

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

STEREOTAKTİK RADYOTERAPİNİN SİSTEMİK İMMÜN
YANIT ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
DR. AYBALA NUR ÜÇGÜL

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. HÜSEYİN BORA

ANKARA
ŞUBAT 2024

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

STEREOTAKTİK RADYOTERAPİNİN SİSTEMİK İMMÜN
YANIT ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
DR. AYBALA NUR ÜÇGÜL

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. HÜSEYİN BORA

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TTU-
2023-8405 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
ŞUBAT 2024

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca, tez süreci ve akademik eğitimimin yanında beni her konuda hayata hazırlayan, başımın sıkıştığı her anda yardımına başvurduğum, baba sıcaklığıyla desteğini benden hiç esirgemeyen, tez öğrencisi olmaktan onur duyduğum sayın Prof. Dr. Hüseyin Bora'ya sonsuz sevgi ve saygılarımla teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca eğitime katkıda bulunan, bilgi ve tecrübelerini her daim benimle paylaşan saygıdeğer hocalarıma minnet ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışması sırasında emeği geçen Tıbbi Biyokimya ABD.'dan Prof. Dr. Özlem Gülbahar ve Uzm. Dr. Gizem Yaz Aydın'a; kanları almamda yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Ümmü Habibe Köken ve bölümümüz sorumlu hemşiresi Selma Yurtal'a teşekkürlerimi sunarım.

Bölümümün bana kazandırdığı en güzel şey olan, her derdimi anlatabildiğim canım dostum Doç. Dr. Serap Çatlı Dinç'e;

Beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum, her zaman desteklerini hissettiğim ancak çok kalabalık olduğu için tek tek isimlerini yazamadığım canım çömezlerime;

Ekip olarak güzel işler başardığımız bölümümüzün tüm fizik mühendisi, sekreter, teknisyen ve yardımcı personellerine teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan, bugüne gelmemde çok büyük emekleri olan ve bugün de en gururluların onlar olduğunu bildiğim canım annem Hatice Turan, babam Mustafa Turan ve değerli aileme;

Bu zorlu 5 yılımda her zaman yanımda olan, tüm kahrımı çeken, hayatıma anlam katan canım eşim Uzm. Dr. Enes Üçgül'e; ve tabi ki en kıymetlim, yaşam sevincim, gözlerimdeki mutluluğun en büyük ortağı canım kızım Almira Üçgül'e sonsuz sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Aybala Nur ÜÇGÜL

ANKARA, 2024

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
EKLER	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Stereotaktik Radyoterapi.....	2
2.2. Stereotaktik Beden Radyoterapisinin Radyobiyo­lojisi	4
2.2.1 Sublethal Hasar Tamiri (Repair)	5
2.2.2 Repopülasyon	5
2.2.3. Yeniden Dağılım (Redistribüsyon)	6
2.2.4. Reoksijenizasyon	6
2.2.5. Vasküler Etkiler.....	6
2.3. Stereotaktik Beden Radyoterapisi ile İmmün Sistem İlişkisi.....	7
2.5. Sistemik İmmün Yanıt Belirteçleri	10
2.5.1. T-Bet (TBX 21).....	11
2.5.2. RORγ.....	12

2.5.3. GATA 3	13
2.5.4. FoxP3.....	14
2.6. Stereotaktik Beden Radyoterapisi ile Sistemik İmmün Yanıt Belirteçleri Arasındaki İlişki	14
2.7. Çalışmanın Amacı	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
3.1. Etik Kurul Onayı.....	18
3.2. Hasta Seçimi	18
3.3. Tedavi Protokolleri.....	18
3.4. Örnek Toplama ve Saklama İşlemleri	20
3.5. Kullanılan Biyokimyasal Yöntemler.....	21
3.5.1. Serum FoxP3 ve GATA3 Düzeylerinin Ölçümü	21
3.5.2. Serum ROR γ ve T-bet Düzeylerinin Ölçümü.....	22
3.6. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	23
4. BULGULAR	24
4.1. Hasta Özellikleri.....	24
4.2. İmmünolojik Belirteçlerdeki Değişiklikler	27
4.2.1. T-Bet (TBX21).....	27
4.2.2. GATA-3.....	27
4.2.3. ROR γ	28

4.2.4. FoxP3.....	29
4.3. İmmün Belirteçleri Etkileyen Faktörler	30
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇLAR.....	48
7. KAYNAKLAR.....	49
8. ÖZET	54
9. ABSTRACT	56
10. EK-1- ETİK KURUL ONAYI.....	57
11. EK-2- ÖZGEÇMİŞ	61

KISALTMALAR DİZİNİ

SBRT/SABR: Stereotaktik Beden Radyoterapisi/Stereotaktik Ablatif Radyoterapi

SRS/SRC: Stereotaktik Radyocerrahi

GK: Gamma-Knife

Gy: Gray

Fx: Fraksiyon

LQ: Lineer- Kuadratik Model

Th: Yardımcı T Hücre

Treg: Regulator T Hücre

AC: Akciğer

KC: Karaciğer

KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

HCC: Hepatosellüler Karsinom

RCC: Renal Hücreli Karsinom

GTV: Gros Tümör Volümü

CTV: Klinik Hedef Volüm

PTV: Planlanan Hedef Volüm

4D-CT: 4 Boyutlu Bilgisayarlı Tomografi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Tedavi öncesi ve sonrası T-bet değerlerindeki değişim.....	27
Şekil 2. Tedavi Öncesi ve Sonrası GATA-3 değerlerindeki değişim.....	28
Şekil 3. Tedavi Öncesi ve Sonrası FoxP3 değerlerindeki değişim	29
Şekil 4. Tedavi Öncesi ve Sonrası FoxP3/RORγ değerlerindeki değişim.....	30



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. SBRT ile immün sistem ilişkisini inceleyen çalışmalar	17
Tablo 2: Hasta Özellikleri	25
Tablo 3. İmmün Sistem Belirteçleri ile Değişkenler Arasındaki İlişki.....	32
Tablo 4. Beyin Bölgesine Tedavi Alan Hastalarda İmmün Sistem Belirteçleri ile Değişkenler Arasındaki İlişki	33
Tablo 5. Akciğer Bölgesine Tedavi Alan Hastalarda İmmün Sistem Belirteçleri ile Değişkenler Arasındaki İlişki.....	34
Tablo 6. Kemik Bölgesine Tedavi Alan Hastalarda İmmün Sistem Belirteçleri ile Değişkenler Arasındaki İlişki.....	35

EKLER

EK 1. Etik Kurul Onayı..... 56

EK 2. Özgeçmiş.....60



1.GİRİŞ

Stereotaktik vücut radyoterapisi/stereotaktik ablatif radyoterapi (SBRT/SABR), tümör dokusuna yüksek dozlar uygulanırken sağlıklı dokuların korunmasının amaçlandığı bir tedavi şeklidir. Bu tedavide doz 1-5 fraksiyonda uygulanır. Özellikle erken evre akciğer kanseri, beyin, kemik veya karaciğer metastazları başta olmak üzere birçok kanser tipinde kullanılabilir.

Radyoterapi lokal bir tedavi olmasına rağmen biyolojik etkilerini tedavi alanı dışında da gösterdiği ve sistemik immün yanıtı aktive ettiğine dair kanıtlar artmaktadır. Bu düşünce 1953 yılınca Mole tarafından abiskopal etkinin tanımlanmasıyla başlamıştır [1]. Abiskopal etki, radyoterapi alanı dışında kanser gerilemesi olarak tanımlanabilir. Bu etki radyoterapi sonrasında doğrudan tümörün küçülmesi, aktivitesinin azalması olarak izlenebildiği gibi dolaylı olarak sistemik immün yanıt artışıyla da gösterilebilir. Radyoterapi ile tetiklenen antitümör aktiviteden başta T hücreleri sorumludur [2]. Yardımcı T hücre (Th) farklılaşması ve sitokin üretimi için transkripsiyon faktörleri kritiktir. Transkripsiyon faktörleri ana düzenleyiciler ve STAT proteinleri olarak ikiye ayrılır. Th1 hücreleri için T-bet/STAT 4, Th2 hücreleri için GATA-3 / STAT5, Th17 hücreleri için ROR γ t / STAT3 ve Treg hücreleri için Foxp3 / STAT5 esas transkripsiyon faktörleridir [3]. Stereotaktik radyoterapi sonrasında bu transkripsiyon faktörlerinin seviyesindeki değişim stereotaktik radyoterapinin immün yanıt üzerine etkisini gösterebilmektedir. Stereotaktik radyoterapinin immün yanıt üzerine etkisinin net bir şekilde anlaşılması bu tedavinin günümüzde sıklıkla kullanılan immünoterapilerle kombinasyonunun sonuçları hakkında da bize bilgi verecektir.

Bu konuda yapılmış çalışmaların çoğunda küçük hücreli dışı akciğer kanseri olan hastalar dahil edilmiş, diğer çalışmalarda ise genellikle herhangi bir bölgeye metastaz veya pankreas kanseri gibi tek bir patoloji çalışılmıştır [4]. Özellikle beyin metastazlarında uygulanan stereotaktik radyoterapinin kan-beyin bariyeri etkisiyle immün yanıtı artırıp artırmadığına dair herhangi bir çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmada GÜTF Radyasyon Onkolojisi ABD’da stereotaktik radyoterapi uygulanan farklı organlarda, stereotaktik radyoterapi ile immün yanıt belirteçleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Stereotaktik Radyoterapi

Stereotaktik radyoterapi hedef dokuya yüksek doz tedavi uygulanırken çevre normal dokulara minimal hasar vermeyi hedefleyen bir tedavi tekniğidir. Genellikle fraksiyon dozu çok yüksek olacak şekilde toplam 1-5 fraksiyonda uygulanır. Fraksiyonlar esnasında multipl alanlar kullanılarak dozun tamamen tümör dokusuna aktarılması sağlanır. Bu sayede çevre kritik dokular maksimum düzeyde korunmaktadır.

Stereotaktik radyoterapi tekniği tedavi bölgesi ve fraksiyon sayısına göre farklı isimlendirmelere sahiptir. Tek fraksiyonda, nöroonkolojik hastalıkların tedavisinde kullanılması halinde “stereotaktik radyocerrahi (stereotactic radiosurgery=SRS)”, nöroonkolojik hastalıkların tedavisinde 2-5 fraksiyon olarak uygulanması halinde “fraksiyone stereotaktik radyocerrahi” veya “stereotaktik

rad्यoterapi”; vücutun diğer bölgelerinde (en sık akciğer, karaciğer, kemik vb.) 1-5 fraksiyonda uygulanması halinde “stereotaktik beden radyoterapisi (SBRT)” ismini alır.

Stereotaktik radyocerrahi tekniğı ilk olarak 1951’de İsveçli bir nörocerrah olan Lars Leksell tarafından tanımlanmıştır[5]. Leksell başlangıçta X ışınlarını kullanmıştır, ancak sonrasında kobalt-60 kaynağından elde ettiği gamma ışınlarını kullanarak günümüzde de halen aktif şekilde uygulanan Gamma-Knife (GK) tedavi sistemini geliştirmiş, 1968 yılında GK ile ilk tedavi gerçekleşmiştir. Ancak GK’ın en büyük dezavantajı yalnızca intrakraniyal tedavi ile sınırlı olmasıydı.

GK’ın yaygın kullanımının ardından özellikle görüntüleme yöntemlerinin de gelişmesiyle Winston K.R ve Lutz W. tarafından 1984 yılında lineer hızlandırıcı tabanlı stereotaktik radyocerrahi tekniğı geliştirilmiştir [6]. Ardından invaziv olmayan çerçevelerin geliştirilmesiyle hem stereotaktik radyocerrahi hem de fraksiyone tedavilerin uygulanması artmıştır.

1997 yılında Adler ve ekibi tarafından mobil robotik kolların uçlarına yerleştirilmiş mikroliner hızlandırıcıların kullanıldığı Cyberknife geliştirilmiştir [7]. Cyberknife ve LINAK tabanlı tekniklerle sadece santral sinir sistemi değil; akciğer, abdomen, pelvis gibi vücutun diğer bölgelerinin de tedavisine olanak sağlanmıştır.

Günümüzde stereotaktik radyoterapi intrakraniyal lezyonların yanısıra primer akciğer tümörleri ve metastazları, karaciğer metastazları, pankreas

kanserleri, prostat kanserleri, kemik metastazları gibi birçok endikasyonda sıklıkla kullanılmaktadır.

2.2. Stereotaktik Beden Radyoterapisinin Radyobiyojisi

Radyobiyolojik olarak SBRT tekniği ile konvansiyonel teknikler arasında farklar vardır. En önemli fark 1-5 fraksiyonda yüksek doz tedavi uygulandığı için biyolojik efektif doz çok daha yüksektir. Küçük hacimler tedavi edilir, doz inhomojenitesi daha fazladır ve hedef dışı hızlı bir doz düşüşü izlenir.

Radyoterapinin ana hedefi tümör hücrelerinde DNA çift sarmal kırıkları meydana getirerek hücrelerin bölünme yeteneğini kaybetmesini sağlamaktır. Sürekli olarak bölünemeyen tümör hücreleri metabolik olarak aktif olsa da bir süre sonra ölü kabul edilir. Tümörlerin radyasyona tepkisi de radyasyonun DNA'ya verdiği hasar ve tümör hücresinin bu hasarı tamir edebilme yeteneği arasındaki dengedir [8].

Radyasyonun tümör hücreleri üzerindeki etkisini belirleyen 4 temel faktör ortaya çıkmıştır:

- Sublethal hasar tamiri (Repair)
- Repopülasyon
- Yeniden dağılım (Redistribüsyon)
- Reoksijenizasyon

Bu faktörler Withers tarafından radyoterapinin 4 R'si olarak tanımlanmıştır [9].Gün geçtikçe bu faktörlere yenileri eklenmektedir.

2.2.1 Sublethal Hasar Tamiri (Repair)

Konvansiyonel radyoterapide DNA hasar tamir mekanizmaları sayesinde radyasyonun verdiği sublethal hasar bir sonraki fraksiyona kadar tamir edilebilir. Böylece fraksiyonlar arasında tümör hücrelerinin sağkalımı artar. Ancak SBRT uygulamalarında fraksiyon başına düşen doz çok yüksek olduğundan ana hücre ölüm mekanizması apoptozdan ziyade nekroz/nekroptozdur. Lethal hasar çok daha fazladır. Bu nedenle tamir mekanizmaları etkisiz kalır.[10, 11]

2.2.2 Repopülasyon

Repopülasyon, radyoterapi sonrası hayatta kalabilen klonojenik hücrelerin proliferasyonu olmasıdır. Tedavi süresinin uzamasıyla repopülasyon daha da hızlanır. Bu süre her tümör bölgesinde farklı olmakla birlikte ortalama tedavinin 5-7.haftasında repopülasyon en aktif hale gelir. Bu da konvansiyonel radyoterapide tedavi süresinin uzamasının lokal kontrol üzerindeki negatif etkisinin sebebidir. SBRT uygulamaları genellikle 1 hafta içerisinde tamamlandığından dolayı tümör hücrelerinin repopülasyona başlayacağı bir süre yoktur[12].

2.2.3. Yeniden Dağılım (Redistribüsyon)

Konvansiyonel RT sonrasında hücre döngüsünün G0 aşamasında olan tümör hücreleri bölünmeyi hızlandırmak amacıyla hızlıca G2/M aşamasına geçer. G2/M aşaması hücrelerin radyoterapiye en duyarlı olduğu aşamadır. Böylece G2/M aşamasındaki hücreler arttıkça RT'nin etkisi de artar. SBRT'de yüksek dozlarda hücre siklusu her aşamada tamamen durur. Bu nedenle redistribüsyonun bir önemi yoktur [13, 14]

2.2.4. Reoksijenizasyon

İyi oksijenlenmiş hücreler radyasyona daha duyarlıdır. Tümör hücrelerinin hızlıca büyümesi, damarlaşmanın daha yavaş ve fragil olması sebebiyle tümörlerin orta kısımları hipoksiktir. Konvansiyonel radyoterapi ile tümörün iyi oksijenlenen hücreleri öldükten sonra hipoksik hücreler de oksijenlenerek radyasyona duyarlı hale gelir ve radyoterapinin etkinliği artar. SBRT aynı zamanda vasküler hasar yaptığından hücrelerde reoksijenizasyon azalır, hipoksi artar [8, 15].

2.2.5. Vasküler Etkiler

Tümör çevresindeki damarlarda perisitler ve kas dokusu daha az olduğundan daha fragildir. SBRT ile endotel hücrelerindeki asit sfingomyelinaz aktive olur ve sfingomiyelin, seramide dönüşerek endotel apoptozunu başlatır [16]. Çalışmalarda bu etki sadece 8-10 Gy üzerindeki dozlarda izlenmiştir [17].

Endotelyal hasar ile trombosit agregasyonu başlar, vasküler tıkanıklık gelişir. Böylece tümör mikroçevresinde hipoksi sonucunda nekroz meydana gelir [18].

2.3. Stereotaktik Beden Radyoterapisi ile İmmün Sistem İlişkisi

Stereotaktik radyoterapinin konvansiyonel fraksiyonasyonda sıklıkla kullanılan lineer kuadratik (LQ) modele uyup uymadığı tartışma konusudur. Bazı radyasyon onkologları bu modelin yüksek doz radyoterapi için de uygun olduğunu savunurken, bazıları ise stereotaktik radyoterapinin etkilerinin LQ modelden çok daha fazla olduğunu savunmaktadır [19, 20]. Leith ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada beyin lezyonlarının kontrolü için LQ modele göre 25-35 Gy gerekirken klinik efektif SRS dozu 15-20 Gy olarak bulunmuştur [21]. Bu da stereotaktik radyoterapide, konvansiyonel fraksiyonasyondan çok daha farklı mekanizmaların olduğunu düşündürmektedir.

İyonize radyasyonun esas olarak letal DNA hasarı yaparak etki ettiği bilinmektedir. Özellikle 10 Gy ve üzeri fraksiyon dozunda DNA hasarına ek olarak 2. haftada artan vasküler endotelyal hücre hasarı gösterilmiştir [18]. Aynı zamanda konvansiyonel radyoterapinin genellikle immünsupresif olduğu kabul edilirken, stereotaktik radyoterapinin immün sistemi aktiflediğine dair kanıtlar artmaktadır.

Genel immüniteye bakıldığında vücutta oluşan herhangi bir strese (patojen, inflamasyon, tümör hc gibi) tehlike sinyalleri salınır. Sitokinler, kemokinler, inflamatuvar medyatörler ve ısı-şok proteinleri gibi bu tehlike sinyalleri antijen sunan hücrelerin matürasyonunu ve aktivasyonunu indükler. İmmün sistemin en

önemli antijen sunan hücresi dendritik hücrelerdir. Matür hale gelmiş olan dendritik hücreler rejyonel lenf nodlarına giderek T hücrelere antijen sunar. T hücreler yüzeylerindeki MHC proteinleri ile antijenleri tanıyarak aktiflenir. Böylece immün yanıt başlatılır [22].

İmmün sistem hücreleri çok düşük dozlara (<1 Gy) bile sensitiftir ve lenfopeni oluşması için kemik iliğinin ışınlanması şart değildir. Akciğer, santral sinir sistemi gibi lokalize RT uygulanan hastalarda da özellikle dolaşan kandaki lenfositlerin etkilenmesiyle lenfopeni izlenebilmektedir [23]. Uzun yıllar boyunca radyoterapi bu sebeple immünsüpresif kabul edilmiştir. Ancak ilerleyen zamanlarda radyoterapinin aynı zamanda immün sistemi aktive edici mekanizması da aydınlatılmıştır. Radyoterapi sonrası nekrotik ve apoptotik tümör hücrelerinden büyük miktarda antijenler ve bu tümör ilişkili antijenlerin dendritik hücreler tarafından alınarak sunumunu destekleyen ısı-şok proteinleri, S100 ve adenoazin gibi DAMPs (hasar ilişkili moleküller) salınır. Tümör antijenleri dendritik hücreler tarafından T hücrelere sunularak sitotoksik T hücre aktivasyonu artırılır, immün yanıt başlatılır. Bu yol konvansiyonel radyoterapide de izlenebilen radyasyonun immün modölatör etkisidir.

RT sonrası immün modülasyonda sitokin salınımının önemli rolü vardır. En sık salınan sitokinler TNF-alfa, IL 1, IL 6, IL 10, İnterferon 1, TGF beta'dır. Bu sitokinlerden IL 1 ve IL 6 gibi bazıları pro inflamatuvar iken, IL 10 ve TGF beta gibi bazıları da inflamasyonu azaltan immün düzenleyicidir. Radyasyonun immün yanıt üzerine olan etkisinde bu iki grup arasındaki denge önemlidir. [24]

1953 yılında Mole tarafından radyoterapi ile alan dışı lezyonların da regrese olması abiskopal etki olarak tanımlanmıştır. Radyoterapinin lokal bir tedavi olmasına rağmen bu şekilde biyolojik etkilerini tedavi alanı dışında da gösterebilmesinin sebebinin sistemik immün yanıt olduğuna dair kanıtlar artmaktadır [1].

2.4. Stereotaktik Beden Radyoterapisi ile İmmünoterapi İlişkisi

İmmünoterapide en sık kullanılan iki inhibitör protein: PD-1/PD-L1 ve CTLA-4'tür. Bu iki protein sitotoksik T hücre inhibisyonu ile immün sistemi baskılayan proteinlerdir. İmmünoterapide PD-1 inhibitörü (Nivolumab, Pembrolizumab), PD-L1 inhibitörü (Atezolizumab, Durvalumab) ve CTLA-4 inhibitörü (Ipilimumab) sıklıkla kullanılmaktadır.

PD-1, T hücrelerin yüzeyinde bulunan ve immün sistemi baskılayan bir proteindir. Ligandı olan PD-L1 malign tümör hücrelerinde bulunur ve PD-1/PD-L1 bağlanmasıyla PD-1 eksprese eden T hücrelerin proliferasyonu inhibe edilir. Bu da tümör hücrelerinin immün sistemden kaçarak çoğalmasına olanak sağlar [25]. Anti PD-1 veya anti PD-L1 tedavisiyle bu bağlanma önlenir ve T hücrelerin proliferasyonu artar, immün yanıtın baskılanması önlenir.

CTLA-4 genellikle Treg hücreler tarafından eksprese edilir ve CD28 reseptör aracılığıyla T hücrelerin aktivasyon eşiğini artırarak tümör antijenlerine karşı immün yanıtın zayıf olmasına sebep olur. CTLA 4 inhibitörleri ile bu etki önlenerek immün yanıt artırılır [26].

Stereotaktik radyoterapi ile daha önce de bahsedildiği üzere T hücre aktivasyonu görülür. Beraberinde immünoterapi kullanılması ile T hücreler üzerindeki engel kalkar, sitotoksik T hücreleri daha fazla proliferer olur. Böylece immün sistem üzerinde SBRT ile immünoterapinin sinerjistik etkisi görülür. [27]

İmmünoterapi ile beraber uygulanan SBRT'nin immün yanıtı artırarak abiskopal etki gösterdiğine dair birçok yayın vardır. Ancak eş zamanlı uygulanan kombine tedavide radyoterapi alanı dışındaki tümör yanıtının abiskopal etkiye mi yoksa doğrudan immünoterapiye mi bağlı olduğu net olarak anlaşılamamaktadır. Bu yüzden de gerçek abiskopal etki; öncesinde uygulanan immünoterapiye stabil/progresif yanıt verdikten sonra uygulanan SBRT ile radyoterapi alanı dışında parsiyel/tam yanıt olması durumu olarak kabul edilmektedir [28].

2.5. Sistemik İmmün Yanıt Belirteçleri

CD4+ T hücreleri, antijen sunan bir hücre aracılığıyla aktive edildiğinde Th hücre tiplerinden birine dönüşür. Bu hücre tipleri Th1, Th2, Th17, foliküler Th veya regülatuar Th'dır. Bu dönüşüm ortamda bulunan sitokinler ve çeşitli transkripsiyon faktörleri ile düzenlenir. Th1 için T-bet, Th2 için GATA3, Th17 için ROR γ , foliküler Th için BCL-6 ve Treg hücreler için FOXP3 transkripsiyon faktörü kullanılır. CD 4+ T hücre dönüşümünde ortamda sadece tek bir transkripsiyon faktörü eksprese edilmez. Birden fazla transkripsiyon faktörü eksprese edilirken ortamdaki sinyaller ile bir tanesi daha fazla aktive olarak dönüşümün hangi yönde ilerleyeceğine karar verilir. Örneğin T-bet ve GATA 3 genellikle birlikte eksprese

edilerek Th1/Th2 hücreler arasında, FOXP3 ve ROR γ da birlikte eksprese edilerek Treg/Th17 hücreler arasında ortam sinyallerine göre seçim yapılır [29, 30]. Th1, Th2 ve Th17 genel olarak enfeksiyonlara ve tümöre karşı immün sistemi aktif hale getirir. Foliküler Th hücreleri ise humoral immüniteyi başlatır. Treg hücreleri ise supresif sitokinler salgılayarak fazla inflamasyon kaynaklı doku hasarını önler [31].

2.5.1. T-Bet (TBX 21)

T-bet, T-box transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir. İlk olarak 2000 yılında T helper 1 diferansiyasyonunda görevli bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır [32]. Günümüze kadar T-bet'in doğal immünite ile kazanılmış immünite arasında bağlantı sağladığı, birçok inflamatuvar ve otoimmün hastalığın ortaya çıkışında rolü olduğu gösterilmiştir.

T-bet başta CD4⁺ T hücreler olmak üzere, CD8⁺ T hücreler, NK hücreler gibi doğal ve kazanılmış bağışıklıkta görev alan birçok hücrede eksprese edilir.

T-bet transkripsiyon faktörünün birçok görevi vardır:

- İnterferon gamma (IFN γ) ve IL 12 ekspresyonunu indükleyerek Th prekürsör hücrelerin Th1 efektör hücrelere dönüşümünü sağlar. Bu dönüşüm için dendritik hücrelerde de T-bet ekspresyonu gereklidir.

- GATA 3 transkripsiyon faktörünü baskılanması aracılığıyla IL 4, IL 5 ve IL 13 gibi Th2 sitokinlerinin üretimini azaltır. Hatta matür haldeki Th2 hücrelerini de Th1 hücrelere dönüştürebilir [33].

-Sadece Th1 hücre düzenlenmesinde değil, aynı zamanda Th17, Treg, foliküler Th hücreleri gibi immün sistemde rol alan birçok hücrenin düzenlenmesinde görev aldığı da gösterilmiştir [34].

-Doğal öldürücü hücrelerin maturasyonunda görevlidir.

T-bet'in tüm bu etkilerle inflamasyonu artırarak anti-tümör immün yanıtta önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Nitekim T-bet eksikliği olan farelerde NK ve sitotoksik T lenfosit fonksiyonlarında kayıp olduğu; bu sayede tümör büyümesi ve metastazının arttığı gösterilmiştir [35, 36]

2.5.2. ROR γ

Retinoik Asit Reseptör İlişkili Orphan Reseptör Gamma (ROR γ) nükleer transkripsiyon reseptör ailesindendir. Th17 diferansiyasyonu ile immün yanıtta görev alır.

Th17 hücreleri IL17 ve IL 22 gibi sitokinleri üreten ve özellikle ekstrasellüler patojen ve otoimmün hastalıkları karşı immün yanıt gösteren hücrelerdir. ROR γ hem Th17 dönüşümünde hem de Th17'den IL17 sitokin üretiminde etkili bulunmuştur [37]. Özellikle immünsupresif kabul edilen Foxp3+Treg hücrelerden salınan IL6 ve TFG beta, Th17 üzerinden ROR γ aracılığıyla IL-17 sentezini artırır. Bu yönüyle ROR γ fazla immünsupresyonu önleyerek pro-inflamatuar özellik gösterir [38, 39].

2.5.3. GATA 3

Hematopoezde görev alan bir diğer transkripsiyon faktör ailesi GATA ailesidir. GATA ailesi 6 üyeden oluşur. GATA 1 eritrosit, megakaryosit, eozinofil ve mast hücrelerinin gelişiminden sorumludur. GATA 2 hematopoetik kök hücrelerin fonksiyonunu düzenler. GATA 3 ise radyoterapi yanıtında esas rol oynayan T hücrelerin gelişiminde görevlidir [40]. GATA 4, GATA 5 ve GATA 6 daha çok kardiyak, pulmoner ve sindirim sistemi ile ilişkilidir [41]

GATA 3 hem timusta erken T hücre gelişimini hem de IL 4, IL 5 ve IL 13 ekspresyonu ile Th 2 hücre farklılaşmasını düzenler. IL 4, STAT 6 fosforilasyonu ve aktivasyonu ile GATA 3 ekspresyonunu artırır. GATA 3 Th 2 dönüşümünü aktifler. Th 2 hücreleri gelişimi sırasında GATA 3'ü aktiflemeye devam eder. Bu esnada GATA 3 inhibisyonunu sağlayan ise T-bet ve IFN gamma ekspresyonudur. [42]

GATA 3, Th 2 farklılaşmasını düzenlemenin yanısıra B hücreleri de baskılayarak immünitinin tamamen T hücreler üzerinden sağlanmasına yol açar. CD 8 sitotoksik T hücrelerin proliferasyonu ve Treg hücrelerin fonksiyonunu düzenler. Aynı zamanda NK hücrelerden IFN gamma, Th2 hücrelerden IL 4, IL 5 ve IL 13, Treg hücrelerden IL 10 ve TGF beta gibi sitokinler sentezleterek immün yanıtı düzenler. [43]

2.5.4. FoxP3

Foxp3, forkhead transkripsiyon faktör ailesinin üyelerindendir. Bu ailenin diğer üyelerinin aksine esas olarak CD4+ T hücrelerde eksprese edilerek immün sistem üzerine supresif etki gösterir.

Foxp3, TGF beta aracılığıyla reglutar T hücrelerin diferansiyasyon ve fonksiyonunu artırır. Foxp3+ Treg hücrelerden, IL-10 ve TGF beta salgılatarak anti-tümör immün yanıtı baskılar [44]. Birçok kanser tipinde bu immüsupresör etkilerinden dolayı Foxp3 yüksek ekspresyonu kötü prognostik faktör olarak değerlendirilmiştir [45].

2.6. Stereotaktik Beden Radyoterapisi ile Sistemik İmmün Yanıt

Belirteçleri Arasındaki İlişki

SBRT'nin immün sistem üzerine olan etkisi başta akciğer kanseri olmak üzere birçok kanser tipinde araştırılmıştır. Hipofraksiyone radyoterapi veya SBRT'nin tümör antijen salınımı ile antijenlerin dendritik hücreler ve T lenfositler tarafından tanınması ile immün sistemi aktive ederek abiskopal etki gösterdiğine dair birçok çalışma mevcuttur. Buradaki abiskopal terimi sadece radyoterapi alanı dışında tümör küçülmesi olarak değil, immün yanıtı artırmak olarak da kullanılmıştır. Bu etkinin özellikle SBRT'nin immünoterapi ile birlikte kullanıldığı durumlarda daha fazla izlendiği görülmüştür [46, 47]. Bu çalışmaların çoğunda T lenfosit subtiplerindeki (CD4+/CD8+) değişiklikler incelenmiş ve SBRT'nin CD4+ ve CD8+ T lenfositleri artırdığı izlenmiştir [4].

Yukarıda bahsi geçen sistemik immün yanıt belirteçleri doğrudan eksprese edildikleri immün sistem hücrelerinin düzeylerini ve dolayısıyla immün yanıtı tahmin etmede kullanılabilir. Th1 için T-bet, Th 2 için GATA 3, Th 17 için ROR γ ve Treg hücreler için FoxP3 düzeylerine bakılabilir.

Medikal inoperabl küçük hücreli dışı akciğer kanseri olan 7 hastada yapılan bir çalışmada 4 veya 8 fraksiyonda SBRT uygulanmış ve tedavi öncesi ile tedaviden 3 gün, 1 ay, 3 ay ve 6 ay sonrasında alınan periferik kan örneklerinde T lenfosit subtipleri ve FoxP3 seviyelerine bakılmıştır. 3.günden itibaren CD4+ ve CD8+ T lenfositlerde artış izlenirken immünsupresif olan Treg hücrelerin belirteci FoxP3 seviyesinde azalma görülmüştür [48].

Erken evre küçük hücreli dışı akciğer kanseri olan 89 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada hastalara 54-60 Gy/3-8 fx SBRT uygulanmış ve tedavi öncesi ile tedaviden 2 hafta ve 12 hafta sonrasında periferik kan örnekleri toplanmıştır. CD4+ T lenfosit, CD8+ T lenfosit, ROR γ , T-bet ve GATA 3 seviyelerinde 2.haftadan itibaren artış izlenirken, FoxP3 seviyelerinde düşüş görülmüştür. CD4+/CD8+ T lenfosit oranında da artış izlenmiştir. [49]

SBRT ile immün yanıt ilişkisini araştıran çalışmaların çoğu küçük hücreli akciğer kanseri başta olmak üzere tek bir kanser tipini ele almıştır. McGee ve arkadaşlarının çeşitli kanser tiplerini dahil ettiği çalışmasında ışınlanan dokuya göre 20-54 Gy/1-5 fx olacak şekilde SBRT uygulanmıştır. Parankimal dokularda (akciğer, karaciğer) tedavi sonrası 1 veya 2 haftada alınan periferik kan örneğinde

CD4 ve CD8+ T lenfositlerin arttığı görülmüştür. Ancak bu etki beyin tedavisinde izlenmemiştir. [50]

SBRT ile immün sistem ilişkisini inceleyen çalışmalardan bazıları Tablo 1’de özetlenmiştir.

2.7. Çalışmanın Amacı

Stereotaktik radyoterapinin, konformal radyoterapiden farklı olarak immün etkilerinin de olduğu yıllardır bilinmektedir. Fakat bu immün yanıtın mekanizmaları halen daha aydınlatılamamıştır. Aynı zamanda bu konuda yapılan çalışmaların çoğunluğu sadece tek bir bölge ve tek bir patolojiye uygulanan SBRT’yi konu almış, beyin gibi farklı dokularda da bu immün etkinin oluşup oluşmayacağı bilinmemektedir. Yine çalışmalarda genellikle sistemik tedavi hiç kullanılmamış olup özellikle günümüzde sıklıkla kullanılan immunoterapilerin SBRT ile kombinasyonunun immün sistemi nasıl etkileyeceği de henüz bilinmemektedir. Bu çalışmada sadece akciğer bölgesine değil başta kemik, beyin, karaciğer olmak üzere birçok farklı bölgeye ve patolojiye karşı uygulanan stereotaktik radyoterapinin immün yanıt üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Aynı zamanda çalışmaya sistemik tedavi veya immunoterapi alan hastalar da dahil edildiğinden SBRT ile bu tedavilerin kombinasyonunun etkisinin de görülmesi planlanmaktadır.

YAZAR	PATOLOJİ	HASTA SAYISI	RT ŞEMASI	PARAMETRELER	SONUÇLAR
Maehata [51], 2013	KHDAK	62	40-70 Gy/4-10 fx	CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD56+ NK hc	SBRT sonrası lenfosit subtipleri ve NK hücrelerde düşüş
Gustafson [52], 2017	Karaciğer (HCC/Metastaz)	10	50-60 Gy/3-5 fx	CD8+, Treg hc., CD56+CD16+ NK hc	Fark yok
Rutkowski [49], 2017	KHDAK	89	54-60 Gy/3-8 fx	CD4+, CD8+ T hc, T-bet, GATA 3, RORγ, FoxP3	CD4+, CD8+ T lenfositlerde artış, T-bet, GATA 3, RORγda artış, FoxP3 düzeylerinde düşüş
Navarro [48], 2018	KHDAK	7	50-60 Gy/4-8 fx	CD56+CD16+ NK hc, FoxP3, CD4+, CD8+ T hc	CD4+/CD8+ oranında artış, NK hücrelerde artış, FoxP3+ Treg hücrelerde düşüş
Formenti [53], 2019	KHDAK	39	28.5-30 Gy/3-5 fx	CD3+, CD4+, CD8+, Treg hc	CD4+ ve CD8+ T hücrelerde artış
McGee [50], 2019	Çeşitli (AC, KC, Kemik, Beyin)	68	20-54 Gy/1-5 fx	CD4+, CD8+ T hc, NK hc	Parankimal bölgelerde CD4+ ve CD8+ T hc sayısında artış

Tablo 1. SBRT ile immün sistem ilişkisini inceleyen çalışmalar

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Çalışmamız için Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 25.07.2022 tarihli toplantıda 613 karar numarası ile etik kurul onayı alınmıştır (EK-1).

3.2. Hasta Seçimi

Eylül 2022-Aralık 2023 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda stereotaktik radyoterapi yöntemi kullanılarak tedavi edilmiş 18 yaş üstü toplam 103 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Otoimmün hastalık, ikincil kanser varlığı, kemik iliği veya organ transplantasyonu öyküsü olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Hastalara ait demografik veriler, performans durumları, primer hastalık histolojileri, daha önce uygulanan sistemik tedavi veya radyoterapi öyküleri, stereotaktik radyoterapi tedavi bölgesi ve doz-fraksiyonasyonları, radyoterapiye cevapları, nüks tarihleri, nüks paternleri, tedavi öncesi ve bitiminden 2 ay sonra bakılan parametrelerin sonuçları toplanmıştır.

3.3. Tedavi Protokolleri

Çalışmamızdaki hastaların çoğunluğunu beyin metastazları, akciğer primer tümör ve metastazları, vertebra metastazları oluşturmaktadır. Az sayıda ise karaciğer metastazları, sürrenal metastazlar ve glomus tümörleri bulunmaktadır.

Çalışmamızda hastaların çoğunluğunu erken evre inoperabl küçük hücreli dışı akciğer kanseri veya oligometastatik/ oligorekürren akciğer metastazı sebebiyle akciğer SBRT uygulanan hastalar oluşturmaktadır. Akciğer SBRT uygulanacak olan tüm hastalara 4 boyutlu bilgisayarlı tomografi (4D-CT) çekilmiştir. Primer kitleye 5 mm marj verilerek PTV oluşturulmuştur. Akciğerde kılavuzların önerdiği gibi periferik lezyonlar için genellikle 18-20 Gy x 3 fx veya 10 Gy x 5 fx kullanılırken, santral lezyonlarda 10 Gy x 5 fx kullanılmıştır.

Beyin SRS opere edilemeyen, semptomatik veya asemptomatik, bir veya birden daha fazla metastazı olan hastalarda doğrudan veya postoperatif kavite bölgesine yönelik uygulanmıştır. Hastalara termoplastik fiksasyon maskesi kullanılarak 1 mm kesit aralıklı simülasyon BT'si çekilmiş ve yine 1 mm kesit aralığı ile çekilen kontrastlı MR ile füzyonu yapılmıştır. T1 kontrastlı MR kesitleri üzerinden konturlanan kitleye veya postoperatif kaviteye 1-3 mm marj verilerek PTV oluşturulmuştur. RTOG 90-05 ve NCCTG N107C çalışmaları baz alınarak PTV boyut ve hacimlerine göre 20 Gy x 1 fx/ 9 Gy x 3 fx veya 6 Gy x 5 fx doz tanımlanmıştır [54, 55].

Vertebra metastazlarında ise oligometastatik hastalar, primeri radyorezistan histolojiye (RCC, melanom, sarkom gibi) sahip olan hastalara SBRT uygulanmıştır. SBRT öncesinde mutlaka SINS skorlaması yapılmış, SINS skoru ≥ 7 olan hastalara SBRT yapılmamış, konvansiyonel RT uygulanmıştır. Simülasyon tomografisinde ince kesit olarak alt-üst en az 1 vertebra kesitlere dahil edilmiştir. Uluslararası Omurga Radyocerrahisi Konsorsiyumu'nun yayınlamış olduğu konturlama kılavuzuna göre GTV ve CTV tanımlanmıştır. CTV'ye çoğunlukla 3 mm marj

verilerek PTV oluşturulmuştur [56]. Sıklıkla 8 Gy x 3 fx veya 6-7 Gy x 5 fx şemaları kullanılmıştır.

Glomus jugulare/karotikum hastalarında tedavi öncesi çekilen kontrastlı ince kesit MR ile simülasyon tomografisi füzyon edilerek GTV çizilmiştir. GTV'ye 1-3 mm marj verilerek PTV oluşturulmuştur. 6-7 Gy x 5 fx şemaları uygulanmıştır.

Sürrenal metastazlar için 38-45 Gy/5 fx, karaciğer metastazlı bir hastada 40 Gy/5fx ve pankreas nüksü olan bir hastada 30 Gy/5 fx uygulanmıştır.

Stereotaktik radyoterapi uygulanan tüm hastalarda her fraksiyon öncesinde mutlaka CBCT çekilerek tedavi alan doğruluğu yapılmıştır.

3.4. Örnek Toplama ve Saklama İşlemleri

Çalışmada immün yanıtı değerlendirmek amacıyla tedavi öncesi ve sonrası immün değerlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya dahil edilen 103 hastanın her birinden tedavi öncesinde 2şer adet sarı tüp ile periferik kan örneği toplanmıştır. Hastaların 37 tanesi sosyal sebepler, ulaşım problemleri veya eksitus olmaları sebebiyle tedavi sonrası gelememiştir. 66 hastadan, tedaviden ortalama 2 ay sonra yeniden 2şer adet sarı tüp ile kan örneği alınmıştır. Kanlar oda sıcaklığında yaklaşık 1 saat bekletildikten sonra 20 dakika santrifüjlenerek serumlar elde edilmiştir. Aralık 2022'de ilk hastanın kanı alınmış ve Ocak 2024'de kitler çalışılmıştır. Bu süre içerisinde tüm serumlar -80 °C'de saklanmıştır.

3.5. Kullanılan Biyokimyasal Yöntemler

Hastalardan tedavi öncesinde ve tedavi bitiminden 2 ay sonra periferik kan örneği alınarak T-bet, ROR γ , GATA 3, FoxP3 belirteçleri ve olası bir enfeksiyon durumunu dışlamak amacıyla tam kan sayımı ve CRP değerleri çalışılmıştır.

Çalışmamız Bilimsel Araştırmalar Projeleri tarafından TTU-2023-8405 kodu ile 13.02.2023 tarihli karar ile desteklenmiştir. Her birinde 88 örneğin çalışabildiği 2'şer adet ELABSCIENCE marka FoxP3 ve GATA 3 elisa kiti, BT LAB marka ROR γ ve TBX21 elisa kiti satın alınmıştır. Kitler periferik kan örnekleri toplanma işlemi bitene kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.5.1. Serum FoxP3 ve GATA3 Düzeylerinin Ölçümü

Serum FoxP3 düzeylerinin ölçümü Elabscience marka insan FoxP3 (Forkhead Box Protein P3) ELISA kiti (Cat. No: E-EL-H1104) ; serum GATA-3 düzeylerinin ölçümü Elabscience marka insan GATA3 (GATA Binding Protein 3) ELISA kiti (Cat. No: E-EL-H0881) kullanılarak sandviç ELISA yöntemiyle yapılmıştır. Kitlerin alt ölçüm limiti 0,19 ng/mL; ölçüm aralığı 0,31-20 ng/mL; kite ait çalışma içi ve çalışmalar arası CV değerleri ise <%10 olarak verilmiştir. İki kitin de çalışma prosedürü benzerdir. ELISA plate kuyucukları insan FoxP3 ve insan GATA3'e spesifik bir antikor ile kaplı olup, numuneler ve standartlar kuyucuklara 100 μ L kadar eklenerek 37°C'de 90 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki sıvı dökülerek kuyucuklara 100 μ L biyotin ile işaretli antikor solüsyonu eklenmiştir. 37°C'de 1 saat inkübasyondan sonra yıkama solüsyonu ile

plate 3 kere yıkanmıştır. Her bir kuyucuğa 100 µL HRP (Horseradish Peroxidase) konjugat solüsyonu eklendikten sonra 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Ardından 5 kere yıkama yapılmış ve bütün kuyucuklara 90 µL substrat solüsyonu eklenerek 37°C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edilerek mavi renk reaksiyonu oluşturulması sağlanmıştır. Bütün kuyucuklarda renk reaksiyonu için aynı sürenin geçmesi sağlanarak reaksiyon durdurma çözeltisi eklenerek sonlandırılmış ve sarı renk oluşumu sağlanmıştır. Oluşan bu sarı rengin absorbansı insan FoxP3 konsantrasyonu ile orantılıdır. Absorbanslar mikropate okuyucuda 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Standart eğriler ile karşılaştırılarak numunelerdeki FoxP3 ve GATA3 düzeyleri ng/mL olarak hesaplanmıştır.

3.5.2. Serum RORγ ve T-bet Düzeylerinin Ölçümü

Serum RORγ düzeylerinin ölçümü BT LAB marka insan nükleer reseptör RORγ (RORC) ELISA kiti (Cat. No: E3252Hu); serum T-bet düzeylerinin ölçümü BT LAB marka insan T-box transkripsiyon faktörü (TBX21) ELISA kiti (Cat. No: E7521Hu) kullanılarak yapılmıştır. RORγ kiti için alt ölçüm limiti 3,12 ng/L; ölçüm aralığı 7-1500 ng/L; kite ait çalışma içi ve çalışmalar arası CV değerleri ise <%10 olarak verilmiştir. TBX21 kiti için alt ölçüm limiti 0,12 ng/mL; ölçüm aralığı 0,25-16 ng/mL; kite ait çalışma içi CV değeri <%8; çalışmalar arası CV değeri <%10 olarak verilmiştir. İki kitin çalışma prosedürü benzerdir. ELISA plate kuyucukları insan RORγ ve insan TBX21'e spesifik bir antikor ile kaplıdır. Standartlar kuyucuğa 50 µL standart; örnek kuyucuklara 40 µL örnek ve ardından 10 µL

antikor eklenmiştir. Ardından örnek ve standart kuyucuklara 50 µL HRP eklenerek 37°C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası plaka 5 kez yıkanmıştır. Her bir kuyucuğa 50 µL substrat A ve 50 µL substrat B eklenerek 37°C'de 10 dakika inbübe edilmiştir. Ardından her bir kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu eklenerek sarı renk oluşumu sağlanmıştır. Oluşan bu sarı rengin absorbansı insan RORγ konsantrasyonu ile orantılıdır. Absorbanslar mikropate okuyucuda 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Standart eğriler ile karşılaştırılarak numunelerdeki RORγ düzeyleri ng/L olarak hesaplanmıştır.

3.6. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 25 kullanılarak yapılmıştır. Sürekli değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığı; büyük örneklem (>50) için Kolmogorov-Smirnov ve küçük örneklem (<50) için Shapiro-Wilk testi ile belirlenmiştir. Ayrıca bu testleri desteklemek için varyasyon katsayısı hesaplanmış; histogram, normal Q-Q plot ve detrended normal Q-Q plot grafikleri çizdirilmiştir. Analizler önce ikinci kan değerleri olan 66 hastaya yapılmış, ardından SBRT uygulanan bölgeler ayrılarak analizler tekrarlanmıştır.

Tedavi öncesi ve sonrası kan değerleri analiz edilirken normal dağılım gösteren parametreler için eşleştirilmiş örneklem T testi; normal dağılım göstermeyen parametreler için ise Wilcoxon testi kullanılmıştır.

Demografik veriler ve klinik özellikler ile immün yanıt belirteçleri arasındaki ilişkiler normal dağılım gösteren değişkenler için Pearson ve normal

dağılım göstermeyen değişkenler için Spearman korelasyon testi ile belirlenmiştir. Pearson korelasyon testinde anlamlı ilişki saptanan değişkenler ANOVA testi ile, Spearman korelasyon testinde anlamlı ilişki saptanan değişkenler ise Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis testi ile detaylandırılmıştır.

Testler %95 güven aralığında uygulanmıştır ve $p < 0,05$ istatistiksel anlamlılık değeri olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hasta Özellikleri

Tedavi öncesi ve sonrası kan alınan 66 hastanın demografik ve klinik özellikleri analiz edilmiştir (Tablo 2). Bu hastalar arasında ortalama yaş 62 (31-85 arasında) idi. Hastaların %57,6'sı erkek, %87,9'unun ECOG performans skoru 0-1 idi. Hastaların %47'sinde daha önce sigara içme öyküsü mevcuttu. Hastaların 22'si (%33,3) akciğer bölgesine, 20'si (%30,3) beyin bölgesine, 13'ü (%19,7) kemik bölgesine SBRT almıştır. 51 hastaya (%77,3) daha önce kemoterapi uygulanmışken, 5 hastanın ise (%7,6) tedavi öncesi immünoterapi öyküsü mevcuttur. Tedavi öncesi 3 hafta ile ikinci kan alınma tarihine kadar olan süre içerisinde herhangi bir tedavi alınması SBRT ile eş zamanlı tedavi olarak değerlendirilmiş ve hastaların %65'inde eş zamanlı herhangi bir tedavi uygulanmamıştır.

Parametre		Değer
Yaş	Ortalama	62 (31-85 yaş)
Cinsiyet	Kadın	28 (%42,4)
	Erkek	38 (%57,6)
ECOG	0	18 (%27,3)
	1	40 (%60,6)
	2	8 (%12,1)
Sigara Öyküsü	Yok	35 (%53)
	Var	31 (%47)
Primer Hastalık Bölgesi	Akciğer	29 (%43,9)
	Adenokanser	20 (%30,2)
	Skvamöz Hücreli Kanser	5 (%7,6)
	Küçük Hücreli Kanser	4 (%6,1)
	Beyin (GBM)	2 (%3)
	Meme (İnvaziv Duktal Karsinom)	9 (%13,6)
	Baş-Boyun	7 (%10,6)
	Skvamöz Hücreli Kanser	1 (%1,5)
	Glomus	5 (%7,6)
	Schwannom	1 (%1,5)
	Genitoüriner Sistem	8 (%12,1)
	Böbrek Renal Hücreli Kanser	5 (%7,6)
	Prostat Adenokarsinom	2 (%3)
	Mesane Ürotelyal Karsinom	1 (%1,5)
	Gastrointestinal Sistem	5 (%7,6)
	Kolorektal Adenokarsinom	4 (%6,1)
	Pankreas Adenokarsinom	1 (%1,5)
	Endometrium Adenokarsinom	1 (%1,5)
	Yumuşak Doku Sarkomu	2 (%3)
	Kordoma	2 (%3)
	Peritoneal Mezotelyoma	1 (%1,5)
SBRT Bölgesi	Akciğer	22 (%33,3)
	Beyin	20 (%30,3)
	Kemik	13 (%19,7)
	Boyun	6 (%9,1)
	Sürrenal	2 (%3)
	Karaciğer	1 (%1,5)
	Pankreas	1 (%1,5)
	Prostat	1 (%1,5)
Önceki Kemoterapi Öyküsü	Yok	15 (%22,7)
	Var	51 (%77,3)
Önceki Radyoterapi Öyküsü	Yok	34 (%51,5)
	Var	32 (%48,5)
Önceki İmmünoterapi Öyküsü	Yok	61 (%92,4)
	Var	5 (%7,6)
SBRT Sonrası Kemoterapi Öyküsü	Yok	39 (%59,1)
	Var	27 (%40,9)
SBRT Sonrası Radyoterapi Öyküsü	Yok	48 (%72,7)
	Var	18 (%27,3)
SBRT Sonrası İmmünoterapi Öyküsü	Yok	59 (%89,4)
	Var	7 (%10,6)
SBRT ile Eşzamanlı Tedavi	Yok	43 (%65,2)
	Var	23 (%34,8)
	Kemoterapi	18 (%27,3)
	İmmünoterapi	5 (%7,5)

Tablo 2: Hasta Özellikleri

Hastaların %27'sinde eş zamanlı kemoterapi, %7,5'inde eş zamanlı immünoterapi kullanılmıştır.

Akciğer bölgesine SBRT uygulanan hastaların %63'ü primer hastalık sebebiyle, geri kalanı metastaz sebebiyle tedavi almıştır. Akciğer SBRT'de en sık 50 Gy/5 fx şeması kullanılmıştır, bu şema hastaların %77,4'ünde uygulanmıştır. Akciğer tedavisi için ortalama PTV hacmi 19 cc'dir.

Beyin bölgesine stereotaktik radyoterapi uygulanan hastaların %90'ı metastaz sebebiyle uygulanmıştır. Hastaların %55'inde 5 fraksiyon, %25'inde 3 fraksiyon tedavi kullanılmıştır. Beyin tedavisi için ortalama PTV hacmi 10,2 cc'dir.

Stereotaktik radyoterapi uygulanan 3.en sık bölge olan kemik tedavisinde çoğunlukla 35 Gy/5 fx veya 24 Gy/3 fx doz şemaları kullanılmıştır. Kemik tedavisinde kılavuzların önerdiği gibi kemiğin bir kısmının alana dahil edilmesi sebebiyle PTV hacmi 49,9 cc olarak diğer bölgelere göre daha fazladır.

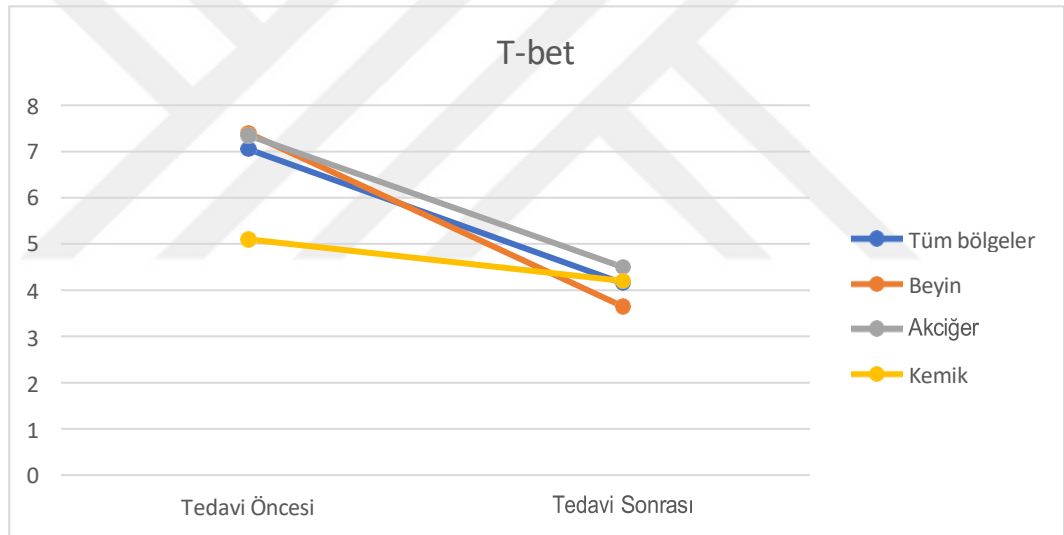
Azalan sıklıklarla boyun, sürrenal, karaciğer, pankreas ve prostat bölgesine de SBRT uygulanan hastalarımız mevcuttu. Boyun bölgesinde çoğunluğu glomus tümörü olmak üzere toplam 6 hastaya 32,5 Gy/5 fx doz şeması ile SBRT uygulanmıştır. Sürrenal metastaz sebebiyle 2 hastaya 38-45 Gy/5 fx doz şeması kullanılmıştır. 1 hastanın karaciğer metastazına 40 Gy/5 fx, 1 hastanın primer pankreas nüksüne 30 Gy/5 fx ve 1 hastanın da prostat bölgesi nüksüne 18 Gy/3 fx SBRT uygulanmıştır.

Hastaların ortalama takip süresi 6 ay, tedavi sonrası ortalama kan alma süresi 2,27 aydır.

4.2. İmmünolojik Belirteçlerdeki Değişiklikler

4.2.1. T-Bet (TBX21)

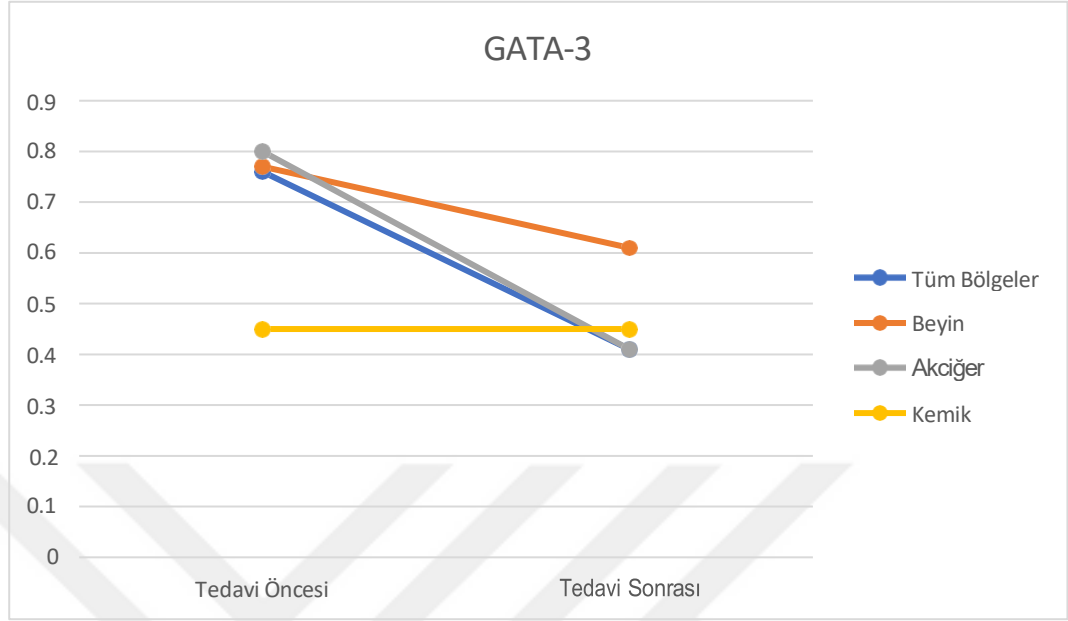
Tedavi öncesi ve sonrası T-bet değerleri normal dağılım göstermemiştir. Tedavi öncesi medyan T-bet değeri 7,05; tedavi sonrası medyan T-bet değeri 4,15 saptanmıştır. SBRT sonrası T-bet değeri anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,001$). SRS bölgelerine göre ayrıldığında da yine akciğer, beyin ve kemikte anlamlı şekilde T-bet değerinde düşüş izlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Tedavi öncesi ve sonrası T-bet değerlerindeki değişim

4.2.2. GATA-3

Tedavi öncesi ve sonrası GATA 3 medyan değerleri sırasıyla 0,76 ve 0,41'dir. Tüm bölgeler dahil edildiğinde bu azalma anlamlıdır ($p=0,005$), ancak beyne tedavi alan hastalarda anlamlı fark görülmemiştir. Aksine akciğer ve kemik bölgelerine tedavi alan hastalarda da anlamlı şekilde azalma izlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Tedavi Öncesi ve Sonrası GATA-3 değerlerindeki değişim

T-bet, Th1 düzeyleri için bir belirteç iken; GATA-3, Th2 düzeylerini bize gösterebilmektedir. Stereotaktik radyoterapinin hangi yolak üzerinden immün yanıtı etkilediğini değerlendirmek amacıyla T-bet/GATA-3 değerleri de hesaplanarak analiz edilmiştir. Bu değerlerde anlamlı fark izlenmemiştir ($p=0,7$).

4.2.3. ROR γ

ROR γ medyan değerleri tedavi öncesi ve sonrasında sırasıyla 240,15 ve 235,35'dir. Tüm bölgeler dahil edildiğinde de, ayrı ayrı analiz edildiğinde de ROR γ değerinde anlamlı bir fark izlenmemiştir. Ancak sadece akciğer bölgesine tedavi alan hastalarda anlamlılık değerine ulaşmasa da diğer bölgelerin aksine ROR γ değerinde artış mevcuttur ($p=0,12$).

4.2.4. FoxP3

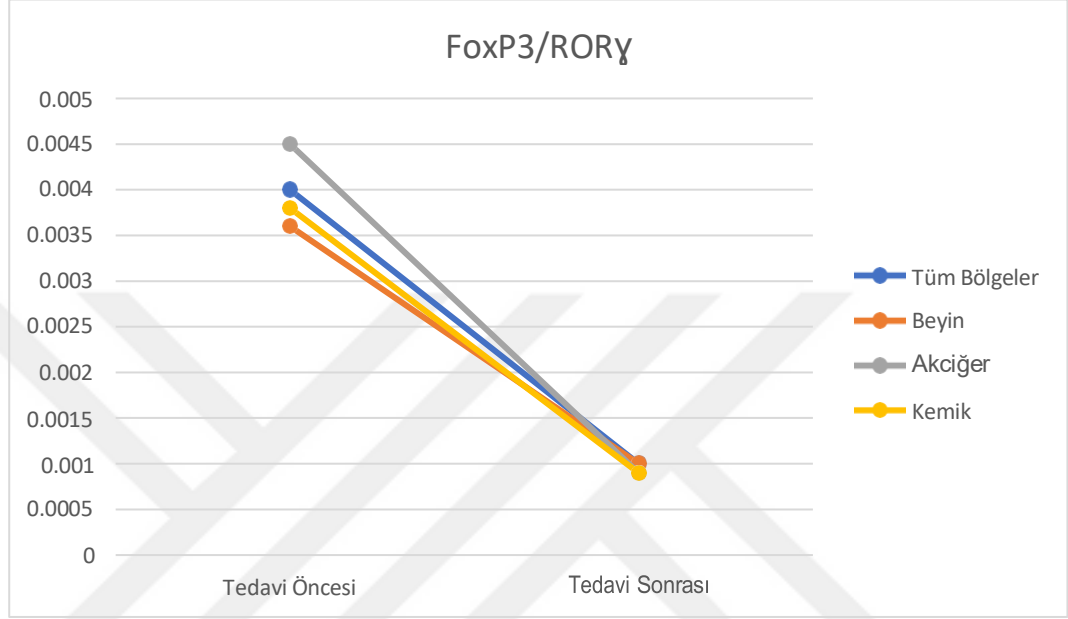
Çalışmamızda medyan Foxp3 değerleri tedavi öncesi ve sonrasında sırasıyla 1,03 ve 0,19'dur ($p<0,001$). Foxp3 değerleri arasındaki bu düşüş, tedavi uygulanan her bölgede anlamlı izlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Tedavi Öncesi ve Sonrası FoxP3 değerlerindeki değişim

Foxp3'ün ROR γ ile korele çalıştığını bilmekteyiz. Foxp3 immünsupresif etki gösteren Treg düzeyi için bir belirteç olabilirken, ROR γ çoğu zaman bu immünsupresyonu azaltmak için görev alan Th17 için bir belirteçtir. Bu nedenle çalışmamızda ayrıca Foxp3/ROR γ oranları da hesaplanarak analiz edilmiştir. Tedavi sonrasında Foxp3/ROR γ oranı anlamlı bir şekilde azalma göstermiştir ($p<0,001$). Bu azalma tedavi bölgeleri ayrı ayrı analiz edildiğinde de izlenmiştir

(Şekil 4). Bu da bize tedavi esnasında anlamlı şekilde immünsupresif etkili Treg hücrelerin düzeyinin azaldığını göstermektedir.



Şekil 4. Tedavi Öncesi ve Sonrası FoxP3/RORγ değerlerindeki değişim

4.3. İmmün Belirteçleri Etkileyen Faktörler

Hastanın yaşı, cinsiyeti, sigara öyküsü, ECOG performans durumu, primer tümör bölgesi ve histolojisi gibi demografik ve klinik özellikler ile immün yanıt belirteçleri arasında herhangi bir ilişki saptanamamıştır.

Tedavi ile ilgili faktörler olan tedavi bölgesi, PTV hacmi, BED10 değeri, eş zamanlı KT/IT uygulamaları ile immün yanıt belirteçleri arasındaki ilişki analiz edilmiştir. Tedavi bölgesi ile T-bet düzeyinde azalma arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır ($p=0,048$). Ardından her bölge için Mann-Whitney U testi yapılmıştır. Kemiğe tedavi alan hastalarda anlamlı şekilde akciğere göre ($p=0,008$) ve beyne

göre ($p=0,004$) daha fazla düşüş izlenmiştir. Ancak akciğere tedavi uygulananlar ile beyne tedavi uygulananlar arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p=0,5$).

PTV hacmi ise T-bet ve ROR γ değerlerini etkilemiştir. PTV hacmi ile iki ölçüm arası T-bet ve ROR γ düzeyleri arasında pozitif ilişki saptanmıştır (T-bet için $p=0,007$, ROR γ için $p= 0,04$). Ardından PTV hacmi ile ilişkinin daha net belirlenebilmesi amacıyla medyan değer hesaplanmıştır. PTV hacmi medyan değeri 16,5 cc olarak bulunmuştur. PTV hacmi 16,5 cc'nin altında ve üstünde olarak iki ayrı grup oluşturulmuş. Ve yeniden analiz edilmiştir. T-bet değerinde PTV hacminin 16,5 cc'den az olması anlamlı şekilde daha fazla düşüşe sebep olmuştur ($p=0,008$).

Çalışmamızda eş zamanlı KT uygulanan 18 hasta, IT uygulanan 5 hasta mevcuttur. Eş zamanlı tedavi ile immün yanıt belirteçleri arasındaki ilişki analiz edildiğinde yalnızca eş zamanlı KT alan hastalarda FoxP3/ROR γ oranları eş zamanlı tedavi almayanlara göre anlamlı şekilde daha fazla bulunmuştur ($p=0,039$).

Bu üç faktör dışında genel grupta hiçbir faktör immün yanıt belirteçlerini etkilememiştir.

Tüm hastalarda immün sistem belirteçleri ile değişkenler arasındaki ilişkinin korelasyon katsayısı (r) ve anlamlılık değeri (p) Tablo 3'te verilmiştir.

		Δ TBX	Δ ROR γ	Δ GATA	Δ FOXP3	Δ FOX/ROR γ	Δ TBX/GATA
Cinsiyet	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,081	-0,109	0,155	0,011	0,133	-0,034
	p değeri	0,516	0,385	0,215	0,928	0,288	0,788
Yas	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,140	-0,072	0,018	0,023	0,064	0,091
	p değeri	0,261	0,563	0,884	0,854	0,609	0,466
Sigara	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,054	-0,125	0,111	-0,116	0,092	0,069
	p değeri	0,666	0,317	0,376	0,353	0,464	0,580
ECOG	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,224	-0,082	0,057	0,109	0,083	0,015
	p değeri	0,070	0,514	0,651	0,385	0,509	0,903
Primer Bölge	Korelasyon Katsayısı (r)	0,187	0,185	0,034	0,038	-0,240	-0,064
	p değeri	0,132	0,137	0,786	0,761	0,052	0,611
Primer Histoloji	Korelasyon Katsayısı (r)	0,157	0,051	-0,040	0,088	0,005	0,031
	p değeri	0,207	0,686	0,748	0,484	0,968	0,803
Tedavi Bölgesi	Korelasyon Katsayısı (r)	0,154	0,148	0,105	0,026	-0,098	-0,018
	p değeri	0,218	0,235	0,400	0,835	0,433	0,883
Ptv Hacmi	Korelasyon Katsayısı (r)	,330**	,246*	0,079	0,014	-0,092	0,072
	p değeri	0,007	0,046	0,530	0,911	0,464	0,565
BED10	Korelasyon Katsayısı (r)	0,061	0,235	0,186	0,023	-0,097	-0,059
	p değeri	0,624	0,057	0,136	0,854	0,437	0,636
Eş Zamanlı Tedavi	Korelasyon Katsayısı (r)	0,000	-,244*	-0,019	-0,032	0,150	0,048
	p değeri	0,999	0,048	0,877	0,800	0,229	0,702

Tablo 3. İmmün Sistem Belirteçleri ile Değişkenler Arasındaki İlişki

Gruplar tedavi bölgelerine göre ayrı ayrı çalışıldığında beyin bölgesinde PTV hacminin ROR γ değerini anlamlı şekilde etkilediği görülmüştür (p=0,042). Bu etki pozitif yönde ve orta güçte bir etkidir. Beyin bölgesinde diğer ilgi çekici durum ise sigara ile FoxP3 değerleri arasındaki ilişkidir. Sigara içilmesi ile Δ FoxP3 değerleri daha da düşmektedir (p=0,005). Tedavi bölgesi beyin olan hastalarda immün sistem belirteçleri ile değişkenler arasındaki ilişki Tablo 4’te verilmiştir.

TEDAVİ BÖLGESİ BEYİN OLAN HASTALAR							
		Δ TBX	Δ ROR γ	Δ GATA	Δ FOXP3	Δ FOX/ROR γ	Δ TBET/GATA
Cinsiyet	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,236	-0,060	0,33	-0,224	-0,156	-0,336
	p değeri	0,315	0,802	0,147	0,342	0,512	0,147
Yas	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,238	-0,092	0,033	-0,303	-0,299	0,283
	p değeri	0,311	0,701	0,890	0,194	0,201	0,227
Sigara	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,073	-0,071	0,270	-,636**	-,510*	-0,078
	p değeri	0,760	0,765	0,249	0,003	0,022	0,742
ECOG	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,258	-0,236	0,001	-0,149	-0,097	-0,018
	p değeri	0,271	0,317	0,997	0,531	0,686	0,941
PTV Hacmi	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,004	,458*	0,372	-0,225	-0,197	-0,433
	p değeri	0,987	0,042	0,107	0,339	0,404	0,056
BED10 Değeri	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,100	-0,440	0,029	-0,025	0,284	0,155
	p değeri	0,675	0,052	0,902	0,915	0,225	0,513
Eş Zamanlı Tedavi	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,032	-0,171	0,443	-0,294	-0,231	-0,235
	p değeri	0,894	0,471	0,051	0,208	0,328	0,319

Tablo 4. Beyin Bölgesine Tedavi Alan Hastalarda İmmün Sistem Belirteçleri ile Değişkenler Arasındaki İlişki

Akciğer bölgesine tedavi uygulanan hastalarda ise BED10 değeri ile Δ TBX ve Δ ROR γ değerlerinde anlamlı ilişki saptanmıştır (Δ TBX için p=0,04 ve Δ ROR γ için p=0,01). Bunun üzerine BED10 medyan değerleri hesaplanmıştır, BED10 100 Gy ortanca değer kabul edilerek altı ve üstü BED10 değerleri ile Δ TBX ve Δ ROR γ değerleri arasındaki ilişkiyi saptamak amacıyla Mann-Whitney U testi yapılmıştır. BED10<100 Gy iken Δ TBET -6,1 iken, BED10 $\geq$ 100 Gy iken Δ TBET -2,4 saptanmıştır. Yine BED10 <100 Gy iken Δ ROR γ -28,1 iken, BED10 $\geq$ 100 Gy iken

ΔROR_{γ} 27,4 saptanmıştır. Tedavi bölgesi akciğer olan hastalarda immün sistem belirteçleri ile değişkenler arasındaki ilişki Tablo 5'te verilmiştir.

TEDAVİ BÖLGESİ AKCİĞER OLAN HASTALAR							
		ΔTBX	ΔROR_{γ}	$\Delta GATA$	$\Delta FOX P3$	$\Delta FOX/ROR_{\gamma}$	$\Delta TBET/GATA$
Cinsiyet	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,200	-0,146	0,038	-0,054	-0,069	0,008
	p değeri	0,372	0,516	0,865	0,812	0,760	0,973
Yas	Korelasyon Katsayısı (r)	0,234	-0,226	-0,294	-0,015	0,239	-0,119
	p değeri	0,294	0,312	0,184	0,946	0,283	0,598
Sigara	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,224	-,462*	-0,149	0,119	-0,045	-0,030
	p değeri	0,317	0,031	0,508	0,597	0,843	0,895
ECOG	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,177	-0,235	-0,269	-0,151	-0,151	-0,034
	p değeri	0,432	0,292	0,226	0,501	0,502	0,882
PTV Hacmi	Korelasyon Katsayısı (r)	0,330	0,406	-0,361	0,194	-0,148	0,282
	p değeri	0,134	0,061	0,098	0,387	0,511	0,204
BED10 değeri	Korelasyon Katsayısı (r)	,436*	,529*	0,218	0,120	0,354	-0,331
	p değeri	0,042	0,011	0,329	0,594	0,106	0,133
Eş Zamanlı Tedavi	Korelasyon Katsayısı (r)	0,037	-0,279	-0,260	-0,167	0,019	0,019
	p değeri	0,870	0,209	0,242	0,457	0,935	0,935

Tablo 5. Akciğer Bölgesine Tedavi Alan Hastalarda İmmün Sistem Belirteçleri ile Değişkenler Arasındaki İlişki

Tedavi bölgesi kemik olan hastalarda immün sistem belirteçleri ile hiçbir faktör arasında anlamlı ilişki saptanamamıştır. Bu hasta sayısının azlığından kaynaklanabilir (n=13). Tedavi bölgesi kemik olan hastalarda immün sistem belirteçleri ile değişkenler arasındaki ilişki Tablo 6'da verilmiştir. Yine bu sebeple hasta sayısının çok az olduğu diğer tedavi bölgesi gruplarında ayrıca analiz yapılamamıştır.

TEDAVİ BÖLGESİ KEMİK OLAN HASTALAR							
		Δ TBX	Δ ROR γ	Δ GATA	Δ FOXP3	Δ TBET/GATA	Δ FOX/ROR γ
Cinsiyet	Korelasyon Katsayısı (r)	0,044	-0,284	-0,018	0,332	0,211	0,144
	p değeri	0,888	0,347	0,954	0,268	0,488	0,639
Yas	Korelasyon Katsayısı (r)	0,057	-0,002	0,221	0,130	-0,077	0,194
	p değeri	0,853	0,995	0,469	0,673	0,803	0,526
Sigara	Korelasyon Katsayısı (r)	0,164	0,124	-0,037	0,154	0,041	0,053
	p değeri	0,592	0,687	0,906	0,615	0,894	0,864
ECOG	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,405	-0,170	0,464	0,270	-0,373	-0,089
	p değeri	0,170	0,578	0,110	0,373	0,209	0,771
PTV Hacmi	Korelasyon Katsayısı (r)	0,198	-0,445	-0,157	0,525	0,203	0,491
	p değeri	0,516	0,127	0,608	0,065	0,505	0,088
BED10 Değeri	Korelasyon Katsayısı (r)	-0,481	0,266	-0,045	-0,186	-0,233	-0,366
	p değeri	0,096	0,379	0,884	0,542	0,443	0,219
Eş Zamanlı Tedavi	Korelasyon Katsayısı (r)	0,220	-0,122	0,140	0,126	0,134	0,273
	p değeri	0,470	0,691	0,649	0,682	0,663	0,367

Tablo 6. Kemik Bölgesine Tedavi Alan Hastalarda İmmün Sistem Belirteçleri ile Değişkenler Arasındaki İlişki

5. TARTIŞMA

Stereotaktik radyoterapinin, konvansiyonel radyoterapiden farklı olarak immün sistemi aktiflediğine dair kanıtlar artmaktadır. Bu immün yanıt nadir olarak abiskopal etki şeklinde karşımıza çıkabilmektedir. İmmün yanıtı daha objektif kanıtlamak amacıyla bazı belirteçler kullanılabilir. İmmün sistem hücrelerinin farklılaşması ve çoğalmasında önemli rol oynayan bazı transkripsiyon faktörleri

dolaylı yoldan bu hücrelerin düzeyleri hakkında bize bilgi verebilmektedir. Th1 hücreler için TBX21, Th2 hücreler için GATA-3, Th17 hücreler için ROR γ ve Treg hücreler için FoxP3 immün sistem hücrelerinin düzeylerini tahmin etmede sıklıkla kullanılan belirteçlerdir. Bu belirteçler tümör dokusunda sıklıkla prognozu tahmin etmede kullanılmıştır, ancak radyoterapi veya herhangi bir tedaviye cevap değerlendirilmesinde kullanılması literatürde oldukça sınırlıdır. Bizim çalışmamızda hastalardan stereotaktik radyoterapi öncesi ve sonrası alınan periferik kan örneklerinde bu belirteçlerin düzeylerine bakılmış ve radyoterapinin bu belirteçler üzerinden immün yanıtı nasıl etkilediğine dair bulgular tespit edilmeye çalışılmıştır.

Çalışmamızda tüm tedavi bölgelerinde T-bet (TBX21) ve GATA-3 düzeylerinde azalma izlenmiştir. TBX21'in Th1, GATA-3'ün Th2 ilişkili olduğu düşünülürse stereotaktik radyoterapinin Th1'den çok Th2 üzerinden immün yanıtı etkilediği söylenebilir. Th2'nin immün yanıtı baskılayıcı etkisi düşünüldüğünde GATA-3'ün azalması immün yanıtı artırıcı bir etkidir. TBX21 düzeyindeki azalmanın tedavi bölgesiyle etkilendiği görülmüştür. Kemiğe tedavi alan hastalarda TBX21 anlamlı şekilde akciğere ve beyne tedavi alan hastalara göre daha fazla düşmüştür. Ancak bunun sebebi anlaşılamamıştır. Literatürde de buna yönelik herhangi bir bilgi yoktur. Yine Δ TBX21 değeri tedavi hacminden de etkilenmiştir. PTV hacminin 16,5 cc'den az olması TBX21 düzeyinde daha fazla azalmaya sebep olmuştur. Akciğer bölgesine tedavi alan hastalara ayrıca analiz edildiğinde BED10 değeri ile Δ TBX21 düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ($p=0,04$). BED10 değeri 100 Gy ve üzerinde TBX21 daha az düşüş göstermiştir. Özellikle akciğer

tedavisinde PTV hacmi ve BED10 değeri ile Δ TBX21 düzeyi arasındaki bu ilişki; büyük hacim ve yüksek doz ile Th1 hücrelerin de immün yanıtı dahil olabileceğini düşündürmektedir. Erken evre akciğer kanserli hastalarda yapılan bir çalışmada ortalama akciğer dozu ve 20 Gy'den daha fazla alan hacim ile bu belirteçlerdeki değişim arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Ancak bu parametrelerle hiçbir belirteç arasında ilişki saptanmamıştır [49].

Tedavi sonrası akciğer dışındaki bölgelerde ROR γ düzeyleri sayısal olarak azalmış olsa da anlamlılık düzeyine ulaşamamıştır. Akciğer bölgesine tedavi alan hastalarda ise ROR γ düzeylerinde artış izlenmiştir, ancak bu artış da anlamlı değildir. Korelasyon analizlerinde Δ ROR γ düzeyinin PTV hacmi ve eş zamanlı tedavi uygulanması ile etkilendiği düşünülse de bu etki, ileri analizlerde doğrulanamamıştır. Bununla ilgili en önemli bulgu akciğer bölgesine tedavi alanlarda BED10 değeri ile Δ ROR γ arasındaki ilişkidir. Akciğer bölgesinde BED10 değeri 100 Gy ve üstü tedavi uygulanan hastalarda anlamlı şekilde Δ ROR γ artmıştır. Bu önemli bir bulgudur. Çünkü ROR γ değeri ilk defa tedavi sonrasında artış göstermiştir. Bu da bize göstermektedir ki; yeteri düzeyde doz verildiğinde ROR γ , dolaylı olarak da Th17 düzeyleri artmaktadır.

FoxP3, diğer belirteçlerin aksine bir immünsupresif T hücre olan Treg hücrelerin düzeylerini gösterir. Bu sebeple de stereotaktik radyoterapi uygulanan hastalarda FoxP3 düzeylerinin azalmasını bekliyorduk. Nitekim hem genel grupta hem de tedavi bölgeleri ayrı ayrı analiz edildiğinde FoxP3 düzeylerinde anlamlı düşüş izlenmiştir. Ardından FoxP3/ROR γ düzeyleri analiz edilmiştir. Yine hem genel grupta hem de ayrı ayrı her tedavi bölgesinde FoxP3/ROR γ düzeylerinde

azalma görülmüştür. Bu bulgu, beklendiği gibi tedavi esnasında immünsupresif etkili Treg hücrelerin azaldığını, bu sayede immün yanıt katkı sağlandığını göstermektedir.

SBRT ile immün yanıt arasındaki ilişki başlangıçta T hücreler; ardından detaylandırılarak CD4+ ve CD8+ T hücreler; sonrasında daha detaylı immün belirteçlerin düzeyine bakılarak araştırılmıştır. Bu konudaki ilk hayvan çalışmalarından biri Lee ve arkadaşları tarafından 2009 yılında yapılmıştır. T hücre eksikliği olan ve olmayan farelere B16 melanoma tümörü yerleştirilmiştir. 20 Gy x 1 fx ablatif radyoterapi sonrasında sağlıklı farelerde tümör mikro çevresinde T hücre infiltrasyonu artmış ve tümörde anlamlı regresyon izlenmiştir. Ancak T hücre eksikliği olan farelerde ablatif RT'ye rağmen regresyon izlenmemiştir. Bu bulgular ablatif radyoterapinin terapötik etkisi için T lenfosit gerekliliğini göstermiştir. Aynı zamanda CD 8+ T hücre yokluğunda tümörün radyorezistan hale geçtiği, ancak NK hücre yokluğunda rezistansın artmadığı izlenmiştir. İmmün kompetan farelerde yapılan ikinci bir protokolde 20 Gy x 1 fx ile 5 Gy x 4 fx karşılaştırılmıştır. Hem antitümör immünite hem de tümör regresyonu tek fraksiyon tedavide çok daha fazla bulunmuştur [57].

Fibrosarkom modeli üzerinde yapılan bir hayvan deneyinde immünkompetan farelerde 30 Gy ile sağlanan tümör kontrolünü T-hücre defekti olan farelerde sağlamak için 60 Gy gerekmiştir. Bu da RT yanıtında T lenfositlerin anahtar rolünü göstermiştir [58].

Melanom tümör hücreleri enjekte edilmiş fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada bir kola tümör büyümesinin 7.gününde tek fraksiyonda 15 Gy RT uygulanırken diğer kola 7-11.günler arasında 5 fraksiyonda günlük 3 Gy doz ile toplamda 15 Gy RT uygulanmıştır. Aynı zamanda hiç RT uygulanmayan fareler de mevcuttur. 14.günde fareler analiz için sakrifiye edilmiştir. Tümör büyümesini durdurmada en etkili kol tek fraksiyon kolu olmuştur. Tek fraksiyon RT uygulanan farelerde radyoterapi uygulanmayan farelere göre drene eden lenf nodlarında T hücrelerin düzeyiyle korelasyon gösteren B3Z hücreleri 3 kat daha fazla bulunmuştur. Daha az düzeyde olsa da üç fraksiyonluk tedavide de bu hücrelerde artış izlenmiştir. Yani, bu çalışmada her iki RT fraksiyonasyonunda da hem lenf nodlarında antijen sunucu hücrelerin aktivasyon ve sayısının hem de T hücrelerin aktivasyonunun arttığı izlenmiştir. Bu artış tek fraksiyonluk tedavide 3 fraksiyona göre çok daha fazladır [59]. SBRT için henüz standart bir doz şeması yoktur. Klinikler çok değişken dozlar kullanmaktadır. Bu farklılık immün yanıtı nasıl etkilemektedir bilinmemektedir. Bu çalışmada da toplam doz aynı gibi gözükse de, tek fraksiyon tedavinin BED değeri çok daha yüksektir. Muhtemel olarak yukarıdaki çalışmada da bu sebeple tek fraksiyon tedavide immün yanıt daha fazla artmıştır. Nitekim bizim çalışmamızda da bazı immün belirteçlerin (TBX21,RORγ) BED değeri ile korele olduğu izlenmiştir.

Stereotaktik radyoterapinin immün modülatör etkisi yukarıda bahsedildiği gibi birçok hayvan çalışmasında gösterildikten sonra bu konu üzerine klinik çalışmalar başlamıştır. Bu çalışmalarda sadece stereotaktik radyoterapi değil hipofraksiyone radyoterapinin etkisi de araştırılmıştır. Meme kanseri sebebiyle

adjuvan RT uygulanan 60 hastanın dahil edildiği bir çalışmada hastalar 50 Gy/25 fx veya 40.3 Gy/13 fx olacak şekilde iki kola randomize edilmiştir. Tedavi öncesi, son fraksiyon tedaviden hemen sonra ve 6 ay sonra toplamda 3 defa periferik kan alınmıştır. Tedaviden hemen sonra iki kolda da lenfosit sayısı benzer şekilde düşüş göstermiştir. Ancak 6 ay sonra alınan kanda hipofraksiyone RT kolunda lenfosit sayısında anlamlı şekilde artış izlenmiştir [60].

2018 yapılan LYMPHOREC çalışmasına lokal ileri kolorektal kanser sebebiyle kısa ve uzun kür preoperatif radyoterapi uygulanan 237 hasta dahil edilmiştir ve tümör dokusunda radyoterapi sonrasında izlenen immün yanıt değerlendirilmiştir. Tedavi öncesi biyopsi preperatında ve preoperatif RT ardından cerrahi ile elde edilen patoloji spesmeninde tümör infiltrate lenfositler karşılaştırılmıştır. Tedavi sonrasında FoxP3+ T lenfositlerde anlamlı bir şekilde azalma izlenirken CD8+ T lenfosit/ FoxP3+ T lenfosit oranında anlamlı artış bulunmuştur. Kısa kür radyoterapi uygulanan grupta CD8+/FoxP3+ T lenfosit oranı uzun kür RT uygulanan gruba göre anlamlı daha düşük saptanmıştır. Tedavi sonrası hem CD8+ T lenfosit hem de FoxP3+ T lenfosit infiltrasyonunun yüksek olması daha iyi PFS ile ilişkili bulunmuştur [61].

Düşük riskli meme kanseri sebebiyle 20 Gy IORT uygulanan 13 hasta ile yapılan bir çalışmada cerrahi öncesi ve cerrahi+IORT sonrası 48.saat, 3. hafta ve 10. hafta arasında total lenfosit sayısında anlamlı değişiklik izlenmemiştir. Subpopulasyonlara bakıldığında CD4+ T lenfositlerde IORT sonrası düşüş izlense de anlamlı bulunmamıştır. CD8+ sitotoksik T lenfositlerde ise progresif artış görülmüştür. CD16+CD56+ NK hücrelerde 3.hafta anlamlı artış izlenmiştir.

CD4+FoxP3+ Treg hücrelerde düşüş izlenirken Treg hücre düzeyi 3.haftada en düşük değerinde bulunmuştur. Yazarlar değerler arası istatistiksel anlamlı fark bulunmamasını hasta sayısındaki azlığa bağlamıştır. Bu kadar az hasta sayısına rağmen anlamlı olmasa da özellikle CD8+ sitotoksik T lenfositlerdeki artış eğilimi ve immunsupresif kabul edilen FoxP3+ Treg hücrelerdeki azalma eğilimi önemli bir bulgudur [62].

İlimli hipofraksiyone rejimlerde bile yukarıda anlatıldığı gibi immün sistemdeki aktivasyonun gösterilmesi, stereotaktik radyoterapinin en etkili mekanizmalarından birinin immün yanıt olduğu inancını artırmıştır. Erken evre primer küçük hücreli dışı akciğer kanseri sebebiyle SBRT (40-70 Gy/4-10 fx) uygulanan 62 hastanın dahil edildiği bir çalışmada öncelikle tedavi uygulanan 36 hastada SBRT öncesi ve sonrasında lenfosit düzeyleri çalışılmıştır. 2 yıl içerisinde relaps eden ve etmeyen hastalar arasında bu lenfosit düzeylerindeki farka bakılmıştır. Hastalarda tedavi sonrası tüm lenfosit alt tipleri düzeyleri, tedavi öncesine göre anlamlı daha düşük izlenmiştir. Bu bulguların ardından tedavi sonrası değerlendirme daha da detaylandırılmaya karar verilmiş ve çalışmaya dahil edilen 26 hastadan tedavi öncesi, tedavi sonrası, tedaviden 1 hafta sonra ve tedaviden 4 hafta sonra olacak şekilde 4 defa periferik kan örneği alınmıştır. Tüm lenfosit alt tipleri ve NK hücreleri düzeyi tedaviden 1 hafta sonra, tedavi öncesine göre anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. 4.haftada total lenfosit düzeyi, CD4+ T lenfosit ve B lenfosit düzeyleri 1.haftaya göre artış gösterse de tedavi öncesine göre yine düşük saptanmıştır. 3 Gy ve daha fazla alan vertebra hacmi (VV3) ile total lenfosit, CD4+ T lenfosit, B lenfosit ve NK hücre düzeyleri arasında korelasyon

bulunmuştur. Bu çalışma, SBRT'nin immünsupresif etkisini gösteren nadir çalışmalardan bir tanesidir; yazarlar immün yanıtta bu baskılanmayı özellikle vertebral kemik iliğinin etkilenmesiyle myelosüpresyon ile ilişkilendirmiştir [51].

Daha küçük bir çalışmada evre 1 küçük hücreli dışı akciğer kanseri olan 6 hastaya 48 Gy/4-8 fx SBRT uygulanmıştır. Tedavi sonrası 3.hafta alınan periferik kan örneklerinde CD8+ T hücreler başta olmak üzere total T lenfosit düzeyi artmıştır. FoxP3+ Treg hücreler ise azalmıştır. Bu çalışmada aynı zamanda CD56+ NK hücrelerde SBRT sonrası herhangi bir değişim görülmemiştir [63].

Erken evre küçük hücreli dışı akciğer kanseri tanısıyla SBRT uygulanan 89 hastanın dahil edildiği bir çalışmada tedavi öncesi, tedaviden 2 hafta ve 12 hafta sonrasında alınan periferik kan örneklerinde T hücre düzeyleri ve majör transkripsiyon faktörleri Th17 hücreler için ROR- γ t, Th1 hücreler için T-bet, Th2 hücreler için GATA 3 ve Treg hücreler için FoxP3 düzeylerine bakılmıştır. Hastalara 54-60 Gy/3-8 fx olacak şekilde SBRT uygulanmıştır. Bu çalışmada tedavi sonrası 2.haftada CD4+ T hücreler, CD8+ T hücreler ve tüm transkripsiyon faktörlerinde artış izlenmiştir. 3.ayda GATA 3, T-bet ve ROR- γ t düzeyindeki artış devam ederken; immünsupresör görev olan Treg hücreleri yansıtan FoxP3 düzeyi azalarak tedavi öncesi düzeyinden de aşağı inmiştir. CD4+ T hücreleri 2.haftadan sonra azalarak 3.ayda tedavi öncesi düzeyine ulaşırken, CD8+ T hücreleri 3.ayda da artışına devam etmiştir. Total lenfosit sayısında 2.haftada anlamlı azalma izlenirken lökosit, nötrofil ve CRP düzeylerinde 2 ölçümde de anlamlı fark görülmemiştir. Bu da çalışmada enfeksiyon sebepli immün yanıtı dışlamak için önemlidir [49].

Erken evrede tek başına stereotaktik radyoterapi ile kür sağlanabilmesi, eş zamanlı veya ardışık kemoterapi/immunoterapiye ihtiyaç duyulmaması sebebiyle stereotaktik radyoterapi ile immün yanıt arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalarda sıklıkla küçük hücreli dışı akciğer kanseri kullanılmıştır. Farklı bölgelerde uygulanan SBRT'nin yanıtlarını değerlendiren bir çalışmada periferik kan örnekleri tedavi öncesi ve tedaviden 1-2 hafta sonra toplanmıştır. RT uygulanan bölgeye göre 20-54 Gy/ 1-5 fx olacak şekilde kullanılmıştır. Bu çalışmada immün yanıtın SBRT uygulanan bölgeye bağlı olduğu kanıtlanmıştır. Kemik ve beyinde SBRT sonrası immün belirteçlerde herhangi bir değişiklik izlenmezken, akciğer ve karaciğerde SBRT sonrası T hücrelerde artış görülmüştür. Yazarlar beyin dokusunun, kan beyin bariyeri nedeniyle genel olarak lenfositleri sekestre eden, immün ayrıcalıklı bölge olması nedeniyle; kemikte ise doğrudan kemik iliğinin ışınlanmasına bağlı olarak immün yanıtın gösterilemediğini savunmuştur [50]. Bizim çalışmamızda tedavi bölgeleri ayrıldığında hasta sayımız az olsa da çoğu bulgumuz her bölgede izlenmiştir. Yalnızca GATA-3 düzeyleri diğer bölgelerin aksine beyin bölgesine radyoterapi uygulanan hastalarda anlamlı değişiklik göstermemiştir. Kemik bölgesine radyoterapi uygulanan hastalarda kemik iliği baskılanmasına bağlı olarak lenfopeni ve immün belirteçlerde baskılanma beklense de bizim çalışmamızda herhangi bir düşme izlenmemiştir. Diğer bölgelerde olduğu gibi kemik bölgesine radyoterapi uygulanmasıyla da TBX21, GATA3 ve FoxP3 düzeylerinde azalma görülmüştür. Bu çalışmanın da yayınlanmasıyla bu konudaki çalışmalar karaciğer ve akciğer bölgeleri üzerine yoğunlaşmıştır.

Karaciğer SBRT ile immün yanıt üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında çalışmalara hem primer hem de karaciğer metastazının dahil edildiği, ancak çoğunun hasta sayısının çok az olduğu izlenmektedir. Bu konuda yapılan en fazla hasta sayısına sahip çalışmaya sadece hepatosellüler karsinomu olan 78 hasta dahil edilmiştir. Hastalara 48-60 Gy/5-10 fx SBRT uygulanmıştır. Tedaviden 10 gün sonra hem total lenfosit sayısının hem de ayrı ayrı CD4+ ve CD8+ T lenfosit düzeyinin düştüğü izlenmiştir. [64]. Bizim çalışmamızda karaciğere stereotaktik radyoterapi yalnızca 1 hastaya uygulanabilmektedir. Bu hastada tedavi sonrasında TBX21 ve RORγ değerlerinde herhangi bir değişiklik izlenmezken, GATA-3 ve FoxP3 değerleri azalmıştır.

İstisnai birkaç çalışma dışında genel olarak hipofraksiyone RT ve SBRT ile CD4+ ve CD8+ T lenfositlerin aktive olduğu görülmektedir. SBRT sonrası immün yanıt değerlendirmede indirekt olarak Th17 hücreleri için ROR-γt, Th1 hücreleri için T-bet , Th 2 hücreleri için GATA 3 düzeylerine bakılan çalışmalarda artış izlenmiştir. İmmüsupresif etkili Treg hücrelerinin indirekt belirteci olan FoxP3 düzeylerinde ise azalma görülmüştür. Sonuç olarak, SBRT'nin immün yanıtı aktive ettiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda Th1 düzeyini yansıtan TBX21 değerinde ve Th2 düzeyini yansıtan GATA-3 değerinde çalışmaların aksine düşüş izlenmiştir. Ancak çalışmalarla korele bir şekilde FoxP3 düzeylerinde azalma görülmüştür. Bizim çalışmamızda stereotaktik radyoterapinin Th1'i aktive etmek yerine Th2'yi suprese ederek; Treg hücreleri baskılayarak immün yanıtı artırdığı söylenebilir.

Yukarıda bahsi geçen çalışmalarda eş zamanlı herhangi bir sistemik tedavi veya immünoterapi kullanılmamıştır. Özellikle immünoterapi ile stereotaktik radyoterapi birlikteliğinin sinerjistik etkisini gösteren birçok çalışma yapılmıştır.

Günümüzde gelişen teknolojiler ile immünoterapinin kanser tedavisinde yerinin ciddi anlamda artmasıyla birlikte bu tedavilerin radyoterapi ve özellikle stereotaktik radyoterapi ile eş zamanlı uygulanmasının etkileri araştırılmaya başlanmıştır. PD-1 T hücrelerin yüzeyinde bulunurken ligandı PD-L1 tümör hücresinde bulunur ve PD-1/PD-L1 bağlanması ile T hücrelerin proliferasyonu önlenir. Bu süreç aslında tümör hücresinin immün sistemden kaçış mekanizmasıdır. Aynı şekilde CTLA-4 ise Treg hücreler tarafından eksprese edilir ve CD28 aracılığıyla T hücrelerin aktivasyonunu azaltır. PD-1/PD-L1 antikoru ve anti-CTLA 4 gibi immünoterapiler ile tümör hücrelerinin immün sistemden bu şekilde kaçışı önlenir. Stereotaktik radyoterapinin tek başına kullanılmasıyla dahi sistemik immün yanıtı, özellikle de T hücre yanıtını artırması immünoterapiler ile birlikte kullanılmasının sinerjistik etki ile immün yanıtı çok daha fazla aktifleyeceğine dair inançları artırmıştır. Bu konuda birçok çalışma yapılmıştır.

Metastatik meme kanserli fare modeli üzerinde yapılan bir çalışmada 1.grup RT, 2.grup CTLA 4 blokajı ve 3.grup RT+CTLA 4 blokajı olacak şekilde randomizasyon yapılmıştır. RT doz şeması olarak 12 Gy/fx RT 1 veya 2 fraksiyonda uygulanmıştır. Tek başına CTLA 4 blokajının primer tümör büyümesi ve sağkalım üzerine anlamlı etkisi bulunmamıştır. RT ile beraber uygulandığında anlamlı bir şekilde sağkalım avantajı ve tümör küçülmesi izlenmiştir. Kombine tedavide iki fraksiyon RT uygulanan hastalarda, tek fraksiyon RT uygulanan

hastalara göre hem primer tümörde hem de metastatik yükte anlamlı olarak daha fazla yanıt izlenmiştir [65].

Yine meme kanserli fare modeli üzerinde yapılan başka bir çalışmada farklı fraksiyonasyon şemaları (20 Gy x 1 fx , 8 Gy x 3 fx, 6 Gy x 5 fx) ile anti CTLA-4 antikor kombinasyonu test edilmiştir. Bu çalışmada ışınlanan (primer) ve ışınlanmayan (sekonder) olarak iki ayrı tümör bölgesi oluşturulmuştur. Bu çalışmanın sonucunda sadece radyoterapi uygulamanın primer tümör bölgesine etkisinin olduğu ancak sekonder bölgelerde etkisinin olmadığı gösterilmiştir. RT ile anti-CTLA 4 antikor kombinasyonu uygulandığında ise sekonder bölgede de abiskopal etki izlenmiştir. İlginçtir ki bu abiskopal etki tek fraksiyonda değil 3 fraksiyonluk rejimde görülmüştür [66].

SRS ile anti PD-1 antikorunun anti-tümör immün yanıt üzerine sinerjistik etkisini araştıran bir hayvan deneyinde farelere glioblastom tümör hücreleri implante edilmiş ve 4 ayrı tedavi koluna ayrılmıştır: 1) Kontrol ; 2) Sadece SRS (10 Gy); 3) Sadece anti PD-1 antikoru; 4) SRS ile birlikte anti PD-1 antikoru. Tekli tedavi kollarında kontrol grubuna göre sağkalımda fark izlenmezken, kombine tedavi kolunda genel sağkalım diğer tüm kollara göre anlamlı olarak daha iyi bulunmuştur. Tedavi sonrası beyin dokusunda yapılan analizlerde kombine tedavi kolunda sitotoksik T hücrelerin arttığı, regülatuar T hücrelerin azaldığı izlenmiştir [67].

Stereotaktik radyoterapi ile immunoterapi kombinasyonu etkinliğinin hayvan deneylerinde kanıtlanmasının ardından klinik çalışmalar hız kazanmıştır. Mole ve arkadaşları 1953 yılında abiskopal etkinin tanımını RT uygulanan bölgeden uzak bir bölgedeki metastatik hastalığın gerilemesi olarak yapmışlardı ancak bu, klinikte sık izlenen bir durum değildi [1]. Literatürde abiskopal etki olgu sunumları veya küçük randomize olmayan çalışmalar şeklinde sunulmuştur. Bununla ilgili ilk olarak 2012 yılında Postow ve arkadaşları tarafından bir olgu sunumu yapılmıştır. Bu olguda pulmoner metastazı olan bir melanom hastasına ipilimumab başlanmıştır. 12 haftalık takipte pulmoner nodül stabil izlenmiştir. Takiplerde ipilimumab devam ederken progresyon gelişmiş, yeni plevral tabanlı paraspinal kitle ve splenik lezyonlar görölmüştür. Bunun üzerine paraspinal kitleye 3 fraksiyonda toplam 28,5 Gy palyatif RT uygulanmıştır. 2 ay sonraki kontrol görüntülemelerinde hem primer ışınlanan paraspinal kitlenin hem de splenik lezyonların gerilediği izlenmiştir. Bu olguda ipilimumab altında progrese olan/yeni ortaya çıkan lezyonların lokalize radyoterapi ile, o bölge ışınlanmasa dahi gerilediği izlenmiştir. Bu da lokalize radyoterapinin sistemik yanıtının göstergesi olmuştur. Bu olguda aynı zamanda CD4+ T lenfosit düzeylerine de bakılmıştır. RT öncesi, ipilimumab başladığında önce CD4+ T lenfositlerde artış görölmüştür, sonrasında yeniden azalma başlamıştır. RT uygulandıktan sonra ise yeniden artış eğilimi izlenmiştir. Bu da radyoterapinin T hücre aktivasyonu yaptığının ve immunoterapinin etkisini artırdığının kanıtıdır [68]. Bizim alışmamızda immunoterapi alan hasta sayımız ve takip süremiz yeterli olmadığı için multipl metastazlı hastalarda bu tür yanıt takibi yapılamamıştır.

Postow ve arkadaşlarının yayınladığı bu ilk olgu sunumunun ardından radyoterapi ile immünoterapi birlikteliği sonucu başta melanom olmak üzere, küçük hücreli dışı akciğer kanseri, meme kanseri, gastrointestinal maligniteler, servikal kanser, renal kanser gibi birçok kanserde abiskopal etki izlenen olgular sunulmuştur.

Bizim çalışmamızda tedavi öncesi 3 haftadan 2.kan alınma süresine kadar herhangi bir tedavi uygulanması eş zamanlı tedavi olarak kabul edilmiştir. Buna göre eş zamanlı tedavi alan 23 hastanın 18 tanesi kemoterapi, 5 tanesi immünoterapi almıştır. Eş zamanlı tedavi uygulanan hastalardan sadece KT alan hastalarda $\Delta\text{FoxP3}/\text{ROR}\gamma$ değeri tedavi almayanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p=0,039$). ΔFoxP3 veya $\Delta\text{ROR}\gamma$ değerleri anlamlı olarak etkilenmese de bu bulgu KT'nin immünsupresif etkisine bağlı izlenmiş olabilir.

6.SONUÇLAR

Stereotaktik radyoterapinin, konvansiyonel radyoterapiden farklı olarak immün sistem üzerindeki etkileri halen araştırma konusudur. Bizim çalışmamızda stereotaktik radyoterapinin immün yanıt belirteçlerinden Th1 düzeyini yansıtan TBX21'i ve Th2 düzeyini yansıtan GATA-3'ü azalttığı gösterilmiştir. Bu bulgu, stereotaktik radyoterapinin immün yanıt etkisini Th2'nin baskılanması üzerinden gösterdiğini kanıtlamaktadır.

İmmünsupresif etkili Treg hücreleri yansıtan FoxP3'ün tedavi süresince azalması yine immün yanıtın aktive edildiğine dair bir bulgudur.

Özellikle TBX21 düzeylerinin akciğer tedavisinde PTV hacmi ve BED10 değerleri ile etkilenmesi geniş alan ışınlamalarında ve yüksek dozlarda immün yanıtın çok daha fazla olacağını, Th1 hücrelerin de bu yanıtı katılacağını düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bizim çalışmamızda stereotaktik radyoterapinin immünsupresif Treg hücreleri ve Th2 hücrelerini baskılayarak sistemik immün yanıtı artırdığı kanıtlanmıştır.

Çalışmamızdaki en önemli kısıtlılık hem genel grupta hem de tedavi bölgelerine göre ayrıldığında hasta sayımızın azlığıdır. Özellikle karaciğer, sürrenal, pankreas ve prostat bölgelerine tedavi alan hastaların sonuçlarını yorumlayabilmek hasta sayısındaki yetersizlikten dolayı mümkün olmamıştır. Yine eş zamanlı tedavi uygulanan hasta sayısı, özellikle immünoterapi alan hastalarda beklediğimiz sinerjistik etkiyi göstermek için yetersiz kalmıştır. Çalışmamızda finansal yetersizliklerden dolayı, yalnızca CD4+ T hücre alt grupları değerlendirilebilmiştir, CD8+ T hücreler üzerinden olan immün yanıt belirlenememiştir.

7. KAYNAKLAR

1. Mole, R.H., Whole body irradiation; radiobiology or medicine? Br J Radiol, 1953. 26(305): p. 234-41.
2. Demaria, S., et al., Ionizing radiation inhibition of distant untreated tumors (abscopal effect) is immune mediated. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2004. 58(3): p. 862-70.
3. Zhu, J. and W.E. Paul, Peripheral CD4+ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors. Immunol Rev, 2010. 238(1): p. 247-62.
4. Takanen, S., et al., A Systematic Review on the Impact of Hypofractionated and Stereotactic Radiotherapy on Immune Cell Subpopulations in Cancer Patients. Cancers (Basel), 2022. 14(21).
5. Leksell, L., The stereotaxic method and radiosurgery of the brain. Acta Chir Scand, 1951. 102(4): p. 316-9.
6. Winston, K.R. and W. Lutz, Linear accelerator as a neurosurgical tool for stereotactic radiosurgery. Neurosurgery, 1988. 22(3): p.454-64.
7. Adler, J.R., Jr., et al., The Cyberknife: a frameless robotic system for radiosurgery. Stereotact Funct Neurosurg, 1997. 69(1-4 Pt 2): p. 124-8.
8. Brown, J.M., D.J. Carlson, and D.J. Brenner, The tumor radiobiology of SRS and SBRT: are more than the 5 Rs involved? Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2014. 88(2):p. 254-62.
9. Withers, H.R., The Four R's of Radiotherapy, in Advances in Radiation Biology, J.T. Lett and H. Adler, Editors. 1975, Elsevier. p. 241-271.

10. Olive, P.L., C.M. Vikse, and S. Vanderbyl, Increase in the fraction of necrotic, not apoptotic, cells in SiHa xenograft tumours shortly after irradiation. *Radiotherapy and Oncology*, 1999. 50(1): p. 113-119.
11. Wang, H.H., et al., Ablative Hypofractionated Radiation Therapy Enhances Non- Small Cell Lung Cancer Cell Killing via Preferential Stimulation of Necroptosis In Vitro and In Vivo. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2018. 101(1): p. 49-62.
12. Song, C.W., et al., Reoxygenation and Repopulation of Tumor Cells after Ablative Hypofractionated Radiotherapy (SBRT and SRS) in Murine Tumors. *Radiat Res*, 2019. 192(2): p. 159-168.
13. Lewanski, C.R. and W.J. Gullick, Radiotherapy and cellular signalling. *Lancet Oncol*, 2001. 2(6): p. 366-70.
14. Park, H., et al., Apoptosis and cell cycle progression in an acidic environment after irradiation. *Radiat Res*, 2000. 153(3): p. 295-304.
15. Kelada, O.J., et al., High Single Doses of Radiation May Induce Elevated Levels of Hypoxia in Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer Tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2018. 102(1): p. 174-183.
16. Nivet, A., et al., [Effects of high-dose irradiation on vascularization: Physiopathology and clinical consequences]. *Cancer Radiother*, 2019. 23(2): p. 161-167.
17. Park, H.J., et al., Radiation-induced vascular damage in tumors: implications of vascular damage in ablative hypofractionated radiotherapy (SBRT and SRS). *Radiat Res*, 2012. 177(3): p. 311-27.
18. Garcia-Barros, M., et al., Tumor response to radiotherapy regulated by endothelial cell apoptosis. *Science*, 2003.

300(5622): p. 1155-9.

19. Brenner, D.J., The linear-quadratic model is an appropriate methodology for determining isoeffective doses at large doses per fraction. *Semin Radiat Oncol*, 2008. 18(4): p. 234-9.
20. Kirkpatrick, J.P., J.J. Meyer, and L.B. Marks, The linear-quadratic model is inappropriate to model high dose per fraction effects in radiosurgery. *Semin Radiat Oncol*, 2008. 18(4): p. 240-3.
21. Leith, J.T., et al., Intrinsic and extrinsic characteristics of human tumors relevant to radiosurgery: comparative cellular radiosensitivity and hypoxic percentages. *Acta Neurochir Suppl*, 1994. 62: p. 18-27.
22. Friedman, E.J., Immune modulation by ionizing radiation and its implications for cancer immunotherapy. *Curr Pharm Des*, 2002. 8(19): p. 1765-80.
23. Harisiadis, L., G. Kopelson, and C.H. Chang, Lymphopenia caused by cranial irradiation in children receiving craniospinal radiotherapy. *Cancer*, 1977. 40(3):p. 1102-8.
24. Di Maggio, F.M., et al., Portrait of inflammatory response to ionizing radiation treatment. *J Inflamm (Lond)*, 2015. 12: p. 14.
25. Liu, J., et al., PD-1/PD-L1 Checkpoint Inhibitors in Tumor Immunotherapy. *Frontiers in Pharmacology*, 2021. 12.
26. Seidel, J.A., A. Otsuka, and K. Kabashima, Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapies in Cancer: Mechanisms of Action, Efficacy, and Limitations. *Front Oncol*, 2018. 8: p. 86.
27. Brooks, E.D. and J.Y. Chang, Time to abandon single-site irradiation for inducing abscopal effects. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019. 16(2): p. 123-135.

28. Zhuang, H., Abscopal effect of stereotactic radiotherapy combined with anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy: Mechanisms, clinical efficacy, and issues. *Cancer Commun (Lond)*, 2020. 40(12): p. 649-654.
29. Hwang, E.S., et al., T helper cell fate specified by kinase-mediated interaction of T-bet with GATA-3. *Science*, 2005. 307(5708): p. 430-3.
30. Zhou, L., et al., TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgammat function. *Nature*, 2008. 453(7192): p. 236-40.
31. Lazarevic, V., L.H. Glimcher, and G.M. Lord, T-bet: a bridge between innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*, 2013. 13(11): p. 777-89.
32. Szabo, S.J., et al., A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell*, 2000. 100(6): p. 655-69.
33. Szabo, S.J., et al., Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN- gamma production in CD4 and CD8 T cells. *Science*, 2002. 295(5553): p. 338-42.
34. Mathur, A.N., et al., T-bet is a critical determinant in the instability of the IL-17- secreting T-helper phenotype. *Blood*, 2006. 108(5): p. 1595-601.
35. Werneck, M.B., et al., T-bet plays a key role in NK-mediated control of melanoma metastatic disease. *J Immunol*, 2008. 180(12): p. 8004-10.
36. Peng, S.L., et al., T-bet regulates metastasis rate in a murine model of primary prostate cancer. *Cancer Res*, 2004. 64(2): p. 452-5.
37. Ivanov, II, et al., The orphan nuclear receptor RORgammat directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell*, 2006. 126(6): p. 1121-33.

38. Yang, X.O., et al., STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells. *J Biol Chem*, 2007. 282(13): p. 9358-9363.
39. Bhaumik, S. and R. Basu, Cellular and Molecular Dynamics of Th17 Differentiation and its Developmental Plasticity in the Intestinal Immune Response. *Front Immunol*, 2017. 8: p. 254.
40. Bresnick, E.H., et al., GATA switches as developmental drivers. *J Biol Chem*, 2010.285(41): p. 31087-93.
41. Bresnick, E.H., et al., Master regulatory GATA transcription factors: mechanistic principles and emerging links to hematologic malignancies. *Nucleic Acids Res*, 2012. 40(13): p. 5819-31.
42. Oestreich, K.J. and A.S. Weinmann, Master regulators or lineage-specifying? Changing views on CD4+ T cell transcription factors. *Nat Rev Immunol*, 2012. 12(11): p. 799-804.
43. Tindemans, I., et al., GATA-3 function in innate and adaptive immunity. *Immunity*, 2014. 41(2): p. 191-206.
44. Larmonier, N., et al., Tumor-derived CD4(+)CD25(+) regulatory T cell suppression of dendritic cell function involves TGF-beta and IL-10. *Cancer Immunol Immunother*, 2007. 56(1): p. 48-59.
45. deLeeuw, R.J., et al., The prognostic value of FoxP3+ tumor-infiltrating lymphocytes in cancer: a critical review of the literature. *Clin Cancer Res*, 2012. 18(11): p. 3022-9.
46. Chandra, R.A., et al., A systematic evaluation of abscopal responses following radiotherapy in patients with metastatic melanoma treated with ipilimumab. *Oncoimmunology*, 2015. 4(11): p. e1046028.

47. Weichselbaum, R.R., et al., Radiotherapy and immunotherapy: a beneficial liaison? *Nat Rev Clin Oncol*, 2017. 14(6): p. 365-379.
48. Navarro-Martín, A., et al., Preliminary Study of the Effect of Stereotactic Body Radiotherapy (SBRT) on the Immune System in Lung Cancer Patients Unfit for Surgery: Immunophenotyping Analysis. *Int J Mol Sci*, 2018. 19(12).
49. Rutkowski, J., et al., Changes in systemic immune response after stereotactic ablative radiotherapy. Preliminary results of a prospective study in patients with early lung cancer. *Pol Arch Intern Med*, 2017. 127(4): p. 245-253.
50. McGee, H.M., et al., Stereotactic Ablative Radiation Therapy Induces Systemic Differences in Peripheral Blood Immunophenotype Dependent on Irradiated Site. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2018. 101(5): p. 1259-1270.
51. Maehata, Y., et al., Immune responses following stereotactic body radiotherapy for stage I primary lung cancer. *Biomed Res Int*, 2013. 2013: p. 731346.
52. Gustafson, M.P., et al., Comprehensive assessment of circulating immune cell populations in response to stereotactic body radiation therapy in patients with liver cancer. *Adv Radiat Oncol*, 2017. 2(4): p. 540-547.
53. Formenti, S.C., et al., Radiotherapy induces responses of lung cancer to CTLA-4 blockade. *Nat Med*, 2018. 24(12): p. 1845-1851.
54. Shaw, E., et al., Single dose radiosurgical treatment of recurrent previously irradiated primary brain tumors and brain metastases: final

report of RTOG protocol 90-05. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2000. 47(2): p. 291-8.

55. Brown, P.D., et al., Postoperative stereotactic radiosurgery compared with whole brain radiotherapy for resected metastatic brain disease (NCCTG N107C/CEC-3): a multicentre, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2017. 18(8): p. 1049-1060.
56. Cox, B.W., et al., International Spine Radiosurgery Consortium consensus guidelines for target volume definition in spinal stereotactic radiosurgery. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012. 83(5): p. e597-605.
57. Lee, Y., et al., Therapeutic effects of ablative radiation on local tumor require CD8⁺ T cells: changing strategies for cancer treatment. *Blood*, 2009. 114(3): p. 589-95.
58. Stone, H.B., L.J. Peters, and L. Milas, Effect of host immune capability on radiocurability and subsequent transplantability of a murine fibrosarcoma. *J Natl Cancer Inst*, 1979. 63(5): p. 1229-35.
59. Lugade, A.A., et al., Local radiation therapy of B16 melanoma tumors increases the generation of tumor antigen-specific effector cells that traffic to the tumor. *J Immunol*, 2005. 174(12): p. 7516-23.
60. Yuan, C. and Q. Wang, Comparative analysis of the effect of different radiotherapy regimes on lymphocyte and its subpopulations in breast cancer patients. *Clin Transl Oncol*, 2018. 20(9): p. 1219-1225.
61. Mirjolet, C., et al., Tumor lymphocyte immune response to preoperative radiotherapy in locally advanced rectal cancer: The LYMPHOREC study. *Oncoimmunology*, 2018. 7(3): p.

e1396402.

62. Linares-Galiana, I., et al., Changes in peripheral immune cells after intraoperative radiation therapy in low-risk breast cancer. *J Radiat Res*, 2021. 62(1): p. 110-118.
63. Zhang, T., et al., Hypofractionated stereotactic radiation therapy activates the peripheral immune response in operable stage I non-small-cell lung cancer. *Sci Rep*, 2017. 7(1): p. 4866.
64. Zhuang, Y., et al., Association Between Circulating Lymphocyte Populations and Outcome After Stereotactic Body Radiation Therapy in Patients With Hepatocellular Carcinoma. *Front Oncol*, 2019. 9: p. 896.
65. Demaria, S., et al., Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 blockade in a mouse model of breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2005. 11(2 Pt 1): p. 728-34.
66. Dewan, M.Z., et al., Fractionated but not single-dose radiotherapy induces an immune-mediated abscopal effect when combined with anti-CTLA-4 antibody. *Clin Cancer Res*, 2009. 15(17): p. 5379-88.
67. Zeng, J., et al., Anti-PD-1 blockade and stereotactic radiation produce long-term survival in mice with intracranial gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2013. 86(2): p. 343-9.
68. Postow, M.A., et al., Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma. *N Engl J Med*, 2012. 366(10): p. 925-31.

8.ÖZET

STEREOTAKTİK RADYOTERAPİNİN SİSTEMİK İMMÜN YANIT ÜZERİNE ETKİSİ

Stereotaktik radyoterapinin, birçok kanserde tümöre yüksek doz tedavi uygulanarak tümör kontrolünü artırdığı gösterilmiştir. Konvansiyonel radyoterapiden farklı olarak bu etkide immün yanıtın da katkısı olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma, stereotaktik radyoterapinin bazı immün belirteçler kullanılarak sistemik immün yanıt üzerine etkisini araştırmaktadır.

Çalışmamıza stereotaktik radyoterapi uygulanan 66 hasta dahil edilmiştir. Tedavi öncesi ve ortalama 2 ay sonrasında toplanan periferik kan örneklerinde TBX21, GATA-3, ROR γ ve FoxP3 düzeyleri çalışılmıştır. Aynı zamanda rutin olarak olası başka bir inflamasyonu dışlamak amacıyla tam kan sayımı ve CRP düzeyleri çalışılmıştır.

Stereotaktik radyoterapi sonrasında tüm hasta gruplarında TBX21, GATA-3 ve FoxP3 düzeylerinde anlamlı olarak azalma görülmüştür. Bu parametrelerden TBX21 ile PTV hacmi ve BED10 değerleri arasında pozitif bir ilişki saptanmıştır.

Stereotaktik radyoterapi sonrası immüsupresif Treg ile ilişkili FoxP3 düzeylerinin ve Th2 ile ilişkili GATA-3 düzeylerinin azalması stereotaktik radyoterapinin özellikle Th2 ve Treg hücreleri baskılayarak immün yanıtı artırdığını göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler: TBX21, GATA-3, ROR γ , FoxP3, imm n yanıt,
stereotaktik radyoterapi**



9.ABSTRACT

Stereotactic radiotherapy has been shown to increase tumor control by delivering high-dose treatment to the tumor in many cancers. Unlike conventional radiotherapy, it is believed that this effect is also contributed by the immune response. This study investigates the effect of stereotactic radiotherapy on systemic immune response using some immune markers.

A total of 66 patients who underwent stereotactic radiotherapy were included in our study. Peripheral blood samples were collected before treatment and at an average of 2 months afterwards to measure the levels of TBX21, GATA-3, ROR γ , and FoxP3. Additionally, complete blood count and CRP levels were analyzed to rule out any possible inflammation.

Following stereotactic radiotherapy, a significant decrease in TBX21, GATA-3 and FoxP3 levels were observed in all patient groups. Among these parameters, a positive correlation was found between TBX21 and PTV volume as well as BED10 values.

After stereotactic radiotherapy, the decrease in immunosuppressive Treg-associated FoxP3 levels and Th2-associated GATA-3 levels has been shown to enhance the immune response, particularly by suppressing Th2 and Treg cells.

Keywords: TBX21, GATA-3, ROR γ , FoxP3, immune response, stereotactic radiotherapy

10.EK-1- ETİK KURUL ONAYI

Sayı: 017
Konu: Toplantı Kararları

Tarih: 09. 08. 2022

Sayın Prof. Dr. Hüseyin Bekir
Proje Yürütücüsü

Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 25.07.2022 tarihinde yapmış olduğu toplantı kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Stereotaktik Radyoterapinin Sistemik İmmün Yanıt Üzerine Etkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Ofisi Kat:6 06500 Beşevler - ANKARA
	TELEFON	031 202 69 58
	FAKS	0 312 202 46 73
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Hüseyin BORA		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı		
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi		
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-		
	DESTEKLEYİCİ	GÜ Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)		
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	Prof. Dr. Hüseyin BORA (Proje Yürütücüsü) (Yardımcı araştırmacılar) Dr.Aybala Nur Üçgül, Prof.Dr.Özlem Gülbahar, Dr.Gizem Yaz Aydın		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-		
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐	
		FAZ 2	☐	
		FAZ 3	☐	
		FAZ 4	☐	
		Gözlemsel ilaç çalışması	☐	
		Tıbbi cihaz klinik araştırması	☐	
		In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları	☐	
		İlaç dışı klinik araştırma	☐	
		Diğer ise belirtiniz: Yöntem Klinik Araştırması		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒
				ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının Adı Soyadı, İmzası:
Prof. Dr. Ebru ARHAN

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Stereotaktik Radyoterapinin Sistemik İmmün Yanıt Üzerine Etkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	-

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	18.07.2022	Ver.2	Türkçe ☒	İngilizce ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	18.07.2022	Ver.2	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	18.07.2022	Ver.2	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	12.04.2022	Ver.1	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama
		SIGORTA
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒ 18.07.2022 Ver.2
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐
	İLAN	☐
	YILLIK BİLDİRİM	☐
	SONUÇ RAPORU	☐
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐
	DİĞER:	☒ TITCK'nın 21.06.2022 tarih ve E-66175679-514.04.03-791660 sayılı yazısına istinaden Araştırma Protokolü, Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (BGOF) Olgı Rapor Formu(ORF) ve Bütçe Formu'nun revize edildiğini beyan eden bildirim Etik Kurulumuzca incelenerek uygun bulunmuştur. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. Ek1:Revize edilmiş Araştırma Protokolü, BGOF, Olgı Rapor Formu (ORF) ve Bütçe Formu tarih 18.07.2022 Ver.no 2

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 613	Tarih: 25.07.2022
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU							
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI				İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik İyisi Klinik Uygulamaları Kılavuzu			
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI				Prof. Dr. Ebru ARHAN			
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırmayla ilişkisi	Katılım	İmza	
Prof. Dr. Ebru ARHAN BAŞKAN	Çocuk Sağ. ve Hast. AD. Nöroloji BD	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		
Doç. Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN BAŞKAN YARD.	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐		

Prof. Dr. Aşlin SEPİCİ DİNÇEL BİLDİRİMLERDEN SORUMLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN ÜYE	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Ö. Sezai LEVENTOĞLU ÜYE	Genel Cerrahi Anabilim Dalı	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Çiğdem ÖZER ÜYE	Fizyoloji AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Çiğdem ATAMAN HATİPOĞLU ÜYE	Enfeksiyon Hast ve Klinik Mik Kliniği AD.	Sağ. Bil. Üniv Ankara Eğt Araştırma Hastanesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Müge AYDOĞDU	Göğüs Hastalıkları AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Hamit KÜÇÜK ÜYE	İç Hastalıkları AD Romatoloji BD	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Halit Nihat ŞENDUR ÜYE	Radyoloji AD.	GÜTF	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Öğr. Gör. Dr. İrem EKMEKÇİ ERTEK ÜYE	Psikiyatri AD.	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Öğr. Gör. Dr. Cansu ÖZBAŞ ÜYE	Halk Sağlığı	GÜTF	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
İpek GÜVENÇ ÜYE	Hukukçu	Ankara Barosu	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Nejla CAN GÜLER ÜYE	Sivil Temsilci	Sağ. Bak. Avrupa Birl. ve Dış İliş. Gn. Md.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

Etik Kurul Başkanının Adı Soyadı, İmzası:
Prof. Dr. Ebru ARHAN