



# Hipoksi Görüntüleme Belirteçleri ve Radyoterapideki Potansiyel Yeri

## Hypoxia Imaging Markers and Their Potential Roles in Radiotherapy

© Dilek Gül<sup>1</sup>, © Beste Atasoy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Radyasyon Onkolojisi Kliniği, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, İstanbul

### Öz

Hipoksi, hücrelerde oksijen üretim ve tüketimi arasındaki dengesizlikten kaynaklanan ve solid tümörlerde sık rastlanan bir durumdur. Hipoksik hücreler artmış anjiyogenez, invazyon, metastaz, metabolik değişim ve genomik instabilitenin yanında tedaviye direncin ve kötü prognozun bir göstergesidir. Radyoterapi sırasında tümör hipoksisini aşmayı amaçlayan farmakolojik müdahaleler, hipoksik hücrelerde seçici olarak aktive olan ön ilaçları veya hipoksik hücre hayatta kalımında rol oynayan moleküler hedeflerin inhibitörlerini içerir. Bu uygulamalar çeşitli nedenlerle klinikte yeterince yer bulamamıştır. Bununla birlikte hipoksi açısından uygulanacak stratejilerden en çok fayda sağlayan hastayı belirlemek kritiktir. Hipoksik alanlarda radyoterapi dozunu düzenlemek tümör kontrolünde önemli olabilir. Görüntüleme teknikleri modern radyoterapi tekniklerinin yaygın olarak kullanıldığı günümüzde tümörün hipoksik bölgelerini göstermeyi sağlayarak radyoterapi planlaması ve reçetelemesinde modifikasyonlara imkan verebilir. Tümör hipoksisini ortaya koymada hipoksik radyofarmasötiklerin yer aldığı pozitron emisyon tomografisinin radyoterapi ile kullanımına dair bilgi birikimi artmaktadır. Bu derlemede, radyoterapi sırasında tümör hipoksisinin davranışını karakterize ederek tümöre ve hastaya özel tedavi geliştirmede hipoksi görüntüleme belirteçlerinin yeri araştırılacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Hipoksi görüntüleme belirteçleri, PET, radyoterapi, tümör hipoksisi

### Abstract

Hypoxia is a condition arising from an imbalance between oxygen production and consumption in cells, commonly observed in solid tumors. Hypoxic cells, indicative of increased angiogenesis, invasion, metastasis, metabolic changes, and genomic instability, also serve as markers for treatment resistance and poor prognosis. Pharmacological interventions aimed at overcoming tumor hypoxia during radiotherapy include prodrugs selectively activated in hypoxic cells or inhibitors targeting molecular factors crucial for hypoxic cell survival. Despite these efforts, such interventions have not gained sufficient traction in clinical settings for various reasons. However, identifying patients who would benefit most from strategies targeting hypoxia is critical. Modifying radiotherapy doses in hypoxic areas may significantly impact tumor control. In the era of modern radiotherapy techniques, imaging methods allowing visualization of hypoxic regions within tumors have the potential to modify radiotherapy planning and prescription. Knowledge regarding the use of hypoxia-specific radiopharmaceuticals in positron emission tomography for radiotherapy is expanding. This review aims to explore the role of hypoxia imaging markers in characterizing tumor hypoxia behavior during radiotherapy, with the goal of developing personalized treatments for both the tumor and the patient.

**Keywords:** Hypoxia imaging markers, PET, radiotherapy, tumor hypoxia

### Giriş

Doku oksijenasyonundaki yetersizlik olarak bilinen hipoksi, tümör tedavisinde dirençten sorumlu tutulan

ve prognozu olumsuz etkileyen faktörlerden biridir (1). Özellikle radyasyon direncini (radyorezistansı) artırdığı bilindiğinden beri tümör hipoksisini aşmak adına

### Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Prof. Dr. Beste Atasoy, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, İstanbul  
Tel.: +90 216 6254739 E-posta: bmatasoy@marmara.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0003-1320-9105



This work is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.  
Bu içerik, Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 ile lisanslanmıştır.

çeşitli stratejiler geliştirilmeye çalışılmıştır (2,3,4,5). Ancak tüm bu gelişmelere rağmen, hipoksik durumun iyileştirilmesinin sonuçları istenildiği gibi pratiğe yansımamıştır. Dozun hedef içinde modüle edilebildiği yoğunluk ayarlı radyoterapi teknikleri, küçük hacimlere ablatif dozları uygulamayı sağlayan stereotaktik cihazlar ve yöntemler, proton ve karbon iyon gibi relatif biyolojik etkinliği ve derin doz dağılımı fotondan farklı ışınlar radyoterapide tedavi sonuçlarını iyileştirerek daha geniş uygulama alanları sağlayan gelişmelerdir (6).

Tümörde (hedefte) yüksek dozu normal dokuları koruyarak vermeyi amaçlayan bu gelişmeler doz eskalasyonu denilen, reçete edilen dozda değişiklikler yapabilme şansını artırılabilir (7). Bu uygulamalarda doğru hastanın uygun tedavi için seçilmesinin önemi giderek artmaktadır. Bunlardan biri de hipoksiden zengin tümörlerin tedavisinde hangi yöntemin daha iyi sonuç vereceğinin belirlenmesi olabilir (8). Şüphesiz bunun ilk şartı tümör dokusunda hipoksik hücrelerin/alanların yerinin mümkün olan en doğru şekilde gösterilebilmesi ve ölçülebilmesidir. Tıbbi görüntüleme ile ilerlemeler tümördeki hipoksik bölgelerin belirlenmesi ve karakterize edilmesi konusunda giderek gelişmektedir. Hipoksik alanları belirlemeye yardımcı farmasötiklerle yapılan pozitron emisyon tomografisinin (PET) radyoterapi planlama sürecine dahil edilmesi bireyselleştirilmiş tedavilerin düzenlenebilmesine, tedavi cevabının izlenmesine ve farklı tedavi modalitelerinin bir arada kullanımındaki başarının artmasına imkan sağlayabilir (9). Bu makalede, tümörün hipoksik alanlarının yerinin belirlenmesinin (haritalanmasının) radyoterapi planlamasına ve tedavi sonuçlarının iyileştirilmesine katkısı ve gelecekteki potansiyeli literatür ışığında özetlenecektir.

#### **Tümör Hipoksisi ve Radyoterapi Direnci**

Solid tümörlerde oksijen düzeyinin  $\leq 15,2-22,8$  mmHg değerine ve %2-3 düzeyine kadar düşmesi olarak tanımlanan hipoksi tümöre ve kişiye göre heterojenite gösterebilir (10,11). Tümörde hipoksi, özellikle hızlı proliferasyon alan hücrelerde oksijen arzı ve talebi arasındaki dengesizlikten kaynaklanır ve tümör neovaskülerizasyona neden olur (11,12). Hipoksik ortamda hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 alfanın (HIF-1 $\alpha$ ) stabilize olması endojen bir tetikleyici olup anjiyogenez, lokal invazyon, hücre proliferasyonu ve metastazı tetikleyen genlere ekspresyon yolunu açar (13,14).

Oksijenin radyoterapinin etkinliğini artırmadaki kritik rolü uzun yıllardır bilinmektedir (2,5,15,16). İyonlaştırıcı radyasyonun hücre düzeyindeki su ile etkileşimi sonucu

serbest oksijen radikalleri oluşur. Radyoterapinin hücre düzeyindeki en kritik etkisi olan DNA hasarı, direkt ve çoğu indirekt olarak oluşan serbest radikallere bağlıdır (17). Serbest radikal oluşumu oksijenin varlığında gerçekleşir. Anlaşılabileceği gibi hipoksik/anoksik ortamda bu radikallerin oluşumu azalır ve radyoterapiye direnç hücre düzeyinde başlar. Radyoterapi direncine neden olan ciddi hipokside oksijen düzeyi  $<0,13$ ,  $<0,988$  mmHg'ye düşer. Oksijenin  $<0,02$ ,  $<0,15$  mmHg olması durumunda ise radyoterapiye maksimum dirençten söz edilebilir. Bu durumda radyoterapiye bağlı hücre ölümü hipoksik-anoksik hücrelerde oksijenlenmiş hücrelere göre üç kat daha azdır (18,19).

#### **Tümör Hipoksisi Ölçme, Değerlendirme Yöntemleri ve Klinik Uygulamalar**

Tümör oksijenasyonu oldukça heterojendir ve doğrudan ölçülmesi zordur (20). Doku ve tümör oksijenasyonunu doğrudan gösteren ve kısmi oksijen basıncını değerlendiren eppendorf O<sub>2</sub> polarografik iğne elektrodu, invaziv olması, mekansal ve zamansal çözünürlüğün olmaması nedeniyle klinik rutine girememiştir (21). Bunun dışında patoloji preparatlarında immünohistokimyasal boyamayla HIF-1 $\alpha$  ve karbonik anhidraz IX (CAIX) gibi hipoksi ile ilişkili biyobelirteçler kullanılarak tümör hipoksisi hakkında bilgi sahibi olunabilir (21,22).

Tümör hipoksisini değerlendirmede artan oranda araştırılan bir diğer yöntem de multiparametrik manyetik rezonans görüntülemesidir (mpMRG) (23). Radyoterapi açısından bu yöntemdeki zorluklardan biri tümörün çevre normal dokudan ayrımında (örnek olarak prostat kanserinde) güçlük olmasıdır. Bu nedenle görüntülemeyle histopatolojik ve genomik verilerin birlikte değerlendirilmesi önerilmektedir. Öte yandan orta ve yüksek riskli prostat kanseri tanılı hastalarda mpMRG kullanılarak yapılan bir faz III çalışmada tedavi dozunu 77 Gy'den fokal alanda (fokal boost) 95 Gy'e çıkarmanın sonuçlar üzerine etkisi incelenmiştir (24). Beş yıllık biyokimyasal hastalısız sağkalım sonuçları anlamlı olarak daha iyi bulunmuştur (%92'ye karşılık %85; hazard ratio 0,45, %95 güven aralığı, 0,28- 0,71,  $p<0,001$ ). Geç toksisiteyi artırmayan bu doz eskalasyonunun genel sağkalıma etkisi gösterilememiştir.

Tümör hipoksisini belirlemede metabolik görüntüleme adına çalışmalar giderek artmaktadır. Hipoksi için PET ile görüntüleme en sık kullanılan radyofarmasötikler arasında F-18 fluoromisonidazol (FMISO),  $\beta$ -F-18 Fluoroazomysinarabinosid (FAZA), F-18 Fluoroeritronitroimidazol (FETNM),

F-18 2-Nitroimidazolpentafluoropropilasetamid (EF5) ve F-18 flortanidazol (HX4) bulunmaktadır (25,26,27,28,29,30,31). Bu görüntülemelerden FMISO ve FAZA'nın tümör hipoksisinin görüntülenmesindeki önemine dair çalışmalar değer kazanmıştır. Her iki farmasötik de hipoksik koşullar altında yüksek oranda reaktif oksijen radikallerine geri dönüşümlü olarak indirgenir. Oksijen radikalleri, 5 ila 10 mmHg'nin altındaki düşük PO<sub>2</sub> değerlerinde hücre içi makromoleküllere bağlanır ve hipoksik hücreler içinde hapsolür. Tümör radyosensitivitesi 10 mmHg'lik bir oksijen kısmî basıncının altına aşamalı olarak düştüğü için bu PO<sub>2</sub> eşığı radyoterapide özellikle önemlidir (12,13).

Baş ve boyun kanseri tanılı hastalarda tümörlerde artan FMISO tutulumunun genel sağkalımı olumsuz etkilediği bildirilmiştir (30). Bununla birlikte, FMISO'nun kullanımının sınırlı olma nedeni misonidazolün geç görüntülemeyi engelleyen nispeten kısa (50 dakika) biyolojik yarılanma ömrüdür (31). Bu nedenle hipoksik alanlarda artan eser birikim normoksik doku ile hipoksik alanlar arasında injeksiyondan sonraki birkaç saat içinde görüntü kalitesinde azalmaya neden olabilir. Ek olarak, FMISO ile görüntüleme, normoksik dokuda spesifik olmayan yüksek tutulum olabileceği gibi bazı tümör tiplerinde hiç tutulum olmayabileceğine dair kanıtlar bildirilmiştir (32). Alternatif olarak, ikinci nesil bir nitroimidazol olan FAZA, FMISO'ya kıyasla daha düşük lipoflikliğe sahiptir. Bu nedenle daha yüksek perfüzyon ve kandan daha hızlı klirensle daha iyi tümör arka plan oranı (tumor background ratio-TBR) sağlayabilmektedir (27,28,29).

#### **Hipoksinin Görüntülenme Belirteçleri ve Radyoterapi**

Tümör ya da hedefte maksimum dozu sağlarken kritik yapılarda dozu sınırlayan yoğunluk ayarlı (modülasyonlu) radyoterapi (IMRT) tüm radyoterapi kliniklerinde uygulanabilmektedir. Metabolik ve anatomik tümör bilgilerinin aynı anda elde edilebildiği PET'ten ve bilgisayarlı tomografiden (PET/BT) IMRT tedavi planlamasında sıklıkla yararlanılmaktadır (33). Bununla birlikte, hipoksik tümörleri olan hastaların tanımlanması, hipoksiye bağlı radyoterapi doz artımı (eskalasyon) ya da azaltımı (de-eskalasyon) yapılabilmesi ve hipoksideki değişikliklerin bir tedavi cevabı olarak izlenmesi günümüzde araştırma aşamasındadır (34).

Metabolik ve fonksiyonel görüntüleme yöntemlerinden yararlanarak tümörde (hedefte) tek düze olmayan (nonuniform) doz dağılımı elde etmek doz boyama (dose painting) olarak bilinmektedir (35). Doz

boyama ile radyoterapi reçetelerinin özelleştirilmesi ve radyodirençli bölgelerde hipoksi görüntüleme belirteçleri kullanılarak dozun seçici olarak artırılması yöntemin potansiyelidir. Henüz rutin klinik uygulamaya girmese de tümör hipoksisine bağlı rekürrens ve progresyonun sık izlendiği tümörler (örneğin; baş boyun tümörleri, yüksek dereceli glial tümörler) "hipoksi hedefli kişileştirilmiş radyoterapi" için başlıca adaylar arasındadır (36,37,38,39,40). Tıpkı IMRT'de olduğu gibi yoğunluk ayarlı proton tedavisi (IMPT) vb. farklı radyoterapi tekniklerinde de doz boyama ile tedavi modifikasyonu araştırma aşamasındadır (41,42,43).

Teknik olarak hipoksi içeren görüntüleri doz reçetelerine çevirmek için iki ayrı yöntem önerilmektedir. Bunlar konturla doz boyama (dose painting by contouring-DPBC) ve sayıyla doz boyamadır (dose painting by numbers-DPBN) (35). Bunlardan modelleme çalışmalarında özellikle DPBC ile hipoksi hedefli nonuniform doz dağılımıyla tümör kontrol olasılığını artırmada başarı sağlanabileceği gösterilmiştir (44,45,46). Klinik deneyim olarak iki ayrı FMISO PET ile yapılan faz II çalışma, hipoksi hedefli doz boyama ile doz eskalasyonunun sağlanabileceği görülmektedir (47,48). Vera ve ark. (47) küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastalarında radyoterapi dozunu hipoksik hacimlerde %130 artırırken, Welz ve ark. (48) baş boyun kanserli hastalarda %110 artırabilmişlerdir. Tümör kontrolün sonlanım noktası olduğu bu çalışmalardan akciğer kanserinde FMISO uptake'indeki artışla 86 Gy'lik doz eskalasyonuna gidilmiş ancak tümör kontrolünde başarı sağlanamamıştır. Araştırmacılar çalışmada toplam radyoterapi süresinin uzamasının akselere repopülasyon nedeniyle başarısızlığa neden olduğunu bu nedenle simültane integre boost tekniği ile tedavi yapılmasının araştırılabileceğini vurgulamaktadır (47). Az sayıda hasta içerse de baş boyun kanserli hastalarda yapılan çalışmalar hipoksi hedefli radyoterapi için umut vadetmektedir (49,50). Choi ve ark. (49) sekiz hastanın altısında 72 Gy'den (fraksiyon başına 2,4 Gy) 78 Gy'ye (fraksiyon başına 2,6 Gy) doz artışının uygulanabilirliğini göstermiştir. Hendrickson ve ark. (50) tümör kontrol olasılığında %17'lik bir artışı öngörerek 10 hastalık bir kohortta her hasta için 10 Gy'lik bir doz artışı sağlamıştır. FMISO PET ile yapılan diğer çalışmalar rektum ve pankreas tümörleri üzerindedir (9,51). Bunlardan pankreas kanseri tanılı yedi hastada tipik PET'teki metabolik aktivite ile tümör boyutu arasında bir ilişki gösterilememiş, hipoksi ise yalnızca iki hastada tespit edilebilmiştir (51).

Tersi bir soru, hipoksik hacim içermediği gösterilen tümörlerde total radyoterapi dozunda güvenli bir şekilde

standart dozların altına inilip inilemeyeceği olabilir. Orofarenks kanserinde insan papilloma virüsünün (HPV) varlığında radyosensitivitenin arttığı ve prognozun daha iyi olduğu bilinmektedir (52). Bu amaçla HPV pozitif hasta grubunda prospektif de-eskalasyon çalışması yapılmıştır (53,54). Radyoterapi başında standart florodeoksiglukoz PET'e ek olarak FMISO PET yapılarak tümör hipoksisi olmayan hastalara 30 Gy radyoterapi ve eş zamanlı kemoterapi uygulanmıştır. Bu hastalardaki ilk sonuçlar yüz güldürücüdür.

Radyoterapinin hipoksik bölgelerdeki etkinliğini artırmak için tiripazamin gibi hipoksik radyosensitizanların eş zamanlı uygulanması kombinasyon tedavilerinin geliştirilmesine rehberlik edebilir. Rischin ve ark. (55) çalışmalarında tedavi öncesi FMISO PET ile tümör hipoksisi gösterilen hastalarda hipoksik hücrelerde sitotoksik özelliği olan tiripazamin grubunda kontrol grubuna göre prognostik ve prediktif olarak anlamlı iyileşme göstermişlerdir.

Yoğunluk ayarlı proton tedavisi (IMPT) gibi partiküler tedavilerde etkinlik açısından oksijen bağımlılığının foton enerjisi ile yapılan radyoterapiye göre çok daha az olduğu bilinmektedir (41,42). Bununla birlikte hipoksi temelli doz boyamanın IMPT için geçerliliği de bir başka araştırma konusudur (39,40,41,42,43). Bir başka farmasötik olan Cu-64/Cu-67 ile yapılan metabolik görüntülemenin radyoterapideki yeriyle ilgili çalışmalar da sürmektedir (56). Bunun yanında hipoksik radyofarmasötik PET ve mpMRG'nin birlikte kullanıldığı çalışmaların artması beklenmektedir.

#### **Hipoksi Belirteçlerinin Radyoterapideki Potansiyeli Açısından Sorular**

İdeal bir hipoksi belirtecinin nekrozla hipoksiyi ayırt edebilmesi, farklı merkezlerde üretilebilir ve uygulanabilir olması, uygulama kolaylığı, süre ve maliyet açısından avantaj sağlaması beklenir. Ne yazık ki günümüzde hiçbir belirteç tüm kriterleri karşılamamaktadır (57).

Radyoterapide amaç tümörün tamamında hücre ölümüne neden olmak değil, öncelikle çoğalma potansiyeline sahip tüm klonojenik hücrelerin öldürülmesidir. Hipoksik fragmanda bulunmayan ve doz eskalasyonu gerektiren klonojenik hücreler tümörün normoksik alanların da yer alabilir. Bu nedenle görüntüleme yöntemlerinde gelişmeler radyoterapi açısından da önemlidir (58).

Hipoksik bölgelerin hacim olarak büyüklüğü de tedavi modifikasyonunda rol alabilir. Küçük hacimli hipoksik alanlar daha az sayıda klonojenik hücre içerebilir ve doz eskalasyonuna daha az ihtiyaç gösterebilir.

Kişiselleştirilmiş doz boyamada bu özelliğin dikkate alınması henüz belirsizliğini korumaktadır (59).

Radyoterapi sürecinde ardışık görüntüleme, hipoksi seviyelerindeki değişiklikleri izlemeye yardımcı olabilir adaptif tedavi planlamaya olanak tanıyarak optimal terapötik sonuçlar adına katkı sağlayabilir. Ancak adaptif tedaviler için hipoksik belirteçlerle görüntüleme henüz inceleme aşamasındadır (60).

#### **Sonuç**

Hipoksi görüntüleme belirteçleri, radyasyon onkolojisindeki gelişmelere tedavi etkinliği, bireyselleştirilmiş tedavi ve prognoz belirleme açısından değer katma potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte çalışmalardan elde edilen kanıtlar hipoksi hedefli doz eskalasyonu başta olmak üzere rutin klinik uygulamalara geçmek için henüz erkendir. Gelişmeler ışığında hipoksi görüntüleme yöntemlerinin radyoterapi tedavi planlama sürecine entegre edilmesi birkaç potansiyel fayda sağlayabilir. Hipoksi hedefli kişiselleştirilmiş radyoterapinin diğer tedavilerle kombinasyonun klinik uygulamasında mevcut sınırlamaları ve belirsizlikleri ele almak için de ek araştırmalara ihtiyaç vardır. Konu güncel ve gelişmeye açıktır.

#### **Kaynaklar**

1. Larionova I, Rakina M, Ivanyuk E, Trushchuk Y, Chernyshova A, Denisov E. Radiotherapy resistance: identifying universal biomarkers for various human cancers. *J Cancer Res Clin Oncol* 2022;148:1015-1031.
2. Overgaard J. Hypoxic radiosensitization: adored and ignored. *J Clin Oncol* 2007;25:4066-4074.
3. Overgaard J, Hansen HS, Overgaard M, Bastholt L, Berthelsen A, Specht L, Lindeløv B, Jørgensen K. A randomized double-blind phase III study of nimorazole as a hypoxic radiosensitizer of primary radiotherapy in supraglottic larynx and pharynx carcinoma. Results of the Danish Head and Neck Cancer Study (DAHANCA) Protocol 5-85. *Radiother Oncol* 1998;46:135-146.
4. Song YP, Mistry H, Irlam J, Valentine H, Yang L, Lane B, West C, Choudhury A, Hoskin PJ. Long-Term Outcomes of Radical Radiation Therapy with Hypoxia Modification with Biomarker Discovery for Stratification: 10-Year Update of the BCON (Bladder Carbogen Nicotinamide) Phase 3 Randomized Trial (ISRCTN45938399). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2021;110:1407-1415.
5. Stępień K, Ostrowski RP, Matyja E. Hyperbaric oxygen as an adjunctive therapy in treatment of malignancies, including brain tumours. *Med Oncol* 2016;33:101.
6. Li Y, Jiang Y, Qiu B, Sun H, Wang J. Current radiotherapy for recurrent head and neck cancer in the modern era: a state-of-the-art review. *J Transl Med* 2022;20:566.

7. Atwell D, Elks J, Cahill K, et al. A Review of Modern Radiation Therapy Dose Escalation in Locally Advanced Head and Neck Cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2020;32:330-341.
8. Krause M, Alsner J, Linge A, Bütof R, Löck S, Bristow R. Specific requirements for translation of biological research into clinical radiation oncology. *Mol Oncol* 2020;14:1569-1576.
9. Grimes DR, Warren DR, Warren S. Hypoxia imaging and radiotherapy: bridging the resolution gap. *Br J Radiol* 2017;90:20160939.
10. Harrison DK, Vaupel P. Heterogeneity in tissue oxygenation: from physiological variability in normal tissues to pathophysiological chaos in malignant tumours. *Adv Exp Med Biol* 2014;812:25-31.
11. Horsman MR, Overgaard J. The impact of hypoxia and its modification of the outcome of radiotherapy. *J Radiat Res* 2016;57(Suppl 1):i90-i98.
12. Gallez B. The Role of Imaging Biomarkers to Guide Pharmacological Interventions Targeting Tumor Hypoxia. *Front Pharmacol* 2022;13:853568.
13. Vaupel P, Harrison L. Tumor hypoxia: causative factors, compensatory mechanisms, and cellular response. *Oncologist* 2004;9(Suppl 5):4-9.
14. Belozherov VE, Van Meir EG. Hypoxia inducible factor-1: a novel target for cancer therapy. *Anticancer Drugs* 2005;16:901-909.
15. Gray LH, Conger AD, Ebert M, Hornsey S, Scott OC. The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy. *Br J Radiol* 1953;26:638-648.
16. Thomlinson RH, Gray LH. The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *Br J Cancer* 1955;9:539-549.
17. Kumar A, Becker D, Adhikary A, Sevilla MD. Reaction of Electrons with DNA: Radiation Damage to Radiosensitization. *Int J Mol Sci* 2019;20:3998.
18. Joiner M, Avd Kogel. *Basic Clinical Radiobiology*. London: Hodder Arnold, 2009.
19. Hall EJ, Giaccia AJ. *Radiobiology for the Radiologist*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
20. Vaupel P. *Tumor hypoxia: pathophysiology, clinical significance and therapeutic perspectives; with 19 tables*. Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft; 1999.
21. Nordmark M, Bentzen SM, Overgaard J. Measurement of human tumour oxygenation status by a polarographic needle electrode. An analysis of inter- and intratumour heterogeneity. *Acta Oncol* 1994;33:383-389.
22. Le QT, Courter D. Clinical biomarkers for hypoxia targeting. *Cancer Metastasis Rev* 2008;27:351-362.
23. Khoo A, Liu LY, Sadun TY, et al. Prostate cancer multiparametric magnetic resonance imaging visibility is a tumor-intrinsic phenomena. *J Hematol Oncol* 2022;15:48.
24. Kerkmeijer LGW, Groen VH, Pos FJ, et al. Focal Boost to the Intraprostatic Tumor in External Beam Radiotherapy for Patients With Localized Prostate Cancer: Results From the FLAME Randomized Phase III Trial. *J Clin Oncol* 2021;39:787-796.
25. Even AJ, van der Stoep J, Zegers CM, Reymen B, Troost EG, Lambin P, van Elmpt W. PET-based dose painting in non-small cell lung cancer: Comparing uniform dose escalation with boosting hypoxic and metabolically active sub-volumes. *Radiother Oncol* 2015;116:281-286.
26. Lopci E, Grassi I, Chiti A, et al. PET radiopharmaceuticals for imaging of tumor hypoxia: a review of the evidence. *Am J Nucl Med Mol Imaging* 2014;4:365-384.
27. Fleming IN, Manavaki R, Blower PJ, et al. Imaging tumour hypoxia with positron emission tomography. *Br J Cancer* 2015;112:238-250.
28. Halmos GB, Bruine de Bruin L, Langendijk JA, van der Laan BF, Pruim J, Steenbakkers RJ. Head and neck tumor hypoxia imaging by 18F-fluoroazomycin-arabinoside (18F-FAZA)-PET: a review. *Clin Nucl Med* 2014;39:44-48.
29. Mapelli P, Callea M, Fallanca F, et al. 18F-FAZA PET/CT in pretreatment assessment of hypoxic status in high-grade glioma: correlation with hypoxia immunohistochemical biomarkers. *Nucl Med Commun* 2021;42:763-771.
30. Rajendran JG, Schwartz DL, O'Sullivan J, et al. Tumor hypoxia imaging with [F-18] fluoromisonidazole positron emission tomography in head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:5435-5441.
31. Lee ST, Scott AM. Hypoxia positron emission tomography imaging with 18f-fluoromisonidazole. *Semin Nucl Med* 2007;37:451-461.
32. Roels S, Slagmolen P, Nuyts J, et al. Biological image-guided radiotherapy in rectal cancer: is there a role for FMISO or FLT, next to FDG? *Acta Oncol* 2008;47:1237-1248.
33. Francolini G, Morelli I, Carnevale MG, et al. Integration between Novel Imaging Technologies and Modern Radiotherapy Techniques: How the Eye Drove the Chisel. *Cancers (Basel)* 2022;14:5277.
34. Horsman MR, Mortensen LS, Petersen JB, Busk M, Overgaard J. Imaging hypoxia to improve radiotherapy outcome. *Nat Rev Clin Oncol* 2012;9:674-687.
35. Bentzen SM, Gregoire V. Molecular imaging-based dose painting: a novel paradigm for radiation therapy prescription. *Semin Radiat Oncol* 2011;21:101-110.
36. Overgaard J. Hypoxic modification of radiotherapy in squamous cell carcinoma of the head and neck--a systematic review and meta-analysis. *Radiother Oncol* 2011;100:22-32.
37. Bourhis J, Sire C, Graff P, et al. Concomitant chemoradiotherapy versus acceleration of radiotherapy with or without concomitant chemotherapy in locally advanced head and neck carcinoma (GORTEC 99-02): an open-label phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol* 2012;13:145-153.
38. Mapelli P, Picchio M. 18F-FAZA PET imaging in tumor hypoxia: A focus on high-grade glioma. *Int J Biol Markers* 2020;35(Suppl 1):42-46.

39. Lee NY, Sherman EJ, Schöder H et al. The 30 ROC trial: Precision Intra-Treatment Imaging Guiding Major Radiation Reduction in Human Papillomavirus Related Oropharyngeal Cancer. Wolter Kluwer Health, 2021.
40. Boeke S, Thorwarth D, Mönnich D, et al. Geometric analysis of loco-regional recurrences in relation to pre-treatment hypoxia in patients with head and neck cancer. *Acta Oncol* 2017;56:1571-1576.
41. Flynn RT, Bowen SR, Bentzen SM, Rockwell Mackie T, Jeraj R. Intensity-modulated x-ray (IMXT) versus proton (IMPT) therapy for therapeutic hypoxia-based dose painting. *Phys Med Biol* 2008;53:4153-4167.
42. Malinen E, Søvik Å. Dose or 'LET' painting--What is optimal in particle therapy of hypoxic tumors? *Acta Oncol* 2015;54:1614-1622.
43. Bassler N, Jäkel O, Søndergaard CS, Petersen JB. Dose- and LET-painting with particle therapy. *Acta Oncol* 2010;49:1170-1176.
44. van Diessen J, De Ruyscher D, Sonke JJ, et al. The acute and late toxicity results of a randomized phase II dose-escalation trial in non-small cell lung cancer (PET-boost trial). *Radiother Oncol* 2019;131:166-173.
45. van Elmpt W, De Ruyscher D, van der Salm A, et al. The PET-boost randomised phase II dose-escalation trial in non-small cell lung cancer. *Radiother Oncol* 2012;104:67-71.
46. Thorwarth D, Alber M. Implementation of hypoxia imaging into treatment planning and delivery. *Radiother Oncol* 2010;97:172-175.
47. Vera P, Thureau S, Chaumet-Riffaud P, et al. Phase II Study of a Radiotherapy Total Dose Increase in Hypoxic Lesions Identified by 18F-Misonidazole PET/CT in Patients with Non-Small Cell Lung Carcinoma (RTEP5 Study). *J Nucl Med* 2017;58:1045-1053.
48. Welz S, Paulsen F, Pfannenbergl C, et al. Dose escalation to hypoxic subvolumes in head and neck cancer: A randomized phase II study using dynamic [18F]FMISO PET/CT. *Radiother Oncol* 2022;171:30-36.
49. Choi W, Lee SW, Park SH, et al. Planning study for available dose of hypoxic tumor volume using fluorine-18-labeled fluoromisonidazole positron emission tomography for treatment of the head and neck cancer. *Radiother Oncol* 2010;97:176-182.
50. Hendrickson K, Phillips M, Smith W, Peterson L, Krohn K, Rajendran J. Hypoxia imaging with [F-18] FMISO-PET in head and neck cancer: potential for guiding intensity modulated radiation therapy in overcoming hypoxia-induced treatment resistance. *Radiother Oncol* 2011;101:369-375.
51. Elamir AM, Stanescu T, Shessel A, et al. Simulated dose painting of hypoxic sub-volumes in pancreatic cancer stereotactic body radiotherapy. *Phys Med Biol* 2021;66.
52. Chen AM. De-escalated radiation for human papillomavirus virus-related oropharyngeal cancer: evolving paradigms and future strategies. *Front Oncol* 2023;13:1175578.
53. Lee N, Schoder H, Beattie B, et al. Strategy of Using Intratreatment Hypoxia Imaging to Selectively and Safely Guide Radiation Dose De-escalation Concurrent With Chemotherapy for Locoregionally Advanced Human Papillomavirus-Related Oropharyngeal Carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2016;96:9-17.
54. Riaz N, Sherman E, Pei X, et al. Precision Radiotherapy: Reduction in Radiation for Oropharyngeal Cancer in the 30 ROC Trial. *J Natl Cancer Inst* 2021;113:742-751.
55. Rischin D, Hicks RJ, Fisher R, et al. Prognostic significance of [18F]-misonidazole positron emission tomography-detected tumor hypoxia in patients with advanced head and neck cancer randomly assigned to chemoradiation with or without tirapazamine: a substudy of Trans-Tasman Radiation Oncology Group Study 98.02. *J Clin Oncol* 2006;24:2098-2104.
56. Krasnovskaya OO, Abramchuck D, Erofeev A, et al. Recent Advances in 64Cu/67Cu-Based Radiopharmaceuticals. *Int J Mol Sci* 2023;24:9154.
57. Brender JR, Saida Y, Devasahayam N, Krishna MC, Kishimoto S. Hypoxia Imaging As a Guide for Hypoxia-Modulated and Hypoxia-Activated Therapy. *Antioxid Redox Signal* 2022;36:144-159.
58. Lee CT, Boss MK, Dewhirst MW. Imaging tumor hypoxia to advance radiation oncology. *Antioxid Redox Signal* 2014;21:313-337.
59. Chvetsov AV, Zeng J, Rajendran JG. Volume dependence in hypoxia-targeted dose escalation. *Med Phys* 2018;45:5325-5331.
60. Dolezel M, Slavik M, Blazek T, et al. FMISO-Based Adaptive Radiotherapy in Head and Neck Cancer. *J Pers Med* 2022;12:1245.