

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin  
Klinik der Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Peter Bartenstein

# **Das Prostata-spezifische Membran-Antigen als Zielstruktur zur PET und Theranostik im Glioblastom**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Maximilian Alexandro Kirchner

aus

Düsseldorf

Jahr  
2024

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Nathalie Lisa Albert

Mitberichterstatter: PD Dr. Bogdana Suchorska  
Prof. Dr. Niklas Thon  
Prof. Dr. Claus Belka

Mitbetreuung durch die  
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. Matthias Brendel  
PD Dr. Adrien Holzgreve

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 22.02.2024

---

*Für Opa*

**I. Affidavit****Eidesstattliche Versicherung**

Kirchner, Maximilian Alexandro

\_\_\_\_\_  
Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

***Das Prostata-spezifische Membran-Antigen als Zielstruktur zur PET und Theranostik im Glioblastom***

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Hamburg, 09.04.2024

\_\_\_\_\_  
Ort, Datum

Maximilian Alexandro Kirchner

\_\_\_\_\_  
Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

**II. Inhaltsverzeichnis**

<b>I.</b>	<b>Affidavit .....</b>	<b>4</b>
<b>II.</b>	<b>Inhaltsverzeichnis.....</b>	<b>5</b>
<b>III.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>6</b>
<b>IV.</b>	<b>Publikationsliste .....</b>	<b>7</b>
<b>V.</b>	<b>Beitrag zu den Veröffentlichungen .....</b>	<b>8</b>
<b>VI.</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>9</b>
VI.I.	Übergeordnete Fragestellung .....	9
VI.II.	Das Glioblastom.....	9
VI.III.	Das Prostata-spezifische Membran-Antigen.....	10
VI.IV.	Positronen-Emissions-Tomographie des Glioblastoms .....	13
VI.V.	PSMA als therapeutische Zielstruktur .....	16
<b>VII.</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>18</b>
<b>VIII.</b>	<b>Summary .....</b>	<b>22</b>
<b>IX.</b>	<b>Paper I.....</b>	<b>26</b>
<b>X.</b>	<b>Paper II.....</b>	<b>27</b>
<b>XI.</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>28</b>
<b>XII.</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>38</b>

**III. Abkürzungsverzeichnis**

<sup>11</sup> C-MET	[ <sup>11</sup> C-methyl]-Methionin
<sup>177</sup> Lu	Lutetium-177
<sup>18</sup> F-FDG	<sup>18</sup> F-2-Fluor-2-desoxy-D-glucose
<sup>18</sup> F-FET	O-(2-[ <sup>18</sup> F]-Fluoroethyl)-L-Tyrosin
2-PMPA	2-(Phosphonomethyl)-pentandicarbonsäure
<sup>225</sup> Ac	Actinium-225
<sup>68</sup> Ga	Gallium-68
CT	Computertomographie (engl.: computed tomography)
GABA	Gamma-Amino-Buttersäure
GCPII	Glutamatcarboxypeptidase II
HUVEC	Human umbilical vein endothelial cell
LNCaP	Lymph Node Carcinoma of the Prostate
MRT	Magnetresonanztomographie
NAA	N-Acetylasparaginsäure
NAAG	N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat
NAALDase I	N-Acetyl-L-Aspartyl-L-Glutamatpeptidase I
PET	Positronen-Emissions-Tomographie (engl.: positron emission tomography)
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PSMA	Prostata-spezifisches Membran-Antigen (engl.: prostate-specific membrane antigen)
RLT	Radioligandentherapie (engl.: radioligand therapy)
SUV	Standardized Uptake Value
TBR	Tumor-to-background ratio
TTP	Time-to-peak
ZNS	Zentrales Nervensystem

#### **IV. Publikationsliste**

Die vorgelegte kumulative Dissertation umfasst folgende Publikationen:

*Paper I:*

**Kirchner MA** \*, Holzgreve A \*, Brendel M, Orth M, Ruf VC, Steiger K, Pötter D, Gold L, Unterrainer M, Mittlmeier LM, Barci E, Kälin RE, Glass R, Lindner S, Kaiser L, Maas J, von Baumgarten L, Ilhan H, Belka C, Notni J, Bartenstein P, Lauber K, Albert NL. **PSMA PET Imaging in Glioblastoma: A Preclinical Evaluation and Theranostic Outlook.** Front Oncol. 2021 Nov 17;11:774017. doi: 10.3389/fonc.2021.774017. PMID: 34869017; PMCID: PMC8635528. \* These authors have contributed equally to this work.

*Paper II:*

Holzgreve A, Biczok A, Ruf VC, Liesche-Starnecker F, Steiger K, **Kirchner MA**, Unterrainer M, Mittlmeier L, Herms J, Schlegel J, Bartenstein P, Tonn JC, Albert NL, Suchorska B. **PSMA Expression in Glioblastoma as a Basis for Theranostic Approaches: A Retrospective, Correlational Panel Study Including Immunohistochemistry, Clinical Parameters and PET Imaging.** Front Oncol. 2021 Mar 30;11:646387. doi: 10.3389/fonc.2021.646387. PMID: 33859946; PMCID: PMC8042319.

Weitere Veröffentlichungen (nicht Bestandteil der Dissertation):

von Rohr K, Unterrainer M, Holzgreve A, **Kirchner MA**, Li Z, Unterrainer LM, Suchorska B, Brendel M, Tonn JC, Bartenstein P, Ziegler S, Albert NL, Kaiser L. Can Radiomics Provide Additional Information in [<sup>18</sup>F]FET-Negative Gliomas? Cancers (Basel). 2022 Oct 5;14(19):4860. doi: 10.3390/cancers14194860. PMID: 36230783; PMCID: PMC9612387.

Holzgreve A, Pötter D, Brendel M, Orth M, Weidner L, Gold L, **Kirchner MA**, Bartos LM, Unterrainer LM, Unterrainer M, Steiger K, von Baumgarten L, Niyazi M, Belka C, Bartenstein P, Riemenschneider MJ, Lauber K, Albert NL. Longitudinal [<sup>18</sup>F]GE-180 PET Imaging Facilitates In Vivo Monitoring of TSPO Expression in the GL261 Glioblastoma Mouse Model. Biomedicines. 2022 Mar 22;10(4):738. doi: 10.3390/biomedicines10040738. PMID: 35453488; PMCID: PMC9030822.

Holzgreve A, Pötter D, Brendel M, Orth M, Weidner L, Maas J, von Ungern-Sternberg B, Gold L, **Kirchner MA**, Riemenschneider MJ, Bartenstein P, Lauber K, Albert NL. Longitudinal PET Imaging Allows for Non-Invasive Assessment of TSPO Expression in a Glioblastoma Mouse Model. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2020 Sep 18; 47(Suppl 1):47.

**Kirchner M**, Holzgreve A, Brendel M, Ruf V, Pötter D, Gold L, Lindner S, Orth M, Maas J, Bartenstein P, Lauber K, Albert NL. Preclinical evaluation of F-18-PSMA PET in glioblastoma as a potential theranostic approach. Nuklearmedizin. 2020; 59(02): 154-155.

## **V. Beitrag zu den Veröffentlichungen**

### Beitrag zu Paper I

Um die gegebenen Fragestellungen zu bearbeiten, habe ich nach intensiver Literaturrecherche das Studiendesign erarbeitet. Die konzeptionelle Ausarbeitung der Versuche umfasste unter anderem die Festlegung der Anzahl der Versuchstiere, die Auswahl des Mausmodells und der Tumorlinien basierend auf Literaturrecherche und Expertengesprächen, die Auswahl des Tracers, die Planung von Kontrollversuchen und die Ausarbeitung des Terminplans inklusive der terminlichen Koordination mit den kooperierenden Arbeitsgruppen.

Die Überwachung der Versuchstiere, Positronen-Emissions-Tomographien (PET), Kontrollversuche, Anfertigung der Gewebeschnitte, Computertomographien, Autoradiographien und Zellkulturversuche wurden selbstständig durch mich oder gemeinsam mit den Kolleginnen und Kollegen der Arbeitsgruppe durchgeführt.

Die PET, Autoradiographien, Färbungen und Zellkulturversuche habe ich quantitativ und qualitativ ausgewertet und interpretiert.

Das Manuskript zur Publikation der Ergebnisse habe ich angefertigt und gemeinsam mit den Ko-Autoren finalisiert.

Dr. med. Adrien Holzgreve war an der Erarbeitung des Studiendesigns, der Versuchsdurchführung, der Auswertung und Interpretation und der Erstellung des Manuskriptes in gleichem Maße beteiligt, was durch die geteilte Erstautorschaft berücksichtigt wurde.

### Beitrag zu Paper II

Für diese Publikation habe ich die Literaturrecherche zur Vorbereitung der Studie und Erarbeitung der detaillierten Fragestellung unterstützt. Ich habe die PETs ausgewertet und war an der statistischen Auswertung und Interpretation der Ergebnisse und Analyse der Überlebenskurven beteiligt. Das Manuskript habe ich für die Publikation überarbeitet.

## **VI. Einleitung**

### **VI.I. Übergeordnete Fragestellung**

Hochpräzise Diagnostik und innovative Therapieformen sind zwingend notwendig, um die Überlebenschancen von Glioblastompatient\*innen zu verbessern. Die Nuklearmedizin hält mit der molekularen Bildgebung mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und der Radioligandentherapie (RLT) diagnostische und therapeutische Optionen bereit, die dazu beitragen können. Die vorliegende Promotionsarbeit evaluiert, ob das auf dem Endothel der Neovaskularisierung exprimierte Prostata-spezifische Membran-Antigen (PSMA) als Zielstruktur zur Bildgebung mittels PET und Radioligandentherapie bei Glioblastompatient\*innen beitragen kann. Kirchner et al. [1] (*Paper I*) evaluieren dazu die PSMA-PET Bildgebung in-vivo im Mausmodell. Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) analysieren den prognostischen Zusammenhang zwischen PSMA-Expression, Vaskularisierung und Gesamtüberleben von Glioblastompatient\*innen bei Erstdiagnose und Rezidiv.

### **VI.II. Das Glioblastom**

Das Glioblastom ist mit einer Inzidenz von 3,21 Fällen pro 100 000 Einwohner\*innen (USA 2012-2015 [3]) der häufigste maligne Tumor des zentralen Nervensystems (ZNS) [3]. Der hochaggressive Tumor stellt aufgrund der raschen Progredienz, die häufig von stark einschränkenden neurologischen und psychischen Defiziten begleitet ist, für die Patient\*innen und deren Angehörige als auch für das Behandlungsteam eine große Herausforderung dar [4]. Zum interdisziplinären Therapieregime gehören gemäß aktueller Leitlinie der *European Association of Neuro-Oncology* (EANO) die chirurgische Tumoresektion, Strahlentherapie und die adjuvante Chemotherapie mit Temozolomid [4]. Trotz dieser aggressiven Therapieoptionen, die meist kombiniert werden, liegt das mediane Gesamtüberleben bei nur 10 Monaten mit einer 2-Jahres-Gesamtüberlebensrate von etwa 20% (Daten des deutschen Krebsregisters der Jahre 2005 – 2014) [5].

Wesentliche Erfolge wurden in den letzten Jahren in der molekularbiologischen Charakterisierung der Tumore des zentralen Nervensystems erzielt. Die Definition der Tumore des zentralen Nervensystems unter Einbeziehung molekularbiologischer Marker hat bereits in der vierten Edition der WHO-Klassifikation der Tumoren des zentralen Nervensystems deutlich an Bedeutung gewonnen und ist ein Paradigmenwechsel in der Neuroonkologie mit Implikationen für das klinische Management [6, 7]. In der fünften und aktuellsten Edition der WHO-Klassifikation der Tumoren des ZNS werden Glioblastome als diffuse Astrozytome und, neben weiterer molekularbiologischen Eigenschaften, insbesondere durch fehlende Mutationen im IDH1/IDH2 Gen (*IDH wild type*) und Histon H3 Gen (*H3.3 G34 wild type*) definiert [8]. Die genaue molekularbiologische Charakterisierung hat prognostische und prädiktive Relevanz und ermöglicht es, Patient\*innen effektiver der für sie am besten geeigneten Therapieform zuzuführen [7].

Darüber hinaus wurden seit der Einführung der kombinierten Radiochemotherapie mit Temozolomid im Jahr 2005 [9] zwar zahlreiche Ansätze zu neuen Therapieoptionen verfolgt, die jedoch bisher keine substanziellen Vorteile gegenüber den etablierten Therapien zeigen [10]. Die Suche nach neuen Therapieformen ist daher dringend notwendig, um die Überlebenschancen von Glioblastompatient\*innen zu verbessern. Das im Glioblastom exprimierte Prostata-spezifische Membran-Antigen könnte eine geeignete Zielstruktur für neue Therapieformen sein und ist in der Nuklearmedizin insbesondere als therapeutisches Target für eine RLT interessant [11].

### **VI.III. Das Prostata-spezifische Membran-Antigen**

Das Typ-II-Transmembranprotein PSMA [12] ist als Tumormarker und Zielstruktur für Therapie und Diagnostik seit dem Ende der 1980er-Jahre Gegenstand intensiver Forschung verschiedener Fachrichtungen. Neben dem Prostatakarzinom findet sich PSMA auch in zahlreichen anderen Tumorentitäten, unter anderem im Glioblastom. Die spezielle Eignung des PSMA als Zielstruktur für neue diagnostische und therapeutische Ansätze ergibt sich aus der spezifischen Expression im malignen Gewebe und gleichzeitig limitiertem Vorkommen im gesunden Gewebe.

#### ***Physiologische PSMA-Expression***

Wie der Name unschwer vermuten lässt, wird PSMA in benignem Gewebe physiologisch in der Prostata, genauer auf den Epithelzellen, exprimiert [13-16]. Die Expression ist jedoch nicht auf die Prostata beschränkt und PSMA findet sich darüber hinaus unter anderem auch im Jejunum (Bürstensaum), in proximalen Tubuluszellen der Niere und in Astrozyten des zentralen Nervensystems [17-20].

#### ***PSMA-Expression in malignem Gewebe und im Glioblastom***

Horoszewicz et al. [14] konnten 1987 im Serum muriner Xenograft-Modelle der häufig verwendeten humanen Prostatakarzinomzelllinie LNCaP (Lymph Node Carcinoma of the Prostate) erstmalig den hoch affinen monoklonalen Antikörper 7E11-C5 gegen das bis dahin in der Prostata noch unbekannt PSMA nachweisen. Die darauf aufbauende Forschung der kommenden Jahre bestätigt die regelhafte Expression von PSMA im Prostatakarzinomgewebe [13, 21, 22]. PSMA dient in der Urologie bereits heute als therapeutisches Target und führte zur erfolgreichen Implementierung einer Radioligandentherapie mit PSMA-Antagonisten bei Patienten mit kastrationsresistenten Prostatakarzinomen [23, 24].

Bereits Ende der 1990er-Jahre stellte man fest, dass PSMA auch in Gliomen und insbesondere dem Glioblastom zu finden ist [25-27]. Nomura et al. [28] und Saffar et al. [29] konnten zeigen, dass die Expression dabei mit der Malignität der Tumore korreliert: Low-Grade Gliome (WHO-Grad I-II, z. B. Low-Grade Astrozytome) zeigen keine oder allenfalls moderate PSMA-Expression im Tumorgewebe, wobei die gut vaskularisierten Glioblastome (WHO-Grad IV) intensive PSMA-Expression auf den Epithelzellen der Ne-

ovaskularisierung zeigen [28, 29]. Zwar bestätigen zahlreiche Publikationen die prinzipielle PSMA-Expression in Gliomen, aber aus noch ungeklärten Gründen unterscheidet sich die Intensität der Expression teilweise deutlich [26-28, 30].

Interessanterweise findet sich PSMA nicht nur im Prostatakarzinom und Glioblastom, sondern auch in malignem Gewebe anderer Karzinome [25]. Dazu gehören unter anderem Nierenzellkarzinome [31, 32], Lungenkarzinome [33], Mammakarzinome [34] und Speicheldrüsenkarzinome [35]. Ähnlich wie beim Glioblastom und im Gegensatz zum Prostatakarzinom wird PSMA in den meisten nicht-prostatistischen Tumorentitäten nicht nur auf den Tumorzellen selbst, sondern auch auf den Epithelzellen der Neovaskularisierung exprimiert [25]. Die PSMA Überexpression verschiedener Tumorentitäten ist nicht nur in der Nuklearmedizin Gegenstand intensiver Forschung und gilt in verschiedenen Fachrichtungen als vielversprechende Zielstruktur für neue therapeutische und diagnostische Ansätze.

### ***Physiologische PSMA-Funktion***

Enzymatisch ist PSMA eine Peptidase mit Hydrolase-Aktivität [12]. Forschungshistorisch wurde PSMA im ZNS und in der Prostata unabhängig voneinander entdeckt. So ist zu erklären, dass PSMA synonym auch als *Glutamatcarboxypeptidase II (GCPII)*, *N-Acetyl-L-aspartyl-L-glutamatpeptidase I (NAALADase I)* oder *Folathydrolase* bezeichnet wird, obwohl es sich jeweils um dasselbe Protein handelt. Die Bezeichnungen entsprechen den enzymatischen Funktionen in bestimmten Geweben: Die synonymen Bezeichnungen GCPII und NAALADase entsprechen der enzymatischen Funktion im ZNS. Hier katalysiert GCPII die Hydrolyse des Neurotransmitters N-Acetyl-Aspartyl-Glutamat (NAAG) zu N-Acetylasparaginsäure (NAA) und Glutamat und inaktiviert NAAG [18, 19, 36]. Der Neurotransmitter NAAG ist nach Glutamat und GABA (Gamma-Amino-Buttersäure) der am häufigsten vorkommende Neurotransmitter im zentralen Nervensystem und spielt unter anderem eine bedeutende Rolle in der Glutamatregulation des ZNS [37, 38]. PSMA wird im Darm als Folathydrolase bezeichnet und ist dazu in der Lage, Folsäure-Polyglutamat zu spalten und die entstehende freie Folsäure über den Bürstensaum zu resorbieren [39].

### ***PSMA in der Pathogenese neurologischer Erkrankungen***

Die Forschung der letzten 20 Jahre zeigt, dass das Zusammenspiel von GCPII und NAAG eine Rolle in der Pathogenese von Schlaganfällen, traumatischen Hirnschäden, peripheren Neuropathien, amyotropher Lateralsklerose, Schizophrenie und in der Analgesie spielt [40-42]. Zentrale Stellschraube ist die Erhöhung des in hohen Konzentrationen neurotoxischen Glutamats im synaptischen Spalt durch zwei Mechanismen: Zum einen erhöht die auf Astrozyten exprimierte GCPII die Glutamatkonzentration durch die Hydrolyse des Substrates NAAG in NAA und Glutamat [43], zum anderen vermindert NAAG selbst wiederum die Glutamatsekretion in den synaptischen Spalt über den inhibitorischen präsynaptischen metabotropen mGluR3 Rezeptor [40]. NAAG ist bei erhöhter GCPII Expression entsprechend vermindert [44]. Das freie Glutamat im synaptischen Spalt wird dann zellulär aufgenommen und wirkt proapoptotisch und ist so zumindest

mitverantwortlich für die Pathogenese der genannten neurologischen Erkrankungen [45]. Dieser Zusammenhang zwischen GCPII und Glutamat legt nahe, dass eine Inhibition der GCPII womöglich einen neuroprotektiven Effekt haben könnte. Tatsächlich konnten Slusher et al. [46] bereits gegen Ende der 1990er-Jahre zeigen, dass die Behandlung von Ratten mit dem GCPII-Inhibitor 2-PMPA (2-(Phosphonomethyl)-pentandicarbonsäure) in einem Schlaganfallmodell das Ausmaß der Hirnschädigung verringert. In den folgenden Jahren konnten der neuroprotektive und antiapoptotische Effekt der GCPII-Inhibition in-vitro und im Tiermodell bestätigt werden [47-49] und führte in jüngster Zeit zur intensivierten Suche und Entwicklung geeigneter Wirkstoffe zur effektiven GCPII-Inhibition [50]. Auch bei traumatischen Hirnschäden und amyotropher Lateralsklerose scheint eine GCPII-Inhibition den Krankheitsverlauf positiv zu beeinflussen und verringert neuronale Zellschäden [51-53]. Diese Erkenntnisse sind die Grundlage vielversprechender Therapieoptionen, die in den kommenden Jahren in klinischen Studien überprüft werden.

### ***PSMA in der Karzinogenese***

PSMA ist nicht nur als Tumormarker, sondern auch funktionell für die Karzinogenese relevant. Hier steht ebenfalls die Rolle von GCPII für den Glutamatstoffwechsel im Mittelpunkt: Glioblastome nutzen  $\alpha$ -Ketoglutarat, das aus Glutamat entsteht (katalysiert durch die Glutaminase und die Glutamatdehydrogenase), als eine Energiequelle für das Tumorwachstum.  $\alpha$ -Ketoglutarat wird dem Citratzyklus als Substrat zur Energiegewinnung zugeführt. Ein Phänomen das auch als *Glutamin Addiction* bezeichnet wird [54-56].

Nguyen et al. [57] konnten zeigen, dass NAAG, das in Glioblastomen in weitaus höherer Konzentration vorkommt als in Low-Grade Gliomen, als Reservoir für Glutamat fungiert und bei Bedarf durch GCPII hydrolysiert und zur Energiegewinnung bereitgestellt werden kann. Therapieansätze, die auf der verminderten Bereitstellung von Glutamat durch die Blockade der Glutaminase basieren, sind durch diese zusätzliche GCPII-abhängige Glutamatquelle weniger wirksam [57]. Analog dazu haben Versuche an Tiermodellen mit Ovarialkarzinomen gezeigt, dass eine GCPII-Inhibition das Tumorwachstum verlangsamen und die Glutamatkonzentration verringern kann [57].

Die PSMA-Expression auf dem Endothel der Neovaskularisierung solider Tumore lässt vermuten, dass PSMA auch in der Angiogenese eine Rolle spielt. Zwar ist die Bedeutung von PSMA für die Neovaskularisierung noch nicht abschließend geklärt, jedoch legen die Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen nahe, dass PSMA an der Angiogenese beteiligt ist [58-60]. Sie konnten zeigen, dass die Angiogenese in PSMA-knockout Mäusen vermindert ist [60]. Mehrere Studien mit Zellkulturversuchen an *human umbilical vein endothelial cells* (HUVECs) lassen vermuten, dass Glioblastome und andere solide Tumore durch Sekretion pro-angiogenetischer Zytokine die PSMA-Expression auf Endothelzellen induzieren und so die Neovaskularisierung und Invasivität fördern [61-64]. Die neovaskularisierungsassoziierte PSMA-Expression hat dementsprechend allem Anschein nach auch eine funktionelle Bedeutung. Die Korrelation zwischen der PSMA-Ex-

pression und der starken Vaskularisierung des Tumors ist so zumindest teilweise erklärbar. Anti-angiogenetische Therapieformen, beispielsweise mit Bevacizumab, sind aktuell Gegenstand intensiver Forschung [65]. Welche Rolle PSMA als möglicher Vaskularisierungsmarker für Therapie und Diagnostik spielen kann, gilt es in weiteren Studien zu evaluieren.

#### **VI.IV. Positronen-Emissions-Tomographie des Glioblastoms**

Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist gemäß der aktuellen Leitlinie der *European Association of Neuro-Oncology* (EANO) der Goldstandard der Bildgebung zur Diagnostik, Therapieplanung und zum Monitoring von Glioblastomen [4]. Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) gewinnt jedoch im klinischen Alltag zunehmend an Bedeutung, da sie wertvolle Informationen für Therapie und Diagnostik liefert, wenn die MRT an ihre Grenzen stößt [66]. Die PET ist daher heute integraler Bestandteil des klinischen Managements, was bereits zur Entwicklung von Leitlinien zur Durchführung der PET bei Gliompatient\*innen geführt hat [67].

##### ***Aminosäure-PET als Goldstandard***

Welches Radiopharmakon (Tracer) für die PET verwendet wird, ist primär abhängig von der klinischen Fragestellung und dem Zielorgan. Die geeignetsten Tracer zur Gliom- und Glioblastomdiagnostik mittels PET sind radioaktiv markierte Aminosäuren wie O-(2-[<sup>18</sup>F]-Fluoroethyl)-L-Tyrosin (<sup>18</sup>F-FET) oder [<sup>11</sup>C-methyl]-Methionin (<sup>11</sup>C-MET) [68, 69]. Das zur onkologischen PET häufig verwendete <sup>18</sup>F-2-Fluor-2-desoxy-D-glucose (<sup>18</sup>F-Fluor-desoxyglucose, <sup>18</sup>F-FDG) wird aufgrund der einfachen Synthese und guten Verfügbarkeit zwar ebenfalls zur Diagnostik von Gliomen und Glioblastomen verwendet, ist aber wegen des eher geringen Kontrastes zwischen gesundem und kanzerösem Gewebe und der unspezifischen Aufnahme den Aminosäuretracern unterlegen [70, 71].

Eine kombinierte Anwendung von Aminosäure-PET und MRT hat entscheidende Vorteile für die Diagnostik und Therapieplanung gegenüber der alleinigen MRT. Einer dieser Vorteile ist die genaue Identifizierung des biologischen Tumolvolumens und metabolisch aktiver Hot-Spots mittels Aminosäure-PET [67, 72-75]: FET und MET sind bluthirnschrankengängig und werden primär über in Gliomen überexprimierte L-Typ Aminosäuretransporter (LAT) aufgenommen [76]. Die Aminosäure-PET erfasst dadurch die metabolisch aktiven Bereiche und die Tumormasse genauer als eine MRT mit Kontrastmittel, das eine intakte Blut-Hirn-Schranke nicht passiert [73, 74, 77, 78]. Dies gilt insbesondere für Low-Grade Gliome, bei denen eine häufig noch intakte Blut-Hirn-Schranke die Kontrastmittelaufnahme beschränkt. Das biologische Tumolvolumen wird bei alleiniger Durchführung einer MRT unter Umständen unterschätzt oder ist zu ungenau, was Auswirkungen auf die Planung der Strahlentherapie und das Ausmaß der chirurgischen Resektion hat [79, 80]. Beispielsweise ist eine Strahlentherapie genauer, wenn das Zielvolumen unter Einbeziehung einer PET bestimmt wird und zeigt so Überlebensvorteile gegenüber eines lediglich über die MRT bestimmten Tumolvolumens [75, 81, 82]. Auch die

operative Tumorresektion entsprechend des mittels Aminosäure-PET identifizierten Tumolvolumens kann das Überleben der Patient\*innen verlängern [83].

Die MRT ist darüber hinaus nur unzureichend dazu in der Lage, Kontrastmittelaufnahme durch Radionekrosen oder therapiebedingte Gewebeschädigungen von Tumorprogression oder einem Rezidiv zu unterscheiden [84]. Auch hier kann die Aminosäure-PET bei der Unterscheidung helfen. Einige Studien konnten beispielsweise Grenzwerte für die FET-Aufnahme (gemessen als *Standardized Uptake Value* (SUV)) zur Unterscheidung therapieinduzierter Effekte von echter Tumorprogression oder Rezidiven definieren [85-89]. Diese Unterscheidungshilfe ist im klinischen Management sehr hilfreich und erspart den Patient\*innen ggf. unnötige Biopsien.

Die Aminosäure-PET ermöglicht auch, prognostische Aussagen zum progressionsfreien Überleben der Glioblastompatient\*innen zu tätigen [69, 75]. Eine Studie mit 79 neu diagnostizierten Glioblastompatient\*innen hat zudem gezeigt, dass das mittels  $^{18}\text{F}$ -FET-PET bestimmte biologische Tumolvolumen ein guter prognostischer Marker für das Gesamtüberleben ist [81]. Auch kinetische PET-Parameter, wie die vergangene Zeit bis zur maximalen Traceraufnahme (*Time-to-peak* (TTP)), haben einen prognostischen Wert und zeigen, dass eine schnelle Anflutung des Tracers (niedrige TTP) mit einem kürzeren Gesamtüberleben korreliert [90, 91].

Zusammenfassend ist die Aminosäure-PET eine wertvolle Modalität in der Diagnostik, der Therapieplanung und im Monitoring sowie zur Verlaufskontrolle bei Gliom- und Glioblastompatient\*innen. Die bisherigen Forschungsergebnisse zeigen deutliche Vorteile der kombinierten Verwendung von MRT und PET und verlangen eine noch konsequentere Einbindung der Aminosäure-PET im klinischen Alltag.

### ***PSMA-PET im Glioblastom***

Im Gegensatz zur Aminosäure-PET ist die PSMA-PET noch nicht im klinischen Management etabliert und wird bisher ausschließlich im Rahmen klinischer Studien und individueller Heilversuche durchgeführt. Erste Ergebnisse aus Fallberichten und kleinen Kohorten wurden seit dem Jahr 2015 publiziert [92-94]. Sasikumar et al. [93] haben beispielsweise bei 10 Patient\*innen (5 mit Verdacht auf ein Glioblastomrezidiv, 5 mit einer neuen, noch nicht charakterisierten Läsion) vergleichend jeweils eine  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11-PET und eine  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET durchgeführt. Bei allen Patient\*innen mit bestätigtem Rezidiv (4/5) zeigt die  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11-PET sowie die  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET eine deutliche Traceraufnahme ( $^{68}\text{Ga}$ -PSMA:  $\text{SUV}_{\text{max}}$  5.8-13.5,  $^{18}\text{F}$ -FDG:  $\text{SUV}_{\text{max}}$  8.45-16.54). Ein Fall ohne Rezidiv zeigt dagegen keine Aufnahme. Ein deutlicher Unterschied zwischen  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11-PET und  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET zeigte sich in der Kontrastierung zum gesunden Parenchym: Das gesunde Hirnparenchym zeigt fast keine  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11-Aufnahme wobei  $^{18}\text{F}$ -FDG dagegen auch im gesunden Gewebe aufgenommen wird. Das führt zu einen zu sehr hohen *Tumor-to-background* Werten (TBR, berechnet als Aufnahme in Tumor/Aufnahme im gesunden Hintergrund) für die  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-11-PET ( $^{68}\text{Ga}$ -PSMA: 4.07-29.4,  $^{18}\text{F}$ -FDG: 0.96-1.75), zum anderen erleichtert es die visuelle Identifizierung

des Tumors [93]. Ähnliche Ergebnisse können für die primären Läsionen berichtet werden. Noch höhere TBRs zwischen 32.2 und 357.5 werden von Kunikowska et al. [95] in einer Studie mit 15 Glioblastomrezidiven berichtet. Die visuelle und auch quantitative Abgrenzung des Tumors wird dadurch deutlich erleichtert und ist ein wichtiger Faktor für das steigende Interesse an PSMA als Zielstruktur zur Diagnostik von Glioblastomen. Weitere publizierte Studien bestätigen die hohen TBRs und zeigen, dass PSMA eine vielversprechende Zielstruktur zur PET-Diagnostik von Gliomen und Glioblastomen ist [96-101].

Daten aus den beiden bisher größten publizierten Patient\*innenkollektiven mit jeweils 30 [102] und 35 [103] eingeschlossenen Gliompatient\*innen belegen zusätzlich, dass die  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-Aufnahme mit dem WHO-Grad des Tumors korreliert: Low-Grade-Gliome zeigen weniger PSMA-Uptake als High-Grade-Gliome [102-104]. Die Autoren sind ebenfalls dazu in der Lage, geeignete Cut-off-Werte für die Unterscheidung von Glioblastomen und Low-Grade-Gliomen zu definieren [103] und können darlegen, dass die  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-PET besser zur Differenzierung des Tumorgrades geeignet ist als die PET mit FDG [96, 102]. Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass der PSMA-Uptake mit der Aggressivität der Tumore zunimmt [103].

Einzelne Fallberichte beleuchten jedoch auch mögliche Limitationen der PSMA-PET: Gupta et al. [105] und Moreau et al. [106] berichten von PSMA-Aufnahme in Fällen mit Pseudoprogression nach Radiochemotherapie. Eine Unterscheidung zwischen Pseudoprogression und Tumorprogression mit der PSMA-PET ist zumindest nach heutigem Forschungsstand ohne definierte Cut-off-Werte nicht eindeutig möglich und sollte bei der Interpretation der PSMA-PET-Bilder beachtet werden. Die Autoren einer präklinischen Studie mit Glioblastom-Rattenmodellen beobachten außerdem, dass Teile des PSMA-PET-Signals mit aktivierten Astrozyten korrelieren [107]. Das wirft die noch ungeklärte Frage auf, welche Zellen neben den Gefäßen der Neovaskularisierung in welchem Maße für den PSMA-Uptake verantwortlich sind und könnte auf eine mögliche Limitierung der Anwendung der PSMA-PET hindeuten [11].

Die bisher publizierten Daten zeigen, dass PSMA-Imaging von Glioblastomen grundsätzlich möglich ist. Insbesondere der starke Kontrast zwischen gesundem Parenchym und Tumorgewebe scheint gegenüber der FDG- und FET-PET ein Vorteil zu sein. Bisher unklar ist jedoch, welchen Nutzen die PSMA-PET zusätzlich zu den bereits etablierten Modalitäten MRT und Aminosäure-PET bietet. Kann die PSMA-PET zusätzliche prognostische Informationen liefern? Korreliert das PET Signal mit dem Tumolvolumen? Ist die PSMA-PET zur Therapieplanung geeignet? Können mittels PSMA-PET Aussagen zur Vaskularisierung gemacht werden? Welchen Vorteil hat die PSMA-PET gegenüber der Aminosäure-PET, dem aktuellen nuklearmedizinischen Goldstandard? Diese und weitere Fragen sind, Stand heute, ungeklärt und bedürfen intensiver Forschung, insbesondere mit größeren Kohorten, um zu evaluieren, ob die PSMA-PET tatsächlich zusätzlichen Nutzen hat und den Sprung von einer vielversprechenden Zielstruktur zur tatsächlich klinisch etablierten Modalität schafft.

### VI.V. PSMA als therapeutische Zielstruktur

Das Interesse an PSMA als Zielstruktur entspringt der damit verbundenen Hoffnung auf die Etablierung einer möglichen Radioligandentherapie. Neben dem Glioblastom und dem Prostatakarzinom gibt es zahlreiche Tumorentitäten, bei denen ebenfalls versucht wird, die PSMA-Expression zu nutzen und eine RLT zu etablieren [108]. Die für eine RLT verwendeten Radionuklide sind vor allem  $\beta^-$ -Strahler, beispielsweise Lutetium-177 ( $^{177}\text{Lu}$ ), oder  $\alpha$ -Strahler, zum Beispiel Actinium-225 ( $^{225}\text{Ac}$ ), mit denen die entsprechenden Liganden radioaktiv markiert werden [109, 110]. Die RLT ermöglicht durch die Spezifität des Liganden eine lokal begrenzte (2 mm bei  $^{177}\text{Lu}$ ), tumorspezifische Wirkung und limitiert die Toxizität im gesunden Gewebe [109]. Aktuell stehen eine Vielzahl von Tracern zur Verfügung, die an PSMA binden können und von denen einige, je nach verwendetem Radionuklid, sowohl zur Diagnostik, als auch zur Therapie verwendet werden können [111]. Der PSMA-Antagonist PSMA-617 kann z. B. zur Diagnostik mit dem  $\beta^+$ -Strahler  $^{68}\text{Ga}$  ( $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-617) und für eine RLT mit  $^{177}\text{Lu}$  markiert werden ( $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617) [112]. Dieser duale Ansatz aus Diagnostik und Therapie wird als *Theranostik* bezeichnet [113]. Im Sinne der personalisierten Medizin können mit theranostischen Ansätzen bereits während der Diagnostik Informationen für eine mögliche Therapie gesammelt werden und ermöglichen eine individualisierte Therapieentscheidung, die spezifisch auf die Patient\*innen zugeschnitten ist – ein Konzept für das die RLT besonders geeignet ist [113].

Dass eine RLT mit PSMA als Zielstruktur erfolgreich das Überleben von Tumorpatient\*innen verlängern kann, zeigt die bisher größte prospektive, randomisierte, Multicenter-Studie mit  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 bei Patienten mit kastrationsresistentem Prostatakarzinom [24]: Die Patienten, die eine  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617-Therapie erhalten, zeigen im Vergleich zur Kontrollgruppe ein längeres medianes Gesamtüberleben (15.3 und 11.3 Monate respektive) [24]. Eine weitere Multicenterstudie vergleicht die Reduktion des Prostata-spezifischen Antigens (PSA) nach Therapie mit  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 mit der Reduktion nach einer Therapie mit dem Zytostatikum Cabazitaxel, das bei Patienten mit progredientem, kastrationsresistentem Prostatakarzinom verwendet wird [114]. Auch hier zeigt sich, dass die Patienten auf die Therapie mit  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 ansprechen und die PSA-Werte stärker sinken als bei der Therapie mit Cabazitaxel [114]. Eine  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617-Therapie bei Patienten mit zerebralen Prostatakarzinom-Metastasen kann in Kombination mit Strahlentherapie ebenfalls die Größe der Metastasen reduzieren [115].

Die Erfolge der  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617-RLT bei Patienten mit Prostatakarzinomen wecken die Hoffnung, dass auch Glioblastompatient\*innen von einer  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617-RLT profitieren könnten [11, 109]. Ein wichtiger Faktor für eine erfolgreiche RLT ist, dass das Radiopharmakon im Tumor akkumuliert, um eine ausreichende Dosis für die Therapie erzielen zu können. Kunikowska et al. [116] können am Fall eines 54-jährigen Patienten mit Glioblastomrezidiv zeigen, dass  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 wesentlich länger im Tumor als in den toxizitätsrelevanten Organen Leber und Niere retiniert wird. Die erzielte Dosis ist mit 14.07 Gy ebenfalls höher als in der Niere (0.14 Gy) und der Leber (0.49 Gy) [116]. Darüber hinaus gibt es trotz der bisher vielversprechenden Ergebnisse beim PSMA-PET-

Imaging wenige publizierte Fälle mit einem Therapieversuch mit  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617: Bei einem 37-jährigen Patienten mit Glioblastom-Progression konnte nach drei Zyklen eine Reduktion im Tumolvolumen und eine Minderung der Symptome erzielt werden [101]. Bei einer weiteren Kohorte erfüllten lediglich 3 von insgesamt 20 eingeschlossenen Patient\*innen die Einschlusskriterien für eine  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617-RLT; Aussagen zur Effektivität konnten nach zwei Zyklen  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617-RLT nicht gemacht werden [117]. Anknüpfend an diese wenigen aber dennoch erfolgsversprechenden ersten Ergebnisse müssen noch weitere, systematische Studien durchgeführt werden, um die Wirksamkeit einer PSMA-RLT zu evaluieren.

## VII. Zusammenfassung

Das Prostata-spezifische Membran-Antigen ist eine vielversprechende Zielstruktur zur Diagnostik und Therapie von Glioblastomen mittels nuklearmedizinischer Verfahren. Bisher publizierte Studien zeigen, dass PSMA-PET-Imaging prinzipiell die Darstellung von Glioblastomen ermöglicht [102, 103]. Offen bleibt die Frage, welchen zusätzlichen Nutzen die PSMA-PET zu den bisher primär verwendeten diagnostischen Modalitäten MRT und Aminosäure-PET bietet und ob eine PSMA-RLT erfolgversprechend sein kann.

Um zum wissenschaftlichen Diskurs dieser Fragen beizutragen, wurden zwei Studien durchgeführt, die Bestandteil der vorgelegten Dissertation sind. Kirchner et al. [1] (*Paper I: PSMA-PET Imaging in Glioblastoma: A Preclinical Evaluation and Theranostic Outlook*) evaluieren  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-PET-Imaging im Glioblastom-Mausmodell der GL261 Zelllinie. Die Zellen wurden orthotrop im Maushirn implantiert. Statische oder dynamische  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-PET sowie Computertomographien (CT) mit Kontrastmittel wurde an verschiedenen Tagen nach Inokulation durchgeführt. Anschließend wurde das Hirngewebe mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) und ex-vivo und in-vitro Autoradiographien analysiert und mit PET und CT korreliert. Außerdem wurden Zellkulturversuche durchgeführt, um die  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-Aufnahme in Tumorzellen zu beurteilen.

Holzgreve et al. [2] (*Paper II: PSMA Expression in Glioblastoma as a Basis for Theranostic Approaches: A Retrospective, Correlational Panel Study Including Immunohistochemistry, Clinical Parameters and PET Imaging*) untersuchen retrospektiv die PSMA-Expression im Tumorgewebe von 16 Glioblastompatient\*innen im Primärtumor und im Gewebe des Rezidivs. Die PSMA-Expression wurde unter anderem mit dem Gesamtüberleben korreliert und auf prognostische Wertigkeit überprüft. Außerdem wurde exemplarisch eine  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-PET an einem Patienten durchgeführt.

### **Primäre Glioblastome und Rezidive exprimieren PSMA**

Die durchgeführten immunhistochemischen Anti-PSMA- und CD34-Färbungen der Biopsien der Glioblastompatient\*innen bestätigen die aus der Literatur [25-27] bereits bekannte PSMA-Expression auf den neo-angiogenetischen Gefäßen der Glioblastome [2] (*Paper II*): 16 von 16 Patient\*innen zeigten zum Zeitpunkt der primären Diagnosestellung ein positives PSMA Staining der Tumorgefäße. Bei 15 der 16 Patient\*innen zeigte sich auch beim Rezidiv ein positive PSMA Staining, wobei die Anzahl der PSMA-positiven Gefäße bei den Rezidiven geringer war [2]. Im Gegensatz zu den Gefäßen des Tumors zeigt das übrige Tumorgewebe allenfalls vereinzelt PSMA-Expression [2]. Die durchgeführten Zellkulturversuche zur Beurteilung des  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-Uptakes der murinen GL261 Zelllinie und der humanen U87 Zelllinie zeigten keinen  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 Uptake der Tumorzellen selbst und bestätigen diese Ergebnisse ebenfalls [1] (*Paper I*).

Interessanterweise zeigen die durchgeführten ex-vivo Autoradiographien der GL261-Maushirnschnitte ein verstärktes Tracersignal in der Tumorperipherie am Übergang zum gesunden Gewebe [1]. Oliveira et al. [107] konnten ein analoges Signal in einem Glioblastom-Rattenmodell PSMA exprimierenden aktivierten Astrozyten in der Tumorumgebung zuordnen. Obwohl die Ergebnisse von Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) deutlich

zeigen, dass PSMA auf den Gefäßen der Neovaskularisierung exprimiert ist, deutet die PSMA-Expression in aktivierten Astrozyten darauf hin, dass zumindest ein Teil des PET Signals auch von anderen Zelltypen stammen könnte. Diese Erkenntnisse sind relevant für die Interpretation der PSMA-PET-Bilder, insbesondere dann, wenn man diese zukünftig zur Planung der Biopsien, der Resektion oder Strahlentherapie nutzen möchte. Eine retrospektive Studie mit 10 Glioblastompatient\*innen hat beispielsweise festgestellt, dass ein mittels  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA-PET bestimmtes Zielvolumen für die Strahlentherapie größer ist als das bestimmte Zielvolumen mittels MRT [118]. Dass diese Volumendifferenz durch ein PSMA Signal aktivierter Astrozyten um den Tumor herum zustande kam, wurde nicht evaluiert, wäre aber eine mögliche Erklärung. Ob die PSMA-PET, ähnlich wie die Aminosäure-PET, tatsächlich genauer das wahre biologische Tumolvolumen erfasst als die MRT und eine Strahlentherapieplanung mit PSMA-PET auch klinische Relevanz hat, ist bisher noch ungeklärt.

### ***PSMA-Expression als prognostischer Marker***

Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) legen erstmalig dar, dass die PSMA-Expression ein prognostischer Marker für das Gesamtüberleben beim Glioblastom sein kann. Der Zusammenhang zwischen PSMA-Expression des Rezidivs und Gesamtüberleben ist dabei von besonderer Bedeutung: Je höher die PSMA-Expression im Gewebe des Glioblastomrezidivs, desto geringer das mediane Gesamtüberleben. Interessanterweise ist auch die Veränderung der PSMA-Expression von Erstdiagnose zu Rezidiv relevant. Patient\*innen mit Glioblastomrezidiv überleben nach Therapie länger, wenn die Anzahl PSMA-positiver Gefäße von Primärtumor zu Rezidiv abnimmt (medianes Gesamtüberleben 22 Monate vs. 12 Monate) [2]. Diese Ergebnisse sind aufgrund der kleinen Kohorte (16 Patient\*innen) nicht statistisch signifikant, zeigen aber eine deutliche Tendenz. PSMA-PET-Imaging-Daten haben also möglicherweise auch prognostischen Wert. Inwieweit sich diese immunhistochemischen Daten auf die PSMA-PET übertragen lassen, muss in zukünftigen Studien untersucht werden.

### ***Hohe Tumor-to-background Werte mit $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-PET***

Als weiteres Ergebnis konnte der hohe Kontrast zwischen Tumor und gesundem Gewebe im GL261-Mausmodell bestätigt werden (*Paper I*) [1]. Bisher gibt es nur limitierte Daten zum PSMA-PET-Imaging im Mausmodell. Ein etabliertes Mausmodell wäre von großer Hilfe auf dem Weg zur Etablierung einer RLT. Die vorgelegte Dissertation analysiert erstmalig die  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-PET im Glioblastom-Mausmodell mit orthotop implantierten GL261-Tumoren (*Paper I*) [1]. Die durchgeführte  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-PET der GL261-Mäuse zeigt ein visuell deutlich identifizierbares Tracersignal, das mit der Lokalisation des Tumors in der HE-Färbung übereinstimmt [1]. Da das nicht-tumoröse Hirnparenchym fast kein  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 aufnimmt, können im GL261-Mausmodell mittels  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 hohe TBRs erzielt werden, die größer sind als die erzielten TBRs der  $^{18}\text{F}$ -FET-PET in vergleichbaren Mausmodell Studien ( $\text{TBR}_{\text{max}}^{18}\text{F-PSMA-1007}$  von 11.3 [1] vs.  $\text{TBR}_{\text{max}}^{18}\text{F-FET-PET}$  von 3.2 [119]). Der hohe Kontrast zwischen Tumor und gesundem Gewebe vereinfacht die visuelle Abgrenzung des Tumors. Auch die von Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) beispielhaft analysierte humane  $^{18}\text{F}$ -PSMA-PET eines

Glioblastomrezidivs zeigt eine deutliche Aufnahme der Läsion mit sehr wenig Tracersignal im gesunden Gewebe. Die Ergebnisse entsprechen den bereits publizierten Daten [93, 102, 103] und bestätigen, dass die PSME-PET als Proof of Concept im Mausmodell und im Menschen möglich ist [1, 2].

### ***Heterogener PSMA-Uptake erfordert einen theranostischen Therapieansatz***

Die  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-PET im Mausmodell zeigt zwar hohe TBRs, die absolute Traceraufnahme im GL261-Tumor ist jedoch gering. Kirchner et al. [1] (*Paper I*) berichten von  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  von  $0.21 \pm 0.04$  g/ml an Tag 18 nach Tumorimplantation. Die Aufnahme in den toxizitätsrelevanten Organen Niere, Knochenmark und Parotis dagegen ist wesentlich höher [1]. Der geringe absolute Uptake im GL261-Tumor lässt die Hypothese zu, dass der Uptake im Tumor nicht spezifisch ist, sondern lediglich durch den Defekt der Blut-Hirn-Schranke zustande kommt. Die Daten des Competitive Binding Assays, der keine Reduktion des Signals im Tumor erzielen konnte, erhärten diese Hypothese [1]. Aus den dynamisch generierten  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-PET-Daten ist ersichtlich, dass die TTP im GL261-Tumormodell zwischen 1.5 und 3.5 Minuten liegt und anschließend eine abfallende Kinetik zeigt. Verglichen damit ist die Kinetik bei vergleichbaren Studien im Mausmodellen mit PSMA-positiven Prostatakarzinomen ansteigend und der Tracer wird wesentlich länger im Tumor retiniert [120, 121]. Aufgrund des unspezifischen Signals und des schnellen Auswaschens des Tracers aus dem Tumor muss zusammenfassend festgehalten werden, dass das GL261-Mausmodell nicht zur weiteren Evaluation einer potenziellen RLT geeignet ist [1]. Später publizierte PSMA-PET-Daten einer anderen Arbeitsgruppe, die ebenfalls an GL261-Mausmodellen erhoben wurden, bestätigen die publizierten Ergebnisse von Kirchner et al. [1] (*Paper I*) und zeigen einen ähnlich niedrigen PSMA-Uptake und ebenfalls ein Auswaschen des Tracers [122].

Dass das GL261-Mausmodell nicht zur weiteren Evaluierung geeignet ist, ist ernüchternd, passt aber in das bisher bekannte heterogene Gesamtbild der PSMA-PET-Bildgebung beim Glioblastom mit patient\*innenabhängig variierendem PSMA-Uptake. Die Autoren einer Studie beispielsweise publizieren bei 10 untersuchten Glioblastompatient\*innen TBRs zwischen 4.07 und 134.8 [99]. Die absolute Traceraufnahme des Tumors variiert ebenfalls sehr stark. Liu et al. [102] berichten von durchschnittlichen SUVs zwischen 0.23 und 6.69 ( $\text{SUV}_{\text{max}}$  zwischen 1.01 und 13.62). Auch die von Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) durchgeführte  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007-PET eines Glioblastomrezidivs zeigt eine gute Kontrastierung des Tumors, der absolute Uptake im Tumor ist jedoch verglichen mit dem Uptake in den toxizitätsrelevanten Organen so gering, dass eine RLT bei diesem Patienten nicht in Frage kommt. Die von Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) durchgeführten immunhistochemischen Färbungen zeigen analog dazu deutliche Unterschiede in der Anzahl der PSMA-positiven Gefäße in den untersuchten Schnitten (7-437 bei Erstdiagnose und 0-283 bei Rezidiv). Die heterogene PSMA-Expression und der patient\*innenabhängige Uptake der PSMA-PET machen deutlich, wie entscheidend ein personalisierter theranostischer Ansatz für eine potentielle RLT ist. Nicht jedes Glioblastom bietet die Voraussetzungen für eine erfolgreiche Therapie: In einer von Truckenmueller et al. [117] publizierten Studie haben aus 20 Patient\*innen mit High-Grade-Gliomen lediglich 3 die

Einschlusskriterien (*Tumor-to-liver Ratio* > 1.0) für eine  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617-RLT erfüllt. Die PSMA-PET könnte zukünftig als prädiktiver Parameter für die Erfolgchancen einer RLT mit  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 verwendet werden. Als Proof of Concept einer RLT mit  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 konnten Kunikowska et al. [116] bei einem Glioblastompatienten bereits erfolgreich demonstrieren, dass das Radiopharmakon auch noch nach 14 Tagen im Tumor verbleibt. In Niere und Leber dagegen war der Tracer bereits nach wenigen Tagen nur noch in geringen Dosen nachweisbar. Diese humanen Ergebnisse sind im Gegensatz zu den Ergebnissen im GL261-Mausmodell vielversprechend für einen therapeutischen Ansatz, verlangen aber in Zusammenschau der vorgelegten Daten einen theranostischen Ansatz.

### **Fazit**

Die vorliegende Dissertation demonstriert, dass PSMA-PET-Imaging im Glioblastom grundsätzlich möglich ist. Die PSMA-PET im GL261-Mausmodell zeigt einen hohen Kontrast und eine gute visuelle Abgrenzbarkeit des Glioblastoms. Zur weiteren Evaluierung einer PSMA-RLT scheint das GL261-Mausmodell allerdings nicht geeignet.

Die immunhistochemische Analyse der humanen Gewebeproben zeigt, dass eine höhere PSMA-Expression im Glioblastomrezidiv negativ mit dem Gesamtüberleben korreliert ist. PSMA-PET-Daten könnten also auch prognostische Aussagekraft haben.

Die PSMA-Überexpression im Glioblastom weckt die Hoffnung, dass eine Radioligandentherapie die Überlebenschancen von Glioblastompatient\*innen verbessern kann. Ein personalisierter, theranostischer Therapieansatz ist für den Erfolg dabei unerlässlich.

## VIII. Summary

The prostate-specific membrane antigen (PSMA) is a promising target for the diagnosis and therapy of glioblastoma using nuclear medicine techniques. Previously published studies show that PSMA PET imaging in principle allows the identification of glioblastoma [102, 103]. Which additional benefit PSMA PET offers to the primarily used diagnostic modalities MRI and amino acid PET in glioblastoma imaging and whether PSMA RLT can be promising remains to be answered.

To contribute to the scientific discourse of these questions, two studies were performed that are part of the presented dissertation. Kirchner et al. [1] (*Paper I: PSMA PET Imaging in Glioblastoma: A Preclinical Evaluation and Theranostic Outlook*) evaluate  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 PET imaging in the GL261 glioblastoma mouse model. Cells were implanted orthotopically in the mouse brain. Static or dynamic  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 PET and computed tomography (CT) scans with contrast agent were performed on different days after inoculation. Subsequently, brain tissue was analyzed using hematoxylin-eosin (HE) staining and *ex vivo* and *in vitro* autoradiographies and correlated with PET and CT. Cell culture experiments were also performed to assess  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 uptake in tumor cells.

Holzgreve et al. [2] (*Paper II: PSMA Expression in Glioblastoma as a Basis for Theranostic Approaches: A Retrospective, Correlational Panel Study Including Immunohistochemistry, Clinical Parameters and PET Imaging*) retrospectively investigate PSMA expression in tumor tissue from 16 glioblastoma patients in the primary tumor and recurrence. PSMA expression was correlated with overall survival and assessed for prognostic value. In addition,  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 PET was performed in one patient.

### **Primary glioblastoma and recurrences show PSMA expression**

The immunohistochemical anti-PSMA and -CD34 stainings of the samples of the glioblastoma patients confirm that PSMA is overexpressed on the neo-angiogenic vessels of glioblastoma (*Paper II*) [2], which is already known from published studies [25-27]. 16 of 16 patients showed positive PSMA staining of the tumor vessels at the time of primary diagnosis. Fifteen of the 16 patients also showed positive PSMA staining at recurrence, although the overall number of PSMA-positive vessels was lower in recurrences [2]. In contrast to the tumor vessels, the remaining tumor tissue barely showed any PSMA expression [2]. The cell culture experiments performed to assess the  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 uptake of the murine GL261 cells and the human U87 cells show no  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 uptake of the tumor cells and confirm these results [1] (*Paper I*).

Interestingly, the performed *ex vivo* autoradiographies of the GL261 mouse brain samples show an enhanced tracer signal in the tumor periphery at the junction with healthy tissue [1]. Oliveira et al. [107] were able to assign an analogous signal in a glioblastoma rat model to activated astrocytes in the tumor periphery that also express PSMA. Although the present results published by Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) indicate that PSMA is expressed on neovascularization vessels, PSMA expression in activated astrocytes suggests that at least part of the PET signal could also originate from other cell types. These findings are relevant to the interpretation of PSMA PET images, particularly if they

are to be used in the future to plan biopsies, resection, or radiotherapy. A retrospective study of 10 glioblastoma patients finds that a target volume for radiotherapy that is determined by  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA PET was larger than the target volume determined by MRI [118]. That this volume difference was due to a PSMA signal from activated astrocytes around the tumor was not evaluated but would be a possible explanation. Whether PSMA PET, like amino acid PET, actually captures the true biological tumor volume more accurately and whether radiotherapy planning with PSMA PET also has clinical relevance is also still unclear.

### ***PSMA expression as a prognostic marker***

Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) suggest for the first time that PSMA can be a prognostic marker for overall survival in glioblastoma. The correlation between PSMA expression of the recurrence and overall survival is of particular importance: the higher the PSMA expression in the tissue of the glioblastoma recurrence, the lower the median overall survival. Interestingly, the change in PSMA expression from initial diagnosis to recurrence is also relevant. Patients with glioblastoma recurrence, for example, survive longer after therapy if the number of PSMA-positive vessels decreases from primary tumor to recurrence (median overall survival 22 months vs. 12 months) [2]. These results are not statistically significant, probably due to the small cohort (16 patients) but show a clear trend. Thus, PSMA PET imaging data may also have prognostic value. If these immunohistochemical data can be transferred to PSMA PET has to be investigated in future studies.

### ***High tumor-to-background values with $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 PET***

As a further result, the high contrast between tumor and healthy tissue could be confirmed in the GL261 mouse model [1] (*Paper I*). To date, there are limited data on PSMA PET imaging in the mouse model. An established mouse model would be of great help towards the establishment of RLT. The presented dissertation is the first to analyze  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 PET in the glioblastoma mouse model with orthotopically implanted GL261 tumors. The performed  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 PET of GL261 mice show a visually clearly identifiable tracer signal which correlates with the localization of the tumor in HE staining [1]. Since the non-tumor brain parenchyma shows almost no  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 uptake, high TBRs can be obtained in the GL261 mouse model using  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007, which are greater than the obtained TBRs of  $^{18}\text{F}$ -FET-PET in comparable mouse model studies ( $\text{TBR}_{\text{max}}^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 of 11.3 [1] vs.  $\text{TBR}_{\text{max}}^{18}\text{F}$ -FET-PET of 3.2 [119]). The high contrast between tumor and healthy tissue facilitates visual delineation of the tumor. The human  $^{18}\text{F}$ -PSMA PET of a glioblastoma recurrence analyzed by Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) also shows a clear uptake of the lesion with very little tracer signal in the healthy tissue. The results are consistent with previously published data [93, 102, 103] and confirm that PSME PET is feasible as a proof of concept in mouse models and in humans [1, 2].

### ***Heterogeneous PSMA uptake requires a theranostic approach***

$^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 PET in mouse model shows high TBRs, but absolute tracer signal in GL261 tumor is low. Kirchner et al. [1] (*Paper I*) report  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  of  $0.21 \pm 0.04$  g/ml at day

18 after tumor implantation. In contrast, uptake in the toxicity-relevant organs kidney, bone marrow and parotid gland is much higher [1]. The low absolute uptake in the GL261 tumor allows the hypothesis that the uptake in the tumor is not specific, but only due to the defect of the blood-brain barrier. The data from the competitive binding assay, which fails to achieve reduction of the signal in the tumor, corroborate this hypothesis [1]. The dynamic  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 PET data shows that TTP in the GL261 tumor model ranges from 1.5 to 3.5 minutes and then shows decreasing kinetics. In contrast, the kinetics in comparable mouse models with PSMA-positive prostate carcinomas is increasing and the tracer is retained in the tumor much longer [120, 121]. In conclusion, due to the non-specific signal and the rapid washout of the tracer from the tumor, the GL261 mouse model seems to be not suitable for further evaluation of potential RLT [1]. Later published PSMA PET data from another group, also collected on GL261 mouse models, confirm the published results of Kirchner et al. [1] (*Paper I*) and show a similarly low PSMA uptake and also an early washout of the tracer [122].

That the GL261 model is not suitable for further evaluation is sobering but fits the heterogeneous overall picture of PSMA PET imaging in glioblastoma known so far with patient dependent varying PSMA uptake. For example, the authors of one study published TBRs ranging from 4.1 to 134.8 in 10 glioblastoma patients studied [99]. Absolute tumor tracer uptake also varies widely. For example, Liu et al. [102] report average SUVs between 0.23 and 6.69 ( $\text{SUV}_{\text{max}}$  between 1.01 and 13.62). Similarly,  $^{18}\text{F}$ -PSMA-1007 PET of a glioblastoma recurrence performed by Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) shows good tumor contrast, but the absolute uptake in the tumor is so low compared to the uptake in the toxicity-relevant organs that RLT is not an option for this patient. The immunohistochemical staining performed by Holzgreve et al. [2] (*Paper II*) analogously shows clear differences in the number of PSMA-positive vessels of the examined samples (7-437 at initial diagnosis and 0-283 at recurrence). The heterogeneous PSMA expression and patient-dependent uptake of PSMA PET highlight the importance of a personalized theranostic approach for a potential RLT. Not every glioblastoma meets the requirements for successful therapy: In a study published by Truckenmueller et al. [117], out of 20 patients with high-grade gliomas only 3 fulfilled the inclusion criteria (tumor-to-liver ratio  $> 1.0$ ) for  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617-RLT. In the future, PSMA PET could be used as a predictive modality for the therapeutic effectiveness of RLT with  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617. As a proof of concept of RLT with  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617, Kunikowska et al. [116] have already successfully demonstrated in a glioblastoma patient that the radiopharmaceutical remains in the tumor even after 14 days. In kidney and liver, however, the tracer was only detectable in low doses after a few days. These results are promising for a therapeutic approach, but taken the data presented, they call for a theranostic approach.

### **Conclusion**

The presented dissertation demonstrates that PSMA PET imaging in glioblastoma is feasible in principle. PSMA PET in the GL261 mouse model shows high contrast and good visual delineation of glioblastoma. However, GL261 seems to be not suitable for further evaluation of RLT.

---

Immunohistochemical analysis of human tissue samples demonstrates that higher PSMA expression in glioblastoma recurrence negatively correlates with overall survival. Thus, PSMA PET data could also have prognostic significance.

PSMA overexpression in glioblastoma raises hope that peptide radio-receptor therapy may improve survival in glioblastoma patients. A personalized, theranostic therapeutic approach is essential for success.

**IX. Paper I**

**Kirchner MA** \*, Holzgreve A \*, Brendel M, Orth M, Ruf VC, Steiger K, Pötter D, Gold L, Unterrainer M, Mittlmeier LM, Barci E, Kälin RE, Glass R, Lindner S, Kaiser L, Maas J, von Baumgarten L, Ilhan H, Belka C, Notni J, Bartenstein P, Lauber K, Albert NL. **PSMA PET Imaging in Glioblastoma: A Preclinical Evaluation and Theranostic Outlook.** Front Oncol. 2021 Nov 17;11:774017. doi: 10.3389/fonc.2021.774017. PMID: 34869017; PMCID: PMC8635528. \* These authors have contributed equally to this work.

**X. Paper II**

Holzgreve A, Biczok A, Ruf VC, Liesche-Starnecker F, Steiger K, **Kirchner MA**, Unterrainer M, Mittlmeier L, Herms J, Schlegel J, Bartenstein P, Tonn JC, Albert NL, Suchorska B. **PSMA Expression in Glioblastoma as a Basis for Theranostic Approaches: A Retrospective, Correlational Panel Study Including Immunohistochemistry, Clinical Parameters and PET Imaging.** Front Oncol. 2021 Mar 30;11:646387. doi: 10.3389/fonc.2021.646387. PMID: 33859946; PMCID: PMC8042319.

## **XI. Literaturverzeichnis**

- [1]. Kirchner MA, Holzgreve A, Brendel M, Orth M, Ruf VC, Steiger K, et al. PSMA PET Imaging in Glioblastoma: A Preclinical Evaluation and Theranostic Outlook. *Front Oncol.* 2021;11:774017. 10.3389/fonc.2021.774017. PMC8635528.
- [2]. Holzgreve A, Biczok A, Ruf VC, Liesche-Starnecker F, Steiger K, Kirchner MA, et al. PSMA Expression in Glioblastoma as a Basis for Theranostic Approaches: A Retrospective, Correlational Panel Study Including Immunohistochemistry, Clinical Parameters and PET Imaging. *Front Oncol.* 2021;11:646387. 10.3389/fonc.2021.646387. PMC8042319.
- [3]. Ostrom QT, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2014-2018. *Neuro Oncol.* 2021;23(12 Suppl 2):iii1-iii105. 10.1093/neuonc/noab200. PMC8491279.
- [4]. Weller M, van den Bent M, Preusser M, Le Rhun E, Tonn JC, Minniti G, et al. EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021;18(3):170-86. 10.1038/s41571-020-00447-z. PMC7904519.
- [5]. Efremov L, Abera SF, Bedir A, Vordermark D, Medenwald D. Patterns of glioblastoma treatment and survival over a 16-years period: pooled data from the German Cancer Registries. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2021;147(11):3381-90. 10.1007/s00432-021-03596-5. PMC8484256.
- [6]. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathologica.* 2016;131(6):803-20. 10.1007/s00401-016-1545-1.
- [7]. Gritsch S, Batchelor TT, Gonzalez Castro LN. Diagnostic, therapeutic, and prognostic implications of the 2021 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system. *Cancer.* 2022;128(1):47-58. 10.1002/cncr.33918.
- [8]. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol.* 2021;23(8):1231-51. 10.1093/neuonc/noab106. PMC8328013.
- [9]. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005;352(10):987-96. 10.1056/NEJMoa043330.
- [10]. Wen PY, Weller M, Lee EQ, Alexander BM, Barnholtz-Sloan JS, Barthel FP, et al. Glioblastoma in adults: a Society for Neuro-Oncology (SNO) and European Society of Neuro-Oncology (EANO) consensus review on current management and future directions. *Neuro Oncol.* 2020;22(8):1073-113. 10.1093/neuonc/noaa106. PMC7594557.
- [11]. Galldiks N, Langen KJ, Albert NL, Law I, Kim MM, Villanueva-Meyer JE, et al. Investigational PET tracers in neuro-oncology-What's on the horizon? A report of the PET/RANO group. *Neuro Oncol.* 2022;24(11):1815-26. 10.1093/neuonc/noac131. PMC9629449.
- [12]. Davis MI, Bennett MJ, Thomas LM, Bjorkman PJ. Crystal structure of prostate-specific membrane antigen, a tumor marker and peptidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2005;102(17):5981-6. 10.1073/pnas.0502101102. PMC556220.
- [13]. Pinto JT, Suffoletto BP, Berzin TM, Qiao CH, Lin S, Tong WP, et al. Prostate-specific membrane antigen: a novel folate hydrolase in human prostatic carcinoma

cells. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 1996;2(9):1445-51.

[14]. Horoszewicz JS, Kawinski E, Murphy GP. Monoclonal antibodies to a new antigenic marker in epithelial prostatic cells and serum of prostatic cancer patients. *Anticancer research*. 1987;7(5b):927-35.

[15]. Israeli RS, Powell CT, Corr JG, Fair WR, Heston WD. Expression of the prostate-specific membrane antigen. *Cancer Res*. 1994;54(7):1807-11.

[16]. Wright GL, Jr., Haley C, Beckett ML, Schellhammer PF. Expression of prostate-specific membrane antigen in normal, benign, and malignant prostate tissues. *Urologic oncology*. 1995;1(1):18-28. 10.1016/1078-1439(95)00002-y.

[17]. Kinoshita Y, Kuratsukuri K, Landas S, Imaida K, Rovito PM, Jr., Wang CY, et al. Expression of prostate-specific membrane antigen in normal and malignant human tissues. *World journal of surgery*. 2006;30(4):628-36. 10.1007/s00268-005-0544-5.

[18]. Knedlik T, Vorlova B, Navratil V, Tykvart J, Sedlak F, Vaculin S, et al. Mouse glutamate carboxypeptidase II (GCPII) has a similar enzyme activity and inhibition profile but a different tissue distribution to human GCPII. *FEBS Open Bio*. 2017;7(9):1362-78. 10.1002/2211-5463.12276. PMC5586342.

[19]. Robinson MB, Blakely RD, Couto R, Coyle JT. Hydrolysis of the brain dipeptide N-acetyl-L-aspartyl-L-glutamate. Identification and characterization of a novel N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase activity from rat brain. *The Journal of biological chemistry*. 1987;262(30):14498-506.

[20]. Sácha P, Zámecník J, Barinka C, Hlouchová K, Vícha A, Mlcochová P, et al. Expression of glutamate carboxypeptidase II in human brain. *Neuroscience*. 2007;144(4):1361-72. 10.1016/j.neuroscience.2006.10.022.

[21]. 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.

[22]. Troyer JK, Beckett ML, Wright GL, Jr. Detection and characterization of the prostate-specific membrane antigen (PSMA) in tissue extracts and body fluids. *International journal of cancer*. 1995;62(5):552-8. 10.1002/ijc.2910620511.

[23]. Kratochwil C, Fendler WP, Eiber M, Baum R, Bozkurt MF, Czernin J, et al. EANM procedure guidelines for radionuclide therapy with (177)Lu-labelled PSMA-ligands ((177)Lu-PSMA-RLT). *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2019;46(12):2536-44. 10.1007/s00259-019-04485-3.

[24]. Sartor O, de Bono J, Chi KN, Fizazi K, Herrmann K, Rahbar K, et al. Lutetium-177-PSMA-617 for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *N Engl J Med*. 2021;385(12):1091-103. 10.1056/NEJMoa2107322. PMC8446332.

[25]. 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;59(13):3192-8.

[26]. 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. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135(11):1486-9. 10.5858/arpa.2010-0740-OA.

[27]. Mahzouni P, Shavakhi M. Prostate-Specific Membrane Antigen Expression in Neovasculature of Glioblastoma Multiforme. *Adv Biomed Res*. 2019;8:18. 10.4103/abr.abr\_209\_18. PMC6425742.

- [28]. Nomura N, Pastorino S, Jiang P, Lambert G, Crawford JR, Gymnopoulos M, et al. Prostate specific membrane antigen (PSMA) expression in primary gliomas and breast cancer brain metastases. *Cancer Cell Int.* 2014;14(1):26. 10.1186/1475-2867-14-26. PMC3994554.
- [29]. 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. *Iranian journal of pathology.* 2018;13(1):45-53. PMC5929388.
- [30]. Mhaweche-Fauceglia P, Zhang S, Terracciano L, Sauter G, Chadhuri A, Herrmann FR, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA) protein expression in normal and neoplastic tissues and its sensitivity and specificity in prostate adenocarcinoma: an immunohistochemical study using multiple tumour tissue microarray technique. *Histopathology.* 2007;50(4):472-83. 10.1111/j.1365-2559.2007.02635.x.
- [31]. Spatz S, Tolkach Y, Jung K, Stephan C, Busch J, Ralla B, et al. Comprehensive Evaluation of Prostate Specific Membrane Antigen Expression in the Vasculature of Renal Tumors: Implications for Imaging Studies and Prognostic Role. *The Journal of urology.* 2018;199(2):370-7. 10.1016/j.juro.2017.08.079.
- [32]. Rhee H, Ng KL, Tse BW, Yeh MC, Russell PJ, Nelson C, et al. Using prostate specific membrane antigen (PSMA) expression in clear cell renal cell carcinoma for imaging advanced disease. *Pathology.* 2016;48(6):613-6. 10.1016/j.pathol.2016.05.011.
- [33]. Wang HL, Wang SS, Song WH, Pan Y, Yu HP, Si TG, et al. Expression of prostate-specific membrane antigen in lung cancer cells and tumor neovasculature endothelial cells and its clinical significance. *PloS one.* 2015;10(5):e0125924. 10.1371/journal.pone.0125924. PMC4433228.
- [34]. Kasoha M, Unger C, Solomayer EF, 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. 10.1007/s10585-018-9878-x.
- [35]. Klein Nulent TJW, Valstar MH, Smit LA, Smeele LE, Zuithoff NPA, de Keizer B, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA) expression in adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *BMC cancer.* 2020;20(1):519. 10.1186/s12885-020-06847-9. PMC7275445.
- [36]. Carter RE, Feldman AR, Coyle JT. Prostate-specific membrane antigen is a hydrolase with substrate and pharmacologic characteristics of a neuropeptidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1996;93(2):749-53. 10.1073/pnas.93.2.749. PMC40126.
- [37]. Fuhrman S, Palkovits M, Cassidy M, Neale JH. The regional distribution of N-acetylaspartylglutamate (NAAG) and peptidase activity against NAAG in the rat nervous system. *J Neurochem.* 1994;62(1):275-81. 10.1046/j.1471-4159.1994.62010275.x.
- [38]. Vallianatou T, Lin W, Bèchet NB, Correia MS, Shanbhag NC, Lundgaard I, et al. Differential regulation of oxidative stress, microbiota-derived, and energy metabolites in the mouse brain during sleep. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism.* 2021;41(12):3324-38. 10.1177/0271678x211033358. PMC8669215.
- [39]. Tiffany CW, Lapidus RG, Merion A, Calvin DC, Slusher BS. Characterization of the enzymatic activity of PSM: comparison with brain NAALADase. *Prostate.* 1999;39(1):28-35. 10.1002/(sici)1097-0045(19990401)39:1<28::aid-pros5>3.0.co;2-a.

- [40]. Neale JH, Yamamoto T. N-acetylaspartylglutamate (NAAG) and glutamate carboxypeptidase II: An abundant peptide neurotransmitter-enzyme system with multiple clinical applications. *Progress in neurobiology*. 2020;184:101722. 10.1016/j.pneurobio.2019.101722.
- [41]. Morland C, Nordengen K. N-Acetyl-Aspartyl-Glutamate in Brain Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3). 10.3390/ijms23031268. PMC8836185.
- [42]. Kozikowski AP, Zhang J, Nan F, Petukhov PA, Grajkowska E, Wroblewski JT, et al. Synthesis of urea-based inhibitors as active site probes of glutamate carboxypeptidase II: efficacy as analgesic agents. *Journal of medicinal chemistry*. 2004;47(7):1729-38. 10.1021/jm0306226.
- [43]. Neale JH, Olszewski RT, Zuo D, Janczura KJ, Profaci CP, Lavin KM, et al. Advances in understanding the peptide neurotransmitter NAAG and appearance of a new member of the NAAG neuropeptide family. *J Neurochem*. 2011;118(4):490-8. 10.1111/j.1471-4159.2011.07338.x. PMC3137677.
- [44]. Sanabria ER, Wozniak KM, Slusher BS, Keller A. GCP II (NAALADase) inhibition suppresses mossy fiber-CA3 synaptic neurotransmission by a presynaptic mechanism. *Journal of neurophysiology*. 2004;91(1):182-93. 10.1152/jn.00465.2003. PMC2810521.
- [45]. Lau A, Tymianski M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pflugers Arch*. 2010;460(2):525-42. 10.1007/s00424-010-0809-1.
- [46]. Slusher BS, Vornov JJ, Thomas AG, Hurn PD, Harukuni I, Bhardwaj A, et al. Selective inhibition of NAALADase, which converts NAAG to glutamate, reduces ischemic brain injury. *Nature medicine*. 1999;5(12):1396-402. 10.1038/70971.
- [47]. Bacich DJ, Wozniak KM, Lu XC, O'Keefe DS, Callizot N, Heston WD, et al. Mice lacking glutamate carboxypeptidase II are protected from peripheral neuropathy and ischemic brain injury. *J Neurochem*. 2005;95(2):314-23. 10.1111/j.1471-4159.2005.03361.x.
- [48]. Zhang W, Zhang Z, Wu L, Qiu Y, Lin Y. Suppression of Glutamate Carboxypeptidase II Ameliorates Neuronal Apoptosis from Ischemic Brain Injury. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases : the official journal of National Stroke Association*. 2016;25(7):1599-605. 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.10.035.
- [49]. Arteaga Cabeza O, Zhang Z, Smith Khoury E, Sheldon RA, Sharma A, Zhang F, et al. Neuroprotective effects of a dendrimer-based glutamate carboxypeptidase inhibitor on superoxide dismutase transgenic mice after neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Neurobiology of disease*. 2021;148:105201. 10.1016/j.nbd.2020.105201. PMC8351403.
- [50]. Zhou J, Neale JH, Pomper MG, Kozikowski AP. NAAG peptidase inhibitors and their potential for diagnosis and therapy. *Nature reviews Drug discovery*. 2005;4(12):1015-26. 10.1038/nrd1903.
- [51]. Gurkoff GG, Feng JF, Van KC, Izadi A, Ghiasvand R, Shahlaie K, et al. NAAG peptidase inhibitor improves motor function and reduces cognitive dysfunction in a model of TBI with secondary hypoxia. *Brain research*. 2013;1515:98-107. 10.1016/j.brainres.2013.03.043. PMC3672358.
- [52]. Feng JF, Gurkoff GG, Van KC, Song M, Lowe DA, Zhou J, et al. NAAG peptidase inhibitor reduces cellular damage in a model of TBI with secondary hypoxia. *Brain research*. 2012;1469:144-52. 10.1016/j.brainres.2012.06.021. PMC3424068.
- [53]. Ghadge GD, Slusher BS, Bodner A, Canto MD, Wozniak K, Thomas AG, et al. Glutamate carboxypeptidase II inhibition protects motor neurons from death in familial amyotrophic lateral sclerosis models. *Proceedings of the National Academy of*

- Sciences of the United States of America. 2003;100(16):9554-9. 10.1073/pnas.1530168100. PMC170956.
- [54]. Tanaka K, Sasayama T, Irino Y, Takata K, Nagashima H, Satoh N, et al. Compensatory glutamine metabolism promotes glioblastoma resistance to mTOR inhibitor treatment. *The Journal of clinical investigation*. 2015;125(4):1591-602. 10.1172/jci78239. PMC4396477.
- [55]. Dranoff G, Elion GB, Friedman HS, Campbell GL, Bigner DD. Influence of glutamine on the growth of human glioma and medulloblastoma in culture. *Cancer Res*. 1985;45(9):4077-81.
- [56]. Ru P, Williams TM, Chakravarti A, Guo D. Tumor metabolism of malignant gliomas. *Cancers*. 2013;5(4):1469-84. 10.3390/cancers5041469. PMC3875949.
- [57]. Nguyen T, Kirsch BJ, Asaka R, Nabi K, Quinones A, Tan J, et al. Uncovering the Role of N-Acetyl-Aspartyl-Glutamate as a Glutamate Reservoir in Cancer. *Cell reports*. 2019;27(2):491-501.e6. 10.1016/j.celrep.2019.03.036. PMC6472703.
- [58]. Conway RE, Petrovic N, Li Z, Heston W, Wu D, Shapiro LH. Prostate-specific membrane antigen regulates angiogenesis by modulating integrin signal transduction. *Molecular and cellular biology*. 2006;26(14):5310-24. 10.1128/mcb.00084-06. PMC1592718.
- [59]. Grant CL, Caromile LA, Ho V, Durrani K, Rahman MM, Claffey KP, et al. Prostate specific membrane antigen (PSMA) regulates angiogenesis independently of VEGF during ocular neovascularization. *PloS one*. 2012;7(7):e41285. 10.1371/journal.pone.0041285. PMC3399825.
- [60]. Conway RE, Rojas C, Alt J, Nováková Z, Richardson SM, Rodrick TC, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA)-mediated laminin proteolysis generates a pro-angiogenic peptide. *Angiogenesis*. 2016;19(4):487-500. 10.1007/s10456-016-9521-x.
- [61]. Liu T, Jabbes M, Nedrow-Byers JR, Wu LY, Bryan JN, Berkman CE. Detection of prostate-specific membrane antigen on HUVECs in response to breast tumor-conditioned medium. *International journal of oncology*. 2011;38(5):1349-55. 10.3892/ijo.2011.946.
- [62]. Watanabe R, Maekawa M, Kiyoi T, Kurata M, Miura N, Kikugawa T, et al. PSMA-positive membranes secreted from prostate cancer cells have potency to transform vascular endothelial cells into an angiogenic state. *Prostate*. 2021;81(16):1390-401. 10.1002/pros.24237. PMC9292811.
- [63]. Tu W, Zheng H, Li L, Zhou C, Feng M, Chen L, et al. Secreted phosphoprotein 1 promotes angiogenesis of glioblastoma through upregulating PSMA expression via transcription factor HIF-1 $\alpha$ . *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2022. 10.3724/abbs.2022157.
- [64]. Gao Y, Zheng H, Li L, Feng M, Chen X, Hao B, et al. Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA) Promotes Angiogenesis of Glioblastoma Through Interacting With ITGB4 and Regulating NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:598377. 10.3389/fcell.2021.598377. PMC7969793.
- [65]. Anthony C, Mladkova-Suchy N, Adamson DC. The evolving role of antiangiogenic therapies in glioblastoma multiforme: current clinical significance and future potential. *Expert Opin Investig Drugs*. 2019;28(9):787-97. 10.1080/13543784.2019.1650019.
- [66]. Albert NL, Weller M, Suchorska B, Galldiks N, Soffietti R, Kim MM, et al. Response Assessment in Neuro-Oncology working group and European Association for Neuro-Oncology recommendations for the clinical use of PET imaging in gliomas. *Neuro Oncol*. 2016;18(9):1199-208. 10.1093/neuonc/now058. PMC4999003.

- [67]. Law I, Albert NL, Arbizu J, Boellaard R, Drzezga A, Galldiks N, et al. Joint EANM/EANO/RANO practice guidelines/SNMMI procedure standards for imaging of gliomas using PET with radiolabelled amino acids and [(18)F]FDG: version 1.0. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2019;46(3):540-57. 10.1007/s00259-018-4207-9. PMC6351513.
- [68]. Verger A, Kas A, Darcourt J, Guedj E. PET Imaging in Neuro-Oncology: An Update and Overview of a Rapidly Growing Area. *Cancers (Basel)*. 2022;14(5). 10.3390/cancers14051103. PMC8909369.
- [69]. Albert NL, Weller M, Suchorska B, Galldiks N, Soffietti R, Kim MM, et al. Response Assessment in Neuro-Oncology working group and European Association for Neuro-Oncology recommendations for the clinical use of PET imaging in gliomas. *Neuro Oncol*. 2016;18(9):1199-208. 10.1093/neuonc/now058. PMC4999003.
- [70]. Pauleit D, Stoffels G, Bachofner A, Floeth FW, Sabel M, Herzog H, et al. Comparison of (18)F-FET and (18)F-FDG PET in brain tumors. *Nucl Med Biol*. 2009;36(7):779-87. 10.1016/j.nucmedbio.2009.05.005.
- [71]. Dunet V, Pomoni A, Hottinger A, Nicod-Lalonde M, Prior JO. Performance of 18F-FET versus 18F-FDG-PET for the diagnosis and grading of brain tumors: systematic review and meta-analysis. *Neuro Oncol*. 2016;18(3):426-34. 10.1093/neuonc/nov148. PMC4767236.
- [72]. Langen K-J, Galldiks N. Update on amino acid PET of brain tumours. *Current Opinion in Neurology*. 2018;31(4):354-61. 10.1097/wco.0000000000000574.
- [73]. Schön S, Cabello J, Liesche-Starnecker F, Molina-Romero M, Eichinger P, Metz M, et al. Imaging glioma biology: spatial comparison of amino acid PET, amide proton transfer, and perfusion-weighted MRI in newly diagnosed gliomas. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2020;47(6):1468-75. 10.1007/s00259-019-04677-x. PMC7188730.
- [74]. Verburg N, Koopman T, Yaqub MM, Hoekstra OS, Lammertsma AA, Barkhof F, et al. Improved detection of diffuse glioma infiltration with imaging combinations: a diagnostic accuracy study. *Neuro Oncol*. 2020;22(3):412-22. 10.1093/neuonc/noz180. PMC7058442.
- [75]. Galldiks N, Niyazi M, Grosu AL, Kocher M, Langen KJ, Law I, et al. Contribution of PET imaging to radiotherapy planning and monitoring in glioma patients - a report of the PET/RANO group. *Neuro Oncol*. 2021;23(6):881-93. 10.1093/neuonc/noab013. PMC8168815.
- [76]. Langen K-J, Galldiks N, Hattungen E, Shah NJ. Advances in neuro-oncology imaging. *Nature Reviews Neurology*. 2017;13(5):279-89. 10.1038/nrneurol.2017.44.
- [77]. Filss CP, Galldiks N, Stoffels G, Sabel M, Wittsack HJ, Turowski B, et al. Comparison of 18F-FET PET and perfusion-weighted MR imaging: a PET/MR imaging hybrid study in patients with brain tumors. *J Nucl Med*. 2014;55(4):540-5. 10.2967/jnumed.113.129007.
- [78]. Galldiks N, Ullrich R, Schroeter M, Fink GR, Jacobs AH, Kracht LW. Volumetry of [(11)C]-methionine PET uptake and MRI contrast enhancement in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2010;37(1):84-92. 10.1007/s00259-009-1219-5. PMC2791473.
- [79]. Pafundi DH, Laack NN, Youland RS, Parney IF, Lowe VJ, Giannini C, et al. Biopsy validation of 18F-DOPA PET and biodistribution in gliomas for neurosurgical planning and radiotherapy target delineation: results of a prospective pilot study. *Neuro Oncol*. 2013;15(8):1058-67. 10.1093/neuonc/not002. PMC3714146.
- [80]. Kunz M, Thon N, Eigenbrod S, Hartmann C, Egensperger R, Herms J, et al. Hot spots in dynamic (18)F-FET-PET delineate malignant tumor parts within suspected WHO

- grade II gliomas. *Neuro Oncol.* 2011;13(3):307-16. 10.1093/neuonc/noq196. PMC3064604.
- [81]. Suchorska B, Jansen NL, Linn J, Kretzschmar H, Janssen H, Eigenbrod S, et al. Biological tumor volume in 18F-FET-PET before radiochemotherapy correlates with survival in GBM. *Neurology.* 2015;84(7):710-9. 10.1212/wnl.0000000000001262.
- [82]. Fleischmann DF, Unterrainer M, Schön R, Corradini S, Maihöfer C, Bartenstein P, et al. Margin reduction in radiotherapy for glioblastoma through (18)F-fluoroethyltyrosine PET? - A recurrence pattern analysis. *Radiother Oncol.* 2020;145:49-55. 10.1016/j.radonc.2019.12.005.
- [83]. Pirotte BJ, Levivier M, Goldman S, Massager N, Wikler D, Dewitte O, et al. Positron emission tomography-guided volumetric resection of supratentorial high-grade gliomas: a survival analysis in 66 consecutive patients. *Neurosurgery.* 2009;64(3):471-81; discussion 81. 10.1227/01.Neu.0000338949.94496.85.
- [84]. Brandsma D, Stalpers L, Taal W, Sminia P, van den Bent MJ. Clinical features, mechanisms, and management of pseudoprogression in malignant gliomas. *Lancet Oncol.* 2008;9(5):453-61. 10.1016/s1470-2045(08)70125-6.
- [85]. Galldiks N, Dunkl V, Stoffels G, Hutterer M, Rapp M, Sabel M, et al. Diagnosis of pseudoprogression in patients with glioblastoma using O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-tyrosine PET. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging.* 2015;42(5):685-95. 10.1007/s00259-014-2959-4.
- [86]. Galldiks N, Stoffels G, Filss C, Rapp M, Blau T, Tscherpel C, et al. The use of dynamic O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET in the diagnosis of patients with progressive and recurrent glioma. *Neuro Oncol.* 2015;17(9):1293-300. 10.1093/neuonc/nov088. PMC4588758.
- [87]. Bashir A, Mathilde Jacobsen S, Mølby Henriksen O, Broholm H, Urup T, Grunnet K, et al. Recurrent glioblastoma versus late posttreatment changes: diagnostic accuracy of O-(2-[18F]fluoroethyl)-L-tyrosine positron emission tomography (18F-FET PET). *Neuro Oncol.* 2019;21(12):1595-606. 10.1093/neuonc/noz166. PMC6917428.
- [88]. Werner JM, Stoffels G, Lichtenstein T, Borggrefe J, Lohmann P, Ceccon G, et al. Differentiation of treatment-related changes from tumour progression: a direct comparison between dynamic FET PET and ADC values obtained from DWI MRI. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging.* 2019;46(9):1889-901. 10.1007/s00259-019-04384-7.
- [89]. Rapp M, Heinzl A, Galldiks N, Stoffels G, Felsberg J, Ewelt C, et al. Diagnostic performance of 18F-FET PET in newly diagnosed cerebral lesions suggestive of glioma. *J Nucl Med.* 2013;54(2):229-35. 10.2967/jnumed.112.109603.
- [90]. Suchorska B, Giese A, Biczok A, Unterrainer M, Weller M, Drexler M, et al. Identification of time-to-peak on dynamic 18F-FET-PET as a prognostic marker specifically in IDH1/2 mutant diffuse astrocytoma. *Neuro Oncol.* 2018;20(2):279-88. 10.1093/neuonc/nox153. PMC5777500.
- [91]. Fleischmann DF, Unterrainer M, Bartenstein P, Belka C, Albert NL, Niyazi M. (18)F-FET PET prior to recurrent high-grade glioma re-irradiation-additional prognostic value of dynamic time-to-peak analysis and early static summation images? *J Neurooncol.* 2017;132(2):277-86. 10.1007/s11060-016-2366-8.
- [92]. Unterrainer M, Niyazi M, Ruf V, Bartenstein P, Albert NL. The endothelial prostate-specific membrane antigen is highly expressed in gliosarcoma and visualized by [68Ga]-PSMA-11 PET: a theranostic outlook for brain tumor patients? *Neuro Oncol.* 2017;19(12):1698-9. 10.1093/neuonc/nox172. PMC5716188.
- [93]. Sasikumar A, Joy A, Pillai MR, Nanabala R, Anees KM, Jayaprakash PG, et al. Diagnostic Value of 68Ga PSMA-11 PET/CT Imaging of Brain Tumors-Preliminary

- Analysis. *Clinical nuclear medicine*. 2017;42(1):e41-e8. 10.1097/RLU.0000000000001451.
- [94]. Stopa BM, Crowley J, Juhász C, Rogers CM, Witcher MR, Kiser JW. Prostate-Specific Membrane Antigen as Target for Neuroimaging of Central Nervous System Tumors. *Mol Imaging*. 2022;2022:5358545. 10.1155/2022/5358545. PMC9042374.
- [95]. Kunikowska J, Kuliński R, Muylle K, Koziara H, Królicki L. 68Ga-Prostate-Specific Membrane Antigen-11 PET/CT: A New Imaging Option for Recurrent Glioblastoma Multiforme? *Clinical nuclear medicine*. 2020;45(1):11-8. 10.1097/rlu.0000000000002806.
- [96]. Marafi F, Sasikumar A, Fathallah W, Esmail A. 18F-PSMA 1007 Brain PET/CT Imaging in Glioma Recurrence. *Clinical nuclear medicine*. 2019. 10.1097/RLU.0000000000002668.
- [97]. Kunikowska J, Bartosz K, Leszek K. Glioblastoma multiforme: another potential application for (68)Ga-PSMA PET/CT as a guide for targeted therapy. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2018;45(5):886-7. 10.1007/s00259-018-3934-2.
- [98]. Salas Fragomeni RA, Menke JR, Holdhoff M, Ferrigno C, Lattera JJ, Solnes LB, et al. Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Imaging With [18F]DCFPyL in High-Grade Gliomas. *Clinical nuclear medicine*. 2017;42(10):e433-e5. 10.1097/RLU.0000000000001769. PMC5802343.
- [99]. Sasikumar A, Kashyap R, Joy A, Charan Patro K, Bhattacharya P, Reddy Pilaka VK, et al. Utility of 68Ga-PSMA-11 PET/CT in Imaging of Glioma-A Pilot Study. *Clinical nuclear medicine*. 2018;43(9):e304-e9. 10.1097/RLU.0000000000002175.
- [100]. Pilati E, Nicolotti DG, Ceci F, Finessi M, Cerio I, Dionisi B, et al. 68Ga-Prostate-Specific Membrane Antigen 11 PET/CT Detects Residual Glioblastoma After Radical Surgery in a Patient With Synchronous Recurrent Prostate Cancer: A Case Report. *Clinical nuclear medicine*. 2020;45(3):e151-e3. 10.1097/rlu.0000000000002884.
- [101]. Kumar A, Ballal S, Yadav MP, ArunRaj ST, Haresh KP, Gupta S, et al. 177Lu-/68Ga-PSMA Theranostics in Recurrent Glioblastoma Multiforme: Proof of Concept. *Clinical nuclear medicine*. 2020;45(12):e512-e3. 10.1097/rlu.0000000000003142.
- [102]. Liu D, Cheng G, Ma X, Wang S, Zhao X, Zhang W, et al. PET/CT using (68) Ga-PSMA-617 versus (18) F-fluorodeoxyglucose to differentiate low- and high-grade gliomas. *J Neuroimaging*. 2021;31(4):733-42. 10.1111/jon.12856.
- [103]. Akgun E, Akgun MY, Selçuk HH, Uzan M, Sayman HB. (68)Ga PSMA PET/MR in the differentiation of low and high grade gliomas: Is (68)Ga PSMA PET/MRI useful to detect brain gliomas? *Eur J Radiol*. 2020;130:109199. 10.1016/j.ejrad.2020.109199.
- [104]. Verma P, Malhotra G, Goel A, Rakshit S, Chandak A, Chedda R, et al. Differential Uptake of 68Ga-PSMA-HBED-CC (PSMA-11) in Low-Grade Versus High-Grade Gliomas in Treatment-Naive Patients. *Clinical nuclear medicine*. 2019;44(5):e318-e22. 10.1097/RLU.0000000000002520.
- [105]. Gupta M, Choudhury PS, Gairola M, Premsagar IC, Rao SA. Pseudoprogression on 68Ga-Prostate-Specific Membrane Antigen-11 PET/CT in a Treated Glioblastoma. *Clinical nuclear medicine*. 2020;45(8):621-2. 10.1097/rlu.0000000000003121.
- [106]. Moreau A, Marie E, Bonneville-Levard A, Basle A, Kryza D. Skull vault hemangioma mimicking neoplastic lesion on [(68)Ga]Ga-PSMA-11 PET/CT in a patient with glioblastoma: A case report. *Radiol Case Rep*. 2020;15(12):2598-601. 10.1016/j.radcr.2020.10.005. PMC7557882.

- [107]. Oliveira D, Stegmayr C, Heinzl A, Ermert J, Neumaier B, Shah NJ, et al. High uptake of (68)Ga-PSMA and (18)F-DCFPyL in the peritumoral area of rat gliomas due to activated astrocytes. *EJNMMI Res.* 2020;10(1):55. 10.1186/s13550-020-00642-0. PMC7378136.
- [108]. Uijen MJM, Derks YHW, Merks RIJ, Schilham MGM, Roosen J, Privé BM, et al. PSMA radioligand therapy for solid tumors other than prostate cancer: background, opportunities, challenges, and first clinical reports. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging.* 2021;48(13):4350-68. 10.1007/s00259-021-05433-w. PMC8566635.
- [109]. Cimini A, Ricci M, Russo F, Egidi M, Calabria F, Bagnato A, et al. Peptide Receptor Radionuclide Therapy and Primary Brain Tumors: An Overview. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021;14(9). 10.3390/ph14090872. PMC8470698.
- [110]. Aggarwal S, Ricklis RM, Williams SA, Denmeade SR. Comparative study of PSMA expression in the prostate of mouse, dog, monkey, and human. *Prostate.* 2006;66(9):903-10. 10.1002/pros.20413.
- [111]. Wester HJ, Schottelius M. PSMA-Targeted Radiopharmaceuticals for Imaging and Therapy. *Semin Nucl Med.* 2019;49(4):302-12. 10.1053/j.semnuclmed.2019.02.008.
- [112]. Benešová M, Schäfer M, Bauder-Wüst U, Afshar-Oromieh A, Kratochwil C, Mier W, et al. Preclinical Evaluation of a Tailor-Made DOTA-Conjugated PSMA Inhibitor with Optimized Linker Moiety for Imaging and Endoradiotherapy of Prostate Cancer. *J Nucl Med.* 2015;56(6):914-20. 10.2967/jnumed.114.147413.
- [113]. Kelkar SS, Reineke TM. Theranostics: combining imaging and therapy. *Bioconjug Chem.* 2011;22(10):1879-903. 10.1021/bc200151q.
- [114]. Hofman MS, Emmett L, Sandhu S, Iravani A, Joshua AM, Goh JC, et al. [(177)Lu]Lu-PSMA-617 versus cabazitaxel in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (TheraP): a randomised, open-label, phase 2 trial. *Lancet.* 2021;397(10276):797-804. 10.1016/s0140-6736(21)00237-3.
- [115]. Wei X, Schlenkhoff C, Schwarz B, Essler M, Ahmadzadehfar H. Combination of 177Lu-PSMA-617 and External Radiotherapy for the Treatment of Cerebral Metastases in Patients With Castration-Resistant Metastatic Prostate Cancer. *Clinical nuclear medicine.* 2017;42(9):704-6. 10.1097/rlu.0000000000001763.
- [116]. Kunikowska J, Charzyńska I, Kuliński R, Pawlak D, Maurin M, Królicki L. Tumor uptake in glioblastoma multiforme after IV injection of [(177)Lu]Lu-PSMA-617. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging.* 2020;47(6):1605-6. 10.1007/s00259-020-04715-z. PMC7188710.
- [117]. Truckenmueller P, Graef J, Scheel M, Vajkoczy P, Capper D, Kaul D, et al. [68Ga]Ga-PSMA PET/MRI, histological PSMA expression and preliminary experience with [177Lu]Lu-PSMA therapy in relapsing high-grade glioma. *Frontiers in Oncology.* 2022;12. 10.3389/fonc.2022.980058.
- [118]. Şahin M, Akgun E, Sirolu S, Can G, Sayman HB, Oner Dincbas F. Is there any additional benefit of (68)Ga-PSMA PET on radiotherapy target volume definition in patients with glioblastoma? *Br J Radiol.* 2022;95(1139):20220049. 10.1259/bjr.20220049.
- [119]. Holzgreve A, Brendel M, Gu S, Carlsen J, Mille E, Boning G, et al. Monitoring of Tumor Growth with [(18)F]-FET PET in a Mouse Model of Glioblastoma: SUV Measurements and Volumetric Approaches. *Front Neurosci.* 2016;10:260. 10.3389/fnins.2016.00260. PMC4906232.
- [120]. Cardinale J, Schafer M, Benesova M, Bauder-Wust U, Leotta K, Eder M, et al. Preclinical Evaluation of (18)F-PSMA-1007, a New Prostate-Specific Membrane

Antigen Ligand for Prostate Cancer Imaging. *J Nucl Med.* 2017;58(3):425-31.  
10.2967/jnumed.116.181768.

[121]. Weineisen M, Schottelius M, Simecek J, Baum RP, Yildiz A, Beykan S, et al. 68Ga- and 177Lu-Labeled PSMA I&T: Optimization of a PSMA-Targeted Theranostic Concept and First Proof-of-Concept Human Studies. *J Nucl Med.* 2015;56(8):1169-76.  
10.2967/jnumed.115.158550.

[122]. Lindemann M, Oteiza A, Martin-Armas M, Guttormsen Y, Moldes-Anaya A, Berzaghi R, et al. Glioblastoma PET/MRI: kinetic investigation of [(18)F]rhPSMA-7.3, [(18)F]FET and [(18)F]fluciclovine in an orthotopic mouse model of cancer. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging.* 2023;50(4):1183-94.  
10.1007/s00259-022-06040-z. PMC9931868.

## **XII. Danksagung**

Die vorliegende Dissertation entstand im Rahmen des Promotionsstudiums *Molekulare und klinisch translationale Medizin* des Förderprogramms für Forschung und Lehre der LMU. Ich bedanke mich bei dem Förderprogramm für die finanzielle Unterstützung.

Ich bedanke mich herzlich bei allen Personen, die einen Beitrag zu dieser Promotion geleistet haben:

Allen voran bei Frau Rosel Oos und Frau Karin Bormann-Giglmaier für die zahlreichen Stunden, die Sie mit mir und für mich im Tierversuchslabor verbracht haben. Ohne ihre Geduld mit mir und bei der Versuchsdurchführung wäre diese Promotion nicht möglich gewesen.

Bei Frau Dr. Barbara von Ungern-Sternberg und dem gesamten veterinärmedizinischen Forschungsteam bedanke ich mich für die Unterstützung bei den Tierversuchen.

Mit Herrn Prof. Dr. Matthias Brendel und Herrn PD Dr. Adrien Holzgreve habe ich exzellente Betreuer. Sie waren in allen Angelegenheiten kompetente Ansprechpartner. Ich bin sehr dankbar für ihre wunderbare Unterstützung, die ich mir in dieser Form nie hätte erträumen können.

Frau Prof. Dr. Kirsten Lauber danke ich für ihre Expertise und dafür, dass sie immer ein offenes Ohr für meine Fragen und Probleme hatte.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Nathalie Albert. Insbesondere bedanke ich mich für die Freiheiten, die sie mir während meiner Promotion gelassen hat und das damit verbundene entgegengebrachte Vertrauen in mich und meine Arbeit. Sie hat mir einen phantastischen Einstieg in die Welt des wissenschaftlichen Arbeitens ermöglicht. Ich bin sehr stolz darauf bei ihr promovieren zu dürfen.

Meinen Eltern bin ich ewig dankbar, dass Sie mir ermöglicht haben Medizin zu studieren und dass ich stets ihre Volle Unterstützung genieße. Meinen Brüdern und meinem Opa danke ich einfach nur fürs Dasein.

Nadine danke ich für ihre Liebe.