

GLIAL TÜMÖR TEDAVİSİNDE TAMAMLAYICI HEDEF TEDAVİ: PROSTAT SPESİFİK MEMBRAN ANTİJEN (PSMA)

PROSTATE-SPECIFIC MEMBRANE ANTIGEN (PSMA) FOR A COMPLEMENTARY TARGET THERAPY IN GLIAL TUMORS

Ali Serdar OĞUZOĞLU¹, Nilgün ŞENOL¹, Hasan YASAN², Ramazan Oğuz YÜCEER³, Cengiz GAZELOĞLU⁴, İbrahim Metin ÇİRİŞ³

¹ Suleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Isparta, TÜRKİYE

² Suleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Department of Otorhinolaryngology, Isparta, TÜRKİYE

³ Suleyman Demirel University, Faculty of Medicine, Department of Pathology, Isparta, TÜRKİYE

⁴ Suleyman Demirel University, Faculty of Science and Literature, Department of Statistics, Isparta, TÜRKİYE

Cite this article as: Oğuzoğlu AS, Şenol N, Yasan H, Yüceer RO, Gazeloğlu C, Çiriş İM. Glial Tümör Tedavisinde Tamamlayıcı Hedef Tedavi: Prostat Spesifik Membran Antijen (PSMA). Med J SDU 2022; 29(1): 133-137.

Öz

Amaç

Gliomalar farklı dereceleri ile en sık karşılaşılan primer beyin tümörleridir. Özellikle yüksek dereceli olanlarda tümör anjiogenezi hem ana komponentlerden biri, hem de prognoz açısından değerli bir belirleyicidir. Bu çalışmada, farklı hedef tedavileri belirleyebilmek için immunohistokimyasal metod ile glial tümörlerde prostat spesifik membran antijeni (PSMA) salınımını değerlendirmeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Derece II (n=22), Derece III (n=19) ve Derece IV (n=52) glial tümörlü 93 hastadan alınan örneklerde PSMA antikorları immunohistokimyasal metod ile incelendi. Tümör dokusundaki PSMA boyanma yoğunluğu ve tümör epitelleri incelendi. Tümör epitelinde tümör ve tümör-dışı dokuda PSMA salınımına göre vasküler salınım ve yoğunluk skoru analiz edildi.

Bulgular

Yüksek dereceli gliomalarda, vasküler PSMA boyanma yüzdesi ve vasküler yoğunluk skoru düşük derecelilere göre anlamlı olarak daha yüksek ($p<0,005$)

bulundu. Tümör epitelinde vasküler PSMA boyanma yüzdesinde ($p<0,05$) düşük derecelilerde anlamlı bir yükseklik ($p<0,05$) olmasına rağmen, yüksek derecelilerde görülen vasküler yoğunluk yüzdesindeki yükseklik anlamlı değildi.

Sonuç

Yüksek dereceli glial tümörlerde neovaskülarizasyonun fazla olması ile PSMA ekspresyon yüzdesi ve yoğunluğunun anlamlı şekilde yüksek bulunması bu tümör grubunda PSMA'ne yönelik tedavi edici ajanların etkili olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Anjiogenez, Antigen, Glial tümör, Prostat-spesifik membran

Abstract

Objective

Gliomas are the most common primary brain tumors with different grades. Especially in the high grade gliomas tumor angiogenesis is an essential component, and a valuable marker for the prognosis. In this study we aimed to evaluate the expression of prostate specific membrane antigen (PSMA) in glial tumors by im-

Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address: N.Ş. / drnilgunsenol@yahoo.com

Müracaat tarihi/Application Date: 01.02.2022 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 07.02.2022

ORCID IDs of the authors: A.S.O: 0000-0002-1735-4062; N.S: 0000-0002-1714-3150;

H.Y: 0000-0002-5470-6784; R.O.Y: 0000-0002-9418-8862; C.G: 0000-0002-8222-3384;

İ.M.Ç: 0000-0002-5619-4989

munohistokimya yöntemiyle farklı hedefli tedavileri belirlemek için kullanılmaktadır.

Material and Methods

Overall 93 patients' specimens, including Grade II (n=22), Grade III (n=19), Grade IV (n=52) glial tumors, were evaluated for PSMA-antibody via immunohistochemical method. PSMA staining intensities in tumor tissue and tumor epithelium were analyzed. Vascular expression in tumoral and extratumoral stroma, and intensity score, according to PSMA expression, in tumoral epithelium were analyzed.

Results

In high grade gliomas, vascular PSMA staining percentage and vascular intensity score were significant-

ly higher than low grade ($p<0.05$). In the epithelium of the tumors, although a significant increase was observed in vascular PSMA staining percentage ($p<0.05$) of low grade tumors, the increase in vascular intensity score of high grade tumors was not significant.

Conclusion

Significant increase in PSMA staining percentage and vascular intensity score of tumor stroma in high grade gliomas due to more neovascularisation, demonstrates that therapeutic agents can be effective in this group of tumors.

Keywords: Angiogenesis, Antigen, Glial tumor, Prostate-specific membrane

Giriş

Anjiogenez tümör büyümesinde en önemli komponenttir. Çevresel ve genetik değişiklikler anjiogenez tetikleyebilmektedir. Bu nedenle altta yatan genetik değişikliklerin ve farklı proteinlerin salınımlarının ortaya konması önem kazanmaktadır (1-4). Prostat spesifik membran antijeni (PSMA) glial tümörler gibi birçok solid tümörün neovaskülarizasyonunda da açığa çıkan tip II integral membran glikoproteinidir. Bu protein aynı zamanda hücre içinde bulunan bir kısmı ile reseptör-ilişkili endositoz ve tedavi edici ajanların hücre içine girmesini başlatmaktadır (5). Bu nedenle PSMA'nın hedeflendiği görüntüleme teknikleri, ilaç dağılımı ve diğer tedavi uygulamaları bulunmaktadır (5,6).

Özellikle yüksek dereceli glial tümörlerin neovaskülarizasyonda PSMA salınımlarının olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (7-9). Literatürde düşük dereceli gliomları da kapsayan sınırlı sayıda çalışma bulunmakla birlikte biz çalışmamızda tüm glial tümör derecelerini içeren daha detaylı bir değerlendirme yapmayı amaçladık (10,11).

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya Ocak 2014-Ocak 2020 arasında opere edilerek gliom tanısı konmuş 93 hasta dahil edildi. Hastaların tüm formalinle sabitlenmiş parafin bloklarından alınan hematoksilin-eozin (H&E) ile boyanmış kesitler geriye dönük olarak incelendi ve uygun bloklar seçildi. Tüm vakalar, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Santral Sinir Sistemi Tümörleri Sınıflandırmasının 4. Baskısına göre Derece II (22 olgu), Derece III (19 olgu) ve Derece IV (52 olgu) olarak doğrulandı. İ-

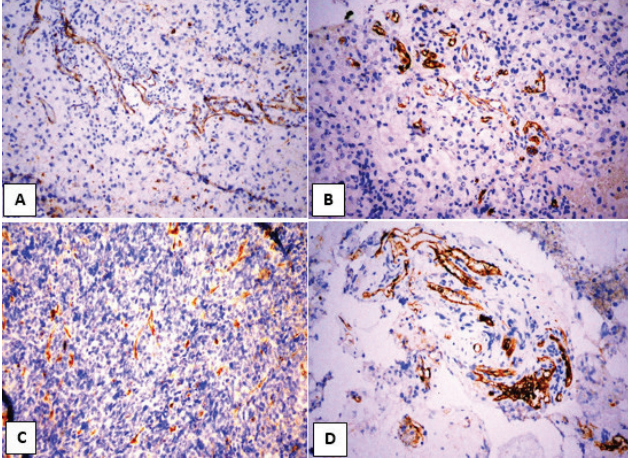
tatistiksel analizde veriler SPSS (V19.0) programına yüklenerek veriler tablolarda birey sayısı ve yüzdesi olarak tanımlandı. Bu araştırma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 11.09.2020 tarih ve 18/261 karar numarası ile etik kurul onayı alındı.

İmmünohistokimyasal Analiz

PSMA antikoru, glial tümörleri içeren bloklara uygulandı. H&E ile boyanmış bölümlerde immünohistokimyasal bir yöntem kullanılarak bloklar seçildi. İmmünohistokimya çalışması için bloklarda 4 um aralıklarla kesitler alındı. PSMA antikoru (Klon 3E6, izotip: IgG1, Kappa, DAKO flex, stabilize edici protein ve 0.015 mol/L sodyum azid içeren bir tampon içinde sıvı formda sağlanan kullanıma hazır monoklonal fare antikoru) veri sayfasında belirtildiği gibi üreticinin talimatlarına göre hazırlandı. Doku örnekleri, otomatik bir immünohistokimya cihazında bir antikor pozitif kontrol ve bir negatif kontrol olarak glial tümör örnekleri ile birlikte işlendi.

İmmünohistokimyasal Boyamanın Değerlendirilmesi
İmmünohistokimyasal olarak boyanmış slaytlar, santral sinir sistemi patolojisi konusunda deneyimli üç Patolog tarafından değerlendirildi; her biri olgulara kördü. PSMA immünohistokimyasal olarak boyanmış slaytlar ışık mikroskobu altında incelendi ve pozitif sitoplazmik boyanma ve/veya pozitif sitoplazmik membran boyanması olduğu kabul edildi. Tümörün epitelyal ve stromal odaklarındaki vasküler yapılar, H&E ile boyanmış tümör bölümlerinden belirlendi ve aynı anda boyanmış PSMA slaytları, aşağıdaki dokulardaki yüzde ve yoğunluk skorlarına göre PSMA ekspresyonu için değerlendirildi: Derece II (Şekil 1A), Derece III (Şekil

1B), Derece IV (Şekil 1C, 1D). Vasküler endotel hücrelerinin yüzdesi, vasküler yüzde puanı olarak kabul edildi ve PSMA ekspresyonunun seviyesi, yoğunluk puanı olarak kabul edildi. PSMA için pozitif boyanan vasküler endotel hücrelerinin yüzdesi 0: %0-5; 1: %6-25; 2: %26-50 ve 3: >50%. Yoğunluk puanı 1: zayıf, 2: orta ve 3: güçlü olarak sınıflandırıldı. PSMA ekspresyonu, tümör epitelinin yoğunluğuna göre 1: yok/zayıf, 2: orta ve 3: güçlü olarak puanlandı (12,13).



Şekil 1:

A) Derece II gliyal tümör stromasındaki damarlarda PSMA ile 3+ boyanma B) Derece III gliyal tümör stromasındaki damarlarda PSMA ile 3+ boyanma C) Derece IV gliyal tümör stromasındaki damarlarda PSMA ile 3+ boyanma D) Derece IV gliyal tümör stromasındaki damarlarda ve bazı tümör hücrelerinde PSMA ile 3+ boyanma (200X)

İstatistiksel Analiz

Verilerin toplanmasından sonra, Statistical Package for Social Science (SPSS) sürüm 19 (IBM şirketi) kullanılarak nicel ve nitel verilerin analizi yapıldı. < 0.05 olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Yüksek dereceli tümör epitellerinde, düşük dereceli tümör epitellerine göre PSMA ile daha yoğun boyanma izlenmiş olmasına rağmen istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,920) (Tablo 1).

Düşük dereceli tümör epitellerindeki PSMA boyanma yüzdesinin, yüksek derecelilere göre fazla olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,002) (Tablo 2).

Yüksek dereceli tümörde PSMA ile boyanan damar yüzdesi, düşük dereceli tümörlere göre oldukça fazla bulunmuştur. Yüksek ve düşük dereceli gliyal tümör damarlarındaki PSMA ekspresyon yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (p<0,0001) (Tablo 3).

Yüksek dereceli tümördeki damarlarda eksprese olan PSMA yoğunluğunun, düşük dereceli tümörlere göre fazla olduğu tespit edilmiştir. Yüksek ve düşük dereceli gliyal tümör damarlarındaki PSMA boyanma yoğunluğu arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (p<0,0001) (Tablo 4).

Tablo 1

Glial tümör epitelinde PSMA boyanma yoğunluğu

Derece		0	1	2	3	Toplam
Yüksek Derece	IV	20/43	11/43	6/43	6/43	43
	III	9/17	4/17	2/17	2/17	17
Düşük Derece	II	6/19	6/19	3/19	4/19	19

p=0,921

Tablo 2

Glial tümör epitelinde PSMA boyanma yüzdesi

Derece		0 (%0-5)	1 (%6-25)	2 (%26-50)	3 (>50)	Toplam
Yüksek Derece	IV	20/43	10/43	11/43	2/43	43
	III	9/17	5/17	1/17	2/17	17
Düşük Derece	II	6/19	5/19	0/19	8/19	19

p=0,002

Tablo 3 Glial tümör damarlarında PSMA boyanma yüzdesi

Derece		0 (%0-5)	1 (%6-25)	2 (%26-50)	3 (>%50)	Toplam
Yüksek Derece	IV	1/43	6/43	7/43	29/43	43
	III	2/17	3/17	1/17	11/17	17
Düşük Derece	II	18/19	0/19	0/19	1/19	19

p<0,0001

Tablo 4 Glial tümör damarlarında PSMA boyanma yoğunluğu

Derece		0	1	2	3	Toplam
Yüksek Derece	IV	1/43	3/43	4/43	35/43	43
	III	2/17	1/17	2/17	12/17	17
Düşük Derece	II	18/19	0/19	0/19	1/19	19

p<0,0001

Tartışma

Solid tümörlerde anjiogenezisin derecesi ve vasküler yapı neovaskülarizasyonu birçok açıdan etkilemektedir. Anjiogenez sürecine farklı neovaskülarizasyon belirleyicileri (VEGF, endoglin, integrin...) dahil olmaktadır (14). PSMA, tip II transmembran protein, normalde sitoplazmada, prostatın duktal epitelinde ve bazı diğer solid tümörlerde salgınla birlikte normal dokunun damar yapısında yoktur (15). Bu nedenle diğer neovasküler hedeflerden niteliksel olarak ayrılmaktadır. Çalışmamızda, yüksek dereceli gliomların epitelinde PSMA yoğunluğunun fazla olması anlamlı değilken, düşük dereceli gliomların epitelinde PSMA yüzdesindeki artış anlamlı bulunmuştur. Tümör stromasında ise hem PSMA yoğunluğu hem de yüzdesi yüksek dereceli gliomlarda düşük derecelilere kıyasla anlamlı olarak fazla bulunmuştur.

Matsuda ve ark. PSMA antikoru ile immunohistokimyasal olarak boyanmış gliom, metastatik beyin tümörü, primer santral sinir sistemi lenfomaları (PSSSL) ve radyasyon nekrozunu içeren 83 doku örneğini PET ile analiz etmişlerdir. PSMA ekspresyonunun glioblastoma ve metastazlarda Grade II ve III gliom, PSSSL ve radyasyon nekrozuna göre belirgin olarak daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (16).

⁶⁸Gallium-PSMA PET/BT, rekürren prostat kanserinin boyanma ve tespit edilme aşamasında oldukça yarar-

lı bir tetkik olarak bildirilmiştir (17). Tükürük bezleri, nazofarinks, ses telleri, tiroid bezi, duodenum, ince bağırsak, dalak, karaciğer, pankreas, mide, adrenal bezler, böbrekler, rektum, testis, omurlar ve kemik iliğinde ⁶⁸Gallium-PSMA tutulumu olmaktadır (18,19). Bu bölge lezyonlarındaki tutulum mekanizması anjiogenezis ile açıklanmaktadır (17). Yüksek dereceli beyin tümörlerinde de PSMA-PET görüntüleme ve PSMA'ya yönelik radioligand tedaviler daha da önem kazanacak gibi görülmektedir.

Holzgreve ve ark. yüksek dereceli gliomlarda ilk cerrahi spesimenleri ile rekürrens cerrahi spesimenlerinde PSMA salgınım düzeylerini araştırmışlar ve her iki durumda da salgınımın yüksek olması ile bağlantılı olarak yüksek vasküler PSMA salgınımının negatif bir prognostik marker olduğu sonucuna varmışlardır (20). Ni ve ark. yaptıkları çalışmada beyin metastazlarında PSMA hedefli ilaçların kan beyin bariyerini geçtiğini göstermişlerdir (6). Beyin metastazlarında olduğu gibi glial tümörlerde de cerrahi yanı sıra adjuvan tedavilere ihtiyaç duyulması moleküler hedefli tedavilerin gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Sonuç

Tümör progresyonu, prognozuna katkı sağlamak ve tedavilerin etkinliğinin artırılması açısından özellikle yüksek dereceli gliomlarda PSMA salgınımının olması daha farklı ve seçici tedavi yöntemlerinin araştırılması açısından önemli bir yol göstericidir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Etik Kurul Onayı

Bu araştırma için Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 11.09.2020 tarih ve 18/261 karar numarası ile etik kurul onayı alınmıştır.

Finansman

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje Numarası: TSG 2020-8134).

Yazar Katkıları

ASO: Çalışmanın planlanması; Araştırma; Metodoloji; Makalenin Yazımı; Makalenin düzenlenmesi; Proje Yönetimi; Kaynakların Sağlanması; Denetim.

NŞ: Çalışmanın planlanması; Araştırma; Metodoloji; Makalenin Yazımı; Makalenin düzenlenmesi.

HY: Proje Yönetimi; Finansman Eldesi; Kaynakların Sağlanması; Denetim.

ROY: Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme.

CG: Formal Analizler; Araştırma; Görselleştirme.

İMÇ: Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme.

Kaynaklar

- Wernicke AG, Edgar MA, Lavi E, et al. Prostate Specific Membrane Antigen as a potential Novel Vascular Target for Treatment of Glioblastoma Multiforme. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2011;135:1486–9.
- Pasqualini R, Arap W, McDonald D. Probing the structural and molecular diversity of tumor vasculature. *Trends Molecular Medicine*. 2002;8(12):563–71.
- Plate KH, Risau W. Angiogenesis in malignant gliomas. *Glia*. 1995;15(3):339–47.
- Scappaticci F. Mechanisms and future directions for angiogenesis based cancer therapies. *Journal of Clinical Oncology*. 2002;20(18):3906–27.
- J.D. Mangadlao, X. Wang, C. McCleese, M. Escamilla, G. Ramamurthy, Z. Wang, M. Govande, J.P. Basilion, C. Burda, Prostate specific membrane antigen targeted gold nanoparticles for theranostics of prostate cancer, *ACS Nano* 12 (2018) 3714–3725.
- Ni J, Miao T, Su M, Khan NU, Ju X, Chen H, Liu F, Han L. PSMA-targeted nanoparticles for specific penetration of blood-brain tumor barrier and combined therapy of brain metastases. *J of Controlled Release* 2021;329:934-947.
- Wernicke AG, Edgar MA, Lavi E, et al. Prostate Specific Membrane Antigen as a potential Novel Vascular Target for Treatment of Glioblastoma Multiforme. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2011;135:1486–9.
- Chang SS, Reuter VE, Heston WDW, et al. Five different Anti-Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA) antibodies confirm PSMA expression in tumor associated neovasculature. *Cancer Research*. 1999;59:3192.
- Akhtar NH, Pail O, Saran A, et al. Prostate-Specific Membrane Antigen-Based Therapeutics. *Advances in Urology*. 2012 Article ID973820(10.1155/2012/973820)
- Grau SJ, Trillsch F, Luttichau IV, et al. Lymphatic phenotype in tumor vessels in malignant gliomas. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2008;34:675–9.
- Saffar H, Noohi M, Tavangar SM, Saffar H, Azimi S. Expression of prostate-specific membrane antigen (PSMA) in brain glioma and its correlation with tumor grade. *Iran J Pathol* 2018;13(1):45-53.
- Wernicke AG, Varma S, Greenwood EA et al Prostate-specific membrane antigen expression in tumor-associated vasculature of breast cancers. *Apmis* 2014;122(6):482-9.
- Wernicke AG, Kim S, Liu H, Bander NH, Pirog EC Prostate-specific membrane antigen (PSMA) expression in the neovasculature of gynecologic malignancies: implications for PSMA-targeted therapy. *Immunohistochemistry & Molecular Morphology* 2017;25(4):271-6.
- Milowsky MI, Nanus DM, Kostakoglu L, Sheehan CE, Vallabhajosula S, Goldsmith SJ, Ross JS, Bander NH (2007) Vascular targeted therapy with anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 in advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 25:540–547.
- Karyagar SS. PSMA- positive secondary tumors in ⁶⁸Ga PSMA PET/CT imaging in patients with prostate cancer. *Eur Arch Med Res* 2020;36(4):246-50.
- Matsuda M, Ishikawa E, Yamamoto T, Hatano K, Joraku A, Lizumi Y, Masuda Y, Nishiyama H, Matsumura A. Potential use of prostate specific membrane antigen (PSMA) for detecting the tumor neovasculature of brain tumors by PET imaging with ⁸⁹Zr-Df-IAB2M anti-PSMA minibody. *J of Neuro-Oncology* 2018;138:581-589.
- Vargas J, Perez FG, Gomez E, Pitalua Q, Ornelas M, Ignacio E, et al. Histopathologic correlation with ⁶⁸Ga PSMA PET/CT in nonprostate tumors. *Journal of Nuclear Medicine* 2020;61 (Suppl 1):472.
- Özülker F. Assessment of physiological distribution and normal variants of ⁶⁸Ga PSMA-I&T PET/CT. *Eur Arch Med Res* 2018;34:235-42.
- Demirci E, Sahin OE, Ocak M, Akovali B, Nematyazar J, Kabasakal L. Normal distribution pattern and physiological variants of ⁶⁸GaPSMA-11 PET/CT imaging. *Nucl Med Commun* 2016;37:1169-79.
- Holzgreve A, Biczok A, Ruf VC, Liesche-Starnecker F, Steiger K et al. PSMA expression in glioblastoma as a basis for therapeutic approaches: a retrospective, correlation panel study including immunohistochemistry, clinical parameters and PET imaging. *Front Oncol* 2021;11:646387.