akciğer Hasarı

Üzerine Etkisinin Fare Modelinde Değerlendirilmesi

Dr. Merve Duman

Doktor Merve Duman tarafından yapılmış olan bu çalışma, aşağıda yer alan jüri üyelerimiz tarafından Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalında uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:	Ünvan / Ad-Soyad:	İmza:
Başkan	Profesör/Doçent/Doktor Öğretim Üyesi	-----
Üye (Danışman)	Profesör/Doçent/Doktor Öğretim Üyesi	-----
Üye	Profesör/Doçent/Doktor Öğretim Üyesi	-----
Üye	Profesör/Doçent/Doktor Öğretim Üyesi	-----
Üye	Profesör/Doçent/Doktor Öğretim Üyesi	-----

Tarih:

ONAY

Bu tez çalışması, tarihinde Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı Başkanı tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Ad-Soyad/ İmza

Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı Başkanı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Merve Duman



TEŞEKKÜR

Öncelikle, uzmanlık eğitimim süresince öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, Radyasyon Onkolojisi konusundaki bilgi ve deneyimlerini her zaman özveriyle aktararak eğitimimde büyük emekleri olan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Yasemin Bölükbaşı olmak üzere, değerli hocalarım Prof. Dr. Uğur Selek, Doç. Dr. Duygu Sezen, Doç. Dr. Nülfir Kılıç Durankuş ve Dr. Öğretim Görevlisi Şükran Şenyürek'e eğitimime sundukları tüm katkıları için minnetlerimi sunarım.

Bu çalışmanın fikrini oluşturan, tezin her aşamasında sabırla ve özveriyle desteğini esirgemeyen, engin bilgisi ve kıymetli görüşleriyle bana her zaman yol gösteren çok değerli tez danışmanlarım Prof. Dr. Uğur Selek'e ve Doç. Dr. Duygu Sezen'e,

Tezim sayesinde çalışma fırsatı bulduğum, bu süreçte değerli vaktini bana ayıran Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Pınar Bulutay'a,

Deneyin tasarlanma aşamasından bitişine kadar her konuda desteklerini sunan KUTTAM-ARF koordinatörü Nilhan Coşkun'a, Dr. Öğretim üyesi Ahmet Cingöz'e, Altar Özbıyık'a, tüm laboratuvar çalışanlarına ve minik dostlarıma,

Uzmanlık eğitimine başladığım Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim Araştırma Hastanesinde birlikte çalışmaktan çok keyif aldığım sevgili arkadaşlarım Uzm. Dr. Melike Pekyürek Varan ve Uzm. Dr. Özüm Atasoy'a, medikal fizik uzmanlarımız Dr. Nilsu Çini ve Sevecen Can'a ve klinik şefimiz değerli hocam Doç. Dr. Gökhan Yaprak'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca medikal fizik alanında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Fatih Karaköse, Mustafa Budak ve Mustafa Tintaş'a,

Beraber çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum, hastaneyi keyifli hale getiren kıymetli hemşirelerimize, radyoterapi teknikerlerimize, tıbbi kayıt uzmanlarımız ve diğer tüm mesai arkadaşlarıma,

Dış rotasyonlarım süresince eğitimime değerli katkılarını sunan Prof. Dr. Fatih Selçukbiricik, Prof. Dr. Çetin Atasoy, Prof. Dr. Meltem Akay, Prof. Dr. Mehmet Kanbay hocalarıma, Uzm. Dr. Nazanin Moshirzadeh Moayedi ve Uzm. Dr. Sogol Sadri'ye ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde büyük emekleri olan, hiçbir fedakarlıktan kaçınmadan, her zaman koşulsuz sevgiyle desteklerini sunan annem Hülya Çağlayan'a, babam Selami Çağlayan'a, yirmi yıllık dostum Ceren Yılmaz'a, çalışmalarımı her zaman ilgiyle izleyen oyuncu kedim Maki'ye ve yıllardır her anımda yanımda olan sevgili eşim Nesimi Cem Duman'a tüm kalbimle teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Anti-İnterlökin-6 Reseptör Antikorlarının Radyasyon İlişkili Akciğer Hasarı Üzerine Etkisinin Fare Modelinde Değerlendirilmesi

Dr. Merve Duman

Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı

2025

Radyasyon ilişkili akciğer hasarı torasik radyoterapinin en önemli doz sınırlayıcı yan etkisidir. Akut dönemde radyasyon pnömonisi olarak görülen klinik tablonun tedavisinde kortikosteroidlerden faydalanılmaktadır. Ancak kortikosteroidlerin akciğer kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan immün kontrol noktası inhibitörlerinin antitümör etkinliğini düşürme riski, kronik dönemde gelişen akciğer fibrozisini önleyememesi ve uzun dönem kullanımında ortaya çıkan ciddi yan etkileri nedeniyle tedavide alternatif ajanların kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Hasarın patofizyolojisinden immün sistem yanıtları ve sitokinler sorumlu tutulmaktadır. Çalışmamız bir interlökin-6 reseptör antikoru olan tosilizumabın radyasyon ilişkili akciğer hasarı üzerindeki etkinliğini prelinik in vivo deneysel bir modelde değerlendirmeyi amaçlamıştır.

Deney modelini oluşturmak için 40 adet C57BL/6 fare kullanılmıştır. Sağ akciğer üst lobunu hedefleyecek şekilde tek fraksiyonda 20 Gy dozunda iyonizan radyasyon uygulaması sonrası farelere 1., 4. ve 7. günlerde anti-*mouse* interlökin-6 reseptör antikoru uygulanmıştır. Her gruptan 5 fare rastgele seçilerek erken dönem bulguları değerlendirmek için deneyin 70. gününde, kalan fareler de geç dönem bulgularını değerlendirmek üzere 150. günde sakrifiye edilmiştir. Farelerin akciğer ve cilt dokuları histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Deney boyunca farelerde gözlenen bulgular ve cilt değişiklikleri derecelendirilerek kaydedilmiştir.

Deney süresince gözlemlenen en yüksek radyasyon dermatiti dereceleri (RTOG) karşılaştırıldığında; sadece iyonizan radyasyon alan farelerin cilt yan etkilerinin, interlökin-6 reseptör antikoru alan farelere göre daha şiddetli olduğu bulunmuştur ($p=0,005$). Geç dönem akciğer hasarı bulgularının alveolar, peribronşiyolar, perivasküler ve interstisyel alanlarda histopatolojik olarak değerlendirilmesinde, sadece iyonizan radyasyon alan farelerin toplam hasar skorları daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark gösterilememiştir. Cildin histopatolojik bulguları değerlendirildiğinde sadece iyonizan radyasyon uygulanan farelerde görülen dermal fibrozisin interlökin-6 reseptör antikoru alan farelere göre daha fazla görüldüğü saptanmıştır ($p=0,006$).

Çalışmamızda radyasyon ilişkili akciğer hasarı oluşturulan fare modelinde anti-*mouse* interlökin-6 reseptör antikoru uygulanması ile akciğer hasar bulgularının, istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa da daha az olduğu görülmüştür. Çalışmanın birincil hedefi olmamakla birlikte interlökin-6 reseptör antikorunun radyasyon ilişkili cilt hasarında koruyucu ve iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu amaçla özellikle meme kanseri ve baş boyun tümörleri nedeniyle radyoterapi alan hastaların cilt yan etkilerinin tedavisinde tosilizumabın etkinliğinin klinik çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Radyasyon pnömonisi, fibrozis, interlökin 6, tosilizumab

ABSTRACT

Evaluation of the Effect of Anti-Interleukin-6 Receptor Antibodies on Radiation-Induced Lung Injury in a Murine Model

Dr. Merve Duman

Department of Radiation Oncology

2025

Radiation induced lung injury is one of the most important dose-limiting toxicities of thoracic radiotherapy. In the acute phase, it manifests as radiation pneumonitis, for which corticosteroids are commonly used. However, due to the risk of corticosteroids reducing the antitumor efficacy of immune checkpoint inhibitors, widely used in lung cancer treatment, their inability to prevent late-stage pulmonary fibrosis, and the serious adverse effects associated with long-term use, there is a need for alternative therapeutic agents. Cytokines are considered to play a key role in the pathophysiology of the injury. This study aimed to evaluate the efficacy of tocilizumab, an interleukin-6 receptor antibody, in a preclinical in vivo experimental model of radiation-induced lung injury.

To establish the experimental model, 40 C57BL/6 mice were used. A single fraction of 20 Gy ionizing radiation was administered, targeting the upper lobe of the right lung. Anti-mouse interleukin-6 receptor antibody was administered on days 1, 4, and 7 following irradiation. Five mice from each group were randomly selected and sacrificed on day 70 to assess early-phase findings, while the remaining mice were sacrificed on day 150 to evaluate late-phase findings. Lung and skin tissues were evaluated histopathologically. Clinical observations and radiation-induced skin changes were recorded throughout the experiment.

When the highest grades of radiation dermatitis observed during the study (according to RTOG criteria) were compared, it was found that mice exposed to ionizing radiation alone exhibited more severe skin toxicity than those treated with the interleukin-6 receptor antibody ($p = 0.005$). Although total lung injury scores, assessed histopathologically in alveolar, peribronchiolar, perivascular, and interstitial regions, were higher in mice that received only ionizing radiation, the difference did not reach statistical significance. Histopathological evaluation of the skin revealed that dermal fibrosis was more pronounced in the group that received radiation alone compared to the group treated with the interleukin-6 receptor antibody ($p = 0.006$).

In this study, administration of anti-mouse interleukin-6 receptor antibody in a murine model of radiation induced lung injury was associated with reduced signs of pulmonary damage, although the difference was not statistically significant. Although not the primary aim of the study, the interleukin-6 receptor antibody also demonstrated protective and therapeutic effects against radiation-induced skin injury. Based on these findings, it is concluded that the clinical efficacy of tocilizumab in managing radiation induced skin toxicity, particularly in patients undergoing radiotherapy for breast and head and neck cancers, should be further investigated in clinical trials.

Keywords: Radiation pneumonia, fibrosis, interleukin 6, tocilizumab

İÇİNDEKİLER

Tez Onayı	i
Beyan	ii
Teşekkür	iii
Özet	iv
İngilizce Özet (Abstract)	v
İçindekiler	vi
Tablo Listesi	viii
Şekil Listesi	ix
Kısaltmalar	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Radyasyonun Hücrel ve Moleküler Hasar Mekanizmaları	3
2.2. Radyoterapiyle ilişkili Erken ve Geç Dönem Yan Etkiler	7
2.3. Radyoterapi Planlamasında Hedef ve Normal Doku Tanımlamaları.....	9
2.4. Torasik Radyoterapi Endikasyonları.....	11
2.5. Torasik Radyoterapide Hedef Hacim Dozları ve Akciğer için Doz Sınırlamaları	12
2.6. Radyasyon İlişkili Akciğer Hasarı	14
2.6.1. Risk Faktörleri.....	14
2.6.2. Klinik ve Görüntüleme Bulguları.....	17
2.6.3. Radyasyon ilişkili Akciğer Hasarının Derecelendirilmesi.....	19
2.6.4. Patofizyoloji.....	20
2.6.4.1. İnterlökin-6.....	23
2.6.5. Tedavi.....	25
2.7. Radyasyon İlişkili Akciğer Hasarının Hayvan Modellerinde İncelenmesi.....	29
2.7.1. Tedavi için Hayvan Modellerinde Araştırılan Moleküller	32
2.8. İnterlökin-6 İnhibitörleri	34
2.8.1. İnterlökin-6 Reseptör Antikorlarının Preklinik Modellerde Kullanımı	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Çalışmanın Türü, Evreni, Etik Kurul İzni.....	37
3.2. Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanının Özellikleri	37
3.3. Çalışmada Kullanılan Aletler, Cihazlar, Kimyasal Maddeler.....	37
3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması.....	38
3.5. Farelere İyonizan Radyasyon Uygulaması	39

3.6.	Anti-mouse İnterlökin-6 Monoklonal Reseptör Antikorlarının Uygulanması	43
3.7.	Deney Hayvanlarının Takibi	43
3.8.	Sakrifikasyon ve Nekropsi.....	44
3.9.	Dokuların Histopatolojik Değerlendirmesi.....	44
3.10.	İstatistiksel analiz.....	45
4.	BULGULAR.....	46
4.1.	Deneyin Gözlemsel Bulguları.....	46
4.2.	Histopatolojik Bulgular	50
5.	TARTIŞMA	63
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
	KAYNAKLAR.....	69
	EKLER.....	78

TABLO LİSTESİ

- Tablo 2.1: Radyasyon ilişkili akciğer hasarının erken dönem derecelendirmesi.
- Tablo 2.2: Radyasyon ilişkili akciğer hasarının geç dönem derecelendirmesi.
- Tablo 3.1: Deneyde kullanılan aletler, cihazlar, kimyasal maddeler.
- Tablo 4.1: Erken dönem akciğer bulguları.
- Tablo 4.2: Erken dönem cilt bulguları.
- Tablo 4.3: Erken dönem cilt bulguları Grup-2 ve Grup-4'ün karşılaştırılması.
- Tablo 4.4: Geç dönem akciğer bulguları
- Tablo 4.5: Geç dönem akciğer bulguları, Grup-2 ve Grup-4'ün karşılaştırılması.
- Tablo 4.6: Geç dönem cilt bulguları.
- Tablo 4.7: Geç dönem cilt bulguları Grup-2 ve Grup-4'ün karşılaştırılması.
- Tablo 4.8: Grup-2 ve grup-4'ün akciğer bulgularının karşılaştırılması.
- Tablo 4.9: Grup-2 ve grup-4'ün cilt bulgularının karşılaştırılması.
- Tablo 4.10: Radyasyon dermatiti.

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: İyonizan radyasyona hücrel hasar yanıtı.

Şekil 2.2: Küçük hücre dışı akciğer kanseri tanılı hastanın radyoterapi planı ve DVH görüntüsü.

Şekil 2.3: Radyasyon pnömonisi BT ve PET/BT bulguları.

Şekil 2.4: Radyasyon pnömonisi sonrası gelişen fibrozis.

Şekil 2.5: Radyasyon ilişkili akciğer hasarının patofizyolojisi.

Şekil 3.1: Deney grupları.

Şekil 3.2: Preklinik araştırmalar için kapalı sistem ışınlama cihazı.

Şekil 3.3: BT simülasyon ve sağ akciğer üst lobun konturlanması.

Şekil 3.4: DRR görüntü.

Şekil 3.5: Setup ve iyonizan radyasyon uygulaması.

Şekil 3.6: Anti-mouse IL-6 reseptör antikorunun hazırlanması ve farelere uygulanması.

Şekil 3.7: Sakrifikasyon ve nekropsi.

Şekil 4.1: İyonizan radyasyon sonrası 28. gün, grup-2’de derece 1 ve derece 3 dermatit.

Şekil 4.2: İyonizan radyasyon sonrası 56. gün, grup-2 ve grup-4’teki tüy dökme paterni.

Şekil 4.3: İyonizan radyasyon sonrası 63. gün, grup-2’de derece 4 dermatit (X1).

Şekil 4.4: İyonizan radyasyon sonrası 120. gün, grup-2 ve grup-4’ün cilt bulguları.

Şekil 4.5: Deneyin 150. günü, grup-2 ve grup-4’ün cilt bulguları.

Şekil 4.6: İyonizan radyasyonun akciğer hasarı bulguları, intraalveolar köpüksü makrofaj birikimi ve fibrozis.

Şekil 4.7: Gruplar arasında akciğer dokusunda izlenen histomorfolojik farklılıklar.

Şekil 4.8: İyonizan radyasyonun cilt hasarı bulguları.

Şekil 4.9: Gruplar arasında cilt dokusunda izlenen histomorfolojik farklılıklar.

KISALTMALAR

α -SMA: *α -smooth muscle actin*
3R: *Replacement, reduction, refinement*
ACE-i: *Angiotensin converting enzyme inhibitor*
ATM: *Ataxia telangiectasia mutated*
ATR: *Ataxia telangiectasia and Rad3-related protein*
BAL: Bronkoalveolar lavaj
BCL-2: *B-cell lymphoma-2*
BCL-XL: *B-cell lymphoma-extra large*
BED: Biyolojik etkin doz
BRCA1: *Breast Cancer 1, early onset*
BRCA2: *Breast Cancer 2, early onset*
BT: Bilgisayarlı tomografi
CAR: *Chimeric antigen receptors*
CBCT: *Cone beam computed tomography*
CCL2: *C-C motif chemokine ligand 2*
CD: *Cluster of differentiation*
CDK2: *Cyclin-dependent kinase 2*
CHK1: *Checkpoint kinase 1*
COVID: *Corona virüs disease*
CTCAE: *Common terminology criteria of adverse Events*
CTV: *Clinical target volume*
D: Doz
DAMP: *Damage-associated molecular patterns*
DDR: *DNA damage response*
DNA: Deoksiriboz nükleik asit
DRR: *Digitally reconstructed radiographs*
DVH: Doz volüm histogramı
E-selektin: Endotelyal selektin
ECM: *Extracellular matrix*
ELISA: *Enzyme-linked immunosorbent assay*
EORTC: *European organization for research and treatment of cancer*
ESTRO: *European society for radiotherapy and oncology*

FAB: Fonksiyonel alt birim

G1: *Gap 1*

G2: *Gap 2*

GKRT: Görüntü kılavuzluğunda radyoterapi

gp130: Glikoprotein130

GTV: *Gross tumor volume*

Gy: Gray

HADYЕК: Hayvan deneyleri yerel etik kurulu

HE: Hematoksilen & eozin

HMGB1: *High mobility group box 1*

HR: Homolog rekombinasyon

HSP: *Heat shock proteins*

HyTEC: *Hypofractionated treatment effects in the clinic*

ICAM-1: *Intercellular adhesion molecule*

ICI: *Immune checkpoint inhibitor*

IL-6 RA: İnterlökin-6 reseptör antikoru

IL: İnterlökin

IMRT: *Intensity modulated radiation therapy*

ITV: *Internal target volume*

IVIG: İntravenöz immünoglobulin

İAH: İnterstisyel akciğer hastalığı

iGTV: *Internal gross tumor volume*

İR: İyonizan radyasyon

JAK: *Janus-activated kinase*

kg: Kilogram

KHDAK: Küçük hücre dışı akciğer kanseri

KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı

KUTTAM-ARF: Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi-*animal research facilities*

M: Mitoz

MAPK: *Mitogen-activated protein kinase*

µg: Mikrogram

mg: Miligram

mIL-6R: *Membrane bound interleukin-6 receptor*

ml: Mililitre
MLD: *Mean lung dose*
MMP: Matriks metalloproteinaz
MRE11: *Meiotic recombination 11 homolog 1*
MRN *complex*: MRE11, RAD50, NBS1
MT: Masson trikrom
N: *Nodes*
NBS1: *Nijmegen breakage syndrome 1*
NHEJ: *Nonhomologous end joining*
OAR: *Organ at risk*
OH: Hidroksil iyonu
P-selektin: *Platelet selectin*
PBS: *Phosphate buffered saline*
PCR: *Polymerase chain reaction*
PD-1: *Programmed cell death 1*
PD-L1: *Programmed cell death ligand 1*
PET: Pozitron emisyon tomografisi
PRV: *Planning organ-at-risk volume*
PTV: *Planning target volume*
QUANTEC: *Quantitative analysis of normal tissue effects in the clinic*
RAD50: *Radiation sensitive 50*
RAD51: *Radiation sensitive 51*
RAD52: *Radiation sensitive 52*
RİAH: Radyasyon ilişkili akciğer hasarı
RİPF: Radyasyon ilişkili pulmoner fibrozis
RP: Radyasyon pnömonisi
RRP: *Radiation recall pneumonia*
RT: Radyoterapi
RTOG: *Radiation therapy oncology group*
RVR: *Remaining volume at risk*
S: Sentez
SA- β -gal: *Senescence-associated beta-galactosidase*
SAA: Serum amiloid-A
SASP: *Senescence-associated secretory phenotype*

SBRT: Stereotaksik beden radyoterapisi
sIL-6R: *Soluble interleukin-6 receptor*
STAT: *Signal transducer and activator of transcription*
T: Tümör
TGF- β : *transforming growth factor-beta*
TNF- α : Tümör nekroz faktörü-alfa
Treg: *Regulatory T cell*
TV: *Treated volume*
UK SABR: United Kingdom *stereotactic ablative radiotherapy*
V: Volüm
VEGF: *Vascular endothelial growth factor*
VMAT: *Volumetric modulated arc therapy*

1. GİRİŞ

Radyoterapi (RT), yüksek enerjili iyonizan radyasyon (İR) kullanarak direkt ve indirekt yollarla tümör hücrelerinde hasara yol açan onkolojik bir tedavi modalitesidir. Solid tümörlü hastaların yaklaşık %50'sine hastalık süreçleri boyunca küratif veya palyatif amaçlı radyoterapi uygulanmaktadır (1). Günümüzde sıklıkla lineer akseleratörler aracılığıyla uygulanan radyoterapi sırasında tümör dışı normal dokular da iyonizan radyasyona maruz kalmaktadır ve bu nedenle tümör komşuluğundaki organlarda tedavi süresince veya sonrasında RT ilişkili yan etkiler ortaya çıkabilmektedir. Radyoterapi sonrasında erken veya geç dönemde ortaya çıkan yan etkiler, hem tedavide uygulanmak istenilen etkin dozları sınırlamakta hem de hastaların uzun dönemde yaşam kalitelerini olumsuz etkileyebilmektedir (1). Radyoterapinin etkin dozda en az yan etkiyle uygulanabilmesi için kılavuzlarda organlara özel doz sınırlamaları belirlenmiştir. Modern tekniklerle bu doz sınırlamalarına uyum kolaylaşmış ve tedavi ilişkili yan etkilerde eski tekniklere kıyasla belirgin azalma olmuştur. Bununla birlikte halen torasik malignitelerin radyoterapisinden sonra radyasyon ilişkili akciğer hasarı (RİAH) görülebilmektedir.

Radyasyon ilişkili akciğer hasarı, akut dönemde (1-6 ay) radyasyon pnömonisi olarak görülürken, kronik dönemde (>6 ay) akciğer fibrozisi ve buna bağlı solunum kapasitesinin azalması olarak karşımıza çıkabilmektedir. Klinik ve radyolojik bulgularının başka birçok akciğer patolojisiyle karışabilmesi nedeniyle tanı konması zordur ve literatürde RİAH görülme sıklığı %5-58 olarak geniş bir aralıkta belirtilmiştir (2). Radyasyon pnömonisi (RP) gelişen olgularda halsizlik, nefes darlığı, kuru öksürük gibi nonspesifik semptomlar görülmektedir. Şiddetine bağlı olarak mekanik ventilasyon desteği gerektirecek düzeyde solunum yetmezliği gelişebilmektedir. Tedavisinde uzun dönem kortikosteroidlerden faydalanılmaktadır. Radyasyon ilişkili pulmoner fibrozis (RİPF) gelişen semptomatik olgularda ise destek tedavileri uygulanmaktadır.

İyonizan radyasyon sonrası akut dönemde akciğerlerde histopatolojik olarak epitelyal ve endotelyal hücre hasarı, inflamatuvar hücrelerin hasar bölgesinde çoğalması, sitokin ve kemokin salınımı, vasküler konjesyon, interstisyel ödem gibi bulgular izlenmektedir ve bunların kliniğe yansması radyasyon pnömonisi olarak karşımıza çıkmaktadır. Akut fazda salınan sitokinler fibroblast ve miyofibroblastların aktivasyonuna neden olur. Alveolar duvarlardaki fibroblast ve miyofibroblast aktivitesi radyasyon fibrozisi ile sonuçlanır. Hasarın patofizyolojisini araştırmaya yönelik klinik

çalışmalarda radyasyon pnömonisi gelişen hastaların plazmalarında, RT sırasında ve sonrasında interlökin-1 alfa (IL-1 α), interlökin-6 (IL-6) gibi pro-inflamatuar sitokin düzeylerinin daha yüksek olduğu ve bu sitokinlerin hasarla ilişkilendirilebileceği bildirilmiştir (3-5).

Küçük hücre dışı akciğer kanseri (KHDAK) tanılı RT uygulanmış hastalarda akciğer fibrozisinin gelişiminde etkili olan faktörlerin araştırıldığı bir klinik çalışmada; radyasyon pnömonisi geçirmiş olmanın, ilerleyen dönemde fibrozis gelişimi ile doğrudan ilişkili olduğu ve steroid kullanımıyla fibrozis riskinin azalmadığı belirtilmiştir (6). Radyasyon pnömonisi oluşturulan bir hayvan modelinde de kortikosteroidlerin akut inflamatuvar etkileri sınırladığı ancak hastalığın fibrozise doğru progresyonunu engellemediği gösterilmiştir (7).

İnterlökin-6; doku hasarına yanıt olarak üretilen ilk sitokinlerdendir. Akut faz yanıtını, hematopoezi, immün reaksiyonları uyarır. Kronik inflamasyon ve otoimmünite süreçlerinde önemli rol oynamaktadır (8). Bu nedenle bir IL-6 reseptör antikoru olan tosilizumab birçok otoimmün ve otoinflamatuvar hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (9-11). Sistemik sklerozlu hastalarda tosilizumabın etkinliğinin değerlendirildiği randomize kontrollü bir çalışmada, akciğer tutulumunun erken dönemlerinde akciğer kapasitesinin korunmasında etkili olduğu gösterilmiştir (12).

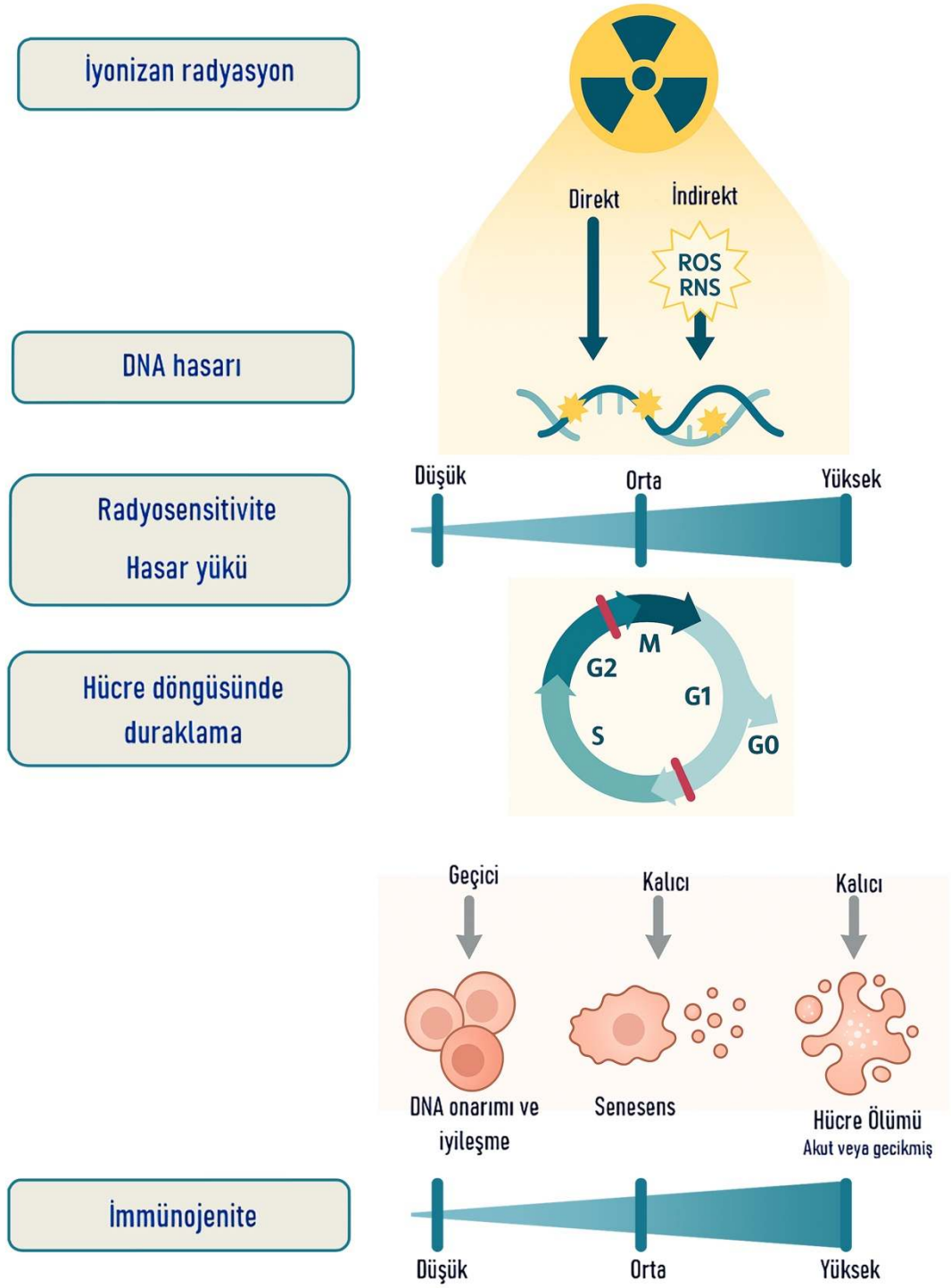
Akciğer kanseri en sık görülen ve en sık mortaliteye neden olan malignitelerden biridir. Hastaların tedavisinde sıklıkla primer tümöre, mediastene veya parankimdeki metastatik nodüllere yönelik radyoterapi uygulanmaktadır. RİAH torasik radyoterapinin en önemli doz sınırlayan yan etkisidir. Tedavisinde kullanılan kortikosteroidlerin kısa ve uzun dönemde ciddi yan etkilerinin olması, akciğer kanseri tanılı hastaların tedavisinde yaygın kullanılan immün kontrol noktası inhibitörlerinin (*immune checkpoint inhibitor*, ICI) etkinliğini azaltma riski ve pnömoni sonrası fibrozis gelişmesini engelleyememesi nedeniyle bu hasarın tedavisinde alternatif ajanlar araştırılmaktadır. Biz de çalışmamızda fare modelinde toraksa yönelik İR uygulanması sonucunda oluşan akciğer hasarını ve bu hasar üzerinde IL-6 reseptör antikorlarının etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Radyasyonun Hücresel ve Moleküler Hasar Mekanizmaları

Yüksek enerjili iyonizan radyasyon (İR), elektron kopararak atomu iyonize etmesi sonucunda hücrelerde hasara yol açmaktadır. Bu hasar direkt ve indirekt yollarla olmaktadır. X ve gamma ışınları elektromanyetik; alfa, beta (elektron), nötron, proton, ağır iyonlar ise partiküler iyonizan radyasyonlara örnektir. Klinik radyasyon onkolojisinde tümör tedavisi amacıyla sıklıkla yüksek enerjili elektromanyetik X ışınları ve beta (elektron) partikülleri kullanılmaktadır.

Hücredeki bütün moleküller yüksek enerjili iyonizan radyasyonun potansiyel hedefidir ancak radyasyonun ölçülebilir bir biyolojik etki yaratması; hedef molekülün hücre açısından ne kadar önemli olduğu, hücrede o molekülden kaç kopya olduğu, hücrenin o molekülün kaybına ne kadar tepki verebildiği ve bu hücrenin o doku veya organın yapısı, işlevi açısından ne kadar kritik olduğu gibi faktörlere bağlıdır. Deoksiriboz nükleik asit (DNA), hücrede bir adet çift sarmallı kopya halinde bulunur ve hücrenin sağkalımı için çok önemli bir makromoleküldür. Yüksek enerjili iyonizan radyasyon ile DNA'nın direkt olarak geri dönüşümsüz hasarı hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır. Nötronlar, alfa parçacıkları gibi lineer enerji transferi yüksek olan radyasyon tiplerinde daha baskın olan hasar mekanizması bu şekildedir. Öte yandan, hücrede bulunan bazı moleküller, hasarda daha az önemli gibi görülmekle birlikte DNA'ya kıyasla daha fazla miktarda bulunmaları nedeniyle radyasyon tarafından hedef olma ve iyonize olma olasılıkları daha yüksektir. Hücrede en çok bulunan molekül sudur ve hücre ağırlığının en az %70-%80'ini oluşturur. Suyun iyonizan radyasyonla hidrolizi sonucunda oluşan yüksek derecede reaktif serbest radikaller (çoğunlukla hidroksil “OH” radikalleri) moleküllerdeki kimyasal bağların kırılmasına neden olur. Bu ileri düzeyde reaktif moleküller DNA ile kimyasal etkileşime girerek bağların kopmasına ve DNA'nın indirekt yollarla hasarına neden olurlar (Şekil 2.1). Lineer enerji transferi düşük radyasyonlarda (X ve gamma ışınları, elektron partikülleri), DNA hasarının %70'i serbest radikallerin rol aldığı indirekt yollarla olmaktadır (13).



Şekil 2.1: İyonizan radyasyona hücresel hasar yanıtı (De Ruysscher ve ark., 2025'ten uyarlanmıştır).

Hücre döngüsü, her aşamasında kontrol noktaları olan, temel olarak interfaz (G1, S, G2) ve mitozdan oluşan bir süreçtir. Hücre interfaz sırasında; organel sayısını artırır

(G1), DNA miktarını iki katına çıkartır (S) ve bölünmeye hazır hale gelir (G2). Radyasyona maruz kalan hücrelerin sağkalım eğrisi analizleri, en hassas hücrelerin M (mitoz) ve geç G2 fazlarında olduğunu, en dirençli hücrelerin ise geç S fazında bulunduğunu göstermektedir. İyonizan radyasyonun hücre döngüsünün fazlarına göre etkinliğinin farklı olması RT'nin fraksiyonlar halinde uygulanmasının temelini oluşturur (14).

DNA'da direkt ve indirekt yollarla kimyasal bağların kırılması sonucunda baz eksizyonu, çapraz bağlanma, nükleotid kaybı, baz modifikasyonları, tek ve çift sarmal kırıkları gibi hasarlar meydana gelir. DNA hasarının tamiri için, TP53 veya retinoblastom (Rb) gibi tümör süpresör genler hücre döngüsünü durdurur ve DNA onarımını sağlayacak sinyal yolları aktive olur. DNA hasarını algılayan, sinyali başlatan ve tamir süreçlerini koordine eden, hücrenin radyasyona veya kimyasal ajanlara maruz kaldığında genetik materyalini korumasını sağlayan karmaşık süreç DNA hasar yanıtı (*DNA Damage Response, DDR*) olarak adlandırılır (13).

Tek sarmal kırıkları genellikle hücrenin subletal hasarına neden olur, diğer sarmal onarım için şablon görevi görür. Nükleotid eksizyon onarımı, baz eksizyon onarımı gibi yollarla göreceli olarak kolay tamir edilebilir. Çift sarmal kırıkları ise, DNA onarımının oldukça zor olması nedeniyle genellikle letal hasara neden olur. Çift sarmal kırıklarının onarımında görev alan iki ana yolak '*nonhomologous end joining* (NHEJ)' veya 'homolog rekombinasyon (HR)'dur. Onarım sürecinin HR ya da NHEJ yolu ile devam etmesi, kısmen hücre döngüsünün evresine bağlıdır. HR onarımı, sadece homolog kardeş kromatidin mevcut olduğu geç S ve G2 fazlarında görülür ve hatasız onarım mümkündür. NHEJ onarımı ise daha çok G1 ve G0 fazında kardeş kromatidler yokken görülmektedir ve hatalı onarıma yatkın bir yoldur. Bu yollarla çok sayıda moleküler mekanizma ve karmaşık sinyal iletim sistemleri görev alır. *Ataxia telangiectasia mutated* (ATM), *ataxia telangiectasia and Rad3-related protein* (ATR), *MRN complex* (MRE11, RAD50, NBS1), BRCA1, BRCA2, CDK2, CHK1, RAD51, RAD52 gibi gen ürünleri çift zincir kırıklarının onarımında rol almaktadır. DNA onarımında olan hatalar radyasyon aşırı duyarlılığına ve kanser yatkınlığına neden olmaktadır (13, 15, 16).

Radyobiyolojik olarak hücre ölümü, hücrenin sonsuz çoğalma kapasitesinin kaybı (replikatif, reproduktif veya klonojenik ölüm) ile tanımlanır. Hücrenin fiziksel olarak sağlam kalmasını, metabolik olarak aktif olmasını ve hasar sonrası bir süre daha dokuya özgü işlevlerini sürdürmesini engellemez (17). Klonojenik ölüm mekanizmaları arasında mitotik katastrofi, hücresel yaşlanma, apoptoz, nekroz ve otofaji sayılabilir (15).

Mitotik katastrofi, hücrelerin hasar nedeniyle mitozu tamamlayamadığı durumlarda ortaya çıkan ve solid tümörlerin radyasyon ilişkili hasarında sık görülen önemli bir mekanizmadır. Tümör hücrelerinde; hücre döngüsü kontrol noktalarının işlevsiz olması nedeniyle, radyasyon hasarına maruz kalmış hücreler, hatalı DNA ile mitoz evresine girerler. Kromozom anormallikleri ve iç ipliği kusurları sonucunda hücre bölünmesi engellenir, hücre döngüsü durur ve mitotik katastrofi meydana gelir. Geride genellikle anöloid, büyük, yassı ve çok çekirdekli hücreler kalır. Süreç nihayetinde apoptoz, nekroz veya senesens ile sonuçlanır (15, 18).

Hücre yaşlanma (senesens); hücre döngüsünün kalıcı olarak durmasıdır, genetik olarak kontrol edilir. Yaşlanan hücreler metabolik olarak aktiftirler ve bu hücreler tamamen ortadan kaldırılmazlar. Senesens, hem kanser hücrelerinde hem de normal doku hücrelerinde meydana gelir (15). Hücreler tipik olarak '*senescence-associated beta-galactosidase* (SA- β -gal)' enzimi ile boyanırlar. Hasara uğrayan parankimal ve immün hücrelerden salınan pro-inflamatuar sitokinler, büyüme faktörleri, kemokinler, matriks metalloproteinazları ve reaktif oksijen ürünleri gibi moleküller '*senescence-associated secretory phenotype* (SASP)' olarak adlandırılır (19, 20). Normal doku kök hücrelerinin senesensi radyoterapi ilişkili erken ve geç yan etkilere neden olan önemli bir mekanizmadır (21).

Apoptoz (programlanmış hücre ölümü), mitotik olmayan (interfaz evresinde gerçekleşen) bir hücre ölüm türüdür. Genellikle embriyolojik gelişim, normal dokuların yeniden şekillenmesi ve homeostazi sırasında görülür. Bununla birlikte, bazı normal dokular ve tümör hücreleri de radyasyon hasarıyla apoptoza uğrar. Hematopoetik veya lenfoid kökenli hücreler, ince bağırsak kript hücreleri, tükrük bezi hücreleri gibi normal dokularda ve jinekolojik veya hematolojik orijinli bazı tümör hücre hatlarında İR sonrasında apoptoz görülebilmektedir (22). Apoptoz geçiren hücreler, nükleer kondansasyon ve parçalanma, membran kabarcıklaşması, DNA parçalanması gibi morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler gösterir. Bu süreçler, hücre membranının parçalanmasıyla sonuçlanır. Apoptoza uğrayan hücrelerin artıkları (apoptotik cisimcikler), komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagositoz ile temizlenir. Bu süreç, nekrozun aksine, çevredeki dokuda inflamasyon, doku hasarı veya organizasyon bozukluğuna yol açmaz (23). Son yıllarda "nekroptoz", "piroptoz" ve "ferroptoz" gibi başka programlanmış hücre ölüm mekanizmaları keşfedilmiştir ancak bunların radyasyon ilişkili hasarda ne kadar rol aldıkları tartışma konusudur (24-26).

Nekroz; pH değışikliği, enerji azlığı, elektrolit dengesizliği gibi olumsuz koşullarda hücrenin şişmesi, membranın parçalanması, hücresel içeriklerin ekstrasellüler alana salınması ve inflamatuvar yanıt oluşması ile karakterizedir (27).

Otofaji; hücresel stres faktörlerine yanıt olarak, sitoplazmik organellerin veya diğer sitoplazmik bileşenlerin kontrollü lizozomal yıkımı olarak tanımlanır (28).

İyonizan radyasyonun yarattığı hasar sonucunda hücre yüzey proteinleri açığa çıkar. ATP, *high mobility group box 1* (HMGB1), kalretikülin ve ısı çok proteinleri (*heat shock proteins*, HSP) gibi moleküller; hasarlı hücrelerin işaretleyicisi, *damage-associated molecular patterns* (DAMP), olarak görev yaparlar. DAMP'lar, termal, mekanik, radyasyon gibi hasarlara karşı dokuda ortaya çıkarak hem komşu hücreleri hem de immün sistem ve hematopoetik kök hücreleri uyaran ve inflamatuvar yanıtı başlatan sinyal molekülleridir. DAMP'lar dendritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerin aktivasyonuna neden olur. Hücre membran hasarı sonucunda ortama tümör spesifik antijenler salınır. DAMP'lar tarafından aktive edilmiş antijen sunan hücreler yakınlarındaki lenf noduna giderek 'tümör antijen-spesifik T hücre' (CD4+ ve CD8+ T lenfositler) yanıtını başlatırlar. Ayrıca RT hasarı monosit ve doku makrofajlarının da M1-benzeri makrofaj ya da M2-benzeri makrofaj fenotipine dönüşümünü de aktive eder (15, 29).

İyonizan radyasyonun yarattığı hasar hem tümör hücrelerinden hem de dokunun diğer komponentlerinden birçok molekülün üretimini ve salınımını artırır. Transfome edici büyüme faktörü beta (*transforming growth factor beta*, TGF- β) gibi büyüme faktörleri, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interferon gama (IFN γ), interlökinler (IL) gibi sitokinler, intersellüler adezyon molekülü (*intercellular adhesion molecule*, ICAM-1), P-selektin, E-selektin gibi hücre adezyon molekülleri radyasyon hasarı sonucunda ortaya çıkmaktadır. Bu moleküller, immün hücrelerin tümör bölgesine göç etmesinde ve tümör hücrelerinin immün sistem aracılı yok edilmesinde etkilidir (15, 29).

2.2. Radyoterapiyle ilişkili Erken ve Geç Dönem Yan Etkiler

Normal doku komplikasyonları, dokunun fonksiyonel ve/veya yapısal bütünlüğü için kritik öneme sahip hedef hücrelerin kaybının bir sonucudur. Bu hedef hücre kaybı, ya radyasyonun doğrudan sitotoksik etkisiyle ya da dolaylı olarak radyasyonun başka hücreleri uyarması yoluyla gerçekteşebilir (13). Normal dokulardaki hedef yapıların parankimal, stromal hücreler ve küçük damarlar olduğu bilinmektedir. Organların radyasyon duyarlılıklarının farklı olması, bu hedef yapıların intrinsik duyarlılıklarının farklı olması ile açıklanabilir. Bunun sonucu olarak da farklı organlar için radyasyon

hasarını belirleyen farklı doz-volüm eşik değerleri ortaya çıkmaktadır (30). Dokunun intrinsik duyarlılığı dışında hasarın belirleyicisi olarak tedavi ve hasta ilişkili başka pek çok faktör tanımlanmıştır.

Rubin ve Casarett'e göre radyasyon duyarlılıklarına göre hedef hücreler dört ana kategoride incelenebilir (31):

-Tip I veya vejetatif intermitotik hücreler; kemik iliğinde, bağırsak kriptalarında ve cildin epidermis tabakasının bazal katmanında bulunan, düzenli olarak bölünen, farklılaşmamış kök hücrelerden oluşurlar ve en radyoduyarlı hücreler olarak kabul edilirler.

-Tip II veya farklılaşan intermitotik hücreler; kemik iliğindeki miyelositler ve testislerdeki spermatositler gibi farklılaşma sürecinde olan, ancak hâlâ sınırlı sayıda bölünme kapasitesine sahip progenitör hücrelerdir. Tip I'e göre daha az radyoduyarlıdır.

-Tip III veya geriye dönüşebilen postmitotik hücreler; hepatositler ve lenfositler gibi tamamen farklılaşmış, düzenli olarak bölünmeyen ancak belirli koşullar altında kök hücre benzeri bir duruma geri dönüp tekrar bölünebilen hücrelerdir. Göreceli olarak radyasyona dirençlidirler. Lenfositler bu sınıflandırmada istisnadır; tip III hücre olmalarına rağmen son derece radyoduyarlıdır.

-Tip IV veya sabit postmitotik hücreler; nöronlar ve kas hücreleri gibi tamamen farklılaşmış hücrelerdir. Radyasyon nedeniyle bu hücreler öldüğünde, genellikle rejenerasyonları mümkün değildir. Radyasyona en dirençli hücrelerdir.

Hedef hücrelerin radyoduyarlılığı, normal dokuda oluşan yan etkinin şiddetini belirlerken, bu hasarın klinik olarak erken mi yoksa geç dönemde mi ortaya çıkacağı, dokunun proliferatif organizasyonu ile ilişkilidir. Doğası gereği hızlı yenilenen dokular hasara daha erken yanıt verirken, yavaş yenilenen dokular daha geç yanıt verir (13).

Hedef hücre teorisi genel olarak doğru bir yaklaşım olmakla birlikte radyasyon hasarında çeşitli sinyal yollarının aktivasyonu, gen ekspresyonları, hücre ölüm yolları, hipoksi, oksidatif stres, inflamasyon ve kompensatuar proliferatif yanıt gibi karmaşık ve dinamik süreçler söz konusudur. Radyasyona maruz kalan hücreler tarafından salınan sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri esas olarak bölgesel mikroçevredeki hücrelerin davranışını etkiler. Ancak bazı sitokinler dolaşıma geçerek, ısımlanan bölgeden uzaktaki hücreleri de harekete geçirebilir (32).

Withers ve ark., normal dokudaki radyasyon hasarının patogenezi açıklayan, dokuların yapısal ve fonksiyonel organizasyonuna dayalı bir tanımlayıcı bir model

önermiştir (33). Bu modele göre dokular fonksiyonel alt birimlere (FAB) ayrılmıştır. Bu alt birimler, onları oluşturan hedef hücrelerin öldürülmesiyle inaktive edilebilirler. Akciğerin alveolar kesesi, böbrek nefronu, karaciğerin lobül yapısı anatomik FAB olarak tanımlanabilir; ancak deri, bağırsak, sinir sistemi organlarının fonksiyonel alt birimleri anatomik olarak tanımlanamazlar. Bu iki grup arasındaki temel fark şudur: anatomik olarak tanımlanamayan FAB’larda, muhtemel yapısal bir bariyer olmaması nedeniyle, çevredeki sağ kalan hücreler göç ederek repopülasyona yardımcı olurlar. Bu durum anatomik olarak tanımlanamayan FAB’ların daha yüksek radyasyon dozlarını tolere edebilmesini açıklayabilir (33).

Normal dokular fonksiyonel olarak, seri veya paralel veya hem seri hem paralel organ olarak tanımlanabilirler. Paralel organların fonksiyonel alt birimleri bağımsız çalışmakta ve bazı alt birimler hasara uğradığında diğerleri organın fonksiyonunu sürdürmeye devam edebilmektedir. Karaciğer, akciğer, böbrek paralel organlara örnek olarak verilebilir. Seri organlarda ise fonksiyonel alt birimler lineer dizilmişlerdir ve birbirlerine bağımlı çalışmaktadır, herhangi bir alt birimin hasara uğraması sonucunda tüm organda fonksiyon kaybı görülebilmektedir. Spinal kord, merkezi sinir sistemi, periferik ve kranial sinirler, gastrointestinal trakt ve trakea-bronş ağacı seri organlar arasındadır. Akciğer alveolar yapısı ile paralel, havayolları ile de seri organ gibi değerlendirilebilir (30).

Dokuda radyasyona bağlı bir komplikasyonun gelişip gelişmeyeceği genel olarak kaç FAB’ın ışınlama alanına girdiğine ve bunların uzamsal düzenine bağlıdır. Dozimetrik bir “*hotspot*”un, fonksiyonel alt birimleri paralel olarak düzenlenmiş bir organ için göreceli zararsız, spinal kord gibi seri yapıları bir organ içinse katastrofik etkilerinin olması klinik önem taşımaktadır. Akciğer, yüksek fonksiyonel rezervi olan bir dokudur ve ancak büyük hacimler ışınladığında ve buna karşılık gelen çok sayıda FAB inaktive edildiğinde belirgin bir fonksiyon kaybı ortaya çıkar. Bu durum, akciğerin fonksiyonel alt birimlerinin görece bağımsız çalışmasından ve paralel düzenlenmiş olmasından kaynaklanır (13).

2.3. Radyoterapi Planlamasında Hedef ve Normal Doku Tanımlamaları

Radyoterapi konturlama ve planlama süreçlerinde hedef ve normal dokular için tanımlar şu şekildedir (34):

-*Gross tumor volume (GTV)*: Görüntülemelerde tespit edilebilen primer tümör ve tutulu lenf nodları

-*Clinical target volume* (CTV): Mikroskopik hastalık yayılımını içeren klinik hedef hacim

-*Planning target volume* (PTV): CTV'ye marjin eklenerek oluşturulan organ hareketlerini ve günlük setup hatalarını kapsayan geometrik hacim

-*Organ at risk* (OAR): İyonizan radyasyona maruz kaldıklarında morbiditeye neden olabilecek normal dokular

-*Planning organ-at-risk volume* (PRV): Tedavi sürecinde normal dokuların konumundaki belirsizlikleri kapsayan hacim (seri yapıdaki organlar için önerilir.)

-*Internal target volume* (ITV): Tedavi sürecinde organ hareketlerine bağlı olarak CTV boyutunda, şeklinde, pozisyonunda olabilecek değişiklikleri kapsayan, CTV'ye internal marjin (IM) eklenmesi ile oluşturulan hacim

-*Treated volume* (TV): Işınlama tekniklerinin sınırlamaları nedeniyle PTV ile tedavi hacmi birebir aynı olmayabilir. TV, planlamada belirli bir izodoz sınırı içinde kalan doku hacmidir. Plan değerlendirilirken hacmin %98'inin aldığı minimum doz (D98%) TV'yi tanımlamak için tercih edilebilir.

-*Remaining volume at risk* (RVR): OAR ve CTV dışında, doza maruz kalan tüm normal dokular

-*Internal gross tumor volume* (iGTV): Solunuma bağlı tümör hareketini hesaba katarak, 4 boyutlu bilgisayarlı tomografi (BT) ile simülasyonda tümörün solunumun farklı fazlarında çizilip birleştirilmesiyle oluşturulan hacim (35).

Radyasyon doz-volüm parametreleri ile normal doku toksisite riski arasındaki ilişkiyi belirlemek çok önemlidir. Üç boyutlu radyoterapi planlarında normal dokuların aldığı dozun hacimsel değerleri Doz-Volüm Histogramları (DVH) ile belirlenmektedir (Şekil 2.3). Doz (D) X ekseninde, volüm (V) Y ekseninde gösterilmektedir. DVH değerlendirilirken önemli ölçütler şunlardır (30):

- 1- V_x (%): Normal dokuda X Gy ve üzerinde doz alan hacimdir. Akciğer, böbrek gibi paralel organların aldığı dozu değerlendirirken daha sık kullanılan bir ölçüttür.
- 2- D_x (Gy): Normal dokuda en yüksek doz alan X volümünde (genellikle total hacmin yüzdesi) tespit edilen minimum dozdur.
- 3- D_{maks} : Normal doku üzerinde hacim oluşturmayan en yüksek dozdur. Seri organların değerlendirilmesinde önemlidir.
- 4- Ortalama doz (D_{mean}): Normal dokunun aldığı dozun aritmetik ortalamasıdır. Paralel organların değerlendirilmesinde önemlidir.

Sistemik tedavilerin de gelişmesine bağlı olarak ‘oligometastatik’ veya ‘oligoprogresif’ hastalıkta hedeflenebilir tüm lezyonlara stereotaksik radyoterapi uygulanmasının önemi son yıllarda randomize çalışmalarla kanıtlanmıştır (40). Bu da akciğer metastazlarına yönelik stereotaksik radyoterapi uygulamalarının sıklığını arttırmıştır.

Torasik radyoterapiye bağlı akut dönemde özofajit, dermatit gibi yan etkiler görülürken; subakut ve kronik dönemlerde perikardit, valvüler yetmezlik ve darlık, koroner arter hastalığı gibi kardiyak yan etkiler, akciğerde ise radyasyon pnömonisi ve fibrozisi görülebilmektedir (30).

2.5. Torasik Radyoterapide Hedef Hacim Dozları ve Akciğer için Doz Sınırlamaları

Günümüzde yoğunluk ayarlı radyoterapi (*intensity modulated radiation therapy*, IMRT), *volumetric modulated arc therapy* (VMAT), görüntü kılavuzluğunda radyoterapi (GKRT), stereotaktik beden radyoterapisi (SBRT), solunum kontrollü RT, proton terapi gibi tekniklerle konvansiyonel radyoterapiye göre ışınlanan akciğer volümü ve kalan sağlıklı akciğerin aldığı yüksek dozlar belirgin olarak azalmıştır ve buna bağlı olarak da torasik RT alan hastalarda radyasyon ilişkili akciğer hasarı daha az görülmektedir (41-46). RİAH ile ilişkili olabilecek pek çok dozimetrik parametre tanımlanmıştır. Ancak prospektif çalışmalar, derlemeler ve metaanalizlerde gösterilmiştir ki; V20 ve ortalama akciğer dozu (D_{mean}), hasarı predikte etmede diğer parametrelere göre daha üstündür (43, 47, 48).

Lokal ileri KHDAK’nin definitif RT planlamasında, hedef hacime konvansiyonel fraksiyonasyonla (1,8-2 Gy/fraksiyon) en az 60 Gy dozunda tedavi verilmesi önerilmektedir (49). Uygun vakalarda dozun 70 Gy’e ($\pm$ eşzamanlı kemoterapi) kadar artırılması sağkalımları arttırmaktadır (50-52). QUANTEC önerilerine göre; KHDAK tanılı, konvansiyonel fraksiyonasyon şemasıyla küratif tedavi edilen hastalarda, radyasyon pnömonisi riskini %20’nin altında tutmak için, V20’nin %30–35 seviyesinin altında ve ortalama akciğer dozunun (*mean lung dose*, MLD) 20–23 Gy’in altında olması önerilmektedir (43). Avrupa Radyasyon Onkolojisi Derneği’nin (*European Society for Radiotherapy and Oncology*, ESTRO) 2025 yılında yayınladığı radyasyon pnömonisi kılavuzunda benzer şekilde; V20’nin %35’in altında, ortalama akciğer dozunun 23 Gy altında olması gerektiği ve bunun için CTV ve PTV marjlarını azaltacak 4 boyutlu BT ile simülasyon, solunum kontrolü, GKRT gibi tekniklerden mutlaka faydalanılması gerektiği

vurgulanmıştır (53). İnterstisyel akciğer hastalığı olanlarda akciğer dozlarının kılavuzların önerdiğinden daha sınırlı tutulması gerekmektedir (36, 54, 55).

Sınırlı evre küçük hücreli akciğer kanserinde standart RT doz/fraksiyon şeması, 15 günde, sabah-akşam uygulanan, 30 fraksiyonda 45 Gy olmakla birlikte; Yu ve ark. randomize faz 3 çalışmalarında, GTV dozunun 54 Gy'e kadar arttırılmasının genel sağkalımı arttırdığını vurgulamıştır. Çalışmada total akciğerin doz sınırlamaları; $V20Gy < \%30$, $V5Gy < \%60$ ve $Dmean < 15$ Gy olarak belirlenmiştir (56).

Akciğer lezyonlarının SBRT planlamasında tümör büyüklüğü ve yerleşimine göre hedef doz fraksiyon şeması değişkenlik göstermekle birlikte daha iyi lokal kontrol ve sağkalım için uygun vakalarda biyolojik etkin doz (BED) değerinin ≥ 100 Gy olması önerilmektedir (57-59). Stereotaksik radyoterapide yüksek doz alan volümler küçük olmasına rağmen çok sayıda ışın kullanılması nedeniyle akciğerin düşük-orta doz alan volümü artmaktadır. Bu nedenle SBRT için doz-volüm karakteristikleri konvansiyonel akciğer ışınlamasına göre farklıdır. Radyasyon pnömonisi SBRT sonrası oldukça düşük sıklıkta görülmektedir genellikle sıklık %10 ve altındadır (60). Erken evre akciğer kanseri tanımlı SBRT ile tedavi edilen hastaların değerlendirildiği bir çalışmada; büyük tümör boyutu ve PTV hacmi, MLD ve akciğer V20 değerleri semptomatik radyasyon pnömonisi için predikte edici faktörler olarak bildirilmiştir (45).

Hipofraksiyone ve stereotaktik radyoterapi uygulamalarında birçok klinisyen, Timmerman tablolarına veya UK SABR (*stereotactic ablative radiotherapy*) kılavuzlarına başvurmaktadır (61, 62). UK SABR 2022 konsensusunda; *Hypofractionated Treatment Effects in the Clinic (HyTEC)* kılavuzuna atıfta bulunarak, tek veya çoklu akciğer lezyonlarının SBRT'sinde 1-3-5 ve 8 fraksiyon için normal akciğerin (akciğer-GTV) $V20Gy < \%10$ (optimal), $V20Gy < \%15$ (zorunlu) ve $Dmean$ değerinin 8 Gy altında olması önerilmektedir (62, 63). Bir önceki konsensusta birden fazla akciğer lezyonu SBRT ile tedavi ediliyorsa, bu lezyonların ardışık günlerde ve mümkünse aynı doz/fraksiyon şemasıyla tedavi edilmesi önerilmiştir. Tedavilerin gün aşırı uygulanması ile tüm akciğerin fraksiyon başına aldığı dozun azalacağı ve bunun ciddi pnömoni ve fibrozis riskini sınırlayacağı belirtilmiştir (64).

Yoğunluk ayarlı radyoterapi tekniklerinde düşük dozlara maruz kalan sağlam akciğer hacmi daha yüksektir. Akciğerde V5 gibi düşük doz alan hacimlerin de radyasyon pnömonisi riskini artırabileceğine dair görüşler (65, 66) olmasına rağmen, radyoterapi planlamasında düşük doz hacimlerini optimize etmek hâlâ birincil hedef değildir. RTOG 0617 çalışmasının IMRT ile 3 boyutlu konformal radyoterapiyi karşılaştıran sekonder

analizinde, akciğer V5 değerinin derece 3 toksisite ile ilişkili olmadığı; buna karşın, akciğer V20 değerinin çok değişkenli analizde derece 3 pnömoni riskinin artışıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca şiddetli pnömoni oranları, 3 boyutlu konformal radyoterapiye kıyasla IMRT ile daha düşük bulunmuş; bu sonuç da normal akciğer dokusunun aldığı düşük dozların şiddetli toksisite ile ilişkili olmadığını doğrulamaktadır (44). Bununla birlikte planlamada akciğer V5Gy değerinin %60'ın altında, V10Gy'in %45'in altında olması ikincil olarak dikkat edilmesi gereken hedeflerdendir.

2.6. Radyasyon İlişkili Akciğer Hasarı

Radyasyon ilişkili akciğer hasarı, torasik radyoterapinin en önemli doz sınırlayıcı yan etkilerinden birisidir. Eski serilerde küçük hücre dışı akciğer kanseri tanılı hastalarda %8-13 oranında radyoterapiye sekonder şiddetli akciğer toksisitesi geliştiği ve hastaların yaklaşık %1,6'sının ölüm nedeninin radyasyon pnömonisi olarak kaydedildiği bildirilmiştir (67, 68). Radyoterapi tekniklerinin gelişmesiyle birlikte ciddi komplikasyonların sıklığı azalmıştır.

Klinik olarak tanı koymanın zor olması, nonspesifik semptomların ve radyolojik bulguların klinisyenler arasında farklı yorumlanabilmesi nedeniyle literatürde RİAH görülme sıklığı %5-58 olarak geniş bir aralıkta belirtilmiştir (2). Primer tanılara göre sıklığı değerlendirildiğinde, en sık akciğer kanseri tanılı hastalarda (%5-25), ardından mediastinal lenfoma (%5-10), ardından da meme kanseri tanılı hastalarda (%1-5) görüldüğü bildirilmiştir (69).

Günümüzde sıklıkla iki ayrı kavram üzerinden değerlendirilmektedir. Erken inflamatuvar reaksiyonlara bağlı alveolar, endotelyal hasar, ödem ve interstisyel boşlukta inflamatuvar hücrelerin toplanmasıyla oluşan RT sonrası ilk 6 ay içinde (sıklıkla ilk 12 haftada) görülen patoloji, radyasyon pnömonisi (RP) olarak adlandırılmaktadır. Geç dönemde oluşan miyofibroblast proliferasyonu, kolajen birikimi normal akciğer yapısının geri dönüşümsüz hasarı ile sonuçlanan patoloji ise radyasyon fibrozisi (RF) olarak tanımlanmaktadır (70).

2.6.1. Risk Faktörleri

Radyasyon ilişkili akciğer hasarının gelişmesinde retrospektif verilerden faydalanılarak hasta ve tedavi ilişkili birçok faktör tanımlanmıştır. Hasta ilişkili faktörler arasında; ileri yaş, sigara, altta yatan akciğer hastalığı, diyabet, kolajen vasküler hastalıklar, tümörün yerleşimi, boyutu, genetik yatkınlık gibi etkenler sayılmaktadır. Tedavi ilişkili faktörler arasında ise; radyoterapi tekniği, doz/fraksiyon şeması, farklı

dozlarda radyasyona maruz kalmış akciğer volümleri, kemoterapi, ICI veya hedeflenmiş ajanların eşzamanlı olarak tedavide kullanılması gibi etkenler mevcuttur (47, 53, 71-73).

Bir metaanalizde, sigara kötü risk faktörü olarak bulunmuşken (73); meme kanseri tanılı RT alan hastalarda risk faktörlerinin araştırıldığı başka bir metaanalizde, aktif ya da eski sigara içicisi olmanın hasar ile ilişkisi gösterilememiştir (72). Vogelius ve ark., tarafından yayınlanan metaanalizde ise aktif sigara içenlerde radyasyon pnömonisinin istatistiksel anlamlı olarak daha az görüldüğü, eski sigara öyküsü olanlarda da riskin istatistiksel anlamlı olmasa da daha az olduğu bildirilmiştir (71). Erken evre KHDAK'li ve orta derecede interstisyel akciğer hastalığı (İAH) olan olgularda SBRT'nin değerlendirildiği faz 2 nonrandomize çalışmada; hastaların %31'i derece 1-2, %10'u derece 3 ve %7,7'si derece 5 (tamamı solunum yetmezliğine bağlı) advers olaylar yaşamıştır, toksisite artmakla birlikte tedavi etkinliği nedeniyle SBRT'nin iyi seçilmiş İAH olgularında uygulanabileceği belirtilmiştir (55). Klinik çalışmalarda alt lob bazal yerleşimli tümörlerde radyasyon pnömonisi riskinin arttığı bildirilmiştir (45, 47, 74). Akut fazdaki hasar doza bağımlıdır, daha yüksek dozlarda daha şiddetli pnömoni görülmektedir (75-77).

Sekansiyel veya eşzamanlı sistemik tedaviler de radyasyon ilişkili akciğer hasarını arttırabilmektedir (71). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde RT ile eşzamanlı uygulanan karboplatin/paklitaksel kemoterapisinin, sisplatin/etoposid rejimine göre pnömoni riskini arttırdığı bildirilmiştir (47). Bununla birlikte eşzamanlı dosetaksel (78) veya gemitabin kullanımının (79) hasarı arttırdığını bildiren çalışmalar da mevcuttur. Postmastektomi radyoterapi uygulanan 196 olgunun değerlendirildiği bir çalışmada eşzamanlı tamoksifen kullanımının TGF- β sekresyonunu indüklemesi nedeniyle hastalarda akciğer fibrozisi riskini arttırdığı belirtilmiştir (80). Bir prelinik çalışmada ise farelerin toraks bölgesine uygulanan 19 Gy ile eşzamanlı anti-VEGF (*vascular endothelial growth factor*) ajan kullanımının akciğer fibrozisini belirgin düzeyde arttırdığı gösterilmiştir (81).

Metastatik akciğer kanserli hastalarda immün kontrol noktası inhibitörleri ile RT'nin birlikte kullanımının değerlendirildiği bir metaanalizde, bu tedavilerin tek başına uygulandığı olgulara göre 1 yıllık ve 3 yıllık genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalım istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (82). ICI ile torasik RT uygulamalarının pulmoner toksisite üzerine etkisine dair literatürde tartışılmalı sonuçlar mevcuttur. Evre 3 KHDAK tanılı hastalarda definitif kemoradyoterapi sonrası 1 yıl süreyle durvalumab kullanımının değerlendirildiği faz 3 PACIFIC çalışmasında; en sık görülen grade 3-4 yan etkinin pnömoni olduğu ve tedavilerin bırakılmasına yol açan en

sık advers olayın, pnömonit veya radyasyon pnömonisi olduğu bildirilmiştir. İmmunoterapinin tek ajan olarak uygulandığı çalışmalara göre tedaviye kemoradyoterapi eklenmesinin pulmoner toksisiteyi arttırdığı belirtilmiştir (83). Kemoradyoterapi sonrası idame durvalumab alan hastaların retrospektif değerlendirildiği bir çalışmada ise pnömoni nedeniyle durvalumabı erken bırakan hastaların diğerlerine göre genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalımlarının belirgin düzeyde azaldığı (sırasıyla $p=0.017$, $p=0.001$) vurgulanmıştır (84). Metastatik küçük hücre dışı akciğer kanserli olgularda pembrolizumaba RT eklenmesi ile tedavi yanıtının ve sağ kalımların araştırıldığı iki çalışmanın metaanalizinde ise 148 hasta değerlendirilmiştir. Radyoterapi, olguların en sık akciğer metastazlarına, torasik lenf nodlarına ve primer kitlesine yönelik uygulanmıştır. Pembrolizumaba RT eklenmesi ile ortanca progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalımda anlamlı iyileşme olduğu görülmüş ve analize katılan iki çalışmada da akciğer toksisitesinde belirgin artış izlenmemiştir (85). Pembrolizumabın ileri evre akciğer kanseri tanılı hastalarda etkinliğinin değerlendirildiği faz 1 KEYNOTE-001 çalışmasının sekonder analizinde; pembrolizumab öncesi torasik RT alan ve almayan hastalar karşılaştırılmıştır. Torasik RT alan grupta pulmoner toksisitede istatistiksel anlamlılığa ulaşacak düzeyde bir artış izlenmemiştir (%63 vs. %40 $p=0.052$) (86). Bir başka metaanalizde ise metastatik KHDAK tanılı olgularda ICI ve RT uygulamalarında pnömoni riskinde artış olduğu, diğer yan etkilerde ise belirgin bir fark gözlenmediği belirtilmiştir (87).

Kemoterapi, ICI, hedefe yönelik ajanlar gibi sistemik tedaviler sonrası *radiation recall pneumonia* (RRP) gelişebilmektedir. *Recall* fenomeni RT'den uzun zaman sonra, ilaç uygulamaları sonrası ortaya çıkan, beklenmedik ve nedeni tam anlaşılamamış, eski radyoterapi alanlarında akut inflamatuvar hasarla karakterize nadir görülen bir tablodur (88-91). RRP gelişimi için dozimetrik veya hasta ilişkili mutlak bir risk faktörü saptanamamıştır (53).

Radyasyon ilişkili akciğer hasarında birçok risk faktörü bulunmasına rağmen hastadan hastaya belirgin farklılıklar gösteren bu durum için bireysel genetik faktörler ve inflamatuvar fenotiplerin aydınlatılması da giderek daha çok önem kazanmaktadır. Küçük hücre dışı akciğer kanseri tanılı definitif radyo(kemo)terapi uygulanan 164 hastanın genomik örnekleri incelendiğinde TGF- $\beta 1$ 'in CT/CC genotipinin (tek nükleotid polimorfizmi) radyasyon pnömonisi gelişimi açısından daha düşük riskli olduğu gösterilmiştir (92). Küçük hücre dışı akciğer kanseri nedeniyle definitif KRT alan hastaların DNA örneklerinin değerlendirildiği başka bir çalışmada baz eksizyonu tamir

genlerindeki fonksiyonel tek nükleotid polimorfizminin (XRCC1 ve APEX1) radyasyon pnömonisi riskinde artış ile ilişkili olduğu saptanmıştır (93). Ataksi telenjiektazi, Fanconi anemisi gibi nadir görülen genetik hastalıklarda DNA onarım genlerinde *germline* mutasyon olması nedeniyle bazı kanser türleri için artmış risk bulunmakla beraber radyasyon hasarına daha yatkın oldukları ve daha fazla normal doku toksisitesi görülebildiği bilinmektedir (80, 94, 95). Torasik RT alan akciğer kanseri tanımlı hastaların lenfosit DNA'larının değerlendirildiği iki ayrı çalışmada ATM tek nükleotid polimorfizminin torasik RT alan hastalarda RP gelişimini öngören bağımsız bir biyobelirteç olabileceği vurgulanmıştır (96, 97). Tümör süpresör P53 geni, ATM gibi pek çok protein kinaz tarafından fosforillenerek aktifleşir. Bu yolağın araştırıldığı bir çalışmada *P53 Arg72Pro* ve *ATM-III G>A* polimorfizmlerinin RP gelişiminde additif etki gösterdiği bulunmuştur, çapraz doğrulama testi ile de P53 ve ATM genotipleriyle RP vakalarının %63,2'sinin identifiye edilebileceği gösterilmiştir (98).

2.6.2. Klinik ve Görüntüleme Bulguları

Radyasyon pnömonisinin belirtileri; RT tamamlandıktan sonraki 1-6 ay içinde gelişen kuru öksürük, plöritik göğüs ağrısı, hafif nefes darlığı, hafif ateş ve zamanla efor kapasitesinde progresif kayıp gibi nonspesifik şikayetlerdir. Fizik muayenede akut inflamasyon bulgusu olarak akciğer oskültasyonunda krepitasyon duyulabilir (53).

Geç dönemde akciğer fibrozisinin neden olduğu belirti ve bulgular; etkilenen akciğer volümüne bağlı olarak değişen şiddette nefes darlığı, ilerleyen evrelerde ortopne, siyanoz, pulmoner hipertansiyona sekonder sağ kalp yetmezliği olarak sıralanabilir (69).

Akciğer kanserli bir olgu semptomatik olduğunda; altta yatan akciğer hastalığı veya tümöre bağlı gelişen komplikasyonlar (atelektazi, obstrüksiyon, lenfanjitik yayılım gibi) ile RİAH arasında ayırım yapmak oldukça zordur. Koçak ve ark. akciğer kanseri tanımlı 318 hastayı torasik RT sonrası prospektif olarak değerlendirdikleri çalışmalarında vakaların %28'inde RİAH tanısı koymanın oldukça güç olduğunu gözlemlemişlerdir. Hastaların belirti ve bulgularını; KOAH, ilaç ilişkili pnömoni, enfeksiyöz pnömoniler veya altta yatan kalp hastalığının belirtilerinden ayırmanın zor olduğunu vurgulamışlardır (99). Bununla birlikte özellikle radyoterapi tamamlandıktan sonra haftalar aylar içinde belirtilen semptomların ortaya çıkması halinde, klinisyen mutlaka RİAH'tan şüphelenmeli ve tanısal değerlendirmeye gitmelidir.

Akciğer grafisi genellikle tanıya yardımcı olmamakla birlikte diğer nedenleri dışlamak adına çekilebilir; ancak toraks BT görüntülemesi tanı için daha duyarlı bir

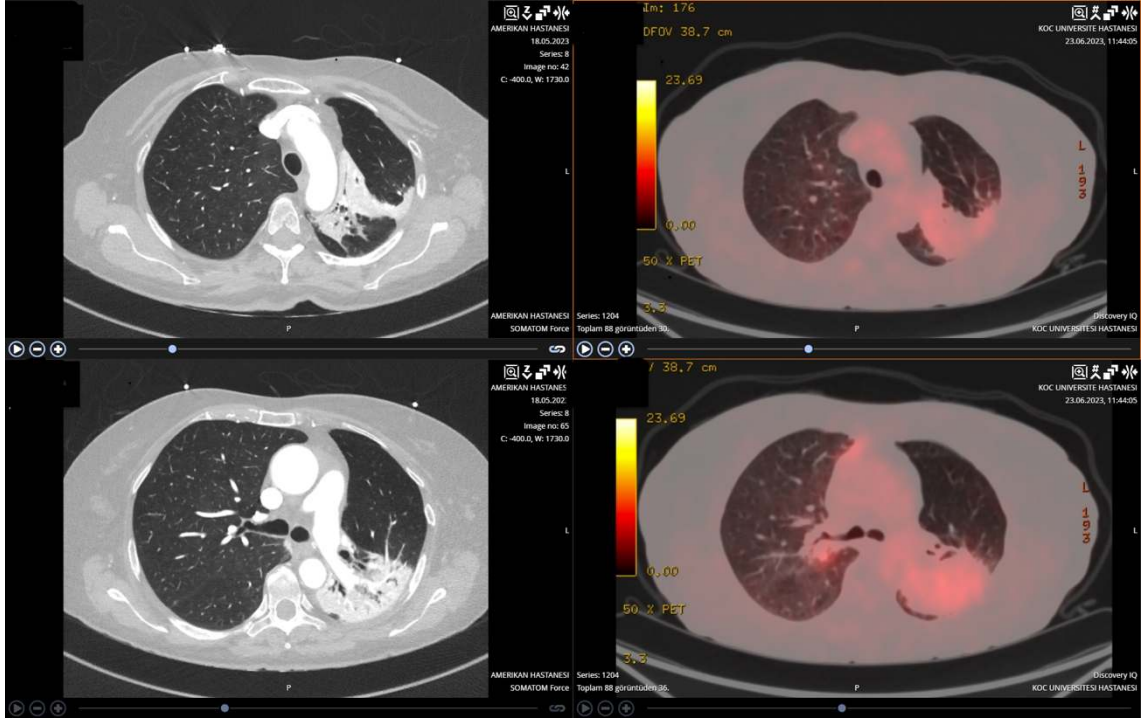
yöntemdir. BT'deki görünümüler akciğer hasarının evreleri ile genellikle koreledir. Erken dönemde buzlu cam opasiteleri ve yamalı konsolidasyon sahaları, geç dönemde ise konsolide lineer skar görünümü, pulmoner fibrozis geliştiğinde volüm kaybı ve traksiyon bronşektazisi izlenmektedir (Şekil 2.4, Şekil 2.5) (100-102). Ancak BT'de bu görüntüleme bulgularının olması klinik bulguları olmayan bir hastaya radyasyon pnömonisi tanısı koydurmaz. Küçük hücre dışı akciğer kanseri nedeniyle RT almış 146 hastanın 3. aydaki BT değişikliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada hastaların %63'ünde buzlu cam opasiteleri, yaygın veya yamalı konsolidasyon alanları gibi yeni BT bulguları saptanmış, ancak hastaların yalnızca %17'sinde semptom saptanmıştır (103). Radyolojik değişiklikler bazen ışınlanan alanın ötesine yayılabilir veya karşı akciğeri de içerebilir. Özellikle sistemik tedavi alan hastalarda radyolojik bulguların yorumlanması daha da karmaşık hale gelir (102). Hayvan çalışmalarında tek taraflı ışınlama sonrası bilateral bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerine bakıldığında inflamatuvar hücrelerin tüm örneklerde artmış olduğu saptanmıştır, yani ışınlanmamış akciğerde de inflamatuvar bir süreç olduğu belirtilmiştir. Klinik çalışmalarda ise semptomatik hastaların bilateral bronkoalveolar lavaj örneklerinde sellülerite, lenfosit sayısı (CD4+ ağırlıklı) ve sitokinlerin daha fazla olduğu saptanmıştır (104). İnflamasyonun ışınlanmayan akciğer alanlarında dahi görülebilmesi, radyolojik görünümle uyumsuz olarak bazı hastalarda şiddetli RP semptomlarının görülmesini de açıklayabilir. Radyasyon fibrozisi ise sadece ışınlanan akciğer alanına sınırlı, ve genellikle ışınlanan volümden daha küçük hacimli kontrakte dens skar dokusuyla karakterizedir (70).

Radyasyon ilişkili akciğer hasarının solunum fonksiyon testi bulguları tipik olarak restriktif patern göstermektedir; akciğer volümleri, kompliansı, zorlu ekspiratuar volüm, zorlu vital kapasite ve diffüzyon kapasitesi azalmıştır (105-107).

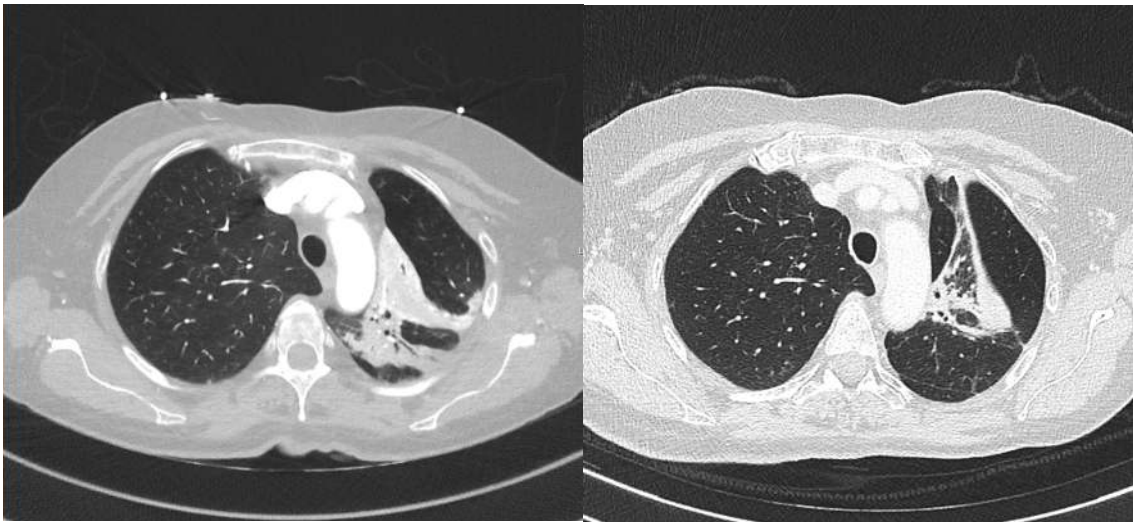
Kemoradyoterapi sonrası ateş, öksürük ve nefes darlığı gibi semptomlarla başvuran hastalarda, iki temel ayırıcı tanı ön planda olmalıdır: enfeksiyöz pnömoni ve radyasyon pnömonisi. Akciğer radyoterapisi almış immünoterapi uygulanan hastalarda ise ayrıca immün ilişkili pnömonit de göz önünde bulundurulmalıdır. Pnömonit, immünoterapi ilişkili en ciddi ve yaşamı tehdit eden advers olaylardan biridir. RP ile immünpnömoniti ayırt etmek, farklı tedavi yaklaşımları ve hasta sonuçları üzerindeki etkileri nedeniyle son derece önemlidir. Örneğin, klinisyen tarafından RP bulgularının immünpnömonit olarak değerlendirilmesi etkili bir immünoterapinin gereksiz yere kesilmesine yol açabilir. Bu durum, doğru tanı ve uygun yönetim için radyologlar,

radasyon onkologları, medikal onkologlar ve göğüs hastalıkları uzmanlarını içeren multidisipliner bir yaklaşımın gerekliliğini vurgulamaktadır (53).

Postradyasyon değişiklikler ile lokal nüks veya progresyonu BT görüntülerinde ayırt etmek zor olabilir; bu gibi durumlarda PET/BT ile görüntüleme, biyopsi öncesinde %98 duyarlılık ve %82 özgüllük ile ayırıcı tanıda yol gösterici olmaktadır (Şekil 2.3) (108).



Şekil 2.3: Radyasyon pnömonisi BT ve PET/BT bulguları.



Şekil 2.4: Radyasyon pnömonisi sonrası gelişen fibrozis.

2.6.3. Radyasyon ilişkili Akciğer Hasarının Derecelendirilmesi

Radyoterapi ilişkili yan etkiler sıklıkla *Radiation Therapy Oncology Group* (RTOG) ve *European Organization for Research and Treatment of Cancer* (EORTC)'nin veya *Common Terminology Criteria of Adverse Events* (CTCAE)'nin hazırlamış olduğu kılavuzlara göre derecelendirilmektedir (109, 110). Radyasyon ilişkili akciğer hasarının erken dönem derecelendirmesi Tablo 2.1'de, geç dönem derecelendirmesi Tablo 2.2'de sunulmaktadır.

Tablo 2.1: Radyasyon ilişkili akciğer hasarının erken dönem derecelendirmesi.

Derecelendirme	RTOG	CTCAE v5.0
Derece 1	Hafif kuru öksürük veya efor dispnesi	Asemptomatik, müdahale gerektirmeyen klinik veya diyagnostik gözlemler
Derece 2	Antitusif narkotik ilaç gerektiren persistan öksürük / istirahatte olmayan, minimal eforla ortaya çıkan dispne	Medikal müdahale gerektiren, günlük enstrümantal yaşamsal aktiviteleri kısıtlayan semptomlar
Derece 3	Antitusif narkotik ilaçlara yanıt vermeyen şiddetli öksürük veya istirahatte bile dispne olması / pnömoninin klinik veya radyolojik bulguları / steroid ve aralıklı oksijen ihtiyacı	Oksijen desteği gerektiren, günlük öz bakım aktivitelerini kısıtlayan şiddetli semptomlar
Derece 4	Şiddetli solunum yetmezliği / devamlı oksijen/ventilasyon desteği	Acil müdahale (entübasyon, trakeotomi gibi) gerektiren hayatı tehdit eden solunum yetmezliği
Derece 5	Toksisite ilişkili ölüm	Toksisite ilişkili ölüm

Tablo 2.2: Radyasyon ilişkili akciğer hasarının geç dönem derecelendirmesi.

Derecelendirme	RTOG / EORTC	CTCAE v5.0
Derece 1	Asemptomatik veya hafif kuru öksürük gibi semptomlar, belirsiz radyografik bulgular	Akciğer hacminin <%25'inden azında, hipoksi ile ilişkili radyolojik pulmoner fibrozis
Derece 2	Orta düzeyde semptomatik fibrozis veya pnömoni (şiddetli öksürük), hafif ateş, yamalı radyografik görünüm	Akciğer hacminin %25-50'sinde, hipoksi ile ilişkili radyolojik pulmoner fibrozis, pulmoner hipertansiyon bulguları
Derece 3	Şiddetli semptomatik fibrozis veya pnömoni, yoğun radyografik değişiklikler	Akciğer hacminin %50-75'inde radyolojik pulmoner fibrozis, şiddetli hipoksi, sağ kalp yetmezliği bulguları
Derece 4	Şiddetli solunum yetmezliği / devamlı oksijen / ventilasyon desteği	Radyolojik olarak akciğerin >%75'inde balpeteği görünümünde fibrozis, hayatı tehdit eden entübasyon ve solunum desteği gerektiren hemodinamik ve pulmoner komplikasyonlar
Derece 5	Toksisite ilişkili ölüm	Toksisite ilişkili ölüm

2.6.4. Patofizyoloji

İyonizan radyasyon, normal akciğer dokusunda çok yönlü bir yanıt başlatır ve bu yanıt; akut faz (RT sonrası saatler-günler), subakut faz (RT sonrası günler-haftalar) ve kronik faz (RT sonrası aylar-yıllar) olarak üçe ayrılır. Her bir faz; endotel hücreleri, alveolar epitelin tip 1 ve tip 2 hücreleri, fibroblastlar ve immün sistem hücreleri arasındaki yoğun etkileşimlerle karakterizedir. Daha az hasar yüküne sahip hücrelerde, DNA onarımı ve iyileşme için hücre döngüsünde geçici duraklama olur. Onarılamayan hasar yüküne sahip hücrelerde ise hücre döngüsünde kalıcı duraklama olur, bunun sonucunda mitotik katastrofi, hücresel yaşlanma (senesens), akut veya gecikmiş hücre ölümü görülür. Bu yanıt sürecinde hücresel sinyal yolları aktive olur. Bu yollar hem bölgesel hem de sistemik immün yanıtı indükleyerek dokunun inflamatuvar hasarını artırır. Daha yüksek hasar yüküne verilen hücresel yanıtlar genellikle daha yüksek immünojenite ile ilişkilidir (53).

Akciğerin iyonizan radyasyona en duyarlı fonksiyonel alt birimi alveolar-kapiller bariyerdir. Bu bariyer; tip 1 pnömositler, kapiller endotelyal hücreler ve bunların bazal membranlarından oluşmaktadır. Alveolar epitelin ana hücreleri tip 1 ve tip 2 pnömositlerdir. Tip 1 hücreler alveolar yapının %90'ını oluşturmaktadır ve alveol içini döşeyen ince bir tabaka oluşturmak üzere ileri düzeyde yassılaştırmışlardır. Kapiller endotel ve alveolar hava boşlukları arasında oksijen-karbondioksit değişiminde görev alırlar. Tip 2 hücreler, alveolar yüzeyin sadece %7'sini oluştururlar ve küboidal granüler hücrelerdir. Sitoplazmalarında; sürfaktan, kompleman sistemi, sitokinler, lizozimler gibi immün modülatör molekülleri sentezleyen ve depolayan lamellar cisimcikler bulunur. Sürfaktan, alveolar yüzey gerilimini azaltarak pulmoner kompliyansı sağlar. Tip 2 hücreler, aynı zamanda tip 1 hücrelerin prekürsörleridir (70).

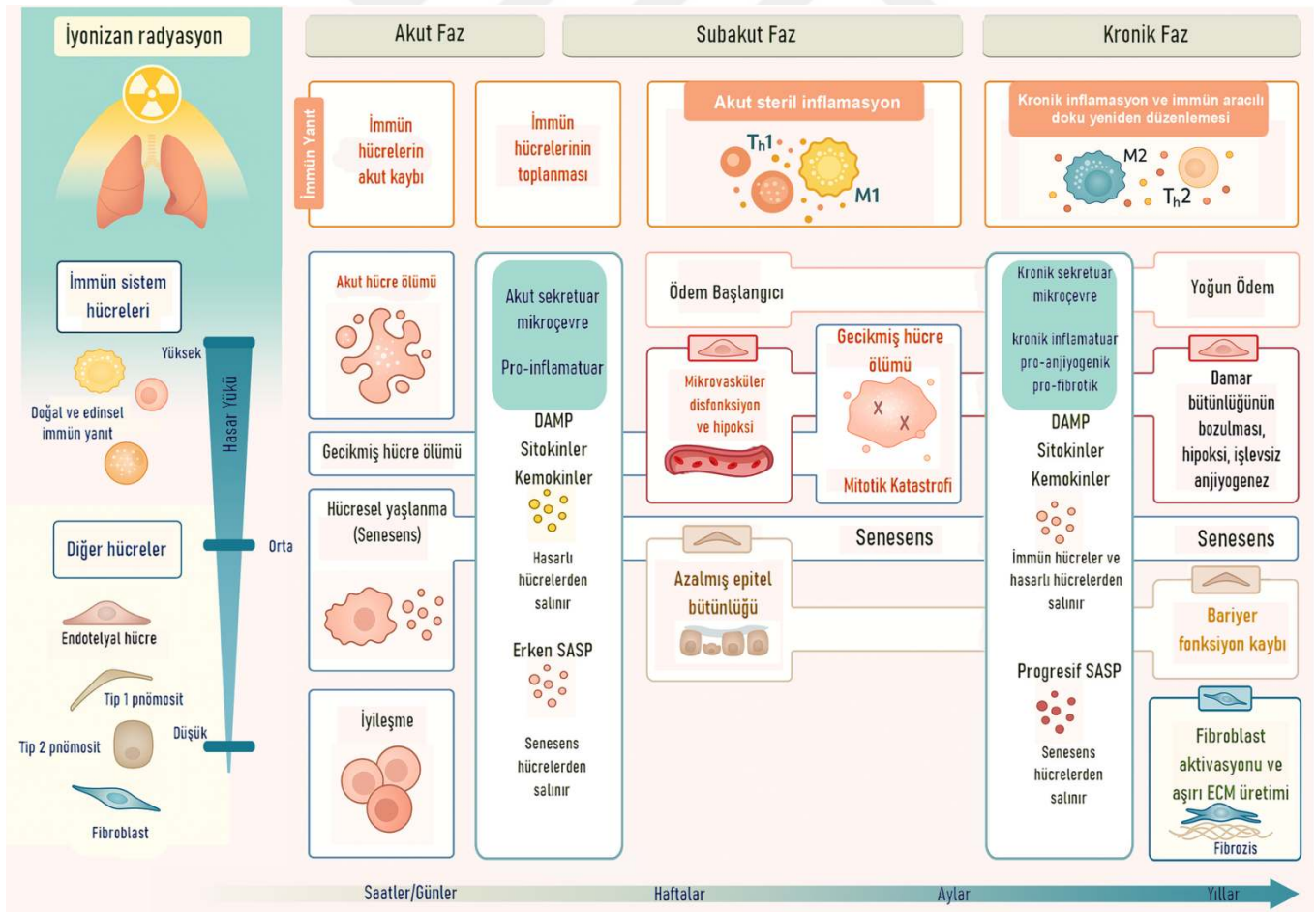
Radyasyon hasarı sonrası ilk değişiklikler tip 1 pnömositlerde ve endotelyal hücrelerde görülür. Preklinik çalışmalarda, latent dönemdeki morfolojik değişiklikler elektron mikroskobu ile gösterilmiştir. Bu değişiklikler; sitoplazmada şişme, vaküolasyon, çekirdek polimorfizmi, kromatin kondansasyonu, bazal membranda ödem ve ayrışma, vasküler permeabilitede artış, alveolar ve interstisyel ödem, kapillerlerde obstrüksiyon olarak sayılabilir (111-113).

Tip 1 epitel hücrelerin kaybına karşılık; tip 2 hücreler, kompensasyon amacıyla aşırı proliferasyon gösterir (114). Tip 2 pnömositlerde ışınlama sonrası lamellar cisimciklerin sayısında azalma olur ve kalan lamellar cisimcikler de büyüyerek düzensiz bir görünüm alır (113). Bunun sonucunda da sürfaktan kaybı ve alveollere serum proteinlerinin transüdayonu görülür (69). Radyasyon sonrası alveolar sürfaktanda meydana gelen değişiklikler sonuç olarak akciğer kompliyansında azalmaya neden olur.

Hasara maruz kalan hücrelerden salınan DAMP'lar ve IL-1, IL-6, TNF gibi sitokinler ve kemokinler pro-inflamatuar sekretuar bir mikroçevre oluşturur. Senesens hücrelerden salınan IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-17, TNF- α , TGF- β ve *C-C motif chemokine ligand 2* (CCL2) gibi moleküllerin (SASP) RİAH üzerindeki rolü preklinik çalışmalarla gösterilmiştir (115). Bu mikroçevre, immün hücrelerin dokuya göçünü ve aktivasyonunu sağlar. Hasar bölgesine saatler içerisinde öncelikle nötrofiller, ardından eozinofiller, bazofiller, inflammatuar monositler ve lenfositler gelir (29, 116). ICAM-1 gibi hücresel adezyon moleküllerinin artışı, ortamda biriken immün hücreler ve senesens hücrelerden salınan ikincil ve persistan sitokin/kemokin dalgası; inflammatuar yanıtı daha da belirginleştirir. Bu da alveolar epitel ve endoteldeki dejeneratif değişikliklerin artmasına neden olur (117-119). Bununla birlikte radyasyon hasarı, aşırı inflamasyonu önlemek

amacıyla *programmed cell death 1* (PD-1) ve *programmed cell death ligand 1* (PD-L1) gibi inhibitör sinyalleri ve düzenleyici T hücreleri (Treg) gibi inhibitör hücre tiplerini de indükler (120, 121). Eğer bu inflamatuvar yanıtlar çözülmezse, 4-12 hafta içinde steril akciğer inflamasyonu (subakut radyasyon pnömonisi) oluşur (Şekil 2.5) (67).

Subakut fazın ilerleyişi; mikrovasküler disfonksiyon, hipoksi, ödem, epitelyal bütünlüğün azalması ile daha da belirgin hale gelir. Daha sonraki aşamalarda ise mitotik katastrofideki ve persistan senesens hücrelerden salınan sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri ve proteazlar; proanjiyojenik ve profibrotik etkiler gösteren kronik sekretuar mikroçevreyi şekillendirir. Bu mikroçevre, özellikle de birçok hücre tipinden salınan TGF- β molekülü, immün hücrelerde antiinflamatuvar ‘M2-benzeri makrofajlara’ ve ‘Th2-polarize CD4⁺ T hücre’ fenotiplerine doğru değişimi teşvik eder ve immün aracılı doku yeniden şekillenmesini (*remodelling*) sağlar. Kronik inflamatuvar mikroçevre ve immün hücrelerdeki bu fenotipik değişim, patolojik fibroblastların birikimini ve aktivasyonunu destekleyerek akciğer fibrozisine yol açar (Şekil 2.5) (29).



Şekil 2.5: Radyasyon ilişkili akciğer hasarının patofizyolojisi (De Ruyscher ve ark., 2025'ten uyarlanmıştır).

Akciğer dokusunda interstisyel hücrelerin %95'i fibroblastlardır. Bu hücrelerin doku hasarını onarma, rejenerasyon ve sitokin üretme gibi önemli destek görevleri vardır. Fibroblastlar, doku hasarının onarımı sırasında TGF- β aracılığıyla miyofibroblastlara dönüşmektedir. Miyofibroblastlar düz kas hücresi belirteçleri (*α -smooth muscle actin*, α -SMA) taşır. Aktive miyofibroblastlar tarafından interstisyuma aşırı miktarda kolajen ve diğer ekstrasellüler matriks (*extracellular matix*, ECM) proteinleri salgılanır. Miyofibroblastlar fibroziste ana efektör hücre olarak rol oynamaktadır (29, 122).

Ekstrasellüler matriks, tüm doku ve organlarda hücrelerin etrafında bulunan ve hücrelere destek olan yapıdır. ECM; proteinler (kolajenler ve elastin), glikoproteinler, proteoglikanlar (fibronektin, laminin ve tenaskin), glikozaminoglikanlar (heparin ve kondroitin) ve hiyaluronik asitten oluşan bir karışımdır. ECM'de ayrıca matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi proteolitik enzimler de bulunur; bunlar aktive olduklarında anormal yeniden şekillenmeye yol açabilir. TGF- β , ECM'nin yeniden düzenlenmesinde rol oynayan ana sitokindir (123).

Endotelyal-mezenkimal geçiş ve epitelyal-mezenkimal geçiş; normal yara iyileşmesinin bir parçası olarak endotelyal ve epitelyal progenitör hücrelerin ve mezenkimal kök hücrelerin miyofibroblastlara farklılaşmasını içeren bir süreçtir. Bu süreç TGF- β tarafından aktive olur. Radyoterapi hasarı da TGF- β aracılığıyla bu geçişi stimüle eder (29).

Sonuç olarak radyasyon ilişkili akciğer hasarının geç dönemi; kronik inflamasyon sürecinde çeşitli hücrelerden salınan TGF- β sitokini aracılığıyla akciğer dokusunda miyofibroblastların artışı, interstisyumda ECM proteinlerinin aşırı birikimi, doku yeniden şekillenmesi, alveolar septal kalınlaşmalar ve fibrozis gelişimi ile karakterizedir. Bu aşırı protein birikimi ve fibrozis nihayetinde akciğerin ventilasyon perfüzyon fonksiyonunu bozmaktadır.

2.6.4.1. İnterlökin-6

İnterlökin-6, multifonksiyonel pleiotropik bir sitokindir. T lenfositlerin proliferasyonunu, B lenfositlerin diferansiyasyonunu, plazma hücrelerinin IgG, IgA ve IgM üretimini stimüle eder. Enfeksiyon ve hasar olması durumunda hematopoezi, karaciğerde akut faz proteinlerinin üretimini indükler. IL-6; makrofajlar, epitelyal, endotelyal hücreler, fibroblastlar, kemik iliği hücreleri, monositler, lenfositler, hepatositler ve keratinositler gibi birçok hücre tarafından tarafından üretilmektedir. Reseptörü, IL-6'ya bağlanan bir zincir (IL-6Ra/CD126) ve sinyal iletiminden sorumlu glikoprotein130 (gp130/CD130) olmak üzere iki parçadan oluşur. IL-6 reseptörü, hem

hücre membranına bağlı (mIL-6R) hem de solubl (sIL-6R) formlarda bulunur. IL-6'nın gp130 reseptörüne bağlanması ile *janus-activated kinase* (JAK) proteini aktive olur ve *signal transducer and activator of transcription* (STAT) ailesine ait transkripsiyon faktörlerini fosforile eder (JAK-STAT3 yolağı) ve ayrıca *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) yolağı aktive olur. Fosforile STAT'lar çekirdeğe geçerek proliferasyon, inflamasyon gibi süreçlerde rol alan gen ekspresyonlarını düzenler. IL-6; birçok kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıkta önemli rol oynamaktadır. Romatoid artritte sinovyal sıvıda, Castleman hastalığında lenf nodlarında, miyelom hücrelerinde ve birçok tümör hücresinde aşırı üretimi gösterilmiştir. Osteoklast aktivasyonu ile osteoporoza neden olmaktadır. VEGF üretimini indükleyerek anjiyogeneze ve vasküler permeabilite artışına neden olmaktadır. Sistemik sklerozda IL-6'nın keratinosit proliferasyonunu, dermal fibroblastlarda kolajen sentezini ve bu hücrelerin miyofibroblastlara farklılaşmasını teşvik ettiği ve sonuç olarak ciltte fibrozise yol açtığı bildirilmiştir. Böbrek mezengial hücrelerde birikiminin tespit edilmesiyle bazı glomerüler hastalıklarda rol oynadığı düşünülmektedir (124). IL-6; akciğer parankiminde alveoler makrofajlar, pnömositler, T lenfositler ve akciğer fibroblastları tarafından sentezlenmektedir ve birçok çalışmada RİAH ile ilişkilendirilmiştir.

Arpin ve ark. prospektif çalışmalarında, KHDAK tanısıyla RT alan hastaların plazma IL-10 ve IL-6 düzeyleri ile radyasyon pnömonisi gelişimi arasında bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Tedavi öncesi sitokin düzeyleri ile RP arasında anlamlı ilişki olmadığını ancak RP gelişen hastaların tedavi süresince IL-6 düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Çok değişkenli analizde, tedavinin ilk iki haftasındaki proinflamatuvar IL-6 ve antiinflamatuvar IL-10 düzeyi değişimleri radyasyon pnömonisi için bağımsız prediktif faktörler olarak değerlendirilmiştir (5). Chen ve ark., torasik radyoterapi alan hastaların RT öncesi, RT sırasında ve RT'den sonraki takip süresinde alınan plazma örneklerinden çok sayıda sitokin düzeyini değerlendirdikleri prospektif çalışmada; dolaşımdaki IL-1 α ve IL-6 düzeyleri ile RP arasında güçlü bir ilişki olduğunu, daha sonra yaptıkları çalışmada ise IL-6'nın RP'yi daha güçlü bir şekilde pozitif predikte ettiğini belirtmişlerdir (3, 4). Ancak bu konuda literatürde tartışılabilir sonuçlar da mevcuttur. Başka bir klinik çalışmada dolaşımdaki sitokinlerin tümör kaynaklı olabileceğini vurgulamak için, KHDAK tanılı hastaların tümör biyopsilerinde IL-6 ve TGF- β 1 düzeylerine bakılmıştır. Hastalarda RT öncesi ve RT sırasındaki sitokin plazma düzeyleri ölçülmüş ve IL-6 ve TGF- β 1 düzeylerinin değişimi ile klinik RP gelişimi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Hastaların çoğunda, IL-6 ve TGF- β 1

plazma düzeylerinin RT öncesinde de yüksek olduğu belirtilmiş ve bunun tümör biyopsilerindeki sitokin seviyeleriyle anlamlı şekilde korele olduğu görölmüştür. Ayrıca, takip döneminde ölçülen IL-6 ve TGF- β 1 düzeylerinin hastaların kontrol BT görüntülerinde tümörde izlenen tedavi yanıtlarıyla anlamlı ilişki gösterdiği vurgulanmıştır (125).

Akciğerde İR sonrası pro-inflamatuar TNF- α , IL-1 ve IL-6 sitokinlerinin düzeylerini değerlendirmek amacıyla yapılan prelinik çalışmada, C57BL/6 farelerin toraks bölgesine 12 Gy dozunda İR uyguladıktan sonra fareler belirli zaman noktalarında kurban edilmiştir. Çalışmanın sonucunda bu pro-inflamatuar sitokinlerin bifazik bir ekspresyon modeli izlediğini göstermişlerdir. İlk artışın bronşiyolar epitelde; TNF- α için 1. saatte, IL-1 α ve IL-6 için 6. saatte olduğu gözlenmiştir. Daha sonra bu ekspresyonlar 48. saat – 2. hafta arasında bazal seviyelere geri dönmüş; ancak pnömonik fazda TNF- α , IL-1 α ve IL-6 ekspresyonu alveolar, bronşiyolar epitelde ve inflamatuar hücrelerde yeniden belirgin şekilde artış göstererek en yüksek seviyelerine 8. haftada ulaşmıştır. Histopatolojik değerlendirmede; ilk 4 haftada yalnızca %5–30 oranında hafif hasar gözlenmiş, 8, 16 ve 24. haftalarda %70–90 oranında organize alveolit tespit edilmiştir. Yazarlar sonuç olarak, radyasyonun akciğerde iki fazlı olarak pro-inflamatuar sitokin yanıtını indüklediğini belirtmişlerdir. İlk fazda; ışınlamayı takip eden saatler içerisinde epitel hücrelerinde hızlı ve geçici süreyle sitokin salınımı olduğunu, bu aşamada histolojik hasar saptanmadığını ve özellikle bronşiyolar epitelin, inflamatuar hücrelerin göçünü ve aktivasyonunu sağlayan sitokinlerin önemli bir kaynağı olduğunu vurgulamışlardır. İkinci fazda ise; epitel hücreleri ve ortamda artan inflamatuar hücreler tarafından daha uzun süreli ve kalıcı sitokin salınımı olduğunu, bunun histolojik olarak gösterilen organize akut pnömoninin başlangıcıyla da zamansal olarak örtüştüğünü vurgulamışlardır (117, 126).

Radyasyon ilişkili akciğer hasarında hasarın tanısını, hangi aşamada olduğunu ve hastalığın prognozunu belirleyecek biyobelirteçler halen araştırılmaktadır. Bu belirteçler akciğer kanseri radyoterapisinde dozların kişiye özel eskalasyonu veya deeskalasyonuna olanak sağlayarak tedavilerin kişiselleştirilmesine ve terapötik sonuçların iyileştirilmesine katkıda bulunabilir.

2.6.5. Tedavi

Radyasyon pnömonisinin RT'nin önemli bir komplikasyonu olmasının nedenlerinden biri, bu duruma yönelik spesifik bir tedavinin bulunmamasıdır.

Tedavisinde yaygın olarak kortikosteroidler ve semptomlara yönelik ilaçlar kullanılmaktadır. Çalışmalarda steroidlerin tedavi öncesinde koruma amaçlı verilmesinin katkısı gösterilememiştir.

ESTRO'nun yakın zamanda yayınlanan radyasyon pnömonisi kılavuzu önerilerine göre, sadece BT bulguları olan asemptomatik hastalara tedavi önerilmemektedir, izlem yapılması yeterlidir (53).

Performans durumu iyi, CTCAE v5.0 sistemine göre derece 1 RP olan hastalarda tedaviye sabah akşam inhaler budesonid 800 µg ile başlanabilir, hastaların yakın takip edilmesi, yanıt görülürse 2 hafta boyunca devam edilmesi, yanıt alınmazsa oral prednizon tedavisine geçilmesi gerekmektedir (53, 127). Derece 2 RP olan performansı iyi hastalarda ayaktan 2 hafta süreyle 0,5 mg/kg/gün (günde en az 40 mg) dozunda oral prednizon tedavisi verilmesi, iyileşme olması durumunda 4-6 hafta içinde kademeli olarak doz azaltılması önerilmiştir. Performansı kötü olan ve derece 3 RP gelişen hastaların ise yatırılarak iyileşene kadar intravenöz 1-2 mg/kg/gün prednizon alması, takiben 4-6 hafta içinde doz azaltımı önerilmiştir. Bu azaltma sürecinde alevlenmeler görülebilmekte ve tekrar doz arttırımı gerekebilmektedir (53). Vaka serilerinde, steroide dirençli olgularda immünsupresif ajan azatiyoprin ve siklosporinin tedavi etkinliği bildirmiştir (128, 129).

İmmunoterapi alan hastalarda steroid kullanımı konusunda dikkatli olunmalıdır. Avrupa Medikal Onkoloji Derneği (*European Society for Medical Oncology*, ESMO)'nin immün ilişkili yan etkilerin yönetimi için yayınladıkları kılavuzların önerilerine uyulması gerekmektedir. Derece 1 pnömoni 2-3 günde bir yakın takip edilir. Semptomlar kötüleşirse immünoterapi durdurulur ve enfeksiyon gibi diğer tanılar dışlandıktan sonra derece 2 pnömoni için 1 mg/kg/gün dozunda oral prednizon başlanır. Bu doz, 24-72 saat boyunca klinik iyileşme gözlenene kadar uygulanmalı, ardından 4-6 haftalık kademeli doz azaltımı yapılmalıdır. Derece ≥ 3 olaylar için, başlangıçta 1-2 mg/kg/gün intravenöz metilprednizolon verilmesi önerilir (24-72 saat boyunca). Semptomlar derece ≤ 1 seviyesine gerilediğinde, steroid azaltımı derece 2 olaylarda 4-6 hafta, derece 3 olaylarda ise en az 6-8 hafta sürecek şekilde planlanabilir. Kortikosteroid tedavisine rağmen 72 saat içinde klinik iyileşme olmazsa, ikinci bir immünsüpresif ajan eklenebilir. Erişilebilirliğine bağlı olarak tosilizumab, infliksimab, IVIG (intravenöz immünoglobulin) veya mikofenolat mofetil verilebilir (130).

Pulmoner fibrozis mekanizması genel olarak TGF- β üzerinden ve kolajenin aşırı üretimi nedeniyle olmaktadır. Bu aşamada aktif inflamatuvar süreçler devam etmediği için

tedavide kortikosteroidler veya diğer antiinflamatuvar ilaçlar etkili olmamaktadır. Semptomatik pulmoner fibrozis olgularının tedavisi göğüs hastalıkları uzmanları tarafından diğer restriktif akciğer hastalıklarının tedavisi gibi yapılmaktadır.

Radyasyon ilişkili akciğer hasarının tedavisinde etkinliği araştırılan pek çok ajan bulunmaktadır. Ancak bunların klinikte kullanılabilmesi için kolay ulaşılabilir, hastalar tarafından tolere edilebilir olması ve kortikosteroidlerden üstün olduğunun randomize kontrollü çalışmalarla gösterilmesi gerekmektedir.

Amifostin, bir serbest radikal temizleyici ajandır. Randomize kontrollü faz 3 bir çalışmada ileri evre akciğer kanseri nedeniyle RT alan hastalarda eşzamanlı 340 mg/m² dozunda amifostin kullanımının radyasyon ilişkili pnömoni ve fibrozis oranlarını anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir (131). Amifostinin RT ilişkili yan etkiler üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği metaanalizde akut pnömoni riskini (OR, 0.15; CI, 0.07–0.31; p<0,00001) belirgin düzeyde azalttığı saptanmıştır (132). Ancak hipotansiyon ve şiddetli bulantı gibi yan etkileri nedeniyle hastalar tarafından tolere edilmesi zor bir ilaçtır, bu nedenle klinik uygulamalarda kullanımı sınırlıdır.

Pentoksifilin, TNF- α ve lökotrien gibi proinflamatuvar molekülleri inhibe eder. Çift kör randomize bir klinik çalışmada radyoterapi ile eşzamanlı olarak günde üç defa 400 mg dozunda profilaktik pentoksifilin kullanımının hem akciğer hem de meme kanseri tanımlı hastalarda akciğerdeki erken ve geç yan etkileri anlamlı şekilde önlediği gösterilmiştir (133).

Radyoterapi ile eşzamanlı olarak insidental anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü (*ACE-i*) kullanımının retrospektif olarak değerlendirildiği klinik çalışmalarda bu grup ilaçların radyasyon pnömonisi riskini azalttığı belirtilmiştir (103, 134).

Nintedanib, idiyopatik pulmoner fibrozis tanısında kullanılan multipl tirozin kinaz inhibitörüdür (135). Faz 2 randomize bir çalışmada derece 2 ve üzeri RP olan hastalarda, prednizon azaltma şemasına eklenen nintedanibin steroid azaltma döneminde yaşanan alevlenmeleri önlediği belirtilmiştir (136).

Prokolajen ve büyüme faktörlerinin üretimini azaltarak idiyopatik pulmoner fibrozis tedavisinde kullanılan pirfenidonun RİAH üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği randomize çok merkezli bir çalışmada 134 hasta standart tedavi ve standart tedaviye ek pirfenidon kollarına ayrılmıştır. Çalışmada 24 haftalık takip süresinin sonunda, pirfenidon kolunda solunum fonksiyon testlerinde ve BT bulgularında anlamlı düzeyde iyileşme saptanmış, pirfenidonun hafif-orta düzeydeki fibrozisi ve pulmoner alevlenmeleri azalttığı vurgulanmıştır (137).

2.7. Radyasyon İlişkili Akciğer Hasarının Hayvan Modellerinde İncelenmesi

Radyasyon ilişkili akciğer hasarının patofizyolojisine dair bilgiler çoğunlukla hayvan çalışmalarından gelmektedir. Bu çalışmalarda sıklıkla İR uygulaması sonrası akciğer dokusunda oluşan doza ve zamana bağımlı histopatolojik değişiklikler, dokuda ve kanda artan hücreler, sitokinler, proteinler ve bunların patofizyolojideki rolleri araştırılmıştır. Tedavide kullanılabilecek moleküllerin keşfi için de sıklıkla hayvan modellerinden faydalanılmaktadır.

Radyasyon ilişkili akciğer hasarının değerlendirileceği bir deneysel hayvan modeli tasarlarken; çalışılacak hayvan türü, suşu, cinsiyeti, yaşı, deney gruplarının belirlenmesi, hangi grupta kaç hayvan olacağı, radyasyon doz/fraksiyonu ve alanı (tüm vücut, tüm toraks, sağ akciğer, sol akciğer, sağ akciğer üst lob gibi), ilaç uygulanacak ise dozu, uygulama zamanı ve metodu, hayvanların ne kadar süreyle takip edileceği, takipte hangi örnekler alınacağı, nelere bakılacağı, sakrifikasyon zamanı, hangi dokuların toplanacağı ve dokularda nelerin araştırılacağı gibi pek çok parametrenin detaylıca irdelenmesi gerekmektedir.

Radyasyon ilişkili akciğer hasarının araştırıldığı 1970-2015 yılları arasında yapılan hayvan çalışmaları değerlendirildiğinde deneylerin sıklıkla farelerde (%65) ve ratlarda (%25) yapıldığı görülmüştür. Fare suşlarına bakıldığında ise 1980 ve 1990'lı yıllarda C3H ve CBA suşlarının daha sık kullanıldığı ancak son yıllarda C57BL/6 fareler üzerinde yapılan çalışmaların arttığı (2000 yılı itibariyle çalışmaların %86'sı) belirtilmiştir. C57BL/6 suşunun bu kadar sık kullanılmasının nedenleri; kolay erişilebilmesi ve düşük maliyetli olması, genetik modifikasyonlar için standart model haline gelmesi, geçmişte yapılmış sayısız çalışma sayesinde en iyi karakterize edilmiş suş olması, diğer suşlarla kıyaslandığında radyasyon hasarına dirençli ve fibrozise yatkın olduğunun bilinmesidir (138). Değişen dozlarda tüm toraks ışınlaması sonrası akciğerde oluşan histolojik bulguların ve fare suşları arasındaki farklılıkların incelendiği çalışmada; C57BL/6 suşu farelerde, radyasyona bağlı respiratuar distres görülmediği ve ilk 30 haftada bu suшта mortalitenin çok az olduğu belirtilmiştir. Çalışmada C57BL/6 suşu için 180 günde farelerin %50'sini öldürecek doz (*lethal dose*, LD50/180) 16 Gy olarak bulunmuştur. Histopatolojik incelemelerde C3H ve CBA suşlarının pnömoniye, C57BL/6'nın ise fibrozise daha eğilimli olduğu tespit edilmiştir (139).

Çalışmalarda genel olarak 6-12 hafta aralığındaki genç erişkin fareler kullanılmaktadır. Cinsiyet dağılımı ise değişkendir; ancak 20 Gy altında tüm toraks

ışınlanması yapılan çalışmalara bakıldığında, erkek C57BL/6 farelerin ortanca sağkalım süresinin dişilere göre daha uzun olduğu belirtilmiştir (138). Travis ve ark. çalışmasında; 16 Gy tüm toraks ışınlaması yapılan erkek C57BL/6 farelerde ortalama sağkalım süresi, dişi C57BL/6 farelere kıyasla 2 ay daha uzun bulunmuştur, yazarlar dişi farelerin beklendiği üzere radyasyona daha duyarlı olduğunu vurgulamışlardır (140). Dişi farelerde tüm toraks ışınlaması sonrası erken letalite görülmesinin sebebi pnömoninin daha erken ortaya çıkmasıyla alakalı olabilir ve bu da bazı çalışmalar için dişi farelerin daha uygun bir preklinik model olabileceğini düşündürmektedir (138).

Hayvan deneylerinin 3R (*replacement, reduction, refinement*) kuralının gereği olarak; deney tasarımına uygun istatistiksel anlamlılığı sağlayacak en az sayıda hayvanla çalışılması ve tüm uygulamalarda hayvanın refahının gözetilmesi, en az stres yaratacak yöntemlerin seçilmesi gerekmektedir. Radyasyon ilişkili akciğer hasarının değerlendirilmesi için de etkin sonuçlar verecek minimum doz ve alan seçilmelidir. Bununla beraber deneyin sakrifikasyonla sonuçlandırılmasını gerektiren histopatolojik incelemeler yerine, takipte solunum hızının ölçülmesi veya BT ile görüntüleme gibi hasarı değerlendiren başka metodlar da kullanılabilir (138). Serum ve bronkoalveolar lavaj örneklerinden hasarla ilişkili olabilecek sitokin, protein ve hücrelerin tespiti ile yorum yapılabilir ancak bu örnekler ile dokudaki değişimler arasında korelasyon olduğuna dair literatürde çelişkili veriler mevcuttur (141-143).

Murin modellerinin çoğunda (%83) tek doz halinde tüm toraksa iyonizan radyasyon uygulanarak RIAH modeli oluşturulmuştur. Ancak tüm toraks ışınlamasına bağlı erken dönemde mortalite görülebilmesi nedeniyle, tedavi için denenen moleküllerin değerlendirilmesi zor olmaktadır. Sağkalımın daha uzun olduğunun gösterilmesi nedeniyle akciğerde belirli bir bölgeye radyasyon uygulanarak oluşturulan modeller, pnömoni ve fibrozis süreçlerinin de uzun dönemde daha doğru değerlendirilmesini sağlamıştır. Bunun için son yıllarda yaygın olarak, deneysel çalışmalarda kalp dozlarını da azaltmak adına, sağ hemitoraks ışınlamaları yapılmaktadır. Bu yöntem ayrıca aynı model üzerinde tedavi edilen ve edilmeyen akciğer bölgelerini değerlendirme imkânı da sunmaktadır. Hayvan modellerinde giderek yaygınlaşan daha küçük alan ışınlamaları aslında günümüzdeki radyoterapi alanlarının daha iyi simüle edilmesine de olanak sağlamaktadır (138).

Görüntü kılavuzluğunda küçük hayvan ışınlama cihazlarıyla parsiyel akciğer ışınlaması yapılan bir çalışmada; C57BL/6 farelere 0, 4, 8, 12, 16 veya 20 Gy dozlarında, 5 mm sirküler paralel karşılıklı alanlardan, sağ üst akciğer ışınlaması yapılmıştır. Farelere

39 hafta boyunca düzenli aralıklarla toplamda 10 defa mikro-BT çekilmiştir. Yazarlar; aynı dozlarda tüm toraks ışınlaması yapılan çalışmaların aksine, yüksek dozlarda bile takip süresince ölüm gözlenmediğini belirtmişlerdir. BT bulgularında en belirgin farkın 20 Gy uygulanan farelerde olduğunu ve fibrozisin sadece ışınlanan bölgeyle sınırlı kaldığını tespit etmişlerdir. Veriler aynı dozda uygulanan parsiyel akciğer ışınlamasının; geniş alan ışınlamaya kıyasla fibrozisin şiddetini azalttığını, bu nedenle de daha yüksek dozların tolere edilebildiğini düşündürmektedir (144).

Parsiyel akciğer ışınlaması yapılan farelerde doz-volüm etkisi ve alan içi-alan dışı toksisitenin değerlendirildiği çalışmada; erken dönem inflamasyon C3H/NeJ, fibrozis ise C57BL/6J fare modellerinde incelenmiştir. Küçük hayvan ışınlama cihazında sağ akciğerin üst bölgesine, 5*5 mm paralel karşılıklı alanlardan, tek doz 20 Gy ya da 3 ardışık fraksiyonda 20 Gy İR uygulanmıştır. Fare akciğeri için α/β değeri 2,5 Gy olarak alındığında; BED sırasıyla 180 ve 73,4 Gy olarak hesaplanmıştır. Işınlama öncesinde ve geç toksisiteyi izlemek için 4, 12 ve 26. haftalarda *cone beam computed tomography* (CBCT) görüntüleri alınmıştır. Akciğerler konturlanıp planlama yapıldığında; sağ akciğerin verilen dozun en az %50'sini aldığı saptanmıştır. Her bir farenin bireysel DVH parametreleri, gözlemlenen CBCT değişimleriyle karşılaştırılarak analiz edilmiştir. Alan içi CBCT dansite değerlerinin 1 fraksiyon ve 3 fraksiyon arasında fark göstermediği, alan dışında belirgin değişiklik olmadığı ve dokudaki kolajen birikimi ile CBCT dansite değerlerinin uyumlu olduğu belirtilmiştir. Hedef alan dışındaki akciğerde makrofaj ve nötrofil infiltrasyonunun hafif arttığı; ancak alan içindeki artışa göre belirgin az olduğu ve bu etkilerin dozimetri ile ilişkili olmadığı saptanmıştır. Ortalama akciğer dozu ve V10 Gy değerleri, hem tek doz hem de 3 fraksiyon ışınlamalarda, hedeflenen bölgelerdeki erken ve geç dönem yanıtlarla anlamlı korelasyon göstermiştir. Parsiyel ışınlama ile dozimetrik değerlendirme yapılması, CBCT takibi ve bunların histolojik değişimleri ne kadar yansıttığının değerlendirilmesi nedeniyle; bu çalışmadaki yaklaşım, prelinik çalışmaların günümüz klinik uygulamalarına aktarılmasını kolaylaştırabilecek potansiyel bir araç olarak değerlendirilebilir (145).

Tüm toraks ışınlaması yapılan 2001-2015 yılları arasındaki çalışmalar değerlendirildiğinde; bunların yaklaşık yarısında 15 Gy'i aşan yüksek dozlar uygulandığı ve çalışmalarda bildirilen ortanca sağkalımların doz artışına bağlı olarak azaldığı görülmüştür (138). Travis ve ark, RP ve fibrozis gelişimini solunum sayısı ve histoloji ile değerlendirdikleri çalışmalarında; erkek 10-12 haftalık CBA suşu farelere, 8-20 Gy arası değişen dozlarda her iki akciğer veya tek akciğer ışınlaması yapmışlardır. 14 hafta sonra

elde ettikleri doz yanıt eğrisinde 12 Gy'i eşik doz olarak belirlemişlerdir. 15 Gy'in üstünde doz alan farelerin hepsinin 22. haftaya kadar öldüğünü bildirmişlerdir (146). Fare akciğerlerinin fraksiyone İR uygulamasından sonra onarım kapasitesinin değerlendirildiği çalışmada zamanla α/β değerinde hafif bir düşüş gözlenmiştir. Yazarlar, α/β değerini pnömoni için yaklaşık 4 Gy, geç fibrozis için yaklaşık 2 Gy olarak belirtmişlerdir (147). RİAH modeli oluşturulması için 12 Gy üzerinde dozların uygulanması önerilmekte, tüm akciğer ışınlaması planlanıyorsa 15 Gy'in üzerindeki uygulamalarda mortalitenin artacağı göz önünde bulundurulmalıdır.

2.7.1. Tedavi için Hayvan Modellerinde Araştırılan Moleküller

Radyasyon hasarını azaltabilecek ilaçların denendiği çalışmaların %62'si C57BL/6 suşu ile yapılmıştır. Bu çalışmalarda sıklıkla kortikosteroidler, indometazin, asetilsalisik asit gibi antiinflamatuvar ilaçlar kullanılmış ve çoğu çalışma histopatolojik değerlendirme yapılmak üzere 6 aya kadar kısa sürelerde sonlandırılmıştır. İdeal modellerde denenen terapötüğün hem pnömoniden hem de uzun dönemde fibrozisten koruduğunun gösterilmesi gerekmektedir.

Spesifik bir BCL-2/BCL-XL inhibitörü olan ABT-263 senesent hücreleri seçici olarak öldürür (senolitik), hücrelerin apoptoza girmesini sağlar. Pan ve ark., çalışmalarında ABT-263'ün torasik ışınlamadan sonra yaşlanmış hücreleri seçici olarak öldürebileceğini ve farelerde kalıcı hale gelmiş pulmoner fibrozisi bile tersine çevirebileceğini göstermiştir (148).

Nintedanibin değerlendirildiği bir çalışmada farelerin sağ akciğer üst lobuna değişen dozlarda parsiyel ışınlama yapılmıştır. Işınlamadan 1 hafta sonra oral nintedanib (0, 30 veya 60 mg/kg/gün) başlanmış ve 39 hafta boyunca uygulanmıştır. Ayda bir mikrobiyal BT ile görüntüleme bulguları takip edilmiştir. Sakrifikasyon sonrası akciğer dokusunda hematoksilen & eozin (HE) ve masson trikrom (MT) boyama ile histopatolojik incelemeler yapılmıştır. BT'deki dansite artışları ve histopatolojik bulgular en yoğun 20 Gy dozunda ışınlanan farelerde görülmüştür. Nintedanib BT bulgularında değişikliğe neden olmazken; interstisyel fibrozis ve inflamasyonu, perivasküler fibrozis ve inflamasyonu, alveolar protein birikimini, ödemi, vaskülit ve lenfositik infiltrasyonları belirgin olarak azaltmıştır. 30 mg/kg ve 60 mg/kg dozları arasında bu etkiler açısından anlamlı fark izlenmemiştir (149).

Anscher ve ark., çalışmalarında bir TGF- β 1 inhibitörü olan SM-16'nın sıçanlarda RİAH üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Sprague-Dawley sıçanlar, 28 Gy sağ

hemitoraks ışınlaması sonrası 26. haftada sakrifiye edilmiştir. Çalışmada uzun dönem SM-16 kullanımının, fonksiyonel akciğer hasarını, inflamatuvar yanıtı, TGF- β 1 aktivitesini ve akciğer fibrozisini azalttığı gösterilmiştir (150).

Yu ve ark., hücre proliferasyonu, apoptozis, inflamasyon, diferansiyasyon ve transformasyon süreçlerinin düzenlenmesinde aktif rol alan multifonksiyonel intrasellüler *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT3) sinyal yolağının spesifik inhibitörü WP1066 molekülünün etkinliğini bir fare çalışmasıyla değerlendirmiştir. STAT-3, IL-6'nın da hücre içi sinyal iletim yollarından biridir. C57BL/6 farelerin tüm toraks alanına 15 Gy İR uygulanmıştır. Fareler inflamasyonun tespiti için 5. haftada, fibrozis incelemesi için 16. haftada sakrifiye edilmişlerdir. Farelere intraperitoneal olarak, 9 defa 20 mg/kg dozunda gūnaşırı WP1066 molekülü uygulanmıştır. İlk 2 hafta WP1066 uygulanan farelerin bir kısmı 5. haftada sakrifiye edildiklerinde, akciğerde molekülün bir etkisinin gösterilememesi üzerine çalışma dizaynı değiştirilerek ilaç uygulamasına İR'den 2 hafta sonra başlanmıştır. Işınlamadan 5 hafta sonra toplanan akciğer dokularında p-STAT3 (fosforile STAT3) ekspresyon düzeyinin belirgin olarak azaldığını tespit etmişlerdir. IL-1 β , IL-6, TGF- β ve TNF- α sitokinlerinin mRNA düzeylerine bakıldığında, WP1066 uygulanan farelerde plazma IL-6 konsantrasyonu diğer sitokinlere göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Alveolokapiller membran geçirgenliğinin göstergesi olarak BAL örneklerinde hücre sayımı ve protein düzeylerine bakılmıştır. WP1066 kolunda kontrol koluna göre BAL'da hücre sayısı ve protein konsantrasyonu daha az bulunmuştur. HE boyamada WP1066 grubundaki farelerde alveol hasarı, septal kalınlaşma, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibrozis belirgin olarak daha az izlenmiştir. Akciğer homojenatlarındaki hidroksiprolin içeriği de histolojik değişikliklerle uyumlu olarak WP1066 kolunda belirgin olarak daha az saptanmıştır. Farelerin sağkalımlarına bakıldığında WP1066'nın geç uygulandığı grup, erken uygulandığı gruba göre daha uzun yaşamıştır (ortanca sağkalım 14,7 hafta vs 11,2 hafta). RİAH üzerinde STAT3 sinyal yolağının etkisi halen net olarak tanımlanamamış olsa da STAT3 yolağının iyi tanımlanmış bir aktivatörü IL-6'nın hasar üzerindeki etkisi diğer çalışmalarla ortaya konmuştur. Çalışmacılar IL-6'nın radyasyon pnömonisinde bifazik paternde artış göstermesi nedeniyle geç dönemde uygulanan WP1066 molekülünün daha etkin olduğunu düşünmüşlerdir. WP1066'nın sağkalımı arttırması, RP ve sonrasında gelişen fibrozisi belirgin düzeyde azaltması nedeniyle STAT3'ün patogeneizde önemli bir rol oynadığı ve bu yolağa yönelik terapötik bir hedef olduğunu vurgulamışlardır (151).

Pirfenidonun etkinliğinin değerlendirildiği prelinik çalışmada C57BL/6 farelerin tüm akciğer alanına 50 Gy tek doz İR uygulanmıştır. İR sonrası her gün pirfenidon 300 mg/kg oral gavaj yoluyla uygulanmış, fareler 7 hafta sonra sakrifiye edilmiştir. Çalışmada pirfenidonun akciğerde M2 makrofaj infiltrasyonunu azalttığı, TGF- β 1/Smad3 aktivasyon yolağını baskıladığı ve bunun sonucunda da kolajen birikimini ve fibrozisi azalttığı gösterilmiştir. Yazarlar ayrıca pirfenidonun radyasyon ilişkili cilt toksisitesini de gözlemsel olarak belirgin düzeyde azalttığını vurgulamıştır (152).

2.8. İnterlökin-6 İnhibitörleri

Klinikte; tosilizumab, sarilumab, satralizumab gibi IL-6 reseptörüne karşı geliştirilmiş veya siltuksimab gibi doğrudan IL-6'yı inhibe eden monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. Bununla beraber deneysel araştırma sürecinde olan klazakizumab, olokizumab, levilimab gibi IL-6'yı direkt ya da reseptörü aracılığıyla inhibe eden başka monoklonal antikorlar da mevcuttur. Birçok otoimmün ve otoinflamatuar hastalığın tedavisinde kullanılan tosilizumabın, başka patolojiler üzerindeki etkinliğine dair pek çok klinik çalışma yürütülmektedir (153).

Tosilizumabın endikasyonları arasında; romatoid artrit, dev hücreli arterit, sistemik juvenil idiyopatik artrit, Castleman hastalığı, bir immunoterapi tipi olan *chimeric antigen receptors* (CAR) T-cell tedavisine bağlı gelişen sitokin salınım sendromu gibi hastalıklar yer almaktadır (154-157). Steroid tedavisine refrakter COVID-19 pnömonisinde de yoğun sitokin salınımına bağlı akciğer hasarı gelişmesi nedeniyle, uygun hastalarda tosilizumab tedavisi uygulanmıştır (155). İmmün kontrol noktası inhibitörlerine bağlı sitokin salınımı sendromu gelişen vakaların tedavisinde tosilizumabdan fayda görüldüğü bildirilmiştir (158). ESMO tarafından steroide dirençli immün ilişkili pnömonit tedavisinde önerilmektedir (130, 159). Bir çalışmada tosilizumabın ICI ilişkili yan etkilerin tedavisinde etkin olduğu ve bu yan etkilerin tedavisinde sıklıkla başvuru steroidlerin kullanımını azalttığı gösterilmiştir (160). Son yıllarda yayınlanan faz 3 randomize kontrollü bir çalışmada, sistemik sklerozlu hastalarda tosilizumabın etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, primer sonlanım noktası olan cilt fibrozisi üzerinde tosilizumabın etkisi gösterilememiş; ancak akciğer tutulumunun erken dönemlerinde, akciğer kapasitesinin korunmasında etkili olduğu bulunmuştur. Hastalarda IL-6 reseptörünün bloke edilmesinin, STAT-3 yolağı üzerinden akciğer fibrozisini azalttığı düşünülmüştür (161). STAT-3, pro-fibrotik yolları

birleştirerek miyofibroblast farklılaşması ve tip I kolajen sentezinin posttranskripsiyonel düzenlenmesinde rol alarak doku fibrozisine neden olmaktadır (162, 163).

2.8.1. İnterlökin-6 Reseptör Antikorlarının Preklinik Modellerde Kullanımı

Tosilizumabın humanize antikor olması nedeniyle *wild type* hayvan modellerinde çalışılması uygun değildir. Fare modelinde bunun yerine anti-*mouse* IL-6R antikorları (IL-6 RA) kullanılmaktadır. Bu molekülün fare RİAH modeli üzerinde etkinliğinin değerlendirildiği deneysel çalışmalar mevcuttur.

Ogata ve ark., çalışmalarında BALB/c farelerin tüm toraks alanına tek fraksiyonda 21 Gy İR uygulamıştır. Farelere İR günü ve 1 hafta sonra olmak üzere 2 kere 8 mg/kg dozunda MR16-1 (anti-*mouse* IL-6R antikor) uygulanmıştır. Çalışmada hem sağkalım takibi yapılmış hem de 50., 100. ve 150. günlerde sakrifikasyon ile histopatolojik değişiklikler incelenmiştir. Sakrifikasyon sırasında alınan kan örneklerinden plazma IL-6 ve serum amiloid-A (akut faz proteini) düzeylerine bakılmıştır. Sol akciğer dokusundan hidroksiprolin analizi yapılmıştır. Sağ akciğer dokusunda yapılan histolojik incelemeler ile interstisyel ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, alveolar septal kalınlaşma, damar trombüsü, interstisyel kolajen miktarı değerlendirilmiştir. MR16-1'in ışınlanan farelerde sağkalıma katkısı gösterilememiştir. MR16-1 alan farelerin 50. ve 100.günde plazma IL-6 artışı, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az olduğu görülmüştür. Ancak istatistiksel anlamlılık göstermese de 150.günde MR16-1 grubunda, kontrol grubuna göre plazma IL-6 düzeyleri daha fazla artmış bulundu. SAA protein seviyesi ise 150.günde ölçülmüş ve MR16-1 grubunda belirgin olarak daha az bulunmuştur. Hidroksiprolin analizi gruplar arasında fark göstermemiştir. Histolojik incelemelerde akciğerde yaygın ve şiddetli değişiklikler saptanmıştır ancak MR16-1'in bu bulgular üzerinde etkinliği gösterilememiştir. Çalışmacılar bu bulgular ışığında, İR sonrası erken dönemde uygulanan IL-6RA tedavisinin, radyasyona bağlı akciğer hasarına karşı koruyucu olmadığı sonucuna varmışlardır (164). Bunun üzerine fibrozise yatkınlığı bilinen C57BL/6 farelerin tüm toraks alanına 12 Gy tek doz İR uygulayarak başka bir RİAH modeli oluşturmuşlardır. Bu çalışmada, MR16-1 daha yüksek dozda ve daha uzun süre verildiğinde etkinliğinin değişip değişmediğini değerlendirmişlerdir. İR günü 2 mg yükleme dozunda MR16-1 uygulanmış, sonrasında 1., 2. ve 3. haftada 0,5 mg dozunda verilmiştir. İR'den 30 gün sonra sakrifiye edilen farelerin kalbinden kan alarak plazma IL-6 ve SAA ölçümü ve akciğer dokusunda histolojik incelemeler yapılmıştır. MR16-1 verilen farelerde IL-6 seviyelerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu, SAA düzeyleri

arasında anlamlı fark olmadığı bulunmuştur. Yüksek dozlarda daha uzun süre uygulanan MR16-1'in, histopatolojik bulgular üzerinde de etkinliği gösterilememiştir. Sonuç olarak araştırmacılar, interlökin-6 reseptör antikorlarının farelerde görülen radyasyon pnömonisini iyileştirmediğini vurgulamışlardır (165).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Türü, Evreni, Etik Kurul İzni

Preklinik in vivo deneysel bir araştırma olarak tasarladığımız çalışmamız, farelerde radyasyon ilişkili akciğer hasarı modeli oluşturduktan sonra anti-*mouse* interlökin-6 reseptör antikoru uygulanarak, molekülün radyasyon pnömonisi ve fibrozisi üzerindeki etkinliğini değerlendirmektedir. Çalışmanın evreni akciğerde radyasyon hasarı oluşturulmuş C57BL/6 türü farelerdir.

Çalışmamız için Koç Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 01.11.2024 tarihli toplantıda 2024.HADYEK.066 numarasıyla onay alınmıştır. Etik kurul onayı Ek-1’de sunulmuştur.

3.2. Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanının Özellikleri

Çalışmamız için Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Laboratuvarından C57BL/6 suşu, inbred, 6-8 haftalık, 18-22 gram ağırlığında 40 adet dişi fare temin edilmiştir. Fareler, doğumları itibarıyla, deney boyunca ve kurban edildikleri zamana kadar Koç Üniversitesi Translasyonel Tıp Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Laboratuvarında barındırılmıştır. Polivinilklorid bazlı bireysel havalandırılmalı kafeslerde, her kafeste 5 fare olacak şekilde, 21-24 °C oda sıcaklığında, 12 saat gece 12 saat gündüz ritminde, %50 nem oranında barınma koşulları sağlanmıştır. Fareler standart yem ve su ile *ad libitum* beslenmiştir.

3.3. Çalışmada Kullanılan Aletler, Cihazlar, Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan aletler, cihazlar ve kimyasal maddeler Tablo 3.1’de özetlenmiştir.

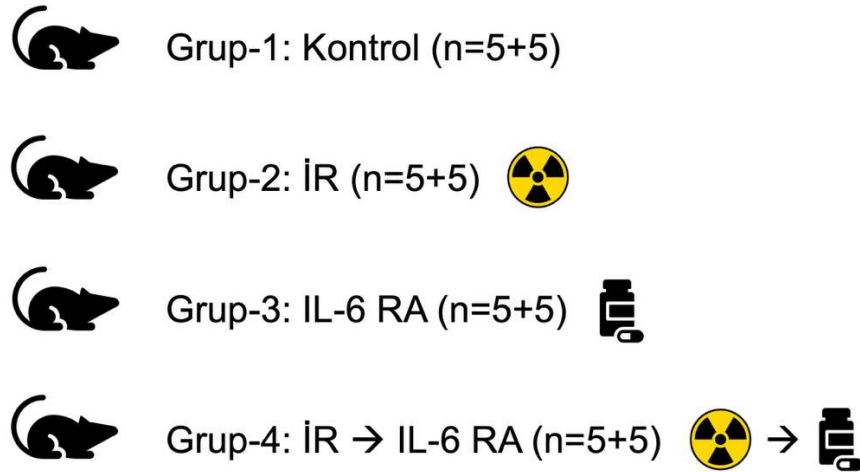
Tablo 3.1: Deneyde kullanılan aletler, cihazlar, kimyasal maddeler.

Ürün	Üretici
Preklinik araştırmalar için kapalı sistem ışınlama cihazı	Xstrahl (CIX2)
Anti- <i>mouse</i> IL-6 monoklonal reseptör antikoru	Bio X cell (Clone 15A7, Cat BE0047)
Bilgisayarlı tomografi simülasyon cihazı	GE Healthcare
Tampon çözelti (<i>Phosphate buffered saline</i> , PBS)	Biowest
Ketamin 100 mg/ml	Ketalar
Ksilazin 23,32 mg/ml	Bayer
Mikropipet	Thermoscientific

Enjektör (1 ml)	Berika
Cerrahi aletler (makas, penset, portegü)	Rodus
Ependorf	LP Italiana SPA
Falkon tüpü (15 ml)	Greiner
EDTA'lı tüp	LP Italiana SPA
-20 °C Derin dondurucu	Arçelik
+4 °C Buzdolabı	Arçelik
Buz makinesi	Scotsman (AF 80)
Elektronik hassas terazi	Dikomson
Biyogüvenlik kabini	Alpina
Santrifüj	IKA (mini G)
Formaldehit %36	VWR Chemicals
Formaldehit tampon solüsyonu	Histo-Med Medikal
Lam	ZeuxLab
Hematoksilen-eozin	BioGnost
İki başlıklı mikroskop	Olympus Corporation (U-DO3)

3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneyimizde RİAH modelinde anti-*mouse* interlökin-6 reseptör antikorlarının etkinliğini değerlendirmek üzere dört grup oluşturulmuştur (Şekil 3.1). Her gruba 10 adet fare alınmıştır. Grup-1 kontrol grubudur, İR veya IL-6 RA uygulanmamıştır. Grup-2'deki farelere sadece İR, grup-3'teki farelere sadece IL-6 RA, grup 4'teki farelere ise İR sonrası IL-6 RA uygulanmıştır. Deneyin 0. gününde grup-2 ve 4'teki farelere İR uygulanması, deneyin 1., 4., ve 7. gününde grup-3 ve 4'teki farelere IL6 RA uygulanması planlanmıştır.



Şekil 3.1: Deney grupları.

Takip süresinin ardından her gruptan rastgele seçilen 5 farenin, 70. günde sakrifikasyonu ve nekropsisinin yapılarak erken dönem yan etkilerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Gruplarda kalan farelerin ise bir süre daha takip edilerek, geç dönem yan etkiler değerlendirilmek üzere, deneyin 150. gününde sakrifiye edilmesi planlanmıştır.

Fareler, dokuları değerlendirecek patologun bulgularını etkilememesi adına karışık isimlendirilmiştir.

Erken dönem yan etkilerin değerlendirildiği fareler aşağıdaki gibi isimlendirilmiştir:

Grup-1: Y1, U3, I5, O7, P9

Grup-2: X1, H3, J5, K7, L9

Grup-3: Q1, W3, E5, R7, T9

Grup-4: A1, S3, D5, F7, G9

Geç dönem yan etkilerin değerlendirildiği fareler aşağıdaki gibi isimlendirilmiştir:

Grup-1: A3, S5, D7, F9, G1

Grup-2: X2, C4, V6, B8, Z0

Grup-3: Y4, U6, I8, O0, P2

Grup-4: Q4, W6, E8, R0, T2

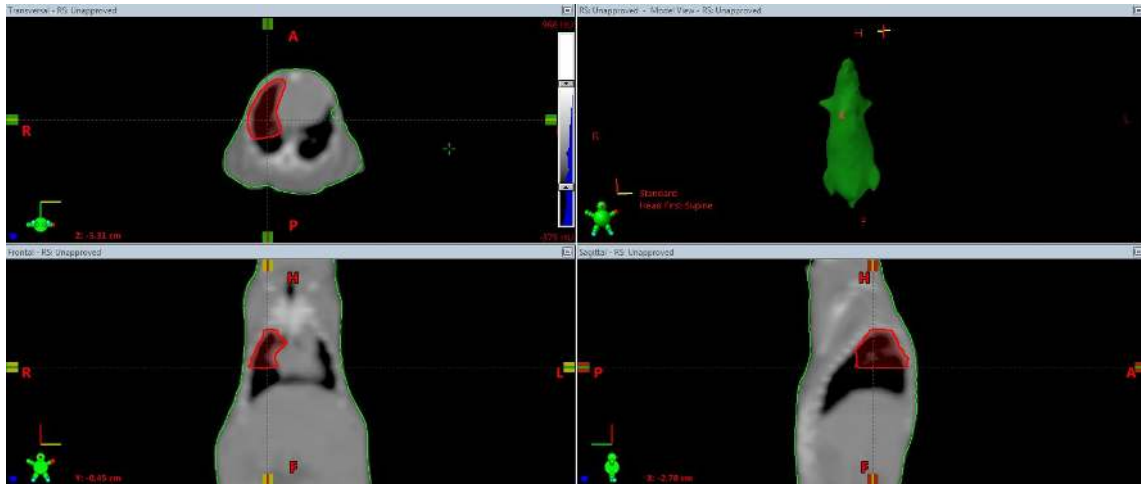
3.5. Farelere İyonizan Radyasyon Uygulaması

Çalışmamızda, sağ akciğer üst lob bölgesine İR uygulanması planlanmıştır. Laboratuvarımızda prelinik araştırmalarda kullanılan ışınlama cihazının (*Xstrahl CIX2 Self-contained X-ray irradiator for preclinical research*, ortovoltaj, 195 kV, 10 mA) (Şekil 3.2) görüntüleme sistemi olmadığından, Koç Üniversitesi Hastanesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalında yer alan simülasyon BT cihazında, bir adet farenin 1 mm

aralıklarla kesitsel görüntülemesi yapılmıştır (Şekil 3.3). Bu görüntüler üzerinden sağ akciğer üst lobu hacimsel olarak konturlanmış ve iki boyutlu *digitally reconstructed radiographs (DRR)* görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.2 Preklinik araştırmalar için kapalı sistem ışınlama cihazı.



Şekil 3.3 BT simülasyon ve sağ akciğer üst lobun konturlanması.



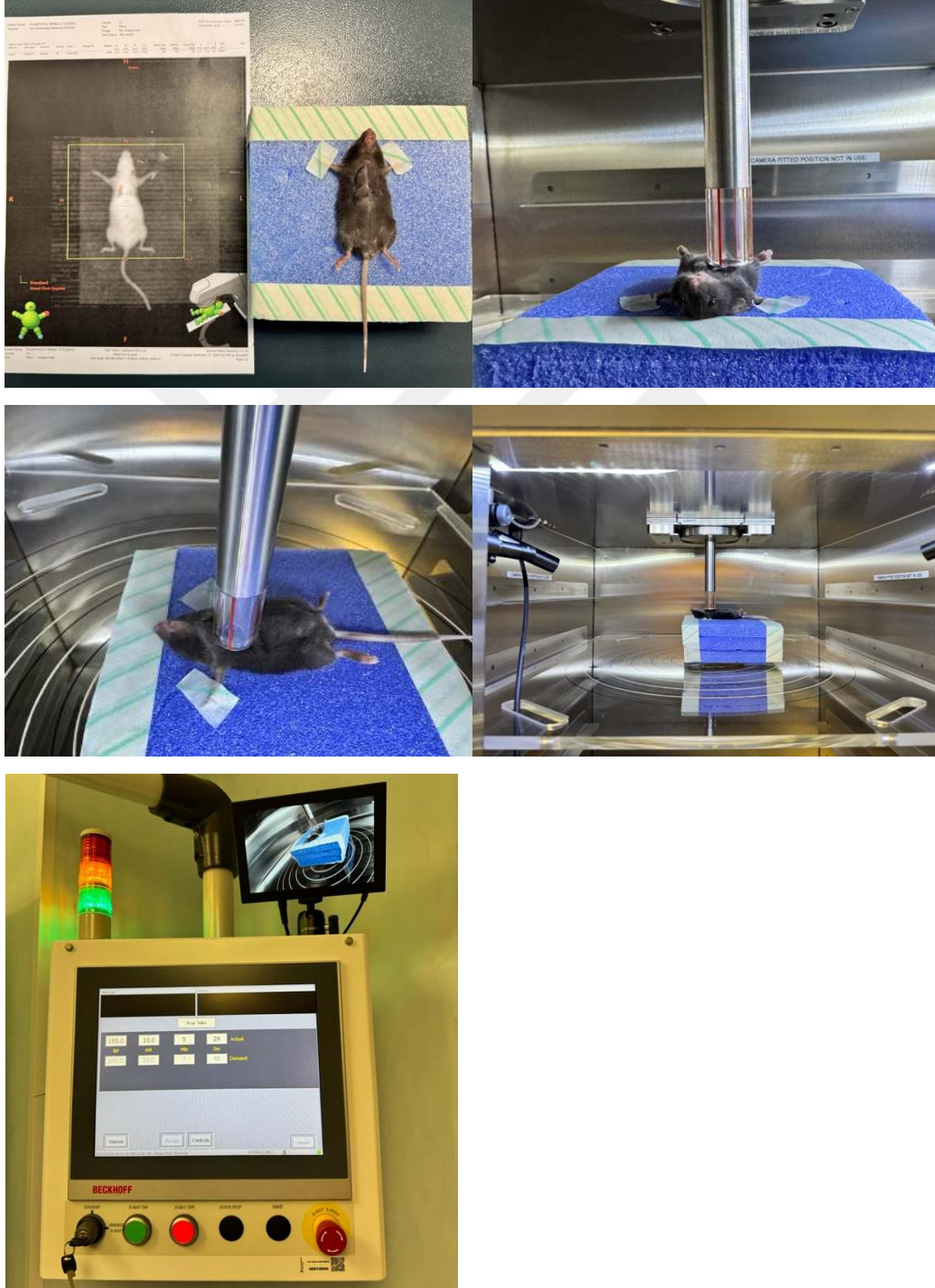
Şekil 3.4 DRR görüntü.

Deneyin 0. gününde Grup-2 ve 4'teki farelere İR uygulanmıştır. Her fareye ışınlama öncesi 0,18 cc ketamin-ksilazin karışımı (deneydeki fare ağırlıkları ortalama 20 gr olarak hesaplanmıştır, ketamin 90 mg/kg – ksilazin 18 mg/kg) ile intraperitoneal yoldan anestezi uygulanmıştır. Anestezi derinliği ayak çekme refleksi ile kontrol edilmiştir.

Işınlama öncesi DRR görüntü eşliğinde her bir farenin cildi üzerinde sağ akciğer üst lobu işaretlenmiş ve kolimatör bu işaretli alana denk gelecek şekilde cihaz içinde farelerin pozisyonu belirlenmiştir (Şekil 3.5). Küçük alan hedeflediği için ışınlama cihazının 1,0 cm çapındaki kolimatörü kullanılmıştır (Şekil 3.5). Cihazın kullanım kılavuzunda 3 mm alüminyum filtre ve 1,0 cm çapındaki aplikatörün ucunda ölçülen doz hızı 2,5636 Gy/dk olarak belirtilmiştir. Hedeflenen doz 20 Gy olduğundan her bir farenin 7,8 dakika (7 dakika 48 saniye) boyunca ışınlanması gerektiği hesaplanmıştır. Işınlama

süresi boyunca cihazın içinde bulunan kamera sistemiyle fareler takip edilmiştir (Şekil 3.5). Grup-1 ve 3'teki farelere de aynı dozda intraperitoneal yoldan anestezi uygulandıktan sonra cihazda aynı süre yatırılmış ancak İR uygulanmamıştır.

Prosedür sonrası kafeslerine alınan fareler anestezi etkisinden çıkana kadar takip edilmiş, anestezi ve ışınlama prosedürlerine bağlı herhangi bir komplikasyon gözlenmemiştir.



Şekil 3.5 Setup ve iyonizan radyasyon uygulaması.

3.6. Anti-mouse İnterlökin-6 Monoklonal Reseptör Antikorlarının Uygulanması

Deney protokolümüzde, deneyin 1. gününde başlamak üzere, üç günde bir olacak şekilde, toplam üç doz IL-6 RA uygulanması planlanmıştır. Bu amaçla Bio X cell firmasından anti-mouse IL-6 RA temin edilmiştir (clone 15A7, cat BE0047). Flakondaki çözelti 6,6 ml hacminde ve 54,4 mg ağırlığındadır (Şekil 3.6). Her bir uygulamada; soğuk zincir koşullarına uyularak, biyogüvenlik kabininde, 750 µg dozunda (90 µl) anti-mouse IL-6 RA, 160 µl fosfat tamponlu çözelti ile karıştırılarak, toplam 250 µl steril çözelti elde edilmiştir. Bu çözelti, grup-3 ve 4'teki farelere deneyin 1., 4., ve 7. günlerinde intraperitoneal yolla enjekte edilmiştir (Şekil 3.6). Aynı günlerde grup-1 ve 2'deki farelere 250 µl fosfat tamponlu çözelti intraperitoneal yolla enjekte edilmiştir. Uygulama boyunca herhangi bir komplikasyon izlenmemiştir.



Şekil 3.6: Anti-mouse IL-6 reseptör antikorunun hazırlanması ve farelere uygulanması.

3.7. Deney Hayvanlarının Takibi

İşinlama ve ilaç uygulama süreçlerinde herhangi bir komplikasyon izlenmemiş olup, 40 adet fare, yukarıda belirtilen koşullarda planlanan sakrifikasyon tarihine kadar takip edilmiştir. Günlük bakımları ve kontrolleri laboratuvarın veteriner hekimleri ve hayvan bakım teknikerleri tarafından yapılmış, normal dışı gözlenen durumlar tarafımıza bildirilmiştir. Hayvanların genel durumunun kontrolü, kilo takibi, uygulamalara bağlı olabilecek komplikasyonların raporlanması amacıyla haftada bir düzenli ziyaretleri yapılmıştır. Günlük takiplerde davranış, aktivite ve postür kontrolü yapılmış, hayvanlar ağrı ve sıkıntı açısından gözlemlenmiştir. Farelerden herhangi birinde uygulamalara bağlı ciddi yan etki görülmesi, hipoaktivite, hiperaktivite, letarji, solunum yetmezliği, dehidratasyon, gıda ve su alımında azalma, vücut ağırlığının %20'sinden fazla kilo kaybı

olması durumunda ötenazi ile çalışmadan çıkarılması planlanmıştır. Deney süresince görülen radyasyon dermatiti RTOG sistemine göre derecelendirilmiştir (0=normal / 1=hafif eritem, kuru deskuamasyon, tüy dökülmesi / 2=ağrılı veya belirgin eritem, yamasal ıslak deskuamasyon / 3=yaygın ıslak deskuamasyon / 4=ülser, kanama, nekroz / 5=ölüm). Her fare için, ilk lezyon oluşumundan sakrifikasyon zamanına kadar görülen en yüksek dermatit derecesi kaydedilmiştir.

3.8. Sakrifikasyon ve Nekropsi

Erken dönem yan etkilerin değerlendirilmesi amacıyla deneyin 70. gününde derin anestezi (0,3 cc ketamin-ksilazin karışımı uygulandıktan sonra ayak çekme refleksi ile anestezi derinliği kontrol edilmiştir) altında tüm gruplardan rastgele seçilen 5 adet farenin keskin diseksiyon ile cilt ve toraks duvarı açılmıştır (Şekil 3.7). Kalpten kan alınarak sakrifikasyonları gerçekleştirilmiştir. Sağ göğüs duvarını kaplayan cilt dokusu, kalp ve her iki akciğer, formollü kaba aktarılmıştır. Deneyin 150. gününde geç dönem yan etkilerin değerlendirilmesi amacıyla her grupta kalan farelere aynı prosedür ile derin anestezi altında torakotomi yapılmış ve kalpten kan alınarak sakrifiye edilmiştir. Her iki akciğeri, kalp ve sağ göğüs duvarını kaplayan cilt dokusu formollü kaba aktarılmıştır. Servikal dislokasyon yerine bu yöntemin seçilmesinin sebebi sakrifikasyon sırasında toraks içi organlarda oluşabilecek mekanik hasarı önlemektir.



Şekil 3.7 Sakrifikasyon ve nekropsi

3.9. Dokuların Histopatolojik Değerlendirmesi

Nekropsiler sonucunda histopatolojik verifikasyon amacıyla elde edilen dokular, %10 formalin solüsyonunun içinde bir gün boyunca tespit edilmiştir. Ardından kalp ve

her iki akciğer tümüyle örneklenerek takibe alınmıştır. Cilt makroskopik olarak muayene edilmiştir. Radyasyon hasar bulguları olan alanlara öncelik verilerek, deriden üç ayrı parça örneklenerek takibe alınmıştır Parafin bloklardan, her bir örnekten birer kesit olacak şekilde, hematoksilen & eozin ile boyalı preparatlar hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler iki başlı ışık mikroskobunda, akciğer hasarı konusunda deneyimli bir patolog (Doç. Dr. Pınar Bulutay) ile değerlendirilmiş ve bulgular excel dosyasına kaydedilmiştir. Histopatolojik değerlendirme, bulguların yanlılığını önlemek amacıyla, patologun deney gruplarına ilişkin bilgisi olmadan gerçekleştirilmiştir. Histolojik inceleme sırasında örneklerle ek histokimyasal ya da immünohistokimyasal boyama yapılmamıştır.

Akciğer dokusundaki değişiklikler alveolar, peribronşiyolar, perivasküler ve interstisyel alanlarda değerlendirilerek, inflamatuvar hücre artışı, konjesyon, alveolar yapının bozulması ve fibrozis bulguları 0-3 aralığında semikantitatif olarak skorlanmıştır. Cilt bulguları ise epidermal, dermal ve subdermal alanlarda değerlendirilerek inflamasyon, akantoz, hiperkeratoz, deri ekleri kaybı, fibrozis gibi değişiklikler semikantitatif skorlanmıştır. Bulgu saptanmaması “0”, hafif düzeyde bulgu saptanması “1”, orta düzeyde bulgu “2”, şiddetli bulgular ise “3” olarak belirtilmiştir.

3.10. İstatistiksel analiz

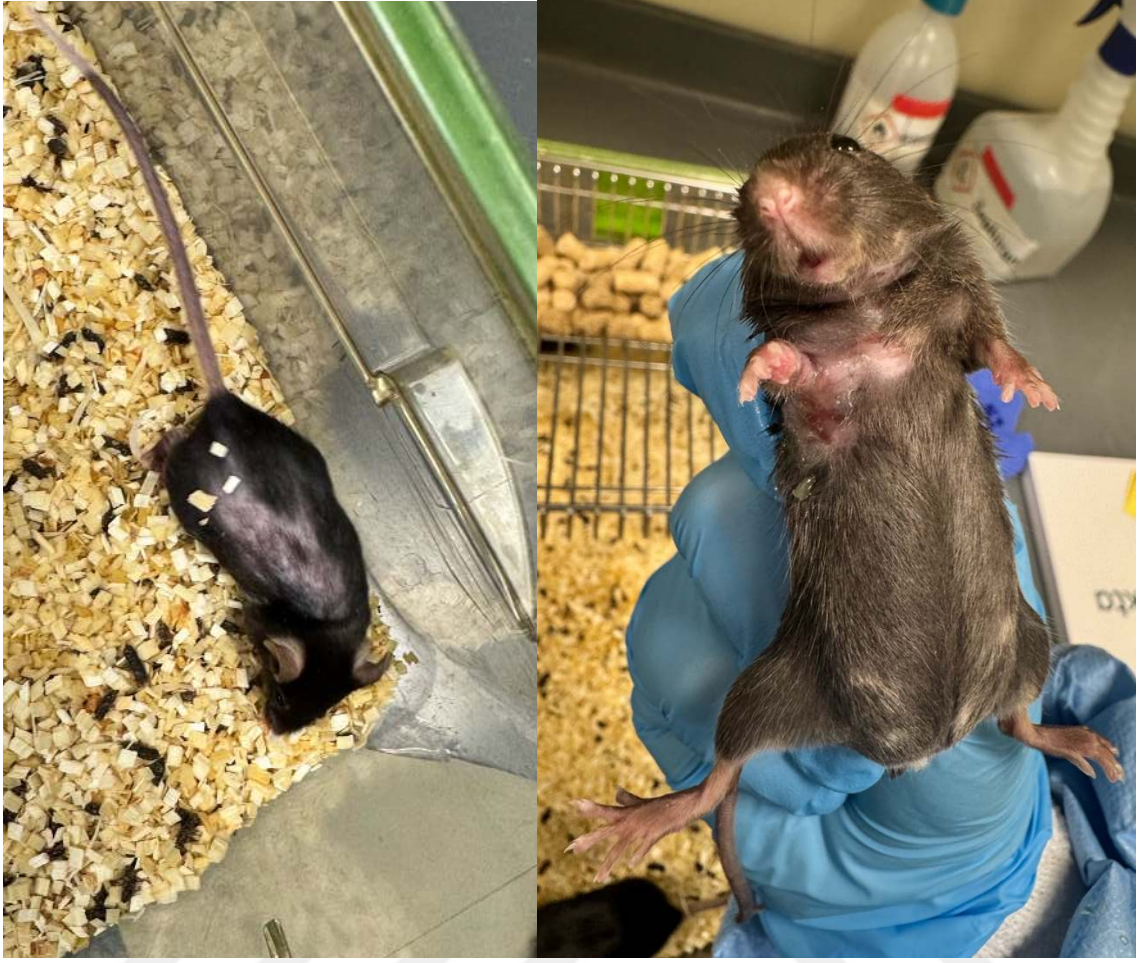
Bulguların istatistiksel analizi SPSS versiyon 28.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) yazılımı ile yapılmıştır. Örneklem büyüklüğü, %5 anlamlılık düzeyi ($\alpha = 0.05$), %80 test gücü ($1-\beta = 0.80$) ve literatürde benzer modellerde bildirilen büyük etki büyüklüğü (Cohen's $d=1,4$) esas alınarak G*power yazılımı ile hesaplanmış ve her gruba en az 8 fare dahil edilmesi gerektiği belirlenmiştir. Tüm grupların karşılaştırması Kruskal-Wallis testi ile yapılmış, istatistiksel anlamlılık $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir. İkili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmış, Bonferroni düzeltmesi ile $p<0,0083$ olan sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

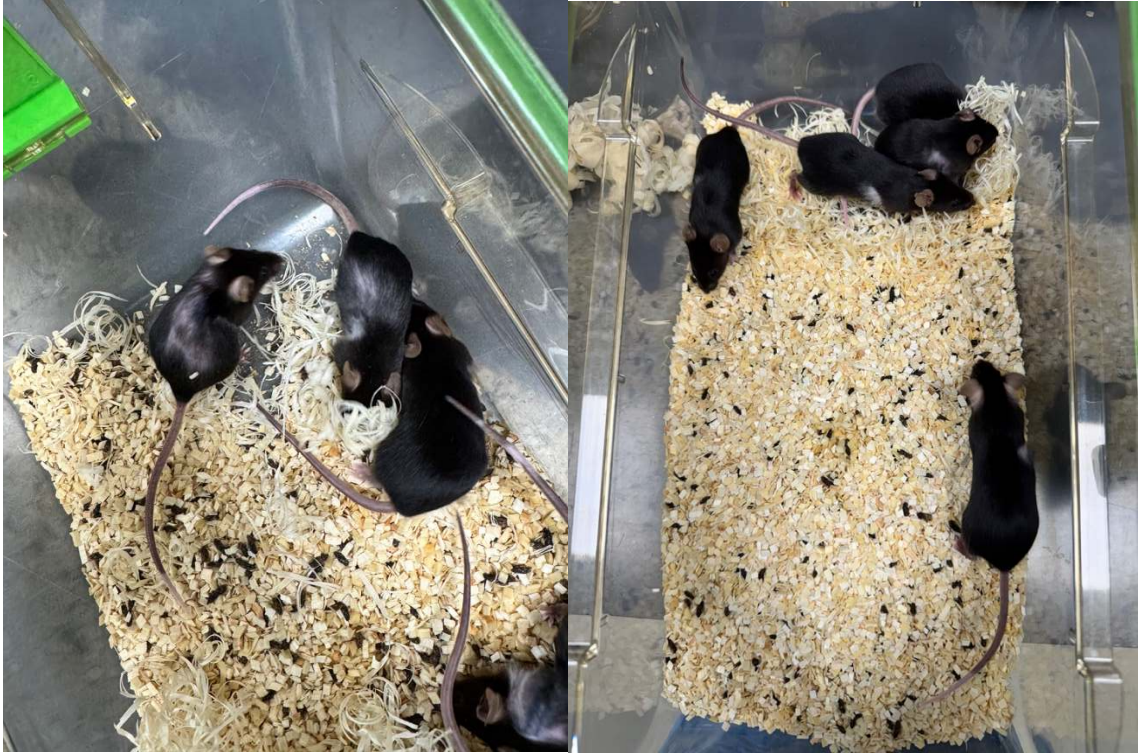
4.1. Deneyin Gözlemsel Bulguları

Deney süresince hiçbir farede, hareket ve davranış anormallliği, kilo kaybı, ağrı-stres belirtileri ve solunum sıkıntısı izlenmemiştir; ancak grup-2'deki bir farede bu bulgular olmamasına rağmen, derece 4 radyasyon dermatiti gelişmesi üzerine deneyin 63. gününde ötenazisi gerçekleştirilmiş ve dokuları toplanmıştır. Deneyin 70. gününde planlanan sakrifikasyon için her gruptan 5'er adet fare rastgele seçilmiştir; ancak grup-2'deki başka bir farede dermatit bulgularının giderek arttığının görülmesi üzerine erken sakrifikasyon grubuna alınmasına karar verilmiştir. Diğer farelerde ötenazi gerektiren herhangi bir durum gelişmemiştir. Planlandığı üzere 70. günde ve 150. günde farelerin sakrifikasyonları gerçekleştirilmiştir.

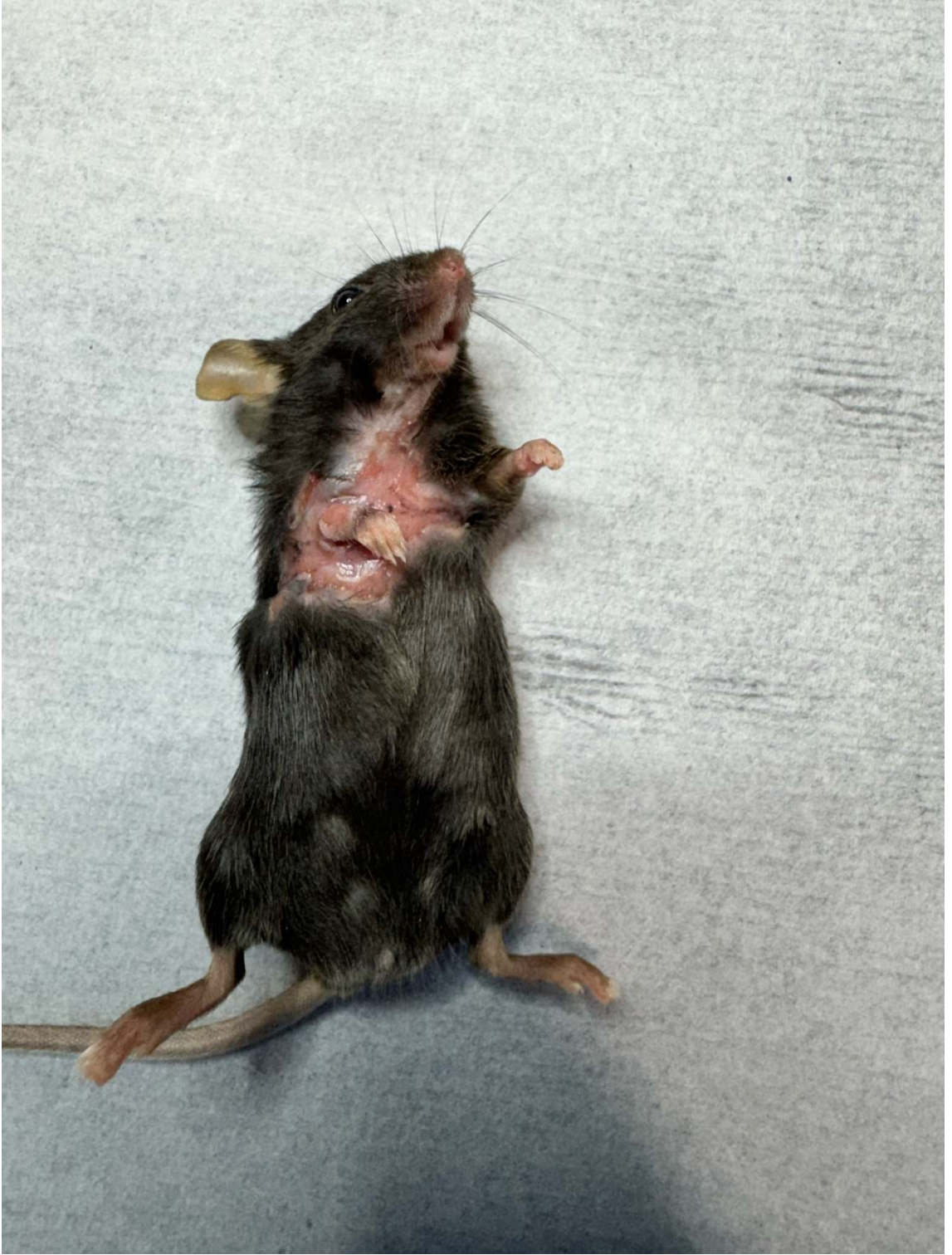
İyonizan radyasyon sonrası 20. günde; grup 2 ve 4'teki tüm farelerin sağ üst toraks, omuz ve sırt bölgesinde alopesi ve değişen derecelerde radyasyon dermatiti gözlenmiştir (Şekil 4.1). Grup-1 ve grup-3'teki farelerde beklendiği üzere herhangi bir değişiklik izlenmemiştir. Deneyin 28. gününde çoğu lezyonda iyileşmenin başladığı gözlenmiştir, ancak grup-2'deki farelerde grup-4'e göre daha uzun sürelerde iyileşme olmuştur. Grup-2'deki iki farede hiç iyileşme görülmemiş, dermatit derecesi giderek artmıştır. Her fare için, takibi süresince görülen en yüksek dermatit derecesi (RTOG) kaydedilerek istatistiksel analize dahil edilmiştir. Grup-2'deki beş farede derece 3, iki farede derece 4 dermatit izlenirken (Şekil 4.3); grup-4'te bir farede derece 3 dermatit görülmüş, hiçbir farede derece 4 dermatit gelişmemiştir. Gözlemsel olarak IL-6 RA uygulanan grup 4'teki farelerin grup-2'ye göre lezyonlarının kapladığı alanın, derinliğinin, tüy kaybının ve ciltteki fibrozis görünümünün daha az olduğu tespit edilmiştir ancak histopatolojik verifikasyon için sakrifikasyon sonrasında cilt biyopsileri ile değerlendirilmesi planlanmıştır (Şekil 4.2, Şekil 4.4, Şekil 4.5).



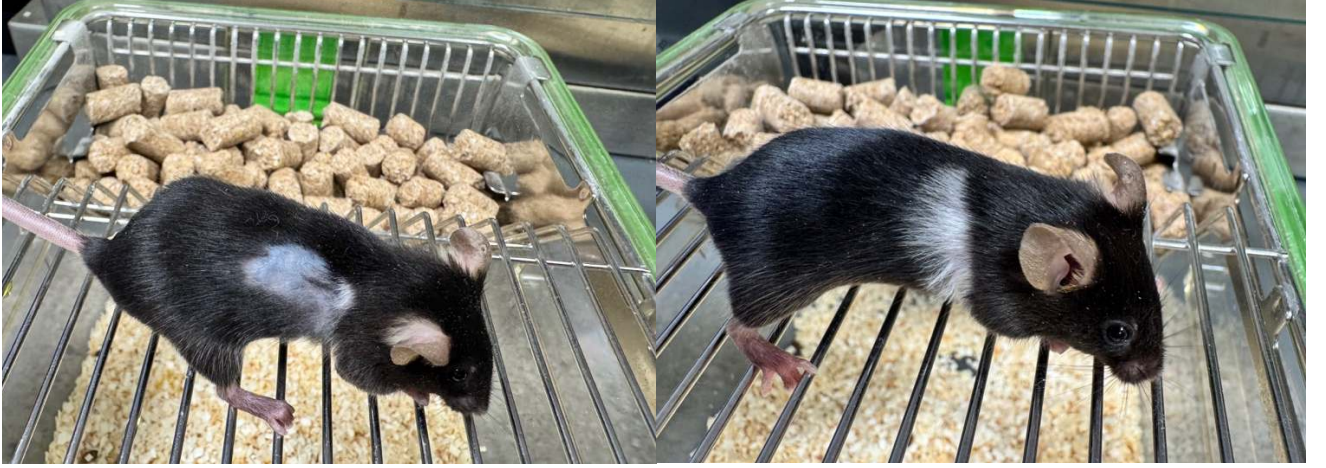
Şekil 4.1: İyonizan radyasyon sonrası 28. gün, grup-2’de derece 1 ve derece 3 dermatit.



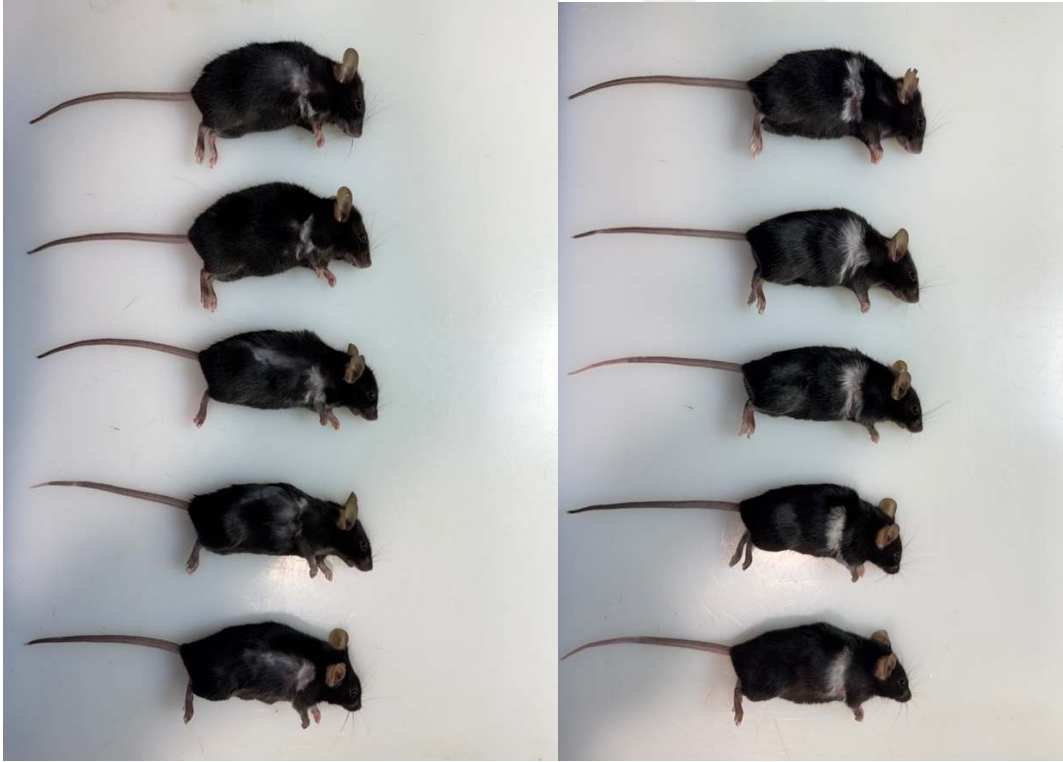
Şekil 4.2: İyonizan radyasyon sonrası 56. gün, grup-2 ve grup-4’teki tüy dökme paterni.



Şekil 4.3: İyonizan radyasyon sonrası 63. gün, grup-2’de derece 4 dermatit (X1).



Şekil 4.4: İyonizan radyasyon sonrası 120. gün, grup-2 ve grup-4'ün cilt bulguları.

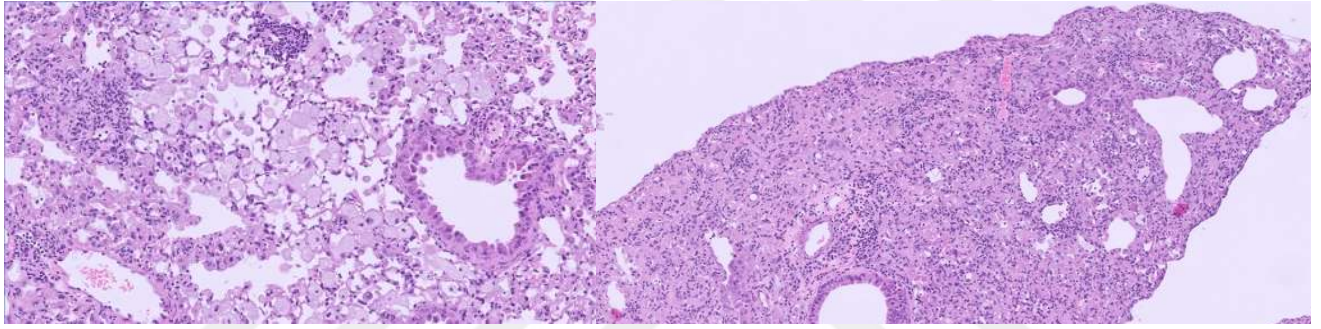


Şekil 4.5: Deneyin 150. günü, grup-2 ve grup-4'ün cilt bulguları.

4.2. Histopatolojik Bulgular

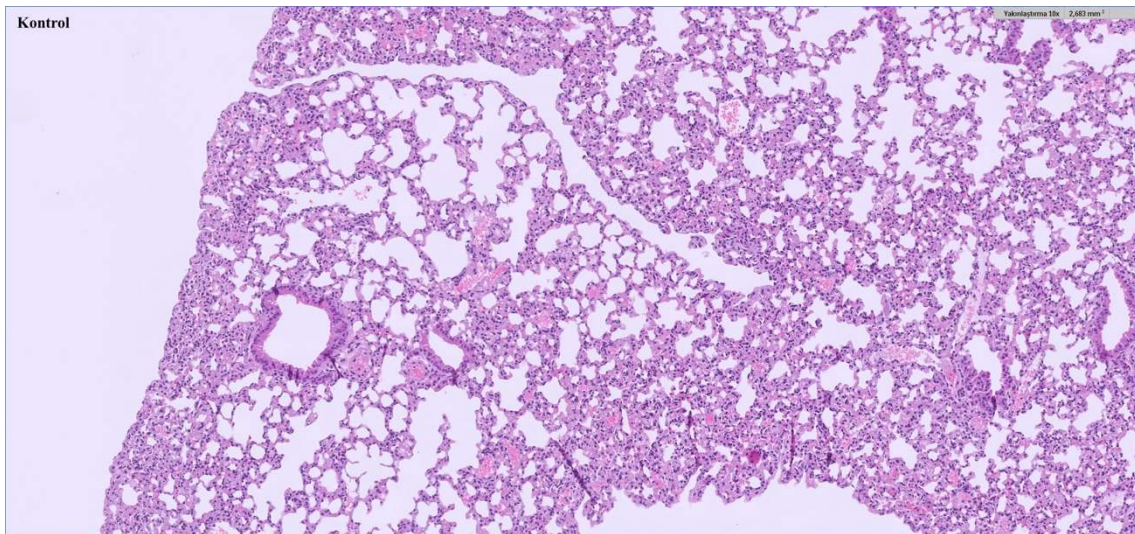
Toraksa yönelik İR uygulaması sonrası 70. günde ve 150. günde sakrifiye edilen farelerin akciğer, kalp ve cilt dokuları, histolojik değişiklikleri incelemek üzere Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında HE boyama ile değerlendirilmiştir. Erken ve geç dönem bulgular, akciğer dokusunda alveolar, peribronşiyal, perivasküler ve interstisyel alanlarda; ciltte epidermal, dermal ve subdermal alanlarda ayrı ayrı değerlendirilerek semikantitatif olarak skorlanmıştır.

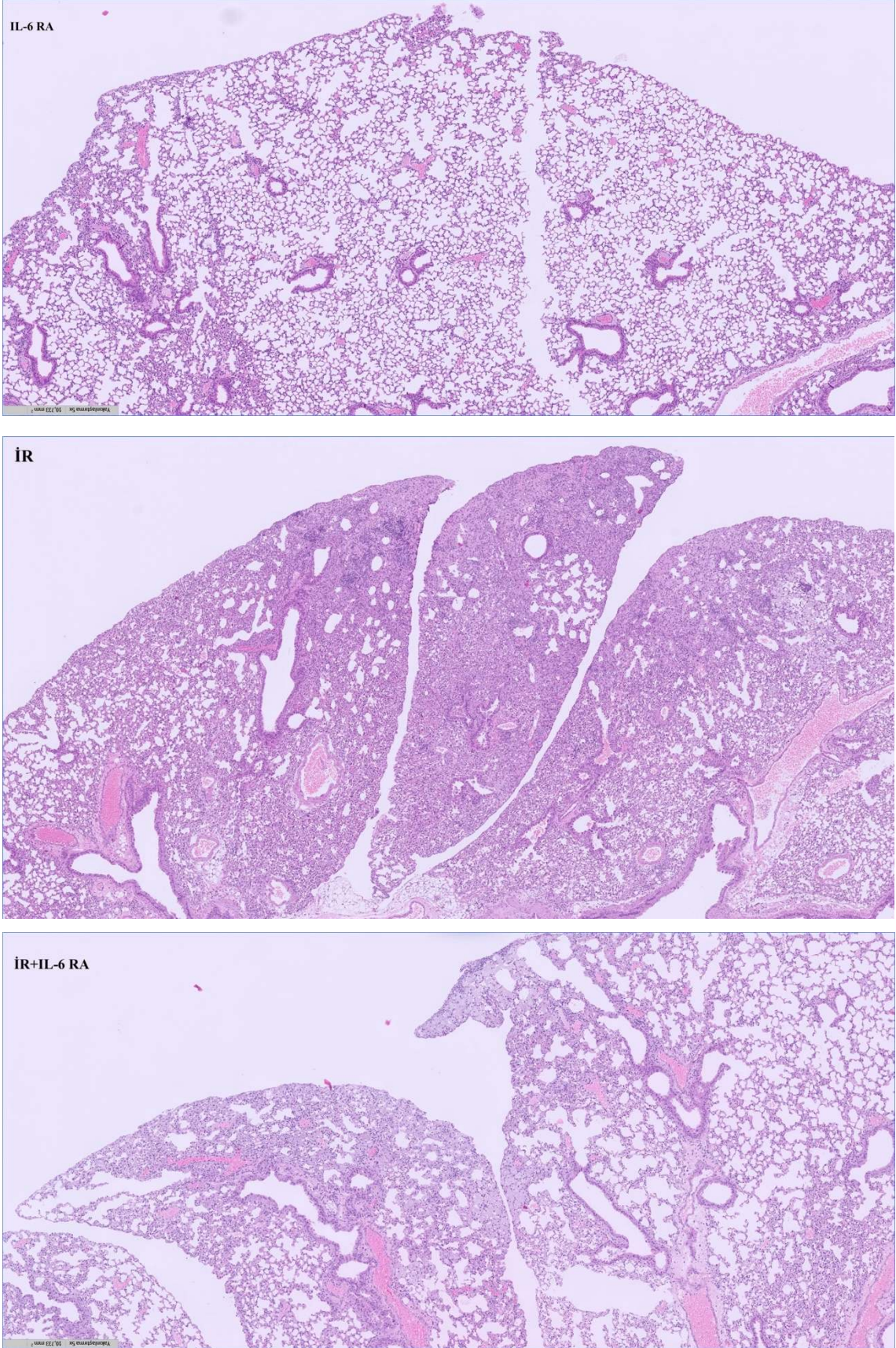
Erken dönemde akciğer dokusunda belirgin bir değişiklik izlenmezken, geç dönemde İR hasarına bağlı intraalveolar köpüksü makrofaj birikimi ve interstisyel fibrozis gelişimi görülmüştür (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: İyonizan radyasyonun akciğer hasarı bulguları, intraalveolar köpüksü makrofaj birikimi ve fibrozis.

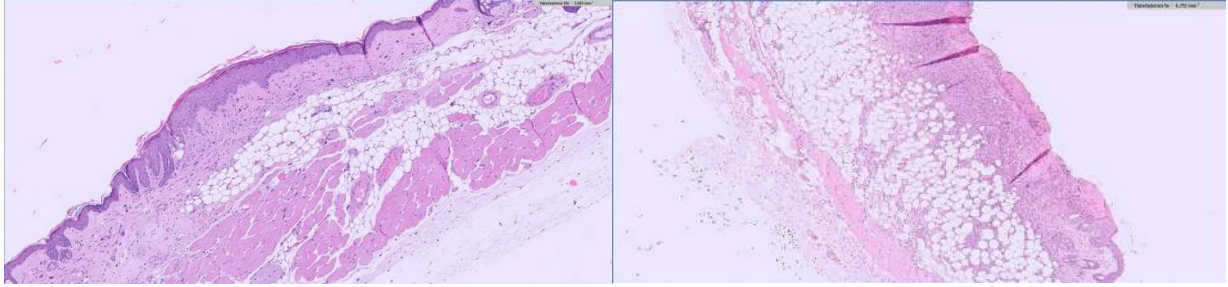
İyonizan radyasyon sonrası IL-6 RA verilen grupta daha az fibrozis geliştiği ve alveolar çatının daha iyi korunduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7).





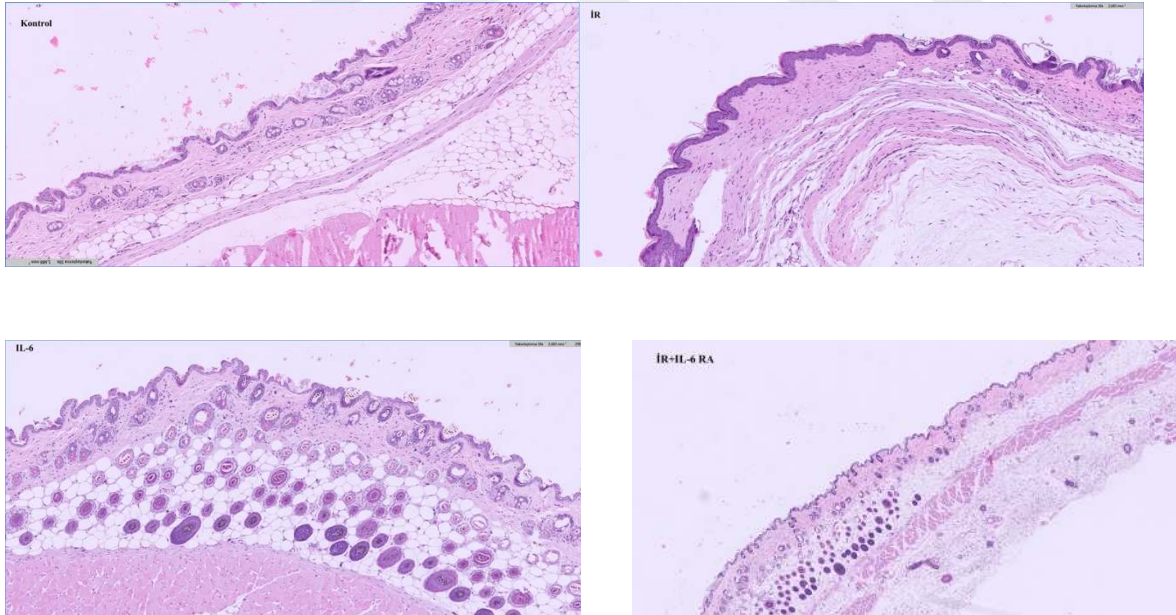
Şekil 4.7: Gruplar arasında akciğer dokusunda izlenen histomorfolojik farklılıklar

İyonizan radyasyon hasarına bağlı cilt bulguları değerlendirildiğinde; epidermiste hiperkeratoz, akantoz, ülserasyon, dermiste inflamasyon bulguları, reaktif stromal değişiklikler, fibrozis ve deri eklerinde (kıl folikülleri ve glandlar) kayıp izlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: İyonizan radyasyonun cilt hasarı bulguları.

Cildin histopatolojik bulguları karşılaştırıldığında sadece İR alan gruptaki epidermis hasarının, deri eki kaybının ve dermal fibrozisin, İR sonrası IL-6 RA alan gruba göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: Gruplar arasında cilt dokusunda izlenen histomorfolojik farklılıklar.

Erken dönem akciğer bulguları tüm gruplar arasında değerlendirildiğinde, anlamlı değişiklik saptanmamıştır (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Erken dönem akciğer bulguları.

	Grup ismi	N	Ortalama skor
Alveolar	Kontrol	5	9,00
	IR	5	13,00
	IL-6 RA	5	9,00
	IR+IL-6 RA	5	11,00
	Toplam	20	
Peribronşiyolar	Kontrol	5	9,00
	IR	5	11,00
	IL-6 RA	5	11,00
	IR+IL-6 RA	5	11,00
	Toplam	20	
Perivasküler	Kontrol	5	9,50
	IR	5	11,50
	IL-6 RA	5	9,50
	IR+IL-6 RA	5	11,50
	Toplam	20	
İnterstisyel	Kontrol	5	9,00
	IR	5	13,00
	IL-6 RA	5	9,00
	IR+IL-6 RA	5	11,00
	Toplam	20	
Alveolar yapı	Kontrol	5	10,50
	IR	5	10,50
	IL-6 RA	5	10,50
	IR+IL-6 RA	5	10,50
	Toplam	20	
Pulmoner fibrozis	Kontrol	5	10,50
	IR	5	10,50
	IL-6 RA	5	10,50
	IR+IL-6 RA	5	10,50
	Toplam	20	

Erken dönem cilt bulguları değerlendirildiğinde, epidermis ve dermis değişikliklerinde ve fibrozis bulgularında gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmiştir (Tablo 4.2) (sırasıyla $p=0,003$, $p=0,002$, $p=0,001$), subdermal bulgularda fark görülmemiştir.

Tablo 4.2: Erken dönem cilt bulguları.

	Grup ismi	N	Ortalama skor
Epidermis	Kontrol	5	6,50
	IR	5	16,90
	IL-6 RA	5	6,50
	IR+IL-6 RA	5	12,10
	Toplam	20	
Dermis	Kontrol	5	6,00
	IR	5	16,80
	IL-6 RA	5	6,00
	IR+IL-6 RA	5	13,20
	Toplam	20	
Subdermis	Kontrol	5	10,00
	IR	5	12,00
	IL-6 RA	5	10,00
	IR+IL-6 RA	5	10,00
	Toplam	20	
Dermal fibrozis	Kontrol	5	6,00
	IR	5	16,80
	IL-6 RA	5	6,00
	IR+IL-6 RA	5	13,20
	Toplam	20	

Erken dönem cilt bulguları grup-2 ve grup-4 arasında karşılaştırıldığında, grup-2'nin toplam hasar skorları daha yüksek olmasına rağmen bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Erken dönem cilt bulguları Grup-2 ve Grup-4'ün karşılaştırılması.

	Grup ismi	N	Ortalama skor	Toplam skor
Epidermis	IR	5	6,90	34,50
	IR+IL-6 RA	5	4,10	20,50
	Toplam	10		
Dermis	IR	5	6,80	34,00
	IR+IL-6 RA	5	4,20	21,00
	Toplam	10		
Subdermis	IR	5	6,00	30,00
	IR+IL-6 RA	5	5,00	25,00
	Toplam	10		
Dermal fibrozis	IR	5	6,80	34,00
	IR+IL-6 RA	5	4,20	21,00
	Toplam	10		

Geç dönem akciğer bulguları tüm gruplar arasında değerlendirildiğinde; alveolar, peribronşiyal, perivasküler ve interstisyel hasar bulgularında anlamlı farklılık saptanmıştır (Tablo 4.4) (sırasıyla $p=0,007$, $p=0,007$, $p=0,007$, $p=0,017$). Pulmoner fibrozis gelişimi gruplar arasında farklılık göstermemiştir.

Tablo 4.4: Geç dönem akciğer bulguları

	Grup ismi	N	Ortalama skor
Alveolar	Kontrol	5	6,50
	IR	5	15,30
	IL-6 RA	5	6,50
	IR+IL-6 RA	5	13,70
	Toplam	20	
Peribronşiyolar	Kontrol	5	6,50
	IR	5	15,30
	IL-6 RA	5	6,50
	IR+IL-6 RA	5	13,70
	Toplam	20	
Perivasküler	Kontrol	5	6,50
	IR	5	15,30
	IL-6 RA	5	6,50
	IR+IL-6 RA	5	13,70
	Toplam	20	
İnterstisyel	Kontrol	5	7,60
	IR	5	15,10
	IL-6 RA	5	6,00
	IR+IL-6 RA	5	13,30
	Toplam	20	
Pulmoner fibrozis	Kontrol	5	8,50
	IR	5	14,80
	IL-6 RA	5	8,50
	IR+IL-6 RA	5	10,20
	Toplam	20	

Geç dönem akciğer bulguları grup-2 ve grup-4 arasında karşılaştırıldığında, grup-2'nin tüm alanlarda toplam hasar skorları daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark gösterilememiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Geç dönem akciğer bulguları, Grup-2 ve Grup-4'ün karşılaştırılması.

	Grup ismi	N	Ortalama skor	Toplam skor
Alveolar	IR	5	6,30	31,50
	IR+IL-6 RA	5	4,70	23,50
	Toplam	10		
Peribronşiyolar	IR	5	6,30	31,50
	IR+IL-6 RA	5	4,70	23,50
	Toplam	10		
Perivasküler	IR	5	6,30	31,50
	IR+IL-6 RA	5	4,70	23,50
	Toplam	10		
İnterstisyel	IR	5	6,30	31,50
	IR+IL-6 RA	5	4,70	23,50
	Toplam	10		
Pulmoner fibrozis	IR	5	6,80	34,00
	IR+IL-6 RA	5	4,20	21,00
	Toplam	10		

Geç dönem cilt bulguları değerlendirildiğinde; epidermis, dermis hasarında ve fibrozis bulgularında gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark izlenmiştir (Tablo 4.6) (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,001$). Subdermal bulgularda fark görülmemiştir.

Tablo 4.6: Geç dönem cilt bulguları.

	Grup_ismi	N	Ortalama skor
Epidermis	Kontrol	5	6,00
	IR	5	16,50
	IL-6 RA	5	6,00
	IR+IL-6 RA	5	13,50
	Toplam	20	
Dermis	Kontrol	5	5,50
	IR	5	16,50
	IL-6 RA	5	5,50
	IR+IL-6 RA	5	14,50
	Toplam	20	
Subdermis	Kontrol	5	10,50
	IR	5	10,50
	IL-6 RA	5	10,50
	IR+IL-6 RA	5	10,50
	Toplam	20	
Dermal fibrozis	Kontrol	5	6,50
	IR	5	16,10
	IL-6 RA	5	6,50
	IR+IL-6 RA	5	12,90
	Toplam	20	

Geç dönem cilt bulguları grup-2 ve grup-4 arasında karşılaştırıldığında, grup-2’de epidermis, dermis hasarı ve fibrozis için skorlar daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: Geç dönem cilt bulguları Grup-2 ve Grup-4’ün karşılaştırılması.

	Grup ismi	N	Ortalama skor	Toplam skor
Epidermis	IR	5	6,50	32,50
	IR+IL-6 RA	5	4,50	22,50
	Toplam	10		
Dermis	IR	5	6,50	32,50
	IR+IL-6 RA	5	4,50	22,50
	Toplam	10		
Subdermis	IR	5	5,50	27,50
	IR+IL-6 RA	5	5,50	27,50
	Toplam	10		
Dermal fibrozis	IR	5	7,10	35,50
	IR+IL-6 RA	5	3,90	19,50
	Toplam	10		

Sakrifikasyon zamanlarına göre grupları erken ve geç dönem olarak ayırmadan akciğerin histopatolojik bulguları karşılaştırıldığında, grup-2 ve grup-4 arasında anlamlı fark izlenmemiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8: Grup-2 ve grup-4'ün akciğer bulgularının karşılaştırılması.

	Grup ismi	N	Ortalama skor	Toplam skor
Alveolar	IR	10	11,45	114,50
	IR+IL-6 RA	10	9,55	95,50
	Toplam	20		
Peribronşiyolar	IR	10	11,00	110,00
	IR+IL-6 RA	10	10,00	100,00
	Toplam	20		
Perivasküler	IR	10	11,00	110,00
	IR+IL-6 RA	10	10,00	100,00
	Toplam	20		
İnterstisyel	IR	10	11,45	114,50
	IR+IL-6 RA	10	9,55	95,50
	Toplam	20		
Pulmoner fibrozis	IR	10	11,65	116,50
	IR+IL-6 RA	10	9,35	93,50
	Toplam	20		

Sakrifikasyon zamanlarına göre grupları erken ve geç dönem olarak ayırmadan cildin histopatolojik bulguları grup-2 ve grup-4'teki tüm fareler arasında karşılaştırıldığında, dermal fibrozisin anlamlı düzeyde grup-2'de daha fazla görüldüğü saptanmıştır (Tablo 4.9) ($p=0,006$). Epidermal ve dermal değişiklikler de grup-2'de daha fazla görülmüştür ancak bu fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (Tablo 4.9) (sırasıyla $p=0,014$, $p=0,016$).

Tablo 4.9: Grup-2 ve grup-4'ün cilt bulgularının karşılaştırılması.

	Grup ismi	N	Ortalama skor	Toplam skor
Epidermis	IR	10	12,90	129,00
	IR+IL-6 RA	10	8,10	81,00
	Total	20		
Dermis	IR	10	12,80	128,00
	IR+IL-6 RA	10	8,20	82,00
	Toplam	20		
Subdermis	IR	10	11,00	110,00
	IR+IL-6 RA	10	10,00	100,00
	Toplam	20		
Dermal fibrozis	IR	10	13,40	134,00
	IR+IL-6 RA	10	7,60	76,00
	Toplam	20		

Radyasyon dermatitinin deney süresince gözlemlenen bulguları açısından grup-2 ve grup-4 karşılaştırıldığında grup-2'deki dermatit derecesinin (RTOG) anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 4.10) ($p=0,005$).

Tablo 4.10: Radyasyon dermatiti.

	Grup ismi	N	Ortalama skor	Toplam skor
Radyasyon Dermatiti	IR	10	14,05	140,50
	IR+IL-6 RA	10	6,95	69,50
	Toplam	20		

Farelerin sağ akciğer alt lobunda ve sol akciğerinde histopatolojik değişiklik saptanmamıştır. Kalp dokusunda herhangi bir histopatolojik değişiklik saptanmamıştır.

5. TARTIŞMA

Radyasyon ilişkili akciğer hasarının tedavisinde araştırılan pek çok molekül bulunmaktadır. Bunların çoğu antiinflamatuvar ve antifibrotik ilaçlardır. Radyasyon pnömonisinin tedavisinde kortikosteroidler sıklıkla etkili olmaktadır ve hastalarda zamanla iyileşme görülmektedir; ancak radyasyon ilişkili pulmoner fibrozis geri dönüşümsüz hasara yol açmaktadır, bu nedenle son yıllardaki preklinik deneysel çalışmalarda daha çok RİPF tedavisi için yeni moleküller araştırıldığı görülmüştür.

Sistemik sklerozda görülen interstisyel akciğer hastalığının patofizyolojisinde IL-6 ve TGF- β gibi sitokinlerin yol açtığı steril inflamasyon ve fibrozis süreçleri rol oynamaktadır. Hastalığın akciğer bulgularının tedavisinde bir IL-6 reseptör antikoru olan tosilizumab kullanılmaktadır (12). Radyasyon ilişkili akciğer hasarı da benzer şekilde sitokinlerin indüklediği steril kronik inflamasyon ve fibrozis süreciyle karakterize bir tablo olduğu için interlökin-6 reseptör antikorlarının tedavide etkin olabileceği düşünülmüştür. Literatürde bu konuda interlökin-6'yı hedefleyen molekülleri değerlendiren az sayıda çalışma olduğu ve bu çalışmalarda molekülün tedavi edici etkisinin gösterilemediği fark edilmiştir.

Radyasyon ilişkili akciğer hasarı modelinde, radyodirençli olması nedeniyle İR sonrası uzun sağkalım süreleri olan C57BL/6 suşu sıklıkla tercih edilmektedir. Çalışmaların çoğunda tüm toraksa yönelik, 12 Gy ve üstü dozlarda İR uygulanmaktadır; ancak son zamanlarda giderek artan şekilde küçük alan ışınlamaları da yapılmaktadır (138). Değişen dozlarda sağ akciğer üst lob ışınlaması yapılan bir çalışmada; fareler 39 hafta boyunca takip edilmiş, yüksek dozlarda dahi mortalite izlenmemiş, görüntüleme ve histopatoloji bulgularında en belirgin farkın 20 Gy dozunda olduğu gözlenmiştir (144). Çalışmamızda RİAH modeli oluştururken sağ akciğer üst lobun ışınlaması hedeflenmiştir; sağ akciğer alt lobunun, sol akciğerin, karaciğerin, kalbin, özofagusun, spinal kordun minimal doz alması, böylece hayvan refahının bozulmaması ve sağkalım sürelerinin uzun olması amaçlanmıştır. Küçük alan ışınlamasında alan dışı etkilerin az olduğu ve yüksek dozların tolere edilebildiği de bilindiğinden, günümüz radyoterapi tekniklerini de taklit etmesi açısından 20 Gy (fare RP için $\alpha/\beta = 4$ Gy, BED= 180 Gy) doz uygulanmıştır (145, 147). Ancak çalışmamızın erken dönem akciğer bulgularına bakıldığında grupların hiçbirinde İR uygulamasına bağlı alveolar, peribronşiyal, perivasküler veya interstisyel inflamasyona dair belirgin bir değişiklik görülmemiştir. Geç dönem bulgularında ise İR uygulamasına bağlı olarak anlamlı düzeyde alveolar,

peribronşiyal, perivasküler ve interstisyel hasar bulguları gözlenmiştir. Bu durum C57BL/6 suşunun radyasyon hasarına dirençli olması ve daha çok geç dönem fibrozis gibi yan etkilere yatkın olmasıyla açıklanabilir. Bununla birlikte, İR uygulanan farelerin sağ akciğer alt lobunda, sol akciğerinde ve kalplerinde belirgin histopatolojik değişiklik izlenmemesi; klinikteki akciğer SBRT uygulamalarına benzer şekilde, küçük alan ışınlamasında toraks içi diğer organlardaki hasarın minimal düzeyde olduğunun bir göstergesidir.

Radyasyon ilişkili akciğer hasarında interlökin-6'nın rolü klinik ve preklinik çalışmalarla gösterilmiştir (3-5, 126). Bir fare modelinde İR hasarı ile ortamdaki hücrelerden hızlı bir sitokin yanıtı olduğu, sonrasında bunların seviyesinin düştüğü, ortamda artan hasarlı hücrelerden ve periferden gelen immün hücrelerden salınan sitokinlerle ikinci bir dalga olduğu ve patolojik değişikliklerin esas sorumlusunun bu ikinci sitokin dalgası olduğu düşünülmektedir (117, 118). Çalışmamızda anti-*mouse* IL-6 RA etkinliğinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Molekülün tedavi edici etkisiyle beraber, henüz klinik bulgular oluşmadan histomorfolojik düzeyde hasarı önleyici etkisini değerlendirmek de birincil hedef olmuştur. Ancak hasar bulgularının oluşmasını önleyecek en doğru zamanı belirlemenin zor olması nedeniyle İR sonrası ilk bir haftayı kapsayacak şekilde IL-6 RA uygulanması planlanmıştır. Deneyimizde İR sonrası 1., 4., ve 7. günde olmak üzere üç defa 750 µg (37,5 mg/kg) dozunda tedavi uygulanmıştır. Literatürde RİAH modelinde anti-*mouse* IL-6 RA'nın değerlendirildiği bir çalışmada, farelere İR günü ve 1 hafta sonra olacak şekilde 2 kez 8 mg/kg dozunda MR16-1 molekülü verilmiştir. Araştırmacılar çalışmanın sonucunda etki gözlemlememeleri üzerine daha yüksek dozlarla çalışmayı yeniden tasarlamışlardır. İR günü 2 mg (100 mg/kg) MR16-1 uygulanmış, sonrasında 1., 2. ve 3. haftada 0,5 mg (25 mg/kg) dozunda verilerek fareler 30. günde kurban edilmiştir. Histolojik bulgulara bakıldığında molekülün etkinliği bu deneyde de gösterilememiştir (164, 165). Bu nedenle çalışmamızda yüksek dozda sık aralıklarla anti-*mouse* IL-6 RA uygulanması ve daha uzun takip sürelerinin sonunda sakrifikasyon yapılması planlanmıştır. Ancak deneyimizdeki histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde, ilacı sık aralıklarla yüksek doz uygulama ve uzun takip süresine rağmen IL-6 RA'nın erken veya geç dönemde RİAH üzerindeki etkinliği gösterilememiştir. Bu durum, hasarın esas sorumlusu olduğunu düşünülen ikinci sitokin dalgasından önce ilacın uygulanmış olabileceğini düşündürmüştür.

İnterlökin-6'nın hücre içi sinyal yollarının hedeflendiği prelinik çalışmada 15 Gy tüm toraks İR uygulaması ile farelere bir STAT-3 inhibitörü olan WP1066 tedavisi başlanmıştır. Ancak 5. haftada sakrifiye edilen farelerde molekülün etkinliğinin gösterilememesi üzerine, ikinci sitokin dalgasını engellemesi hedeflenerek İR'den 2 hafta sonra WP1066 tedavisi başlanacak şekilde deney yeniden tasarlanmıştır. İR'den 2 hafta sonra ilaca başlanması ile hem sağkalım üzerinde hem de akciğerdeki histolojik bulgular üzerinde WP1066'nın etkin olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları hem IL-6'nın bifazik salınımını hem de sinyal yolağına yönelik bir tedavinin RİAH üzerindeki etkisini göstermiştir. Bizim deneyimizde ise geç sakrifiye edilen farelerin akciğer bulgularında IL-6 RA alan grup-4'teki hasar skorlarının daha düşük olduğu saptanmasına rağmen istatistiksel anlamlı sonuç elde edilememiştir. Bunun, sakrifikasyon zamanına göre ayrıldığında gruptaki örneklem büyüklüğünün az (n=5) olmasından ve ilaç uygulamasının yalnızca ilk sitokin dalgasını hedeflemiş olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Radyasyonun cilt toksisitesi, değişen derecelerde dermatit ve sonrasında gelişebilen fibrozis ile karşımıza çıkmaktadır. Cilt hasarının patofizyolojisinden de TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar ve TGF- β gibi pro-fibrotik sitokinler sorumlu tutulmaktadır. Meme kanserli hastalarda adjuvan radyoterapiye sekonder akut dönemde dermatit ve kronik dönemde cilt fibrozisi sık görülen bir yan etkidir. Özellikle implantla meme rekonstrüksiyonu uygulanan hastaların meme cildinde gelişebilecek fibrozis implant kaybına varan önemli sonuçlara neden olabilir (166). Potent bir topikal kortikosteroid olan mometazon furoatın RT süresince ve sonrasında uygulanmasının radyasyon dermatitini önleyebildiği randomize kontrollü bir çalışmada gösterilmiş; böylece mometazon furoat klinikte meme kanseri tanılı RT alan hastalarda yaygın kullanılan bir molekül haline gelmiştir (167). Memede radyasyon ilişkili fibrozisi önlemede, RT sonrası 6 ay boyunca kullanılan pentoksifilin ve vitamin E kombinasyonunun etkili olabileceği randomize kontrollü bir çalışmayla kanıtlanmıştır (168). Toraks ışınlaması sonrası pirfenidonun akciğer hasarı üzerindeki etkinliğinin değerlendirildiği çalışmada pirfenidon alan farelerde akciğer bulgularının daha az olduğu ve bununla birlikte iyonizan radyasyonun cilt hasarı üzerinde de etkinliği olduğu gösterilmiştir (152). Bizim çalışmamızda da İR uygulaması sonrası farelerin toraks cildinde değişen derecelerde dermatit ve fibrozis görülmüştür. IL-6 RA uygulanan farelerin radyasyon ilişkili dermatit bulgularının daha az olduğu ve daha hızlı iyileştikleri gözlemlenmiştir. Tüm farelerde deney süresince gözlemlenen en yoğun radyodermatit bulguları RTOG

sistemiyle derecelendirilerek karşılaştırıldığında IL-6 RA'nın koruyucu ve iyileştirici etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte tüm farelerde erken ve geç sakrifikasyon gruplarına ayırmadan cilt bulgularına bakıldığında IL-6 RA alan farelerde dermal fibrozisin belirgin olarak daha az saptandığı görülmüştür. Erken ve geç sakrifikasyon olarak gruplara ayrıldığında (n=5/grup) benzer sonucun elde edilememesinin sebebinin örneklem büyüklüğünün istatistiksel anlamlılığı sağlayacak düzeyde olmamasıyla açıklanabilir. Ancak fibrozisin ortaya çıktıktan sonra geriye dönüşümsüz bir hasar olduğu göz önünde bulundurulduğunda, bunun sakrifikasyon zamanından etkilenmeyeceği, dolayısıyla tüm gruplar (n=10/grup) üzerinden bir sonuca varılabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak IL-6 RA'larının radyasyon ilişkili cilt hasarının hem akut hem de kronik dönem bulgularını azalttığı gösterilmiştir.

Sitokinlerin tümör oluşumunu indükleyen veya baskılayan süreçlerdeki ve hastalarda zaman içinde ortaya çıkan tümör ilişkili komplikasyonlardaki rolü önemli bir araştırma konusudur. Tosilizumabın farklı malignitelerdeki anti-tümör etkisi prelinik ve klinik çalışmalarla gösterilmiştir (169-173). Bir prelinik çalışmada RT'ye dirençli oral kavite skuamöz hücreli karsinom hücre hattında İR direncinin tosilizumab ile azaldığı bulunmuş ve RT'ye dirençli vakalarda IL-6 inhibisyonunun tedavi yanıtını ve sağkalımı arttırabileceği vurgulanmıştır (174). KHDAK tanılı hastalarda görülen kaşeksinin tedavisinde tosilizumabın etkili olduğu farklı vaka serileri bildirilmiştir (175-177). Bu sonuçlar da RİAH üzerinde etkisinin gösterilmesi halinde tosilizumabın akciğer kanserli hastalarda güvenle kullanılabileceğinin göstergesidir.

Çalışmamız bir tez çalışması olması nedeniyle kısıtlı bir zamanda gerçekleştirilmiştir. Literatürdeki önceki çalışmalar baz alınarak RİAH hayvan modeli oluşturulmuş ve tedaviyle ilgili çalışmaların ışığında ilaç seçimi ve uygulaması yapılmıştır. Örneklem büyüklüğünün arttırılarak; toraksın farklı alanlarına, farklı doz şemalarıyla İR uygulanması, ilacın doz ve zamanlaması değiştirilerek farklı uygulamalar yapılması, farklı zaman dilimlerinde sakrifikasyonlar ile histopatolojik bulguların değerlendirilmesi daha doğru bir model oluşturulmasını ve böyle bir çalışmanın daha güçlü sonuçlar elde etmesini sağlayacaktır. Çalışmamızda bütçe kısıtlılığı nedeniyle bulgular yalnızca histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. İmmünohistokimya veya in situ hibridzasyon ile parafin kesitlerden dokuda artan proteinlerin ve hücre alt tiplerinin gösterilmesi, plazmada ve taze/dondurulmuş dokuda sitokin artışının PCR veya ELISA ile ölçülmesi, plazmada artan hücre alt tiplerinin akım sitometri ile tespit edilmesi, taze/dondurulmuş dokuda hidroksiprolin analizi ile kolajen artışının gösterilmesi de

histopatolojiyi destekleyecek önemli katkılar sağlayacaktır. Ancak ek testlerin yapılabilmesi için daha çok doku ve dolayısıyla sınırlı alan yerine daha geniş alanların ışınlanması gerekmektedir. Bu durum farelerin sağkalımını azaltabileceği için çalışmamızda histopatolojik değerlendirmelere öncelik verilmiştir. Çalışmanın sonraki basamaklarında plazmada ve dokuda yukarıda belirtilen ileri incelemelerin yapılması planlanmaktadır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Akciğer kanseri tedavisinin tüm evrelerinde radyoterapi vazgeçilmez bir tedavi modalitesidir. Günümüzde özellikle metastatik hastalıkta yaygın bir şekilde immün kontrol noktası inhibitörleri kullanılmaktadır. İmmün kontrol noktası inhibitörleri alan hastalarda sıklıkla eşzamanlı veya sekansiyel olarak akciğer ve/veya mediastene radyoterapi uygulanması gerekmektedir. Hastalarda radyasyon pnömonisi geliştiğinde tedavi etkinliğini düşürme riski sebebiyle, yüksek dozlarda uzun süre kortikosteroid tedavisi verilememektedir. Ayrıca kortikosteroidlerin ciddi metabolik yan etkileri olması ve radyasyon pnömonisi gelişen hastalarda fibrozisi önleyememesi nedeniyle alternatif ajanların bulunması oldukça önemlidir. Biz çalışmamızda, radyasyon ilişkili akciğer hasarı oluşturulan fare modelinde anti-*mouse* interlökin-6 reseptör antikoru uygulanması ile akciğerde alveolar, peribronşiyal, perivasküler ve interstisyel hasar bulgularının, istatistiksel anlamlılığa ulaşmasa da daha az olduğunu gözlemledik. Molekülün hasar üzerindeki etkisinin daha büyük örneklemelerde istatistiksel olarak da ortaya konacağı düşünülmüştür. Çalışmanın birincil hedefi olmamakla birlikte anti-*mouse* interlökin-6 reseptör antikorunun radyasyon ilişkili cilt hasarında koruyucu ve iyileştirici etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu amaçla özellikle meme kanseri veya baş boyun tümörü nedeniyle radyoterapi alan hastaların cilt yan etkilerinin tedavisinde tosilizumabın etkinliğinin klinik çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Bentzen SM. Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: radiobiology meets molecular pathology. *Nat. Rev. Cancer*. 2006;6(9):702-13.
2. Arroyo-Hernandez M, Maldonado F, Lozano-Ruiz F, Munoz-Montano W, Nunez-Baez M, Arrieta O. Radiation-induced lung injury: current evidence. *BMC Pulm. Med*. 2021;21(1):9.
3. Chen Y, Williams J, Ding I, et al., editors. Radiation pneumonitis and early circulatory cytokine markers. *Semin. Radiat. Oncol.*; 2002: Elsevier.
4. Chen Y, Hyrien O, Williams J, Okunieff P, Smudzin T, Rubin P. Interleukin (IL)-1A and IL-6: applications to the predictive diagnostic testing of radiation pneumonitis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005;62(1):260-6.
5. Arpin D, Perol D, Blay JY, et al. Early variations of circulating interleukin-6 and interleukin-10 levels during thoracic radiotherapy are predictive for radiation pneumonitis. *J. Clin. Oncol.* 2005;23(34):8748-56.
6. Mazon R, Etienne-Mastroianni B, Perol D, et al. Predictive factors of late radiation fibrosis: a prospective study in non-small cell lung cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2010;77(1):38-43.
7. Ward HE, Kemsley L, Davies L, Holecek M, Berend N. The effect of steroids on radiation-induced lung disease in the rat. *Radiat. Res.* 1993;136(1):22-8.
8. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014;6(10):a016295.
9. Sheppard M, Laskou F, Stapleton PP, Hadavi S, Dasgupta B. Tocilizumab (Actemra). *Hum. Vaccin. Immunother.* 2017;13(9):1972-88.
10. Guaraldi G, Meschiari M, Cozzi-Lepri A, et al. Tocilizumab in patients with severe COVID-19: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol.* 2020;2(8):e474-e84.
11. Le RQ, Li L, Yuan W, et al. FDA Approval Summary: Tocilizumab for Treatment of Chimeric Antigen Receptor T Cell-Induced Severe or Life-Threatening Cytokine Release Syndrome. *Oncologist.* 2018;23(8):943-7.
12. Khanna D, Lin CJF, Furst DE, et al. Tocilizumab in systemic sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2020;8(10):963-74.
13. Zeman E. The Biological Basis of Radiation Oncology. In: Tepper JE, Foote RL, Michalski JM, editors. *Gunderson & Tepper's Clinical Radiation Oncology*. 5th ed: Elsevier; 2021. p. 2-38.
14. Withers HR. Cell cycle redistribution as a factor in multifraction irradiation. *Radiology.* 1975;114(1):199-202.
15. Markovina S, Hallahan D. Molecular and Cellular Biology. In: Tepper JE, Foote RL, Michalski JM, editors. *Gunderson & Tepper's Clinical Radiation Oncology*. 5th ed: Elsevier; 2021. p. 39-47.
16. Chaudhry MA. Base excision repair of ionizing radiation-induced DNA damage in G1 and G2 cell cycle phases. *Cancer Cell Int.* 2007;7:15.
17. Elkind MM, Whitmore GF. The radiobiology of cultured mammalian cells. (No Title). 1967.
18. Castedo M, Perfettini JL, Roumier T, Andreau K, Medema R, Kroemer G. Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition. *Oncogene.* 2004;23(16):2825-37.
19. Coppe JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu. Rev. Pathol.* 2010;5(1):99-118.
20. Su L, Dong Y, Wang Y, et al. Potential role of senescent macrophages in radiation-induced pulmonary fibrosis. *Cell Death Dis.* 2021;12(6):527.
21. Citrin DE, Mitchell JB, editors. Mechanisms of normal tissue injury from irradiation. *Semin. Radiat. Oncol.*; 2017: Elsevier.
22. Meyn RE. Apoptosis and response to radiation: implications for radiation therapy. *Oncology (Williston Park).* 1997;11(3):349-56; discussion 56, 61, 65.

23. Dewey WC, Ling CC, Meyn RE. Radiation-induced apoptosis: relevance to radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1995;33(4):781-96.
24. Gong Y, Fan Z, Luo G, et al. The role of necroptosis in cancer biology and therapy. *Mol. Cancer.* 2019;18(1):100.
25. Lang X, Green MD, Wang W, et al. Radiotherapy and Immunotherapy Promote Tumoral Lipid Oxidation and Ferroptosis via Synergistic Repression of SLC7A11. *Cancer Discov.* 2019;9(12):1673-85.
26. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ.* 2018;25(3):486-541.
27. Proskuryakov SY, Konoplyannikov AG, Gabai VL. Necrosis: a specific form of programmed cell death? *Exp. Cell Res.* 2003;283(1):1-16.
28. Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell.* 2011;146(5):682-95.
29. Cytlak UM, Dyer DP, Honeychurch J, Williams KJ, Travis MA, Illidge TM. Immunomodulation by radiotherapy in tumour control and normal tissue toxicity. *Nat. Rev. Immunol.* 2022;22(2):124-38.
30. Milano MT, Marks LB, Constine LS. Late Effects After Radiation. In: Tepper JE, Foote RL, Michalski JM, editors. *Gunderson & Tepper's Clinical Radiation Oncology*. 5th ed: Elsevier; 2021. p. 290-312.
31. Rubin P, Casarett GW. *CLINICAL RADIATION PATHOLOGY. VOLUME II*. 1968.
32. Straub JM, New J, Hamilton CD, Lominska C, Shnayder Y, Thomas SM. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2015;141(11):1985-94.
33. Withers HR, Taylor JM, Maciejewski B. Treatment volume and tissue tolerance. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1988;14(4):751-9.
34. Definition of Volumes. ICRU; 2010. Report No.: 83.
35. Chang JY, Dong L, Liu H, et al. Image-guided radiation therapy for non-small cell lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* 2008;3(2):177-86.
36. Non-Small Cell Lung Cancer: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology; 2025 [updated 14.01.2025. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf.
37. Chang JY, Senan S, Paul MAea. Correction to Lancet Oncol 2015; 16: 634, 637. *Lancet Oncol.* 2015;16(9):e427.
38. Timmerman R, Paulus R, Galvin J, et al. Stereotactic body radiation therapy for inoperable early stage lung cancer. *JAMA.* 2010;303(11):1070-6.
39. Breast Cancer: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology; 2025 [updated 17.04.2025. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/breast.pdf.
40. Harrow S, Palma DA, Olson R, et al. Stereotactic Radiation for the Comprehensive Treatment of Oligometastases (SABR-COMET): Extended Long-Term Outcomes. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2022;114(4):611-6.
41. Yom SS, Liao Z, Liu HH, et al. Initial evaluation of treatment-related pneumonitis in advanced-stage non-small-cell lung cancer patients treated with concurrent chemotherapy and intensity-modulated radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2007;68(1):94-102.
42. Sura S, Gupta V, Yorke E, Jackson A, Amols H, Rosenzweig KE. Intensity-modulated radiation therapy (IMRT) for inoperable non-small cell lung cancer: the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) experience. *Radiother. Oncol.* 2008;87(1):17-23.
43. Marks LB, Bentzen SM, Deasy JO, et al. Radiation dose-volume effects in the lung. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2010;76(3 Suppl):S70-6.
44. Chun SG, Hu C, Choy H, et al. Impact of Intensity-Modulated Radiation Therapy Technique for Locally Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: A Secondary Analysis of the NRG Oncology RTOG 0617 Randomized Clinical Trial. *J. Clin. Oncol.* 2017;35(1):56-62.

45. Saha A, Beasley M, Hatton N, et al. Clinical and dosimetric predictors of radiation pneumonitis in early-stage lung cancer treated with Stereotactic Ablative radiotherapy (SABR) - An analysis of UK's largest cohort of lung SABR patients. *Radiother. Oncol.* 2021;156:153-9.
46. Sejpal S, Komaki R, Tsao A, et al. Early findings on toxicity of proton beam therapy with concurrent chemotherapy for nonsmall cell lung cancer. *Cancer.* 2011;117(13):3004-13.
47. Palma DA, Senan S, Tsujino K, et al. Predicting radiation pneumonitis after chemoradiation therapy for lung cancer: an international individual patient data meta-analysis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2013;85(2):444-50.
48. Claude L, Perol D, Ginestet C, et al. A prospective study on radiation pneumonitis following conformal radiation therapy in non-small-cell lung cancer: clinical and dosimetric factors analysis. *Radiother. Oncol.* 2004;71(2):175-81.
49. Perez CA, Pajak TF, Rubin P, et al. Long-term observations of the patterns of failure in patients with unresectable non-oat cell carcinoma of the lung treated with definitive radiotherapy. Report by the Radiation Therapy Oncology Group. *Cancer.* 1987;59(11):1874-81.
50. Kong FM, Ten Haken RK, Schipper MJ, et al. High-dose radiation improved local tumor control and overall survival in patients with inoperable/unresectable non-small-cell lung cancer: long-term results of a radiation dose escalation study. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005;63(2):324-33.
51. Machtay M, Bae K, Movsas B, et al. Higher biologically effective dose of radiotherapy is associated with improved outcomes for locally advanced non-small cell lung carcinoma treated with chemoradiation: an analysis of the Radiation Therapy Oncology Group. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2012;82(1):425-34.
52. Rengan R, Rosenzweig KE, Venkatraman E, et al. Improved local control with higher doses of radiation in large-volume stage III non-small-cell lung cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004;60(3):741-7.
53. De Ruyscher D, Wauters E, Jendrossek V, et al. Diagnosis and treatment of radiation induced pneumonitis in patients with lung cancer: An ESTRO clinical practice guideline. *Radiother. Oncol.* 2025;207:110837.
54. Bahig H, Filion E, Vu T, et al. Severe radiation pneumonitis after lung stereotactic ablative radiation therapy in patients with interstitial lung disease. *Pract. Radiat. Oncol.* 2016;6(5):367-74.
55. Palma DA, Bahig H, Hope A, et al. Stereotactic Radiation Therapy in Early Non-Small Cell Lung Cancer and Interstitial Lung Disease: A Nonrandomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2024;10(5):575-82.
56. Yu J, Jiang L, Zhao L, et al. High-dose hyperfractionated simultaneous integrated boost radiotherapy versus standard-dose radiotherapy for limited-stage small-cell lung cancer in China: a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2024;12(10):799-809.
57. Moreno AC, Fellman B, Hobbs BP, et al. Biologically effective dose in stereotactic body radiotherapy and survival for patients with early-stage NSCLC. *J. Thorac. Oncol.* 2020;15(1):101-9.
58. Onishi H, Shirato H, Nagata Y, et al. Hypofractionated stereotactic radiotherapy (HypoFXSRT) for stage I non-small cell lung cancer: updated results of 257 patients in a Japanese multi-institutional study. *J. Thorac. Oncol.* 2007;2(7 Suppl 3):S94-100.
59. Mayinger M, Kotecha R, Sahgal A, et al. Stereotactic Body Radiotherapy for Lung Oligo-metastases: Systematic Review and International Stereotactic Radiosurgery Society Practice Guidelines. *Lung Cancer.* 2023;182:107284.
60. Timmerman R, Galvin J, Michalski J, et al. Accreditation and quality assurance for Radiation Therapy Oncology Group: Multicenter clinical trials using Stereotactic Body Radiation Therapy in lung cancer. *Acta Oncol.* 2006;45(7):779-86.
61. Timmerman R. A Story of Hypofractionation and the Table on the Wall. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2022;112(1):4-21.

62. Diez P, Hanna GG, Aitken KL, et al. UK 2022 Consensus on Normal Tissue Dose-Volume Constraints for Oligometastatic, Primary Lung and Hepatocellular Carcinoma Stereotactic Ablative Radiotherapy. *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.)*. 2022;34(5):288-300.
63. Moiseenko V, Zhao J, Milano MT, et al. Organs at risk considerations for thoracic stereotactic body radiation therapy: What is safe for lung parenchyma? *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2021;110(1):172-87.
64. Hanna GG, McDonald F, Murray L, et al. UK Consensus on Normal Tissue Dose Constraints for Stereotactic Radiotherapy: Reply. *Clin. Oncol.* 2018;30(7):456-.
65. Chen J, Hong J, Zou X, et al. Association between absolute volumes of lung spared from low-dose irradiation and radiation-induced lung injury after intensity-modulated radiotherapy in lung cancer: a retrospective analysis. *J Radiat Res.* 2015;56(6):883-8.
66. Tsujino K, Hashimoto T, Shimada T, et al. Combined analysis of V20, VS5, pulmonary fibrosis score on baseline computed tomography, and patient age improves prediction of severe radiation pneumonitis after concurrent chemoradiotherapy for locally advanced non-small-cell lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* 2014;9(7):983-90.
67. Movsas B, Raffin TA, Epstein AH, Link CJ, Jr. Pulmonary radiation injury. *Chest.* 1997;111(4):1061-76.
68. Ohe Y, Yamamoto S, Suzuki K, et al. Risk factors of treatment-related death in chemotherapy and thoracic radiotherapy for lung cancer. *Eur. J. Cancer.* 2001;37(1):54-63.
69. Hanania AN, Mainwaring W, Ghebre YT, Hanania NA, Ludwig M. Radiation-Induced Lung Injury: Assessment and Management. *Chest.* 2019;156(1):150-62.
70. Trott KR, Herrmann T, Kasper M. Target cells in radiation pneumopathy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004;58(2):463-9.
71. Vogelius IR, Bentzen SM. A literature-based meta-analysis of clinical risk factors for development of radiation induced pneumonitis. *Acta Oncol.* 2012;51(8):975-83.
72. Gokula K, Earnest A, Wong LC. Meta-analysis of incidence of early lung toxicity in 3-dimensional conformal irradiation of breast carcinomas. *Radiat. Oncol.* 2013;8:268.
73. Zhang XJ, Sun JG, Sun J, et al. Prediction of radiation pneumonitis in lung cancer patients: a systematic review. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2012;138(12):2103-16.
74. Seppenwoolde Y, De Jaeger K, Boersma LJ, Belderbos JS, Lebesque JV. Regional differences in lung radiosensitivity after radiotherapy for non-small-cell lung cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004;60(3):748-58.
75. Kwa SL, Lebesque JV, Theuws JC, et al. Radiation pneumonitis as a function of mean lung dose: an analysis of pooled data of 540 patients. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998;42(1):1-9.
76. Mah K, Van Dyk J, Keane T, Poon PY. Acute radiation-induced pulmonary damage: a clinical study on the response to fractionated radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1987;13(2):179-88.
77. Hernando ML, Marks LB, Bentel GC, et al. Radiation-induced pulmonary toxicity: a dose-volume histogram analysis in 201 patients with lung cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001;51(3):650-9.
78. Onishi H, Kuriyama K, Yamaguchi M, et al. Concurrent two-dimensional radiotherapy and weekly docetaxel in the treatment of stage III non-small cell lung cancer: a good local response but no good survival due to radiation pneumonitis. *Lung Cancer.* 2003;40(1):79-84.
79. Arrieta O, Gallardo-Rincon D, Villarreal-Garza C, et al. High frequency of radiation pneumonitis in patients with locally advanced non-small cell lung cancer treated with concurrent radiotherapy and gemcitabine after induction with gemcitabine and carboplatin. *J. Thorac. Oncol.* 2009;4(7):845-52.
80. Bentzen SM, Skoczylas JZ, Overgaard M, Overgaard J. Radiotherapy-related lung fibrosis enhanced by tamoxifen. *J. Natl. Cancer Inst.* 1996;88(13):918-22.
81. Mangoni M, Vozenin MC, Biti G, Deutsch E. Normal tissues toxicities triggered by combined anti-angiogenic and radiation therapies: hurdles might be ahead. *Br. J. Cancer.* 2012;107(2):308-14.

82. Fiorica F, Tebano U, Gabbani M, et al. Beyond abscopal effect: A meta-analysis of immune checkpoint inhibitors and radiotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *Cancers*. 2021;13(10):2352.
83. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med*. 2017;377(20):1919-29.
84. Alessi JV, Ricciuti B, Wang X, et al. Impact of TMB/PD-L1 expression and pneumonitis on chemoradiation and durvalumab response in stage III NSCLC. *Nat Commun*. 2023;14(1):4238.
85. Theelen WS, Chen D, Verma V, et al. Pembrolizumab with or without radiotherapy for metastatic non-small-cell lung cancer: a pooled analysis of two randomised trials. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2021;9(5):467-75.
86. Shaverdian N, Lisberg AE, Bornazyan K, et al. Previous radiotherapy and the clinical activity and toxicity of pembrolizumab in the treatment of non-small-cell lung cancer: a secondary analysis of the KEYNOTE-001 phase 1 trial. *The lancet oncology*. 2017;18(7):895-903.
87. Liu Z, Xu T, Chang P, et al. Efficacy and safety of immune checkpoint inhibitors with or without radiotherapy in metastatic non-small cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Pharmacology*. 2023;14:1064227.
88. Shibaki R, Akamatsu H, Fujimoto M, Koh Y, Yamamoto N. Nivolumab induced radiation recall pneumonitis after two years of radiotherapy. *Ann. Oncol*. 2017;28(6):1404-5.
89. Faiz SA, Balachandran DD, Bashoura L, Shannon VR. Pulmonary Radiation Recall Induced by Gemcitabine. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2016;194(7):909-10.
90. Togashi Y, Masago K, Mishima M, Fukudo M, Inui K. A case of radiation recall pneumonitis induced by erlotinib, which can be related to high plasma concentration. *J. Thorac. Oncol*. 2010;5(6):924-5.
91. Teng F, Li M, Yu J. Radiation recall pneumonitis induced by PD-1/PD-L1 blockades: mechanisms and therapeutic implications. *BMC Med*. 2020;18(1):275.
92. Yuan X, Liao Z, Liu Z, et al. Single nucleotide polymorphism at rs1982073: T869C of the TGF β 1 gene is associated with the risk of radiation pneumonitis in patients with non-small-cell lung cancer Treated with definitive radiotherapy. *J. Clin. Oncol*. 2009;27(20):3370-8.
93. Yin M, Liao Z, Liu Z, et al. Functional polymorphisms of base excision repair genes XRCC1 and APEX1 predict risk of radiation pneumonitis in patients with non-small cell lung cancer treated with definitive radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2011;81(3):e67-73.
94. Morgan JL, Holcomb TM, Morrissey RW. Radiation reaction in ataxia telangiectasia. *Am. J. Dis. Child*. 1968;116(5):557-8.
95. Gotoff SP, Amirmokri E, Liebner EJ. Ataxia telangiectasia. Neoplasia, untoward response to x-irradiation, and tuberous sclerosis. *Am. J. Dis. Child*. 1967;114(6):617-25.
96. Zhang L, Yang M, Bi N, et al. ATM polymorphisms are associated with risk of radiation-induced pneumonitis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2010;77(5):1360-8.
97. Xiong H, Liao Z, Liu Z, et al. ATM polymorphisms predict severe radiation pneumonitis in patients with non-small cell lung cancer treated with definitive radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2013;85(4):1066-73.
98. Yang M, Zhang L, Bi N, et al. Association of P53 and ATM polymorphisms with risk of radiation-induced pneumonitis in lung cancer patients treated with radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2011;79(5):1402-7.
99. Kocak Z, Evans ES, Zhou SM, et al. Challenges in defining radiation pneumonitis in patients with lung cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2005;62(3):635-8.
100. Bell J, McGivern D, Bullimore J, Hill J, Davies ER, Goddard P. Diagnostic imaging of post-irradiation changes in the chest. *Clin. Radiol*. 1988;39(2):109-19.
101. Choi YW, Munden RF, Erasmus JJ, et al. Effects of radiation therapy on the lung: radiologic appearances and differential diagnosis. *Radiographics*. 2004;24(4):985-97; discussion 98.
102. Larici AR, del Ciello A, Maggi F, et al. Lung abnormalities at multimodality imaging after radiation therapy for non-small cell lung cancer. *Radiographics*. 2011;31(3):771-89.

103. Jenkins P, Welsh A. Computed tomography appearance of early radiation injury to the lung: correlation with clinical and dosimetric factors. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2011;81(1):97-103.
104. Morgan GW, Breit SN. Radiation and the lung: a reevaluation of the mechanisms mediating pulmonary injury. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1995;31(2):361-9.
105. Borst GR, De Jaeger K, Belderbos JS, Burgers SA, Lebesque JV. Pulmonary function changes after radiotherapy in non-small-cell lung cancer patients with long-term disease-free survival. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005;62(3):639-44.
106. Stone B, Mangona VS, Johnson MD, Ye H, Grills IS. Changes in Pulmonary Function Following Image-Guided Stereotactic Lung Radiotherapy: Neither Lower Baseline Nor Post-SBRT Pulmonary Function Are Associated with Worse Overall Survival. *J. Thorac. Oncol.* 2015;10(12):1762-9.
107. Berg J, Ramberg C, Haugstvedt JOS, et al. Lung Function After Stereotactic Body Radiation Therapy for Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer, Changes and Predictive Markers. *Front. Oncol.* 2021;11:674731.
108. Volpi S, Ali JM, Tasker A, Peryt A, Aresu G, Coonar AS. The role of positron emission tomography in the diagnosis, staging and response assessment of non-small cell lung cancer. *Ann Transl Med.* 2018;6(5):95.
109. Cox JD, Stetz J, Pajak TF. Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1995;31(5):1341-6.
110. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0: U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES; 2017 [Available from: https://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Reference_5x7.pdf.
111. Adamson IY, Bowden DH, Wyatt JP. A pathway to pulmonary fibrosis: an ultrastructural study of mouse and rat following radiation to the whole body and hemithorax. *Am. J. Pathol.* 1970;58(3):481-98.
112. Maisin JR. The ultrastructure of the lung of mice exposed to a supra-lethal dose of ionizing radiation on the thorax. *Radiat. Res.* 1970;44(2):545-64.
113. Penney DP, Rubin P. Specific early fine structural changes in the lung following irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1977;2(11-12):1123-32.
114. Tsoutsou PG, Koukourakis MI. Radiation pneumonitis and fibrosis: mechanisms underlying its pathogenesis and implications for future research. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2006;66(5):1281-93.
115. Wirsdorfer F, Jendrossek V. Modeling DNA damage-induced pneumopathy in mice: insight from danger signaling cascades. *Radiat. Oncol.* 2017;12(1):142.
116. Cappuccini F, Eldh T, Bruder D, et al. New insights into the molecular pathology of radiation-induced pneumopathy. *Radiother. Oncol.* 2011;101(1):86-92.
117. Rube CE, Wilfert F, Palm J, et al. Irradiation induces a biphasic expression of pro-inflammatory cytokines in the lung. *Strahlenther. Onkol.* 2004;180(7):442-8.
118. Rubin P, Johnston CJ, Williams JP, McDonald S, Finkelstein JN. A perpetual cascade of cytokines postirradiation leads to pulmonary fibrosis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1995;33(1):99-109.
119. Hallahan DE, Geng L, Shyr Y. Effects of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) null mutation on radiation-induced pulmonary fibrosis and respiratory insufficiency in mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 2002;94(10):733-41.
120. Wirsdorfer F, Cappuccini F, Niazman M, et al. Thorax irradiation triggers a local and systemic accumulation of immunosuppressive CD4+ FoxP3+ regulatory T cells. *Radiat. Oncol.* 2014;9:98.

121. Sheng Y, Chen K, Jiang W, et al. PD-1 restrains IL-17A production from gammadelta T cells to modulate acute radiation-induced lung injury. *Transl Lung Cancer Res.* 2021;10(2):685-98.
122. Barron L, Gharib SA, Duffield JS. Lung Pericytes and Resident Fibroblasts: Busy Multitaskers. *Am. J. Pathol.* 2016;186(10):2519-31.
123. Bonnans C, Chou J, Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014;15(12):786-801.
124. Tanaka T, Kishimoto T. The biology and medical implications of interleukin-6. *Cancer Immunol Res.* 2014;2(4):288-94.
125. Rube CE, Palm J, Erren M, et al. Cytokine plasma levels: reliable predictors for radiation pneumonitis? *PLoS One.* 2008;3(8):e2898.
126. Rube CE, Uthe D, Wilfert F, et al. The bronchiolar epithelium as a prominent source of pro-inflammatory cytokines after lung irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005;61(5):1482-92.
127. Henkenberens C, Janssen S, Lavae-Mokhtari M, et al. Inhalative steroids as an individual treatment in symptomatic lung cancer patients with radiation pneumonitis grade II after radiotherapy - a single-centre experience. *Radiat. Oncol.* 2016;11:12.
128. McCarty MJ, Lillis P, Vukelja SJ. Azathioprine as a steroid-sparing agent in radiation pneumonitis. *Chest.* 1996;109(5):1397-400.
129. Muraoka T, Bandoh S, Fujita J, et al. Corticosteroid refractory radiation pneumonitis that remarkably responded to cyclosporin A. *Intern. Med.* 2002;41(9):730-3.
130. Haanen J, Obeid M, Spain L, et al. Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2022;33(12):1217-38.
131. Antonadou D, Coliarakis N, Synodinou M, et al. Randomized phase III trial of radiation treatment +/- amifostine in patients with advanced-stage lung cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001;51(4):915-22.
132. Sasse AD, Clark LG, Sasse EC, Clark OA. Amifostine reduces side effects and improves complete response rate during radiotherapy: results of a meta-analysis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2006;64(3):784-91.
133. Ozturk B, Egehan I, Atavci S, Kitapci M. Pentoxifylline in prevention of radiation-induced lung toxicity in patients with breast and lung cancer: a double-blind randomized trial. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004;58(1):213-9.
134. Kharofa J, Cohen EP, Tomic R, Xiang Q, Gore E. Decreased risk of radiation pneumonitis with incidental concurrent use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and thoracic radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2012;84(1):238-43.
135. Richeldi L, du Bois RM, Raghu G, et al. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 2014;370(22):2071-82.
136. Rimner A, Moore ZR, Lobaugh S, et al. Randomized Phase 2 Placebo-Controlled Trial of Nintedanib for the Treatment of Radiation Pneumonitis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2023;116(5):1091-9.
137. Chen M, Hou Z, Yao Q, et al. Pirfenidone in the Treatment of Radiation -Induced Lung Injury: A Randomized, Controlled, Multicenter Clinical Trial. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2024;120(2):S14-S.
138. Dabjan MB, Buck CM, Jackson IL, Vujaskovic Z, Marples B, Down JD. A survey of changing trends in modelling radiation lung injury in mice: bringing out the good, the bad, and the uncertain. *Lab. Invest.* 2016;96(9):936-49.
139. Sharplin J, Franko AJ. A quantitative histological study of strain-dependent differences in the effects of irradiation on mouse lung during the early phase. *Radiat. Res.* 1989;119(1):1-14.
140. Travis EL, Rachakonda G, Zhou X, et al. NRF2 deficiency reduces life span of mice administered thoracic irradiation. *Free Radic. Biol. Med.* 2011;51(6):1175-83.

141. Chiang CS, Liu WC, Jung SM, et al. Compartmental responses after thoracic irradiation of mice: strain differences. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005;62(3):862-71.
142. Rubin P, Siemann DW, Shapiro DL, Finkelstein JN, Penney DP. Surfactant release as an early measure of radiation pneumonitis. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1983;9(11):1669-73.
143. Down JD, Coultas PG, Field SB. Is surfactant release a reliable predictor of radiation pneumonitis? *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1988;14(1):211-2.
144. Granton PV, Dubois L, van Elmpt W, et al. A longitudinal evaluation of partial lung irradiation in mice by using a dedicated image-guided small animal irradiator. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2014;90(3):696-704.
145. Ghita M, Dunne VL, McMahon SJ, et al. Preclinical Evaluation of Dose-Volume Effects and Lung Toxicity Occurring In and Out-of-Field. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2019;103(5):1231-40.
146. Travis EL, Down JD, Holmes SJ, Hobson B. Radiation pneumonitis and fibrosis in mouse lung assayed by respiratory frequency and histology. *Radiat. Res.* 1980;84(1):133-43.
147. Parkins CS, Fowler JF, Maughan RL, Roper MJ. Repair in mouse lung for up to 20 fractions of X rays or neutrons. *Br. J. Radiol.* 1985;58(687):225-41.
148. Pan J, Li D, Xu Y, et al. Inhibition of Bcl-2/xl With ABT-263 Selectively Kills Senescent Type II Pneumocytes and Reverses Persistent Pulmonary Fibrosis Induced by Ionizing Radiation in Mice. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2017;99(2):353-61.
149. De Ruyscher D, Granton PV, Lieuwes NG, et al. Nintedanib reduces radiation-induced microscopic lung fibrosis but this cannot be monitored by CT imaging: A preclinical study with a high precision image-guided irradiator. *Radiother. Oncol.* 2017;124(3):482-7.
150. Anscher MS, Thrasher B, Zgonjanin L, et al. Small molecular inhibitor of transforming growth factor-beta protects against development of radiation-induced lung injury. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2008;71(3):829-37.
151. Yu J, Yuan X, Liu Y, et al. Delayed Administration of WP1066, an STAT3 Inhibitor, Ameliorates Radiation-Induced Lung Injury in Mice. *Lung.* 2016;194(1):67-74.
152. Ying H, Fang M, Hang QQ, Chen Y, Qian X, Chen M. Pirfenidone modulates macrophage polarization and ameliorates radiation-induced lung fibrosis by inhibiting the TGF-beta1/Smad3 pathway. *J. Cell. Mol. Med.* 2021;25(18):8662-75.
153. Burmester G. Interleukin 6 inhibitors: Biology, principles of use, and adverse effects 2025 [Available from: <https://www.uptodate.com/contents/interleukin-6-inhibitors-biology-principles-of-use-and-adverse-effects>].
154. Sheppard M, Laskou F, Stapleton PP, Hadavi S, Dasgupta B. Tocilizumab (actemra). *Human vaccines & immunotherapeutics.* 2017;13(9):1972-88.
155. Guaraldi G, Meschiari M, Cozzi-Lepri A, et al. Tocilizumab in patients with severe COVID-19: a retrospective cohort study. *The Lancet Rheumatology.* 2020;2(8):e474-e84.
156. Matsuyama M, Suzuki T, Tsuboi H, et al. Anti-interleukin-6 receptor antibody (tocilizumab) treatment of multicentric Castleman's disease. *Intern. Med.* 2007;46(11):771-4.
157. Le RQ, Li L, Yuan W, et al. FDA approval summary: tocilizumab for treatment of chimeric antigen receptor T cell - induced severe or life - threatening cytokine release syndrome. *The oncologist.* 2018;23(8):943-7.
158. Tay SH, Toh MMX, Thian YL, et al. Cytokine release syndrome in cancer patients receiving immune checkpoint inhibitors: a case series of 25 patients and review of the literature. *Frontiers in immunology.* 2022;13:807050.
159. Stroud CR, Hegde A, Cherry C, et al. Tocilizumab for the management of immune mediated adverse events secondary to PD-1 blockade. *J. Oncol. Pharm. Pract.* 2019;25(3):551-7.
160. Dimitriou F, Hogan S, Menzies AM, Dummer R, Long GV. Interleukin-6 blockade for prophylaxis and management of immune-related adverse events in cancer immunotherapy. *Eur. J. Cancer.* 2021;157:214-24.

161. Khanna D, Lin CJ, Furst DE, et al. Tocilizumab in systemic sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(10):963-74.
162. Chakraborty D, Sumova B, Mallano T, et al. Activation of STAT3 integrates common profibrotic pathways to promote fibroblast activation and tissue fibrosis. *Nat Commun*. 2017;8(1):1130.
163. Papaioannou I, Xu S, Denton CP, Abraham DJ, Ponticos M. STAT3 controls COL1A2 enhancer activation cooperatively with JunB, regulates type I collagen synthesis posttranscriptionally, and is essential for lung myofibroblast differentiation. *Mol. Biol. Cell*. 2018;29(2):84-95.
164. Ogata T, Yamazaki H, Teshima T, et al. Early administration of IL-6RA does not prevent radiation-induced lung injury in mice. *Radiat. Oncol*. 2010;5:26.
165. Ogata T, Yamazaki H, Teshima T, Tsuchiya T, Nishimoto N, Matsuura N. Anti-IL-6 receptor antibody does not ameliorate radiation pneumonia in mice. *Exp. Ther. Med*. 2012;4(2):273-6.
166. Borrelli MR, Shen AH, Lee GK, Momeni A, Longaker MT, Wan DC. Radiation-Induced Skin Fibrosis: Pathogenesis, Current Treatment Options, and Emerging Therapeutics. *Ann. Plast. Surg*. 2019;83(4S Suppl 1):S59-S64.
167. Hindley A, Zain Z, Wood L, et al. Mometasone furoate cream reduces acute radiation dermatitis in patients receiving breast radiation therapy: results of a randomized trial. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2014;90(4):748-55.
168. Jacobson G, Bhatia S, Smith BJ, Button AM, Bodeker K, Buatti J. Randomized trial of pentoxifylline and vitamin E vs standard follow-up after breast irradiation to prevent breast fibrosis, evaluated by tissue compliance meter. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 2013;85(3):604-8.
169. Dijkgraaf EM, Santegoets SJ, Reyners AK, et al. A phase I trial combining carboplatin/doxorubicin with tocilizumab, an anti-IL-6R monoclonal antibody, and interferon-alpha2b in patients with recurrent epithelial ovarian cancer. *Ann. Oncol*. 2015;26(10):2141-9.
170. Chung YC, Chen SJ, Huang CC, et al. Tocilizumab Exerts Anti-Tumor Effects on Colorectal Carcinoma Cell Xenografts Corresponding to Expression Levels of Interleukin-6 Receptor. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024;17(1):127.
171. Al-Jomah N, Al-Mohanna FH, Aboussekhra A. Tocilizumab suppresses the pro-carcinogenic effects of breast cancer-associated fibroblasts through inhibition of the STAT3/AUF1 pathway. *Carcinogenesis*. 2021;42(12):1439-48.
172. Alraouji NN, Aboussekhra A. Tocilizumab inhibits IL-8 and the proangiogenic potential of triple negative breast cancer cells. *Mol. Carcinog*. 2021;60(1):51-9.
173. Kim NH, Kim SK, Kim DS, et al. Anti-proliferative action of IL-6R-targeted antibody tocilizumab for non-small cell lung cancer cells. *Oncol. Lett*. 2015;9(5):2283-8.
174. Matsuoka Y, Nakayama H, Yoshida R, et al. IL-6 controls resistance to radiation by suppressing oxidative stress via the Nrf2-antioxidant pathway in oral squamous cell carcinoma. *Br. J. Cancer*. 2016;115(10):1234-44.
175. Du Y, Liu XY, Pan RL, et al. Tocilizumab for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer With Concomitant Cachexia: An Observational Study. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2024;15(6):2815-25.
176. Chen P, Wang D, Zhan Z, Chen L, Chen Y. Tocilizumab in combination with corticosteroids: potential for managing cancer cachexia with systemic hyperinflammation. *Front. Immunol*. 2024;15:1477310.
177. Ando K, Takahashi F, Motojima S, et al. Possible role for tocilizumab, an anti-interleukin-6 receptor antibody, in treating cancer cachexia. *J. Clin. Oncol*. 2013;31(6):e69-72.

EKLER**Ek-1 Etik Kurul Onayı**