

Aus dem Institut der Pathologie des Marienkrankenhauses
Chefarzt Professor Dr. W. Saeger
Hamburg

**Korrelation von immunhistochemischen Tumormarkern mit
klinischen Befunden und einer berechneten
Tumorstadiumsgeschwindigkeit bei nichthormon-
sezernierenden Hypophysenadenomen**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Blanca Lüdecke
aus Hamburg

Hamburg, 2001

Angenommen von dem Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 11.11.2002
Mündliche Prüfung: 06.03.2003

Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Dekan: Prof. Dr. C. Wagner

Referent:: Prof. Dr. W. Saeger

Korreferent: Prof. Dr. U. Helmchen

1 Einführung.....	3
1.1. Allgemeine Übersicht über Hypophysenadenome	3
1.2 Tumorentstehung	4
1.3. Methoden zur Abschätzung von Tumorwachstum	9
1.4. Behandlungsmöglichkeiten und Umgang mit Rezidiven.....	12
1.5. Aufgabenstellung.....	16
2. Material und Methoden	17
2.1. Patientenkollektiv.....	17
2.2. MRT-Beobachtungen.....	17
2.3. Klinische Daten	19
2.4. Histologie und Immunhistologie	20
2.4.1.Histologie (Übersicht).....	20
2.4.2 Grundlagen der Immunhistochemie	21
2.4.3. Immunhistologische Untersuchung der Hypophysenhormone	22
2.5.Immunhistochemie der Proliferations- /Tumormarker	23
2.5.1. Antikörper.....	23
2.5.2 Praktische Durchführung	23
2.5.3. Kontrolle und Veränderungen der Methodik.....	24
2.5.4. Auswertung der Färbereaktion	25
2.6. Statistische Auswertung.....	27
3. Ergebnisse.....	28
3.1. Klinische Daten	28
3.1.1 Geschlechterverteilung	28
3.1.2. Altersverteilung bei der Erstoperation.....	28
3.1.3. Prae-operative Tumorgroße.....	28
3.1.4. Tumorklassifikation	28
3.1.5. Tumorlokalisation.....	29
3.1.6. Invasivität	29
3.1.7. Mehrfachoperationen.....	30
3.1.8. Hypophysen-Vorderlappen-Insuffizienz.....	31
3.1.9. Radiatio	31
3.1.10. Resezierbarkeit der Tumoren/ Radikalität der Operation	32
3.2. MR-Beobachtungen.....	35
3.2.1. Tumorwachstumsgeschwindigkeit.....	35
3.2.2. Unterteilung der wachsenden Tumoren.....	36
3.2.3. Notwendige Beobachtungszeiträume zur Feststellung von Tumorresten	41
3.2.4. Korrelationen der klinischen Wachstumsrate mit erhobenen Daten.....	42
3.3. Histologie und Immunhistologie	42
3.4. Tumormarker.....	44
3.4.1. MIB-1	44
3.4.1.1. MIB 1 und die klinische Wachstumsgeschwindigkeit.....	46
3.4.1.2. MIB1 und Wachstumsgruppen.....	47
3.4.1.3. MIB 1 im Vergleich mit anderen erhobenen Daten	47
3.4.1.4. MIB 1 und Invasivität	48
3.4.1.5. MIB 1 im Vergleich bei Mehrfachoperierten versus Einfachoperierte	49
3.4.1.6. MIB 1 und Mehrfachoperationen – Vergleich des MIB1-Index zu unterschiedlichen Operationszeitpunkten bei demselben Patienten.....	49
3.4.1.7. MIB 1 und immunhistologische Untergruppen	49
3.4.2. PCNA.....	51

3.4.2.1. PCNA und die klinische Wachstumsgeschwindigkeit.....	52
3.4.2.2. PCNA und Wachstumsgruppen	53
3.4.2.3. PCNA im Vergleich mit anderen erhobenen Daten	54
3.4.2.4. PCNA und Invasivität.....	54
3.4.2.5. PCNA im Vergleich bei Mehrfachoperierten versus Einfachoperierte.....	55
3.4.2.6. PCNA und Mehrfachoperationen – Vergleich des PCNA- Index zu unterschiedlichen Operationszeitpunkten bei demselben Patienten.....	55
3.4.2.7. PCNA und immunhistologische Untergruppen.....	55
3.4.3. P53	57
3.4.3.1. P53 und Invasivität	58
3.4.3.2. P53 und die Wachstumsgeschwindigkeit, MIB 1 und PCNA	60
3.4.4. IGF1 (insulin-like growth factor)	61
3.4.1. IGF 1 und die Tumorwachstumsgeschwindigkeit.....	63
3.4.2. IGF1 und klinische Daten.....	63
3.4.3. IGF1 und die Proliferationsmarker MIB1 und PCNA	64
4. Diskussion.....	65
4.1. Patientenkollektiv.....	65
4.2. MRT- Verläufe zur Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit	65
4.3. Proliferationsmarker/Tumormarker.....	67
4.3.1. Probleme hinsichtlich der immunhistochemischen Untersuchungen	67
4.3.2. Ki- 67 in Form von MIB1	68
4.3.2.1. MIB1 und die Tumorwachstumsgeschwindigkeit	69
4.3.2.2. MIB 1 und Invasivität	70
4.3.2.3. MIB 1 und p53	74
4.3.2.4. MIB 1 und Rezidive	75
4.3.2.5. MIB1 zu unterschiedlichen Operationszeitpunkten.....	77
4.3.2.6. MIB 1 und weitere erhobene Daten	77
4.3.3. PCNA	79
4.3.3.1. PCNA und Tumorwachstumsgeschwindigkeit.....	79
4.3.3.2. PCNA und Rezidive.....	80
4.3.3.3. PCNA zu unterschiedlichen Operationszeitpunkten	81
4.3.3.4. PCNA und Invasivität.....	82
4.3.3.5. PCNA und p53	82
4.3.3.6. PCNA und weitere erhobene Daten.....	82
4.3.4. P53- Protein	84
4.3.4.1. P53 und Invasivität	84
4.3.4.2. P53 und die klinische Wachstumsgeschwindigkeit	85
4.3.4.3. Zuverlässigkeit von p53.....	86
4.3.5. Insulin-like growth Factor 1 (=IGF 1)	89
4.4. Der Umgang mit Tumorresten/Rezidiven.....	91
4.4.1. Radikalität und Resezierbarkeit.....	91
4.4.2. Postoperative MR-Bildkontrollen.....	91
4.4.3. Radiotherapie versus erneute Operation.....	93
5. Zusammenfassung	94
Literaturverzeichnis.....	96
Anhang.....	106
Lebenslauf.....	115
Danksagung	116

1 Einführung

1.1. Allgemeine Übersicht über Hypophysenadenome

Hypophysenadenome (HA) sind die häufigsten Tumoren der Sellaregion und machen annähernd 10-20% der intrakraniellen Tumoren aus. Von Zellen des Hypophysenvorderlappens ausgehend, sind diese Tumoren bis auf sehr seltene Ausnahmen histologisch benigne (Kovacs und Horvath 1986). Dennoch machen sie die Regelmäßigkeit, mit der Hypophysenadenome in Richtung kritischer neuraler Strukturen wachsen (insbesondere in die Sehnervenkreuzung), und die möglichen Endokrinopathien zu einer häufigen Ursache von Morbidität. Sie sind jedoch sehr selten die direkte Todesursache.

35-42% aller Hypophysenadenome zeigen ein invasives Wachstum (Sautner und Saeger 1991, Scheithauer et al. 1986). Sie infiltrieren parahypophysäre Strukturen. Im Gegensatz dazu steht ein expansives Wachstum, bei dem die umliegenden Strukturen nur komprimiert werden. Diese Invasivität allein gilt allerdings nicht als Zeichen von Malignität, da Hypophysenkarzinome erst durch das Vorhandensein von Metastasen charakterisiert werden (Pernicone und Scheithauer 1993, Saeger und Lübke 1996).

Ungefähr ein Drittel der Hypophysenadenome tritt ohne klinische Evidenz einer Hormonproduktion auf. Eine einheitliche Terminologie wurde bisher nicht etabliert. Diese Gruppe wird von einigen Autoren als „nicht-funktionierende Hypophysenadenome (NFHA) = non-functioning“ klassifiziert. Dieser Begriff beruht auf der Tatsache, daß eine große Anzahl von ihnen Gonadotropine, α - und β -Subunits sezernieren, die jedoch nicht zu Endokrinopathien führen (Snyder 1985, Saeger et al. 1990, Katznelson et al. 1992).

Wir verwenden in dieser Arbeit, wie auch andere Autoren (Alvaro et al. 1992, Liuzzi et al. 1991), den Terminus „der nicht –sezernierenden Adenome (NSA) =non- secreting“, das heißt sie sezernieren keine klinisch wirksamen Hormone. Zusammengefaßt sind es endokrin inaktive Hypophysenadenome, bei denen die klinische Symptomatik nicht durch eine Hormonübersekretion (wie z.B. ACTH beim Cushing oder Wachstumshormon bei Akromegalie) bestimmt wird und bei denen deshalb zur Beurteilung von Rezidiven kein Hormonnachweis im Blut herangezogen werden kann. Daher stehen bei diesen bisher zum postoperativen Management nur die bildgebenden Verfahren zum Tumornachweis zur Verfügung.

Die konventionellen histopathologischen Untersuchungen versagen bezüglich ihrer Aussagekraft über das biologische Verhalten der Hypophysentumoren, wie z.B. Tumoraggressivität und Tumorstadium. Mitosefiguren als Zeichen für die Teilungsfähigkeit und für das Tumorstadium sind bei Hypophysentumoren selten oder fehlen ganz (Anniko et al. 1981). Auch andere morphologische Parameter, wie Zellgröße, Zell- oder Kernpleomorphismus, und die Beurteilung anderer Zellstrukturen, die in der Tumorphathologie angewandt werden, erwiesen sich bei Hypophysentumoren nicht als verlässliche Indikatoren für Tumoraggressivität und somit auch nicht als prognostische Hilfe für die klinische Beurteilung (Kovacs und Horvath 1986).

Alternative zuverlässigere Parameter zur Beurteilung von Proliferationspotential und Tumoraggressivität wurden deshalb Gegenstand zahlreicher Studien.

Die Immunhistochemie, die ein etablierter und essentieller Teil der diagnostischen chirurgischen Hypophysenpathologie ist und deren Hauptziel in der Identifizierung und Subklassifizierung der Tumoren lag, fokussiert sich nun verstärkt auf die Suche nach prognostischen Markern. Diese Marker sollen eine Hilfe für die Vorhersagbarkeit von Tumorverhalten darstellen. Eine Vielzahl von Faktoren spielt bei der Pathogenese der Hypophysentumoren eine Rolle.

Will man eine grobe Einteilung der immunhistochemisch nachweisbaren Marker vornehmen, so gibt es Marker, die zur Bestimmung von Tumorwachstum dienen, und andere Marker, die in der Tumorentstehung eine Rolle spielen sollen:

die Gruppe der Proliferationsmarker und

die Gruppe der Wachstumsfaktoren, Cycline, Onkogene und Tumorsuppressorgene.

1.2 Tumorentstehung

Bezüglich der Tumorentstehung bei Hypophysenadenomen erweist sich heutzutage die Theorie des monoklonalen Ursprungs als weitgehend akzeptiert (Alexander et al. 1990, Herman et al. 1990). Die Entdeckung von Genmutationen bei einigen HA (Landis et al. 1989, Spada et al. 1994) unterstützt diese These. Des weiteren vermutet man nach der Initiierung durch eine Mutation, daß die Tumorexpansion durch weitere Veränderungen und Regulatorfaktoren vorangetrieben wird = Multistage- Hypothese (Melmed et al. 1983). So haben sich inzwischen schon verschiedene Autoren bei HA mit dem Thema der Tumorentstehung in Übersichtsartikeln beschäftigt, um in die Vielzahl der Untersuchungen ein System zu bringen (z.B. Thapar et al. 1995, Pei und Melmed 1996, Saeger und Lübke 1996, Faglia 1996).

Allgemein spielen in der kausalen Tumorgenese verschiedene Faktoren eine Rolle:

Störung der –Kommunikationsfaktoren,
 -Differenzierungsfaktoren,
 -Proliferationsregulatoren,
 -immunologische Faktoren (Riede et al. 1993).

Verschiedene Studien beschäftigten sich bei Hypophysenadenomen mit der Proliferationsenthemmung, bei der durch Schäden im Genom die koordinierte Steuerung der Genexpression auseinanderbricht. Dabei spielen Proto-Onkogene, Wachstumsfaktoren, Cycline und Tumorsuppressorgene eine entscheidende Rolle.

Proto-Onkogene

So richteten z.B. Ikeda et al. 1992, Boggild et al. 1994, Raghavan et al. 1994 und Woloschak et al. 1994 ihr Augenmerk auf die Proto-Onkogene (c-myc, c-fos, c-jun, c-myb).

Proto-Onkogene sind Gene, die Proteine für die Zellvermehrung kodieren. Durch Mutation, Vermehrung oder Dysregulation werden sie zu Onkogenen. Es gilt herauszufinden, welche Proto-Onkogene im normalen Hypophysengewebe exprimiert werden, welche dann als Onkogene überexprimiert werden und welche Rolle sie bezüglich der Tumorgenese im allgemeinen und im speziellen bezüglich der Wachstumsrate, Invasivität und biologischem Verhalten spielen.

Zusammenfassend stellten Raghavan et al. (1994) fest, daß die Onkoproteine fos und jun bei HA häufig zu finden sind, während sie in der normalen Hypophyse gänzlich fehlen. Es konnte keine Korrelation zwischen Onkoprotein- Expression und Ki-67, Hormonstatus, Tumorgröße oder Tumoraggressivität festgestellt werden.

Währenddessen fanden Woloschak et al. (1994) eine Überexpression von c-myc bei 9 HA. C-fos wurde nur in einem Tumor stärker exprimiert, der ein sehr aggressiver Tumor war. Im Gegensatz zu Woloschaks Studienergebnissen konnten Boggild et al. (1994) bei 88 HA keine Amplifikation oder Rearrangements bei dem Onkogen myc nachweisen.

In der Studie von Ikeda et al. (1992) untersuchen die Autoren, ob es einen Zusammenhang zwischen der Höhe des exprimierten c-myc- Produkts und der klinischen Malignität bei HA gibt. Bei invasiven, größeren HA mit kürzerem Krankheitsverlauf war der Prozentsatz an c-myc- Protein gezählten Zellen (zwischen 0.1-53%) statistisch gesehen höher als bei nichtinvasiven Tumoren. Doch obwohl sehr hohe c-myc Prozentanteile mit „ klinischer Malignität“ (mindestens >10 %) korrelieren, gibt es aber auch Einzelfälle mit geringerer klinischer Malignität mit einer c-myc-Expression von bis zu 20%.

Andere aktivierende Mutationen wurden in der Gs- α -Subunit (Vallar et al. 1987, Landis et al. 1989), H-Ras (Karga et al. 1992) und α -Protein-Kinase C (Alvaro et al. 1993) gefunden.

Proteine des Signalsystems der Zelle sind ebenfalls möglicherweise Ziel für onkogene Mutationen, darunter fällt z.B. das G-Protein. Als erstes wurden in diesem Zusammenhang bei einer Untergruppe von HA, bei somatotrophen HA (= GH- sezernierende Adenome), hohe Aktivitäten von c-AMP und der Membranadenylatcyclase (abhängig vom G-Protein) entdeckt und ein dem zugrunde liegender Mechanismus für die Tumorentstehung vermutet (Vallar et al. 1987, Landis et al. 1989). Bei der weiteren Suche wurde festgestellt, daß bei bis zu 40 % der GH- sezernierenden HA eine alpha-Gs-Mutation vorliegt (Landis et al. 1990, Spada et al. 1990, Boggild et al. 1994). Eigentlich galt die Vermutung, daß diese Mutation lediglich GH- sezernierende HA beträfe, doch sie wurde auch in 10% von NSA (Tordjman et al. 1993) und in 9 % bei ACTH- sezernierenden HA (Williamson et al. 1995) entdeckt.

Ein großes Interesse bei Veränderungen des Genoms bei HA und Karzinomen gilt deren Korrelation mit der Invasivität. So wurde bis jetzt bei einem sehr aggressiven und invasiven Prolaktinom eine Mutation von ras identifiziert (Karga et al. 1992). Bezüglich der Hypophysenkarzinome wurden in 3 Fällen nicht bei den Karzinomen selbst, aber bei ihren metastatischen Absiedlungen H-ras Mutationen entdeckt (reviewed in Pei und Melmed 1996). Diese Ergebnisse legen den Verdacht nahe, daß H-ras Mutationen, selten bei HA, mit einem aggressiven Phänotyp und mit der Tumorprogression assoziiert sein könnten.

Die α -Protein-Kinase C (PKC) ist eine calcium- und phospholipid- abhängige Proteinkinase, die eine Schlüsselrolle in der Signalübermittlung bei zellulären Prozessen spielt.

Alvaro et al. (1993) zeigten, daß PKC in HA im Gegensatz zu normalen Hypophysen überexprimiert wird. PKC wurde bei invasiven HA höher exprimiert als bei nicht- invasiven. Zusätzlich wurde bei 4 invasiven eine genetische Veränderung der α -PKC in Form einer Punktmutation entdeckt.

Tumorsuppressorgene

Menschliche Tumorsuppressorgene, die bis jetzt identifiziert und am besten charakterisiert wurden, sind das Retinoblastom Gen (Rb) und das p53 Gen.

In dieser Studie wurde p53 untersucht, um seine Rolle bei NSA zu beleuchten.

Tumorsuppressorgene sind definiert als rezessive Gene, die die Zellvermehrung unterbrechen und der Zelle Zeit zur Differenzierung verschaffen (= rezessive Onkogene, Anti-Onkogene). Ein Defekt macht sich erst bemerkbar, wenn beide Allele betroffen sind. P53 ist ein nukleäres Protein, das als Negativ-Regulator des Zellwachstums funktioniert. In einer normalen Zelle kontrolliert p53 zu einem bestimmten Zeitpunkt des Zellzyklus die Transkription von spezifischen Genen, die die DNA-Reparatur vor ihrer Verdopplung erlauben. Findet keine komplette DNA-Reparatur statt, kann der programmierte Zelltod initiiert werden (Levine et al. 1994).

P53 Protein, das gleichfalls ein Substrat für die cdc2-Kinase ist, wird zu Beginn der S-Phase phosphoryliert und erlaubt die Initiierung der DNA-Synthese durch Inhibition der anti-proliferativen Aktivität von p53 (Suzuki et al. 1992). P53 ist ein Tumorsuppressorgen, das jedoch bei Mutation/Deletion zu einem dominanten Onkogen wird.

Im normalen Gewebe ist der Nachweis des p53- Proteins aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit nicht möglich (= Wild-Typ). Einmal mutiert, ist das Protein stabilisiert, und kann mit Hilfe von Antikörpern im Zellkern von neoplastischem Gewebe nachgewiesen werden (Levine et al. 1991, Harris et al. 1993, Taylor et al. 1994). Auch wenn bei Hypophysentumoren der gentechnische Nachweis einer Mutation des p53- Gens nicht gelang (Boggild et al. 1994, Herman et al. 1993, Levy et al.1994), kann man in einem geringen Anteil der Hypophysenadenome p53 immunhistochemisch anfärben. Eine mögliche Erklärung könnte sein, daß der immunhistochemische Nachweis des p53- Proteins die Folge einer Bindung dieses Proteins an andere zelluläre Proteine ist.

Im allgemeinen scheint p53- Immunoreaktivität ein Marker für aggressiveres Wachstum bei menschlichen Tumoren zu sein, z.B. Mamma (Thor et al. 1992), Lunge (Carbone et al. 1994) und Kolon (Kaklamanis et al. 1993).

Bezüglich des Retinoblastom- Gens fanden Pei et al. (1995) bei malignen HA einen Verlust für die Heterozygotität auf dem langen Arm des Chromosoms 13. Dieses Ergebnis scheint möglicherweise darauf hinzudeuten, daß der Verlust der Heterogenität (=LOH) auf dem Rb- Gen eher in die Tumورprogression von benigne zu maligne als in die Initiierung der Tumoren involviert ist. Eine Studie von Woloschak et al. (1994), die bei 42 benignen HA keinen Verlust der Heterogenität bezüglich des Retinoblastom Gens entdecken konnten, könnte als Bestätigung dieser These angesehen werden.

Bei einem dritten Tumorsuppressorgen, sonst bekannt durch seine Assoziation mit dem MEN1-Syndrom, wird ebenfalls ein Zusammenhang mit der Tumorentstehung von HA vermutet (Larsson et al. 1988). Eine genetische Prädisposition für HA ist nur bei einer sehr seltenen Erkrankung nachgewiesen, bei dem MEN1- Syndrom. Hierbei handelt es sich um eine autosomal dominante Erkrankung, die durch einen primären Hyperparathyreoidismus, einen Pankreastumor und in ca. 20% durch ein Hypophysenadenom charakterisiert ist.

So wurde in einigen wachstumshormon (GH)- sezernierenden HA und in 2 von 3 Prolaktinomen (Bystrom et al. 1990, Thakker et al. 1993) der Verlust von einer Sequenz des Chromosoms 11q13, welches der Lokalisation des MEN1 entspricht, gefunden. Boggild et al. (1994) bestätigten in ihrer Studie dieses Ergebnis, bei 20% von sporadisch aufgetretenen unterschiedlichen HA (nicht MEN1 assoziiert) wurde diese Genmutation gefunden. Damit wird die Vermutung bekräftigt, daß diese Mutation in MEN1 auch eine Rolle bei den nicht-MEN1-assozierten HA spielen könnte.

Zusammenfassend ist anzumerken, daß die Onkogene und Tumorsuppressorgene in die Multistep Tumorgenese der HA offensichtlich involviert sind. Dennoch gelten die bisher entdeckten genetischen Veränderungen nicht universell für alle HA, so daß die Suche nach den verschiedenen Faktoren der Tumorentstehung bei HA noch lange nicht beendet ist.

3. Wachstumsfaktoren

Wachstumsfaktoren gelten als Regulatoren für verschiedene zelluläre Funktionen wie Mitogenese, Angiogenese und Gentranskription. Eine Reihe von Wachstumsfaktoren wurde in dem Zusammenhang in der Hypophyse identifiziert, deren Rolle jedoch meist noch ungeklärt ist: wie z.B. Insulin-like growth factor (IGF1 und 2), Epidermal growth factor (EGF), Transforming growth factor (TGF α und β), Basic fibroblast growth factor und Endothelial cell-stimulating angiogenesis factor.

Bei EGF und TGF α wird vermutet, daß beide Wachstumsfaktoren Negativregulatoren in der Hypophyse sind, was zu der Spekulation führt, daß ihre funktionelle Inaktivierung zum Eintritt und oder zur Tumorprogression bei HA führen könnte (Thapar et al. 1995). So wurde z.B. von Chaidarun et al. (1994) eine Überexpression des EGF-Rezeptors in 80% der untersuchten NSA entdeckt. In vitro zeigte EGF seinen Einfluß auf das Tumorwachstum durch eine Heraufregulierung der EGF-Rezeptor mRNA-Expression und implizierte damit eine Rolle in der Entwicklung und/oder Tumorprogression bei NSA implizierend (Chaidarun et al. 1994). Die meisten Arbeiten bezüglich Wachstumsfaktoren wurden mit Ratten- Tumor-Zell-Linien durchgeführt oder verglichen verschiedene Unterarten der HA (Wellhausen et al. 1998), so daß weitere Arbeiten hinsichtlich der Tumorprogression beim Menschen benötigt werden. So könnte man nach dem Konzept unserer Studie verschiedene Wachstumsfaktoren untersuchen, um einen Zusammenhang mit der klinischen Wachstumsgeschwindigkeit zu überprüfen.

Unsere Studie konzentrierte sich in diesem Zusammenhang auf **Insulin-like growth factor 1**

(=IGF 1), auch Somatomedin C genannt.

IGF 1 ist ein Polypeptid, das von verschiedenen Zelltypen, u.a. der Hypophyse, der Leber, Hautfibroblasten und fetalen Myoblasten, synthetisiert wird. IGF1 und 2 sind homologe und zirkulierende Polypeptide, die in einem weiten Spektrum von Zellen die DNA- Synthese stimulieren (Russelm und Van Wyk 1989). Als Progressionsfaktoren erlauben sie den freien Übergang der Zelle von der G1- zur S- Phase (=Synthesephase) im Zellteilungszyklus der Zelle. Als lokaler Wachstumsfaktor durch auto-oder paracrine Mechanismen (D `Ercole et al. 1981) gilt IGF 1 als ein möglicher Wachstumsfaktor bei der Entstehung von Hyperplasien und kann letztlich hierdurch auch zu einer möglichen Tumorentstehung beitragen.

Zum zweiten ist IGF1 ein Inhibitor der GH- (=Wachstumshormon) Produktion, einerseits als physiologisch negatives Feedback in bezug auf den Hypothalamus und andererseits direkt auf die Hypophyse wirkend (Berelowitz et al. 1981).

Alberti et al. (1991) wiesen IGF1 immunhistochemisch in Hypophysenzellen nach. Verschiedene Studien beschäftigten sich mit der Frage, welche Rolle IGF1 als Wachstumsfaktor bei normalen Hypophysen und bei Adenomen spielt und ob ein Zusammenhang bezüglich der unterschiedlichen hormon- produzierenden Zellen besteht.

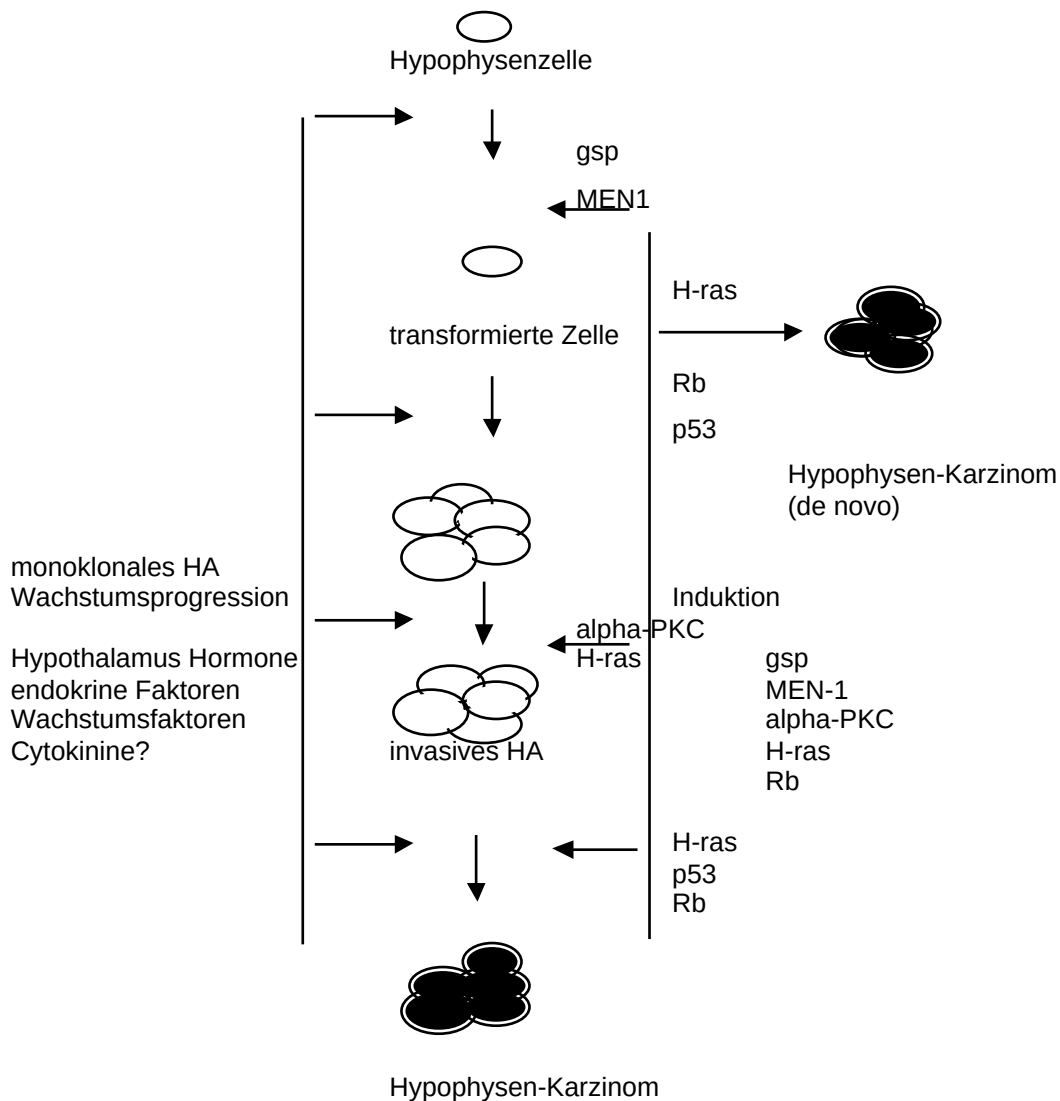
In unserer Studie sollte bei nicht-hormon-sezernierenden Adenomen IGF1 als möglicher Faktor einer Tumorprogression untersucht werden.

Parathormon related protein (PTHrP) wurde als erstes aus Tumorzellen von Patienten mit Hypercalcämie bei Malignomen isoliert (Heath et al. 1990). Das Gen von PTHrP wird jedoch auch in einer Vielzahl von normalen und neoplastischen Geweben exprimiert und soll über par-und autocrine Mechanismen eine Reihe von physiologischen Rollen ausüben (Orloff et al. 1989). Die Tatsache, daß PTHrP in Rattenfoeten nachgewiesen werden kann, könnte als Hinweis auf seine Involvierung in das Zellwachstum und die Zellentwicklung dienen (Campos et al. 1991). Ito et al. (1993) wiesen PTHrP in normalem Hypophysengewebe und Adenomen nach. Aufgrund der Graduierung der Expression vermuten sie eine schlechtere Prognose und Metastasierungsneigung bei Wachstumshormonsezernierenden HA. In dieser Studie sollte geprüft werden, ob PTHrP immunhistochemisch bei NSA nachzuweisen ist und welche mögliche Rolle es bezüglich der klinischen Daten spielen könnte.

4. Cycline

Cycline sind Regulatorproteine, die den Übergang einer Zelle von der G1- in die-S-Phase und von der G2- in die M-Phase steuern, indem sie über eine Komplexbindung mit einer Serumproteinkinase ein aktives Enzym bilden. Einige Cycline (z.B. Cyclin D) werden von Proto-Onkogenen kodiert, andere werden von Wachstumsfaktoren induziert (Riede et al. 1993). Auch bei ihnen wird ein Zusammenhang mit der Proliferationsaktivität vermutet, und die Überexpression ist in verschiedenen menschlichen Tumoren nachgewiesen (Bartkova et al. 1995). Verschiedene neuere Studien versuchten die Rolle der Cycline bei HA zu beleuchten, wobei sie eventuell zur Markierung von invasiveren (Turner et al. 2000, Jordan et al. 2000) HA dienen könnten.

Abb. 1: Vermutete Geschehnisse, die für die Tumorentstehung und Progression bei HA als wichtig erachtet werden (Thapar et al. 1995)



1.3. Methoden zur Abschätzung von Tumorwachstum

Vereinfacht ausgedrückt wird die Wachstumsgeschwindigkeit von Tumoren von drei Komponenten beeinflusst: der Anzahl der sich teilenden Zellen, der Anzahl der absterbenden Zellen und der Anzahl der sich in der Ruhephase befindlichen Zellen. Jedes Gewebe, normales oder aber auch Tumorgewebe, enthält Zellen, die sich im Mitose-Zyklus befinden, und ruhende Zellen in der G0-Phase, die vielleicht wieder in den Mitosezyklus eintreten oder absterben können. Der Zellzyklus besteht aus 4 Hauptphasen: der G1-Phase, auch als Wachstumsphase bezeichnet, der S-Phase, in der die DNA-Synthese und Replikation stattfinden, der G2-Phase, in der kurz vor der Mitose Zellreparaturen ablaufen, und der M-Phase, in der Kern- und Zellteilung stattfinden.

Mit dem Kenntnis des Zellzyklus lassen sich verschiedene Methoden zur Abschätzung von Tumorwachstum entwickeln:

1. Die einfachste Methode zur Bestimmung der Zell-Multiplikation ist die Bestimmung der Anzahl der Mitosen.

In Bezug auf die Wachstumsbestimmung bei HA hat sich diese Methode als unzuverlässig bzw. schwierig herausgestellt. Die Anzahl von Mitosen erwies sich bei HA als sehr klein (Saeger et al. 1977, Anniko et al. 1981). Landolt et al. (1991) stellten fest, daß bei einer Wachstumsfraktion von 0,1% mindestens 1000-2000 Zellkerne inspiziert werden müssen, um nur ein bis zwei Mitosen zu finden. Diese Anzahl sei zu klein, um noch als zuverlässig für die Berechnung von Tumorwachstum gelten zu können. In einer Studie von Lüdecke et al. (1985) wurde diese Methode allerdings verwendet, und es konnte eine Korrelation des Mitose-Index zur Tumorploidie bzw. zum Rezidivverhalten nachweisen.

Bei einem weitergehenden Versuch, die Anzahl der Mitosen und die Proliferationsmarker Ki-67 und PCNA in Beziehung zu setzen, konnten Kraemer et al. (1994) keine signifikante Korrelation feststellen.

2. In der S-Phase wird DNA synthetisiert, mit Hilfe von markierten DNA-Bausteinen kann man die S-Phase sichtbar machen. Dazu stehen zwei verschiedene Substanzen zur Verfügung:

Thymidin, mit radioaktivem Wasserstoff (^3H) markiert, wird dem Patienten im Bolus gegeben und markiert dann die S-Phase. Nachteilig dabei ist die radioaktive Belastung des Patienten (Hoshino et al. 1986).

Bromodeoxyuridin (BrdU), ein Thymidin-Analoga, kann anstelle von Thymidin in die DNA eingebaut und anschließend mit einem Antikörper und einer Färbemethode sichtbar gemacht werden (Sano et al. 1968).

In einer Studie von Shibuya et al. (1992) wurde eine höhere mittlere BrdU-Expression bei Hypophysen- Rezidiven als in Tumoren bei Erstoperation nachgewiesen. Eine BrdU-Expression $>1\%$ schien mit schnellerem Wiederwachstum und Rezidivneigung zu korrelieren. Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse ist nachteilig, daß eine Definition von schnellerem Wachstum fehlt und des weiteren Rezidivtumoren versus Primärtumoren der einzig klinisch nachgewiesene Aspekt sind, wobei nicht näher auf den Zeitraum der Rezidiventwicklung und der Größe des Resttumors eingegangen wird. Die Autoren schränken ihre Aussage bezüglich der Verwendbarkeit des BrdU selbst ein, da die Expression zu niedrig sein könnte, um die Proliferationsaktivität genau vorherzubestimmen.

In der Studie von Carboni et al. (1992) wurden bei 18 NSA mittels BrdU ebenfalls niedrige Proliferationsindizes gemessen (0,1-0,5%), ohne daß sich jedoch ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Rezidiven und Primärtumoren ergab.

3. Verschiedene Antigene, sogenannte Proliferationsmarker, werden bezüglich ihrer Relevanz zum Tumorwachstum überprüft, wie z.B. **Ki-67 und PCNA**. Diese können während des Mitosezyklus jedoch nicht in ruhenden Zellen nachgewiesen werden.

In dieser Studie konzentrieren wir uns u.a. auf diese zwei Antigene, Ki-67 und PCNA, die zur Gruppe der möglichen Proliferationsmarker gehören. Diese Antigene stehen in den letzten 10 Jahren im Vordergrund bei der immunhistochemischen Suche nach einem Parameter für die Tumorwachstumsaktivität. Ihre Zuverlässigkeit und Aussagekraft bei Hypophysentumoren sind allerdings noch nicht eindeutig geklärt.

Ki-67 ist ein proliferations-assoziiertes nukleäres Antigen, das während des gesamten proliferativen Zellzyklus, also in der G1, G2 und in der S- und M-Phase, exprimiert wird. Es konnte jedoch nicht in ruhenden Zellen der G0-Phase nachgewiesen werden. Die Feststellung des Ki-67 Labelling- Index (LI) im Tumormaterial korreliert mit dem Proliferationspotential vieler Tumoren und ist bei einigen Tumorarten von prognostischem Nutzen (Gerdes et al. 1984, Landolt et al. 1987).

Der Nachteil dieser Methode war, daß sie nicht in formalin-fixiertem und paraffin-eingebettetem Material angewandt werden konnte. Inzwischen gibt es neuere Methoden, wie z.B. die Antigen Retrieval Technik (Cattoretti et al. 1992, Taylor et al. 1994) und einen neuen, monoklonalen Antikörper gegen das Ki-67-Antigen (MIB 1) (Weidner et al. 1994), bei dessen Untersuchung das Material formalin- fixiert und paraffin- eingebettet sein kann (Landolt et al. 1996).

So wies der Vergleich von verschiedenen Gehirntumoren in einer Studie von Tsanaclis et al. (1991) bei maligneren und schnellwachsenden Tumoren (z.B. Glioblastome 10.1%) einen höheren Ki-67 Labelling-Index als bei langsamwachsenden Tumorarten (z.B. Hypophysenadenomen 1.3%) auf.

PCNA (= proliferating cell nuclear antigen), auch bekannt als Cyclin, ist ein nukleäres Protein, dessen Expressionsausmaß direkt mit der Rate von Zellproliferation und DNA-Synthese korrelieren soll (Celis et al. 1987). In der späten G1- Phase, direkt vor dem Beginn der DNA-Synthese, kommt es zu einem Anstieg von PCNA im Zellkern, der sein Maximum in der S-Phase erreicht und während der G2-Phase wieder abfällt (Bravo und Macdonald-Bravo 1985, Celis und Celis 1985). PCNA ist das Hilfsprotein der DNA-Polymerase- δ und somit an der DNA-Replikation beteiligt (Bravo et al. 1987). Es kann mit Hilfe eines monoklonalen Antikörpers in formalin- fixierten und paraffin- eingebetteten Gewebeproben nachgewiesen werden. Auch in normalen menschlichen Geweben, die proliferierende Zellen enthalten, wie z.B. Keimzellen des Lymphknotens oder der Milz, konnten PCNA- positive Zellkerne nachgewiesen werden (Miyachi et al. 1978). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, daß PCNA - Immunoreaktivität mit mitotischer Aktivität und dem Tumorgrad in einigen menschlichen Malignomen korreliert (Robbins et al.1987).

4. Die DNA-Menge wird gemessen. Sie bleibt während des normalen Zellebens gleich und verdoppelt sich abrupt in der S-Phase des Mitosezyklus. Flow- Zytometrie ist das Mittel der Wahl, mit dem eine schnelle Analyse der Ploidität von Zellen nach einer Fluorchrom-Färbung der DNA möglich ist. Vor der Zellteilung wird der einfache Chromatin-Gehalt des diploiden Chromosomensatzes auf tetraploid verdoppelt, und die verschiedenen Phasen des Zellzyklus können mit Hilfe der Flow Zytometrie berechnet werden (Anniko et al. 1981).

Bei den Studienergebnissen von Lüdecke et al. (1985) schien eine Abweichung des diploiden Chromosomensatzes in Form von Aneuploidie mit aggressiverem Tumorverhalten einherzugehen. Klinische Parameter des schnellen Tumorwachstums wie die Tumorausdehnung und Rezidivrate korrelierten mit der Präsenz von Aneuploidie in den Tumoren. Die Heterogenität der HA ließ Schlußfolgerungen über die Schnelligkeit des Tumorwachstums jedoch nicht zu. Wie auch schon Anniko et al. (1981 und 1984) feststellten, konnte keine Korrelation zwischen Tumorphase und Ploidität hergestellt werden. Darüber hinaus ist Aneuploidie bei der hier untersuchten Gruppe der nicht-sezernierende HA eine seltene Ausnahme.

5. Als eine weitere Methode zur Bestimmung von Zellwachstum wurde die Zählung von nuclear organizing region (NOR) vorgeschlagen (Stefaneanu et al. 1989). NOR sind Schleifen der ribosomalen DNA, die mit Hilfe der RNA transkribiert werden und eine zentrale Rolle in der

Regulierung der Proteinsynthese spielen. Sie lassen sich mittels einer Silbertechnik (argyrophilic) anfärben. Einen Zusammenhang zwischen der Anzahl der Ag-NOR und der Proliferationsaktivität bei Hypophysenadenomen konnten Shibuya et al. (1992) nicht bestätigen.

6. Es gibt eine Vielzahl von Antikörpern, die bestimmte Antigene markieren und dadurch Rückschlüsse auf den Zellzyklus ermöglichen, die wissenschaftlich untersucht wurden ohne sich in der Praxis durchzusetzen. Ein monoklonaler Antikörper gegen anti-DNA- Polymerase α erkennt, ähnlich wie Ki-67, ein nukleäres Antigen, das in der G1-, S-, G2- und M-Phase, aber nicht in ruhenden Zellen, exprimiert wird. Shibuya et al. (1992) stellten diesen Antikörper als genauso zuverlässig wie den Antikörper Ki-67 dar.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß es eine Vielzahl von Möglichkeiten gibt, die für das Wachstumsverhalten bei HA von wissenschaftlichem und theoretischem Interesse sind, doch fehlen immer noch durch klinische Korrelationen abgesicherte anwendbare Verfahren, die prognostisch eindeutige Informationen für die Behandlung des einzelnen Patienten liefern.

1.4. Behandlungsmöglichkeiten und Umgang mit Rezidiven

Als Mittel der ersten Wahl bei der Behandlung von NSA gilt in der Regel die chirurgische Entfernung des Tumors, um eine rasche Entlastung der komprimierten Strukturen zu erreichen (Kautzky u. Lüdecke 1973, Ebersold et al. 1986; Katznelson et al. 1993). Schon seit Ende 1960 werden von einigen Spezialisten circa 90- 96% der Hypophysenadenome allein über den transsphenoidalen Zugang mikrochirurgisch operiert (Guiot 1978, Hardy 1968). Eine gröbere Form des transnasalen Zugangs wird schon wesentlich länger angewendet, diese wurde von Oskar Hirsch 1909 (Hirsch 1909) als endonasale-septale Methode eingeführt und auch von Cushing (1909) über viele Jahre angewandt.

In der Weiterentwicklung der Operationsmethode, z.B. mit verbesserter mikroskopischer Spiegeltechnik unter Anwendung eines speziellen Mikro-Druck-Spül-Saugsystem, konnten sehr große Adenome radikal entfernt werden, was durch normale Tumormarker postoperativ, z.B. bei Akromegalie, beweisbar ist (Lüdecke 1985). Durch die Anwendung von bereits intraoperativ gefertigten CT oder MR-Bilder können größere Tumorreste direkt bei der Operation nachgewiesen werden (Fahlbush und Thapar 1999).

Neuere Methoden, wie computer-gesteuerte Neuronavigationen, können besonders bei atypischem Wachstum und bei Voroperierten mit veränderter Anatomie hilfreich sein. Diese Techniken wurden erst kürzlich entwickelt und stehen noch nicht überall routinemäßig zur Verfügung (Laws und Thapar 1999). Allerdings ist hier der wesentlich limitierende Faktor für die Radikalität bei den Operationen der Grad der Invasivität. Und so bleiben trotz verbesserter Operationsmethoden bei NSA zunächst oft Unklarheiten bei der Zuordnung postoperativer Gewebekomplexe und der Behandlungsnotwendigkeit. Als problematisch erweist sich sowohl der wissenschaftliche als auch der therapeutische Umgang mit Tumorresten nach einer inkompletten chirurgischen Entfernung oder dem Auftreten eines Rezidives, wenn hierfür, wie es bei NSA der Fall ist, keine Marker zur Erkennung zur Verfügung stehen.

Ein weiteres Problem hierbei ist auch das Fehlen einer eindeutigen Definition von Tumorrezidiven. In der Tumorbilogie bezeichnet man als Rezidiv das erneute Auftreten eines Tumors nach seiner chirurgischen Entfernung. Pathogenetisch erklärt sich ein Tumorrezidiv anhand der Tatsache, daß

besonders ein maligner Tumor infiltrativ wächst, Tumorzellen sich ablösen und sich in Gewebsspalten ausbreiten können, so daß auch nach histologisch tumorfreien Schnitträndern Tumorzellen zurückbleiben und nach gewisser Zeit erneut zu einem Tumor auswachsen können (Riede et al. 1993).

Wir entschlossen uns, ein Rezidiv als einen erneut wachsenden Tumorrest zu definieren. Dies steht im Einklang mit der Annahme, daß bei HA durch Operation nicht wirklich jedes Tumorfragment entfernt wird (Ciric et al. 1983; Ebersold et al. 1986) und daß somit, wenn auch mitunter direkt postoperativ auf dem MR-Bild noch unentdeckt, ein Rezidiv bei HA bis auf wenige mögliche Ausnahmen aus dem Wiederwachstum eines Tumorrestes resultiert. Bei dieser Definition wird dann die Rezidivhäufigkeit durch die Erfahrung des Operateurs bezüglich Radikaloperationen und die Resezierbarkeit der Tumoren beeinflusst. So gibt es auch Autoren, die es für nicht korrekt halten, subtotal resezierte Tumoren in die Diskussion um Rezidivraten mit einzubeziehen (Jeffreys et al. 1984).

Ältere Langzeitstudien haben eine Rezidivrate von 10-35% innerhalb von 4-20 Jahren bei gemischten Hypophysenadenomen (Ciric et al. 1983) und NSA (Ebersold et al. 1986) ergeben. In einer ebenfalls auf länger zurückliegende Daten basierenden Studie von Schnell-Kühn aus der Hamburger Arbeitsgruppe (1995) betrug die durchschnittliche Rezidivhäufigkeit 19,2% bei NSA, wobei 2/3 der Rezidive innerhalb von 7 Jahren postoperativ erfaßt wurden. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Laws und Thapars (1995), die eine 17% Rezidivhäufigkeit bei NSA innerhalb von 10 Jahren feststellten. Im Zusammenhang mit Rezidiven und Rezidivraten spielt der therapeutische Umgang mit diesen eine entscheidende Rolle. Da eine medikamentöse Therapie bei den NSA in den meisten Fällen wenig erfolgversprechend ist (Katznelson und Klibanski 1996, Liuzzi et al. 1991), gibt es grundsätzlich die Möglichkeit einer postoperativen Strahlentherapie oder eine erneute Operation. Gab es früher den Ansatz einer routinemäßigen postoperativen Strahlentherapie aufgrund der hohen Rezidivraten bei transkraniellen Eingriffen, scheint dieses zu Zeiten der transspenoidalen Operationsweise mit niedrigeren Rezidivraten nicht mehr gerechtfertigt zu sein (Shalet und O`Halloran 1996). Eine postoperative Strahlentherapie kann ggf. indiziert sein, wenn der Tumor nicht radikal entfernt werden konnte, ein invasives Wachstum in die umgebenden Strukturen vorlag oder ein asymptomatisches Tumorrezidiv auftritt (Ciric et al. 1983).

Bei der Beratung des Patienten zur Therapieentscheidung zwischen einer erneuten OP oder Radiotherapie sollten auch die Komplikationen einer Radiotherapie berücksichtigt werden. So sind die Nebenerscheinungen der Strahlentherapie auch ein Grund, von einer vorschnellen oder gar routinemäßigen postoperativen Bestrahlung abzusehen.

So können als Komplikationen einer Radiotherapie u.a. Optikusatrophie, Hirnnekrosen und Hypophyseninsuffizienz auftreten (Flickinger et al. 1989 und 1990, zusammengefaßt 1996, Colao et al. 1998).

Die Optikusneuropathie ist eine der gefürchtetsten Komplikationen. Sie ist selten, kommt jedoch schon bei einer Dosis von 45 Gy vereinzelt vor. Mit der Erhöhung der Dosis steigt auch das Risiko des Auftretens einer Optikusneuropathie. In der Studie von Flickinger et al. (1989 und 1990, zusammengefaßt 1996) trat eine Optikusneuropathie erst ab einer Dosis von 50 Gy auf (1 Patient von 30) und bei 56 Gy bei 2 von 15 Patienten. Auch die Höhe der Einzeldosis, die jetzt auf 1,8 Gy beschränkt wurde, scheint in der Vergangenheit eine Rolle gespielt zu haben. So fand Jones (1991)

bei einer Einzeldosis von 1,8 Gy keinen einzigen Fall der Optikusneuropathie. Sehr selten kann es gerade bei einer bestimmten Bestrahlungstechnik (2-3 Stehfeldtechnik) zu Nekrosen des Gehirns, besonders des Temporallappens kommen. Als Strahlungsfolge der Radiotherapie in der Literatur umstritten sind Gefäßdefekte mit folgendem Schlaganfall (Flickinger und Rush 1996). Als eine weitere Nebenwirkung gilt die Entstehung von Zweittumoren als Strahlenfolge, die in verschiedenen Untersuchungen zwischen 0-3% liegt (Flickinger und Rush 1996).

Als eine der häufigsten Nebenwirkung der Strahlentherapie tritt eine substitutionspflichtige Hypophysenunterfunktion auf. Studienergebnisse belegen, daß bis zu 50% der bestrahlten Patienten nachfolgend einen Ausfall der gesamten Hypophysenfunktion erlitten (Nelson et al. 1989, Brada et al. 1993). Bezüglich der einzelnen Hormonachsen stellten Colao et al. (1998) bei allen Patienten ein Wachstumshormondefizit und LH/FSH-Mangel 6-10 Jahre nach der Bestrahlung fest.

Bei dem möglichen Ausfall der Fertilitätshormone ist der Altershäufigkeitsgipfel bei NSA von Bedeutung. So sind NSA sehr häufig bei Patienten im Alter von 50-80 Jahren (Mindermann und Wilson 1994). In diesem Alter spielt dann die Erhaltung der gonadotropinen Achse für die Fertilität eine untergeordnete Rolle. Besteht postoperativ bereits eine manifeste weitgehende Hypophyseninsuffizienz, hat die fast regelmäßig postradiatio folgende Hypophysenfunktion bei der Entscheidung für oder gegen eine Radiotherapie keine entscheidende Bedeutung. In einem Übersichtsartikel beschäftigte sich z.B. Plowman (1999) mit den Fortschritten der verschiedenen Möglichkeiten der Strahlentherapie und dem Rückgang der Nebenwirkungen.

Ein entscheidender Punkt bei der Entscheidung einer postoperativen Strahlentherapie ist die Frage, in welchem Maß der Patient von ihr profitiert: sinkt die Rezidivhäufigkeit, kann zuverlässig ein Tumorwachstum verhindert werden oder kommt es sogar zum Tumorwachstumsstillstand?

Colao et al. (1998) beschäftigten sich in einer Studie mit Nachuntersuchungen von Patienten (n=84) mit NSA, die entweder nur operiert worden waren oder postoperativ eine adjuvante Radiotherapie erhalten hatten. Die Entscheidung für eine Radiotherapie wurde von der Tumorstörgröße und möglicherweise langfristig auftretenden Nebeneffekten der Strahlentherapie (Sehstörungen und Hypophyseninsuffizienz) abhängig gemacht. 59 Patienten erhielten postoperativ eine Radiotherapie, 20 blieben im Verlauf ohne Rezidiv, bei 17 trat eine Tumorstörreduzierung ein. Bezüglich der strahlentherapeutisch folgenden Hypophyseninsuffizienz stellten sie in 86% ACTH-Defizite, in 76% TSH-Defizite und bei 100% der Patienten FSH-/LH- und GH-Mangel fest (nach 6-10 Jahren).

Es ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied in der Wiederwachstumsrate nach postoperativer Bestrahlung (15%) im Vergleich zur alleinigen chirurgischen Entfernung (28%). Die Anzahl der nur Operierten ist mit 25, wovon 13 einen Tumorstör aufwiesen, jedoch relativ klein. In den sehr kleinen Fallzahlen spiegelt sich die Problematik bei vergleichenden Studien von rein operativ behandelten oder postoperativ bestrahlten Patienten wieder.

Gittoes et al. (1998) untersuchten retrospektiv 126 Patienten mit NSA, von denen die eine Gruppe routinemäßig innerhalb von 12 Monaten postoperativ bestrahlt und die andere Gruppe allein chirurgisch versorgt wurde. Die bestrahlte Gruppe wies eine Wiederwachstumsrate von 7% nach 10 Jahren auf, während diese ohne Bestrahlung bei 41 % lag. Bei dem Vergleich dieser Daten würden die Ergebnisse für eine postoperative Radiotherapie innerhalb von 12 Monaten sprechen. Beim kritischen Lesen dieser Studie fällt jedoch auf, daß Aussagen zur Invasivität und zur chirurgischen Radikalität der Operationen fehlen. Es ist nicht nachvollziehbar, ob der Anteil der nicht-radikal

operierten Patienten in beiden Studiengruppen gleich hoch ist. Diese beiden Punkte schränken die Verwertbarkeit der Studienergebnisse erheblich ein.

Knosp et al. (1995) schließen in ihre Empfehlung für adjuvante Radiotherapie für Tumorreste bei NSA die Beurteilung der Wachstumsrate ein. Ihrer Meinung nach ist KI-67 in der Lage, einen Anhalt für die zu erwartende Wachstumsrate zu geben. Auch wenn sich zunehmend Studien mit der Strahlentherapie beschäftigen, fehlen immer noch verwertbare Daten, die aufgrund von Statistiken die Entscheidung der postoperativen Therapie erleichtern.

Im Zusammenhang mit den Vor- und Nachteilen einer Radiotherapie soll auch die Radiochirurgie (1. Gamma-Knife und 2. Linearbeschleunigung) an dieser Stelle nicht außer acht gelassen werden. Während früher die Gamma-Knife-Technik als Primärtherapie angewandt wurde, wird sie heutzutage in erster Linie für frühzeitig entdeckte Tumorrezidive oder nicht radikal entfernte Tumorreste benutzt (Ganz 1996).

Die zweite Möglichkeit besteht in der „Linearbeschleuniger“-Strahlenchirurgie, wobei der Patient im Strahlenfeld bewegt wird. Beide Methoden zeichnen sich durch eine hohe Präzision der Strahlenapplikation aus (Sturm und Müller 1997).

Als Indikationen gelten dabei: 1. Tumoren, die nicht ans Chiasma und/ oder den Nervus optikus heranreichen. 2. Nicht-radikal operierte (operierbare) Tumoren, besonders Reste im Sinus cavernosus 3. Rezidive, die postoperativ noch nicht sofort erkennbar sind und erst mit der Zeit durch Tumorwachstum erkennbar werden. Gerade diese eignen sich nach Meinung von Ganz (1996) besonders gut für die Gamma-Knife- Therapie, da eine zweite Operation, wenn der Operateur schon bei der ersten von einer Radikalität ausgegangen ist, nicht sehr erfolgversprechend ist. Als Vorteile der Gamma-Knife-Therapie im Vergleich zur Strahlentherapie gelten die niedrigere Radiodosis für das umliegende Gewebe und die mögliche Durchführung an einem Tag im Gegensatz zur fraktionierten Radiotherapie.

1.5. Aufgabenstellung

Aufgrund der Analyse der vorliegenden Arbeiten konnten noch keine zuverlässigen Proliferationsmarker bzw. Verlaufskriterien zur Weiterbehandlung bei nicht-hormonsezernierenden Adenomresten herausgearbeitet werden. Das Ziel dieser Arbeit war es, für folgende Aufgabenstellungen eine Lösung zu finden:

Die Suche galt zuverlässigen Kriterien und Marker, um eine Vorhersage für das Wiederwachstum von inkomplett entfernten Tumoren treffen zu können, die zeitliche Planung von post-operativen Verlaufskontrollen mit Hilfe von MRT- Bildern zu optimieren, eine Entscheidungshilfe bzgl. der post-operativen Therapie, d.h. Radiotherapie versus einer erneuten Operation, zu finden.

Eine Vielzahl von Proliferationsmarkern/Tumormarkern ist in den letzten Jahren in der Hoffnung, ein besseres Verständnis für die Tumorbilogie und eventuell eine prognostische Hilfe für das Tumorverhalten zu erhalten, untersucht worden. In diesem Zusammenhang sollte in dieser Studie herausgefunden werden, ob bereits z.T. schon etablierte Tumormarker mit den klinischen Daten, insbesondere aber mit der tatsächlich gemessenen Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren in vivo (ermittelt mit Hilfe von MRT- Bilderserien), korrelieren.

Bis jetzt gibt es noch keine klaren Kriterien für das Wachstumsverhalten von NSA bzw. ihren Tumorresten in postoperativen MRT- Studien, die in ausreichender Zahl über einen längeren Zeitraum erfolgten. Deswegen wurde in dieser Studie das Wachstumsverhalten von NSA anhand von MRT- Bildverläufen studiert und ihre Wachstumsgeschwindigkeit im Verlauf berechnet. Diese Daten wurden auf eine mögliche Korrelation mit den immunhistologischen Proliferationsmarkern überprüft.

Der erste Aufgabenschwerpunkt dieser Studie galt daher der Erarbeitung eines Meßverfahrens zur Beurteilung der Wachstumsgeschwindigkeit. Dieses Meßverfahren sollte gut reproduzierbar, einfach zu handhaben, für den Klinikalltag geeignet und vor allen Dingen mit bereits vorhandenen Bildern durchführbar sein. Gleichzeitig war die Archivierung der MR-Bilder mit einer Digitalkamera zu erproben, da hierzu noch keine Voruntersuchungen publiziert waren.

Nach der Etablierung dieser Methodik sollten als zweites die in mm/Jahr angegebenen Wachstumsgeschwindigkeiten mit den Tumormarkern MIB1, PCNA, p53 und IGF1 korreliert werden. Des weiteren sollten die Tumormarker zu verschiedenen klinischen Daten wie Invasivität, Tumorgröße, Immunhistologie und Rezidivverhalten in Bezug gesetzt werden. Anhand dieser Korrelationen sollte festgestellt werden, ob die verwendeten Tumormarker bei NSA als Proliferationsmarker dienen können und ob sich des weiteren prognostisch wichtige Informationen für das Tumorverhalten ableiten lassen.

Auch postoperative Tumorresten oder Rezidiven, die sich erst nach mehreren Kontrollen erkennen ließen, wurden in diese Studie einbezogen. Die Suche galt Kriterien und/oder zuverlässigen Markern, die bei NSA als Entscheidungshilfe für postoperatives Management zur Verfügung stehen, um die zeitliche Planung der Bildkontrollen und ein instrumentelles Eingreifen wie Reoperation oder Radiatio zu erleichtern.

2. Material und Methoden

2.1. Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv bestand aus 32 Patienten mit der klinischen Diagnose eines nicht-sezernierenden Hypophysenadenoms. Die Patienten wurden zwischen 1974 und 1997 in der Neurochirurgie der Universitätsklinik Eppendorf operiert bzw. nachoperiert oder zumindest in der Hypophysenambulanz betreut und an einem anderen Krankenhaus operiert. Sie stammen aus einem Gesamtkollektiv von 531 Patienten mit NSA, die in diesem Zeitraum in der Neurochirurgie des UKE operiert wurden. Bei allen Patienten stand von mindestens einer Operation Tumormaterial für unsere Untersuchung zur Verfügung.

Kriterien für die Patientenauswahl:

1. Eine MRT- kontrollierte Verlaufsbeobachtung, mit deren Hilfe ein Tumorwachstum nachweisbar war, oder ein Beobachtungszeitraum von mindestens 5 Jahren ohne nachweisbares Tumorwachstum.
2. Tumormaterial von mindestens einer Operation für die immunhistochemischen Untersuchungen der Tumor- /Proliferationsmarker.
3. Keine Radiatio vor den Operationen, von denen das Tumormaterial immunhistochemisch auf die Proliferationsmarker untersucht wurde.

2.2. MRT-Beobachtungen

Für die MRT- Beobachtungen wurden aus dem Patientenkollektiv der Neurochirurgischen Klinik Patienten ausgewählt, die entweder postoperativ radiologisch über einen längeren Zeitraum verfolgt wurden oder prae-operativ einen Beobachtungszeitraum mit feststellbarem Tumorwachstum aufweisen konnten. Diese Patienten wurden entweder in der Hypophysen- Sprechstunde gebeten, ihre gesammelten Bilder mitzubringen oder telefonisch um Einverständnis und die Zusendung der Bilder ersucht. Die Anzahl der Patienten, die genügend Bildmaterial zur Verfügung hatten, ist um ein Vielfaches kleiner als die insgesamt an NSA- Operierten, denn es mußten Patienten mit nachfolgenden Kriterien aus der Studie ausgeschlossen werden:

1. Patienten, bei denen postoperativ keine Bildkontrollen vorgenommen wurden, 2. Patienten, die postoperativ keinen Tumorrest aufwiesen und nicht weiter nachkontrolliert wurden, 3. Patienten mit medikamentöser Vorbehandlung und 4. Patienten, bei denen kein ausreichend archiviertes Tumormaterial für die immunhistochemischen Untersuchungen vorhanden war.

Bei Vorliegen der Bilder wurde als erstes das gesammelte Material gesichtet. Um ein System zur Archivierung zu entwickeln wurden die relevanten MR-Bilder mit einer digitalen Kamera abfotografiert und mit einem speziellen Softwareprogramm im Computer gespeichert. In einem Probelauf wurden sowohl coronare als auch sagitale Schnitte berücksichtigt.

Zur Bestimmung der Wachstumsrate wurde am MRT- Bild die Ausdehnung des Tumors bezüglich des größten Durchmesser, größter Höhe und der größten Breite ausgemessen und dann im Vergleich die Wachstumsrate in mm pro Jahr berechnet.

Als Problematik ergab sich dabei: 1. Tumoren sind keine kugeligen Gebilde, die regelmäßig in alle Richtungen wachsen. So kann es vorkommen, daß ein Bereich besonders schnell wächst, der mit dem größten Durchmesser nicht erfaßt wird. 2. Es muß immer der gleiche Schnittort beim MR gesucht werden. Veränderungen der Schnittebenen könnten falsch positives oder auch negatives Wachstum nachweisen. Als Orientierungspunkte zur Überprüfung gleicher Schnitte dienten die Lage und Form des Ventrikelsystem, des Chiasmas und der A. carotis.

Bei der Frage nach der Aufnahmetechnik des MRT-Bildes mit Kontrastmitteldarstellung oder ohne Kontrastmittel ergab sich keine universell gültige Antwort. Für die Messungen wurde diejenige Aufnahme ausgewählt, in welcher der Tumor im digitalen Kamerabild am besten abgegrenzt werden konnte. Je nach Qualität der Abgrenzbarkeit wurden MR-Bilder mit oder ohne Kontrastmittel ausgewählt. Dies variierte zum Teil sogar bei demselben Patienten (Abb. 2).

Beim Aufnehmen der Bilder mit der digitalen Kamera zeigte sich, daß die Skalen auf den MRT-Bildern an unterschiedlichen Stellen und in verschiedenem Abstand zum Objekt angebracht sind.

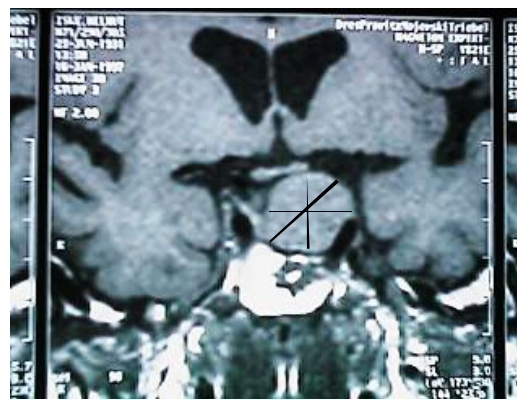
Wir entschieden, daß zur Nachvollziehbarkeit der Tumorgößenbestimmung die Skala am Bildrand wichtiger ist als der gleiche Maßstab zweier Verlaufsbilder (Abb. 2). Der Vergleich der sagitalen und coronaren Schnittaufnahmen ergab, daß die sagitalen Aufnahmen keine zusätzlichen Informationen bezüglich der Wachstumsgeschwindigkeit boten, so daß von da an nur noch coronare Schnitte verwendet wurden. Entsprechend wurden die relevanten koronaren Schichten dann mit Hilfe einer digitalen Kamera (Casio QV 10) dokumentiert und im Computer gespeichert.

Abb. 2: Methode zur Tumorstadiumbestimmung (Fall 13), MRT T1 ohne und mit Kontrastmittel



3 Jahre post-1-op: 05.09.91

Ø:16, ⊥: 14, ↔: 14



9 Jahre post-1-op, prae-2-op: 16.01.97

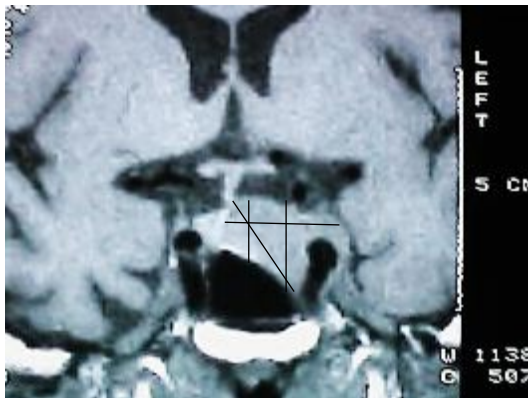
Ø:24, ⊥: 20, ↔: 22

Ø+↔: 8mm/64 Mo: 1,5 mm/ Jahr

Zur Auswertung des Tumorstadiums bestimmt man am ersten Bild jeweils den größten Durchmesser, die größte Breite und die größte Höhe. Dann ist entscheidend, in welche Richtung der Tumor vorwiegend gewachsen ist: Es wird jeweils der Wert bestimmt, der am meisten zugenommen hat (größter Durchmesser, größte Breite oder größte Höhe). Dieser Wert wird in mm ausgemessen, dann durch die Anzahl der Monate der Beobachtungsdauer dividiert und mit 12 multipliziert, um eine Wachstumsrate in mm/Jahr zu erhalten.

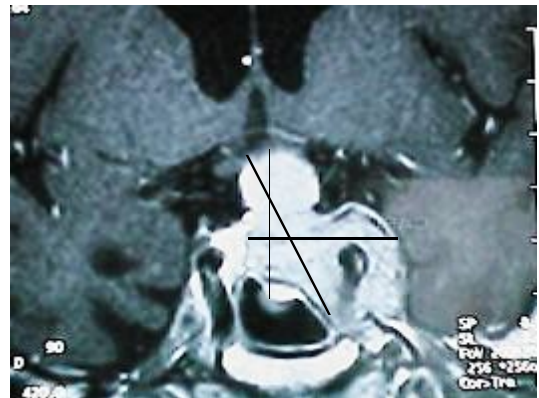
Aufgrund der Tatsache, daß es Tumoren gibt, die jeweils an einer Stelle außergewöhnlich stark expandieren, führten wir zusätzlich für die Endberechnung die Bestimmung des Durchmessers des größten Tumorwachstums ein (Abb. 3). In diesem Fall muß man die beiden relevanten Bilder (das älteste und das aktuellste) vergleichen, die Stelle des größten Tumorwachstums der aktuellsten Aufnahme zuerst ausmessen und dann am gleichen Schnittort diesen Bereich in der ältesten Aufnahme ausmessen.

Abb. 3: Methode der Tumorwachstumsbestimmung, Wachstum des größten Durchmessers mit * gekennzeichnet (Fall 15)



11.01.94

Ø: 23, ⊥: 17, ↗: 24, *⊥: 13



10.10.96

Ø: 33, ⊥: 29, ↗: 27, *⊥: 29

⊥: 12mm/33Mo: 4,4mm/Jahr

*⊥: 16mm/33Mo: 5,8mm/Jahr

Aufgrund der Datenverteilung wurden die Tumoren in langsam, moderat und schnell wachsende Tumoren eingeteilt.

Bei vermuteten Tumorresten, die über einen längeren Zeitraum nicht wuchsen, ergab sich die Fragestellung, ab wann mit einer hohen Wahrscheinlichkeit davon ausgegangen werden kann, daß es sich hierbei nicht um einen Tumorrest, sondern um anderes Gewebe, wie z.B. Narbengewebe, Implantat oder anderweitig operativ verändertes Gewebe, handelt.

Zur Beurteilung dieser Thematik mußte die Dokumentation der Nachbeobachtungen über mindestens 5 Jahre nachvollziehbar sein.

2.3. Klinische Daten

Mit Hilfe eines Auswertungsbogens (s. Anhang) wurden die klinischen Daten der Patienten erhoben: Alter der Patienten bei der 1. Operation, prae-operative Tumorgroße, Tumorlokalisation, Tumorklassifikation, Invasivität, Mehrfachoperationen, Rezidivverhalten und Radiatio.

Die Invasivität der Tumoren wurde durch eindeutige intraoperative Beurteilung und/oder MRT-Auswertung als gegeben eingestuft. Für die Beurteilung des Rezidivverhaltens der Tumoren ist die

Radikalität der operativen Entfernung von entscheidender Bedeutung. Dazu wurden die Aussage des Operateurs berücksichtigt und die postoperativen MR-Bilder verglichen.

Zu Beginn der Studie wurden bei Durchsicht der Patientenakten eine Reihe von Daten erhoben, die im späteren Verlauf nicht weiter verwendet wurden. So wurden anfangs klinische Symptome der Patienten ebenfalls berücksichtigt, wobei Gesichtsfeldausfälle, Chiasmasyndrom, Visusminderung, Hormonstörungen, Schmerzen, verminderte Leistungsfähigkeit, Libido/Potenzstörung festgehalten wurden. Des Weiteren die Anamnesedauer der führenden klinischen Symptome und präoperative Prolaktinämie bei den Patienten. Diese Daten sind als eventueller Ausgangspunkt für weitere klinische Untersuchungen archiviert, tauchen aus Gründen fehlender Relevanz für diese Studie im Ergebnisteil jedoch nicht mehr auf.

2.4. Histologie und Immunhistologie

2.4.1. Histologie (Übersicht)

Von jedem Patienten wurden bei allen vorhandenen in formalin-fixierten und in paraffin- eingebetteten Tumopräparaten 4-5µm- Schnitte angefertigt und mit Hämotoxylin-Eosin (HE) und Perjod-Schiff-Reagenz (PAS) angefärbt.

Die Einteilung der nicht-sezernierenden Hypophysenadenome erfolgte in:

Nullzelladenome, onkozytäre Adenome, gonadotrope Adenome und α -Subunit-only-Adenome. Dies erfolgte aus der Beurteilung von Immunhistologie, HE und PAS- gefärbten Schnitte und aus in epon- eingebetteten Semidünnschnitten.

Adenome mit mehr als 10% gonadotropin- positiven (FSH und/oder LH) Zellen und Adenome in diesem Grenzbereich mit chromophobem Zytoplasma wurden zu den gonadotropen Adenomen gezählt. Ein zusätzlicher sehr seltener Untertyp ist das α -Subunit-only-Adenom (Saeger 1996), das durch eine größere Anzahl von α -Subunit- exprimierenden Zellen, aber durch keine bis geringfügige LH- oder FSH-Expression gekennzeichnet ist.

Nullzelladenome sind gekennzeichnet durch eine minimale oder fehlende Expression der Hypophysenadenome (Kovacs und Horvath 1986) und durch eine schwache Entwicklung von zytoplasmatischen Organellen. Als onkozytäre Adenome wurden jeweils die Adenome klassifiziert, die in epon- eingebetteten Semi- Dünnschnitten eine typisch feinwolkige Zytoplasmastruktur aufwiesen, die für eine hohe Anzahl von Mitochondrien spricht. Diese können als Variante der Nullzelladenome interpretiert werden (Saeger 1996).

Bei den extern voroperierten Patienten wurden die Befunde von den zuständigen Pathologen erfragt und es wurde um Zusendung des entsprechenden in formalin- fixierten und paraffin- eingebetteten Tumormaterials gebeten.

Bei 8 (von 13) Patienten war genügend Tumormaterial vorhanden, um die Routine-Immunhistologie der Hypophysenadenome und die Bestimmung der Proliferationsmarker nachzuholen.

Ein Patient wurde nur auswärts operiert aber von D.K. Lüdecke mitbetreut, und das Tumormaterial wurde für die Untersuchungen zur Verfügung gestellt (s. Anhangsliste).

2.4.2 Grundlagen der Immunhistochemie

Die Immunhistochemie dient zur Identifizierung und zur histologischen und zytologischen Lokalisation bestimmter Proteine und anderer antigen- wirkender Stoffe.

Grundlage der immunhistochemischen Anfärbung ist die Antigen-Antikörper-Reaktion.

2.4.2.1. Antigene und Antikörper

Substanzen, die eine spezifische Immunantwort auslösen können, werden als Antigene bezeichnet. Bei kompletten Antigenen handelt es sich um Makromoleküle wie Proteine, Glykolipide und Glykoproteine. Dabei wird die Antigeneigenschaft nicht durch das gesamte Makromolekül, sondern nur durch ein kleines Areal auf der Moleküloberfläche (=Epitop) hervorgerufen. Ein Makromolekül kann eine Vielzahl von Epitopen besitzen, die die Produktion von spezifischen Antikörpern induzieren (= polyklonal, von verschiedenen Plasmazellklonen gebildet). Monoklonale Antikörper reagieren nur mit einem einzigen Epitop und werden von einem einzigen Zellklon gebildet.

Antikörper sind Proteine, die von Plasmazellen zur Abwehr gebildet werden und zu einer spezifischen Antigen-Antikörper-Reaktion fähig sind. Die Gewinnung der Antikörper, die bestimmte Antigene im Gewebe markieren, erfolgt durch Immunisierung von Tieren (meist Mäusen). Die Plasmazelle, die nun Antikörper gegen ein bestimmtes Antigen bildet, wird mit einer Myelomzelle (=tumoröse B-Zelle) fusioniert und in Zellkulturen gezüchtet (=Hybridom). Diese Technik wurde von Köhler und Milstein entwickelt, mit dessen Hilfe spezifische Antikörper gegen ein Epitop eines bestimmten Antikörpers hergestellt werden können.

2.4.1.3. ABC-Methode

Der Avidin-Biotin-Peroxidase-Complex (=ABC-Methode) ist eine Möglichkeit zum Sichtbarmachen einer Antigen-Antikörper-Reaktion, an deren methodischen Entwicklung u.a. Hsu et al. mitwirkten (Hsu et al. 1981).

Bei dieser Methode wird der zu untersuchende Primärantikörper mit einem zweiten Antikörper beschichtet, der mit Biotin konjugiert ist. Biotin ist ein wasserlösliches Vitamin, das leicht an verschiedene Substanzen wie Immunglobuline, Lektine oder Nukleinsäuren binden kann. Es bildet die Brücke zum nächsten Komplex, dem Avidin-Biotin-Komplex. Avidin ist ein basisches Glykoprotein mit der Fähigkeit, 4 Moleküle Biotin zu binden. Avidin reagiert zuerst mit biotungebundener Peroxidase (Avidin-Biotin-Peroxidase) und dann mit dem biotinylierten Zweitantikörper. Die Peroxidase kann dann im letzten Schritt mit einem Farbstoff, in dieser Studie dem Chromogensubstrat Diaminobenzidintetrahydrochlorid (=DAB) reagieren, und so indirekt das eigentliche Zielantigen sichtbar machen.

2.4.3. Immunhistologische Untersuchung der Hypophysenhormone

Alle HA wurden immunhistologisch auf den Anteil der Zellen mit positivem Hormonnachweis untersucht, und zwar bezüglich STH (Somatotropes Hormon), Prolaktin, ACTH (Adrenocorticotropes Hormon), TSH (Thyreotropes Hormon), FSH (Follikel-Stimulierendes Hormon), LH (Luteinisierendes Hormon) und α -Subunit. Ein Teil wurde zusätzlich auf S 100-Protein getestet.

Diese Untersuchungen wurden alle an formalin-fixiertem und dann in paraffin-eingebetteten Tumormaterial mit der ABC-Methode durchgeführt.

Bei Patienten mit fehlender oder unvollständiger immunhistochemischer Untersuchung bzgl. der Hypophysenhormone wurde diese Untersuchung nachgeholt (Patienten-Nr. 14: N49-74; Nr. 19: N8-80; Nr. 23: N164-85; Nr. 31: N125-87).

Erst ab 1991 wurde bei den Hypophysenadenomen die Routineuntersuchung der α -Subunits eingeführt, so daß gegebenenfalls Tumoren des Untersuchungskollektivs auf α -Subunits nachuntersucht wurden (Patienten-Nr.: 6;8;13;14;16;19;22;23;28;30;31).

Bei 3 Patienten wurde zusätzlich FSH und LH nachbestimmt, denn die Ergebnisse der Rezidiv-Operation stimmten nicht mit der Erst-Operation überein, und die immunhistologischen Untersuchungen haben sich in den 90er Jahren gegenüber den 70-und 80er Jahren verfeinert (Patienten- Nr: 6: N11-84; Nr. 13: N63-88; Nr. 29: N529-91)

Insgesamt wurden folgende Antikörper verwendet:

Monoklonal: Anti-STH, Sigma Immunochem., 1:1200;

Anti-Prolactin, Immunotech, 1:200;

Anti-ACTH (24-39), Dako, 1:50;

Anti-TSH, Immunotech, 1:100;

Anti-FSH, Immunotech, 1:200;

Anti-LH, Immunotech, 1:200;

Anti- α -Subunit, Immunotech, 1:100

Polyklonal: Anti-S100-Protein, Dako, 1:800

2.5. Immunhistochemie der Proliferations- / Tumormarker

2.5.1. Antikörper

In der Tabelle 1 werden die untersuchten Antikörper, deren Herkunft, Klonalität, Verdünnung und Detektionsmethode (ABC= Avidin-Biotin-Peroxidase-Complex) zusammengefaßt.

Tabelle 1: Verwendete Antikörper

Antikörper	Herkunft	Klonalität	Verdünnung	Retrieval-Technik	Detektions-methode
MIB1	Loxo, Dossenheim, D	monoklonal	1:100	angewendet	ABC
PCNA	Camon, Wiesbaden, D	monoklonal	unverdünnt	angewendet	ABC
p53	Camon, Wiesbaden, D	monoklonal	unverdünnt	angewendet	ABC
IGF1	Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY, USA	monoklonal	1:250		ABC
PTH related protein	Europa Research Products, Cambridge, England	polyklonal	1:10		ABC

2.5.2 Praktische Durchführung

Alle Antikörper-Testungen wurden an formalin-fixiertem und in paraffin-eingebettetem Gewebe vorgenommen. Mit Hilfe eines Mikrotoms wurden von den Paraffinblöcken, nach kurzfristiger Abkühlung, Schnitte in einer Dicke von 3-5µm angefertigt. Diese wurden zur Entfaltung in ein Wasserwärmebad gegeben, dann auf vorher syalinisierte Objektträger aufgezogen und über Nacht im Wärmeschrank getrocknet.

Für die Applikation der Antikörper von Ki-67 (MIB1, Loxo, Dossenheim, Deutschland, 1:100), PCNA (Camon, Wiesbaden, Deutschland, unverdünnt als Fertigpräparat), p53 (Camon, Wiesbaden, Deutschland, unverdünnt als Fertigpräparat) und IGF1 (Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY, USA, 1:250) wurden 3-5µm- Schnitte mit folgenden Arbeitsschritten behandelt:

1. Entparaffinisierung und Rehydrierung der Arbeitsschnitte in Xylol (20 Minuten) und absteigender Alkoholreihe (100% für 10 Minuten, 70% 5 Minuten).
2. Viermaliges Spülen in PBS (phosphate buffered saline).
3. A) Für MIB1 und p53: dreimaliges Kochen der Schnitte in Citratpuffer in der Mikrowelle für nacheinander 10, 8 und 5 Minuten zur Demaskierung des Antigens.
 B) Für PCNA: Kochen der Schnitte in einem Enhancer (Histosafe-Enhancer, Camon, Wiesbaden, Deutschland) für dreimal 5 Minuten mit anschließender 20 minütiger Abkühlungszeit.
 C) IGF1: ohne Demaskierungsbehandlung in der Mikrowelle.
4. Blockierung der endogenen Peroxidase in 1%H₂O₂ in PBS für 30 Minuten.
5. Zweimaliges Spülen in PBS
6. Blockierung unspezifischer Bindungsstellen mit Normalserum (ABC Elite, Vector Labs, Burlingame, CA 94010 USA) bei RT (=Raumtemperatur) für 30 Minuten.
7. Inkubation mit dem primären Antikörper:
 Ki-67: 1 Stunde bei RT.
 P53: 2 Stunden bei 37°C im Wärmeschrank.
 PCNA und IGF1 über Nacht bei 4°C im Kühlschrank.
8. Zweimaliges Spülen in PBS.
9. Inkubation mit dem sekundären Biotin-konjugierten Antikörper (ABC Elite, Vector Labs, Burlingame, CA 94010 USA) für 30 Minuten.
10. Zweimaliges Spülen in PBS.
11. Inkubation mit dem Avidin-Biotin-Komplex (ABC Elite, Vector Labs, Burlingame, CA 94010 USA) für 30 Minuten.
12. Viermaliges Spülen in PBS.
13. Entwicklung in Diaminobenzidin (DAB)-Lösung für ca. 3-5 Minuten (variierend je nach der Braunfärbung der Positivkontrollen).
14. 5 minütiges Spülen unter fließendem warmen Wasser.
15. Gegenfärbung mit Hämatoxylin für 60 Sekunden (PCNA für ca. 5 Sekunden).
16. 5 minütiges Spülen im warmen Wasser
17. Entwässerung in aufsteigender Alkoholreihe (70% kurz, dann 3 mal in 100% für jeweils 5 Minuten) und Xylol (mindestens 6 Minuten)
18. Eindecken mit Eukitt

2.5.3. Kontrolle und Veränderungen der Methodik

Bei allen Versuchen wurde eine Positiv- und Negativkontrolle parallel durchgeführt. Als Positivkontrolle diente Gewebe von Mamma-Carcinom für Ki-67, PCNA und p53 und von der Niere für IGF1.

Zur Optimierung der Ergebnisse wurde mit Hilfe der Positivkontrolle bei p53 erst eine Inkubationszeit des primären Antikörpers von 1 Stunde im Brutschrank ausgetestet und dann auf 2 Stunden erhöht. Eine 2-stündige Inkubationszeit zeigte eine bessere Kernfärbung.

Bei IGF 1 wurde als Positivkontrolle anfangs fötale Leber mit der PAP-Methode und einer Verdünnung von 1: 30 (Wellhausen et al. 1998) benutzt. Ein Probeversuch, die Verdünnung mittels Niere als Positivkontrolle und der dann möglichen ABC-Methode zu erhöhen (1:250), erwies sich als erfolgreich und wurde in Folge auf den gesamten Versuch angewendet.

Bei einem fünften Antikörper, PTH related protein (Anti human parathyroid hormone related protein, polyklonal, Europa Research products, Cambridge, England), unternahmen wir den Versuch, eine immunhistochemische Untersuchungsmethode zu etablieren.

Als Positivkontrolle diente ein Hautpräparat. Die Untersuchung wurde mit Hilfe der ABC-Methode nach obigem Protokoll und Inkubation des Primärantikörpers über Nacht bei 4°C durchgeführt.

Bei einer Verdünnung von 1:10 zeigten sich positive Zellen in der Positivkontrolle. In einer exemplarischen Untersuchung von 20 Hypophysenadenomen zeigte keines eine positive Reaktion, so daß von einer weiteren Untersuchung von PTHrp Abstand genommen wurde.

2.5.4. Auswertung der Färbereaktion

Alle immunhistologischen Ergebnisse wurden mit einem Lichtmikroskop ermittelt. Bei jedem Tumor wurde jedes einzelne Gesichtsfeld beurteilt, ohne auf die klinischen Daten des betreffenden Patienten zurückzugreifen, bevor alle Auswertungen durchgeführt waren.

Nur Tumorzellen mit eindeutiger und klarer Färbung der Kerne bzw. des Zytoplasmas bei IGF1 wurden als positiv gezählt. Bei einer positiven Immunreaktion wurde das Ergebnis durch die Zählung aller positiven Kerne in allen Gesichtsfeldern weiter quantifiziert.

Die Objektivvergrößerung betrug dabei 40 fach.

Für Ki-67 und PCNA wurde ein Färbeindex = Labelling Index (LI) etabliert. Mit LI=1 bei einem positiven Zellkern pro Gesichtsfeld bei starker Vergrößerung, d.h. die Anzahl der gesamten positiven Tumorkerne im ganzen Präparat wurde durch die Anzahl der ausgezählten Gesichtsfelder dividiert. Die Anzahl der Gesichtsfelder, die im positiven Fall ausgezählt wurde, betrug für MIB 1 drei bis 139,5, d.h. im Mittel 75 und für PCNA 3,5 bis 364,5, d.h. im Mittel 77. Das Gesichtsfeld betraf nur Tumorzellen. Vaskuläre, hämorrhagische und fibroblastische Zellen wurden nicht mitgezählt.

Bei dem Tumormarker p53 wurde ebenfalls jeweils das ganze Tumorpräparat nach positiven Zellkernen abgesucht. Bei schon einem positiven Zellkern galt die Reaktion als p53 positiv, eine weitere Quantifizierung wurde aufgrund der geringen Anzahl der positiven Zellkerne nicht unternommen.

Bei IGF1 wurde die Prozentzahl und die Stärke der Zytoplasmafärbung beurteilt (Tabelle 2 und 3).

Tabelle 2: Auswertungsschema für IGF1

Prozentzahl an positiven Zellen	Farbintensität
Negative=0	Keine Reaktion=0
<10% positive Zellen=1	Schwache Reaktion=1
10-50% positive Zellen=2	Moderate Reaktion =2
51-80% positive Zellen=3	Starke Reaktion=3
>80% positive Zellen=4	

Tabelle 3: Ergebnisschema für IGF1

Ergebnis = Prozentzahl positiver Zellen* Farbintensität
0 = negative
1-4 = schwach
5-8 = moderate
9-12= stark

2.6. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mittels des statistischen Programms SPSS (statistical package for the social sciences) und Excel.

Zur statistischen Auswertung wurden der Spearman-Test für zweiseitige Fragestellungen mit fortlaufenden Zahlen und der Whitney-U-Test für fortlaufende und nominal verteilte Variablen angewandt. Beide Tests setzen keine Normalverteilung der erhobenen Daten voraus.

Als deskriptive Statistiken wurden der Mittelwert, die Standardabweichung, der kleinste und größte Wert ermittelt. Bei Angaben in Prozent wurde die zweite Stelle hinter dem Komma ggf. auf- oder abgerundet. Eventuelle Abweichungen von 100% sind hierdurch erklärt.

Bei Patienten, bei denen Untersuchungsergebnisse aus mehr als einer Operation vorlagen, wurde entsprechend der Fragestellung jeweils nur ein Ergebnis in die Auswertung eingebracht.

Die Gruppeneinteilungen für die statistische Auswertung erfolgten nach unterschiedlichen Gesichtspunkten:

1. Eine Gruppe =Gesamtkollektiv (n=32)
 - mit a.) insgesamt 45 immunhistologisch untersuchten Tumorpräparaten in der deskriptiven Statistik
 - oder mit b.) 32 untersuchten Tumorpräparaten der jeweils aktuellsten Operation, bei der Tumormaterial untersucht werden konnte.
2. Eine Gruppe = Patienten mit klinisch gemessener Tumorwachstumsgeschwindigkeit (n=28)
 - mit a.) 28 auf Tumormarker untersuchten Biopsien für die jeweils aktuellsten Operation, bei der Tumormaterial getestet werden konnte
 - und mit b.) 28 Tumormarker-Werten, die jeweils den höchsten Wert bei mehrfachoperierten Patienten berücksichtigt.

3. Ergebnisse

3.1. Klinische Daten

3.1.1 Geschlechterverteilung

Dem Gesamtkollektiv gehörten 21 männliche und 11 weibliche Patienten an. Das entspricht einem Geschlechterverhältnis von m:w = 1,9 : 1.

3.1.2. Altersverteilung bei der Erstoperation

Die Altersverteilung des Kollektivs wurde auf den Termin der Erstoperation bezogen, um für alle Patienten eine gleichermaßen definierte Angabe machen zu können. Der jüngste Patient war zum Zeitpunkt der ersten Operation 27, der älteste 71 Jahre alt. Das Durchschnittsalter lag bei 50,3 Jahren. Eine Verteilung des Lebensalters der Patienten bei Erst-OP in Untergruppen zeigt die Tabelle 4.

Tab. 4: Altersverteilung der Patienten

Alter in Jahren	20-40	40-60	>60
Anzahl der Patienten	7	20	5

3.1.3. Prae-operative Tumorgröße

In 29 von 32 Fällen konnte anhand eines prae-operativen CT oder MRT der größte Tumordurchmesser berechnet werden, wobei sich diese Größe auf die aktuellste Operation bezog, bei der Tumormaterial zur anschließenden immunhistologischen Untersuchung vorhanden war.

Der kleinste Durchmesser betrug 14 mm (es handelte sich um die dritte Operation), der größte 46 mm bei einem mittleren Durchmesser von 29,2mm.

3.1.4. Tumorklassifikation

Unter Berücksichtigung des Tumordurchmessers erfolgte retrospektiv eine Tumorklassifizierung.

- T0: kein positiver Tumorbefund
- T1: Tumordurchmesser <10mm
- T2: Tumordurchmesser 10-20mm
- T3: Tumordurchmesser 20-35mm
- T4: Tumordurchmesser > 35mm

In dem Patientenkollektiv fanden sich 3 Patienten mit Tumoren der Klasse T2, 22 Patienten der Klasse T3 und 4 Patienten mit Tumoren der Klasse T4. Bei 3 Patienten konnte keine Aussage gemacht werden.

Tabelle 5 zeigt die Verteilung der Tumoren unter Berücksichtigung der Wachstumsgeschwindigkeit.

Tabelle 5: Verteilung der Tumoren nach ihrer Tumorklassifikation und dem gemessenen Tumorwachstum (mm/Jahr)

Wachstums- geschwindigkeit	T2	T3	T4	Keine Angaben
<1,5mm/Jahr (n=9)	1	5	1	2
1,5-3mm/Jahr (n=12)	2	10		
>3mm/Jahr (n=7)		4	2	1
Insgesamt	3	22	4	3

3.1.5. Tumorlokalisation

Bei der Tumorlokalisation wurde die intraselläre, supraselläre sowie die paraselläre Ausdehnung registriert (s. Auswertungsbogen im Anhang).

31 von 32 Tumoren zeigten neben der intrasellären auch eine supra-und/oder paraselläre Ausdehnung. Eine supraselläre Ausdehnung fand sich bei 28 Tumoren. 25 Tumoren reichten nach parasellär, wovon 21 nur in eine Richtung gewachsen waren und 4 nach beiden Seiten. Eine Übersicht über die Tumorlokalisation zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6: Tumorlokalisation bezogen auf die aktuellste OP

Tumorlokalisation	Patientenanzahl
Intrasellär	1 (3,1%)
Intra-und suprasellär	6 (18,9%)
Intra- supra und parasellär	22 (68,8%)
Intra-und parasellär	3 (9,4%)

3.1.6. Invasivität

Die Invasivität kann mit Hilfe von drei Kriterien beurteilt werden :

1. Intraoperativ: Beurteilung der Invasivität durch den Operateur. Der Operateur kann meist nur unter Zuhilfenahme einer geeigneten Mikroskopietechnik beurteilen, ob und in welche Richtung der Tumor invasiv vorgedrungen ist: suprasellär (in die Arachnoidea), nach caudal (die Sella arrodierend) und/oder parasellär (in den Sinus cavernosus).
2. Mit Hilfe des MRT: Dabei ist die Invasivität nach suprasellär und nach caudal häufig schwer zu beurteilen, bzw. erst zu sehen, wenn der Tumor massiv in eine der zwei Richtungen vorgedrungen ist.

3. Histologisch: Dura-, Schleimhaut- oder Knochenbiopsien können entsprechende Aufschlüsse über Invasivität geben, sind aber in seitlichen und suprasellären Bereichen meistens nicht praktikabel.

Unter Berücksichtigung der unter Drittens genannten Problematik wurde die Invasivität dieser Studie aus der Kombination der Beurteilung des intraoperativen Befundes und der Ausdehnung im MRT festgestellt.

22 von 32 (68,7%) Tumoren waren bei der aktuellsten OP invasiv und 9 nicht- invasiv. Davon wuchsen 6 Tumoren in zwei Richtungen invasiv vor und 1 Tumor in alle drei Richtungen. Bei einem Patienten konnte erst in der nachfolgenden Operation sicher von einer Invasivität ausgegangen werden, da die Voroperation an einem auswärtigen Krankenhaus erfolgte. Die Verteilung der Richtung, in die die Tumoren invasiv wuchsen, geht aus Tabelle 7 hervor.

Eine zweite Aussage wurde bezüglich der Stärke der Invasivität getroffen, 4 der 22 invasiven Tumoren galten als stark invasiv. Alle 4 stark invasiven Tumoren gehörten zur Gruppe der schnellwachsenden Tumoren (Tab. 8).

Tabelle 7: Richtung der Invasivität; Mehrfachnennung

Invasivität	Anzahl der Patienten
Caudal	6
Suprasellär	6
Parasellär	15

Tabelle 8: Zusammenhang zwischen der Stärke der Invasivität und der Wachstumsgeschwindigkeit

Wachstum	nicht- invasiv	invasiv	stark invasiv	keine Angabe
0 (n=4)	1	3	0	
<1,5mm/Jahr (n=9)	4	5	0	
1,5-3mm/Jahr (n=12)	4	8		
>3mm/Jahr (n=6)	0	2	4	1

3.1.7. Mehrfachoperationen

11 von 32 Patienten (34,4%) sind zum Zeitpunkt der Studie einmal operiert worden, 18 Patienten (56,3%) zweimal, 2 Patienten (6,3%) dreimal und 1 Patient (3,1%) ist viermal operiert worden.

Für die statistische Auswertung erfolgte die Unterteilung in 2 Gruppen: Patienten, die nur einmal operiert und Patienten, die mehrfachoperiert wurden.

Die beiden Gruppen zeigten bezüglich der am MRT -Bild gemessenen Wachstumsrate (sig.0,126) und der immunhistologisch untersuchten Proliferationsmarker MIB1 (sig. 0,185) und PCNA (sig. 0,495), nach Mann-Whitney-U. keinen signifikanten Unterschied.

3.1.8. Hypophysen-Vorderlappen-Insuffizienz

Eine substitutionspflichtige Hypophysenvorderlappeninsuffizienz lag bei 22 von 32 (68,8%) der Patienten vor. 2 Patienten wurden erst nach der zweiten OP insuffizient. Bei 7 Patienten wurde im Rahmen der prae-operativen Diagnostik bereits eine insuffiziente Hormonproduktion der Hypophyse nachgewiesen, die in einem Fall postoperativ nicht weiterbestand.

3.1.9. Radiatio

5 von 32 Patienten (16,3%) sind zum Zeitpunkt der Untersuchung aufgrund eines Tumorrestes nachbestrahlt worden, eine weitere Patientin ist zur Radiatio angemeldet.

Kein Patient ist zwischen den Operationen bestrahlt worden, denn es galt als Aufnahmekriterium für die Studie, daß die zu untersuchenden Tumorpräparate unbestrahlt sein sollten.

5 Patienten (Fall 1 ,2, 8, 16, 17) sind bis zum Abschluß der Studienevaluationen (1997) postoperativ bestrahlt worden, und in einem (Fall 25) ist eine Bestrahlung geplant.

Fall 1: (Abb. 4) 60-jährige Patientin, 1991 an einem großen nicht-invasiven NSA operiert, postoperativ ein fraglicher Tumorrest, 16 Monate später durch langsame Größenzunahme sicher identifiziert, langsam wachsender Tumor (1mm/Jahr). MIB1, PCNA und p53 konnten nicht nachgewiesen werden.

Fall 2: 52-jähriger Patient, 1991 erstmalig operiert, postoperativ großer Tumorrest, Tumorwachstum im Mittel 9mm/Jahr, 1993 zweite Operation ohne komplette Entfernung des stark invasiven (para-und suprasellär) Tumors, Tumorrest nach 3 Monate auf dem postoperativen MRT sichtbar, bei der 1.OP MIB 1: 2,98, PCNA 7,32, p53 positiv, bei der 2.OP alle Marker negativ.

Fall 8: 47-jähriger Patient, nach 1.OP 1984 und 2.OP 1988 kein invasives Wachstum, kleiner Tumorrest der 0,9 mm/Jahr wuchs. Alle Tumormarker negativ.

Fall 16 (Abb.5): 35- jährige Patientin, nach der 1.OP 1989 kleiner Tumorrest, innerhalb von 3 Jahren rapides Tumorwachstum (6,7mm/Jahr) stark invasiv (parasellär und caudal), nach der 2.OP 1993 erneut kleiner Tumorrest, 1996 bestrahlt. Bei beiden Operationen MIB 1, PCNA und p53 negativ.

Fall 17: 64-jähriger Patient, 4-fach operiert, stark invasiver Tumor (parasellär) mit einem Tumorwachstum von 2,7mm/Jahr, 3.OP alle Tumormarker negativ, 4.OP: MIB 1 0,02, PCNA 0,91, p53 negativ, 1997 bestrahlt.

Fall 25: 62-jährige Patientin, auswärts einem großen NSA 1994 voroperiert, schnell wachsender Tumorrest mit 5,8mm/Jahr, 2.OP 1997, erneuter Tumorrest des stark invasiven Tumors (parasellär), Bestrahlung geplant. 1.OP: MIB1 0,8, PCNA 1,508, p53 positiv. Bei der 2.OP zum Untersuchungszeitpunkt der Studie kein Material vorhanden.

Als Gemeinsamkeit der Bestrahlungen galt hier, daß bis auf Fall 1 (Radiatio auf Wunsch der Patientin) alle Patienten mindestens zweimal operiert worden sind und erneut einen Tumorrest aufwiesen.

3.1.10. Resezierbarkeit der Tumoren/ Radikalität der Operation

Die Möglichkeit einer Voraussagbarkeit eines postoperativen Tumorrestes wurde anhand zweier Aussage registriert und durch postoperative MR- Aufnahmen überprüft.

1. die prae-operativen Voraussage des Operateurs: wahrscheinlich vollständig resezierbare und nicht-vollständig resezierbare Tumoren, ausgehend von Tumorausdehnung und Invasivität auf den präoperativen MR- Aufnahmen.
2. die unmittelbar intra-operativen Aussage des Chirurgen: radikale, fraglich radikale oder nicht-radikale Operation.

Tab.9a: Zusammenhang zwischen der Vorhersage Tumorresezierbarkeit/Radikalität der OP und postoperativ festgestellten Tumorresten aus der aktuellsten Operation

Fall	OP-Datum	Resezier- barkeit	Radikalität	Tumorrest	Beurteilbar= postoperativ MR in Monaten	Noch nicht sicher beurteilbar in Monaten
1	30.10.91	ja	?	ja	15	
2	21.12.93	nein	nein	ja	7	
3	13.05.96	ja	?= frgl radikal	eher nein		10
4	10.11.95	ja	ja	eher nein		3
5	13.08.97	ja	ja	?		4
6	22.01.90	ja	?	ja	51	
7	20.01.98	ja	ja	kein MR	kein MR	
8	17.11.88	ja	ja	ja	19	
9	09.12.96	ja	?	eher nein		22
10	28.02.97	nein	nein	?		20
11	20.09.96	ja	?	eher nein?		4
12	04.11.96	ja	nein	eher nein ?		18
13	18.04.97	ja	nein	ja	10	
14	04.10.88	ja	?	nein, keine Größenzunahme	80	
15	28.11.96	nein	nein	ja	4	
16	07.09.93	nein	?	ja	25	
17	25.04.97	nein	nein	ja	5	
18	02.07.97	nein	nein	kein MR	kein MR	

Fall	OP-Datum	Resezier- barkeit	Radikalität	Tumorrest	Beurteilbar= postoperativ MR in Monaten	Noch nicht sicher beurteilbar in Monaten
19	11.02.80	nicht beurteilbar	nein	ja	8 Jahre	
20	13.02.96	ja	ja	ja	28	
21	05.11.96	nein	?	?		6
22	21.09.88	Ja	?	nein, keine Größenzunahme	6 Jahre	
23	26.07.85	ja	ja	nein, keine Größenzunahme	12 Jahre	
24	18.01.85	ja	nein	ja	4 Jahre	
25	21.11.97	nein	nein	ja	2	
26	04.02.97	ja	ja	kein MR		
27	21.05.97	ja	?	kein MR	kein MR	
28	13.11.89	ja	?	nein, keine Größenzunahme		
29	04.01.96	nein	?	eher ja		27
30	06.12.84	ja	?	ja	7 Jahre	
31	05.02.92	nein	nein	ja	10	
(32	28.05.97	auswärts operiert		ja	1	)

Bei 30 Patienten wurden Aussagen bezüglich der Tumorseziezierbarkeit getroffen. Dabei wurde bei mehrfachoperierten Patienten die aktuellste Operation am UKE berücksichtigt. Denn trotz Anforderungen aller OP-Berichte bei auswärtigen Voroperationen, waren die zu bearbeitenden Kriterien dort nicht sicher zu beurteilen oder fehlten ganz.

In 18 Fällen wurde die Operation als radikal beurteilt, in 13 Fällen galt die Radikalität als fraglich und konnte somit nicht weiter ausgewertet werden.

Bei 11 Patienten ist noch keine Beurteilung der Richtigkeit der Voraussage hinsichtlich Tumorseziezierbarkeit und der intraoperativen Radikalitätsaussage möglich, da die postoperativen Kontroll-Zeiträume zu kurz sind, um einen Tumorrest sicher zu bestätigen oder auszuschließen. Bei 20 Patienten galt der Tumor als resezierbar, davon sind 9 Patienten über einen längeren Zeitraum kontrolliert, bei 4 stimmte die Vorhersage, und 7 hatten einen Tumorrest. In 10 Fällen galt der Tumor als nicht-resezierbar, davon zeigten 6 Patienten postoperativ einen Tumorrest, für 4 ist noch keine sichere Aussage möglich. Als Bilanz der Aussagerichtigkeit der Resezierbarkeit ergab sich in 10 Fällen eine richtige Vorhersage, in 7 Fällen eine Falschbeurteilung und in 13 Fällen muß die postoperative Kontrolle noch weiter geführt werden. Nach Aussage des Operateurs wurden 7 Tumoren radikal operiert, wovon diese Beurteilung in einem Fall richtig war, sich in 2 Fällen anhand eines Tumorrestes als falsch herausstellte und in 4 Fällen noch keine Aussage möglich ist. Bei 11 Tumoren, die laut Operateur nicht-radikal entfernt wurden, hatten 8 einen Tumorrest, und in 3 Fällen

ist wieder keine Aussage möglich. Wurde eine definitive Aussage bezüglich der Radikalität getroffen, so stellte sich diese in 9 Fällen als richtig und in 2 Fällen als falsch heraus, in weiteren 7 Fällen reicht der postoperative Kontroll-Zeitraum noch nicht zur Beurteilung (Tab. 9a und b).

Tab. 9b: Überprüfung der Vorhersagbarkeit der Resezierbarkeit und intra-operativen Radikalität

	Insgesamt	Richtig	Falsch	Noch nicht beurteilbar im MR
Resezierbar	20	4	7	9
Nicht-resezierbar	10	6		4
Nicht beurteilbar	1			
Radikal	7	1	2	4
Nicht-radikal	11	8		3
Nicht beurteilbar	13			

Die eindeutige Tumorrest- Identifizierung beruhte entweder auf der Tatsache eines großen Tumorrestes oder des Wachstums eines kleinen Tumorrestes. Fragliche Tumorreste sind in diesem Fall Strukturen in der Sellaregion, bei denen es keinen eindeutigen Beweis für einen Tumorrest gibt (kein Wachstum) oder der Beobachtungszeitraum zu kurz ist, um ein Wachstum sicher ausschließen zu können. Die postoperativen Kontrollen sind in 12 von 32 Fällen bei der aktuellsten Operation zu kurz, um sichere Aussagen bezüglich von Tumorresten treffen zu können. Bei den Tumorresten, für die eine klinische Wachstumsgeschwindigkeit bestimmt wurde, waren die Patienten zu einem großen Teil auswärts operiert, so daß eine Beurteilung bezüglich Resezierbarkeit und Radikalität nicht getroffen werden konnte. Somit scheiterte der Versuch zur Überprüfung von Resezierbarkeit und Radikalität in allen Fällen und könnte nur in einer nachfolgenden Studie vollzählig ausgewertet werden.

3.2. MR-Beobachtungen

3.2.1. Tumorwachstumsgeschwindigkeit

Bei 28 Patienten von insgesamt 32 Patienten konnte ein Tumorwachstum nachgewiesen werden. Das Tumorwachstum wurde dann in mm/Jahr berechnet.

Die Tumorwachstumsrate in mm /Jahr reichte von 0,3- 9mm/Jahr (im Mittel 2.77mm/Jahr). Der Beobachtungszeitraum zum Nachweis von Wachstum erstreckte sich von 6 bis 101 Monate bei einer mittleren Beobachtungszeit von 39 Monate.

Als Maßort zur Berechnung der Wachstumsgeschwindigkeit dienten 4 unterschiedliche Parameter: Der größte Durchmesser, die größte Höhe und Breite und zusätzlich der Durchmesser des größten Wachstums. Bei 5 Patienten unterschied sich die Stelle des größten Wachstums von der des größten Durchmessers, der Höhe und Breite (Fall 2, 10, 15, 16 und 21, siehe Methodikteil Abb.2).

In 13 Fällen hatte die Höhe, in zwei der Durchmesser und in zwei die Breite des Tumors am stärksten zugenommen. Bei 6 Tumoren war die Wachstumsrichtung bei mindestens zwei der oben aufgeführten Parameter gleich groß (Tab. 10).

Tabelle10: Beobachtungsort des größten Tumorwachstums

	Höhe	Breite	Durch- messer	Höhe und Breite und Durchmesser	Höhe und Durchmesser	Breite und Durchmesser	Größter Durchmesser
Anzahl der Patienten	13	2	2	1	2	3	5

Den untersten Schwellenwert zum Nachweis von sichtbarem Tumorwachstum setzten wir beim Vergleich von zwei MR-Bildern bei 1mm an, so daß bei einer Beobachtungszeit von 45 Monaten die langsamste Wachstumsrate 0,3mm/Jahr betrug (Fall 24).

Der kürzeste Zeitraum, in dem ein sichtbares Tumorwachstum nachgewiesen werden konnte, betrug 6 Monate, die längste Beobachtungszeit war 101 Monate, im Mittel lag der nötige Beobachtungszeitraum für die Beurteilung von Tumorwachstum bei 39,4 Monaten.

Die Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit erfolgte bei 5 Patienten prae-operativ, bei 12 post-operativ, und bei 11 zwischen zwei Operationen, bei denen von beiden Operationen Tumormaterial zur immunhistologischen Untersuchung zur Verfügung stand.

Ein Ergebnis der Beobachtung des Wachstumsverhaltens ist die Schwierigkeit der Tumorrestdiskriminierung bei postoperativen MR-Kontrollen der Patienten. Sie beinhaltete die Problematik der Tumorrestunterscheidung von Implantaten, Narben, Hypophyse und hämorrhagisch verändertem Gewebe. Hierbei ergab sich, daß bei kleinen Tumorresten, die unmittelbar postoperativ aufgenommenen MR-Bilder noch keine Aussage über einen definitiven Tumorrest erlauben. Wuchs der Tumorrest, konnte man dies jedoch nach 1-2 Jahren gut dokumentieren (Abb. 4).

Bei 4 Patienten wurde in einem Zeitraum von mindestens 5 Jahren (59-108 Monate, im Mittel 83) postoperativ kein Wachstum festgestellt. Wichtig war die Unterscheidung, ob es sich bei MR-Veränderung, um einen Tumorrest handelt, der noch nicht wächst, oder nur um postoperative Veränderungen wie bei den Fällen 14; 22; 23 und 28 (Abb. 7).

In Hinblick auf die Methodik zur Tumorrestbeurteilung ergab sich bei zwei Fällen (Fall 22 und Fall 28) eine Schrumpfung des tumorverdächtigen Gewebes. Implantate führten bei der ersten postoperativen Aufnahme zu dem Eindruck eines Restes.

Der Fall 22 (Abb. 6) beleuchtet die Problematik, daß nicht ganz identische Schnitte fälschlich zu dem Eindruck eines langsamen Tumorwachstums führen können.

Sehr langsames Tumorwachstum wurde in dieser Studie anhand des Falles 19 nachgewiesen: Nach 8 Jahren wurde ein Tumorrest entdeckt, der 17 Jahre postoperativ eine Größe erreicht hatte, die eine erneute Operation nötig machte. Abb. 5 zeigt ein Beispiel für ausgeprägtes Tumorwachstum vom 2. ins 3. Postoperative Jahr.

3.2.2. Unterteilung der wachsenden Tumoren

Das Ergebnis der Festlegung von Gruppen nach langsam-, mittel- und schnellwachsenden Tumoren konnte nur willkürlich erfolgen. Bei diesem Patientenkollektiv wurde die Grenze für langsam wachsend bis 1,5mm/Jahr (n=9, Abb. 4) gesetzt, mittleres Wachstum galt zwischen 1,5-3mm/Jahr (n=11) und schnelles Wachstum >3mm/Jahr (n=8, Abb. 5). Die Anzahl der Patienten in den einzelnen Wachstumsuntergruppen ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Unterteilung der Wachstumsgeschwindigkeit in Untergruppen

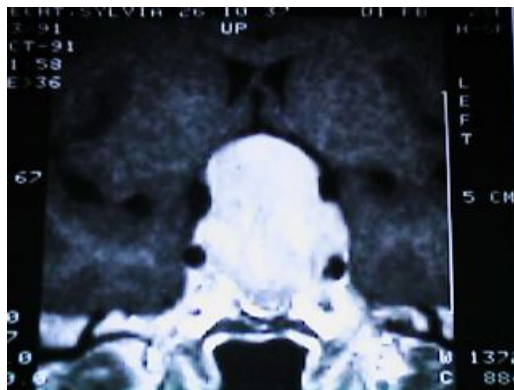
Wachstum in mm/Jahr	Patientenanzahl	Prozent
<1,5	9	35,7
1,5-2,9	11	39,3
≥3	8	28,6

Abb. 4:

Fall 1: Postoperative MR-Kontrollen zur Feststellung eines Tumorrestes

Wachstum 1mm/Jahr

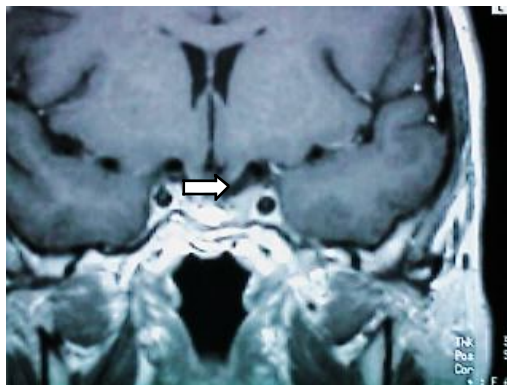
Beispiel für langsames Tumorwachstum



Prae-op: 17.10.91
 $\varnothing$: 34, $\perp$: 32, $\leftrightarrow$: 32



4 Monate post-op: 03.03.92
 $\varnothing$: 10, $\perp$: ?, $\leftrightarrow$: 3



16 Monate post-op: 10.02.93

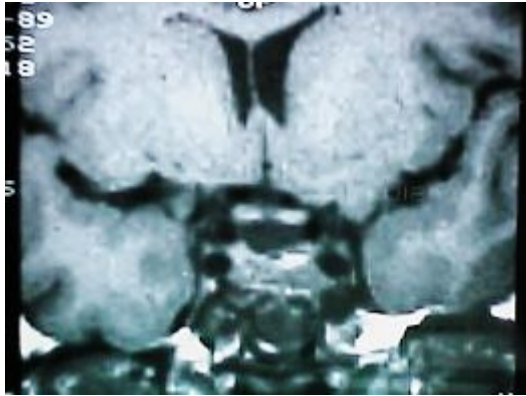


6 Jahre post-op: 25.01.97,
 $\varnothing$: 14, $\perp$: 14, $\leftrightarrow$: 8
 $\leftrightarrow$ 5mm/57Monaten: 1mm/Jahr

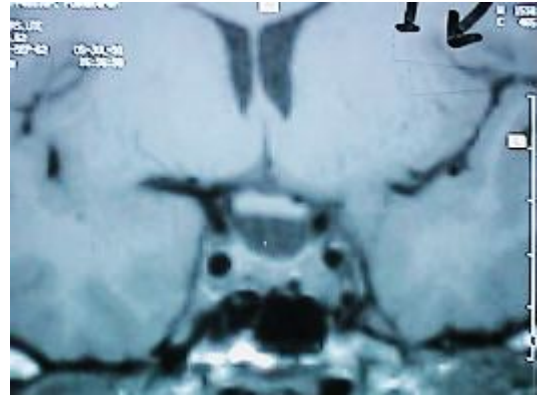
Abb. 5:

Fall 16: Wachstum 6.7 mm/Jahr

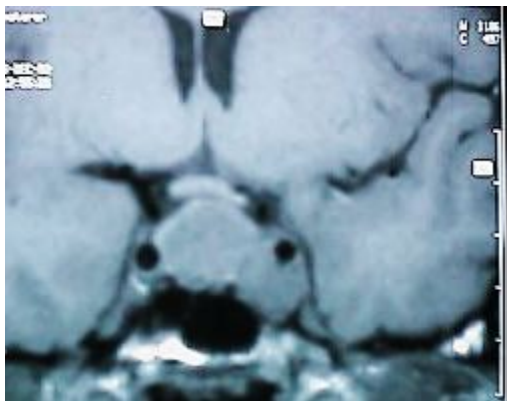
Beispiel für schnelles Tumorwachstum > 3mm/Jahr



2 Monate post -1- Op: 14.08.89



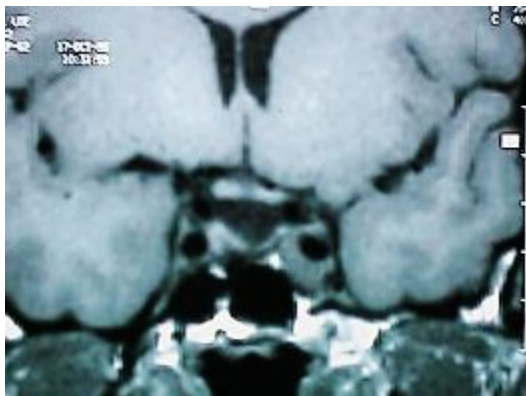
2 Jahre post-1-Op: 05.07.91
Ø: 22, ⊥: 10, ↔: 18, *⊥: 6



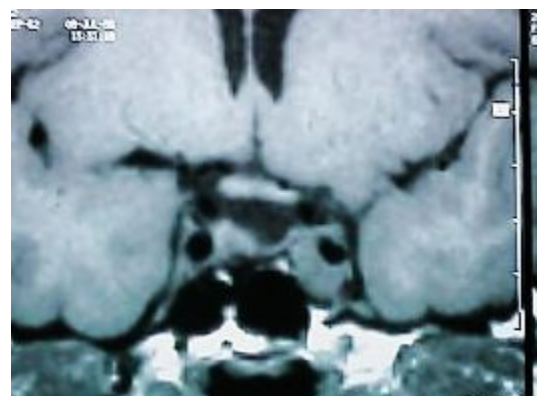
3 Jahre post-1-Op, prae-2-op: 25.12.92
Ø: 29, ⊥: 17, ↔: 25, *⊥: 16
7mm/18mo: 4,7; *⊥: 10mm/18mo: 6,7



4 Monate post-2-op: 31.01.94



2 Jahre post-2-Op: 17.10.95



3 Jahre post-2-Op: 08.07.96
erneutes Tumorrestwachstum

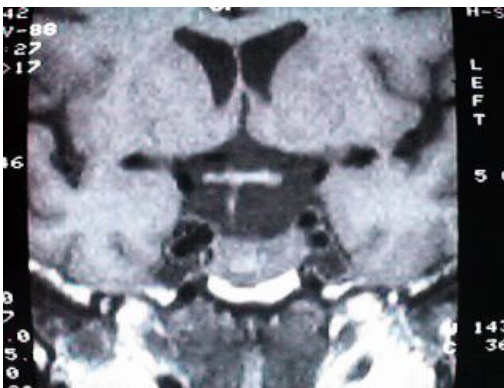
Abb.6:

Fall 22: Verdacht eines Tumorrestes (2)

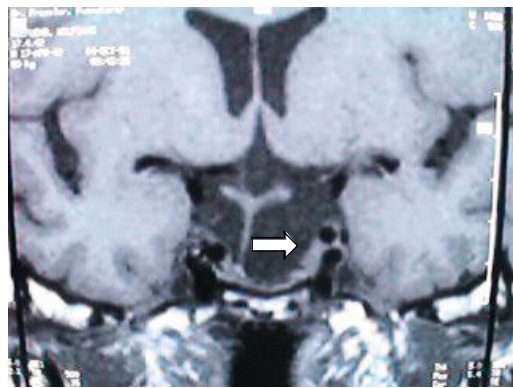
Größenzunahme (4) und spontanere Schrumpfung (5),
somit Verdacht eines langsamen Tumorwachstum nicht bestätigt



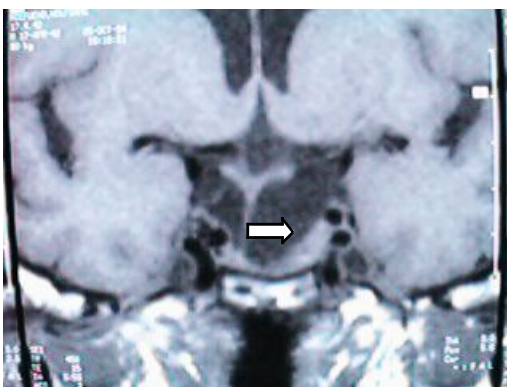
Prae-op: 16.09.88
Ø: 45, ⊥: 43, ↔: 31



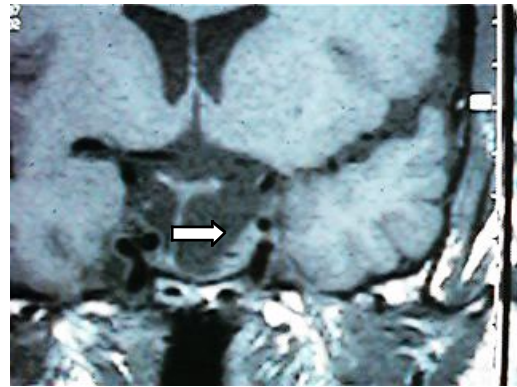
2 Monate post-op: 03.11.88 (2)



3 Jahre post-op: 04.10.91,
Verdacht eines Tumorrestes (3)



6 Jahre post-op: 25.20.94
Langsames Wachstum? (4)

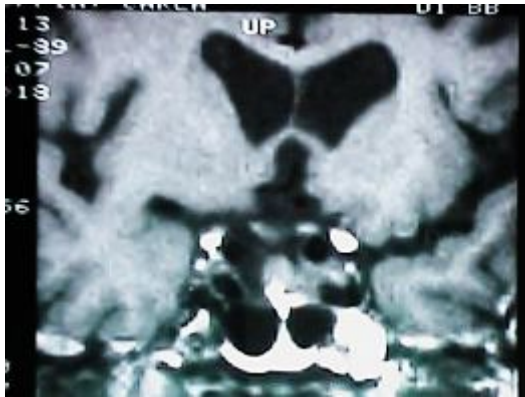


9 Jahre post-op: 03.11.97
kein Wachstum (5)

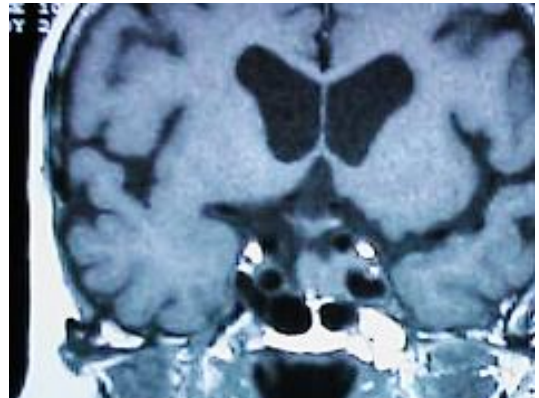
Abb. 7:

Fall 23: Tumorrest ?

Verdacht eines Tumorrestes nach 4 Jahren, durch fehlendes Wachstum innerhalb weiterer 5 Jahren nicht bestätigt



4 Jahre post-op: 10.07.89



9 Jahre post-op: 10.06.94

3.2.3. Notwendige Beobachtungszeiträume zur Feststellung von Tumorresten

Bei 27 von insgesamt 32 Patienten erfolgte postoperativ (5 prae-operativ) die Nachbeobachtung mittels MRT, bei 23 von ihnen wurde ein Tumorrest sicher durch Wachstum nachgewiesen. Als einen großen Tumorrest klassifizierten wir Reste mit einem Tumordurchmesser >20 mm. Insgesamt handelte es sich bei 7 von 9 Patienten um einen großen Tumorrest, der direkt auf dem ersten postoperativen MR nachgewiesen werden konnte. Dabei erfolgte die früheste Aufnahme einen Monat postoperativ und bei einem Patienten erst nach 4 Jahren. Kleine Tumorreste konnten anhand ihres Wachstums in 14 Fällen identifiziert werden, dies dauerte in 6 Fällen einige Monate (Fall 1: 15 Monate, s. Abb. 4 Seite 37, und Fall 27: 6 Monate). Bei vier Tumoren lagen erst nach 5-8 Jahren Kontrollaufnahmen vor. Die Zeitdauer zur Identifizierung von kleinen Tumorresten ist nur exemplarisch darzustellen und nicht weiter zu quantifizieren, da nicht jeder Patient direkt postoperativ MR-kontrolliert wurde. In 4 Fällen konnte ein Tumorrestverdacht durch fehlende Wachstumsaktivität über einen langen Kontrollzeitraum nicht bestätigt werden (Tab.12).

Tabelle 12: Zeitliche Feststellung von Tumorresten

Patienten-Nr.	OP- Datum	Großer Rest 1. MR-Bild	Kleiner Rest- durch Wachstum bestätigt	Tumorrest- Verdacht nicht durch Wachstum bestätigt	Tumor- durchmesser in mm
1:	30.10.91		15 Monate		10
2.	21.11.91	7 Monate			39
3.	28.03.94	12 Monate			27
5.	21.05.91	4 Jahre			30
6.	08.02.84		4 Jahre		20
7.	17.03.89		5 Jahre		13
8:	17.11.88		6 Jahre		10
9.	28.04.92		5 Monate		16
10.	28.02.92	2 Monate			25
11.	24.03.92		14 Monate		11
12.	04.08.94	2 Jahre			24
13.	11.04.88		3 Jahre		16
14	04.10.88			8 Jahre	
16:	20.06.89	2 Jahre			22
17.	20.12.93	7 Monate			30
18.	05.02.90		10 Monate		20
19:	11.02.80	8 Jahre			23
20.	03.07.87		5 Jahre		15
22:	21.09.88			6 Jahre	
23:	26.07.85			9 Jahre	
24:	18.01.85		8 Jahre		19
25.	19.05.94	3 Monate			29
27.	04.11.93		6 Monate		13
28:	13.11.89			7 Jahre	
29.	30.09.91		12 Monate		18
30:	06.12.84		7 Jahre		17
31:	05.02.92		10 Monate		20

Kleine Tumorreste (Durchmesser bis einschließlich 20mm) wuchsen im Mittel langsamer (n= 14, 1,84mm/Jahr, SD1,1) als große Tumorreste (n=9, 3,76mm/Jahr, SD 2,7). Dieser Unterschied war statistisch signifikant: Mann-Whitney-U: 2tailed-p: 0,00).

3.2.4. Korrelationen der klinischen Wachstumsrate mit erhobenen Daten

Die Wachstumsraten korrelierten nicht mit dem Geschlecht der Patienten, dem Alter bei der 1.OP, dem prae-operativ gemessenen Tumordurchmesser und der Immunhistologie (unterteilt in Nullzell-, onkozytäre, gonadotrope und α -Subunits-Adenome). Nullzelladenome wuchsen im Mittel etwas schneller (n=15, 3,4 mm/Jahr, SD 2,5) als gonadotrope Adenome (n=10, 2,1mm/Jahr, SD 1,1). Es ergab sich eine inverse Korrelation zu dem Beobachtungszeitraum, d.h. schnellwachsende Tumoren wurden über einen kürzeren Zeitraum beobachtet als langsam wachsende (nach Spearman, sig.: 0,002).

Eine Korrelation ergab sich auch zwischen der Wachstumsrate und der Invasivität (unterteilt in invasiv und nicht-invasiv) nach Mann-Whitney-U: 2-tailed p: 0,038. Eine Zusammenfassung dieser Ergebnisse zeigt Tabelle 13.

Tabelle 13: Korrelationen von Wachstum in mm/Jahr mit der wachsenden Tumoren (n=28) mit klinischen Daten (sig. p= 0,05)

	Geschlecht	Alter 1.OP	Durch- messer	Histologie	Beobachtungs- zeit	Invasivität
Wachstum mm/Jahr	keine (p= 0,6574)	keine (p= 0,769)	keine (p= 0,213)	keine	ja (p= 0,002)	ja (p= 0,038)

3.3. Histologie und Immunhistologie

Bei 32 Patienten wurden insgesamt 45 Tumorpräparate mit Hilfe von Antikörpern gegen die wichtigsten Hypophysenhormone klassifiziert.

Die Unterteilung der NSA in weitere Untergruppen ergab 19 Nullzelladenome, 3 onkozytäre, 21 gonadotrope, 1 α -Subunit- Adenom und ein Adenom, das 10% Prolaktin exprierte, ohne den Plasma- Prolaktinspiegel der Patientin zu erhöhen. In der nachfolgenden Operation wurde kein Prolaktiningehalt mehr immunhistologisch nachgewiesen.

Adenome mit mehr als 10% gonadotropin- positiven (FSH und/oder LH) Zellen und Adenome in diesem Grenzbereich mit chromophoben Zytoplasma wurden als gonadotrope Adenome bezeichnet.

Onkozytäre Adenome zeigten in epon- eingebetteten Semi- Dünnschnitten eine typische feinwolkige Zytoplasmastruktur, die für eine hohe Anzahl von Mitochondrien spricht.

Beim α -Subunit-Adenom betrug die α -Subunit-Expression ca. 25% der Zellen (von schwach bis stark) mit einer nur sehr geringfügigen LH-Expression.

Bei insgesamt 3 Patienten, die mehr als einmal operiert wurden, wurde zu den verschiedenen Operationszeitpunkten eine unterschiedliche Expression der hormonellen Antikörper gefunden. Dies

hatte eine Änderung in der Klassifikation der Untergruppen zur Folge: Fall 14 Nullzell / Gonadotrop, Fall 16 Prolaktin exprimierend / Nullzell, Fall 17 Gonadotrop / onkozytär.

Tabelle 14 zeigt eine Zusammenfassung der histologischen Untergruppen der NSA bei allen untersuchten Biopsien.

Tabelle 14: Immunhistologische Einteilung aller untersuchten Biopsien (n= 45)

	Anzahl	Prozent
Nullzelladenom	19	42,2
Onkozytäres Adenom	3	6,6
Gonadotropes Adenom	21	46,6
α -Subunit Adenom	1	2,2
PRL- Expression (klinisch negativ)	1	2,2

Die immunhistologische Untersuchung mit den Antikörpern gegen die wichtigsten Hormone der Hypophyse ergab : STH- Expression: 0, Prolaktin: 2, ACTH: 1; TSH: 6, FSH: 25, LH :27.

11 Tumoren exprimierten ein Hormon, 19 zwei und 4 drei Hormone.

Die Betrachtung der jeweils aktuellsten Operation, bei der Tumormaterial zur immunhistologischen Untersuchung zur Verfügung stand, ergab die folgende Klassifikation der 32 Patienten des Gesamtkollektivs 15 Nullzelladenome, 13 gonadotrope Adenome, 3 onkozytäre und 1 α -Subunit-Adenom (Tab. 15).

Tabelle 15 : Immunhistologische Einteilung bei der letzten OP (n=32)

	Anzahl	Prozent
Nullzelladenom	15	46,9
Onkozytäres Adenom	3	9,4
Gonadotropes Adenom	13	40,6
α -Subunit Adenom	1	3,1

Die immunhistologische Untersuchung mit den Antikörpern gegen die wichtigsten Hormone der Hypophyse ergab : STH- Expression:0, Prolaktin: 1, ACTH: 1; TSH: 5, FSH: 18, LH :19.

7 Tumoren exprimierten ein Hormon, 15 zwei und 3 Tumoren drei Hormone.

3.4. Tumormarker

3.4.1. MIB-1

Bei insgesamt 32 Patienten wurden 45 Tumorpräparate untersucht. Diese Anzahl beruht auf der Tatsache, daß einzelne Patienten mehr als einmal operiert wurden und der Versuch unternommen wurde, Tumormaterial aus sämtlichen Operationen zu untersuchen. Im Gesamtergebnis erscheinen dadurch immer 45 Tumorpräparate. In der statistischen Auswertung wird jedem Patienten nur ein Wert zugeordnet, wobei 2 Gruppen unterschieden werden: Einmal das Gesamtkollektiv (n=32), in das Patienten mit fraglichen Tumorresten ohne nachweisbares Tumorwachstum (4 Patienten) eingeschlossen sind. Und eine zweite Gruppe (n=28), bei der jedem Patienten eine Tumorwachstumsgeschwindigkeit zugeordnet ist. Hierbei wird bei den mehrfachoperierten Patienten jeweils nur der Wert der aktuellsten Operation berücksichtigt.

Die Labelling Indizes für MIB1 und PCNA zeigten bei demselben Patienten bei Mehrfachoperationen in den einzelnen Operationen unterschiedliche Ergebnisse (s. Anhangsliste).

Aufgrund dieser Tatsache wurde die statistische Auswertung erweitert: Bei mehrfachoperierten Patienten wurde ebenfalls der aus allen Operationen jeweils höchste Wert berücksichtigt (= MIB1-Höchstwerte/PCNA-Höchstwerte).

Im Vergleich der einzelnen Tumorpräparate desselben Patienten aus unterschiedlichen Operationen zeigte sich in 7 Fällen keine Übereinstimmung des MIB1- Index: bezüglich der Positivität.

Bei diesem Ergebnis fiel auf, daß nur in 2 Fällen das Rezidiv einen höheren MIB1- Labelling Index besaß als der Primärtumor. In drei Fällen erwiesen die Tumorpräparate aus auswärtigen Krankenhäusern einen hohen MIB1- Labelling Index auf, während das Tumorrezidiv, nachoperiert im UKE, negativ für MIB1 war.

42,2% der 45 Adenome zeigten eine eindeutig positive Färbung der Zellkerne (0,007-4,59 pro Gesichtsfeld, im Mittel 0.93), Abb. 8.

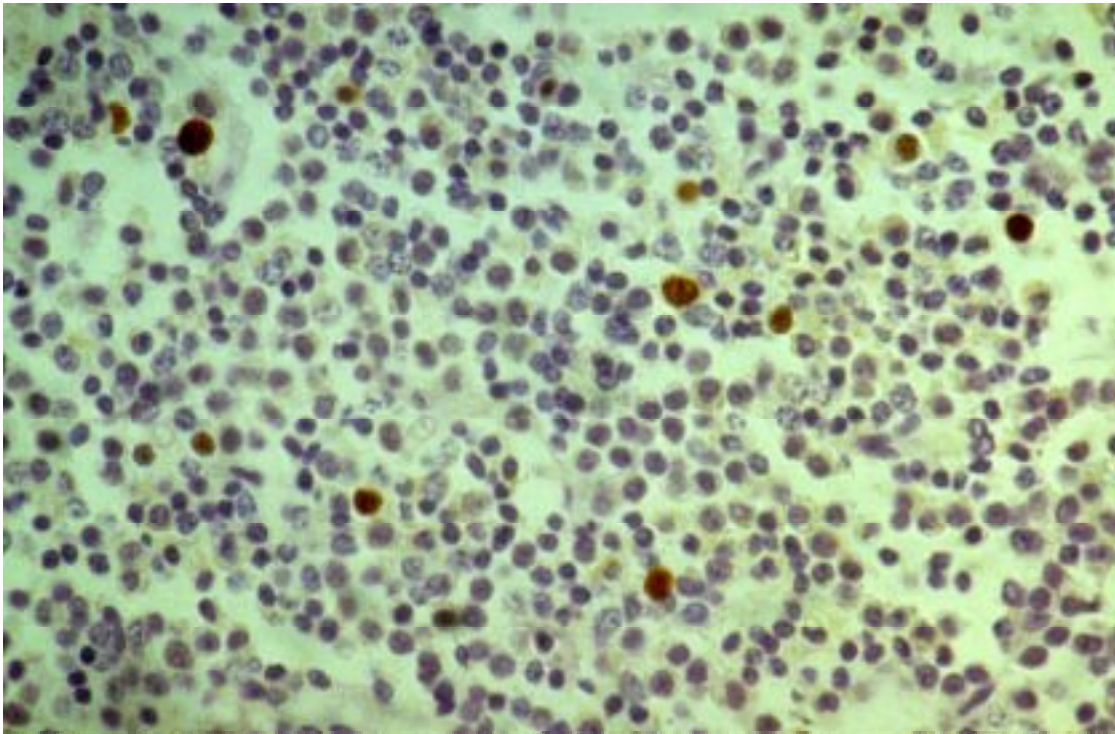
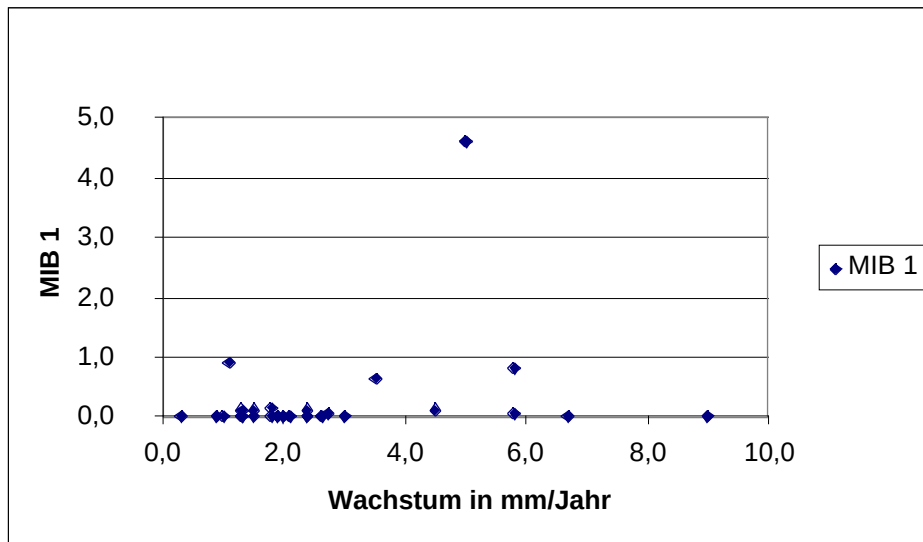


Abb. 8:
Nullzelladenom (N701/91), Fall 2
Positive Kernfärbung für MIB 1,
im gesamtem Tumorpräparat zeigten sich 2,98 positive Kerne pro HPF
ABC-Methode, Hintergrundfärbung Hämatoxylin
Vergrößerung 40*10, Endvergrößerung 440 fach

3.4.1.1. MIB 1 und die klinische Wachstumsgeschwindigkeit

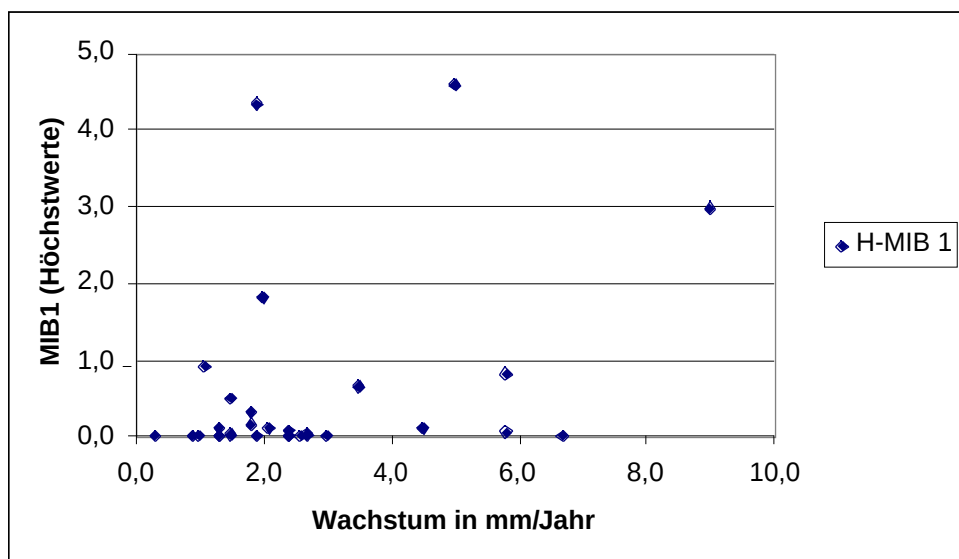
Die Betrachtung der MIB1-Werte ohne die nichtgewachsenen Tumorreste (n=28) ergibt keine Korrelation mit der Wachstumsgeschwindigkeit (Abb.9).

Abb. 9: Korrelation von MIB1 und Wachstum in mm/Jahr (n=28) mit MIB 1-Expression aus der aktuellsten Operation



Unter Berücksichtigung der MIB1- Höchstwerte verändert sich die Verteilung etwas (Abb. 10), es ergibt sich nach dem Spearman- Test jedoch ebenfalls keine signifikante Korrelation von Wachstumsgeschwindigkeit und MIB1-Expression.

Abb.10: Korrelation von Wachstumsgeschwindigkeit und MIB1 (mit dem bei Mehrfachoperation höchsten MIB1- Labelling- Index) für n=28



Unter Einschluß der nichtgewachsenen Tumorreste bei n=32 ergab sich ebenfalls keine Korrelation von Wachstumsgeschwindigkeit und MIB1-Werten bzgl. der letzten OP, jedoch korrelierten die Höchstwerte aus allen Operationen mit der Wachstumsgeschwindigkeit.

3.4.1.2. MIB1 und Wachstumsgruppen

Bei dem Vergleich der MIB1- Mittelwerte aus der aktuellsten Operation hinsichtlich der unterschiedlichen Gruppen von Wachstumsgeschwindigkeit wiesen die NSA mit einem Wachstum >3mm/Jahr die höchsten MIB1- Mittelwerte auf (Tab. 16). Die MIB1- Mittelwerte der Gruppe von moderat wachsenden NSA (1,5-2,9 mm/Jahr) lagen jedoch unterhalb der MIB1- Mittelwerte von langsam wachsenden NSA (<1,5 mm/Jahr). Betrachtet man die MIB1- Mittelwerte unter Berücksichtigung des jeweils höchsten MIB1- Wertes bei mehrfachoperierten Patienten, so nehmen diese mit steigender Wachstumsgruppe zu.

Tabelle 16: MIB1-Mittelwerte im Vergleich zu 3 Wachstumsgruppen

Wachstums- geschwindigkeit mm/Jahr	MIB1-Mittelwerte/ aktuellste OP	SD	MIB1- Mittelwerte aus den Höchstwerten	SD
<1,5 (n=9)	0.12	0.29	0.17	0.32
1,5-2,9 (n=11)	0.02	0.05	0.62	1.34
≥3 (n=8)	0.77	1.57	1.14	1.71

Die MIB 1- Mittelwerte der langsam wachsenden NSA (<1,5mm/Jahr, n=9) lagen etwas unter den der schneller wachsenden NSA (>1,5mm/Jahr, n=19), siehe Tabelle 17. Ein statistisch signifikanter Unterschied ergab sich jedoch weder bei dem Vergleich dieser zwei Gruppen mit den MIB1- Mittelwerten der aktuellsten Operation noch bei den MIB1- Mittelwerten der Höchstwerte. (Mann-Whitney-U, sig. 0,98/ 0,3).

Tabelle 17: MIB1-Mittelwerte im Vergleich zu zwei Wachstumsgruppen

Wachstums- geschwindigkeit mm/Jahr	MIB1-Mittelwerte/ aktuellste OP	SD	MIB1- Mittelwerte aus den Höchstwerten	SD
<1,5 (n=9)	0.12	0.29	0.17	0.32
>1,5 (n=19)	0.34	1.05	0.84	1.49

3.4.1.3. MIB 1 im Vergleich mit anderen erhobenen Daten

Höhere MIB1-Werte korrelierten mit einem höheren Alter bei der 1.OP. (sig. 0.032, Spearman-Korrelation; n=28, sig. 0.039, Spearman- Korrelation; n=32). Diese Korrelation bestand unter Berücksichtigung der MIB1-Höchstwerte nicht.

Eine Korrelation bestand zwischen p53 (negativ/positiv) und MIB1 (Mann- Whitney U, 2-tailed p:0.0002), d.h. p53 positive NSA haben im Mittel signifikant höhere MIB1-Werte als p53-negative.

Diese Korrelation konnte auch bei den MIB1-Höchstwerten und p53 nachvollzogen werden (Mann-Whitney U, 2-tailed p: 0,0099).

Bei der Betrachtung der p53-positiven NSA ergab sich ein MIB1- Mittelwert von 1,411 mit einer SD von 1,803 (n=5) im Vergleich ergaben sich bei p53 negativen Mittelwerte von 0,022 mit einer SD von 0,043 (n=23). Die Mittelwerte der MIB1-Höchstwerte bei p53-positiven Adenomen lag bei 1,411 mit einer SD von 1,803 und bei den p53-negativen waren die Mittelwerte der MIB1-Höchstwerte 0,454 mit einer SD von 1,097.

Die MIB1-Werte korrelierten mit dem Proliferationsmarker PCNA (sig. 0.000, Spearman- Korrelation: n=28, sig. 0.000, Spearman- Korrelation: n=32).

Keine Korrelationen ergaben sich zwischen MIB1 und Geschlecht, Invasivität, prä-operativem Tumordurchmesser. In der Tabelle 18 werden die Korrelationsergebnisse von MIB1 und den klinischen Daten nochmals dargestellt.

Tabelle 18: Korrelation (mit Sig. p= 0.05) von MIB1 und klinischen Daten

	MIB1 (wachsende Tumoren, n=28)	MIB1 Gesamtkollektiv (n=32)	MIB1-H Höchstwerte (wachsende Tumoren, n=28)	= MIB1-H= Höchstwerte Gesamtkollektiv (n=32)
Wachstum	- p= 0.362	- p= 0.093	- p=0.226	+ p= 0.024
Invasivität	- p= 0.6121	- p= 0.684	- p= 0.3266	-p= 0.398
PCNA	+ p= 0.000	+ p= 0.000	+ p= 0.021	+ p= 0.006
p53	+ p= 0.002	+ p=0.00	+ p=0.0099	+ p=0.004
Alter 1.OP	+ p= 0.032	+ p=0.039	- p= 0.687	- p= 0.645
Geschlecht	- p= 0.4954	- p= 0.399	- p= 0.2081	- p= 0.147
Durchmesser	- p=0.056	- p= 0.111	- p=0.294	- p= 0.138

3.4.1.4. MIB 1 und Invasivität

Die MIB 1 -Mittelwerte der nicht- invasiven NSA (n=8) und der invasiven NSA (n=19) betrugen im Vergleich 0,03 (SD 0,057) zu 0,144 (SD 0,291). Nach dem Mann- Whitney- Test ergibt sich keine Korrelation (2- tailed p: 0,61).

Unter Berücksichtigung der Höchstwerte ergeben sich Mittelwerte von 0,572 (SD 1,52) bei den nicht-invasiven und 0,439 (SD 0,771) bei den invasiven. Hierbei besteht ebenfalls nach Mann- Whitney-U- Test keine signifikante Korrelation (2-tailed p: 0,32).

Tabelle 19 zeigt eine Zusammenstellung der MIB 1- Mittelwerte mit einer weiteren Unterteilung der Invasivität in invasiv und stark invasiv.

Tabelle 19: Vergleich von MIB1-Werten und der der Invasivität

Invasivität	nicht- invasiv (n=8)	invasiv (n=15)	stark invasiv (n=4)
Mittelwerte von MIB1	0,03	0,126	0,212
Standardabweichung	0,057	0,273	0,393
Mittelwerte der Höchstwerte von MIB 1	0,571	0,301	0,975
Standardabweichung	1,52	0,498	1,398

3.4.1.5. MIB 1 im Vergleich bei Mehrfachoperierten versus Einfachoperierte

19 Patienten waren zum Zeitpunkt der Studie bereits mehr als einmal operiert. Der mittlere MIB 1-Index betrug bei ihnen 0,302 (SD 1,055), die Höchstwerte waren im Mittel 0,825 mit einer SD 1,491.

9 Patienten, die nur einmal operiert wurden, wiesen einen Mittelwert von 0,204 (SD 0,335) auf. Unter dem Gesichtspunkt der Einfach –oder Mehrfachoperation ergab sich nach Mann-Whitney kein statistisch signifikanter Unterschied.

Die Gruppe der postoperativ nichtgewachsenen Tumoren betrug 4 Patienten

(= keine Rezidive) die man mit 23 postoperativ kontrollierten Tumorwachstum (=Rezidive) vergleichen kann 0,0 (SD 0,0) zu 0,25 (SD 0,96); MIB1-H: 0,0 (SD 0,0) zu 0,69 (SD 1,38). Für einen statistischen Vergleich ist die Gruppe der Nicht-Rezidive mit einer Anzahl von 4 Patienten zu klein.

3.4.1.6. MIB 1 und Mehrfachoperationen – Vergleich des MIB1-Index zu unterschiedlichen Operationszeitpunkten bei demselben Patienten

Bei 11 Patienten von 19 (nur die Gruppe der gewachsenen Tumoren), die mehr als einmal operiert wurden, stand von mindestens 2 Operationen Tumormaterial zur immunhistologischen Untersuchung zur Verfügung. Wie schon eingangs erwähnt, waren zum Teil die MIB1-Indeces bei der Nachoperation negativ. Dies spiegelt sich auch in der Berechnung der Mittelwerte wider: 0,01 (SD 0,027) bei der aktuellsten Operation versus 0,749 (SD 1,477) bei der Voroperation.

3.4.1.7. MIB 1 und immunhistologische Untergruppen

Bei dem Vergleich der MIB1- Mittelwerten wurde untersucht, ob die einzelnen immunhistologischen Untergruppen (Nullzell-, onkozytäres, gonadotropes und Subunit-Adenom) ein unterschiedliches Verhalten zeigen. Die beiden Gruppen der onkozytären Adenome (n=2) und des Subunit-Adenoms (n=1) wurden aus der statistischen Auswertung herausgenommen, da sie zu klein sind für einen direkten Vergleich.

Wie aus der Tabelle 20 ersichtlich ist, unterscheiden sich Nullzelladenomen und gonadotropen Adenomen in der MIB 1- Expression nur geringfügig. Nach Mann-Whitney-U ergibt sich keine signifikante Korrelation (2-tailed-p: 0,93/0,26).

Tabelle 20: Mittelwerte des MIB1-Labeling- Index und der histologischen Untergruppen

	Nullzelladenom (n=15)	Gonadotropes Adenom (n=10)
MIB1		
Mittelwert	0,12	0,57
Standardabweichung	0,25	1,44
MIB1-Höchstwerte		
Mittelwert	0,63	0,8
Standardabweichung	1,28	1,45

3.4.2. PCNA

Bezüglich des Proliferationsmarkers PCNA wiesen 57,8% der insgesamt 45 Biopsien eine positive Kernfärbung auf (0,013-7,136 , Mittelwert : 1,714), siehe Abb. 11.

In 7 von 13 Fällen ergab die Untersuchung des Tumormaterials zu verschiedenen Operationszeitpunkten bei demselben Patienten unterschiedliche Ergebnisse (s. Anhangsliste).

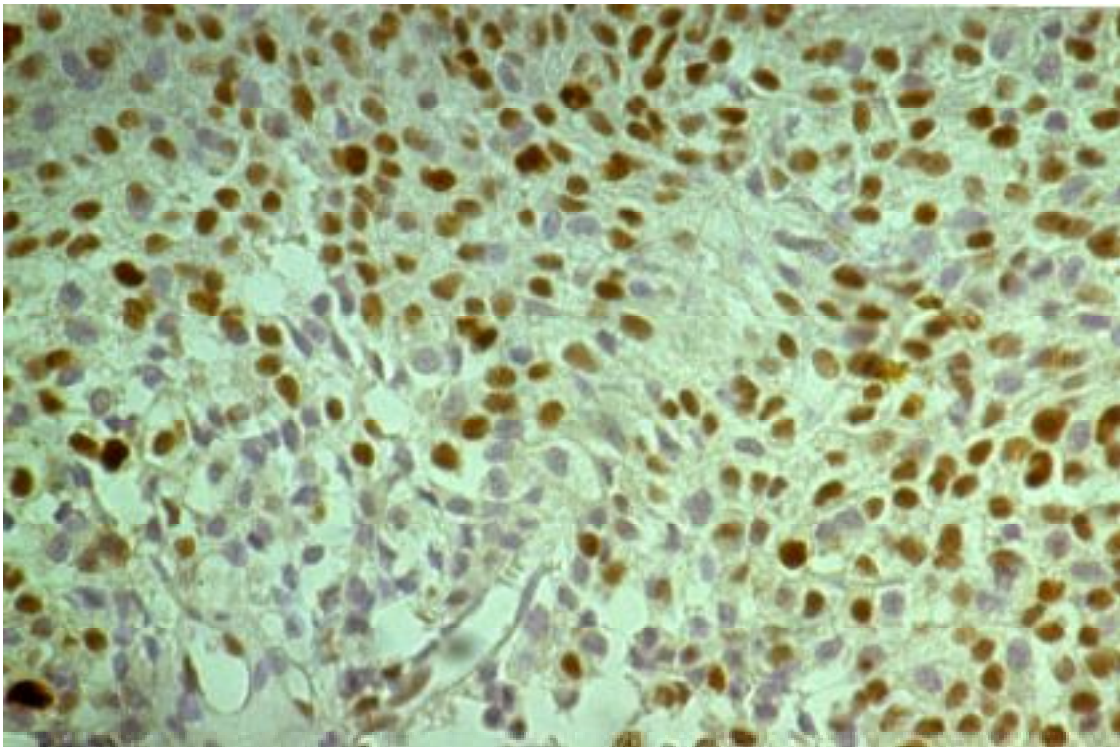


Abb. 11

Nullzelladenom (N 701/91), Fall 2

PCNA positive Zellkernfärbung

Im gesamten Tumorpräparat zeigten sich 7,316 positive Kerne pro HPF

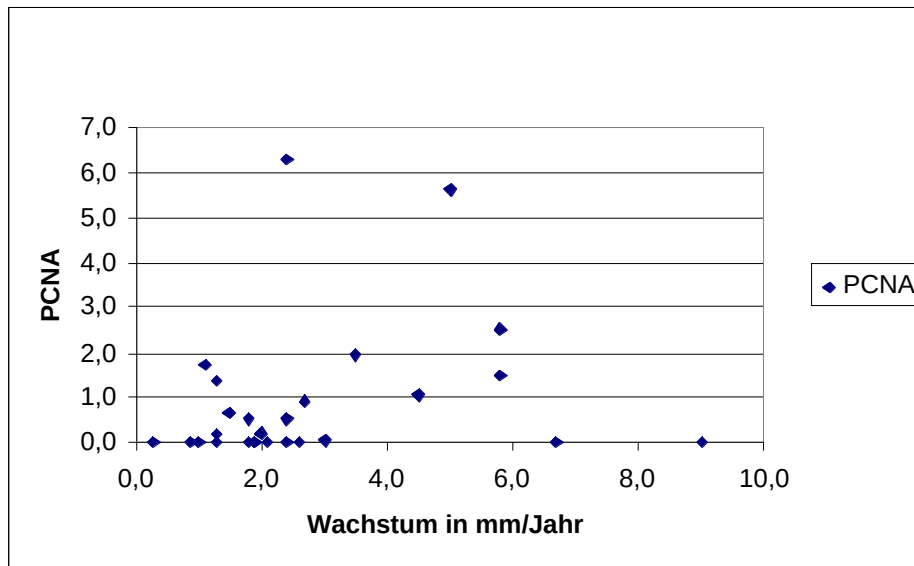
ABC-Methode, Hintergrundsfärbung: Hämatoxylin

Vergrößerung 440 fach

3.4.2.1. PCNA und die klinische Wachstumsgeschwindigkeit

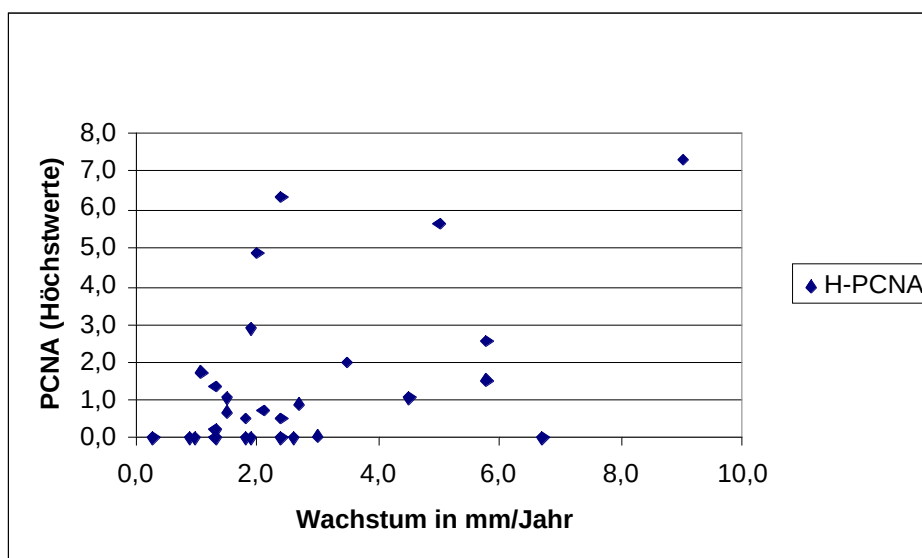
Der PCNA- Labelling- Index der Tumorpräparate aus der aktuellsten OP korrelierte nicht mit der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren in vivo (Abb. 12).

Abb. 12: Korrelation von Wachstumsgeschwindigkeit und PCNA- Labelling- Index der wachsenden Gruppe (n=28)



Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß auch hier Tumoren bei der letzten Operation negativ und bei der Voroperation jedoch positiv für PCNA waren, wurde der höchste PCNA- Labelling- Index mit der Wachstumsgeschwindigkeit korreliert. Hierbei ergab sich nach Spearman- Correlation- Coefficient eine signifikante Korrelation: sig.: 0,037 (Abb. 13).

Abb. 13: Korrelation von Wachstumsgeschwindigkeit und PCNA- Labelling- Index unter Einschluß des höchsten PCNA- Wertes bei Mehrfachoperationen (n=28)



Die Betrachtung des Gesamtkollektivs (unter Einschluß von nichtgewachsenen Tumorresten, n=32) ergibt ebenfalls eine signifikante Korrelation zwischen der Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren und dem PCNA- Labelling- Index, sowohl bei den PCNA-Werten aus der aktuellsten Operation als auch bei den PCNA- Höchstwerten.

3.4.2.2. PCNA und Wachstumsgruppen

Die PCNA- Mittelwerte steigen im Vergleich der 3 Wachstumsgruppen mit zunehmender Wachstumsgeschwindigkeit an (Tab. 21). Unter Berücksichtigung der PCNA-Höchstwerte bei mehrfachoperierten Patienten zeigte sich diese Tendenz der PCNA-Mittelwerte etwas eindeutiger als nur bei der Bewertung der PCNA- Mittelwerte aus der aktuellsten Operation.

Tabelle 21: PCNA-Mittelwerte im Vergleich zu 3 Wachstumsgruppen

Wachstums- geschwindigkeit mm/Jahr	PCNA Mittelwerte/ letzte OP	SD	PCNA-Mittelwerte der Höchstwerte	SD
<1,5 (n=9)	0.51	0.65	0.56	0.68
1,5-2,9 (n=11)	0.77	1.86	1.52	2.12
≥3 (n=8)	1.59	1.89	2.51	2.63

Bei der Unterteilung in nur zwei Wachstumsgruppen fielen die PCNA- Mittelwerte der schneller wachsenden NSA (>1,5mm/Jahr) deutlich höher aus als die der langsam wachsenden NSA (<1,5mm/Jahr, n=9). Ein statistisch signifikanter Unterschied ergab jedoch weder der Vergleich dieser 2 Gruppen und den PCNA- Mittelwerten der aktuellsten Operation noch der PCNA- Mittelwerte der Höchstwerte nicht (Mann-Whitney-U, sig. 0,86/ 0,2). Eine Übersicht über die Verteilung der PCNA- Mittelwerte nach diesem Gesichtspunkt zeigt Tabelle 22.

Tabelle 22: PCNA –Mittelwerte im Vergleich zu zwei Wachstumsgruppen

Wachstums- geschwindigkeit mm/Jahr	PCNA- Mittelwerte/ aktuellste OP	SD	PCNA- Mittelwerte aus den Höchstwerten	SD
<1,5 (n=9)	0.51	0.65	0.56	0.68
>1,5 (n=19)	1.12	1.87	1.94	2.37

3.4.2.3. PCNA im Vergleich mit anderen erhobenen Daten

Der statistische Vergleich des PCNA- Labelling- Index mit klinischen Daten ergab keine Korrelation bezüglich des prae-operativen Tumordurchmessers, des Geschlechts der Patienten und der Invasivität (unterteilt in invasiv und nicht- invasiv) der Tumore.

Die PCNA- Werte der aktuellsten Operation korrelierten mit dem Alter des Patienten bei der 1. Operation (Spearman, sig. 0.01). Diese Korrelation konnte jedoch bei den PCNA- Höchstwerte nicht nachvollzogen werden (Spearman, sig. 0.207).

Nach Mann- Whitney-U bestand eine Korrelation zwischen PCNA und dem Tumormarker p53 (2-tailed p 0.0027). Die PCNA- Mittelwerte der p53- positiven NSA lagen signifikant höher als die der p53- negativen NSA. Die p53-positiven NSA hatten einen PCNA- Mittelwert, ebenso wie der Höchstwert, von 2,442 (SD 1,796). Die p53-negativen NSA hatten einen Mittelwert von 0,594 (SD 1,374) und einen Mittelwert der Höchstwerte von 1,288 (SD 2,11). In der Tabelle 23 ist eine Übersicht der Ergebnisse von PCNA und den klinischen Daten zusammengefaßt.

Tabelle 23: Korrelation (mit Signifikanz $p = 0.05$) von PCNA und klinischen Daten

	PCNA (wachsende Tumoren, n=28)	PCNA Gesamtkollektiv n=32	PCNA-H Höchstwerte (wachsende Tumoren, n=28)	PCNA-H Höchstwerte Gesamtkollektiv n=32
Wachstum	- $p = 0.198$	- $p = 0.096$	+ $p = 0.037$	+ $p = 0.007$
Invasivität	- $p = 0.0991$	- $p = 0.219$	- $p = 0.1787$	- $p = 0.203$
Alter 1.OP	+ $p = 0.001$	+ $p = 0.001$	- $p = 0.160$	- $p = 0.207$
Geschlecht	- $p = 0.1957$	- $p = 0.238$	- $p = 0.0773$	- $p = 0.155$
Durchmesser	- $p = 0.129$	- $p = 0.155$	- $p = 0.076$	- $p = 0.146$
MIB1	+ $p = 0.000$	+ $p = 0.000$	+ $p = 0.006$	+ $p = 0.000$
P53	+ $p = 0.0027$	+ $p = 0.001$	+ $p = 0.0312$	+ $p = 0.016$

3.4.2.4. PCNA und Invasivität

Die Berechnung der PCNA- Mittelwerte ergab 0,796 (SD 2,226) bei nicht- invasiven (n=8) und 0,73 (SD 0,755) bei invasiven (n=19) NSA. Unter Einbeziehung der PCNA- Höchstwerte betragen die Mittelwerte: 1,153 (SD 2,308) zu 1,419 (SD 1,839 /nicht- invasiv zu invasiv). Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Invasivität und der PCNA- Expression bestand in beiden Fällen nicht (nach dem Mann- Whitney- Test).

Tabelle 24 zeigt eine Zusammenfassung der PCNA-Mittelwerte nach einer weiteren Unterteilung der Invasivität in ihrer Ausprägung.

Tabelle 24: Vergleich der PCNA- Mittelwerte nach der weiteren Differenzierung der Invasivität in invasiv und stark invasiv.

Invasivität	nicht-invasiv (n=8)	invasiv (n=15)	stark invasiv (n=4)
Mittelwerte von PCNA	0,796	0,655	1,011
Standardabweichung	2,226	0,644	1,241
Mittelwerte der Höchstwerte von PCNA	1,153	1,041	2,840
Standardabweichung	2,308	1,215	3,169

3.4.2.5. PCNA im Vergleich bei Mehrfachoperierten versus Einfachoperierte

19 Patienten waren zum Zeitpunkt der Studie bereits mehr als einmal operiert. Der mittlere PCNA-Index betrug bei ihnen 0,902 mit einer SD von 1,835 (PCNA- Höchstwerte im Mittel 1,838 mit einer SD von 2,445). Der Mittelwert bei Patienten, die nur einmal operiert wurden, lag bei 0,971 mit einer SD von 0,091. Der Vergleich der PCNA- Werte von Patienten mit nur einer Operation mit den PCNA- Werten von Patienten mit mehr als einer Operation ergab nach Mann- Whitney–U keinen statistisch signifikanten Unterschied.

Die Gruppe der postoperativ nichtgewachsenen Tumoren betrug 4 Patienten

(= keine Rezidive) die man mit 23 postoperativ kontrollierten Tumorwachstum (=Rezidive) vergleichen könnte. 0,1(SD 0,18) zu 0,80 (SD 1,69);PCNA-H: 0,34 (SD 0,44) zu 1,49 (SD 2,26).

3.4.2.6. PCNA und Mehrfachoperationen – Vergleich des PCNA- Index zu unterschiedlichen Operationszeitpunkten bei demselben Patienten

Bei 11 von 19 Patienten, die mehr als einmal operiert wurden, stand von mindestens 2 Operationen Tumormaterial zur immunhistologischen Untersuchung zur Verfügung. Wie schon aus der Tabelle 22 ersichtlich, waren zum Teil die PCNA- Indizes bei der Nachoperation negativ. Dies spiegelt sich auch in der Berechnung der Mittelwerte wider: 0,269 (SD 0,349) bei der aktuellsten Operation versus 1,135 (SD 2,223) bei der Voroperation.

3.4.2.7. PCNA und immunhistologische Untergruppen

Vergleicht man die Mittelwerte des PCNA- Labelling Index aus der Gruppe der Nullzelladenome und gonadotropen Adenome, weisen die gonadotropen Adenomen einen deutlich höheren Mittelwert auf (Tab. 25). Eine statistisch signifikante Korrelation ergibt sich jedoch nicht (Mann-Whitney-U: PCNA 2-tailed-p: 0,41 ; H-PCNA 0,47).

Tabelle 25: Mittelwerte des PCNA- Labelling Index und der histologischen Untergruppen

	Nullzelladenome (n=14)	Gonadotrope Adenome (n=11)
PCNA- Mittelwert/ Standardabweichung	0,64 0,85	1,57 2,4
PCNA- Höchstwerte Mittelwert/ Standardabweichung	1,32 1,92	2,12 2,48

3.4.3. P53

7 der 45 (15,6 %) Tumorpräparate zeigten eine Zellkernmarkierung des Tumorsuppressorgens p53. Die Markierung reichte von einem einzelnen positiven Zellkern bis zu 13 positiven Zellkernen (Mittelwert 4,4), Abb. 14.

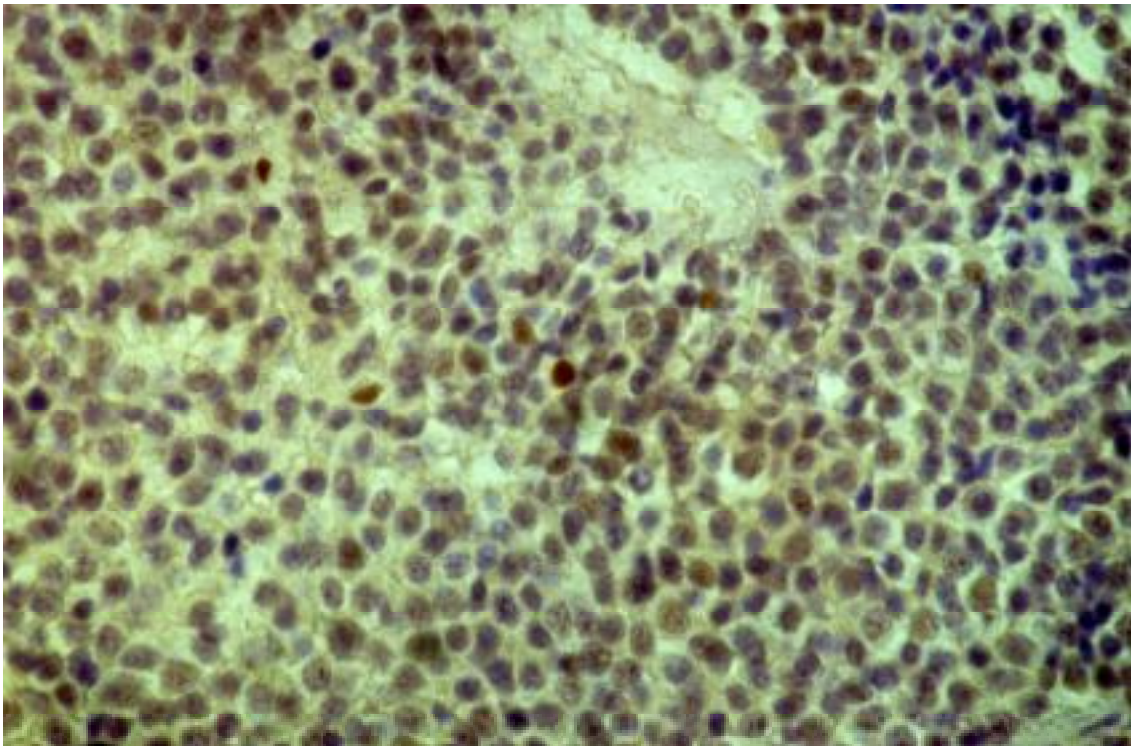


Abb. 14

FSH/LH-Adenom (gonadotropes Adenom) N 567/92, Fall 9

2 p53 positive Zellkerne

ABC-Methode, Hintergrundfärbung: Hämatoxylin

Vergrößerung 440 fach

3.4.3.1. P53 und Invasivität

Bezugnehmend auf die aktuellste Operation, bei der Tumormaterial untersucht werden konnte, wurde bei 5 von 32 Patienten (15,6%) p53 nachgewiesen. Vier der Tumoren wurden als invasiv klassifiziert (intraoperative Beurteilung und MRT). Für einen konnte zu diesem Zeitpunkt keine Invasivitäts-Aussage gemacht werden, er war in der nachfolgenden Operation sicher invasiv (Tab.26), wurde allerdings bei der statistischen Auswertung außen vorgelassen.

In dieser Studie waren 22 Tumoren invasiv und 9 Tumoren nicht-invasiv gewachsen. 18,8% der invasiven Tumoren waren p53 positiv. Berücksichtigt man die p53-Expression aus allen Operationen, so erhöht sich der Prozentsatz der p53 markierten invasiven Tumoren auf 27,3%.

Eine Übersicht über die p53- positiven Tumore und die Invasivität zeigt Tabelle 26.

Tabelle 26: p53 Expression zu verschiedenen OP- Zeitpunkten

Patienten-nummer	Wachstums-rate (mm/Jahr)	Invasivität	P53	Operation
2	9	++ s,p	-	21.12.93 UKE
		++ s,p	+	23.04.91 AK Altona
9	5	+s	kein Material	09.12.96 UKE
		nicht beurteilbar	+	28.04.92 AK Altona
18	1,8	+ c	-	02.02.97 UKE
		+ c	+	05.02.92 AK Altona
25	5,8	++ p	+	19.05.94 Wuppertal
26	3,5	+ c	+	04.02.97 UKE
30	1,3	+c	+	06.12.84 UKE
32	1,1	+ p	+	28.05.97 Bremerhaven

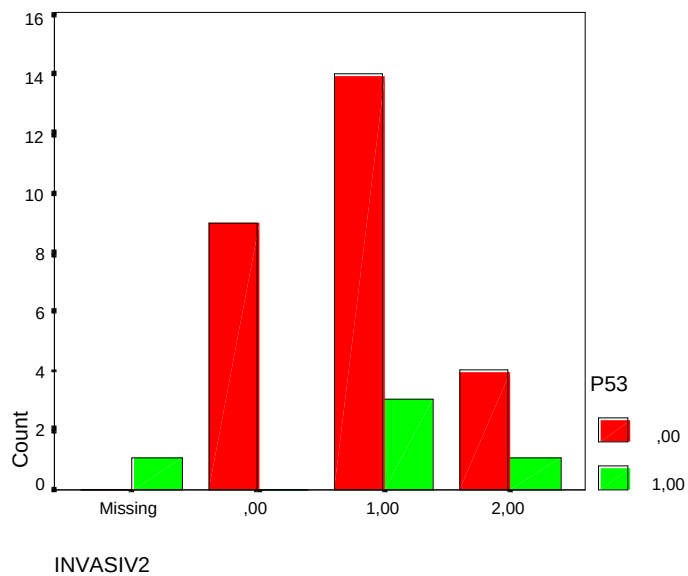
Zeichenerklärung: + = invasiv; ++ =stark invasiv

s = suprasellär , p = parasellär, c= caudal

Bei der weiteren Unterteilung der Invasivität nach 3 Invasivitätsgraden ergab folgendes Bild: Bei der aktuellsten Operation waren 9 nicht invasiv, 18 invasiv und 4 Adenome stark invasiv gewachsen.

Bei dieser Unterteilung in invasiv und stark invasiv waren 3 der 18 (16,7%) invasiven Tumoren und einer der 4 (25%) stark invasiven Tumoren p53- positiv (Abb. 15).

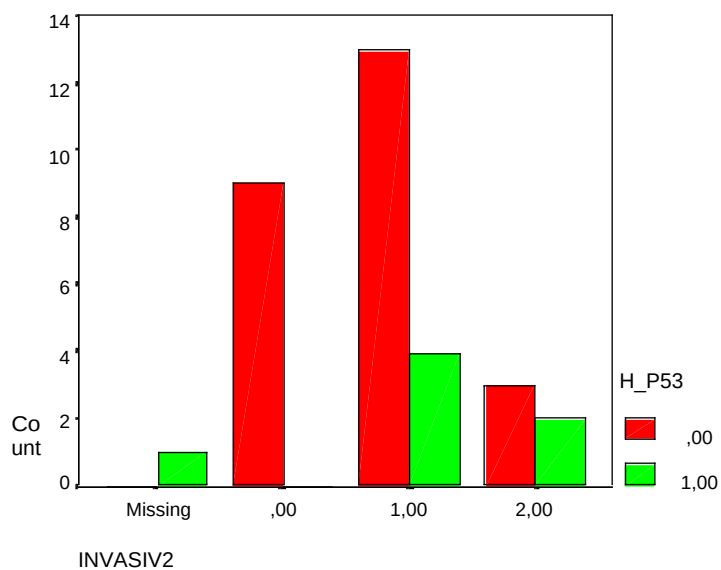
Abb. 15: p53 Positivität unterteilt durch die Invasivitätsausprägung



P53 0,00= negativ, 1,00= positiv; invasiv 0= negativ, invasiv 1,00= invasiv, Invasiv 2= stark invasiv

Bezieht man alle untersuchten Biopsien in diese Überlegung ein, ergibt sich, daß im Verlauf 4 der 18 invasiven (22,2%) und 2 der 4 stark- invasiven NSA eine p 53 Expression zeigten (50%), Abb. 16.

Abb. 16: p53 Expression aller Tumoren im Vergleich mit unterschiedlichen Invasivitätsausprägungen



P53 0,00= negativ, 1,00= positiv; invasiv 0= negativ, invasiv 1,00= invasiv, Invasiv 2= stark invasiv

3.4.3.2. P53 und die Wachstumsgeschwindigkeit, MIB 1 und PCNA

Es ergab sich keine positive Korrelation zwischen der klinischen Wachstumsrate der Adenome (gemessen in mm/Jahr) und der Expression von p53 (Mann-Whitney-U, 2-tailed p: 0,5887).

Die quantifizierbaren Proliferationsmarker MIB1 und PCNA korrelierten beide mit der p53-Expression; Mann-Whitney-U-Test: MIB1: 0.002 (2-tailed p); PCNA: 0.0027 (2-tailed p).

3.4.4. IGF1 (insulin-like growth factor)

38 von 45 (85%) Adenomen wiesen eine positive, zytoplasmatische Reaktion des Antikörpers IGF1 auf, Abb. 17.

Als Nebenbefund färbten sich bei zwei Mitanschnitten von normalen Hypophysengewebe neben den Adenomen ebenfalls für IGF1 an. 7 Adenome ließen sich nicht für IGF 1 anfärben.

Bei der weiteren Auswertung der positiven Adenome stellte sich bei 34 eine schwache und bei 4 eine moderate Reaktion dar (Auswertungsschema siehe Material und Methodik, Tabelle 2 und 3).

Zum Zeitpunkt der aktuellsten Operation (n=32) waren 27 (84,4%) positiv, davon zeigten 23 eine schwache und 4 eine moderate Reaktion.

Bei zwei Patienten ergab die Voroperation eine zur aktuellsten Operation unterschiedliche IGF 1 Färbereaktion (Tab.27).

Tabelle 27: Unterschiedliche Ergebnisse von IGF1 zu verschiedenen Operationszeitpunkten bei demselben Patienten

Patientennummer	Wachstumsrate mm/Jahr	IGF1	Operation
10	2	0	28.02.97 UKE
		1	28.09.92 UKE
		1	18.09.91 Bremen
20	1,9	0	13.02.96 UKE
		2	30.07.87 MHH

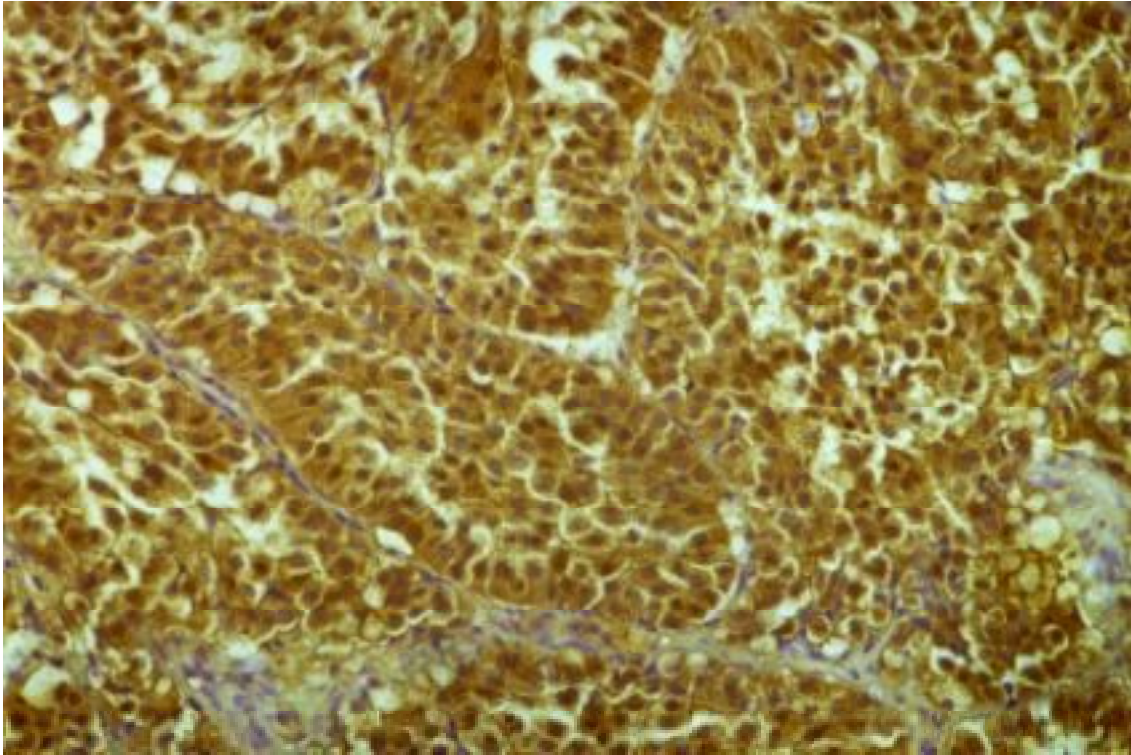


Abb. 17

FSH/LH -Zelladenom (gonadotropes Adenom) N 134/89, Fall 28

Schwache (30%) und moderate (70%) Zytoplasmafärbung für IGF 1

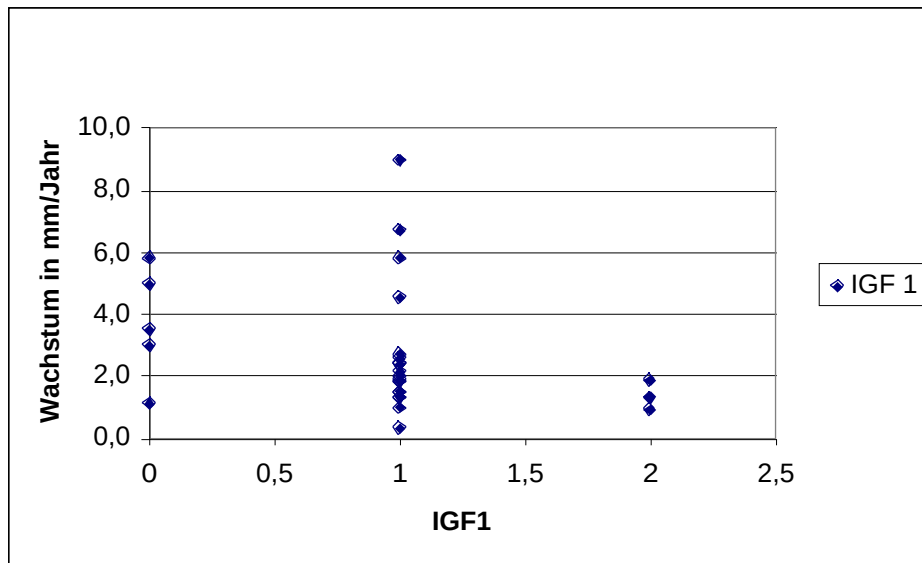
ABC-Methode, Hintergrundfärbung Hämatoxylin

Vergrößerung 440 fach

3.4.1. IGF 1 und die Tumorwachstumsgeschwindigkeit

Eine positive Korrelation zwischen der Expression von IGF1 und der am MR gemessenen Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren bei der aktuellsten Operation wurde nicht festgestellt (Abb. 18).

Abb. 18: Zusammenhang zwischen IGF1 und der Tumorwachstumsgeschwindigkeit in mm/Jahr (n=28)



3.4.2. IGF1 und klinische Daten

Tabelle 28: IGF1 und das Alter der Patienten bei der 1.OP (n=28)

	IGF 1 0 =negativ	IGF 1 1 =schwach	IGF 1 2 =moderat
Alter 1.OP (Mittelwert)	57,2	50,85	32,67
SD	5,81	10,3	5,51
Anzahl der Patienten	5	20	3

Die Daten aus Tabelle 28 zeigen, daß jüngere Patienten tendentiell stärkere Zytoplasmafärbung für IGF 1 aufweisen als ältere Patienten.

3.4.3. IGF1 und die Proliferationsmarker MIB1 und PCNA

Der Vergleich der MIB 1 und PCNA-Expression bezüglich der IGF 1 –Expression ergibt mit steigender Anfärbbarkeit der Tumoren für IGF 1 abnehmende Mittelwerte für MIB1 und PCNA (Tab.29).

Tabelle 29: Vergleich der Mittelwerte von IGF1 und den Proliferationsmarkern MIB1 und PCNA

	IGF 1 0 =negativ	IGF 1 1 =schwach	IGF 1 2 =moderat
MIB 1 Mittelwerte	1,39	0,03	0,00
SD	1,82	0,04	0,00
PCNA Mittelwerte	2,18	0,74	0,06
SD	2,07	1,46	0,11
Anzahl der Patienten	5	20	3

4. Diskussion

4.1. Patientenkollektiv

In dem Gesamtpatientenkollektiv der Neurochirurgischen Klinik Eppendorf repräsentieren die NSA ca. 30% aller operierten Hypophysenadenome (Saeger et al. 1990). In dieser Studie wurde aus der Gesamtgruppe der NSA das Wachstumsverhalten von 32 NSA anhand von MR-Bildserien untersucht. Im Verhältnis zu dem Gesamtkollektiv mit 531 NSA, die zwischen 1974 und 1997 in der Neurochirurgie operiert wurden, erscheint die Zahl von 32 Patienten auf den ersten Blick als klein. Sie begründet sich auf den Aufnahmekriterien dieser Studie. Voraussetzung war, daß Patienten mit MR-Bildserien kontrolliert sein mußten (erst ab ca. 1986 möglich). Des weiteren mußten folgende Voraussetzungen erfüllt sein: es sollte Tumormaterial für die immunhistochemischen Untersuchungen vorhanden sein, und die Patienten sollten nicht zwischenzeitlich bestrahlt worden sein.

Es handelt sich hierbei um eine retrospektive Studie, d.h. sie ist auf Nachuntersuchungen aufgebaut. Eine prospektive Studie bzgl. der Wachstumsgeschwindigkeit von NSA, unter Einschluß der Primärtumoren als auch der Tumorstadien, durchzuführen, trübe auf vielfältige Schwierigkeiten. Denn in wenigen Fällen wird ein nicht-hormonsezernierender Tumor im Frühstadium im MRT- Bild entdeckt, und dann beobachtet, bis eine OP indiziert ist. Dies liegt am biologischen Verhalten der inaktiven Tumoren, die meist erst zu einer Symptomatik führen, wenn umliegende Strukturen verdrängt werden und dann meist eine OP notwendig wird. Andererseits müßten für eine prospektive Beobachtung von Tumorstadien ein notwendiger Untersuchungszeitraum von 5-10 Jahren angesetzt werden.

4.2. MRT- Verläufe zur Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit

Unser Ziel bei der Beurteilung von MRT- Bildserien war die Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit von NSA mit einer einfachen und allgemein anwendbaren Methodik. Hierbei konnte bei 28 von insgesamt 32 Patienten ein Tumorstadium nachgewiesen und dann die Wachstumsgeschwindigkeit in mm/Jahr berechnet werden. Bei 4 Patienten zeigte ein anfangs fraglicher Tumorstadium kein Wachstum.

Das Etablieren eines Meßverfahrens ergab die Problematik, daß Tumoren keine symmetrischen Gebilde sind, die regelmäßig in eine Richtung wachsen. An den MR-Bildern wurde deswegen zur genauen Erfassung der Wachstumsgeschwindigkeit zuerst der größte Durchmesser, die größte Höhe, die größte Breite erfaßt. Die Wachstumsgeschwindigkeit berechnete sich dann aus dem Wert, der am stärksten zugenommen hatte, indem man diesen durch die beobachtete Zeit dividierte.

Bei 5 Tumoren fiel auf, daß man das Tumorstadium mit den oben genannten Parameter nicht im vollen Ausmaß erfassen konnte. Deswegen berücksichtigten wir ebenfalls den Durchmesser, der am meisten zugenommen hatte. Durch die Berechnung, des Durchmessers, der am meisten wächst, erhielten wir als Maximalwert eine Wachstumsrate von 9 mm/Jahr. Ohne Berücksichtigung dieser Methodik läge die Wachstumsgeschwindigkeit z.B. bei 5mm/Jahr und berechnete sich aus der Zunahme des größten Vertikaldurchmessers (Fall 2). Bei der Frage, ob man auch den Durchmesser des größten Wachstums berücksichtigen soll, die bei 5 Patienten zu einer starken Erhöhung der berechneten Wachstumsgeschwindigkeit führte, entschieden wir diese Ergebnisse wegen der

biologischen Bedeutung des Wachstum auf kritische Strukturen mit einzubeziehen (wie z.B. die Sehnervenkreuzung, Fall 2).

Theoretisch wäre als Ausgangspunkt zur Tumorstadiumsbestimmung in einer Studie eine identische Tumorstadiumgröße anstrebenwert. Eine Studie mit der Voraussetzung gleicher Tumorstadiumgrößen und ausreichenden Kontrollen, um die Wachstumsgeschwindigkeit zu messen, ist bei NSA mangels ausreichender Fallzahlen nicht praktikabel.

Außer dem Nachweis von insgesamt 28 Wachstumsgeschwindigkeiten fiel auf, daß bei 4 Patienten, bei denen postoperativ ein Tumorstadiumrest im MRT vorhanden zu sein schien, sich dieser Verdacht aufgrund fehlenden Wachstums über mindestens 5 Jahre nicht bestätigte. Da wir davon ausgehen, daß ein Tumorstadiumrest auch wiederwachsen müßte, schlossen wir diese 4 Fälle aus der weiteren statistischen Auswertung zur Überprüfung der sogenannten Proliferationsmarker aus. Die fraglichen Strukturen wurden als Hypophysen-und Narbengewebe klassifiziert. Erwähnenswert sind diese Fälle, da sie zu Verfälschung von Verlaufsbeobachtung führen können.

Die Durchsicht der Literatur zu Beginn der Arbeit ergab keine mögliche Hilfestellung zur Etablierung einer einfachen und im Klinikalltag anwendbaren Methode. Verschiedene Autoren beschäftigten sich in ihren Artikeln mit der Beurteilung von MR-Bildern (Schubiger 1996, Knosp et al. 1993, Naidich et al. 1999), ohne jedoch das Tumorstadiumwachstum zu berechnen. Einzig eine Studie Ekramullah et al. (1996) beschäftigte sich mit der Bestimmung der Tumorstadiumverdopplungszeit. Eine Tumorstadiumvolumenbestimmung, wie sie Ekramullah et al. (1996) benutzt haben, mit deren Hilfe eine Tumorstadiumverdopplungszeit berechnet werden kann, ist sicherlich eine sehr genaue Art, Tumorstadiumwachstum zu bestimmen. Der Nachteil ist, daß man ein spezielles Computersystem zur Berechnung braucht. Hierfür müssen die Daten einheitlich erfaßt werden, und die Methode ist somit bei unterschiedlichen Untersuchungsverfahren nicht reproduzierbar. Andererseits erhalten Zentren für Hypophysenchirurgie Überweisungen aus größeren Einzugsgebieten. Deshalb sind die Möglichkeiten einer Standardisierung begrenzt. Auch MR-Verläufe, die aus unterschiedlichen radiologischen Instituten stammen sollten in eine Berechnung des Wachstumsverhaltens einbeziehbar sein.

Als weiteres Ziel dieser Studie galt die Erprobung einer neuen Methodik der digitalen Archivierung. Die Archivierung mit einer digitalen Kamera unter Verwendung eines Computers bietet verschiedene Vorzüge. Bilder von Patienten, die in unterschiedlichen radiologischen Instituten entstanden sein können, werden verglichen, abfotografiert und archiviert. Die Berechnung der Wachstumsgeschwindigkeit ermöglicht dann eine reproduzierbare Einschätzung bezüglich des Wachstumsverhaltens und liefert die Grundlagen für die Zeitplanung der Therapieentscheidung. Die Bilder sind, einmal archiviert, jederzeit abruf-und ergänzbar und durch Internet-Benutzung an andere Kollegen übermittelbar.

Dies bedeutet, daß Radiologen, Endokrinologen und Neurochirurgen zum Wohl des Patienten noch enger zusammenarbeiten können. Bei der Anwendung eines standardisierten Verfahrens können Fachfragen von Spezialisten übers Internet erläutert werden.

Nachdem in dieser Studie ein Meßverfahren zur Tumorstadiumwachstumsgeschwindigkeit und Archivierung gefunden worden war, stellten wir in dieser Studie eine große Bandbreite an Wachstumsgeschwindigkeit fest. Das langsamste meßbare Tumorstadiumwachstum lag bei 0,3mm/Jahr und das schnellste bei 9mm/Jahr. Gerade die Beobachtung von einer Wachstumsgeschwindigkeit von

9mm/Jahr erscheint besonders bedeutsam, gelten NSA allgemein als histologisch benigne und eher langsam wachsende Tumoren. Die Ergebnisse der Wachstumsgeschwindigkeiten der Tumorreste werden noch im allgemeinen und speziellen unter dem Titel „zeitlicher Ablauf von MR-Kontrollen“ diskutiert.

4.3. Proliferationsmarker/Tumormarker

4.3.1. Probleme hinsichtlich der immunhistochemischen Untersuchungen

Bevor die speziellen Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen bezüglich der Tumormarker MIB1, PCNA, p53 und IGF1 diskutiert werden, sollen an dieser Stelle problematische Punkte bezüglich der Methodik beleuchtet werden. Die Methode der Antigen- Retrieval- Technik wurde schon in der Einführung erwähnt. So spielt die Benutzung der Mikrowelle bei einigen Antikörpern (wie auch bei MIB1, PCNA und p53) zur besseren Anhaftung des Antikörpers ans Antigen, durch die Aufhebung einiger Effekte der Formalinfixierung, eine große Rolle. Trotz aller Versuche zur weitestgehenden Standardisierung der Immunhistochemie zur Verbesserung ihrer Reproduzierbarkeit, gibt es immer noch verschiedene Faktoren, die von Labor zu Labor differieren. Unterscheiden können sich Länge und Art der Tumorfixierung, die Methoden der Untersuchung und die Natur des Antigens.

Schon in vorangegangenen Studien zeigten sich Probleme hinsichtlich der Immunhistochemie und der mikroskopischen Auswertung bei PCNA.

Als nachgewiesene Faktoren, die die immunhistochemischen Untersuchungen beeinflussen können, gelten z.B.:

1. die Länge der Formalinfixierung. Nach einer Zeit von mehr als 48 Stunden in Formalin ist die immunhistochemische Detektierbarkeit von PCNA reduziert (Hall et al. 1992).
2. Hitzeeinflüsse (Hall et al. 1992).
3. Mikrowellen- Zeit. So fanden Taylor et al. (1994) als optimale Zeit 2*5 Minuten, danach kommt es zu verstärkter unspezifischer Hintergrundfärbung, die eine Auswertung erschwert.

Wie bei dem Marker PCNA ergab sich aber auch bei MIB1 und p53 in unserer Studie die Problematik, daß Tumormaterial desselben Patienten in den verschiedenen Operationen unterschiedliche Ergebnisse zeigten. Die Methodik der immunhistochemischen Untersuchung ist bei dieser Studie als reproduzierbar anzusehen und wurde immer von derselben Person durchgeführt. Deswegen ist bei den Ergebnissen nicht auszuschließen, daß es sich u.a. um ein Fixationsproblem handeln könnte, da die Tumormaterialien aus 1. und 2.Operation zum Teil aus unterschiedlichen Pathologien stammten.

Taylor et al. (1994) kommen in ihrer Studie zu dem Schluß, daß die Reproduzierbarkeit bezüglich p53 durch verschiedene Untersucher nicht wirklich hergestellt werden kann. Lediglich ein Teil der Vielfältigkeit in den Ergebnissen, die auf Formalinfixierung beruhen, kann mit der Antigen- Retrieval- Technik und besonderen Lösungen (Glycin-HCl Puffer oder Citratpuffer) für die Mikrowelle reduziert werden.

Die mikroskopische Auswertung der immunhistochemischen Untersuchung bei PCNA hinsichtlich der Bestimmung des „Labelling- Index“ erwies sich ebenfalls als schwierig. Die Problematik der klaren

Abgrenzung der als positiv gezählten Zellkerne, von den nur ganz leicht gefärbten wurde, im Gegensatz zu MIB1, schon mehrfach beobachtet (Ekramullah et al. 1996, Kawamoto et al. 1995).

Hsu et al. (1993) stellten ebenfalls verschiedene Färbe-Intensitäten der Zellkerne fest, jedoch mit einer guten Abgrenzbarkeit zu den negativen Zellkernen.

Eine Erklärung hierfür könnte der unterschiedliche Grad der Exprimierung in den verschiedenen Phasen des Zellzyklus sein. PCNA wird in der S-Phase maximal exprimiert und fällt wieder in der G2-Phase ab (Robbins et al. 1987). Schiffer et al. (1993) zählten in ihrer Studie über Überlebenszeiten bei Ependyomen die PCNA- Expression nach zwei Gesichtspunkten aus, zum einem alle gefärbten Zellkerne und zum anderen nur die wirklich dunkel gefärbten. Eine inverse Korrelation zur Überlebenszeit konnten sie nur bei der Zählung der sehr dunklen Zellkerne feststellen.

In unserer Studie wurde die PCNA- Expression mit dem Auge ausgewertet, nur eindeutig dunkle und von negativen deutlich abgrenzbare Zellkerne wurden als positiv gezählt. Die Reproduzierbarkeit innerhalb der Studie, mit Stichproben kontrolliert, war gut.

4.3.2. Ki- 67 in Form von MIB1

Ki-67, in der Form von MIB1, wird in der immunhistochemischen Tumoruntersuchung als einer der am häufigsten angewandten Proliferationsmarker benutzt. Nach wie vor ist die Bedeutung für prognostische Aussagen bei Tumoren umstritten (Goldblum und Appelman 1995, Oka und Arai 1996). So konnten Goldblum und Appelman (1995) bei Duodenaltumoren keine Korrelation zwischen MIB 1 und der Histologie sowie der Prognose feststellen. In der Studie von Oka und Arai erwies sich MIB 1 ebenfalls nicht als prognostische Hilfe. So korrelierte bei Plattenepithelcarcinomen der Halsregionen eine erhöhte MIB1- Expression nicht mit einer kürzeren Überlebenszeit der Patienten.

Ki-67 ist ein proliferations-assoziiertes nukleäres Antigen, das während des gesamten proliferativen Zellzyklus (G1, G2 und der M-Phase) exprimiert wird, jedoch nicht in ruhenden Zellen der G0-Phase nachgewiesen werden kann. Ki-67 könnte durch die Expression in allen proliferativen Phasen des Zellzyklus zum direkten Rückschluß auf die Wachstumsfraktion der Tumoren und zum Studium der Tumorkinetik dienen (Gerdes et al. 1984, Landolt et al. 1987). So wurde in der Anfangszeit eine lineare Abhängigkeit zwischen Ki-67 und BrdUrd-Markierung nachgewiesen (Sasaki 1988).

In dieser Studie wurde untersucht, ob MIB1 als Proliferationsmarker mit in vivo gemessener Wachstumsgeschwindigkeit (anhand von MRT-Bildern) bei Hypophysenadenomen korreliert und als prognostischer Faktor für das biologische Verhalten von Adenomresten Relevanz hat.

42,2% der 45 Adenome zeigten eine eindeutige Färbung von allerdings nur wenigen Zellkernen für MIB1 (0,007-4,59 Zellkerne/HPF; im Mittel 0,93). Dieses Ergebnis steht in Einklang mit vorherigen Studien (Landolt et al. 1987, Pegolo et al. 1995). So beobachtete u.a. Landolt et al. (1987), daß NSA im Mittel niedrigere Werte aufwiesen als Adenome bei Akromegalie. Die Tatsache, daß nicht alle Adenome MIB1-positive Kerne enthielten, deckt sich ebenfalls mit den Ergebnissen anderer Untersucher (Kawamoto et al. 1995).

4.3.2.1. MIB1 und die Tumorwachstumsgeschwindigkeit

Als sogenannter Proliferationsmarker ist Ki-67 in Form von MIB1 etabliert. Verschiedene Studien (Landolt et al. 1987, Kitz et al. 1991, Shibuya et al. 1992, Gandour-Edwards et al. 1995, Kawamoto et al. 1995, Buchfelder et al. 1996, Ekramullah et al. 1996, Thapar et al. 1996, Abe et al. 1997, Mizou et al. 1997) beschäftigten sich mit der Rolle von MIB 1 bei Hypophysenadenomen, wobei vor allem die Korrelation zur Rezidivhäufigkeit und Invasivität mit unterschiedlichen Ergebnissen untersucht wurden. Doch für die Bewertung als Proliferationsmarker ist von entscheidender Bedeutung, ob neben einer qualitativen darüber hinaus eine quantifizierbare Markierung mit MIB 1 eine klinische Relevanz bezüglich meßbarer Wachstumsraten bei HA haben könnte.

In dieser Studie ergibt sich keine Korrelation zwischen der Höhe der MIB1-Werte (n=28) mit der gemessenen Tumorwachstumsgeschwindigkeit im direkten Vergleich Spearman- Korrelation sig. 0,36.

Wertbar erscheint, daß MIB1 nur bei den NSA positiv war, die schneller als 1,1mm/Jahr wuchsen. Allerdings hatten auch schnellwachsende Tumoren geringe oder gar keine positive Färbung für MIB1. In den vorangegangenen Studien wurde nur in Ausnahmen versucht MIB 1 als Proliferationsmarker mit klinisch gemessenem Wachstum zu vergleichen. Hierbei handelte es sich meist um gemischte Adenomgruppen. So stellten Kawamoto et al. (1995) einen signifikant erhöhten MIB1- und PCNA-Index bei einer sehr kleinen Fallzahl von Adenomen (n=3) mit schnellem Wiederwachstum fest. In der Studie ist jedoch nicht erwähnt, ob es sich um große Tumorreste handelte. Alle drei Tumoren gehörten in die Gruppe der hormon-sezernierenden HA. Jedoch müssen Arbeiten mit so geringen Fallzahlen kritisch gesehen werden.

Eine nachfolgende Studie (Mizoue et al. 1997) definierte die Angaben des schnellen Wachstums und untersuchte 8 schnellwachsende HA (4 NSA eingeschlossen). Als schnelles Tumorwachstum galt, wenn im MR oder CT innerhalb von 2 Jahren eine Zunahme des Tumors von mehr als 20% an maximaler Länge oder 30% in der maximalen Ausdehnung festgestellt werden konnte. Der MIB 1-Index für die 8 schnellwachsenden Adenome betrug $1,27 \pm 0,31\%$ und lag damit statistisch signifikant höher als bei der Vergleichsgruppe von 40 nicht- gewachsenen HA mit Werten von $0,19 \pm 0,06\%$. Ihrer Schlußfolgerung, daß bei Patienten mit einem MIB1- Index $<1\%$ die Möglichkeit eines schnellen Wiederwachstums geringer ist, könnte eine Bedeutung für Nachbeobachtungen haben.

Ekramullah et al. (1996) sind außer uns bisher die einzige Untersucherguppe, die sich in einer Studie ausschließlich mit NSA und Tumorwachstum beschäftigt haben. Sie korrelierten den Index von MIB 1 mit der Tumorverdopplungszeit der wiederwachsenden Tumoren. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen, bei denen wir keine Korrelation zwischen dem MIB1- Index und der Tumorwachstumsgeschwindigkeit feststellen konnten, ergab sich bei Ekramullah eine signifikant inverse Korrelation zwischen MIB 1 und der Länge der Tumorverdopplungszeit. Seine Studie ist somit die erste und einzige, die bei NSA durch die Korrelation mit der klinischen Wachstumsgeschwindigkeit Hinweise liefert, daß MIB 1 als Proliferationsmarker verwertbar ist und von prognostischer Bedeutung sein könnte. Ein Nachteil hierbei ist, daß es sich um eine sehr komplizierte Methode handelt. Denn man benötigt mehrere Schichten des Kernspintomograms und ein bestimmtes Computersystem zur Auswertung. Diese Methodik ist wissenschaftlich interessant, in dem klinischen Alltag allerdings nur bedingt verwertbar.

Uns ging es bei der Bestimmung der Tumorstadiumsgeschwindigkeit um die Suche nach einer einfachen Methode, die auch in der Klinikroutine mit vertretbarem Aufwand und leicht zugänglichen technischen Hilfsmitteln reproduzierbar ist. So ist bei Ekramullahs et al. (1996) die Berechnung nur möglich, wenn alle MRT- Aufnahmen von einem radiologischen Institut oder mit demselben Computerprogramm angefertigt werden.

Auch wenn die klinische Wachstumsgeschwindigkeit im Spearman-Test nicht signifikant mit der MIB 1- Expression korreliert, erkennt man in unseren Ergebnissen doch bei der Unterteilung der Tumoren nach Wachstumsgeschwindigkeiten (Tabelle 16) die Tendenz, daß schneller wachsende NSA im Mittel höhere MIB 1- Expression aufweisen. Die Standardabweichungen sind allerdings zu hoch, um eine Trennlinie zu ziehen, ab welcher MIB1 Expression man von überdurchschnittlichen Wachstum ausgehen könnte.

Somit können unsere Studienergebnisse lediglich die Tendenz von höheren MIB-Expressionen bei überdurchschnittlich schnell wachsenden Tumoren nachweisen. Statistisch signifikante Korrelationen bezüglich der MIB1-Expression und der Wachstumsgeschwindigkeit sind nicht gegeben.

4.3.2.2. MIB 1 und Invasivität

Bei Invasivitätsbeurteilung von Tumoren ergibt sich die Problematik, daß die Invasivität mittels unterschiedlicher Kriterien beurteilt werden kann:

1. Die makroskopische Invasivität als intraoperativer Befund und/oder die radiologische anhand von MR-Bildern (in den Sinus cavernosus, durch die Dura in Richtung des Sinus sphenoidalis und selten suprasellär).
2. Die histologische Invasivität.

So liegt bei Hypophysenadenomen die histologisch geprüfte Invasivitätsrate mit Werten zwischen 42% (Sautner und Saeger 1991), 65% (Kitz et al. 1991, Landolt et al. 1987) und 85% (Selman et al. 1986) höher als die intraoperativ festgestellte Invasivität von 35% (Scheithauer et al. 1986), 48% (Knosp et al. 1991), 51% (Landolt et al. 1987).

Für die Gruppe von Nullzelladenomen stellten Scheithauer et al. (1986) eine ungefähre Invasionsrate von 42 % fest.

Obwohl die histologisch gesicherte Dura-Invasion den Vorteil einer objektiven Beurteilung hat, erweist es sich als nachteilig, daß sie fast ubiquitär und auch bei sonst eher umschriebenen HA auftritt. Die am häufigsten untersuchte Entnahmestelle an der basalen Kapsel ist nicht sicher relevant für paraselläres und supraselläres Wachstum. Ein großer Nachteil bei der histologischen Untersuchung der Invasivität ist somit die fehlende Beurteilbarkeit der Invasion des Sinus cavernosus. Gerade dessen Invasion ist von entscheidender Bedeutung, da diese eine Radikalooperation erschwert und hier dann häufig ein Tumorrest verbleibt. Bei einer bestimmten Ausdehnung kann der Tumor an Hand des MRT als nicht resezierbar eingestuft werden (Knosp et al. 1993, Abe und Lüdecke 1999).

Eine alleinige radiologische Beurteilung der Invasivität ohne chirurgische Bewertung erscheint ebenfalls nicht als sinnvoll. Denn die laterale Invasion in den Sinus cavernosus ist besonders im Anfangsstadium schwer auf MR-Bildern beurteilbar, da die mediale Wand schlecht sichtbar ist

(Naidich und Russell 1999). Auch wenn verschiedene Studien sich mit Standardisierungen zur besseren Beurteilbarkeit, z.B. mit Hilfsmarkierung der intracavernösen Abschnitt der Carotis beschäftigt haben (Knosp et al. 1993), gibt es Abweichungen beim intraoperativen Befund.

In dieser Studie wurde die radiologische und intraoperative festgestellte Invasivität beurteilt, da wir wie Thapar et al. (1996) der Meinung sind, daß dies klinisch signifikanter und prognostisch von besonderer Bedeutung ist.

Invasivität bei Hypophysenadenomen ist in Grenzfällen immer noch ein nicht klar definierbares Phänomen, dessen biologische Basis noch nicht vollständig geklärt ist. In diesem Zusammenhang muß diskutiert werden, welche Faktoren bei HA zu Invasivität führen. Größere Adenome können in benachbarte Strukturen wachsen, können jedoch auch nur zur Verdrängung der Strukturen führen. Gerade bei der Frage, ob MIB1, der als Proliferationsmarker schneller wachsende Tumoren erkennen lassen sollte, ist der Zusammenhang zur Invasivität ein noch unzureichend geklärter Aspekt. Verschiedene geprüfte histologische Merkmale haben sich nicht als relevant erwiesen. Bei der Frage nach dem Zusammenhang zwischen der Wachstumsrate und der biologischen Aggressivität haben verschiedene Methoden hinsichtlich der Zellproliferation versagt, wie z.B.: die Hypophysenadenom- Wachstumsfraktion und Polyploidiegrad, gemessen mit Flow-Zytometrie (Anniko et al. 1984, Lüdecke et al. 1985, Fitzgibbons et al. 1988), 5-bromodeoxyuridine- Labelling und das Zählen von Nuclear-organizing regions (Shibuya et al. 1992, Stefanescu et al. 1989). Dies sind alle aufwendige Methoden, die sich nicht als zuverlässig genug erwiesen haben, um aggressive Hypophysenadenome im Einzelfall von weniger aggressiven zu unterscheiden.

In unserer Studie lag der Anteil der invasiven NSA mit 68,9% (22 von 32) höher als in vorangegangenen Studien. Als Ursache hierfür ist u.a. die Aufgabenstellung mit der Bestimmung einer klinischen Wachstumsgeschwindigkeit bei den Tumoren anzunehmen. Es ist sehr selten, daß nicht-sezernierende Adenome frühzeitig diagnostiziert werden und prae-operativ beobachtet werden können (in unserer Studie 4 NSA). In der Mehrzahl der Fälle werden nicht-sezernierende Adenome durch klinische Symptome bemerkt, die in der Regel nach der Diagnosenstellung eine rasche Operation erforderlich machen. Deswegen stellten in dieser Studie den größten Anteil Tumorreste dar. Dadurch liegt die Vermutung nahe, daß ein höherer Anteil invasiv gewachsen war. So konnten verschiedene Studien bei hormon-sezernierenden HA eine Korrelation der Invasivität mit höheren Rezidivneigungen feststellen (Fahlbusch et al. 1992, Mindermann und Wilson 1993, Blevin et al. 1998).

In unserer Studie ergab sich **keine** Korrelation von MIB 1 und der Invasivität. Dieses Ergebnis bestätigt verschiedene vorangegangene Studienergebnisse (Landolt et al. 1987, Kawamoto et al. 1995; Gandour-Edwards et al. 1995; Yonezawa et al. 1997, Abe et al. 1997). So ergab die Studie von Kawamoto et al. (1995) keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Sinus cavernosus Invasion und der PCNA- oder MIB 1- Expression zwischen invasiven und nicht-invasiven Tumoren.

Yonezawa et al. (1997) untersuchten 52 NSA, wobei 2 Mikroadenome mit einem MIB 1- Index von 1,47% einen statistisch signifikant höheren MIB1-Index aufwiesen als 25 expansive Makroadenome mit 0,73%. Es ergab sich keine statistische Signifikanz zwischen den nur expansiven und den

invasiven Makroadenomen. Bei der kleinen Anzahl von 2 Mikroadenomen bleibt die Aussagekraft des Ergebnisses fragwürdig.

Abe et al. (1997) ermittelten bei insgesamt 26 unterschiedlichen HA, die in den Sinus cavernosus invadierten, und 19 nicht-invasiven HA keinen Unterschied in den Mittelwerten für MIB 1 ($1,58 \pm 0,26\%$ / $1,37 \pm 0,26\%$).

Es gibt jedoch eine Reihe von anderen Untersuchungen, die mit unseren Ergebnissen im Widerspruch stehen. So wiesen Thapar et al. (1996), Ekramullah et al. (1996), Knosp et al. (1993), und Zhao et al. (1999) eine positive Korrelation von MIB1- Expression und Invasivität nach.

In der Studie von Thapar et al. (1996) untersuchten die Autoren ebenfalls eine mögliche Korrelation von proliferativer Aktivität (gemessen mit Hilfe des MIB 1- Antikörpers) und intraoperativ/radiologischer Invasivität bei unterschiedlichen HA. Bei 37 nicht-invasiven, 33 invasiven Adenomen und 7 Karzinomen ergaben sich folgende Ki-67- LI: nicht-invasive HA 1.37%, invasive HA 4.66% und Karzinome 11.91%. Auch wenn sich statistisch gesehen ein signifikanter Unterschied in der Höhe der Ki-67- LI zwischen invasiven und nicht-invasiven Adenomen ergab, exprimierten einzelne nicht-invasive Adenome in gleicher Höhe Ki-67 wie der Durchschnitt von invasiven. Die Festlegung eines Index, ab wann man von einer Invasivität ausgehen kann, erwies sich als schwierig. Setzt man 3% als Trennlinie zwischen den beiden Gruppen, so weist diese Studie nur ein nicht-invasives Adenom auf, das über 3% liegt. Die Autoren schließen, daß die Feststellung der Wachstumsfraktion mittels Ki-67 hilfreich ist bezüglich der intrinsischen Aggressivität der HA, auch wenn Untergruppen mit invasiven Tendenzen, unabhängig von ihrer proliferativen Aktivität, vorkommen.

Knosp et al. (1993) verglichen die Ki-67- LI von 25 HA von unterschiedlichen Makroadenomen, die in den Sinus-cavernosus invadierten, mit den Indizes von nicht-invasiven aus der vorhergegangenen Studie und stellten eine statistische Signifikanz fest. Die Invasion in den Sinus cavernosus war von der Tumorgroße abhängig.

Zhao et al. (1999) untersuchten insgesamt 123 HA von unterschiedlicher Histologie und stellten bei invasiven HA einen signifikant höheren MIB1-Index (2.17) als bei nicht invasiven HA (0.73) fest. Aufgrund der Existenz einer Überlappung in beiden Gruppen könne MIB1 nicht allein als Marker für Invasivität fungieren, sondern es müssen auch noch andere Faktoren das Invasivitätspotential von Untergruppen der HA regulieren.

Bei Studien mit dem Merkmal der histologischen Invasivität ergaben sich bei Landolt et al. (1987) in bezug auf die Invasivität Werte von 1.19% (0.2-3.7%) bei histologisch invasiven HA (n=20) und 0.55% (0.1-1.4%) bei nicht- invasiven HA (n=10). Dieses Ergebnis weist darauf hin, daß invasive Adenome eine höhere Wachstumsfraktion haben als nicht- invasive. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu der makroskopischen Invasivität, wo kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden konnte. Ein Erklärungsansatz für diese Problematik bleibt offen.

Bei Knosp et al. (1991) zeigten Adenome mit histologisch gesicherter Dura- Infiltration, statistisch gesehen, einen signifikant höheren Ki-67- LI ($p < 0.001$ Students Test) als nicht-invasive Adenome: 0.31-4.6% / 0.2-2.9%. Ein statistischer Unterschied ergab sich auch in der kleinen Gruppe der NSA. Die hier verwendete Methodik entspricht dem Standardverfahren vor der Entwicklung der Antigen-Retrieval-Technik, deren Durchführung an formalin- fixiertem Gewebe nicht möglich ist.

Einzelne Studien, die dieses Phänomen untersuchten, fehlte in der Durchführung und Auswertung eine statistische Relevanz. So fehlte bei Ekramullah et al. (1996) eine statistisch signifikante Korrelation. Sie stellten lediglich bei 11 NSA, die in den Sinus cavernosus invadierten, einen relativ höheren MIB1- Index fest ($0,86 \pm 0,12\%$) als bei den nicht-invasiven ($0,50 \pm 0,07\%$).

Buchfelder et al. (1996) verglichen Mikro- und Makroadenome. Bei dieser Studie von Buchfelder ergaben sich im Durchschnitt ein statistisch signifikant höherer Prozentanteil Ki-67- positiver Zellkerne und eine höhere DNA-Polymerase-Aktivität bei invasiven Makroadenomen als bei nicht-invasiven Mikroadenomen. Kritisch zu betrachten ist diese Studie, da 1. ein statistischer Vergleich zwischen nicht-invasiven und invasiven Makroadenomen und 2. Eine Gruppe von nicht-invasiven Mikroadenomen fehlt. So könnte bei dem Vergleich von Makroadenomen mit Mikroadenomen auch eine erhöhte Proliferationsaktivität ursächlich für die Beobachtungen sein.

Bei der Beurteilung des Zusammenhangs von MIB1 und klinischer Aggressivität bleibt die Tatsache eines höheren MIB1-Index bei HA aufgrund des hohen Prozentanteils mit histologischer Dura-Invasion und mangelnder klinischer Relevanz in ihrer Aussagekraft fragwürdig.

Eine endgültige Aussage bezüglich einer Korrelation zwischen der MIB 1- Expression und der Invasivität zu treffen, ist aufgrund der kontroversen Untersuchungsergebnissen nicht möglich (Tabelle 30 und 31). Wir konnten keine Korrelation feststellen, was jedoch anderen Untersuchern mit zum Teil anderen Adenomgruppen vor uns gelungen ist, so daß wahrscheinlich die Methodik hinsichtlich der immunhistochemischen Untersuchungen von MIB1 und die klinische Klassifizierung nicht als universell reproduzierbar angesehen werden kann.

Der Zusammenhang zwischen dem klinisch relevanten Tumorwachstum und der Invasivität bleibt nach wie vor von großem Interesse. In dieser Studie wurde eine Korrelation zwischen der bildmorphologisch (MRT) gemessenen Wachstumsgeschwindigkeit und der Invasivität festgestellt. Der Proliferationsmarker MIB1 korrelierte allerdings weder mit der Wachstumsgeschwindigkeit noch mit der Invasivität. Als Resultat unserer Studie kann man davon ausgehen, daß grobe Invasivität mehr eine Erscheinung der schnellwachsenden Tumoren ist. Während bei Thapar et al. (1996) sich die MIB 1- Expression zum Feststellen von aggressiveren HA zu eignen scheint, ergibt sich bei uns diesbezüglich keine statistische Signifikanz. Bei der Unterteilung der Invasivität in „invasiv“ und „stark invasiv“, ergeben sich höhere Durchschnittswerte für MIB1 bei den stark invasiven Tumoren. Im einzelnen müssen jedoch auch noch andere Faktoren als die Wachstumsrate für die Invasivität eine Rolle spielen. In dieser Studie wuchs z.B. bei einem Patienten (Fall 4), der Tumor mit 3mm/Jahr sehr schnell und war trotzdem nicht invasiv vorgedrungen. Ansonsten waren alle schnellwachsenden Tumoren auch invasiv gewachsen (insgesamt bei 6 Patienten, die eine Wachstumsgeschwindigkeit von $\geq 3\text{mm/Jahr}$ aufwiesen).

Tab. 30: Signifikante Korrelation von MIB 1 und Invasivität: MIB1-Indizes bei nicht-invasiven und Invasiven HA

Autor	Jahr	Art der Invasivität	MIB 1 bei nicht-invasiven HA	MIB 1 bei invasiven HA
Landolt et al.	1987	histologisch	0.55%	1.19%
Knosp et al.	1991	histologisch	0.98%	1.81%
Knosp et al.	1993	makroskopisch	2.14%	0.98% (von 91)
Thapar et al.	1996	makroskopisch	1.37%	4.66%
Zhao et al.	1999	makroskopisch	0.73	2.17

Histologisch= Dura-Biopsie, makroskopisch= intraoperativer Befund oder MRT-Befund

Tab. 31: Keine signifikante Korrelation von MIB 1 und Invasivität: MIB1-Indizes bei nicht-invasiven und Invasiven HA

Autor	Jahr	Art der Invasivität	MIB 1 bei nicht-invasiven HA	MIB 1 bei invasiven HA
Landolt et al.	1987	makroskopisch	0.92%	1.04%
Gandour-Edwards et al.	1995	makroskopisch	1-20%	1-25%
Kawamoto et al.	1996	makroskopisch	1.837	3.067
Abe et al.	1997	makroskopisch	1.37%	1.58%
Diese Studie		makroskopisch	0.03	0.144

4.3.2.3. MIB 1 und p53

In dieser Studie konnte eine signifikante Korrelation zwischen p53 (negativ/positiv) und MIB1 (Mann-Whitney- U, 2-tailed p: 0.0002) nachgewiesen werden, d.h. p53- positive NSA haben im Mittel signifikant höhere MIB1-Werte als p53-negative. Diese Korrelation ergab sich ebenfalls unter Berücksichtigung MIB1-Höchstwerten bei mehrfach operierten Patienten und p53.

Bei diesem Ergebnis muß diskutiert werden, ob es sich nur um eine immunhistologisch relevante Korrelation handelt oder ob darüber hinaus eine klinische Relevanz besteht. In diesem Zusammenhang ist die fehlende signifikante Korrelation zwischen MIB1 und der Wachstumsgeschwindigkeit und zwischen MIB 1 und der Invasivität von Bedeutung. Einen möglichen Erklärungsansatz für dieses Phänomen bieten die Studienergebnisse von van Oijen et al. (1998). Sie stellten fest, daß Zellen, die Ki-67 exprimieren, nicht unbedingt aktiv proliferierende Zellen sein müssen und daß eine gleichzeitige Expression von p53 und Ki-67 nicht gleichzusetzen ist mit einer Beziehung von p53 und Proliferationsaktivität.

Unsere Studienergebnisse decken sich mit denen aus zwei vorherige Studien. So beobachteten Schreiber et al. (1999) und Thapar et al. (1996) ebenfalls das Phänomen, daß bei p53 positiven Adenomen höhere MIB1-Mittelwerte vorlagen. Thapar et al. (1996) beobachteten ebenfalls höhere MIB1- Mittelwerte bei p53- positiven HA als bei p53- negativen ($10,41 \pm 2,20$ versus $2,51 \pm 0,28\%$). Im

Gegensatz zu unserer Studie stellten sie jedoch, wie bereits erwähnt, eine signifikante Korrelation von MIB1 und Invasivität der HA fest.

So können wir anhand unserer Studienergebnissen lediglich feststellen, daß es ein Zusammenhang zwischen MIB 1-Expression und p53-Positivität besteht. Eine Rückschluß auf die klinischen Parameter der Invasivität oder Wachstumsgeschwindigkeit ergibt sich nicht. Das biologische Korrelat dieses Zusammenhanges bleibt somit offen.

4.3.2.4. MIB 1 und Rezidive

Grundsätzlich kann man für die Beurteilung des Rezidivverhaltens von HA zwei unterschiedliche Ansätze wählen:

Man kann zum einen Tumoren der Erstoperation mit Tumoren von Rezidivoperationen bei verschiedenen Patienten vergleichen und zum anderen retrospektiv das Tumorverhalten eines Patienten untersuchen, um zu vergleichen, ob Tumoren mit einem höheren MIB1- Index schneller rezidivieren.

In unserer Studie ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den MIB1- Indizes bei Patienten, die zum Zeitpunkt unserer Untersuchung nur einmal operiert worden waren und bei Patienten mit Rezidiv- Operation, (MIB1- Mittelwerte der Höchstwerte 0,204 zu 0,825 Einfach- OP zu Rezidiv- OP).

In unserer Studie muß man den Vergleich von mehrfach operiert versus einmal operiert jedoch kritisch hinterfragen: Wir definierten ein Tumorrezidiv durch erneutes Tumorwachstum. Auch ein Teil der einfach operierten Patienten wies ein erneutes Tumorwachstum auf, das nicht unbedingt zur Rezidiv-OP Anlaß gab.

Verschiedene andere Untersucherguppen beschäftigten sich in unterschiedlichen Ansätzen mit der Frage nach dem Zusammenhang von MIB1 und Rezidivneigung. Während Shibuya et al. (1992) und Abe et al. (1997) einen höheren MIB 1- Index bei Rezidiven oder bei HA mit erhöhter Rezidivneigung nachweisen konnten, sprachen die Studienergebnisse von Buchfelder et al. (1996) nicht für eine Korrelation.

In der Studie von Buchfelder et al. (1996) ergab die Nachuntersuchung bezüglich des Rezidivverhaltens einer histologisch gemischten Gruppe von HA mit stark erhöhter DNA- Polymerase und Ki-67 keine erhöhte Rezidiv- Rate im Vergleich zu Tumoren mit durchschnittlichen Expression dieser Parameter.

Abe et al. (1997) wählten den gleichen Studienansatz der Nachuntersuchung. Sie verglichen bei 37 Patienten im postoperative Verlauf ein mögliches Wiederwachstum mit dem MIB1-Proliferationsindex. Die wiederwachsende Gruppe zeigte einen signifikant höheren MIB1-Index als die nicht- wachsende Kontrollgruppe. Bei einem PCI <1,5% lag die Wiederwachstumsrate bei ca. 16%. Diese Studienergebnisse sprechen dafür, erstens postoperativ die MIB 1- Expression zu bestimmen und zweitens Patienten mit einer erhöhten MIB1- Expression kurzfristiger anhand von MRT- Bildern nachzukontrollieren.

Mit dem Studienansatz, den auch wir gewählt haben, zeigte sich bei Shibuya et al. (1992), daß 7 Rezidive im Mittel höhere Ki-67, anti- DNA- Polymerase und BrdUdR- LI (3.6%, 4.2% und 1.4%) als

58 Tumoren bei der Erst-Operation (0.8%, 0.8% und 0.3%) hatten. Auch wenn sich keine Festlegung eines Index ab wann man von einem aggressiven Tumorwachstum ausgehen kann, ergibt, so vermuten sie doch, daß ein Index $>1,5\%$ mit einem schnellen Wiederwachstum und einer Rezidivneigung zu korrelieren scheint.

Unser Studiendesign mit dem Vergleich von Erst-und Zweitoperation erscheint wie oben erläutert unzulänglich, des weiteren spielt die Operationstechnik eine bedeutende Rolle. Ist eine Zweitoperation aufgrund einer unzureichenden Erstoperation nötig, kann man nicht zwingend von einem aggressiveren Wachstumsverhalten ausgehen.

Der Studienansatz von Abe et al. (1997) erscheint als durchaus sinnvoll. Das Ergebnis zeigt, daß eine Bestimmung von MIB 1 eine gewisse klinische Relevanz bezüglich des Wachstumsverhaltens haben kann.

4.3.2.5. MIB1 zu unterschiedlichen Operationszeitpunkten

Bei 11 Patienten von 19, die mehr als einmal operiert wurden, stand von mindestens zwei Operationen Tumormaterial zur immunhistologischen Untersuchung zur Verfügung. Dabei differierte die MIB1 Expression zu unterschiedlichen Operationszeitpunkten zum Teil bei demselben Patienten. Dies spiegelt sich auch in der Berechnung der MIB 1- Mittelwerte wieder: 0,01 bei der aktuellsten Operation versus 0,749 bei der Voroperation.

Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu anderen Studien. In einer Untersuchung von Ekramullah et al. (1996) ergab der Vergleich des MIB1- Index bei denselben Patienten aus der ersten und zweiten Operation keinen nennenswerten Unterschied. Unsere Studie ist jedoch nicht die einzige, die eine fehlende Übereinstimmung von MIB 1 bei der Erstoperation und der Zweitoperation festgestellt hat. Bei einer anderen Tumorart (Mamma-Ca) z.B. korrelierte bei 25 Patienten das Rezidiv ebenfalls nicht mit den Ki-67- Werten der Voroperation (Lelle 1990).

Lägen die Werte aus der 2. Operation niedriger als bei der ersten, wofür unsere Befunde sprechen könnten, müßte man von einer Veränderung des Tumors hinsichtlich seiner Proliferationsaktivität ausgehen. Dies erscheint eher unwahrscheinlich, so daß der unsicheren Reproduzierbarkeit von MIB 1 methodischer Ursprungs zugrunde liegen kann.

4.3.2.6. MIB 1 und weitere erhobene Daten

In dieser Studie korrelierten höhere MIB1-Werte mit einem höheren Lebensalter des Patienten bei der 1.Operation (sig. 0.032, Spearman Korrelation; n=28, sig. 0.039, Spearman Korrelation; n=32). Unter Einbeziehung der MIB1-Höchstwerte bei Tumormaterial aus verschiedenen Operationen ergibt sich jedoch keine signifikante Korrelation. Diese Tatsache schränkt die Aussagefähigkeit des ersten Ergebnisses ein.

Unser erstes Ergebnis steht im Widerspruch zu der Untersuchung von Yonezawa et al. (1997). Hier war der MIB1-Index bei jungen Patienten (unter 30 Jahren) mit NSA signifikant höher als bei Patienten über 40 Jahre (19-74 Jahre, im Mittel 50,6 Jahre). Eine Erklärungsansatz hierfür könnte die unterschiedliche Altersverteilung der Studien sein. Bei uns waren nur 2 Patienten bei der 1.Operation unter 30 Jahre alt. Eine Arbeit von Abe et al. (1998) widerlegt eine mögliche Verallgemeinerung, daß höhere MIB1 Expressionen mit niedrigeren Lebensalter einhergehen könnten, denn sie wiesen keine erhöhten MIB1- Werte bei Kindern nach.

Wie schon in vorherigen Studien (Kawamoto et al. 1997) korrelierten auch in unserer die MIB1-Werte mit dem anderen untersuchten Proliferationsmarker PCNA, (sig. 0.000, Spearman Korrelation: n=28, sig. 0.000, Spearman Korrelation: n=32). Diese Korrelation beruht auf der Ähnlichkeit der zwei Antikörper. Beide markieren proliferations- assoziierte Antigene, die in der Vorbereitung für die Zellteilung exprimiert werden. Dies bedeutet jedoch nicht, daß Tumorbiopsien die für Ki-67 positiv sind, regelmäßig auch eine positive Färbung für PCNA aufweisen.

Bei der Auswertung der Färbereaktion zeigte sich, daß die positiven Kernfärbungen für MIB1 stärker und besser von den übrigen negativen Zellkernen abzugrenzen waren als bei PCNA.

Es ergab sich keine Korrelation von MIB 1 und dem präoperativ gemessenen Tumordurchmesser. Dieses Ergebnis stimmt mit den Ergebnissen vorheriger Studienergebnisse überein (Landolt et al. 1987, Kitz et al. 1991, Abe et al. 1997, Zhao et al. 1999).

Kawamoto et al. (1995) bestimmten in ihrer Studie das Tumolvolumen mit einer annähernden Formel: Höhe* Breite*Länge/2. Sie konnten ebenfalls keine Korrelation zu MIB1 herstellen. Da sich NSA auch sehr langsam wachsend zu großen Tumoren entwickeln können, ohne lange Zeit symptomatisch zu werden, läßt sich die prae-operative Tumorgroße nicht in direkten Bezug zur Wachstumsgeschwindigkeit setzen.

Auch bezüglich des Geschlechts der Patienten und MIB1 konnte keine Korrelation festgestellt werden (Landolt et al. 1987, Kitz et al. 1991).

4.3.3. PCNA

Die Verlässlichkeit von PCNA als Meßgröße für die Proliferationsaktivität von Tumoren ist noch umstritten. Auch in normalen menschlichen Geweben, die proliferierende Zellen enthalten, wie z.B. Keimzellen des Lymphknotens oder der Milz, konnten PCNA- positive Zellkerne nachgewiesen werden (Miyachi-K et al. 1978). Zum Teil war PCNA- Immunoreaktivität auch in Zellen der G0-Phase nachweisbar (Bravo et al. 1987). Dennoch konnte nachgewiesen werden, daß PCNA mit mitotischer Aktivität und Tumorgrad in manchen menschlichen Malignomen korreliert (Robbins et al. 1987) und bei Duodenaltumoren z.B. ebenfalls mit der Prognose der Patienten (Goldblum und Appelman 1995) übereinstimmt.

In dieser Studie wurden, wie schon bei MIB1 erläutert, die in vivo gemessene Wachstumsgeschwindigkeit (anhand von MRT-Bildern) und der Zusammenhang mit der PCNA- Expression in Adenomgewebe untersucht. Dadurch sollte geklärt werden, ob PCNA bei NSA als prognostischer Faktor für das biologische Verhalten, insbesondere das Wachstum von Adenomresten eine Relevanz hat.

Zwei Drittel der insgesamt 45 untersuchten NSA waren PCNA- positiv. Der mittlere Wert betrug 1,714 positive Kerne pro HPF. Dies deckt sich mit den Ergebnissen bei verschiedenen Adenomtypen von Krämer et al. (1994).

4.3.3.1. PCNA und Tumorwachstumsgeschwindigkeit

In dieser Studie ergibt sich eine signifikante Korrelation von PCNA- Labelling-Index und der klinischen Wachstumsgeschwindigkeit der NSA (Spearman Correlation, sig.: 0,037). Diese Korrelation berücksichtigt unterschiedliche PCNA- Positivität in verschiedenen Operationen desselben Patienten, wobei jeweils der höchste PCNA- Wert gezählt wurde.

Diese Ergebnisse sprechen somit für eine statistische Relevanz des Proliferationsmarkers PCNA bezüglich der klinisch gemessenen Wachstumsgeschwindigkeit im Gegensatz zu MIB1.

Sie bestätigen eine Studie von Kawamoto et al. (1995), die ebenfalls einen Untersuchungsansatz in dieser Richtung unternahmen und eine erhöhte PCNA- positive Zellrate bei Patienten mit schnellem Wiederwachstum fanden. Es handelte sich bei deren Studie um eine gemischte Gruppe von 43 hormon-sezernierenden und nicht-hormon-sezernierenden HA. In der Gesamtgruppe befanden sich jedoch nur 3 Fälle mit schnellem Wiederwachstum in dem definierten Zeitraum von 2 Jahren. Durch die geringe Fallzahl ist die Aussagekraft ihrer Ergebnisse jedoch als eingeschränkt zu betrachten.

Aus der statistischen Gesamtwertung wurde die Gruppe der fraglichen Tumorreste (n=4), in der wir klinisch kein Tumorwachstum feststellen konnten, ausgeschlossen. Bei diesen zeigte sich in 3 von 4 Fällen eine positive Kernfärbung für PCNA. Dies steht nicht im Widerspruch zu den diskutierten Ergebnissen, da wir davon ausgingen, daß die praeoperativen großen Tumoren entsprechend schnell gewachsen sein könnten, wir ihnen aber in der späteren Untersuchung postoperativ keine Wachstumsgeschwindigkeiten zuweisen konnten.

Bei der mehr oder weniger willkürlichen Unterteilung der Tumoren in die drei Wachstumsgruppen: langsam, moderat und schnell zeigte sich ein Anstieg in der Höhe der PCNA- Expression (Mittelwerte) mit zunehmender Wachstumsgeschwindigkeit (Tab. 21).

Eine allgemeingültiger Index für schnelles Wachstum ist jedoch aufgrund der hohen Standardabweichung nicht festlegbar. Es ist erwähnenswert, daß nur ein Tumor der schnellwachsenden Gruppe keine PCNA-Färbung zeigte.

Unsere Ergebnisse bezüglich stehen im Widerspruch zu denen von Ekramullah et al. (1996). Ihr Studienansatz war, wie schon beim MIB1 diskutiert, unserem sehr ähnlich. Dabei konnte keine Korrelation von PCNA und der Tumorverdopplungszeit im Gegensatz zu MIB 1 hergestellt werden. In der Durchführung unterscheidet sich Ekramullahs Studie durch die Zellkern- Analyse mit Hilfe eines Computers (Mac SCOPE). In unserer Studie erfolgte die Beurteilung der positiven und negativen Zellkerne durch eigenes Auszählen. Außerdem unterscheiden sich unsere Studie noch in einem zweiten Punkt bezüglich der Auswertung. Wie bei uns gab es auch bei Ekramullah (1996) eine Diskrepanz in der PCNA- Expression bei Patienten, bei denen Material von mehr als einer Operation untersucht wurde. Dies wurde jedoch bei Ekramullah nicht weiter berücksichtigt. In unserer Studie führten wir aus diesem Grund als zusätzliche Größe ein, den höchsten PCNA- Wert bei mehrfachoperierten Patienten ein. Unter dieser Bedingung korrelierte die PCNA- Expression mit der klinischen Wachstumsgeschwindigkeit. Der Vergleich der klinischen Wachstumsgeschwindigkeit mit dem PCNA- Index lediglich aus der aktuellsten Operation ergibt in dieser Studie ebenfalls keine signifikante Korrelation.

Es muß weiterhin offen bleiben, ob PCNA als Proliferationsmarker bei NSA klinisch relevant verwendbar ist. Unsere Ergebnisse sprechen in diese Richtung und dafür, daß eine Untersuchung an noch größeren Kollektiven mit einheitlichen experimentellen Bedingungen sinnvoll wäre.

4.3.3.2. PCNA und Rezidive

Wie schon bei dem Proliferationsmarker MIB1 fiel auch hier bei der PCNA-Untersuchung von Tumormaterial bei unterschiedlichen Operationen desselben Patienten auf, daß die Tumorbiopsien kein einheitliches Muster aufwiesen: Die Rezidive waren zum Teil PCNA- negativ, während bei der Voroperation eine positive Kernfärbung für PCNA nachweisbar war. 19 Patienten waren zum Zeitpunkt der Studie bereits mehr als einmal operiert. Der mittlere PCNA- Index betrug bei ihnen 0,902 mit einer SD von 1,835 (PCNA- Höchstwerte im Mittel 1,838 mit einer SD von 2,445). Der Mittelwert bei Patienten, die nur einmal operiert wurden, lag bei 0,971 mit einer SD von 0,091. Bei dem Vergleich der PCNA- Werte von Patienten mit nur einer Operation mit den PCNA- Werten von Patienten mit mehr als einer Operation ergab sich nach Mann- Whitney kein statistisch signifikanter Unterschied.

Wie schon bei dem Proliferationsmarker MIB1 muß man den Vergleich von mehr als einmal operiert versus einmal operiert jedoch kritisch hinterfragen, denn man definiert ein

Tumorrezidiv durch erneutes Tumorwachstum aber auch einfach Operierte wiesen hier ein erneutes Tumorwachstum auf.

Die Ergebnisse aus vorhergegangenen Studien bezüglich PCNA- Immunoreaktivität und Tumorrezidive sind kontrovers. So ergab eine Untersuchung von Kraemer et al. (1993) keine signifikante Korrelation von PCNA und Rezidiven zu Nicht-Rezidiven. Die PCNA- Durchschnittswerte bei nicht- rezidivierenden Adenomen lagen bei 0.85 (Kerne pro HPF), während 3 Rezidive 1.6 aufwiesen und 4 Adenome, die später innerhalb von 3 Monaten bis 8 Jahren rezidierten, 3.1 PCNA-positive Kerne/ HPF zeigten.

In einer Studie von Hsu et al. (1993) wurde die PCNA- Immunoreaktivität bei 62 HA (gemischte Gruppe aus endokrin- aktiven und nicht-hormonsezernierenden) bestimmt. Rezidive wurden definiert als Wiederauftreten hormoneller Hypersekretion bei endokrin- aktiven HA und durch Wiederwachstum mit Folge einer Zweit- Operation bei NSA (im Mittel nach 5,3 Jahren). Als rezidivfreie HA zählten die Autoren eine Remission von mindestens 4 Jahren ohne hormonelle Symptomatik oder Sehstörungen. Dabei ergab sich, daß von den 30 rezidivierenden HA 27 PCNA >5% exprimierten (in wenigstens einer der zwei chirurgischen Proben aus der 1. und 2. OP), 2 hatten einen PCNA- Index <1%. Bei den 32 nicht-rezidivierenden Adenomen hatten 3 einen PCNA- Index >5%, 17 hatten 0% und 8 zeigten <1%. Diese Ergebnisse sprachen somit dafür, daß ein hoher PCNA- Index mit einem kürzeren Rezidiv- freien Intervall assoziiert sei.

Die Resultate von Hsu et al. (1993) können wir in unserer Studie nachvollziehen. So zeigten bei uns schnellerwachsende NSA einen höheren PCNA- Index. Verbleibt dann postoperativ ein Tumorest, so ist anzunehmen, daß dieser Rest im Sinne eines kürzeren symptomfreien Intervalls schneller rezidivieren könnte.

4.3.3.3. PCNA zu unterschiedlichen Operationszeitpunkten

Bei 11 Patienten von 19 mehrfachoperierten Patienten stand von mindestens 2 Operationen Tumormaterial zur immunhistologischen Untersuchung zur Verfügung. Dabei waren die PCNA- Indizes bei der Nachoperation zum Teil negativ, während sie in der Voroperation positiv waren (s. Anhangsliste). Diese Diskrepanz spiegelt sich auch in der Berechnung der Mittelwerte wider: 0,269 (SD 0,349) bei der aktuellsten Operation versus 1,135 (SD 2,223) bei der Voroperation.

Die Patienten wurden zwischen den einzelnen Operationen weder bestrahlt noch medikamentös behandelt, so daß von einer Änderung des Tumorverhaltens durch diese Faktoren nicht ausgegangen werden kann. Die Durchführung der Versuche zum gleichen Zeitpunkt und unter gleichen Versuchsbedingungen spricht nicht für einen methodischen Fehler. Die Übereinstimmung dieses Ergebnisses mit MIB1 und die Tatsache, daß das Tumormaterial in unterschiedlichen Pathologien fixiert wurde, kann ein Einfluß der Fixierung nicht ausgeschlossen werden.

4.3.3.4. PCNA und Invasivität

Ebenso wie bei MIB 1 ergab sich in unserer Studie keine signifikante Korrelation zwischen der PCNA-Expression und der Invasivität der Tumoren. Obwohl die PCNA- Höchstwerte mit der klinischen Wachstumsgeschwindigkeit und die Wachstumsgeschwindigkeit wiederum mit der Invasivität korrelierte, konnte keine Korrelation zwischen der PCNA- Expression der Höchstwerte und der Invasivität festgestellt werden. **Vergleicht man die Mittelwerte, so ist lediglich als Tendenz ein etwas höherer PCNA- Mittelwert für die invasiven als für die nicht- invasiven NSA zu beobachten: Unter Einbeziehung der PCNA- Höchstwerte betragen die Mittelwerte: 1,153 (SD 2,308) zu 1,419 (SD von 1,839) /nicht- invasiv zu invasiv.**

Bei der weiteren Unterteilung der Invasivität in „invasiv“ und „stark invasiv“ ergaben sich die höchsten PCNA- Durchschnittswerte für die stark invasiven Tumoren (Tabelle 24). Die hohe Standardabweichung schränkt die Aussagefähigkeit jedoch wieder ein. Im Einzelfall bedeutet eine Negativität für PCNA nicht auch ein Fehlen der Invasivität. So zeigt in dieser Studie ein Fall, von insgesamt 5 stark invasiven Tumoren (Abb. 5, Fall 16) mit ausgeprägter Invasivität keine PCNA-Zellkernfärbung.

Unser Ergebnis deckt sich mit den Ergebnissen vorangegangener Studien. So konnten Gandour-Edwards et al. 1995 und Kawamoto et al. 1996 ebenfalls keine statistisch signifikante Korrelation zwischen PCNA- Expression und Invasivität feststellen.

Die fehlende statistische Korrelation von PCNA, sowie auch MIB 1 und der Invasivität in dieser Studie, sprechen dafür, daß andere zuverlässige Marker zur immunhistochemischen Beurteilung der Invasivität benötigt werden, um Aussagen über die biologische Aggressivität von HA zu machen und dies prognostisch einsetzen zu können.

4.3.3.5. PCNA und p53

Eine Korrelation zwischen p53 (negativ/positiv) und dem Proliferationsmarker PCNA war nach Mann-Whitney-U: (0.0027, 2-tailed p) gegeben. Die p53- positiven Tumoren zeigten im Mittel eine höhere PCNA- Expression ($2,442 \pm 1,796$) als p53- negative ($0,594 \pm 1,374$). **Zu dem Verhältnis von PCNA und p53 gibt es bisher noch keine vergleichende Studien.**

In diesem Zusammenhang ist zu diskutieren, daß bei unseren Versuchen p53 nur invasive Tumoren markierte. Damit zeugte p53 von Nutzen, um aggressivere NSA zu identifizieren.

Es bestand jedoch keine signifikante Korrelation zwischen der Invasivität und PCNA. Somit muß eine Erklärung für dieses Phänomen offen bleiben.

4.3.3.6. PCNA und weitere erhobene Daten

In dieser Studie ergab sich, wie auch bei MIB 1, keine Korrelation der PCNA- Expression mit der präoperativen Tumorgroße. Dies entspricht den Studienergebnissen von Kawamoto al. (1995). Die

Frage nach der Relevanz der prae-operativen Tumorgröße bezüglich der Wachstumsaktivität wurde schon bei den Ergebnissen von bei MIB 1 diskutiert. Die Tatsache, daß NSA auch sehr langsam wachsend sich zu großen Tumoren entwickeln können, spricht gegen einen zwangsläufigen direkten Bezug der Tumorgröße zur Wachstumsgeschwindigkeit.

Bei der weiteren Unterteilung der NSA in immunhistologische Untergruppen war auffällig, daß gonadotrope Adenome höhere Mittelwerte für PCNA aufwiesen als Nullzelladenome (Tabelle 26). Ein statistisch signifikanter Unterschied ergab sich nach Mann-Whitney-U jedoch nicht. Die Bedeutung dieses Untersuchungsergebnisses bleibt unklar, zumal Nullzelladenome im Mittel eine etwas höhere Wachstumsgeschwindigkeit hatten als gonadotrope Adenome (3,4mm/Jahre zu 2,1mm/Jahr).

Als ein weiterer Bezugspunkt wurde das Lebensalter der Patienten mit der PCNA- Expression korreliert. Dabei ergab sich zwischen dem Alter der Patienten bei der 1.Operation und der PCNA- Expression nach Spearman eine signifikante Korrelation. Ältere Patienten wiesen höhere PCNA- Werte auf. Dieses Ergebnis ist jedoch kritisch zu betrachten. Unter Einbeziehung der PCNA- Höchstwerte bei mehrfachoperierten Patienten korrelierte das Alter des Patienten nicht mehr mit den PCNA-Werten. Da es sich somit um keine durchgehende Korrelation handelt, läßt sich diese nicht verallgemeinern. Weiterhin konnte kein unterschiedliches Verhalten in der Expression von PCNA bei männlichen und weiblichen Patienten festgestellt werden.

4.3.4. P53- Protein

Auf der Suche nach einem weiteren biologisch relevanten und prognostisch informativen Marker untersuchten wir in dieser Studie bei nicht-hormon-sezernierenden Hypophysenadenomen die immunhistochemische Expression von p53.

Die Mutation von p53 ist eine der häufigsten festgestellten genetischen Veränderungen in menschlichen Tumoren. Das Gen ist vor allen in malignen Tumoren deletiert/oder mutiert (Levine et al. 1991); so z.B. in 70% von Kolonkarzinomen (Cunningham et al. 1992). Im Fall der Kolonkarzinome konnte der direkte Zusammenhang zwischen Genmutation und immunhistochemischer Anhäufung im Tumorgewebe nachgewiesen werden. Für ein breites Spektrum an Karzinomen, z.B. Mamma (Thor et al. 1992), Lunge (Carbone et al. 1994) und Kolon (Kaklamanis et al. 1993), korrelierte eine Anhäufung von immunhistochemisch nachweisbaren p53 als Marker für klinisches oder biologisch aggressives Verhalten.

Bei Hypophysenadenomen konnte ebenfalls in einzelnen vorangegangenen Studien eine immunhistochemische Expression von p53 nachgewiesen werden (Levy et al. 1994, Buckley et al. 1995, Thapar et al. 1995, Abe et al. 1998, Schreiber et al. 1999).

4.3.4.1. P53 und Invasivität

In dieser Studie wurde bei insgesamt 7 der 45 NSA (15,6%) p53 immunhistochemisch nachgewiesen. Alle 7 Tumoren waren zumindest bei einer Operation invasiv gewachsen. Die Invasivität der Tumoren wurde mit Hilfe der Kombination aus intraoperativer Beurteilung und des MRT- Bildes beurteilt.

Bei einem konnte bzgl. der Invasivität bei der Erstoperation keine sichere Aussage getroffen werden (Operation in einem auswärtigen Krankenhaus). Dieser Tumor war bei der nachfolgenden Operation sicher invasiv, dennoch entschlossen wir uns, diesen bei den statistischen Berechnungen unberücksichtigt zu lassen.

Bezugnehmend auf die aktuellste Operation des jeweiligen Patienten wurde bei 5 von 32 (15,6%) der Tumorpräparate p53 nachgewiesen. Insgesamt waren 22 Tumoren invasiv, 9 Tumoren nicht- invasiv und einer konnte nicht sicher beurteilt werden; d.h. 18,8% der invasiven Tumoren waren p53- positiv. Bezieht man alle untersuchten Biopsien ein, so erhöht sich die Zahl der p53- positiven und invasiven Tumoren auf 27,2% (6 von 22).

Damit konnte in dieser Untersuchung nachgewiesen werden, daß eine p53- Expression, wenn auch bei NSA eher selten, nur bei biologisch aggressiveren Varianten, d.h. bei invasiven Adenomen auftritt.

Im Rückschluß bedeutet eine p53- Negativität jedoch keine Entwarnung für den Patienten, denn nur 18,8% der invasiven Tumoren wiesen eine positive Kernfärbung auf. Dieses Ergebnis deckt sich mit den vorangegangenen Studien von Buckley et al. (1995) und Thapar et al. (1995). In beiden Untersuchungen wurden ebenfalls nur invasive HA mit p53 markiert, sowie eine weitere Studie im gleichen Labor wie unsere (Schreiber et al. 1999). So sprechen diese Ergebnisse für eine hohe Spezifität von p53 als Invasivitätsmarker, jedoch mit einer geringeren Sensitivität, da nur bei ca. bei 20% der invasiven Tumoren p53 nachgewiesen werden konnte.

Die Frage, ob bei p53- positiven Tumoren das Ausmaß der Invasivität stärker sein könnte als bei p53- negativen Tumoren, wurde in vorangegangenen Studien nicht behandelt.

In Hinblick auf diese Fragestellung wurden in dieser Untersuchung die Tumoren bezüglich ihrer Invasivität erneut klassifiziert und in 3 Gruppen unterteilt: nicht- invasive, invasive und stark invasive.

Unter Berücksichtigung aller untersuchten Biopsien bei mehrfachoperierten Patienten kann festgestellt werden, daß die stark invasiven Tumoren mit 50% häufiger markiert werden als „nur“ gering invasive Tumoren (22,2%). Dies bedeutet, daß Patienten mit p53- positiven NSA mit besonderer Sorgfalt postoperativ weiterbetreut werden müssen. Ein weiterer Schritt in der Überlegung wäre dann eine routinemäßige immunhistochemische Untersuchung von p53 und die Berücksichtigung des Ergebnisses in der Frage der frühzeitigen postoperativen Strahlentherapie bei Nachweis eines Tumorrestes.

Abe et al. (1998) fanden entsprechend bei einem von 5 pädiatrischen NSA Positivität für p53, der durch ungewöhnlich ausgedehntes Tumorstadium charakterisiert war.

4.3.4.2. P53 und die klinische Wachstumsgeschwindigkeit

Bei unserer Untersuchung ergab sich keine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Wachstumsgeschwindigkeit in mm/Jahr und der p53- Expression bei den Tumoren mit meßbarem Wachstum (n=28, Mann-Whitney U, two-tailed p 0,58). Im Mittel betrug die Wachstumsrate der p53- positiven NSA 3,34 mm/Jahr (n=5, SD 2,12). Die mittlere Wachstumsrate der p53- negativen NSA lag mit 2,64 mm/Jahr nicht statistisch signifikant niedriger (n=23, SD 1,88).

Bei den 28 Adenomen, für die man eine Wachstumsgeschwindigkeit errechnen konnte, ergab sich im Mann-Whitney-U eine Korrelation zwischen Wachstumsgeschwindigkeit und Invasivität: p= 0.039 two-tailed p.

So können wir in dieser Studie feststellen, daß ein statistisch signifikante Korrelation zwischen Wachstumsgeschwindigkeit und Invasivität besteht und nur invasive NSA p53 exprimieren. Trotzdem ist kein direkter Rückschluß auf den statistischen Zusammenhang zwischen p53 und klinischer Wachstumsrate möglich.

Eine p53- Expression scheint mit einem biologisch aggressiveres Verhalten zu korrelieren, wobei sich diese durch Invasivität und nicht durch klinischen Tumorstadium kennzeichnet. Denn bezüglich der klinischen Wachstumsrate der Tumoren ergaben unsere Berechnung keine Korrelation mit der p53 -Expression.

4.3.4.3. Zuverlässigkeit von p53

Zur Beurteilung der Aussagefähigkeit von p53 bei HA sollen an dieser Stelle verschiedene andere Studienergebnisse mit in die Diskussion einbezogen werden: Wie oben erwähnt, wiesen sowohl Schreiber et al. (1999), Thapar et al. (1995) als auch Buckley et al. (1995) eine p53- Expression ebenfalls nur bei invasiven Hypophysenadenomen nach.

Buckley et al. (1995) untersuchten in ihrer Studie bei 157 HA unterschiedlicher Adenomtypen, ob die p53- Protein- Akkumulation ein Faktor in der Ätiologie von benignen oder eher invasiven HA sein könnte. Dabei verwendeten sie drei p53- spezifische Antikörper, um erhöhte Expression sowohl des Wildtyps als auch von Mutanten des p 53- Proteins festzustellen zu können (CM-1, DO-7 und Pab 1801). Unterteilt wurden die Tumoren in die Gruppen „aggressiv“ = invasive Adenome und Karzinome mit radiologisch gesicherter Knochendestruktion (n=45) und „nicht-aggressiv“ = Makroadenome > 10mm und Mikroadenome ohne Invasivität (n=98) nach dem modifizierten Hardy Grading. 6 von 26 invasiven NSA zeigten eine p53-Expression, alle anderen 33 nicht-invasiven hingegen waren negativ. Bei den Cushing- Patienten waren 16 von 32 nicht-invasive, 3 von 5 invasiven und 2 von 14 hyperplastischen positiv. Alle Adenome bei Akromegalie und alle Prolaktinome, ebenso wie die 17 normalen postmortalen Hypophysen, waren p53- negativ.

In der Schlußfolgerung gehen die Autoren davon aus, daß die p53- Protein- Akkumulation vielleicht bei der Entstehung eines Cushingadenoms und bei der Progredienz von NSA zum invasiven Status eine Rolle spiele.

In der Studie von Thapar et al. (1995) wurde bei 70 HA (gemischte Adenomtypen) und 7 Karzinomen der Zusammenhang von p53- Expression und biologisch aggressivem Verhalten untersucht (mit Hilfe von DO-7). Alle 7 Karzinome und 5 von 33 invasiven Adenomen waren p53- positiv. Die Wachstumsfraktion bei p53-positiven Tumoren, abgeleitet vom Ki-67- LI, war höher als bei den p53- negativen: 10.41 zu 2.51. Berücksichtigt man nur die Adenome, ist der Unterschied 8.3 zu 2.51.

Die Autoren kamen zu dem Schluß, daß p53 als Marker zur Erkennung von biologisch aggressivem Verhalten nützlich sei. Aber p53 könne nicht als Indikator für eine pathophysiologisch relevante genetische Veränderung, die zur Entwicklung und/ oder zur Tumorprogression führe, gelten.

In diesem Zusammenhang wäre interessant gewesen, ob sich in einer Verlaufsbeobachtung die fünf p53-positiven Adenome klinisch aggressiver erwiesen hätten als die 28 p53-negativen Adenome.

Zur Überprüfung der Aussagekraft von p53 und aggressiveren Varianten entdeckten Pernicone et al. (1997) bei 57 % (von insgesamt 15) Hypophysenkarzinomen eine p53- Expression, bei den Metastasen war in 88 % der Fälle p53 nachweisbar.

Bei einer großen Anzahl NSA (n=160) fanden Schreiber et al. (1999) ebenfalls nur bei invasiven NSA eine p53-Expression. Insgesamt zeigten 20% der invasiven Tumoren eine Färbung für p53.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen konnten verschiedene andere Studien bei ihren Untersuchungen von HA keinen einzigen p53- positiven Tumor nachweisen (Sumi et al. 1993, Gandour-Edwards et al. 1995, Lübke et al. 1995, Wellhausen et al. 1998).

Sumi et al. (1993) konnten bei 40 HA unterschiedlicher Histologie mit insgesamt 4 invasiven Tumoren keine Expression von p53 finden. Bei einer angenommenen Rate von <20% der invasiven Tumoren mit p53-Expression könnte sich die Negativität dieser Studie durch den zu kleinen Anteil der invasiven Tumoren erklären.

Lübke et al. (1995) konnten ebenfalls in keinem Fall von 19 ACTH-Adenomen (10 nicht-invasive und 9 invasive) und 2 Hypophysenkarzinomen p53 nicht nachweisen. Hierfür könnte als Ursache die fehlende Behandlung mit der Mikrowelle in Betracht kommen, die im Zuge der Antigen- Retrieval-Technik bei p53 angeraten ist.

In einer weiteren Studie auch in der Pathologie des Marienkrankenhauses, wie unsere Studie durchgeführt, untersuchten Wellhausen et al. (1998) 18 Prolaktinome und 14 NSA, von denen 16 invasiv gewachsen waren. Sie konnten mittels IHC trotz Mikrowellenbehandlung keine p53-Expression feststellen. Sie verwendeten im Gegensatz zu unserer Studie einen anderen Antikörper: DO1, während wir DO 7 benutzten.

Bei der Studie von Gandour-Edwards et al. (1995) waren alle 10 invasiven In Richtung des Sinus sphenoidalis und alle 10 nicht-invasiven HA waren p53- negativ. Hierbei handelte es sich um eine gemischte Gruppe aus 12 NSA und 8 Prolaktinomen. Sie verwendeten wie wir den Antikörper DO 7 und benutzten die Mikrowelle, so daß die Methodik eher nicht als Ursache für den fehlenden Nachweis der p53- Expression anzunehmen ist. Die kleine Anzahl der untersuchten Fälle kann bei einer insgesamt geringen Prävalenz zu diesem Ergebnis geführt haben. Damit bleiben die Gründe für die unterschiedlichen Ergebnisse offen.

Zur Beurteilung der Zuverlässigkeit von p53 muß man die unterschiedlichen Ergebnisse berücksichtigen. Im nachhinein läßt sich bei einigen Studien ein fehlender Nachweis von p53 durch einen geringen Anteil von invasiven HA oder durch fehlende Verwendung der Antigen-Retrieval-Technik erklären. Als Vorbehandlung zur p53- Detektion ist die Mikrowelle empfohlen (s. Herstellerhinweis).

Auch bei der Verwendung von einheitlichen Protokollen und der Antigen-Retrieval-Technik ist ein einheitlicher Standard dennoch schwer zu erreichen. So beeinflussen doch Länge der Formalinfixierung des Gewebes und „Retrieval-Lösungen“ erheblich die Ergebnisse (Taylor et al. 1994). Sogar innerhalb unserer Studie, bei der die immunhistochemischen Untersuchungen der Tumorpräparate einheitlich durchgeführt wurden, zeigten sich Diskrepanzen in den Ergebnissen bei den Adenompräparaten aus unterschiedlichen Operationen bei demselben Patienten. Dies könnte an der Tatsache liegen, daß die Präparate in unterschiedlichen Instituten nicht völlig gleichartig fixiert wurden.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß p53 ein Marker ist, der nur in invasiven HA nachgewiesen wurde. Nach unseren Studienergebnissen gilt dies auch für NSA.

In unserer Studie sollte darüber hinaus geklärt werden, welche Relevanz p53 für den Kliniker hat, d.h. ob p53 neben der intraoperativen Beurteilung und der postoperativen Bildgebung als nützlicher Marker anzusehen ist, um die klinisch biologische Aggressivität eines Tumors zu beurteilen und daraus Konsequenzen ziehen zu können.

Bei unserer Studie und sowie auch bei Thapar et al. (1995), Buckley et al. (1995) und Schreiber et al. (1999) zeichnete sich p53 durch eine hohe Spezifität mit einer geringeren Sensitivität aus. Dies bedeutet im Einzelfall, daß eine p53- Negativität keine Entwarnung für den Patienten heißen muß. Exprimiert ein Adenom p53, ist es ratsam, daß diese Tumoren bei fraglicher Operationsradikalität postoperativ besonders engmaschig nachkontrolliert werden sollten. Denn eine weitere Aufschlüsselung der Invasivitätsgrade ergab in unserer Studie, daß stark invasive NSA mit einer Häufigkeit von 50% eine p53 Expression aufwiesen.

Als ein weiteres Merkmal für klinische Aggressivität zusätzlich zur Invasivität, kann man besonders schnelles Tumorwachstum ansehen. Hierbei ergab sich allerdings in unserer Studie kein statistischer Zusammenhang zwischen der klinischen Wachstumsgeschwindigkeit der NSA und der p53- Expression.

4.3.5. Insulin-like growth Factor 1 (=IGF 1)

IGF1 und 2 sind homologe und zirkulierende Polypeptide, die in einem weiten Spektrum von Zellen die DNA- Synthese stimulieren (Russelm und Van Wyk 1989). Als Progressionsfaktoren erlauben sie den Übergang der Zelle von der G1- zur S- Phase (=Synthesephase) im Zellteilungszyklus der Zelle. Als lokaler Wachstumsfaktor durch auto-oder paracrine Mechanismen (D'Ercole et al. 1981) gilt IGF 1 als ein möglicher Wachstumsfaktor bei der Entstehung von Hyperplasien und letztlich hierdurch auch als Faktor einer möglichen Tumorentstehung. Studien haben gezeigt, daß IGF 1 sowohl in der normalen Zelle als auch in Tumorzellen der Hypophyse immunhistochemisch nachgewiesen werden kann (Alberti et al. 1991).

In dieser Studie sollte geklärt werden, ob die Expression von IGF 1 zu dem Grad der Tumorprogredienz, in Form der klinisch gemessenen Wachstumsgeschwindigkeit, korreliert.

Insgesamt konnten wir bei 85% der NSA eine zytoplasmatische Reaktion von IGF1 feststellen. In einer weiteren Unterteilung zeigten 34 eine schwache und 4 eine moderate Reaktion (n=45). Keines der Adenome ließ sich insgesamt als stark positiv beurteilen.

Eine positive Korrelation zwischen der Tumorwachstumsgeschwindigkeit und der Expression von IGF 1 konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden.

Des weiteren konnte auch keine Korrelation von Invasivität und IGF1 festgestellt werden (chi-Quadrat nach Pearson 0,329).

Bei der Auswertung der deskriptiven Statistik war auffällig, daß der Grad der IGF1- Expression mit dem Lebensalter der Patienten bei der 1.Operation abnimmt.

Die Mittelwerte der Proliferationsmarker MIB1 und PCNA nahmen ebenfalls mit zunehmender Positivität von IGF1 ab.

Somit konnten wir In unseren immunhistochemischen Untersuchungen nicht nachweisen, daß IGF1 und die Tumorwachstumsgeschwindigkeit korreliert und damit eine Rolle im Sinne der Tumorprogredienz bei NSA spielt.

Ob der Nebenbefund bezüglich des Alters der Patienten bei der 1. Operation und die abnehmende Expression im Alter eine pathophysiologische Ursache haben könnte, müßte in nachfolgenden Studien weiter untersucht werden.

Verschiedene Studien beschäftigten sich mit der Expression und der möglichen Funktion von IGF1 bei HA. Alberti et al. (1991) wiesen IGF1 immunhistochemisch in Hypophysenzellen nach. Alle 5 normalen Autopsiehypophysen und 20 Hypophysenadenome (nur hormon-sezernierende) zeigten eine homogene, fein granulierte und diffuse Zytoplasmafärbung in 60-100% der Zellen. Nach Meinung der Autoren könnte dies für eine Beteiligung von IGF 1 durch einen autocrinen und/oder paracrine Mechanismus an der Entstehung von Hypophysentumoren sprechen. Nicht-sezernierende Adenome wurden in dieser Studie nicht untersucht, und die hormon-sezernierende Adenome zeigten lediglich einen höheren Prozentsatz positiver IGF1- Zellen. Damit fehlt ein sicherer Beweis in Bezug auf die Rolle von IGF 1 und die Entwicklung von HA. Es bleibt weiterhin offen, ob IGF 1 hinsichtlich der Hormonsezernierung nicht eine größere Rolle spielen könnte.

Andere Untersuchungsgruppen versuchten den Einfluß von IGF1 auf Tumorzellen der Hypophyse in in-vitro- Untersuchungen zu klären (Atkin et al. 1993 und Renner et al. 1993).

Atkin et al. (1993) stellten bei HA, die FSH, LH und α -Subunits sezernieren, durch Zugabe von IGF1 eine Zunahme der Lebensfähigkeit und der Anzahl von glycoproteinsezernierenden- Tumorzellen, die in die S-Phase eintreten, fest.

Renner et al. (1993) wiesen nach, daß IGF 1- Antikörper im Tumormedium von NSA die Wachstumsaktivität reduzierten, dies kann auf die Präsenz von IGF 1 als Wachstumsfaktor hindeuten. Dieser in vitro nachgewiesene Einfluß von IGF1 auf Hypophysenadenome wirft die Frage auf, ob die Tumoren auch in vivo IGF1 produzieren, das dann als Wachstumsfaktor agieren könnte.

Eine Studie von Glick et al. (1995) ergab im Liquor bei Patienten mit Hirntumoren und Hypophysentumoren mittels Radioimmunoassay signifikant erhöhte Spiegel von IGF1 und 2. Dieses Ergebnis legt die Vermutung nahe, daß Tumorzellen sowohl IGF1 als auch IGF2 freisetzen. Allerdings waren bei 5 Patienten mit nicht-sezernierenden Hypophysenadenomen die Liquorspiegel von IGF1 im Gegensatz zu den erhöhten IGF2 Spiegel jedoch ähnlich zu der normalen Kontrollgruppe, so daß die Gruppe der NSA gesondert betrachtet werden muß.

Die Frage, welche Rolle IGF1 als Wachstumsfaktor bei normalen Hypophysen und bei Adenomen spielt und ob ein Zusammenhang bezüglich der unterschiedlichen Hormonproduzierenden Zellen besteht, versuchten verschiedene vorangegangenen Studien zu klären.

Während Ren et al. (1994) keine Kolo-kalisation mit hormon-sezernierenden Zellen feststellen konnten, wiesen Kontogeorgos et al. (1994) eine Assoziation von IGF1 mit GH und glycoproteinproduzierenden Zellen in normalen Hypophysen nach. Wellhausen et al. (1998) bemerkten eine schwächere IGF1- Expression in NSA im Gegensatz zu Prolaktinomen.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß in dieser Studie ein Nachweis von IGF1 bei 85% der NSA gelang, wobei zum Teil auch Zellen des Hypophysenvorderlappens eine Zytoplasmafärbung aufwiesen. Eine Korrelation von IGF1 zur Wachstumsgeschwindigkeit und zur Invasivität konnte nicht nachgewiesen werden, so daß die Rolle von IGF 1 bei NSA ungeklärt bleibt.

4.4. Der Umgang mit Tumorresten/Rezidiven

4.4.1. Radikalität und Resezierbarkeit

Eine prae-operative Beurteilung der Resezierbarkeit und intraoperativen Radikalität wurden in dieser Studie festgehalten. Damit sollte eine mögliche Vorhersagbarkeit von Tumorresten überprüft werden. Die Begutachtung dieser Aussagen erfolgte durch die Auswertung der postoperativen MR-Bildserien. In den wenigsten Fällen konnte ein Tumorrest direkt auf dem ersten MR-Bild sicher festgestellt werden, nur große Tumorreste zeigten sich direkt postoperativ. Ansonsten erfolgte die Identifizierung von Tumorresten erst, wenn sie in den folgenden Aufnahmen an Größe zunahmen. Bei 4 Patienten in dieser Studie wurde postoperativ der Verdacht eines Tumorrestes geäußert, ohne daß sich dieser über einen Zeitraum von Jahren mittels Größenzunahme bestätigt werden konnte. Die Beurteilung sowohl der Resezierbarkeit als auch besonders der erreichten Radikalität erscheint als ein Baustein im Umgang mit Tumorresten sinnvoll. Aber letztere kann nur ein Anhaltspunkt sein, da gerade die Beurteilung der Radikalität den Einsatz einer ausgefeilten Spiegel-oder Endoskoptechnik und viel Erfahrung seitens des Operateurs erfordert. Auch unter diesen Voraussetzungen bleibt die Beurteilung schwierig, dies zeigte sich in dieser Studie in der verbleibenden Anzahl der vom Operateur als fragliche Radikalität angegebenen Fälle (13 von 31). Ebenfalls zu berücksichtigen sind Fehlbeurteilungen. In dieser Studie erweist sich die Vorhersage der Resezierbarkeit in 10 Fällen als richtig und in 7 Fällen als falsch. Bei der Radikalität stimmte die Aussage des Operateurs in 9 Fällen und zweimal erwies sie sich als falsch. An dieser Stelle muß betont werden, daß diese Studie einen anderen Schwerpunkt gesetzt hatte und die Gesichtspunkte nicht ausreichend untersuchen konnte. Somit ist eine Nachfolgeuntersuchung ratsam, um diesen Punkt vollständiger zu beleuchten. So ergab sich bei den mehrfachoperierten Patienten das Problem, daß diese zumeist an auswärtigen Krankenhäusern voroperiert waren, wo aus den Operationsberichten die Frage nach der Radikalität nicht eindeutig nachvollziehbar war, und deshalb jeweils nur die aktuellste Operation berücksichtigt werden konnte. Doch diese Operationen liegen noch zu kurze Zeit zurück, um bei 13 von 31 Patienten eine sichere Aussagen bezüglich des Vorhandenseins von Tumorresten machen zu können.

4.4.2. Postoperative MR-Bildkontrollen

Für die postoperative Betreuung der Patienten spielt der zeitliche Ablauf der MR- Kontrollen eine entscheidende Rolle. Eine enge Kooperation von Operateur, Radiologe, „Hypophysen“-Endokrinologe und Patient sind notwendig, um diese sinnvoll zu gestalten, Tumorreste möglichst frühzeitig zu erfassen und dann das weitere Vorgehen zu planen. In dieser Studie wurde die Wachstumsgeschwindigkeit mittels MR-Bildserien ermittelt und erfolgte zum größten Teil (27 von 32) anhand von vermuteten postoperativen Tumorresten. Dadurch ergaben sich hier charakteristische Bildbeispiele, die für die zeitliche Planung der Kontrollen von Bedeutung sind. Große asymptomatische Tumorreste konnten im MRT innerhalb der ersten 4- 6 Monate festgestellt werden. Auch andere Autoren, wie z.B. Schubiger (1996) raten bezüglich des zeitlichen Ablaufes der postoperativen MR-Kontrollen zu der ersten Aufnahme nach 3-4 Monaten. Er ist ebenfalls der Ansicht, daß wenn hier große Tumorreste bereits entdeckt werden können die Bilder als Ausgangspunkt zum

Vergleich von späteren Veränderungen dienen sollen. Eine frühere Aufnahme ohne klinische Symptome erscheint nicht ratsam, da sich vorher direkte postoperative Veränderungen noch nicht stabilisiert haben. So können sich intraselläre postoperative Hämatome erst innerhalb von 3 Monaten resorbieren. Eine zu frühzeitige Aufnahmen kann eine Abgrenzung von implantierten Gewebe (z.B. Muskel oder Fett) von übriggebliebenen Tumormassen schwierig machen (Teng et al. 1988). Ein einzelne MRT-Untersuchung ist deshalb nicht ausreichend. So erscheint bei Fall 22 (Abb. 6) bei erster Kontrolle postoperativ ein Tumorrest vorhanden zu sein. Eine Kontrollaufnahme 3 Jahre später beweist eine Schrumpfung und nach insgesamt 9 Jahren ist kein Wachstum zu sehen. Wäre der Patient direkt postoperativ bestrahlt worden, hätte man dies als Erfolg der Strahlentherapie gewertet.

Kleine Reste konnten wir frühestens nach 6 Monaten (Fall 27), sehr kleine Reste durch Wachstum innerhalb von 15 Monaten (Abb. 4) nachweisen, ansonsten innerhalb 2 Jahre zum Teil erst nach 5-8 Jahren. Fall 19 kann als Beispiel dienen, daß bei einigen NSA follow-up-Untersuchungen über einen Zeitraum von mehr als 10 Jahren erfolgen müssen. Nach 8 Jahren ist einer Tumorrest zu entdecken, der 17 Jahre postoperativ eine Größe erreicht hat, daß eine erneute Operation geplant werden mußte. So könnte man die Zeiträume der Kontrollen wie folgt wählen: erste Aufnahme innerhalb von 6 Monaten, dann spätestens nach 1-2 Jahren und dann nach 5 Jahren. In dieser Studie gibt es einen Fall (Abb. 5), der dagegen spricht sich an starre Schemata zu halten, denn dieser Tumor zeigte eine ausgeprägte Größenzunahme vom 2. ins 3. postoperative Jahr.

Landolt (1996) zog in die zeitliche Planung der MR-Bilder eine potentielle Tumorverdopplungszeit zur Rate. So ließ sich bei 13 Patienten mit Akromegalie eine Tumorverdopplungszeit zwischen 70 und 1390 Tagen (im Mittel 7 Monate) berechnen. Er empfiehlt die 2. Aufnahme nach 1-2 Jahren anzufertigen, so daß mindestens eine Periode der Tumorverdopplungszeit vollzogen sei. Bei nicht nachweisbaren Tumorwachstum sollten weitere Aufnahmen nach 2, 4 und 8 Jahren erfolgen.

Durch Studien der zeitlichen Verläufe von Bildserien ließ sich feststellen, daß postoperativ nicht jede wie ein Tumorrest aussehende Veränderung später als Tumorrest bestätigt werden konnte. Es können sogar auf nachfolgenden Aufnahmen deutlich Befund- Schrumpfungen sichtbar werden. Bei kleinen Tumorresten kann sich der Verdacht innerhalb von 2 Jahren bestätigen, dies kann aber auch erheblich länger dauern, so daß Nachfolgeuntersuchungen über einen Zeitraum von mehr als 10 Jahren erst zur Klärung führen können.

Bei der Frage nach der zeitlichen Planung einer nötigen Intervention bei Tumorresten muß man die mögliche Gefahr einer zwischenzeitlich auftretenden Sehstörung berücksichtigen.

Ikeda und Yoshimoto (1995) haben u.a. in einer Studie anhand von MRT-Auswertungen die Vorhersagbarkeit von Sehstörungen geprüft. Sie diskutieren, daß eine Sehstörung bei einer Verschiebung des Chiasmas um 13mm über einem Referenzbereich in der coronaren Schichtung erfolgt.

Aus unseren Ergebnissen ergeben sich praktische Nachbeobachtungszeiten, wie folgt: 1. Aufnahme innerhalb von 6 Monaten, dann spätestens nach 1-2 Jahren und schließlich nach 5 Jahren. In dieser Studie gibt es allerdings auch einen Fall (Abb. 5), der dagegen spricht, sich an starre Schemata zu halten, denn dieser Tumor fiel durch ein ausgeprägt schnelles Wachstum vom 2. ins 3. Jahr auf.

4.4.3. Radiotherapie versus erneute Operation

Ein allgemeinen Rückschluß für den Umgang mit Tumorresten, ist in dieser Studie aufgrund der kleinen Fallzahl von n=32 nicht endgültig möglich. Dennoch soll hier anhand einiger Fallbeispiele diskutiert werden, welche Möglichkeiten es für den Patienten gibt, und welche Leitlinien es im individuellen Fall erleichtern, postoperativ Entscheidungen zu fällen.

Die Patienten, die in dieser Studie bestrahlt wurden, haben gemeinsam, daß sie bis auf Fall 1 zweimal operiert bzw. ein Patient viermal. In 4 von 6 Fällen handelte es sich um invasive Tumoren, die alle in den Sinus cavernosus invadierten. Postoperativ konnte bei allen Patienten innerhalb eines kurzen Zeitraumes ein Tumorrest nachgewiesen werden. Die immunhistochemische Untersuchung zeigte bei 3 Fällen eine positive Färbung für MIB1(0,017/ 0,048/ 2,98) und PCNA (0,91/ 2,537/ 7,316) und in 2 Fällen konnte p53 nachgewiesen werden. Bei kleinen Tumorresten auch von nicht-invasiven Tumorresten ist dann der Wunsch des Patienten von entscheidender Bedeutung, zieht dieser zu einem Zeitpunkt, wo der Tumorrest noch nicht an die Sehnervenkreuzung heranreicht eine Bestrahlung einer erneuten Operation vor, so ist die Entscheidung schon gefallen (Fall 1 und Fall 8). In diesen Fällen ist es von größter Bedeutung den möglichen postoperativen Rest frühzeitig bei einer Größenzunahme zu identifizieren, damit der Zeitpunkt einer möglichen Bestrahlung nicht verpaßt wird. **Eine generelle Beurteilung in welchen Fällen bei Tumorresten eine Radiotherapie indiziert sei, hat sich in den letzten Jahren noch nicht etabliert (Plowman 1999, Turner et al. 1999, Lillehei et al. 1998).**

Auch wenn in den letzten Jahren die Technik der Radiotherapie verändert und verbessert wurde, weist sie immer noch das Risiko von Komplikationen, wobei Hypophyseninsuffizienz die häufigste ist, auf (Brada et al. 1993, Tsang et al. 1994 Flickinger 1996, Colao et al. 1998). Deswegen sollten gerade bei NSA, die meisten benigne sind und nicht mit einer Morbidität durch Hormonproduktion einhergehen keine unnötigen Bestrahlungen erfolgen. Die Identifizierung von aggressiveren Varianten der NSA mit Hilfe von immunhistochemischen Untersuchungen könnte als ein Konzept für den postoperativen Umgang mit Tumorresten dienen. So ergab sich in unserer Studie, daß PCNA mit der berechneten Wachstumsgeschwindigkeit und p53 mit der Invasivität korrelierte.

Bei dieser Studie wurden 24 Patienten mehr als einmal operiert. Eine weiterführende Studie, könnte, wie bei der Resezierbarkeit und Radikalitätsfrage schon diskutiert, ein Ausgangspunkt sein, um die Häufigkeit eines weiteren Rezidives nach einer weiteren Operation zu ermitteln. Damit dann auch Zweit-und Drittoperationen alternativ zu einer postoperativen Bestrahlung verglichen werden können, und Daten erfaßt werden, um diese Entscheidung zu erleichtern.

5. Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, Kriterien zur Verbesserung der Beurteilung des Wachstumsverhaltens bei nicht-hormonsezernierenden Hypophysenadenomen (NSA) zu finden. Als wesentliche Methodik wurde dafür die anhand von MR-Bildserien berechnete Wachstumsgeschwindigkeiten mit immunhistochemisch nachweisbaren Markern (MIB1, PCNA, p53 und IGF1) korreliert. Mit einem hierzu entwickelten und leicht reproduzierbaren Verfahren mittels coronarer T1 gewichteter MR-Bilder wurde die Wachstumsgeschwindigkeit in mm/Jahr berechnet. Dies wurde mit Hilfe einer erstmals verfügbaren digitalen Kamera (Casio QV 10) dokumentiert und im Computer gespeichert. Die Berechnung der Wachstumsgeschwindigkeit erfolgte durch die Auswertung von 4 Parametern: 1. der breiteste Tumordurchmesser, 2. Höhe und 3. Breite des Tumors und 4. der im Vergleich am meisten zugenommene Durchmesser bei asymmetrischen Wachstum. Ausgehend von dem Meßwert, der am stärksten zugenommen hatte. Diese Differenz wurde durch die Anzahl der beobachteten Monate dividiert und mit 12 multipliziert, so daß man dann die Wachstumsgeschwindigkeit in mm/Jahr erhielt. Die langsamste meßbare Wachstumsrate lag bei 0,3 mm/Jahr bei einer Beobachtungszeit von 4 Jahren. Die schnellste gemessene Wachstumsgeschwindigkeit lag bei 9 mm/Jahr.

Bei insgesamt 32 Patienten wurden 45 Tumorpräparate (von der aktuellsten Operation und zum Teil aus Voroperationen stammend) immunhistochemisch klassifiziert und dann auf die vier Tumormarker PCNA, MIB1, p53, IGF1 untersucht. Die Unterteilung der NSA in immunhistologische Untergruppen ergab 16 Nullzelladenome, 12 gonadotrope Adenome, 3 onkozytäre Adenome und 1 α -Subunit-Adenom.

Zwei Drittel der NSA wiesen eine positive Kernfärbung für PCNA auf (von 0,013-bis 7,136/pro Gesichtsfeld, im Mittel 1,714). Unter Berücksichtigung des jeweils höchsten PCNA- Labelling-Index (LI) bei mehrfach untersuchtem Tumormaterial ergab sich für PCNA eine signifikante positive Korrelation mit der gemessenen Wachstumsgeschwindigkeit. Der PCNA-LI korrelierte ebenfalls mit dem MIB1-LI. Andererseits konnte jedoch keine Korrelation zwischen MIB1 und der klinischen Wachstumsgeschwindigkeit nachgewiesen werden. Mit diesem Ergebnis läßt sich belegen, daß PCNA bei nicht-hormonsezernierenden HA als Proliferationsmarker zu verwerten ist.

Der weitere Vergleich von PCNA und MIB1 mit klinischen Parametern ergab u.a. keine Korrelation mit der Invasivität, prae-operativen Tumorgröße und Geschlecht der Patienten.

Mit dem Ziel, aggressivere NSA zu identifizieren wurden die Tumorpräparate auf die Expression von p53 untersucht. Dabei konnte nachgewiesen werden, daß p53 nur bei invasiv wachsenden Tumoren auftritt, wenn auch insgesamt nur mit geringer Häufigkeit bei NSA nachweisbar. Nicht-invasive NSA zeigten in keinem einzigen Fall eine p53-Expression. Hinsichtlich der Zuverlässigkeit lag die Markierung von invasiven Tumoren bei 18 % (aktuellste Operation) bzw. 32 % (unter Berücksichtigung aller untersuchten Tumorpräparate). Dies spricht somit für eine hohe Spezifität von p53 bei geringer ausgeprägter Sensitivität. Spekulativ bleibt, ob die geringere Sensitivität als Ursache für die fehlende Korrelation von p53 und der gemessenen Wachstumsgeschwindigkeit gelten könnte. Des weiteren konnten wir eine statistisch signifikante Korrelation zwischen p53-Positivität und MIB1 und PCNA-Expression nachweisen. Andererseits konnte keine positive Korrelation von MIB1 und PCNA-Expression bezüglich Invasivität hergestellt werden, eine Erklärung hierfür könnte die geringe Häufigkeit der p53-Expression sein.

In diesem Untersuchungskollektiv zeigte sich durch eine fehlende Korrelation des IGF1-Expressionsgrades und der Wachstumsgeschwindigkeit kein Hinweis auf eine mögliche Proliferationsfunktion von IGF1 bei NSA. Bei dem Antikörper PTHrP wurde der Versuch unternommen eine immunhistochemische Untersuchungsmethode zu etablieren. Als Positivkontrolle diente ein Hautpräparat. Bei der Untersuchung von 20 NSA-Präparaten fand sich kein positives Ergebnis für PTHrP, so daß von einer weiteren Untersuchung Abstand genommen wurde.

Die Auswertung der MR-Nachuntersuchungen postoperativer Tumorreste erbrachte einen sinnvollen Nachuntersuchungsplan in folgenden Schritten: erste Aufnahme 6 bis spätestens 12 Monate nach der Operation und Wiederholungen einmal jährlich für mindestens 5 Jahre, um festzustellen, ob ein Tumorrest vorhanden ist und wie schnell er wächst. Danach können die Zeitabstände bei fehlendem Wachstum fraglicher Adenomreste vergrößert werden. Eine Kontrollaufnahme nach 8-10 Jahren postoperativ ist ratsam, um äußerst selten beobachtete sehr langsam wachsende Tumoren zu erfassen.

Als praktisches Ergebnis dieser Studie konnte ein System zur Tumorwachstumsbestimmung und digitalen Archivierung erarbeitet werden. Die Untersuchungen ergaben eine statistisch signifikante Korrelation der Wachstumsgeschwindigkeit mit dem PCNA- Färbeindex und eine positive Korrelation der Invasivität mit der p53-Expression. Somit weisen die Ergebnisse daraufhin, daß durch die routinemäßige Anwendung von PCNA und p53 Informationen bezüglich des biologischen Verhaltens von NSA gewonnen werden können und diese für die weitere Betreuung der Patienten von Nutzen sein können.

Literaturverzeichnis

- Abe T, Sanno N, Osamura YR, Matsumoto K (1997): Proliferative potential in pituitary adenomas: measurement by monoclonal antibody MIB-1. *Acta-Neurochir-Wien* 139: 613-8
- Abe T, Ludecke DK, Saeger W (1998): Clinically nonsecreting pituitary adenomas in childhood and adolescence. *Neurosurgery* 42: 744-50
- Abe T, Ludecke DK (1999): Recent primary transnasal surgical outcomes associated with intraoperative growth hormone measurement in acromegaly. *Clin. Endocrinol (Oxf)* 50: 27-35
- Albert VN, Takita LC, de Mesquita MI, Percario S, Maciel RM (1991): Immunohistochemical demonstration of insulin-like growth factor I (IGF-1) in normal and pathological human pituitary glands. *Pathol-Res-Pract.* 187: 541-2
- Alexander JM, Biller BM, Bikkal H, Zervas NT, Arnold A, Klibanski A (1990): Clinically nonfunctioning pituitary tumors are monoclonal in origin. *J-Clin-Invest.* 86: 336-40
- AlvaroV, Touraine P, Raisman-Vozari R, Bai-Grenier F, Birman P, Joubert D (1992): Protein kinase C activity and expression in normal and adenomatous human pituitaries. *Int-J-Cancer* 50: 724-30
- Alvaro V, Levy L, Dubray C, Roche A, Peillon F, Quérat B, Joubert D (1993): Invasive human pituitary tumors express a point-mutated alpha-protein kinase-C. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 77: 1125-9.
- Anniko M, Holm LE, Silfversward C, Tribukait B, Werner S, Wersall J (1981): DNA measurements of human pituitary tumours. *Acta-Otolaryngol-Suppl-Stockh.* 379: 1-28
- Anniko M, Tribukait B, Wersall J (1984): DNA ploidy and cell phase in human pituitary tumors. *Cancer* 53: 1708-1713
- Atkin SL, Landolt AM, Jeffreys RV, Hipkin LJ, Radcliffe J, Squire CR, White MC (1993): Differential Effects of Insulin-like Growth Factor 1 on the Hormonal Product and Proliferation of Glycoprotein-Secreting Human Pituitary Adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 77:1059-1066
- Bartkova J, Lukas J, Strauss M, Barten J (1995): Cyclin D1 oncoprotein aberrantly accumulates in malignancies of diverse histogenesis. *Oncogen* 10: 775-8
- Berelowitz M, Szabo M, Frohman LA (1981): Somatomedin C mediates growth hormone negative feedback by effects at both the hypothalamus and the pituitary. *Science* 212:1279-1281
- Blevins LS, Christy JH, Khajavi M, Tindall GT (1998): Outcomes of therapy for Cushing's disease due to adrenocorticotrophin secreting pituitary macroadenomas. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83: 63-67
- Boggild MD, Jenkinson S, Pistorello M, Boscaro M, Scanarini M, McTernan P, Perrett CW, Thakker RV, Clayton RN (1994): Molecular genetic studies of sporadic pituitary tumors. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 78: 387-92.
- Brada M, Rajyn B, Traish D et al (1993): The long-term efficacy of conservative surgery and radiotherapy in the control of pituitary adenomas. *Clinical Endocrinology* 38: 571-578
- Bravo R, Macdonald-Bravo H (1985): Changes in the nuclear distribution of cyclin (PCNA) but not its synthesis depend on DNA replication. *EMBO-J.* 4: 655-61
- Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo-H (1987): Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. *Nature.* 326: 515-7
- Buchfelder M, Fahlbusch R, Adams EF, Kiesewetter F, Thierauf P (1996): Proliferation parameters for pituitary adenomas. *Acta-Neurochir-Suppl-Wien* 65: 18-21

- Buckley N, Bates AS, Broome JC, Strange RC, Perrett CW, Burke CW, Clayton RN (1995): P53 protein accumulates in Cushing's adenomas and invasive non-functional adenomas [corrected and republished article originally printed in *J Clin Endocrinol Metab* 1994 79:1513-6] *J-Clin-Endocrinol-Metab*. 80: 4 p following 692
- Bystrom C, Larsson C, Blomberg C, Sandelin K, Falkmer U, Skogseid B, Oberg K, Werner S, Nordenskjold M (1990): Localization of the MEN1 gene to a small region within chromosome 11q13 by deletion mapping in tumors. *Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A*. 87: 1968-72
- Campos RV, Asa SL, Drucher DJ (1991): Immunohistochemical localisation of parathyroid hormone-like peptide in rat fetus. *Cancer Res*. 51: 6351-6357
- Carbone DP, Mitsudomi T, Chiba I, Piantadosi S, Rusch V, Nowak-JA, McIntire D, Slamon D, Gazdar A, Minna J (1994): p53 immunostaining positivity is associated with reduced survival and is imperfectly correlated with gene mutations in resected non-small cell lung cancer. A preliminary report of LCSG 871. *Chest*. 106: 377S-381S
- Carboni P Jr, Detta A, Hitchcock ER, Postans R (1992): Pituitary adenoma proliferative indices and risk of recurrence. *Br-J-Neurosurg*. 6: 33-40
- Cattoretti G, Becker MH, Key G, Duchrow M, Schluter C, Galle J, Gerdes J (1992): Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J-Pathol*. 168: 357-63
- Celis JE; Celis A (1985): Cell cycle-dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: subdivision of S phase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 82: 3262-3266
- Celis JE, Madsen P, Celis A, Nielsen HV, Gesser B (1987): Cyclin (PCNA, auxiliary protein of DNA polymerase delta) is a central pathway(s) leading to DNA replication and cell division *FEBS-Lett*. 10;220: 1-7
- Ciric I, Mikhael M, Stafford T, Lawson L, Garces R (1983): Transsphenoidal microsurgery of pituitary macroadenomas with long-term follow-up results. *J-Neurosurg*. 59: 395-401.
- Chaidarun SS, Eggo MC, Sheppard MC, Stewart PM (1994): Expression of epidermal growth factor (EGF), its receptor, and related oncoprotein (erbB-2) in human pituitary tumors and response to EGF in vitro. *Endocrinology* 135: 2012-21
- Colao A, Cerbone G, Cappabianca P, Ferone D, Alfieri A, Di-Salle F, Faggiano A, Merola B, de Divitiis E, Lombardi G (1998): Effect of surgery and radiotherapy on visual and endocrine function in nonfunctioning pituitary adenomas. *J-Endocrinol-Invest*. 21: 284-90
- Cunningham J, Lust JA, Schaid DJ, Bren GD, Carpenter HA, Rizza E, Kovach JS, Thibodeau SN (1992): Expression of p53 and 17p allelic loss in colorectal carcinoma. *Cancer-Res*. 52: 1974-80
- Cushing H (1909): Partial hypophysectomy for acromegaly: with remarks on the function of hypophysis. *Annals of Surgery* 50: 1002-1017
- Ebersold MJ, Quast LM, Laws ER Jr et al. (1986): Long-term results in transphenoidal removal of nonfunctioning pituitary adenomas. *J Neurosurg* 64: 713-719

- Ekramullah SM, Saitoh Y, Arita N, Ohnishi T, Hayakawa T (1996): The correlation of Ki-67 staining indices with tumour doubling times in regrowing non-functioning pituitary adenomas. *Acta-Neurochir-Wien* 138: 1449-55
- D'Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE (1984): Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine/autocrine mechanism of action. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 935-937
- Faglia G (1996): Genesis of pituitary adenomas. In: Landolt-AM; Vanca-ML; Reilly-PL (eds): *Pituitary adenomas*. Churchill Livingstone: 3-13
- Fahlbusch R, Honneger J, Buchfelder M (1992): Surgical management of acromegaly. *Endocrinology and Metabolism. North America* 21: 669-692
- Fahlbusch R und Thapar K (1999): New developments in pituitary surgical techniques. *Baillieres-Best-Pract-res-Clin-Endocrinol-Metab.* 13:471-84
- Fitzgibbons PL, Appley AJ, Turner RR, Bishop PC, Parker JW, Breeze RE, Weiss MH, Appuzo ML (1988): flow cytometric analysis of pituitary tumors. Correlation of nuclear antigen p105 and DNA contents with clinical behavior. *Cancer* 62: 1556-60
- Flickinger J, Rush S (1996): Linear accelerator therapy of pituitary adenomas. In: Landolt-AM; Vanca-ML; Reilly-PL (eds): *Pituitary adenomas*. Churchill Livingstone: 475-483
- Gandour-Edwards R, Kapadia SB, Janecka IP, Martinez AJ, Barnes L (1995): Biologic markers of invasive pituitary adenomas involving the sphenoid sinus. *Mod-Pathol.* 8: 160-4
- Ganz JC (1996): Gamma knife treatment. In: Landolt AM, Vanca ML, Reilly PL (eds): *Pituitary adenomas*. Churchill Livingstone:461-474
- Gerdes J, Lemke H, Baisch H (1984): Cell cycle analysis of a cell-proliferation-associated antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *Journal of Immunology*133: 1710-1715
- Gittoes NJL, Bates AS et al. (1998): Radiotherapy for non-functioning pituitary adenomas. *Clin. Endocrinology* 48: 331-337
- Glick RP, Unterman TG (1995): Radioimmunoassay of insulin-like growth factors I and II in the cerebrospinal fluid of patients with pituitary and other central nervous system tumors. *Neurosurgery.* 36: 556-63
- Goldblum JR, Appelman HD (1995): Stromal tumors of the duodenum. A histologic and immunohistochemical study of 20 cases. *Am-J-Surg-Pathol.* 19: 71-80
- Guiot G (1978): Consideration on the Surgical Treatment of Pituitary Adenomas. In: Fahlbusch R and Werder K (eds) *Treatment of Pituitary Adenomas*. Georg Thieme Publishers Stuttgart, (First european workshop at Rottach- Egern, p 202)
- Hall PA, Levison DA, Wright NA (1992): *Assessment of cell proliferation in clinical practise*. Heidelberg: Springer-Verlag
- Hardy J (1968): Transsphenoidal microsurgery of the normal and pathological pituitary. *Clin Neurosurg.* 16: 185-217
- Harris CC, Hollstein M (1993): Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene [see comments] *N-Engl-J-Med.* 329: 1318-27
- Heath DA, Senior PV, Varley JM, Beck F (1990): Parathyroid hormone related protein in tumors associated with hypercalcemia. *Lancet* 335: 66-69

- Herman V, Fagin J, Gonsky R, Kovacs K, Melmed S (1990): Clonal origin of pituitary adenomas. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 71: 1427-33
- Herman V, Drazin NZ, Gonsky R, Melmed S (1993): Molecular screening of pituitary adenomas for gene mutations and rearrangements. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 77: 50-5
- Hirsch O (1909): Eine neue Methode der endonasalen Operation von Hypophysentumoren. *Wiener Medizinische Wochenschrift* 59: 636-637
- Hoshino T, Nagashima T, Murovic JA, Wilson CB, Edwards MS, Gutin PH, Davis RL, DeArmond SJ (1986): In situ cell kinetics studies on human neuroectodermal tumors with bromodeoxyuridine labeling. *J-Neurosurg.* 64: 453-9
- Hsu SM, Raine L, Fanger H (1981): Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J-Histochem-Cytochem.* 29: 577-80
- Hsu DW, Hakim F, Biller BMK et al. (1993): Significance of proliferating cell nuclear antigen index in predicting pituitary adenoma recurrence. *J Nuerosurg* 78: 753-761
- Ikeda H, Yoshimoto T (1992): The relationship between c-myc protein expression, the bromodeoxyuridine labeling index and the biological behavior of pituitary adenomas. *Acta-Neuropathol-Berl.* 83: 361-4
- Ikeda H, Yoshimoto T (1995): Visual disturbances in patients with pituitary adenomas. *Acta neurologica scandinavica* 92: 157-160
- Ito M, Enomoto H, Usa T, Villadolid MC, Ohtsuru A, Namba H, Sekine I, Yamashita S (1993): Expression of parathyroid hormone-related peptide in human pituitary tumors. *J Clin Pathol* 48: 682-683
- Jeffreys RV (1984): Surgical treatment. In: Belchetz-PE (ed) *Managment of pituitary disease.* Chapman and Hall, London: 424-435
- Jones A (1991): Radiation oncogenesis inrelation to the treatment of pituitary tumours. *Clinical Endocrinology* 35: 379-397
- Jordan S, Lidhar K, Korbonits M, Lowe DG, Grossmann AB (2000): CyclinD and cyclin E expression in normal and adenomatous pituitary. *Eur-J-Endocrinol.* 143:R1-6
- Kaklamanis L, Gatter KC, Mortensen N, Baigrie RJ, Heryet A, Lane DP, Harris AL (1993): p53 expression in colorectal adenomas. *Am-J-Pathol.* 142: 87-93
- Karga HJ, Alexander JM, Hedley-Whyte ET, Klibanski A, Jameson JL (1992): Ras mutations in human pituitary tumors. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 74: 914-9
- Katznelson L, Alexander JM, Bikkal HA, Jameson JL, Hsu DW, Klibanski A (1992): Imbalanced follicle-stimulating hormone beta-subunit hormone biosynthesis in human pituitary adenomas. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 74: 1343-51
- Katznelson L, Alexander JM, Klibanski A (1993): Clinical Review 45. Clinically nonfunctioning pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 76: 1089-1094
- Katznelson L, Klibanski A (1996): Endocrine-inactive, FSH, LH and alpha-subunit adenomas: clinical findings and endocrinology. Landolt AM; Vanca ML, Reilly PL (eds): *Pituitary adenomas.* Churchill Livingstone:135-137
- Kautzky R; Lüdecke D (1973): Experiences with the transsphenoidal approach to the hypophysis. In: *Modern aspects of neurosurgery, vol IV, Exerta Medica, amsterdam* 135-141

- Kawamoto H, Uozumi T, Kawamoto K, Arita K, Yano T, Hirohata T (1995): Analysis of growth rate and cavernous sinus invasion of pituitary adenomas. *Acta-Neurochir-Wien* 136, 37-43
- Kitz K, Knosp E, Koos W, Korn A (1991) : Proliferation in pituitary adenomas: measurement by MAb Ki-67. *Acta - Neurochir-Suppl-Wien* 53: 60-64
- Knosp E, Kitz K, Steiner E, Matula C (1991): Pituitary adenomas with parasellar invasion. *Acta-Neurochir-Suppl-Wien* 53: 65-71
- Knosp E, Steiner E, Kitz K, Matula C (1993): Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings [see comments]. *Neurosurgery* 33: 610-7
- Knosp E, Perneczky A, Kitz K, Grunert P, Wild A (1995): The need for adjunctive focused radiation therapy in pituitary adenomas. *Acta-Neurochir-Suppl-Wien* 63: 81-4
- Kontogeorgos G, Kovacs K, Scheithauer BW (1994): Growth factors in the pituitary gland. *Endocr Pathol* . 5: 1-3
- Kovacs H, Horvath E (1986): Tumors of the pituitary gland. In: Atlas of tumor pathology, Fascicle 21, 2nd Series. Armed Forces Institute of Pathology, Washington: 1-269
- Kraemer A, Saeger W, Talle G, Ludecke DK (1994) DNA measurement, proliferation markers and other factors in pituitary adenomas. *Endocr Pathol* 5: 198-211
- Landis CA, Masters SB, Spada A, Pace AM, Bourne HR, Vallar L (1989): GTPase inhibiting mutations activate the alpha chain of Gs and stimulate adenylyl cyclase in human pituitary tumours. *Nature* 340: 692-6
- Landis CA, Harsh G, Lyons J, Davis RL, McCormick F, Bourne HR (1990): Clinical characteristics of acromegalic patients whose pituitary tumors contain mutant Gs protein. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 71: 1416-20
- Landolt AM, Shibata T, Kleihues P (1987): Growth rate of human pituitary adenomas. *J-Neurosurg.* 67: 803-6
- Landolt AM, Shibata T (1991): Growth, cell proliferation and prognosis of pituitary adenomas. In: Faglia-G; Beck-Peccoz-P; Ambrosi-B; Travaglini-P; Spada-A (eds): Pituitary adenomas. New trends in basic and clinical research. International Congress Series 961, Excerpta Medica Amsterdam: 169-178
- Landolt AM (1996): Growth of pituitary adenomas, malignant adenomas. In: Landolt AM, Vanca ML, Reilly PL (eds): Pituitary adenomas. Churchill Livingstone: 73-84
- Larsson C, Skogseid B, Oberg K, Nakamura Y, Nordenskjold M (1988): Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinoma. *Nature* 332: 85-7
- Laws ER, Thapar K (1995): Surgical management of pituitary adenomas. In Pituitary tumours. Baillieres clinical Endocrinology and metabolism (ed J. Fagin), Bailliere Tindall, London: 391-406.
- Laws ER, Thapar K (1999): Pituitary Surgery. *Endocrin and Metab of North America* 28: 119-132
- Lelle RJ (1999): [In situ determination of the Ki-67 growth fraction (Ki-67 GF) in human tumors (studies in breast cancer)]. *Acta-Histochem-Suppl.* 39: 109-24
- Levine AJ, Momand J, Finlay CA (1991): The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 351: 453-6
- Levine AJ, Perry ME, Chang A, Silver A, Dittmer D, Wu M, Welsh D (1994): The 1993 Walter Hubert Lecture: the role of the p53 tumour-suppressor gene in tumorigenesis. *Br-J-Cancer* 69: 409-16

- Levy A, Hall L, Yeudall WA, Lightman SL (1994): p53 gene mutations in pituitary adenomas: rare events. *Clin-Endocrinol-Oxf.* 41: 809-14
- Lillehei KO, Kirschmann DL, Kleinschmidt-DeMasters BK, Ridgway EC (1998): Reassessment of the role of radiation therapy in the treatment of endocrin-inactive pituitary adenomas. *Neurosurgery* 43: 432-439
- Liuzzi A, Dallabonzana D, Oppizzi G et al. (1991): Is there a real medical treatment for "non-secreting" pituitary adenomas? In: Faglia G; Beck Peccoz B; Ambrosi B; et al. (eds): *Pituitary adenomas: New Trends in Basic and Clinical research*. Amsterdam, The Netherlands, elsevier : 383-389
- Luebke D, Saeger W, Lüdecke DK (1995): Proliferation markers and EGF in ACTH-secreting adenomas and carcinomas of the pituitary. *Endocr Pathol* 6: 45-55
- Ludecke DK (1985): Recent developments in the treatment of acromegaly. *Neurosurg-Rev.* 8: 167-73
- Lüdecke DK, Beck-Bornholdt HP, Saeger W, Schmidt W (1985): Tumor Ploidy in DNA Histograms of Pituitary adenomas. *Acta Neurochirurgica* 76:18-22
- Melmed S, Braunstein GD, Horvath E, Ezrin C, Kovacs K (1983): Pathophysiology of acromegaly. *Endocr-Rev.* 4: 271-90
- Mindermann T; Wilson CB (1993): Thyreotropin producing pituitary adenomas. *Journal of Neurosurgery* 46: 402-407
- Mindermann T, Wilson CB (1994): Age-related and gender-related occurrence of pituitary adenomas [published erratum appears in *Clin Endocrinol (Oxf)* 41:700] *Clin-Endocrinol-Oxf.* 41: 359-64
- Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EM (1978): Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol.* 121: 2228-2234
- Mizoue T, Kawamoto H, Arita K, Kurisu K, Tominaga A, Uozumi T (1997): MIB1 immunopositivity is associated with rapid regrowth of pituitary adenomas. *Acta-Neurochir-Wien* 139: 426-31
- Naidich MJ, Russell EJ (1999): Current approaches to imaging of the sellar region and pituitary. *Endocr and Metab clinics of North America* 28: 45-74
- Nelson BP, Goodman ML, Flickinger JC et al (1989) :Endocrine function in patients with large pituitary tumors treated with operative decompression and radiation therapy. *Neurosurgery* 24: 398-400
- Oka K, Arai T (1996): MIB1 growth fraction is not related to prognosis in cervical squamous cell carcinoma treated with radiotherapy. *Int-J-Gynecol-Pathol.* 15: 23-7
- Orloff JJ, Wu TL, Stewart AF(1989): Parathyroid hormon-like proteins: biochemical responses and receptor interactions. *Endocrinol Rev* 10: 476-95
- Pegolo G, Buckwalter JG, Weiss MH, Hinton DR (1995): Pituitary adenomas. Correlation of the cytologic appearance with biologic behavior. *Acta-Cytol.* 39: 887-92
- Pei L, Melmed S, Scheithauer B, Kovacs K, Benedict WF, Prager D (1995): Frequent loss of heterozygosity at the retinoblastoma susceptibility gene (RB) locus in aggressive pituitary tumors: evidence for a chromosome 13 tumor suppressor gene other than RB. *Cancer-Res.* 55: 1613-6
- Pei L, Melmed S (1996): Oncogenes and Tumor Suppressor Genes in Pituitary Tumorigenesis. In: Melmed S (ed): *Oncogenesis and Molecular Biology of Pituitary Tumors*. Front Horm Res. Basel, Karger 20: 122-136

- Pernicone PJ, Scheithauer BW (1993): Invasive pituitary adenomas and pituitary carcinomas. In: Lloyd RV (ed) Surgical pathology of the pituitary gland. Major problems in pathology. Philadelphia, PA: Saunders 27: 121-136
- Pernicone PJ, Scheithauer BW, Sebo TJ, Kovacs KT, Horvath E, Young WF Jr, Lloyd RV, Davis DH, Guthrie BL, Schoene WC (1997): Pituitary carcinoma: a clinicopathologic study of 15 cases. *Cancer* 79: 804-12
- Plowman PN (1999): Pituitary adenoma radiotherapy-when, who and how. *Clinical Endocrinology* 51: 265-271
- Raghavan R, Harrison D, Ince PG, James RA, Daniels M, Birch P, Caldwell G, Kendall-Taylor P (1994): Oncoprotein immunoreactivity in human pituitary tumours. *Clin-Endocrinol-Oxf.* 40: 117-26
- Ren P, Scheithauer BW, Halper J (1994): Immunohistological Localisation of TGF alpha, EGF, IGF1 and TGF beta in the normal human pituitary gland. *Endocr Pathol* 5: 40-48
- Renner U, Mojto J, Arzt E, Lange M, Stella J, Muller OA, Stalla GK (1993): Secretion of polypeptide growth factors by human nonfunctioning pituitary adenoma cells in culture. *Neuroendocrinology* 57 825-34
- Riede UN, Wiestler OD, Müller H (1993): Autonomes Zellwachstum (Tumorpathologie). In: Riede UN, Schafer HE (Hrsg) Allgemeine und spezielle Pathologie. Thieme Verlag Stuttgart-New York 3.Aufl.: 346-355
- Riede UN, Wiestler OD, Müller H (1993): Störungen des Zellwachstums. In: Riede-UN, Schafer-HE (Hrsg) Allgemeine und spezielle Pathologie. Thieme Verlag Stuttgart-New York 3.Aufl.: 377
- Robbins BA, de-la-Vega D, Ogata K, Tan EM, Nakamura RM (1987): Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. *Arch-Pathol-Lab-Med.* 111: 841-5
- Russelm WE; Van Wyk JJ (1989) : Peptide growth factors. In: De Groot LJ (Ed) *Endocrinology*, 2nd edition. W.B.Saunders, Philadelphia: 2504-2524
- Saeger W (1977): Die Hypophysentumoren. Cytologische und ultrastrukturelle Klassifikation, Pathogenese, endorine Funktionen und Tierexperimente. In: Büngler W. et al. Veröffentlichungen aus der Pathologie, Band 107. Stuttgart: G. Fischer.:1-240
- Saeger W, Günzl H, Meyer M, Schulze C, Lüdecke DK (1990): Immunhistological studies on clinically silent pituitary adenomas. *Endocr Pathol* 1:37-44
- Saeger W, Lübke D (1996): Pituitary Carcinomas. *Endocr Pathol* 7:21-35
- Saeger W (1996): Current pathological classification of pituitary adenomas. *Acta Neurochir. Suppl* 65: 1-3
- Sano K, Hoshino T, Nagai M (1968): Radiosensitization of brain tumor cells with a thymidine analogue (bromouridine). *J-Neurosurg.* 28: 530-8
- Sasak K, Matsumura K, Tsuji T, Shinozaki F, Takahashi M (1988): Relationship between labeling indices of Ki-67 and BrdUrd in human malignant tumors. *Cancer* 62: 989-93
- Sautner D, Saeger W (1991): Invasiveness of pituitary adenomas. *Pathol Res Pract.* 187: 632
- Scheithauer BW, Kovacs KT, Laws ER, Randall RV (1986): Pathology of invasive pituitary with special reference to functional classification. *J Neurosurg.* 65:733-744

- Schiffer D, Chio A, Giordana MT, Pezzulo T, Vigliani MC (1993) :Proliferating cell nuclear antigen expression in brain tumors, and its prognostic role in ependymomas: an immunohistochemical study. *Acta-Neuropathol-Berl.* 85: 495-502
- Schnell-Kühn C (1995): Retrospektive Studie über das Rezidivierungsverhalten endokrin inaktiver Makroadenome der Hypophyse. Med. Dissertation. Universität Hamburg
- Schreiber S, Saeger W, Ludecke DK (1999): Proliferation markers in different types of clinically non-secreting pituitary adenomas. *Pituitary* 1: 213-20
- Schubiger O (1996): Radiology of pituitary adenomas. In: Landolt AM; Vanca ML; Reilly PL (eds): *Pituitary adenomas.* Churchill Livingstone:177-219
- Selman WR, Laws ER, Scheithauer BW, Carpenter SM (1986): The occurrence of dural invasion in pituitary adenomas. *J Neurosurg* 64: 402-407
- Shalet S, O'Halloran D (1996): Radiotherapie for pituitary tumours. In: Powell M, Lightman S (eds) *The Management of Pituitary Tumours, A Handbook,* Churchill Livingstone:: 159-174
- Shibuya M, Saito F, Miwa T, Davis RL, Wilson CB, Hoshino T (1992): Histochemical study of pituitary adenomas with Ki-67 and anti-DNA polymerase alpha monoclonal antibodies, bromodeoxyuridine labeling, and nucleolar organizer region counts. *Acta-Neuropathol-Berl.* 84: 178-83
- Snyder PJ (1985): Gonadotroph cell adenomas of the pituitary. *Endocr-Rev.* 6: 552-63
- Spada A, Arosio M, Bochicchio D, Bazzoni N, Vallar L, Bassetti M, Faglia G (1990): Clinical, biochemical, and morphological correlates in patients bearing growth hormone-secreting pituitary tumors with or without constitutively active adenyl cyclase. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 71: 1421-6
- Spada A, Vallar L, Faglia G (1994): Cellular alterations in pituitary tumors. *Eur-J-Endocrinol.* 130: 43-52
- Stefaneanu L, Horvath E, Kovacs K (1989): Argrophil organizer region proteins (AgNORs) in adenohypophysial cells and adenomas of the human pituitary. *Mod Pathol.* 2: 192-199
- Sturm V, Müller RP (1997): Strahlenschirurgie in der Behandlung von intrakraniellen Tumoren und Gefäßmißbildungen. *Deutsches Ärzteblatt* 23: 1250-1255
- Sumi T, Stefaneanu L, Kovacs K, Asa SL, Rindi G (1993): Immunohistochemical study of p53 protein in human and animal pituitary tumors. *Endocr Pathol* 4: 95-99
- Suzuki K, Ono T, Takahashi K (1992): Inhibition of DNA synthesis by TGF-beta 1 coincides with inhibition of phosphorylation and cytoplasmic translocation of p53 protein. *Biochem-Biophys-Res-Commun.* 183: 1175-83
- Taylor CR, Shi SR, Chaiwun B (1994): Strategies for improving the immunohistochemical staining of various intranuclear prognostic markers in formalin-paraffin sections: androgen receptor, oestrogen receptor, progesterone receptor, p53 protein, proliferating cell nuclear antigen, and Ki-67 antigen revealed by antigen retrieval techniques. *Human Pathology* 25: 263-270
- Teng MMH, Huang CI, Chang T (1988): The pituitary mass after transsphenoidal hypophysectomy. *American Journal of Neuroradiology* 9: 23
- Thakker RV, Pook MA, Wooding C, Boscaro M, Scanarini M, Clayton RN (1993): Association of somatotrophinomas with loss of alleles on chromosome 11 and with gsp mutations. *J-Clin-Invest.* 91: 2815-21

- Thapar K, Kovacs K, Laws ER (1995): The Classification and Molecular Biology of Pituitary Adenomas. In: Symon L et al. (eds) *Advances and Technical Standards in Neurosurgery* 22: 28-44
- Thapar K, Kovacs K, Scheithauer W, Stefaneanu L, Horvath E, Pernicone PJ, Murray D, Laws ER Jr (1996): Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery* 38: 99-106
- Thapar K, Scheithauer BW, Kovacs K, Pernicone PJ, Laws ER Jr (1996): p53 expression in pituitary adenomas and carcinomas: correlation with invasiveness and tumor growth fractions. *Neurosurgery*. 38: 763-70
- Thor A, Moore D, Edgerton S, Kawasaki ER, Reihnsaus E, Lynch HAT, Marcus JN, Schwartz L, Chen-LC, Mayall BH, Smith H (1992): Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: An independant prognostic marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 84: 845-855
- Tordjman K, Stern N, Ouaknine G, Yossiphov Y, Razon N, Nordenskjold M, Friedman E (1993): Activating mutations of the Gs alpha-gene in nonfunctioning pituitary tumors. *J-Clin-Endocrinol-Metab.*; 77: 765-9
- Tsanaclis AM, Robert F, Michaud J, Brem S (1991): The cycling pool of cells within human brain tumors: in situ cytogenetics using the monoclonal antibody Ki-67. *Can-J-Neurol-Sci.* 18: 12-7
- Tsang RW, Brierley JD, Panzarella T, Gospodariowicz MK, Sutcliffe SB, Simpson WJ (1994): radiation therapy of pituitary adenoma: Treatment outcome and prognostic factors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 30: 557-565
- Turner HE, Stratton IM, Byrne JV, Adams CBT, Wass JAH (1999): Audit of selected patients with nonfunctioning pituitary adenomas traeted without irradiation-a follow up. *Clinical Endocrinology* 51: 281-284
- Turner HE, Nagy Z, Sullivan N, Esiri MM, Wass JA (2000): Expressions analysis of cyclins in pituitary adenomas and the normal pituitary gland. *Clin-Endocrinol-(Oxf)* 53:337-44
- Vallar L, Spada A, Giannattasio G (1987): Altered Gs and adenylate cyclase activity in human GH-secreting pituitary adenomas. *Nature* 330: 566-8
- van-Oijen MG, Medema RH, Slootweg PJ, Rijkssen G (1998) : Positivity of the proliferation marker Ki-67 in noncycling cells. *Am-J-Clin-Pathol.* 110: 24-31
- Wellhausen L, Saeger W, Mueller W, Derwahl M, Hamacher C, Luedecke DK (1998): Gs α , Protein Kinase C, Cathepsin D, Growth Factors, Estrogen Receptor-Related Protein, and p53 in Prolactin Cell Adenomas and Null Cell adenomas of the Pituitary. *Endocr Pathol* 2 135-148
- Weidner N, Moore DH, Vartanian R (1994): Correlation of Ki-67 antigen expression with mitotic figure index and tumor grade in breast carcinomas using novel `paraffin'-reactive MIB1 antibody. *Human Pathology* 25: 337-342
- Williamson EA, Ince PG, Harrison D, Kendall-Taylor P, Harris PE (1995): G-protein mutations in human pituitary adrenocorticotrophic hormone-secreting adenomas. *Eur-J-Clin-Invest.* 25: 128-31
- Woloschak M, Roberts JL, Post K (1994) : c-myc, c-fos, and c-myb gene expression in human pituitary adenomas. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 79: 253-7
- Woloschak M, Roberts JL, Post KD (1994): Loss of heterozygosity at the retinoblastoma locus in human pituitary tumors. *ancer* 74: 693-6

- Yonezawa K, Tamaki N, Kokunai T (1997): Clinical features and growth fractions of pituitary adenomas. *Surg-Neurol.* 48: 494-500
- Zhao D, Tomono Y, Nose T (1999): Expression of P27 and Ki-67 in pituitary adenomas: An Investigation of Marker of Adenoma Invasiveness. *Acta Neurochir.* 141:187-192

Anhang

Anhang A: Patientendaten

Anhang B: Auswertungsbogen

Patientendaten (Zeichenerklärung s. Auswertungsbogen)

1. Pat-ID	2. Geb.-Datum	3. Alter bei 1.OP	4. Sex	5. OP-Datum	6. KRH	7. OP-Art	8. Tumor	9. OP-Anzahl	10.a Intra-sellär	b. supra-sellär	c. para-sellär	11.Tumor-Klassifikation	12. invasiv	13. invasiv2
1	26.10.37	54	2	30.10.91	1	1	1	1	3	5	3	4	0	0
2	27.08.45	45	1	21.12.93	1	1	2	2	3	5	1	5	1	2
2				23.04.91	2	1	1		3	5	1	5	1	2
3	22.08.22	65	1	13.05.96	1	1	2	2	3	3	1	4	0	0
3				28.03.94	8	1	1		3	4		4		
4	09.06.36	59	1	10.11.95	1	1	1	1	3	4	1	4	0	0
5	09.04.37	54	1	13.08.97	1	1	2	2	3	4	2	4	1	1
5				21.05.91	7	1	1							
6	23.05.43	40	1	22.01.90	1	1	2	2	2	0	2	4	1	1
6				08.02.84	1	1	1					3	1	1
7	23.01.52	37	2	17.03.89	4	1	1	2	3	5	0	4	0	0
7				20.01.98	1	1	2	2	3	4	0	3	0	0
8	21.08.50	33	1	17.11.88	1	1	2	2	3	4	2		0	0
8				24.05.84	6	1	1							
9	13.06.36	54	1	28.04.92	2	1	1	2	3	3	0			
9				09.12.96	1	1	2	2	3	5	0	4	1	2
10	27.09.47	43	2	28.02.97	1	1	3	3	3	0	2	4	1	1
10				28.09.92	1	1	2		3	3	2	4	1	1
10				18.09.91	3	1	1		3	5	2	4	1	1
11	16.05.53	38	2	20.09.96	1	1	2	2	3	4	2	3	1	1
11				24.03.92	9	1	1		3	3		4		
12	27.04.41	53	1	04.11.96	1	1	2	2	3	4	0	4	1	1
12				04.08.94	2	1	1		3	4		4	1	1
13	25.06.31	56	1	18.04.97	1	1	2	2	3		2	4	1	1
13				11.04.88	1	1	1		3	3	2	4	1	1
14	22.06.34	39	2	04.10.88	1	1	2	2	1	1	1	4	1	1
14				26.04.74	1	2	1		3	3				
15	22.02.34	62	1	28.11.96	1	3	1	2	3	5	2	4	1	2
16	26.09.62	27	2	07.09.93	1	1	2	2	3	4	2	4	1	2
16				20.06.89	1	1	1		3	2	2	3	1	2
17	21.10.33	51	1	25.04.97	1	1	4	4	3	3	3	4	1	1
17				20.12.93	1	1	3		3	3	3	4	1	2
17				01.12.89	5		2							
17				01.04.84	5		1							
18	25.10.34	58	1	02.07.92	1	1	2	2	3	4	3	4	1	1
18				05.02.92	2	1	1		3	5	2			
19	16.06.23	57	2	11.02.80	1	1	1	1	3	4	3		0	0
20	12.04.58	27	1	13.02.96	1	1	3	3	3	3	1	4	0	0
20				03.07.87	7	1	2		3	3	0			
20				19.12.85	7	1	1							
21	10.02.25	71	1	05.11.96	1	1	1	1	3	4	2	4	1	1
22	17.04.42	46	1	21.09.88	1	1	1	1	3	5	0	5	1	1
23	21.09.13	71	2	26.07.85	1	1	1	1	3	3	0	4	0	0
24	11.02.26	58	1	18.01.85	1	1	1	1	3	4	0	4	0	0
25	20.02.35	49	2	19.05.94	10	1	1	2	3	4	1	5	1	2
25				21.11.97	1	1	2	2	3	3	1	5	1	2
26	19.04.36	60	1	04.02.97	1	1	1	1	3	4	1	4	1	1
27	04.04.49	41	2	21.05.97	1	1	3	2	3	0	2	3	1	1
27				04.11.93	8	1	2							
27				28.05.90	8	1	1							
28	12.09.37	52	1	13.11.89	1	1	1	1	3	3	1	4	1	1
29	28.07.44	47	1	04.01.96	1	1	2	2	2	4	2	4	1	1
29				05.11.84	1	1	1		3	4	2	5	1	1
30	03.07.35	49	1	06.12.84	1	1	1	1	3	0	0	5	1	1
31	06.11.37	49	2	05.02.92	1	1	2	2	3	3	1	3	1	1
31				23.03.87	1	1	1		3	3		4	1	1
32	02.12.32	64	1	28.05.97	4	1	1	1	3	4	2	4	1	1

Pat-ID	14. Histologie	15. STH	16. PRL gering/mittel/ stark	17. ACTH gering/mittel/ stark	18. TSH gering/ mittel/stark	19. FSH gering/mittel/ stark	20. LH gering/mittel/ stark	21. α-Subunits gering/mittel/stark	22 S100
1	Nullzell	0	0	0	0	0	3%/3%/3%	3% /3% 3%	0
2	Nullzell	0	0	0	0	0	0	0	1
2	Nullzell	0	0	0	2%2%/2%	0	5% /3%/3%	0	1
3	Gonadotrop	0	0	0	0	25%/0/0	25%/0/0	25%/0/0	1
3									
4	Nullzell	0	0	0	0	0	5% /3%/0/	0	0
5	Nullzell	0	0	0	0	25%/0/0	25%/0/0	0	0
5									
6	Gonadotrop	0	0	0	0	3%/1%/0	20%/10%/10%	0	
6	Gonadotrop	0	0	0	0	5%/5%/0	10%/10%/5%	5%/5%/5%	
7	Nullzell	0	0	0	0	0	0	0	0
7									0
8	Onkozytär	0	0	0	0	5%/5%/0	0	0	
8									
9	Gonadotrop	0	0	0	0	10%/0/0	20%/5%/0	10%/0/0	0
9								1	0
10	Gonadotrop	0	0	0	0	15%/15%/0	0	0	1
10	Gonadotrop	0	0	0	0	20%/20%/20%	0	0	1
10	Gonadotrop	0	0	0	0	30%/30%/5	0	0	1
11	Gonadotrop	0	0	0	0	30%/10%/5%	10%/5%/0	20%/20%/0	
11									
12	Gonadotrop	0	0	0	3%/3%/0	30%/10%/5%	40%/10%/5%	20%/10%/5	0
12	Gonadotrop	0	0	0	1	10%/3%/0	10%/5%/0	30%/5%/0	1
13	Gonadotrop	0	0	0	0	20%/20%/5%	10%/10%/0	5%/5%/0	1
13	Gonadotrop	0	0	0	0	40%/20%/0	30%/5%/5%	0	
14	Gonadotrop	0	0	0	0	0	1	1	0
14	Nullzell	0	0	0	0	0	0	3%/3%/1%	0
15	Nullzell	0	0	0	0	0	0	0	0
16	Nullzell	0	0	0	0	0	0	0	0
16	Prolaktin	0	10%/10%/10%	0	0	0	0	0	
17	Onkozytär	0	0	0	0	0	10%/0/0/	0	0
17	Gonadotrop	0	0	0	0	0	10%/10%/10%	0	0
17									
17									
18	Nullzell	0	0	0	0	0	0	0	0
18	Nullzell	0	0	0	0	2%/2%/2%	1%/0/0	1%/0/0	2
19	α-Subunit	0	0	0	0	0	3%/3%/2%	10%/10%/5	1
20	Nullzell	0	0	0	0	0	0	0	0
20	Nullzell	0	0	0	0	0	0	0	0
20									
21	Nullzell	0	0	0	0	1%/0/0	10%/0/0	0%/3%/0	0
22	Gonadotrop	0	0	0	0	30%/20%/10%	20%/30%/10%	0	1
23	Onkozytär	0	0	0	0	0	0	0	0
24	Nullzell	0	5%/0/0	0	0/0/2%	0	0	0	
25	Nullzell	0	0	0	0	3%/2%/0	3%/2%/0	0	1
25									
26	Nullzell	0	10%/10%5%	0	0	0	0	0	0
27	Nullzell	0	0	0	0	10%/0/0	10%/0/0	0	0
27									
27									
28	Gonadotrop	0	0	0	3%/3%/3%	20%/10%/10%	20%/2%/2%	0	
29	Gonadotrop	0	0	0	0	10%/10%10%	20%/10%/5%	5%/0/0	0
29	Gonadotrop	0	0	0	0	10%10%/5%	20%/5%/0	0	1
30	Nullzell	0	0	0	0	0	0	0	
31	Gonadotrop	0	0	0	5%/5%/5%	15%/5%/5%	15%/10%/10%	5%/5%/5%	1
31	Gonadotrop	0	0	0	0	0	10%/10%/10%	0	0
32	Gonadotrop	0	0	0	10%/0/0	2%/2%/2%	20%g/5%/0	1%/0/0	1

Pat-ID	23. Blöcke N-Nr.	24. Wachstum mm/Jahr	25. Beob-ort	26. Wert1	27. Wert2	28. Beob-zeit/ Mo	29. Beob-Zeit raum	30. MIB 1	31. H-MIB 1	32. PCNA	33. H-PCNA	34. p53	35.IGF1/ schwach/moderate/stark	36. IGF1
1	578-91 2	1,00	2	3	8	57	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0	50/<10/0	1
2	553-93 1,2	9,00	8	30	43	17	3	0,000	2,980	0,000	7,316	1	40/10/0	1
2	701-91							2,980		7,316		0	>50/0/0	1
3	445-96	2,40	4	27	28	5	3	0,085	0,085	6,306	6,306	0	20/0/0	1
3														
4	518-95 3	3,00	2	15	20	20	1	0,000	0,000	0,051	0,051	0	0/0/0	0
5	583-97	2,40	2	24	28	17	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0	<10/0/0	1
5														
6	17-90	2,10	5	17	20	17	2	0,000	0,105	0,000	0,750	0	50/10/0	1
6	11- 84							0,105		0,750		0	<10/0/0	1
7	352-89	1,80	2	6	16	67	2	0,150	0,150	0,000	0,000	0	10/0/0	1
7							2							
8	160-88	0,90	3	5	10	70	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0	30/40/5	2
8														
9	567-92	5,20	2	8	30	49	2	4,590	4,590	5,628	5,628	1	0/0/0	0
9							2							
10	445-97	2,00	8	5	13	49	2	0,000	1,790	0,207	4,849	0	<10/0/0	1
10	457-92 4							0,000		0,000		0	<50/0/0	1
10	702-91							1,790		4,849		0	0/0/0	0
11	494-96	1,30	1	11	15	36	2	0,000	0,000	0,196	0,196	0	20/>30/0	2
11														
12	512-96	1,50	1	24	25	8	2	0,090	0,500	0,649	1,028	0	10/0/0	1
12	582-94							0,500		1,028		0	<10/0/0	1
13	465-97	1,50	5	16	25	9	2	0,000	0,026	0,667	0,667	0	30/5/0	1
13	63-88 3,4							0,026		0,000		0	>10/0/0	1
14	140-88 2	0,00				80	3	0,000	0,000	0,000	0,952	0	30/0/0	1
14	49-74							0,000		0,952		0	<10/0/0	1
15	524-96	5,80	8	13	29	33	1	0,048	0,048	2,537	2,537	0	<10/0/0	1
16	511-93 2	6,70	8	6	16	18	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0	>30/20/0	1
16	68-89 5			10	17	18		0,000		0,000		0	<80/0/0	1
17	467-97	2,70	3	25	32	31	3	0,017	0,017	0,910	0,910	0	30/0/0	1
17	552-93							0,000		0,000		0	40/0/0	1
17														
17														
18	508-97	1,80	2	16	26	65	3	0,000	0,300	0,527	0,538	0	20/<10/0	1
18	569-92							0,300		0,538		1	30/<10/0	1
19	S 8-80	1,30	2	7	18	101	2	0,007	0,007	0,013	0,013	0	40/0/0	1
20	418-96 2	1,90	2	10	18	45	3	0,000	4,330	0,000	2,857	0	20/60/0	2
20	410-87							4,330		2,857		0	0/0/0	0
20														
21	513-96	4,50	8	17	25	21	1	0,110	0,110	1,064	1,064	0	20/0/0	1
22	135-88	0,00				108	2	0,000	0,000	0,026	0,026	0	<10/0/0	1
23	164-85 2,3	0,00				85	2	0,000	0,000	0,375	0,375	0	30/<50/0	2
24	6-85 5	0,30	7	19	20	45	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0	30/5/0	1
25	583-94	5,80	5	26	40	29	2	0,800	0,800	1,508	1,508	1	0/0/0	0
25							2							
26	430-97	3,50	2	15	22	24	1	0,647	0,647	1,969	1,969	1	0/0/0	0
27	519-97	2,40	2	8	11	15	3	0,000	0,000	0,533	0,533	0		1
27														
27														
28	134-89 3,4	0,00				59	2	0,000	0,000	0,000	0,000	0	>60/20/0	1
29	402-96	2,60	2	18	28	46	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0	30/10/0	1
29	529-91							0,000		0,000		0	40/5/0	1
30	144-84 5	1,30	2	10	17	63	2	0,110	0,110	1,357	1,357	1	<50/0/0	1
31	316-92 2	1,90	2	12	18	38	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0	40/20/0	1
31	125-87 3							0,000		0,000		0	20/30/0	1
32	510-97	1,10	4	24	29	52	1	0,910	0,910	1,747	1,747	1	0/0/0	0

Pat-ID	37. Resezierbarkeit	38. Radikal-OP	39. Rest	40. Postop MR	41. Beurteilbar	42. Nicht beurteilbar Mo	43. Prolaktin	44. Anamnese	45. Sehstörung	46. Anamnese-Dauer	47. HVL-Insuffizienz.	48. Radiatio
1	1	2	1	1	15		53,4	1,2,3	1	0,5	0	26.05.97
2	0	4	1	1	3		12,8	3	1	1,0	0	6.94
2	0	4		1	7							
3	1	2		2		10	25,5	2,5	1	0,5	1	
3				1	14						1	
4	1	1		2		3	5,8	5,6,7	0	3,0	1	
5	1	2		2		4	13,6	1,6,7	1	0,5	0	
5												
6	1	4	1	1	51		10,6	1,2,3	1	0,5	1	
6		2		1	48		10,6				1	
7	1	3	1	1	33		26,0	1,2,3,6,8	1	4,0	1	
7	1	2		Kein MR			10,0				1	
8		2	1	1	19		22,0	1,2,5	1	0,5	0	
8											0	
9			1	1	6		25,1	1,2,3,4,7	1	0,5	1	
9	1	2		2		22	3,7				1	
10				2		7	10,8	1,2,3	1	0,5	1	
10		3		1	2		17,4				1	
10		4		1	3						1	
11	1	1		2		4	11,2	1,2,6,8	1	7,0	1	
11				1	14		52,6				1	
12		2		2		18	4,8	7	1		1	
12				1	18						1	
13	1	2		1	10		10,2	5	1	0,5	1	
13				1	5		13,4				1	
14	1	2		3	80			3,8	1	4,0	1	
14		3									1	
15	0	4		1	4		12,9		1		1	
16	0	2		1	25		47,5	5	0	3,0	0	09.09.96
16		3		1	13		24,1				0	
17	0	4		1	5		5,1	1,2,3	1		1	10.97
17	0	4		1	7						1	
17												
17												
18	0	4		Kein MR				1,6,7	1	12,0	0	
18											0	
19		3		1		96	24,0	1,2,3	1	1,0	1	
20	1	2		2		28	9,6	1,2,3	1	0,5	1	
20				1	60						1	
20											1	
21	0	2		2		6	26,6	1,4,6	1	6,0	1	
22	1	2		3	72		10,5	1,2,3	1		1	
23	1	1		3	144		27,8	1,2,3,5	1	2,0	1	
24		3		1	48		25,0	1,2,5	1	1,0	1	
25				1	24			1,2,3	1	1,5	1	Geplant
25	0	4		1	2		17,1				1	
26	1	1		Kein MR			22,1	4	0	2,0	1	
27	1	2		Kein MR			8,7	4,7	0		0	
27											0	
27												
28	1	2		3	59		24,8	4,5,6,7	0	8,0	1	
29	0	3		2		27	4,0	1,2,3,7	1	0,5	1	
29	0	2		1	1		16,2				1	
30	1	2		1	84		8,2	9	1	5,0	0	
31	0	0		1	10			1,2,3	1	0,5	0	
31				1	1		20,1				0	
32		4		1	1		21,9	5	0	12,0	0	

Auswertungsbogen

1. Name/Patienten-Identifikationsnummer (=Pat-ID)
2. Geburtsdatum:
- 3.. Alter bei der 1. OP
4. Geschlecht (=Sex):
 - 1= männlich
 - 2= weiblich
5. OP-Datum (aktuellste)
6. KRH= Krankenhaus:
 - 1=UKE, 2=Ak Altona, 3=Bremen, 4= Bremerhavn
 - 5=Essen, 6=Hamm, 7=Hannover, 8=Köln
 - 9= Münster, 10= Wupperta
7. Zugang (OP-Art):
 - 1= transnasal
 - 2= transkraniell
8. Tumor
 - 1.= Primärtumor
 - 2.= 1. Rezidiv
 - 3.= 2. Rezidiv
 - 4= 3. Rezidiv
9. OP-Anzahl
10. Tumorlokalisation:
 - a) intrasellär:
 - 1= rechts
 - 2= links
 - 3= beidseits
 - b) suprasellär:
 - 0= nein
 - 1= rechts
 - 2= links
 - 3= beidseits
 - 4= bis in die Cisterne chiasmatica
 - 5= mit Kompression d. 3. Ventrikels
 - 6=riesige ss- Ausdehnung
 - c) parasellär:
 - 0= nein
 - 1= rechts
 - 2= links
 - 3= beidseits
11. Tumorklassifikation (Durchmesser):
 - 1= T0= kein positiver Tumorbefund

- 2= T1< 10mm
- 3= T2= 10-20mm
- 4= T3= 20-35mm
- 5= T4> 35mm

12. Invasiv= Insgesamt Invasivität (Beurteilt aus intraoperativen und MRT-Befund)

0= nicht-invasiv

1= invasiv

13 invasiv 2= Stärke der Invasivität

0= nicht-invasiv

1= invasiv

2= stark invasiv

14.Histologie:

Nullzell= Nullzelladenom

onkozytär

gonadotrop

α -Subunit = α -Subunitadenom

Prolaktin= Prolaktin exprimierendes Adenom, klinisch inaktiv

Immunhistologie: Anteile der Zellen mit positiven Hormonnachweis

	negativ	gering	mittel	stark
15. STH				
16. Prolaktin				
17. ACTH				
18. TSH				
19. FSH				
20. LH				
21. α-Subunits				

22. S 100-Protein

0 = negativ

1= positiv

23. Histologische Blöcke= Blöcke (N-Nr)

24. Tumorwachstum (mm/Jahr):

25. Beobachtungsort (Beob-Ort):

1= Durchmesser

2= Höhe

3=Breite

4= Höhe und Durchmesser

5= Breite und Durchmesser

6= Höhe und Breite

7= alle 3 Parameter

8= Durchmesser des größten Wachstums

26. 1. Wert zur Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit ausgemessen in mm
27. 2. Wert zur Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit ausgemessen in mm
28. Beobachtungszeitraum (Beob-Zeit):
in Monaten:
29. Beobachtungszeitpunkt bezogen auf die Operation (Beob-Zeitraum)
1= prae-op
2= post-op
3= zwischen zwei Operationen
30. Auswertung: MIB 1 (Zellkerne/pro Gesichtsfeld)
31. H-MIB1= Höchstwert von MIB1 aus allen Operationen
32. PCNA (Zellkerne/pro Gesichtsfeld)
33. H-PCNA= Höchstwert von PCNA aus allen Operationen
34. p53
0=negativ
1= positiv
35. IGF1 negativ/ schwach/moderat/stark in %
36. IGF 1 (nach Auswertungsschema, s. Methodikteil)
0=negativ
1=schwach
2=moderat
3=stark
37. Resezierbarkeit:
0= nicht resezierbar
1= resezierbar
38. Radikalität:
Operateur:
a) 1= sicher radikal
2= wahrscheinlich radikal
3= eher nicht radikal
4= nicht radikal
39. Rest = Tumorrest
1= sicher ein Rest
40. post-op MR (nach der aktuellsten Operation):
a) 0= kein Rest
1=Rest
2= nicht sicher beurteilbar
3= mindestens 5 Jahre kein Tumorwachstum nachweisbar
41. Beurteilbar = nach wieviel Monaten ist ein Tumorrest sicher auf dem MR beurteilbar:
42. Nicht-beurteilbar= immer noch nicht sicher beurteilbar auf dem MR nach Monaten
43. Prolaktin = praeoperativer Prolaktinspiegel
44. Erstsymptome:
1= Chiasmasyndrom

- 2= Gesichtsfeldausfälle
- 3= Visusminderung
- 4= Hormonstörung
- 5= Kopfschmerzen
- 6= Verminderte Leistungsfähigkeit
- 7= Libido-/Potenzstörung
- 8= Menstruationsstörung

45. Sehstörung

- 0= keine
- 1= Sehstörung

46. Beginn des diagnostischen Erstsymptoms:

in Jahren:

47. HVL-Insuffizienz: Postoperativ (nach der aktuellsten OP)

- 0= nein
- 1= ja

48. Radiatio: Datum

bei Rezidiven erneuter Beginn unter 1

Lebenslauf

Blanca Lüdecke

geboren am 8. 7. 1972 in Hamburg

als zweites von drei Kindern

Vater: Dr. med. Dieter Lüdecke, Neurochirurg

Mutter: Helge Lüdecke, geb. Horn, Lehrerin

Schulbildung

1978 - 1982

Grundschule Eschenweg, Hamburg

1982 - 1991

Gymnasium Alstertal, Hamburg

1991

Abitur

Hochschulstudium

10/1991 - 03/1992

Französisch-Studium an der Universität Montpellier

04/1992 - 06/1995

Studium der Humanmedizin an der Universität Hamburg

10/1995 - 06/1996

Studium der Humanmedizin an der Universität Wien

10/1996 - 12/1999

Abschluß des Studiums der Humanmedizin an der
Universität Hamburg

Examina

04/1994

Physikum

04/1995

I. Staatsexamen

04/1998

II. Staatsexamen

12/1999

III. Staatsexamen

Praktisches Jahr

10/1998 - 02/1999

Chirurgie in der Universitätsklinik Hamburg

02/1999 - 04/1999

Pädiatrie in der Abteilung für Neonatologie und Neuropädiatrie der
Universitätsklinik Hamburg

04/1999 - 06/1999

Pädiatrie im John Hunter Childrens Hospital, New Castle, Australien

06/1999 - 09/1999

Innere Medizin in der Ersten Inneren Abteilung des Allgemeinen
Krankenhaus Altona, Hamburg

Jetzige Tätigkeit

07/2000

Beginn der Tätigkeit als Ärztin im Praktikum in der Inneren Abteilung des
Tabea Krankenhauses bei Herrn Prof. Dr. med. Raedler, Hamburg

Danksagung

Ich danke

allen Mitarbeitern der Pathologie im Marienkrankenhaus und der Neurochirurgischen Abteilung für die freundliche Aufnahme, insbesondere

Herrn Prof. Saeger für seine Unterstützung, die das Zustandekommen dieser Arbeit ermöglichte

Frau Saeger für die Einarbeitung in die immunhistochemische Untersuchungsmaterie

meinem Vater Dr. med Lüdecke, meiner Mutter Helge Lüdecke

und meinen Freunden.

Widmen möchte ich diese Arbeit meinen Großmüttern Hildegard Horn und Lucia Lüdecke.