

TİROİD TÜMÖRLERİNDE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL OLARAK NEOVASKÜLER PSMA VE CD34 EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF IMMUNOHISTOCHEMICAL NEOVASCULAR PSMA AND CD34 EXPRESSIONS IN THYROID TUMORS

Mehmet KIRAN¹, İbrahim Metin ÇİRİŞ²

¹Isparta Şehir Hastanesi, Tıbbi Patoloji Kliniği, Isparta, TÜRKİYE

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı, Isparta, TÜRKİYE

Cite this article as: Kiran M, Çiriş İM. Tiroid Tümörlerinde İmmünohistokimyasal Olarak Neovasküler PSMA ve CD34 Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi. Med J SDU 2023; 30(1): 79-88.

Öz

Amaç

Bu çalışmanın amacı tiroid tümörlerinde Prostat Spesifik Membran Antijen (PSMA) ekspresyonunun ayrırcı tanıdaki yeri ve prognoz üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem

Farklı histolojik tipteki 95 tiroid kanseri tanısı alan hastaların parafin bloklarına immünohistokimyasal PSMA ve CD34 uygulandı. Tümöral ve ekstratümoral stromadaki vasküler ekspresyon yüzdesi ve tümör epitelindeki yoğunluk skoru değerlendirildi ve PSMA ekspresyon düzeyine göre gruplara ayrıldı. Nihai PSMA ifadesi, yoğunluk ve yüzde puanları çarpılarak belirlendi.

Bulgular

Tiroid tümörlerinde yeni damar oluşumu olan alanlarda PSMA ile ekspresyon artışı izlendi. Non-neoplastik tiroid dokusunda PSMA ile vasküler boyanma saptanmadı. Papiller Benzeri Nükleer Özellikler Gösteren Noninvaziv Foliküler Neoplazi (NİFTP) vakalarında agresif tümörlere göre karşılaştırıldığında ekspresyon artışı görülmedi

Sonuç

PSMA ekspresyon artışının kötü prognozla ilişkili olduğu saptandı ve NİFTP vakalarının diğer tümörler ile ayırımında kullanılabileceği yönünde bulgular saptandı

Anahtar Kelimeler: Neovaskülerizasyon, PSMA ekspresyonu, Tiroid Karsinomu

Abstract

Objective

The aim of this study was to investigate the place of Prostate Specific Membrane Antigen (PSMA) expression in differential diagnosis and its effect on prognosis in thyroid tumors.

Material and Method

Immunohistochemical PSMA and CD34 were applied to paraffin blocks of 95 patients diagnosed with different histological types of thyroid cancer. The percentage of vascular expression in the tumoral and extratumoral stroma and the density score in the tumor epithelium were evaluated and grouped according to PSMA expression level. Final PSMA expression was determined by multiplying intensity and percentage points.

Sorumlu yazar ve iletişim adresi /Corresponding author and contact address: M.K. / dr.mehmet.kiran@gmail.com

Müracaat tarihi/Application Date: 09.09.2022 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 27.02.2023

ORCID IDs of the authors: M.K: 0000-0003-3292-2213; İ.M.Ç: 0000-0002-5619-4989

Results

An increase in expression was observed with PSMA in areas with neovascularization in thyroid tumors. No vascular staining was detected with PSMA in non-neoplastic thyroid tissue. No increase in expression was seen in Non-invasive follicular thyroid neoplasm with papillary like nuclear features (NIFTP) cases compared to aggressive tumors

Giriş

Tiroid tümörleri günlük pratikte en sık karşılaşılan endokrin tümörlerdir (1). Klinikte tiroid nodülü popülasyonun yalnızca %5-10'unda gözlenmekte olup, bunların çoğunluğu benign foliküler neoplaziler iken yalnızca %2-5'i maligndir. Malign lezyonların %95'inden fazlası tiroidin primer malignitesidir ve bunlar epitelial orijinlidirler (1-5).

Benign tiroid nodülleri ve hiperplastik nodüller yaygın olarak görülürler. Bunların yaklaşık %50'sinden fazlası multinodüler guatr veya kronik tiroidit olgularıdır. Adenom gibi benign oluşumların dışında tiroiditler, granülomatöz hastalıklar, kistik hastalıklar ve malformasyonlar da tiroid nodülü şeklinde ortaya çıkar (2).

Tiroid kanserlerinde izlenen majör fenotipik özellikler tiroid papiller karsinomunda özgün nükleer özellikler; foliküler karsinomda invazivlik; medüller karsinomda nöroendokrin özellikler; az diferansiye karsinomda nekroz, insüler patern; indiferansiye karsinomda ise yüksek mitoz, anaplastik özellikler ve yaygın nekroz baskın nitelikler olarak görülür (1).

Anjiogenez büyüme aşamasında fizyolojik bir süreçtir ve önceden var olan damarlardan yeni damarların gelişmesi ve yenilenmesi anlamına gelir (3). Tümör büyümesinde ve yayılmasında anjiogenezis kritik öneme sahiptir. Tümör ile ilişkili anjiogenik faktörler tümör hücrelerinden ve tümördeki inflamatuvar hücre infiltrasyonundan sağlanır (4). Antianjiyogenik ilaçların kanser tedavisi için artan kullanımı, temel ve klinik araştırmalar sonucu ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, bu tür ilaçların klinik yararları nispeten düşüktür. Gelişmelerin, tümör anjiyogenezini yöneten moleküler süreç hücresel mekanizmalarının ve antianjiyogenik tedavilere verilen yanıtın daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasından gelmesi muhtemeldir (6).

PSMA, tip II transmembran glikoproteini olup prostatik gland epitelinde yaygın olarak eksprese olur (7, 8). Prostat epitelinin yanı sıra tükürük bezi, ince bağırsak ve beyin dokusunda ve bazı solid tümörle-

Conclusion

It was determined that increased PSMA expression was associated with poor prognosis, and it was found that it can be used to differentiate NIFTP cases from other tumors.

Keywords: Neovascular, PSMA Expression, Thyroid Cancer

rin damar endotelinde eksprese olmaktadır. Bazı tümörlerde ise tümör içerisinde yeni oluşan damarların endotelinde boyanma gösterir (9). PSMA, benign dokuların vasküler endotelial hücrelerinde ve de vasküler tümörlerin neoplastik hücrelerinde ekspresyon göstermez (10). Bu ekspresyon davranışı ile tümöral vasküler yapıların diğer vasküler yapılardan farklı olduğunu göstermekte ve tedavi imkânı sağlamaktadır (11).

PSMA'ya spesifik monoklonal antikor ilk olarak 1987 yılında tarif edilmiştir ve 7E11 olarak adlandırılmıştır. Başlangıçta 7E11 antikoru immünohistokimyasal olarak renal hücreli karsinom, transizyonel hücreli karsinom, mesane ve kolon karsinomlarında yeni oluşmuş vasküler endotelinde boyanma göstermiştir (12). Bu antikorun damar endotelinde olan pozitifliği immünohistokimyasal tanıda kullanılabilir. Serum PSMA düzeyleri klinik izlemde, PSMA işaretli ligandlar kullanılarak yapılan radyolojik görüntüleme ile klinik evrelemede ve immünoterapötik ilaç olarak tedavide kullanılabilir (13).

Günümüzde anti-anjiogenik tedaviye yönelik çok sayıda çalışmanın yapıldığı ve çoğu tümör için anjiogenezin kötü prognostik parametre olduğu kabul edilmekle birlikte bu alanda halen kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda tiroid tümörlerinde yeni damar oluşumlarını immünohistokimyasal olarak PSMA ve CD34 ile incelemeyi amaçladık. Elde edilen parametrelerin tiroid karsinomlarının klasik prognostik parametreler ile olan ilişkisini araştırdık.

Gereç ve Yöntem

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı'nda Ocak 2014 - Aralık 2020 tarihleri arasında retrospektif arşiv taraması yapılarak rastgele seçilen 47 tiroid papiller karsinom, 16 NIFTP, dokuz malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye neoplazi, dokuz foliküler karsinom, 11 tiroid medüller karsinom üç az diferansiye karsinom olmak üzere toplam 95 olgu çalışma grubunu oluşturmuştur. Dokuz adet olan malignite potansiyeli belirsiz iyi diferansiye

neoplazi yeni sınıflamaya göre tekrar değerlendirilmiş olup NİFTP kategorisine dahil edilmiştir.

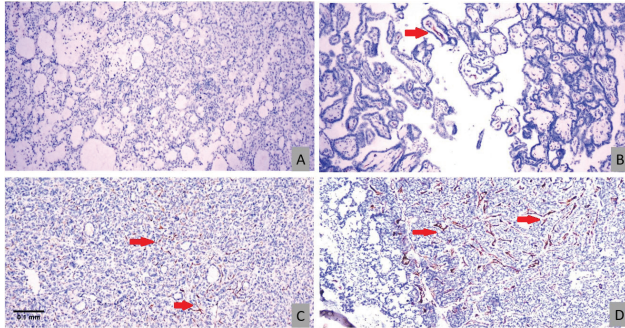
Çalışma grubundaki olgulara ait örnekler %10'luk formaldehit solüsyonu ile tespit edilmiş olup rutin doku takibi ile hazırlanmış parafin bloklardan elde edilen hematoksilin-eozin (H&E) boyalı preparatlar arşivden çıkarılarak tekrar değerlendirilmiş, tümöral ve non-tümöral tiroid dokusunu birlikte bulduran en fazla tümör hacmine sahip uygun parafin blok seçilmiştir. Histolojik değerlendirmenin yanı sıra olgulara ait hasta özellikleri (yaş, cinsiyet) ve raporlara dayanarak makroskopik özellikler (tiroid bezi ağırlığı, lezyon boyutu, yerleşimi, multifokalite kapsül invazyonu) ve mikroskopik özellikler (damar invazyonu, metastatik lenf nodu varlığı, lezyona eşlik eden bulgular) not edilmiştir. Ayrıca hasta kayıtları geçmişten günümüze kadar taranarak operasyon sonrası metastaz gelişimi ve ölüm durumları kaydedilmiştir.

Olguların tamamı PSMA ve CD34 markerları ile immünohistokimyasal olarak boyandı.

PSMA

(Antikor Özellikleri, Boyanma ve Değerlendirme)

Tümöre ait bloklara immünohistokimyasal yöntemle PSMA uygulandı. PSMA antikoruna (klon 3E6, izotip: IgG1, kapa, DAKO flex, stabilize edici protein ve 0,015 mol/L sodyum azid içeren bir tampon içinde sıvı formda sağlanan kullanıma hazır monoklonal fare antikoruna; Carpenteria, USA) üreticinin talimatları doğrultusunda hazırlandı. Formalinle tespit edilmiş parafine gömülü bloklardan elde edilen 4 µm kalınlığında şarjlı lamlara alınan doku örnekleri otomatize immünohistokimya cihazı ile boyandı. Pozitif kontrol olarak prostat doku örneği kullanıldı.



Şekil 1:

A) PSMA vasküler ekspresyon skor 0 B) PSMA vasküler ekspresyon skor 1+ C) PSMA vasküler ekspresyon skor 2+ D) PSMA vasküler ekspresyon skor 3+ (PSMA DAB:200x)(kırmızı ok)

Tümöral alanlar içerisindeki vasküler yapılarda boyanma yüzdesi, boyanma şiddeti ışık mikroskobu (NikonEclipse N İ; Japonya) ile değerlendirildi. En yoğun alanda damar yoğunluğunun tümör hücrelerine oranı ışık mikroskobu (NikonEclipse N İ; Japonya) altında görüntü analiz programı (QuPath v3.0;Edinburg,İskoçya) ile otomatize yüzde oran hesaplandı. Tümör dışı tiroid dokusuna ait damar endotelinde boyanmalar yüzde olarak not edildi. Olgular tümör tipleri ve diğer ek özelliklere göre gruplandırıldı ve gruplar arasında PSMA ekspresyon skorları karşılaştırıldı.

Boyanma %0 ila %100 arasında yüzde olarak ve yoğun alanda tümör hücresi damar boyanma yüzdesi olarak değerlendirildi.

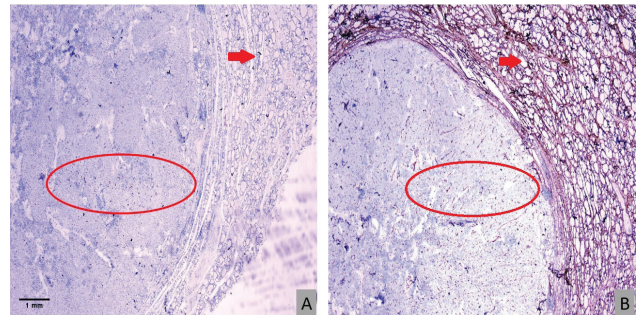
Damar endotelinin boyanması şiddetine göre; güçlü (skor; 3), orta (skor; 2), zayıf (skor; 1), negatif (skor; 0) olarak değerlendirildi (14, 15)

CD34

(Antikor Özellikleri, Boyanma ve Değerlendirme)

Tümöre ait bloklara immünohistokimyasal yöntemle CD34 antikoruna uygulandı. CD34 (klon: QBEnd 10 izotip IgG1 kapa, DAKO Flex, stabilize edici protein ve 15 mmol/L sodyum azid içeren bir tampon içinde sıvı formda sağlanan kullanıma hazır monoklonal fare antikoruna; Glostrup,Danimarka) üreticinin talimatları doğrultusunda hazırlandı. Formalinle tespit edilmiş parafine gömülü bloklardan elde edilen 4 µm kalınlığında şarjlı lamlara alınan doku örnekleri otomatize immünohistokimya cihazı ile boyandı.

Tümöral ve non-tümöral alanlarda damar endoteli yatağını tespit etmek amacıyla boyamalar not edildi. Gruplar arasında karşılaştırma yapılmaksızın yalnızca damar boyanmasının tespiti gösterildi.



Şekil 2:

PSMA ile non-neoplastik alanda boyanma görülmezken (kırmızı ok) neoplastik alanda skor 1+ boyanma (elips ile çevrelenmiş alan) (A) CD34 ile neoplastik ve non-neoplastik alanda vasküler boyanma (kırmızı ok ve elips ile çevrelenmiş alan) DAB 40x

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler IBM SPSS 22 (Chicago, USA) yazılımı kullanılarak yapıldı. Değişkenlerin normal dağılımına uygunluğu görsel ve analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnow/Sharpi-Wilk testleri) incelendi. Tanımlayıcı istatistikler sayı, yüzde, ortalama, standart sapma olarak verildi. Normal dağılıma sahip değişkenlerin iki bağımsız grup karşılaştırılmasında Student t Testi, normal dağılıma sahip olmayan değişkenler için Mann Whitney U Testi kullanıldı. Gruplar arasında sıklıklar bakımından fark saptanıp saptanmadığı Ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı. İki değişkenden daha fazla normal dağılıma uymayan bağımsız grup karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile belirlendi. p değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

PSMA ekspresyon yüzdesi ortalama $33,61 \pm 31,47$ 'dir. PSMA ekspresyon yüzdesi ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki Tablo 1'de özetlenmiştir. PSMA ekspresyon yüzdesi ile lenfovasküler invazyon, kapsül dışı invazyon, tiroid dışı invazyon, arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p < 0,05$, Ki kare testi). PSMA ekspresyon yüzdesi ile yaş, cinsiyet, tiroid bezi ağırlığı, tümör boyutu, lokalizasyon, kapsül, papiller yapı, odak, sağ kalım, metastaz ve operasyon sonrası metastaz ile anlamlı ilişki bulunmadı ($p > 0,05$, Ki kare testi) (Tablo 1). PSMA ekspresyon yüzdesi ile lenfovasküler invazyon ($p < 0,01$, $r: 0,416$), kapsül dışı invazyon ($p: 0,005$, $r: 0,289$), tiroid dışı invazyon ($p: 0,048$, $r: 0,203$) ile orta derecede pozitif korelasyon izlendi (Spearman korelasyon).

Ayrıca yakın incelemede görüntü analiz yöntemi kullanılarak x400 büyüme alanında damar yoğunluğu/tümör hücresi sayısı hesaplandı. Tiroid tümörlerinde PSMA ekspresyon yüzdesi hotspot alanda %0-100 arasında değerlendirildi. Minimum damar yoğunluğu/tümör hücre oranı %0 olup maksimum %47,97 olarak saptandı. Hotspot alanda PSMA ekspresyon yüzdesi ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki Tablo 1'de özetlendi. Hotspot PSMA ekspresyon yüzdesi ile lenfovasküler invazyon, kapsül dışı invazyon, tiroid dışı invazyon, arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p < 0,05$, Ki kare testi). Hotspot PSMA ekspresyon yüzdesi ile yaş, cinsiyet, lokalizasyon, tiroid bezi ağırlığı, tümör boyutu, kapsül, papiller yapı, odak, sağ kalım, metastaz ve operasyon sonrası metastaz ile anlamlı ilişki bulunmadı ($p > 0,05$, Ki kare testi) (Tablo 1). Hotspot PSMA ekspresyon yüzdesi ile lenfovasküler invazyon ($p < 0,0001$, $r: 0,416$), kap-

sül dışı invazyon ($p: 0,01$, $r: 0,289$), tiroid dışı invazyon ($p: 0,048$, $r: 0,203$) ile orta derecede pozitif korelasyon izlendi (Spearman korelasyon).

Tümör dışı tiroid dokusunda PSMA ekspresyonu CD34 ekspresyonuna göre değerlendirildi. PSMA ile ekspresyon %0-100 arasında değerlendirme olacak şekilde hesaplandı. Buna göre non-neoplastik tiroid dokusunda 86 (%90,52)'sinde boyanma görülmedi. Dört (%4,21) vakada %1 ekspresyon, dört (%4,21) vakada %5 ekspresyon ve bir (%1,05) vakada %10 boyanma görüldü. Non-neoplastik tiroid dokusunda PSMA ekspresyonu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$, Kruskal Wallis test)

Tümör grupları arasındaki PSMA ekspresyon yüzdesi ilişkisi değerlendirildiğinde papiller tiroid karsinomu ve NİFTP, foliküler tiroid karsinomu ve NİFTP, medüller karsinom ve NİFTP arasında istatistiksel anlamda fark saptandı ($p < 0,05$, Kruskal Wallis Testi) (Tablo 2).

Tümör grupları arasındaki hotspot PSMA ekspresyon yüzdesi ilişkisi değerlendirildiğinde foliküler tiroid karsinomu ve NİFTP arasında istatistiksel olarak farklılık saptandı ($p < 0,05$, Kruskal Wallis Testi) (Tablo 2).

Papiller tiroid karsinomu histolojik varyantları ve foliküler tiroid karsinomu histolojik varyantları arasında PSMA ekspresyon yüzdesi ve hotspot PSMA ekspresyon yüzdesi arasında anlamlı fark görülmedi ($p > 0,05$, Kruskal Wallis test).

PSMA ekspresyon skoru ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki Tablo 3'te özetlenmiştir. PSMA ekspresyon skoru ile lenfovasküler invazyon, kapsül invazyonu, tiroid dışı invazyon, metastaz ve operasyon sonrası metastaz arasında istatistiksel anlamlı ilişki saptandı ($p < 0,05$, Ki kare testi). PSMA ekspresyon skoru ile yaş, cinsiyet, tiroid bezi ağırlığı, tümör boyutu, lokalizasyon, kapsül, papiller yapı, odak, sağ kalım ile anlamlı ilişki bulunmadı ($p > 0,05$, Ki kare testi) (Tablo 3). PSMA ekspresyon yüzdesi ile lenfovasküler invazyon ($p < 0,01$, $r: 0,433$), kapsül dışı invazyon ($p: 0,02$, $r: 0,238$), tiroid dışı invazyon ($p: 0,01$, $r: 0,217$), metastaz ($p: 0,034$, $r: 0,217$) ve operasyon sonrası metastaz ($p: 0,039$, $r: 0,231$), ile orta derecede pozitif korelasyon izlendi (Spearman korelasyon testi).

Non-neoplastik tiroid dokusunda PSMA ekspresyonunu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$, Kruskal Wallis test).

Tablo 1 PSMA yüzde ile klinikopatolojik parametreler arasındaki ilişki

	PSMA Ekspresyonu Ortalama±Standart Sapma	Psma yüzde Kikare testi p değeri	Hotspot yüzde Kikare testi p değeri
Yaş			
<50	35,92±31,35	0,431	0,855
≥50	30,81±31,75		
Cinsiyet			
Kadın	32,07±30,44	0,410	0,514
Erkek	38,17±34,62		
Lokalizasyon			
Sağ lob	29,18±28,76	0,492	0,643
İsthmus	45,0±7,07		
Sol lob	39,15±34,86		
Sağ lob + isthmus	0		
Sol lob + isthmus	5,85±2,54		
Lenfovasküler invazyon			
Yok	26,57±28,72	0,000	0,000
Var	60,0±27,53		
Kapsül			
Yok	35,88±31,34	0,371	0,576
Var	29,89±31,77		
Kapsül dışı invazyon			
Yok	35,88±31,34	0,007	0,005
Var	29,89±31,77		
Papiller yapı			
Yok	31,50±33,36	0,122	0,074
Var	36,92±28,38		
Odak			
Tek odak	32,43±31,55	0,626	0,888
Multiple odak	35,74±31,67		
Tiroid dışı invazyon			
Yok	30,84±31,81	0,048	0,048
Var	44,0±28,54		
Sağkalım			
Yaşıyor	33,97±31,44	0,285	0,292
Ölü	0		
Metastaz			
Yok	31,77±31,48	0,638	0,105
Var	44,29±30,31		
Operasyon sonrası metastaz			
Yok	31,79±30,71	0,305	0,073
Var	49,10±35,27		

Tablo 2 PSMA yüzdesi ile tiroid tümörleri arasındaki ilişki

PSMA yüzde	p
Papiller Karsinom-NİFTP	0,004
Foliküler Karsinom-NİFTP	0,001
Medüller Karsinom-NİFTP	0,000
Hotspot PSMA yüzde	p
Foliküler Karsinom-NİFTP	0,003

Tablo 3 PSMA skoru ile klinikopatolojik paramatereler arasındaki ilişki

Kategori	skor 0	skor 1	skor 2	skor 3	p değeri*
Yaş					
<50	9(%17,3)	14(%26,9)	9(17,3)	20(38,5)	0,302
≥50	14(%32,6)	8(%18,6)	6(%14,0)	15(%34,9)	
Cinsiyet					
Kadın	17(%23,9)	17(%23,9)	13(%18,3)	24(%33,8)	0,648
Erkek	6(%25,0)	5(%20,8%)	2(%8,3)	11(%45,8)	
Lokalizasyon					
Sağ lob	11(%21,6)	17(%33,3)	8(%15,7)	15(%29,4)	0,430
İsthmus	0	0	1(%50,0)	1(%50,0)	
Sol lob	12(%29,3)	4(%9,8)	6(%14,6)	19(%46,3)	
Sol lob +isthmus	0	1(%100,0)	0	0	
Lenfovasküler invazyon					
Yok	22(%29,0)	21(%28,0)	13(%17,3)	19(%25,3)	0,000
Var	1(%5,0)	1(%5,0)	2(%10,0)	16(%80,0)	
Kapsül					
Yok	13 (%22,0)	13(%22,0)	9(%15,3)	24(%40,7)	0,337
Var	10(%27,8)	9(%25,0)	6(%16,7)	11(%30,6)	
Kapsül dışı invazyon					
Yok	22(%27,2)	21(%25,9)	11(%13,6)	27(%33,3)	0,018
Var	1(%7,1)	1(%7,1)	4(%28,6)	8(%57,1)	
Papiller yapı					
Yok	18(%31)	13(%22,4)	6(%10,3)	21(%36,2)	0,172
Var	5(%13,5)	9(%24,3)	9(%24,3)	14(%37,8)	
Odak					
Tek odak	16(%26,2)	13(%21,3)	9(%14,8)	23(%37,7)	0,886
Multiple odak	7(%20,6)	9(%26,5)	6(%17,6)	12(%35,3)	
Tiroid dışı invazyon					
Yok	22(%29,3)	17(%22,7)	13(%17,3)	23(%30,7)	0,013
Var	1(%5)	5(%25)	2(%20)	12(%60)	
Sağkalım					
Yaşiyor	22(%23,4)	22(%23,4)	15(%16)	35(%37,2)	0,170
Ölü	1(%100)	0	0	0	
Metastaz					
Yok	22(%27,2)	20(%24,7)	12(%14,8)	27(%33,3)	0,034
Var	1(%7,1)	2(%14,3)	3(%21,4)	8(%57,1)	
Operasyon sonrası dönem metastaz					
Yok	23(%27,1)	19(%22,4)	15(%17,6)	28(%32,9)	0,039
Var	0	3(%30)	0	7(%70)	

Tartışma

Anjiogenezis tümör büyümesi ve metastaz açısından kuvvetli bir kolaylaştırıcı faktör oluşturmaktadır. Tümör hücrelerinin lenfatik damar içinde bulunmaları metastaz için çok önemlidir. Lenfanjiogenezis de metastaza katkıda bulunmaktadır. Bilinen lenfanjiogenik büyüme faktörleri Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-C (VEGF-C) ve Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-D (VEGF-D)'dir (16). Bir araştırma yazısında vasküler invazyonu olan olgularda, vasküler invazyonu olmayanlara göre ortalama damar sayısı yüksek bulunmuştur (17).

O'Keefe ve ark. ile Chang ve ark. çalışmalarında anjiogenezisi majör stimüle eden protein olan VEGF ile PSMA ekspresyonu arasında uyum tanımlamışlardır (10, 18).

Michael ve ark. 119 mide ve 130 kolorektal kanser hastasına ait dokularda neovasküler PSMA ekspresyonunu incelenmişlerdir. Kolorektal kanserlerde lenf nodu metastazı olan olgularda %80 ve karaciğer metastazı olan olgularda %84,2 oranında PSMA ekspresyonu izlenmişlerdir (19). Bizim çalışmamızda da PSMA ekspresyonu lenfovasküler invazyon ve metastaz açısından değerlendirildiğinde anlamlı olarak fark bulundu. PSMA ekspresyonu arttıkça lenfovasküler invazyon ve metastaz oluşumu artmaktadır. PSMA mevcut antianjiogenik tedavi stratejileri için ek veya başka bir seçenek olabilir.

Çalışmamızda PSMA ekspresyonunun kapsül invazyonu, tiroid dışı invazyon, lenfovasküler invazyon, operasyon anında izlenen lenf nodu metastazı ve benign-malign tiroid dokusunda ekspresyon görülmesi açısından anlamlı sonuçlar elde edilmiştir.

Morganteti ve ark. berrak hücreli renal hücreli karsinomlarda vena cava inferiora tümör trombusu yapan vakalarında neovasküler PSMA ile güçlü ekspresyon görmüşler ve bu ekspresyonda izlenen artışın agresif tümör ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır (20). Bizim çalışmamızda da izlenen agresif morfoloji ve invazyonlarda saptanan aşırı ekspresyon bunu desteklemektedir.

Weidner ve ark., bazı neoplazmlarda intratümöral mikrovasküler yoğunluğu ölçmek için spesifik etkili yöntemler önerdi. Manuel olarak damar sayısı ve dereceleri 0 ila 3 gibi vasküler yoğunluk sınıflandırmasını kullanarak ya da panendotel hücre belirteçlerini kullanarak bilgisayarlı görüntü ile bunu gerçekleştirdiler (21). Weidner ve ark. bu çalışmalarında intratümöral mikrovasküler yoğunluğun morfolojik analizi için öz-

nel (nitel) yöntemler ve nesnel (nicel) yöntemleri içeren özel yöntemleri benimsemiştirler (21). Nitel yöntem ile yapılan çalışmada, PSMA ve CD34'ün sadece vasküler ekspresyonunu boyandı veya boynamadı olarak değerlendirdiler. Güçlü (yaygın güçlü) boyama 3, orta (yaygın zayıf veya fokal güçlü) boyama 2, zayıf boyama (damarların %5'inden azında zayıf boyama) 1 ve boyanma yokluğu 0 olarak puanlandırmışlar. Tümörle ilişkili neovaskülaritede PSMA skorunu, 2 veya daha yüksek bir boyama skoru olarak tanımladılar. Nicel yöntemde ise objektif intratümöral vasküler elemanlar 10 büyük büyütme alanında damar hücre sayısı piksel analiz yoluyla sayılarak ve her alandaki toplam vasküler alan ölçülerek yüzde olarak ifade edilmiş idi (21). Çalışmamızda ise bu çalışmaya benzer olarak QuPath piksel analiz programı vasıtasıyla 400x büyütme alanında yoğun vasküler boyanma alanının analizi yapıldı. Manuel yöntem ile doğru orantılı sonuçlar elde edildi ve istatistiksel olarak aralarında pozitif korelasyon saptandı. Kapsül invazyonu, lenfovasküler invazyon ve tiroid dışı invazyon açısından yüksek oranda anlamlılık görüldü.

Heitkötter ve ark. tiroid tümörleri üzerine PSMA ekspresyonunu ve Galyum 68 işaretli Pozitron Emisyon Tomografisi/Bilgisayarlı Tomografi (Ga-PSMA PET/BT) tutulumunu karşılaştırmışlardır. Elde edilen veriler üzerine yaptıkları değerlendirmede tiroid karsinomlarında neovasküler PSMA ekspresyonu özellikle tümörlerde diferansiyasyon kaybı olduğunda ve iyot bazlı radyoterapi hastalığı kontrol etmede etkisiz hale geldiğinde, PSMA hedefli radyoligandların veya anti-kor bazlı antianjiyogenik ajanların potansiyel terapötik kullanımına işaret edebilir şeklinde yorum yapmaktadırlar. Bu elde edilen sonuçlar doğrultusunda, iyi diferansiyasyonlu tiroid karsinomlarında güçlü PSMA ekspresyonu olduğunu ortaya koydular. Bununla birlikte, gelecekteki yapılacak çalışmaların da desteği ile, bu hastalarda olası bir radyoligand tedavisi için iyi diferansiyasyonlu tiroid kanserinde radyoetiketli PSMA ligandlarının düşünülmesi önerildi (22). Çalışmamızda da izlenen non-tümöral tiroid dokusunda ekspresyon görülmesi ve daha solum davranış sergileyen NİFTP vakalarında PSMA ekspresyonunun tümörlere göre daha az saptanması ilerideki radyoligand benzeri tedaviler açısından umut ışığı olmaktadır.

Wernicke ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, 32 glioblastom vakası değerlendirilmiş, bunların tümü endotel hücrelerinin morfolojisinden bağımsız olarak neo-vasküler PSMA ekspresyonunun PSMA'nın potansiyel yeni bir terapötik vasküler hedef olabileceği sonucuna varmışlardır (23). Çalışmamızda prognoz açısından agresif seyir ile ilişki gözlenmesi de bu kanıyı destekler niteliktedir.

Haffner ve ark. da yüksek dereceli oral skuamöz hücreli karsinom vakalarında PSMA ekspresyonunu değerlendirmiş ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (24). Bu da bizim çalışmamızda olduğu gibi solid tümörlerde kötü prognoz ile ilişkiyi desteklemektedir.

Schreiber ve ark. mesane ürotelyal karsinomlarında PSMA ekspresyonunu değerlendirmişler ve ürotelyal karsinom alanında non-tümöral mesane dokusuna oranla daha fazla ekspresyon görüldüğünü saptamışlardır. Ayrıca kas invazyonu, tümör evresi, tümör diferansiyasyonu açısından anlamlı sonuçlar elde ettiler (25). Çalışmamızda da tiroid dışı invazyon, kapsül invazyonu açısından anlamlı fark izlendi. Ancak tümör boyutu ve diferansiyasyon açısından anlamlı fark saptanmadı. Bu da çalışmamıza tümör boyutu olarak eklediğimiz parametrenin patolojik T evresi açısından eklenmemesi neden olabilir.

Kasoha ve ark. meme tümörleri üzerine yapmış oldukları PSMA ekspresyon çalışmasında özellikle uzak metastaz olan olgularda PSMA ekspresyonunun daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (26). Çalışmamızda lenf nodu metastazı olan ve 5 yıllık süreçte metastaz görülen olgularda PSMA ekspresyonu açısından anlamlı fark saptandı bu da bahsedilen çalışma ile benzerlik taşımaktadır.

Klein Nulent ve ark. adenoid kistik karsinomlarda PSMA ekspresyonu ve PET ilişkisini araştıran çalışmalarında nüks vakalarda PSMA ekspresyonunun daha fazla olduğu sonucuna varmışlardır (27). Çalışmamızda nüks açısından değil ama tiroid dışı invazyon, lenfovasküler invazyon gibi kötü prognostik kriterler açısından değerlendirme yapılmış olup kötü prognostik parametrelerin yüksek PSMA ekspresyonu ile uyumlu olduğu sonucuna varılmıştır.

Kim ve ark. renal hücreli karsinomda PSMA, Ki-67 ve diğer birçok immünohistokimyasal belirteçler ile yapmış oldukları çalışmada PSMA ekspresyonunun prognoz ile spesifik bir ilişkisinin olmadığını saptadılar (28). Çalışmamızda bu bulguya göre farklılık saptanmasındaki neden neovasküler ekspresyonun değerlendirilmemesidir. Bu nedenle bu açıdan neovasküler PSMA ekspresyonunun incelenmesi prognoz üzerine etkisi ve ilişkisi açısından farklı sonuçlar gösterecektir.

Schmidt ve ark. akciğer tümörlerinde neovasküler PSMA ekspresyonunu değerlendirmişlerdir. Büyük hücreli karsinom ve adenokarsinomlarda spesifik fark izlenmemekle birlikte küçük hücreli karsinom ve skuamöz hücreli karsinomlarda yüksek histolojik derece ile anlamlı fark saptamışlardır. Diğer klinikopatolojik

ve prognostik veriler ile anlamlı fark bildirmemişlerdir (29). Bizim çalışmamızda tümörler arasında histolojik fark üzerine parametremiz olmadığı için yorum yapamadık. Ancak foliküler karsinom-NIFTP, papiller karsinom-NIFTP, medüller karsinom-NIFTP arasında belirgin istatistiksel anlamlılık izlendi. İnvazyon ve metastaz yapmayan diğer tümörlere göre daha iyi prognoza sahip NIFTP vakalarında düşük ekspresyon görülmesi yüksek PSMA ekspresyonlarının kötü prognoz ile ilişkisini destekler niteliktedir.

Van de Wiel ve ark. yapmış olduğu solid tümörlerde PSMA ekspresyonunu değerlendirdikleri araştırmada renal hücreli karsinomlarda PSMA ekspresyonunun lenfovasküler invazyon, metastaz ve ölüm ile ilişkili olduğu ve kötü prognoza işaret ettiği saptamışlardır. Tiroid tümörlerinde ise lenfovasküler invazyon, tümör boyutu ve metastaz ile ilişkisi bildirmişlerdir. Meme karsinomlarında ise yalnızca metastaz ile ilişkisi saptamışlardır. Aynı şekilde kolorektal adenokarsinomlarda karaciğer ve lenf nodu metastazı ile anlamlı ilişki bildirmişlerdir (30). Yine bu bulgular bizim çalışmamıza benzer özelliktedir.

Van de Wiel ve ark. yapmış olduğu solid tümörlerde PSMA ekspresyonunu değerlendirdikleri araştırmada gastrik adenokarsinomlarda TNM evresi, grade ve survey açısından anlamlı fark izlememişlerdir. Pankreatik duktal adenokarsinomlarda ise özellikle TNM evresi KRAS mutasyonu açısından anlamlı fark saptanmamışlardır (30). Bu çalışmalar bizim çalışmamız arasında farklılık mevcuttu. Çalışmamızda tümör boyutu ile PSMA ekspresyonları arasında bu çalışmada olduğu gibi fark izlenmedi. Metastaz açısından bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak PSMA ekspresyonunda anlamlı fark saptandı. Bunun nedeni tümör gelişimlerinde rol oynayan moleküler mekanizmaların farklı olması olabilir.

Sonuç

Sonuç olarak; tiroid tümörlerinde kapsül invazyonu, tiroid dışı invazyon, lenfovasküler invazyon, metastaz önemli prognostik parametrelerdendir. Çalışmamızda izlenen bu parametrelerde PSMA ile anlamlı ilişki olması olguların seyri açısından bizlere ön fikir verebilir. Ayrıca non-neoplastik tiroid alanlarında ekspresyon görülmeyp neoplastik alanlarda izlenen neovasküler yapılarda görülen boyanma yalnızca benign-malign ayrımı konusunda değil ilerleyen süreçte tedavi açısından da bizlere ışık tutacaktır. Klinik seyri oldukça iyi, 2017 yılında literatüre giren ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından tanı kategorisine alınan NIFTP ile diğer tümörler arasında da ekspresyon farklılığı göstermesi bu açıdan klinik ve patolojik tanı açısından

dan katkı sunmaktadır. Bu konunun immünohistokimyasal ve moleküler ek çalışmalar ile desteklenmesinin ayrıntı tanı ve tedavi açısından önemli etkisi olacağını düşünmekteyiz.

Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Etik Kurul Onayı

Bu çalışma için SDÜ Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alınmıştır (Tarih: 03.02.2021, No: 59).

Bilgilendirilmiş Onam

Araştırma retrospektif olarak yapıldığı için bilgilendirilmiş onam beyanı bulunmamaktadır.

Finansman

Bu araştırma, kamu, ticari veya kar amacı gütmeyen sektörlerdeki finansman kuruluşlarından herhangi bir finansal destek almamıştır.

Verilerin Ulaşılabilirliği

Veriler, gizlilik veya diğer kısıtlamalar nedeniyle yalnızca yazarlardan talep edilebilir.

Yazar Katkıları

MK: Çalışmanın planlanması; Verilerin İşlenmesi; Formal Analizler; Araştırma; Metodoloji; Validasyon; Görselleştirme; Makalenin Yazımı.

İMÇ: Çalışmanın planlanması; Formal Analizler; Finansman Eldesi; Araştırma; Metodoloji; Proje Yönetimi; Kaynakların Sağlanması; Denetim; Validasyon; Makalenin düzenlenmesi.

Editöryal

Makalenin yazarlarından İMÇ derginin bölüm editörlerinden biri olarak görev almakla birlikte bu makalenin yayım süreçlerinin hiç bir aşamasında görev almamıştır.

Kaynaklar

1. DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C. Pathology and Genetics of Tumours of Endocrine Organs. 3rd Edition Volume 8. Lyon: IARC Press; 2004.
2. Rosai J, Ackerman LV. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology. 10th Edition, New York: Elsevier; 2011.
3. Vural P. Fizyolojik ve Patolojik Anjiogenezde Vasküler Endotelial Growth Faktörün Rolü. Türk Klinik Biyokimya Derg. 2018;16(1): 53-62
4. Crowther M, Brown NJ, Bishop ET, Lewis CE. Microenvironmental influence on macrophage regulation of angiogenesis in wounds and malignant tumors. J Leukoc Biol. 2001 Oct;70(4):478-90. PMID: 11590184.
5. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology e-book 1st Ed ISBN: 9788131229842 Elsevier; 2011.

6. Kerbel RS. Tumor angiogenesis. N Engl J Med. 2008 May 8;358(19):2039-49. doi: 10.1056/NEJMra0706596. PMID: 18463380; PMCID: PMC4542009.
7. Rinker-Schaeffer CW, Hawkins AL, Su SL, Israeli RS, Griffin CA, Isaacs JT, et al. Localization and physical mapping of the prostate-specific membrane antigen (PSM) gene to human chromosome 11. Genomics. 1995;30(1):105-8.
8. Kawakami M, Nakayama J. Enhanced expression of prostate-specific membrane antigen gene in prostate cancer as revealed by in situ hybridization. Cancer research. 1997;57(12):2321-4.
9. Tsui P, Rubenstein M, Guinan P. Correlation between PSMA and VEGF expression as markers for LNCaP tumor angiogenesis. Journal of biomedicine & biotechnology. 2005;2005(3):287-90.
10. Chang SS, Reuter VE, Heston WD, Bander NH, Grauer LS, Gaudin PB. Five different anti-prostate-specific membrane antigen (PSMA) antibodies confirm PSMA expression in tumor-associated neovasculature. Cancer Res. 1999 Jul 1;59(13):3192-8. PMID: 10397265.
11. Morikawa S, Baluk P, Kaidoh T, Haskell A, Jain RK, McDonald DM. Abnormalities in pericytes on blood vessels and endothelial sprouts in tumors. The American journal of pathology. 2002;160(3):985-1000.
12. Silver DA, Pellicer I, Fair WR, Heston WD, Cordon-Cardo C. Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 1997;3(1):81-5.
13. Gong MC, Chang SS, Sadelain M, Bander NH, Heston WD. Prostate-specific membrane antigen (PSMA)-specific monoclonal antibodies in the treatment of prostate and other cancers. Cancer Metastasis Rev. 1999;18(4):483-90. doi: 10.1023/a:1006308826967. PMID: 10855791.
14. Wernicke AG, Varma S, Greenwood EA, Christos PJ, Chao KS, Liu H, et al. Prostate-specific membrane antigen expression in tumor-associated vasculature of breast cancers. APMM : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica. 2014;122(6):482-9.
15. 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. Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM. 2017;25(4):271-6.
16. Achen MG, Stacker SA. Tumor lymphangiogenesis and metastatic spread-new players begin to emerge. Int J Cancer. 2006 Oct 15;119(8):1755-60. doi: 10.1002/ijc.21899. PMID: 16557570.
17. Wong R, Farrell SG, Grossmann M. Thyroid nodules: diagnosis and management. Med J Aust. 2018 Jul 16;209(2):92-98. doi: 10.5694/mja17.01204. PMID: 29996756.
18. O'Keefe DS, Bacich DJ, Huang SS, Heston WDW. A Perspective on the Evolving Story of PSMA Biology, PSMA-Based Imaging, and Endoradiotherapeutic Strategies. J Nucl Med. 2018 Jul;59(7):1007-1013. doi: 10.2967/jnumed.117.203877. Epub 2018 Apr 19. PMID: 29674422; PMCID: PMC6910646.
19. Haffner MC, Kronberger IE, Ross JS, Sheehan CE, Zitt M, Mühlmann G, et al. Prostate-specific membrane antigen expression in the neovasculature of gastric and colorectal cancers. Human pathology. 2009;40(12):1754-61.
20. Morgantetti G, Ng KL, Samarantunga H, Rhee H, Gobe GC, Wood ST. Prostate specific membrane antigen (PSMA) expression in vena cava tumour thrombi of clear cell renal cell carcinoma suggests a role for PSMA-driven tumour neoangiogenesis. Translational andrology and urology. 2019;8(Suppl 2):S147-s55.
21. Weidner N. Chapter 14. Measuring intratumoral microvessel density. Methods Enzymol. 2008;444:305-23. doi: 10.1016/S0076-6879(08)02814-0. PMID: 19007671.
22. Heitkötter B, Steinestel K, Trautmann M, Grünwald I, Barth P,

- Gevensleben H, Bögemann M, Wardelmann E, Hartmann W, Rahbar K, Huss S. Neovascular PSMA expression is a common feature in malignant neoplasms of the thyroid. *Oncotarget*. 2018 Jan 4;9(11):9867-9874. doi: 10.18632/oncotarget.23984. PMID: 29515776; PMCID: PMC5839407.
23. Wernicke AG, Edgar MA, Lavi E, Liu H, Salerno P, Bander NH, et al. Prostate-specific membrane antigen as a potential novel vascular target for treatment of glioblastoma multiforme. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2011;135(11):1486-9.
 24. Haffner MC, Laimer J, Chaux A, Schäfer G, Obrist P, Brunner A, et al. High expression of prostate-specific membrane antigen in the tumor-associated neo-vasculature is associated with worse prognosis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Modern Pathology*. 2012;25(8):1079-85.
 25. Schreiber H, Hänze J, Nimphius W, Verburg FA, Luster M, Hofmann R, et al. Prostate specific membrane antigen (PSMA) in urothelial cell carcinoma (UCC) is associated with tumor grading and staging. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2020;146(2):305-13.
 26. Kasoha M, Unger C, Solomayer E-F, Bohle RM, Zaharia C, Khreich F, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA) expression in breast cancer and its metastases. *Clinical & Experimental Metastasis*. 2017;34(8):479-90.
 27. Klein Nulent TJW, van Es RJJ, Krijger GC, de Bree R, Willems SM, de Keizer B. Prostate-specific membrane antigen PET imaging and immunohistochemistry in adenoid cystic carcinoma-a preliminary analysis. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2017;44(10):1614-21.
 28. Kim SH, Park WS, Park EY, Park B, Joo J, Joung JY, et al. The prognostic value of BAP1, PBRM1, pS6, PTEN, TGase2, PD-L1, CA9, PSMA, and Ki-67 tissue markers in localized renal cell carcinoma: A retrospective study of tissue microarrays using immunohistochemistry. *PloS one*. 2017;12(6):e0179610.
 29. Schmidt LH, Heitkötter B, Schulze AB, Schliemann C, Steinestel K, Trautmann M, Marra A, Hillejan L, Mohr M, Evers G, Wardelmann E, Rahbar K, Görlich D, Lenz G, Berdel WE, Hartmann W, Wiewrodt R, Huss S. Prostate specific membrane antigen (PSMA) expression in non-small cell lung cancer. *PLoS One*. 2017 Oct 27;12(10):e0186280. doi: 10.1371/journal.pone.0186280. PMID: 29077706; PMCID: PMC5659610.
 30. Van de Wiele C, Sathekge M, de Spiegeleer B, De Jonghe PJ, Debruyne PR, Borms M, et al. PSMA expression on neovasculature of solid tumors. *Histology and histopathology*. 2020;35(9):919-27.