

Prognostisches Scoring-Modell zur präoperativen Risikoeinschätzung des MIB-1 labeling Indexes bei Hypophysenadenomen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Ivan Maiseyeu

aus Gomel, Belarus

2024

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Erdem Özer Güresir
2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Matthias Schmid

Tag der Mündlichen Prüfung: 20.08.2024

Aus der Klinik und Poliklinik für Neurochirurgie
Direktor: Prof. Dr. med. Hartmut Vatter

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1. Deutsche Zusammenfassung.....	5
1.1 Einleitung	5
1.1.1 Fragestellung	6
1.2 Material und Methoden	7
1.2.1 Patientenkohorte, Bestimmung des MIB-1 labeling Index und postoperative Nachsorgeuntersuchungen	7
1.2.2 Datenerhebung und Statistik	9
1.3 Ergebnisse	11
1.3.1 Bestätigung des bekannten MIB-1 labeling Index Cutoff-Wertes auf vorliegende Patientenkohorte.....	11
1.3.2 Patientencharakteristika der Screening-Gruppe.....	13
1.3.3 Die Charakteristika der Patienten und ihre Korrelation mit dem MIB-1-Index	14
1.3.4 Cut-off-Werte und multivariate Analyse der Assoziationen zwischen Patientenmerkmalen und einem erhöhten MIB-1 labeling Index.....	16
1.3.5 Entwicklung, Bewertung und Anwendung des FATE-Scores zur Vorhersage des progressionsfreien Überlebens	18
1.4 Diskussion.....	21
1.5 Zusammenfassung.....	26
1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	27
2. Veröffentlichung	35
3. Danksagung	52

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	adrenocorticotropes Hormon
AUC	area under curve
BMI	body-Mass-Index
CI	confidence interval / Konfidenzintervall
CRP	c-reaktives Protein
FSH	follikelstimulierendes Hormon
GTR	Gross Total Resection / vollständige Resektion
HA/HAs	Hypophysenadenom
IGF-1	Insulin-like growth factor 1 / Insulinähnliche Wachstumsfaktor 1
IQA	Interquartilsabstand
KPS	Karnofsky-Performance-Status/Karnofsky-Index
MIB-1	Molecular Immunology Borstel 1 labeling Index
MRT	Magnetresonanztomographie
PFS	Progression-free survival / progressionsfreies Überleben
ROC	Receiver-Operating-Characteristic-Kurve
SD	Standardabweichung
STR	subtotale Resektion
ZNS	Zentralnervensystem

1. Deutsche Zusammenfassung

1.1 Einleitung

Hypophysenadenome (HA) bilden die Mehrheit der gutartigen Tumore und machen etwa 15 % aller ZNS-Tumore aus. Die Behandlung erfordert eine präzise Diagnose der spezifischen intrasellären Erkrankung sowie eine umfassende multidisziplinäre Behandlung der lokalen und peripheren Effekte. (Melmed, 2020). Die Prognose von HA ist aufgrund zahlreicher Einflussfaktoren wie klinischer Symptome, hormonellen Profil des Tumors, neuropathologischer Merkmale, proliferativer Aktivität und invasivem Wachstum herausfordernd (Dallapiazza et al., 2015). Die chirurgische Resektion ist in der Regel indiziert, um Raumforderung zu reduzieren und damit verbundene Symptome wie Visusverlust, Gesichtsfeldeinschränkungen und Hirnnervenausfälle zu vermeiden oder zu lindern, sowie um eine mögliche Progression zu verhindern. Zusätzlich ist die operative Behandlung ein bevorzugtes Verfahren bei hormonproduzierenden HAs, auch bei asymptomatischen oder paucisymptomatischen Patienten mit Hyperprolaktinämie, Akromegalie und Morbus Cushing. Diese Patienten können unter signifikanter Komorbiditäten leiden, wenn eine chirurgische Sanierung nicht stattfindet. Darüber hinaus bietet bei letztlich als fast ausschließlich konservativ behandelbaren Prolaktinomen die chirurgische Therapie nach aktuellen Leitlinien eine hohe Heilungschance, ist kosteneffektiv und vermeidet eine langfristige Behandlung mit Dopaminagonisten (Petersenn et al., 2023). Die transsphenoidale Resektion wird aufgrund ihres geringen Risikoprofils als Therapie der Wahl angesehen.

Eine gesteigerte Zellproliferation spielt eine entscheidende Rolle in der Onkogenese (van Diest et al., 1998). Proteine des Zellzyklus können diese Proliferation wirksam widerspiegeln, darunter Ki-67, Topoisomerase II α (Topo II α) und das proliferierende Kernzellantigen (PCNA) (Bravo et al., 1987; Rybenkov et al., 1997). Die immunhistochemische Markierung des Ki-67-Antigens durch den etablierten Molecular Immunology Borstel (MIB-1) -1- labeling Index ist eine bewährte Methode. Ki-67 wird während der Phasen G1, S und G2 des Zellzyklus in den Kernen neoplastischer Zellen exprimiert. Daher ermöglicht die Markierung dieses Antigens eine einfache Identifizierung

von Zellen in aktivem Proliferationszustand (Wach et al., 2020; Gerdes et al., 1983; Scholzen und Gerdes, 2000). Darüber hinaus wurde der MIB-1-labeling Index vorgeschlagen, um HAs und Hypophysenkarzinome zu differenzieren (Chiloiro et al., 2014). Es wurde berichtet, dass ein erhöhter MIB-1 labeling Index mit einer höheren Wahrscheinlichkeit einer Progression eines HA verbunden ist (Almeida et al., 2020). Eine systematische Übersichtsarbeit von 28 Studien zum MIB-1 labeling Index ergab, dass in 18 Studien eine Korrelation mit einem erhöhten MIB-1 labeling Index bei rezidivierenden HAs festgestellt wurde, während in 10 Studien keine Korrelation festgestellt wurde. Diese Ergebnisse legen nahe, dass Ki-67 möglicherweise der beste Indikator für den Proliferationszustand invasiver Adenome ist, obwohl die Schlussfolgerungen nicht einheitlich sind (Zheng et al., 2016).

Um eine erfolgreiche Langzeitkontrolle der HA-Progression oder eine mögliche Sanierung zu gewährleisten, ist eine zuverlässige präoperative Bewertung von entscheidender Bedeutung. Ebenso wichtig ist eine umfassende medizinische Aufklärung über die Ziele der chirurgischen Therapie sowie eine chirurgische Behandlung, die die Funktionen erhält. Leider steht der MIB-1 labeling Index während der präoperativen Phase der Therapieentscheidung und der interaktiven Arzt-Patienten-Beratung nicht zur Verfügung. Ein erhöhter MIB-1 labeling Index weist jedoch auf eine erhöhte Notwendigkeit hin, eine umfangreiche zytoreduktive chirurgische Therapie durchzuführen.

Es wurden bereits verschiedene Ansätze entwickelt, darunter maschinelle Lernmodelle, die die T2-gewichtete Magnetresonanztomographie (MRT) nutzen, sowie Nomogramme, die klinische, demografische und bildgebende Merkmale kombinieren, um den MIB-1 labeling Index präoperativ einzuschätzen (Ugga et al., 2019; Cai et al., 2021; Wang et al., 2022; Shu et al., 2022). Trotz dieser Fortschritte steht derzeit keine einfach anwendbare prognostische Skala zur Verfügung, die eine präoperative Einschätzung des MIB-1 labeling Index ermöglicht und somit eine präzisere Einschätzung der Invasivität und Progression vor der Operation ermöglicht.

1.1.1 Fragestellung

Daher wurde die Patientenpopulation mit HA im Hinblick auf präoperative klinische Parameter, Entzündungs- und Hormonmarker im Labor, präoperative hormonelle

Therapie und bildgebende Risikofaktoren für einen erhöhten MIB-1 labeling Index untersucht. Darauf basierend soll mit der vorliegenden Untersuchung ein Vorschlag für eine neue prognostische Skala erarbeitet werden, um ein erhöhtes Risiko für einen hohen MIB-1 labeling Index präoperativ abschätzen zu können.

1.2 Material und Methoden

1.2.1 Patientenkohorte, Bestimmung des MIB-1 labeling Index und postoperative Nachsorgeuntersuchungen

Für die retrospektive Datenanalyse wurden die Daten der Patienten ausgewertet, die aufgrund einer intrasellären Raumforderung operiert wurden. Der Zeitraum wurde ab dem Datum festgelegt, an dem eine routinemäßige präoperative Fibrinogenabnahme in der Klinik für Neurochirurgie begann. Es wurde bereits die signifikante Vorhersagekraft des Fibrinogens in Bezug auf den erhöhten MIB1-labeling Index bei Patienten mit Meningeomen festgestellt (Wach et al., 2021b). Zwischen Januar 2011 und Dezember 2021 wurden in der neurochirurgischen Klinik der Uniklinik Bonn insgesamt 269 Patienten an HA operiert. Einschlusskriterien waren ein neuropathologisch bestätigtes primäres HA, ein Mindestalter von 18 Jahren zum Zeitpunkt der Diagnose, verfügbare Werte des MIB-1 labeling Indexes, präoperative Plasma- und Serum-Entzündungsmarker (Fibrinogen und C-reaktives Protein (CRP)), prä- und postoperative Hypophysenhormonwerte, eine neurochirurgische Behandlung durch mikrochirurgische Resektion und ein Follow-up von mindestens 3 Monaten mit postoperativer Bildgebung. Patienten mit HA im Zusammenhang mit multipler endokriner Neoplasie Typ 1 (MEN1) wurden aufgrund ihrer unterschiedlichen Behandlungsschemata und neuropathologischen Merkmale von der Studie ausgeschlossen (Incandela et al., 2020; Trouillas et al., 2008). Insgesamt wurden 109 Patienten in die abschließende Datenanalyse einbezogen (siehe Abbildung 1). Die neuropathologische Klassifizierung erfolgte nach den WHO-Kriterien 2016 (Louis et al., 2016). Alle neuropathologischen Diagnosen wurden einer erneuten Untersuchung unterzogen, um sicherzustellen, dass sie diesen Anforderungen entsprachen. Die immunhistochemische Markierung wurde gemäß früher beschriebenen Verfahren für in

Paraffin eingebettete Biopsie-Tumorproben durchgeführt. (Majores et al., 2008; Majores et al., 2005). Der MIB-1 labeling Index wurde unter Verwendung des Anti-Ki67-Antikörper-Kits (Klon 2B11+PD7/26) berechnet. Zur Visualisierung wurde Diaminobenzidin verwendet. Die Berechnung des MIB-1 labeling Indexes erfolgt grundsätzlich auf zwei Arten: durch manuelles Zählen des Prozentsatzes der Ki-67-positiven Zellen im Verhältnis zur Gesamtzahl der Zellen und durch digitale Bildanalyse. Die Software erkennt automatisch und semiautomatisch die Ki-67-positiven und -negativen Zellen und berechnet den MIB-1 labeling Index basierend auf der Anzahl und Verteilung der positiven Zellen. Semi-automatisierte und automatisierte Methoden können vergleichbare Ergebnisse wie traditionelle manuelle Bewertungsmethoden liefern. Allerdings ist die digitale Bildanalyse derzeit noch nicht für den klinischen Einsatz bereit (Dawe et al., 2024). In der Arbeit wurde der Goldstandard angewendet: Die Berechnung des MIB-1 labeling Indexes wurde von einem erfahrenen Neuropathologen durchgeführt (Gerdes et al., 1984). Darüber hinaus wurden weitere immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt, um die jeweiligen adenohipophysären Zelllinien zu bestimmen und nach einer p53-Expression zu suchen.

Zusätzlich zu den klinischen und bildgebenden postoperativen Kontrollterminen wurden weiterführende Untersuchungen durchgeführt, um den Langzeitverlauf der Patienten zu überwachen. Diese Untersuchungen erfolgten nicht nur zur Bestätigung des Therapieerfolgs, sondern auch zur frühzeitigen Erkennung von Progressionen. Die postoperativen Kontrollen fanden 3 Monate nach der Operation sowie jährlich bis zum fünften postoperativen Jahr statt. Frühere Untersuchungen wurden eingeschoben, wenn neue oder fortschreitende klinische Symptome auftraten, wie beispielsweise Sehstörungen oder Anzeichen einer Hormonstörung, oder wenn radiologische Hinweise auf ein Wachstum des HA vorlagen. Um eine Progression zu erfassen, wurde eine spezifische Definition verwendet: Eine Progression wurde festgestellt, wenn eine 25%ige Zunahme des Volumens im Vergleich zur vorherigen Größe des HA auftrat (Gerges et al., 2020). Die Zeit bis zum Progressionsereignis wurde als das Intervall zwischen der ersten Operation und der ersten nachfolgenden Behandlung, wie beispielsweise Strahlentherapie oder eine erneute Operation, gemessen. Dieser Ansatz ermöglichte eine präzise Erfassung und Bewertung des Verlaufs der Hypophysenadenome über einen längeren Zeitraum hinweg.

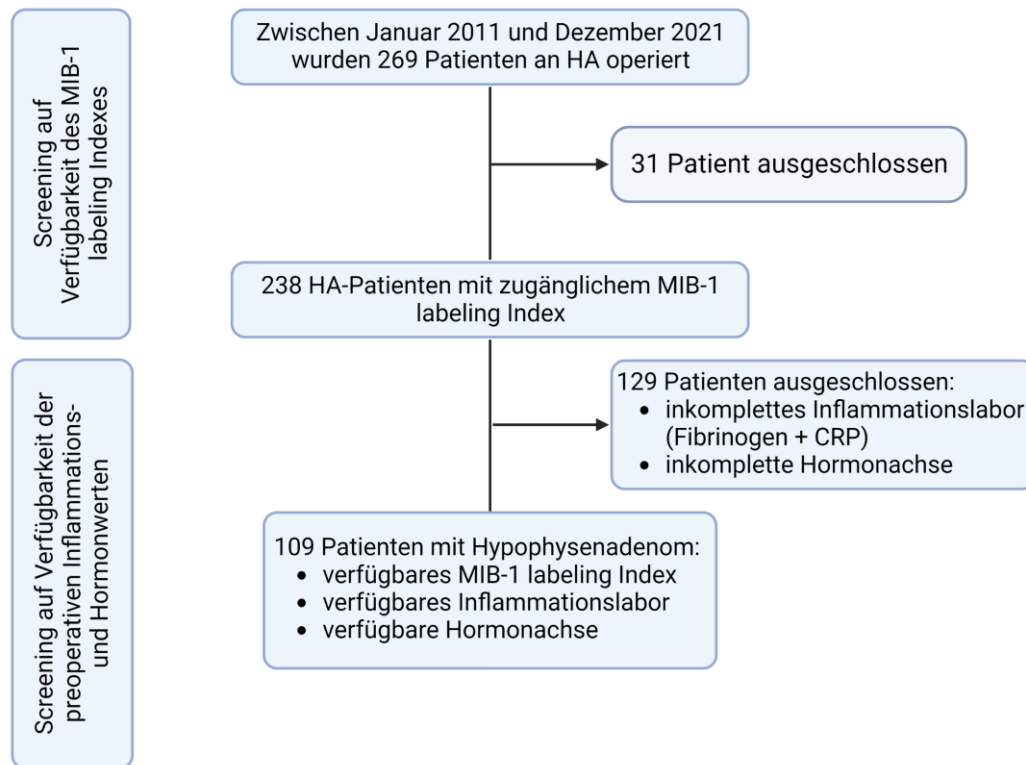


Abb. 1: Flussdiagramm. Zusammenfassung des Einschlussverfahrens für Patienten mit HA zwischen dem 1. Januar 2011 und dem 1. Dezember 2021. Modifiziert nach Maiseyeu et al. (Maiseyeu et al., 2022)

1.2.2 Datenerhebung und Statistik

Die folgenden klinischen Daten wurden retrospektiv erfasst und in einer computergestützten Datenbank (SPSS, Version 27 für Windows, IBM Corp., Armonk, NY) konsolidiert: Alter bei der Diagnosestellung, Geschlecht, Komorbiditäten, Karnofsky-Performance-Status (KPS), Body-Mass-Index (BMI), maximale Tumorgöße (mm), Tumorstadium ("Sinus-cavernosus-Infiltration"), bildgebende Klassifikation der Tumore nach Knosp-Klassifikation, prä- und postoperative Dopaminagonisten Therapie, Vorhandensein einer Hypophysenapoplexie, WHO-Klassifikation auf der Grundlage der postoperativen histopathologischen Untersuchung, Immunhistochemie, der Umfang der Tumorresektion basierend auf der postoperativen gadoliniumverstärkten MRT und

postoperative Follow-up-Daten einschließlich der postoperativen hormonellen Substitutionstherapie. Die präoperative MRT-Bildgebung wurde routinemäßig innerhalb von 2 Tagen vor der Operation durchgeführt. Die Größe der HA wurde mit einer durchmesserbasierten Methode berechnet, bei der der größte Durchmesser auf einer einzelnen transversalen kontrastmittel-gestützten präoperativen T1-gewichteten MR-Ebene ausgewählt wurde (Henson et al., 2008). Des Weiteren erfolgte die Einteilung gemäß der Knosp-Klassifikation (Micko et al., 2015). Das Laborinformationssystem Lauris (Version 17.06.21, Swislab GmbH, Berlin, Deutschland) wurde für die Erfassung der Laborwerte verwendet. Venöse Blutproben wurden innerhalb eines Tages vor der HA-Operation entnommen. Die einzelnen Blutentnahmen wurden zu festgelegten Zeitpunkten durchgeführt, was eine Bestimmung der Zeit bis zur Tumorprogression ermöglicht. Die Routineuntersuchungen umfassten die folgenden Parameter: komplettes Blutbild, Nieren- und Leberuntersuchung, Gerinnungsprofil, Plasmafibrinogen und CRP im Serum. Präoperativ wurde die Plasmafibrinogenkonzentration mit der Clauss-Methode berechnet, bei der eine standardisierte und hohe Konzentration von Thrombin (Dade® Thrombin-Reagenz, Siemens Healthineers, Erlangen, Bayern, Deutschland) in plättchenarmes Plasma verabreicht wird. Anschließend wurde die Fibrinogenkonzentration anhand einer Referenzkurve untersucht. Die CRP-Konzentration wurde mittels turbidimetrischer Immunoassays mit einem CRPL3-Reagenz (Roche, Basel, Schweiz) gemessen (Wach et al., 2021a). Zusätzlich wurde im Rahmen dieser Studie routinemäßig ein Panel zur Bestimmung der Hypophysenhormonspiegel (Thyreoidea-stimulierendes Hormon (TSH), insulinähnlicher Wachstumsfaktor 1 (IGF-1), adrenokortikotropes Hormon (ACTH), follikelstimulierendes Hormon (FSH), luteinisierendes Hormon (LH), Prolaktin, Estradiol, Testosteron und Wachstumshormon) erhoben.

Die Daten wurden mit SPSS (Version 27.0 für Windows; IBM Corp, Armonk, New York, NY, USA) organisiert und ausgewertet. Die Dichotomisierung des MIB-1 labeling Indexes in Patientengruppen mit normalen und erhöhten MIB-1 labeling Index Werten erfolgte nach einem bereits zuvor definierten Cutoff-Wert. Ein Cutoff-Wert des MIB-1 labeling Indexes ($>3\%$) wurde festgelegt, um zwischen invasiven und nicht-invasiven HA zu unterscheiden, mit einer Spezifität von 97% und einer Sensitivität von 73%, und war mit positiven und negativen Vorhersagewerten von 96 bzw. 80% assoziiert (Thapar et al., 1996). In der Studie wurde der selben Cutoff-Wert ($<4/\geq 4\%$) benutzt. Kaplan-Meier-

Diagramme wurden in Verbindung mit dem entsprechenden Log-Rank-Test genutzt, um die Bedeutung des erhöhten MIB-1 labeling Indexes und den Cutoff-Wert für die Vorhersage einer Progression bei vollständig resezierten HA zu bestätigen. Normalverteilte Variablen wurden durch Mittelwert und Standardabweichung (SD) angegeben. Der Vergleich kategorischer Daten erfolgte mittels Fisher's exact Test (zweiseitig), während ein unabhängiger t-Test für kontinuierliche Daten verwendet wurde. Receiver-Operating-Characteristic-Kurven (ROC) wurden für verschiedene Faktoren wie Alter, ACTH, IGF-1, FSH und Fibrinogen erstellt, um ihre Beziehung zum MIB-1 labeling Index zu analysieren. Die Flächen unter den ROC-Kurven (AUC) wurden analysiert, um optimale Cutoff-Werte für Variablen wie CRP, Fibrinogen und Tumorgröße zu ermitteln. Variablen mit einem p-Wert von $<0,10$ in der univariaten Analyse wurden in die multivariate Analyse aufgenommen. Eine multivariate binäre logistische Regressionsanalyse wurde durchgeführt, um präoperative Faktoren zu untersuchen, die den MIB-1 labeling Index beeinflussen. Dichotomisierte Variablen wurden mithilfe des Wald-Tests untersucht, wobei ein p-Wert von $<0,05$ als statistisch signifikant definiert wurde. Signifikante Variablen aus der multivariaten Analyse wurden in ein Fünf-Punkte-Scoring-System zur Einschätzung des MIB-1 labeling Indexes integriert. ROC-Kurven und Kaplan-Meier-Diagramme wurden erstellt, um die Korrelation des entwickelten Scores mit dem progressionsfreien Überleben zu analysieren.

1.3 Ergebnisse

1.3.1 Bestätigung des bekannten MIB-1 labeling Index Cutoff-Wertes auf vorliegende Patientenkohorte.

Von den insgesamt 269 untersuchten Patienten, die innerhalb eines Zeitraums von 10 Jahren bis Dezember 2021 in unserer Klinik an einem HA operiert wurden, waren bei 229 Patienten (85,1 %) MRT Daten vorhanden. Bei 147 Patienten (64,2 %) wurde eine vollständige Resektion (GTR/gross total resection) erreicht, während bei 82 Patienten (35,8 %) eine subtotale Resektion (STR) durchgeführt wurde. Die mittlere Zeit bis zur Progression des HA betrug 112,9 Monate (95% CI: 104,2-121,5) bei Patienten, die einer

GTR unterzogen wurden, und 92,8 Monate bei denen, die eine STR hatten ($p < 0,001$). Das entsprechende Kaplan-Meier-Diagramm ist in Abbildung 2A dargestellt. Die diagnostische Aussagekraft des MIB-1 labeling Indexes bezüglich der Progression des HAs wurde weiter untersucht. Ein signifikanter Unterschied im progressionsfreien Überleben konnte nur in der GTR-Gruppe nachgewiesen werden. Von den 147 Patienten, bei denen eine GTR erreicht wurde und für die postoperative Follow-up-Daten verfügbar waren, war der MIB-1 labeling Index bei 133 Patienten (90,5 %) bekannt. Die mittlere Zeit (Monate) bis zur HA-Progression betrug bei den Patienten mit einem erhöhten MIB-1 labeling Index ($\geq 4\%$, $n = 30$) 85,5 (95% CI: 71,9-99,0) Monate und 118,9 (95% CI: 111,9-125,9) Monate bei den Patienten mit einem normalen MIB-1 labeling Index ($< 4\%$, $n = 103$) (Ergebnis des Log-Rank-Tests: $p = 0,029$). Abbildung 2B zeigt die Wahrscheinlichkeiten der HA-Progression bei Patienten mit GTR und weiterer Stratifizierung nach dem MIB-1 labeling Index in Gruppen $\geq 4\%$ oder $< 4\%$. Somit konnte der bereits beschriebene Cut-off-Wert in unserer Patientenkohorte bestätigt werden (Thapar et al., 1996).

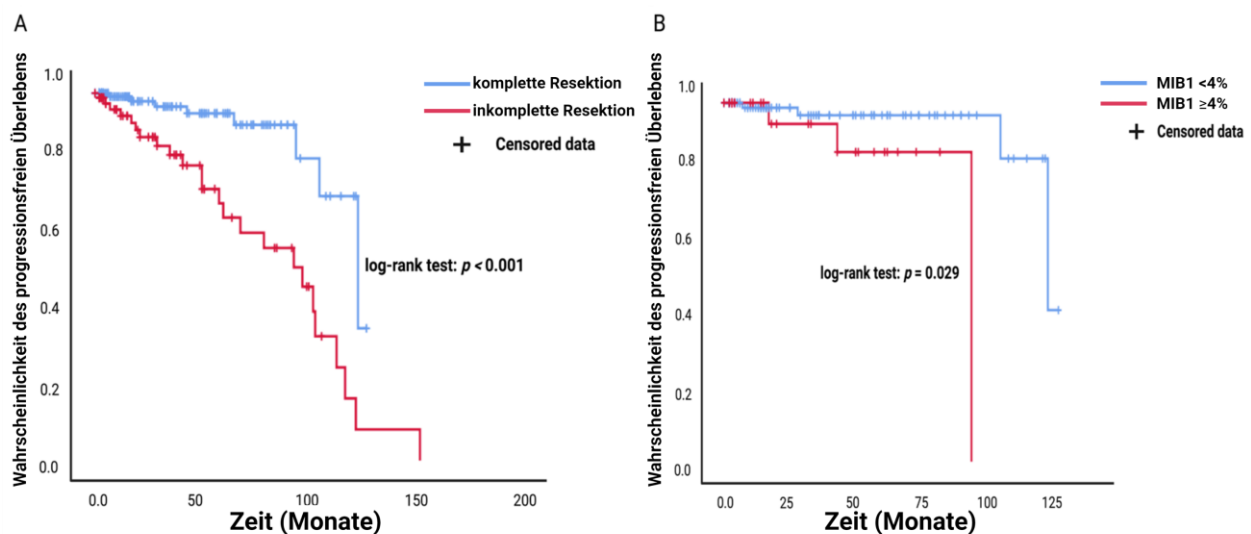


Abb 2: (A) Kaplan-Meier-Analyse der Tumorprogressionswahrscheinlichkeit stratifiziert nach "vollständiger Resektion" (blaue Linie) und "unvollständiger Resektion" (rote Linie). Die zensierten Patienten sind durch die vertikalen Striche (hier: Fehlen einer HA-Progression bei der letzten Nachuntersuchung) innerhalb der progressionsfreien Überlebenskurven gekennzeichnet. Die Zeitachse (x-Achse) ist auf 200 Monate limitiert. $p < 0,001$ (Log-Rank-Test). (B) Kaplan-Meier-Analyse der HA-Progressionswahrscheinlichkeit stratifiziert nach "MIB-1 $\geq 4\%$ " (rote Linie) und "MIB-1 $< 4\%$ " (blaue Linie) bei komplett resezierten Hypophysenadenomen. Die Zeitachse (x-Achse) ist auf 125 Monate limitiert. $p = 0,029$ (Log-Rank-Test). Modifiziert nach Maiseyeu et al. (Maiseyeu et al., 2022)

1.3.2 Patientencharakteristika der Screening-Gruppe.

In der Studie konnte insgesamt 109 Patienten mit einem HA identifiziert werden, für die bildgebende, laborchemische (Entzündung und Hormone) sowie immunhistochemische Daten vorlagen. Das mittlere Alter bei der Diagnosestellung des HAs betrug 60 Jahre (IQR 47-70), wobei Männer in der Studienpopulation überwogen (49 Frauen (45,0 %) und 60 Männer (55,0 %); Verhältnis Frauen zu Männern 1:1,2). Der Medianwert des präoperativen Karnofsky-Index (KPS) bei der Aufnahme betrug 90 (IQR 90-100). Der mediane maximale Durchmesser der HA betrug 21 mm (IQR, in mm: 14-27). In 43 Fällen (39,4 %) wurde eine Infiltration des Sinus cavernosus festgestellt (Knosp-Klassifikation 3a-4). Ein Hypophysenapoplex trat bei sechs Patienten (5,5 %) auf. Bei 67 Patienten (61,5 %) wurde eine vollständige Resektion erreicht, wobei sowohl MIB-1 labeling Index, Bildgebung als auch ein vollständiges präoperatives Inflammations- und Hormonlabor verfügbar waren. Neuropathologische Untersuchungen inklusive immunhistochemischer Analysen zur Bestimmung der adenohipophysären Zelllinie wurden durchgeführt. Gonadotrope Adenome (49/109; 45 %) waren die am häufigsten vorkommende Form von Hypophysenadenomen in der vorliegenden Studienkohorte, gefolgt von plurihormalen (32,1 %) und Nullzell-Adenomen (10,1 %). Der mittlere MIB-1 labeling Index betrug 3 % (IQR: 2-4). Eine Expression des p53-Proteins wurde bei 44 Patienten (40,4 %) festgestellt. Weitere Merkmale sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tab. 1. Patientencharakteristika (n = 109)	
Medianes Alter (IQA) (in Jahren)	60 (47-70)
Geschlecht	
Weiblich	49 (45.0%)
Männlich	60 (55.0%)
Medianer präoperativer KPS (IQA)	90 (90-100)
Medianer maximaler Durchmesser (mm)	21 (14-27)
Infiltration des Sinus cavernosus	43 (39.4%)
Hypophyseninfarkt	6 (5.5%)
Ausmaß der Resektion	
Komplette Resektion (GTR)	67 (61.5%)
Inkomplette Resektion (STR)	42 (38.5%)

Tab. 1. Patientencharakteristika (n = 109)	
Immunhistochemische Tumorarten	
Gonadotropes Adenom	49 (45%)
Plurihormonelles Adenom	35 (32.1%)
Nullzell Adenom	11 (10.1%)
Korticotropes Adenom	8 (7.3%)
Somatotropes Adenom	3 (2.8%)
Prolaktinom	2 (1.8%)
Thyreotropes Adenom	1 (0.9%)
Medianer MIB-1 labeling Index (%), IQA	3 (2-4)
p53-Expression	44 (40.4%)

1.3.3 Die Charakteristika der Patienten und ihre Korrelation mit dem MIB-1-Index

Es wurden deutliche und subtile Zusammenhänge identifiziert. Bei 32 Patienten (29,4 %) wurde ein MIB-1 labeling Index von ≥ 4 % festgestellt, während 77 Patienten (70,6 %) einen MIB-1 labeling Index von < 4 % aufwiesen. Patienten mit einem höheren MIB-1 labeling Index waren im Vergleich zu denen mit einem niedrigeren Index signifikant jünger. Der mittlere ACTH-Basisspiegel war bei Patienten mit einem MIB-1 labeling Index von ≥ 4 % im Vergleich zu denen mit < 4 % signifikant höher ($39,54 \pm 34,36$ vs. $26,76 \pm 20,34$; $p = 0,03$). Die mittleren Fibrinogen-Plasmaspiegel ($3,55 \pm 0,89$ vs. $3,19 \pm 0,89$; $p = 0,06$) und die Basisspiegel von IGF-1 ($293,46 \pm 310,77$ vs. $189,56 \pm 238,51$; $p = 0,06$) tendierten ebenfalls dazu, bei Patienten mit einem MIB-1 labeling Index von ≥ 4 % höher zu sein. Zusätzlich war der FSH-Basisspiegel bei Patienten mit einem MIB-1 labeling Index von ≥ 4 % im Vergleich zu denen mit < 4 % niedriger ($8,07 \pm 12,63$ vs. $13,53 \pm 18,47$; $p = 0,09$). Andere demografische Merkmale, Tumorwachstumsmuster, Medikation und Laborwerte der Patienten mit HAs waren zwischen den MIB-1-Gruppen nicht signifikant unterschiedlich und sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tab. 2. Präoperative demografische, klinische, bildgebende und laborchemische Charakteristika bei HA-Patienten mit einem normalen und einem erhöhten MIB-1 labeling Index (< 4%/≥ 4%). Kursiv und fett gedruckte P-Werte kennzeichnen statistisch signifikante Ergebnisse. (n = 109)			
Variable	MIB-1 < 4% (n = 77)	MIB-1 ≥ 4% (n = 32)	p-Wert
Geschlecht			
Weiblich	38 (49,4%)	11 (34,3%)	0,21
Männlich	39 (50,6%)	21 (65,5%)	
Alter, Mittelwert ± SD	61,4 ± 15,6	49,3 ± 15,9	<0,001
Präoperativer KPS, Mittelwert ± SD	90,9 ± 10,8	92,2 ± 8,7	0,55
Body mass index, Mittelwert ± SD	28,7 ± 5,8	30,8 ± 9,1	0,16
Akromegalie			
vorhanden	12	6	0,78
nicht vorhanden	65	26	
Morbus Cushing			
vorhanden	2	2	0,58
nicht vorhanden	75	30	
Diabetes			
vorhanden	8 (10,4%)	6 (18,8%)	0,35
nicht vorhanden	69 (89,6%)	26 (81,2%)	
ASS-Einnahme			
vorhanden	8 (10,4%)	3 (18,8%)	0,99
nicht vorhanden	69 (89,6%)	29 (81,2%)	
Hypophyseninfarkt			
vorhanden	4 (5,2%)	2 (6,3%)	0,99
nicht vorhanden	73 (94,8%)	30 (93,7%)	
Maximale Diameter (mm), Mittelwert ± SD	21,8 ± 9,8	21,3 ± 9,0	0,81
Mikroadenom	13 (16,9%)	6 (18,7%)	0,79
Makroadenom	64 (83,1%)	26 (81,3%)	
Plurihormonal (immunhistochemisch)			
vorhanden	24 (31,2%)	11 (34,4%)	0,82
nicht vorhanden	53 (61,8%)	21 (65,6%)	
Sinus cavernosus Infiltration			
vorhanden	28 (36,4%)	15 (46,9%)	0,39
nicht vorhanden	49 (63,6%)	17 (53,1%)	
Präoperative Hormonsubstitution			
Hydrocortison	12 (15,6%)	11 (34,4%)	0,14
Levothyroxin	11 (14,3%)	5 (15,6%)	
Testosteron	0 (0,0%)	1 (3,1%)	
Levothyroxin und Testosteron	1 (1,3%)	0 (0,0%)	
	10 (13,0%)	4 (12,5%)	
	1 (1,3%)	0 (0,0%)	

Tab. 2. Präoperative demografische, klinische, bildgebende und laborchemische Charakteristika bei HA-Patienten mit einem normalen und einem erhöhten MIB-1 labeling Index (< 4%/≥ 4%). Kursiv und fett gedruckte P-Werte kennzeichnen statistisch signifikante Ergebnisse. (n = 109)

Hydrocortison und Levothyroxin	42 (54,5%)	11 (34,4%)	
Hydrocortison & Testosteron & Levothyroxin			
Keine			
p53-Expression (verfügbar bei 88 Patienten)			0,50
vorhanden	27 (46,55%)	17 (56,66%)	
nicht vorhanden	31 (53,45%)	13 (43,33%)	
Basalstatus Plasmafibrinogen (g/L), Mittelwert ± SD	3,19 ± 0,89	3,55 ± 0,89	0,06
Basalstatus Serum CRP (mg/l), Mittelwert ± SD	4,76 ± 14,81	6,22 ± 11,55	0,62
Basalstatus TSH (µU/ml), Mittelwert ± SD	1,30 ± 0,83	1,44 ± 0,81	0,45
Basalstatus IGF-1 (ng/ml), Mittelwert ± SD	189,56 ± 238,51	293,46 ± 310,77	0,06
Basalstatus ACTH (pg/ml), Mittelwert ± SD	26,76 ± 20,34	39,54 ± 34,36	0,03
Basalstatus LH (U/l), Mittelwert ± SD	5,15 ± 6,40	3,56 ± 4,68	0,22
Basalstatus FSH (mIU/ml), Mittelwert ± SD	13,53 ± 18,47	8,07 ± 12,63	0,09
Basalstatus Prolaktin (ng/ml), Mittelwert ± SD	29,18 ± 33,00	28,48 ± 39,73	0,93
Basalstatus Estradiol (pg/ml), Mittelwert ± SD	21,38 ± 25,77	47,84 ± 93,66	0,38
Basalstatus Testosteron (ng/ml), Mittelwert ± SD	1,98 ± 1,85	1,53 ± 1,11	0,20
Basalstatus Wachstumshormon (ng/ml), Mittelwert ± SD	5,15 ± 12,64	6,50 ± 12,24	0,69

1.3.4 Cut-off-Werte und multivariate Analyse der Assoziationen zwischen Patientenmerkmalen und einem erhöhten MIB-1 labeling Index

Es wurden ROC-Kurven erstellt, um die Flächen unter den Kurven (AUCs) für das Alter bei der Diagnose, das Plasmafibrinogen, das IGF-1 und das ACTH zur Vorhersage eines MIB-1 labeling Index ($\geq 4\%$) zu bestimmen. Die AUCs für das Alter bei der Diagnose, das Plasmafibrinogen, das IGF-1, das ACTH und das FSH betragen entsprechend 0,72 (95% CI: 0,61-0,82), 0,64 (95% CI: 0,52-0,75), 0,71 (95% CI: 0,60-0,82), 0,65 (95% CI: 0,53-0,77) und 0,57 (95% CI: 0,45-0,68). Die optimalen Cut-off-Werte zur Vorhersage eines MIB-1 labeling Indexes ($\geq 4\%$) wurden wie folgt ermittelt: Alter bei der Diagnose ($\leq 60 / > 60$), Plasmafibrinogen ($\geq 3,15 / < 3,15$ g/L), IGF-1 ($\geq 126,1 / < 126,1$ ng/ml), ACTH ($\geq 25,1 / < 25,1$ pg/ml) und FSH ($\leq 5,75 / > 5,75$ mIU/ml) Für jede Variable wurden die entsprechenden Werte für Sensitivität, Spezifität und Youden-Index ermittelt. Patienten mit einem erhöhten IGF-1 ($\geq 126,1$ ng/ml) wiesen einen mittleren Body-Mass-Index (BMI) von $30,7 \pm 8,7$ auf, während Patienten mit einem IGF-1 $< 126,1$ ng/ml einen mittleren BMI von $28,2 \pm 4,9$ aufwiesen (Ergebnis des unabhängigen t-Tests: $p = 0,08$). Akromegalie aufgrund chronischer Überproduktion von IGF-1 trat in 18 (16,5 %) Fällen auf. Patienten mit Akromegalie hatten einen mittleren MIB-1 labeling Index von $2,9 \pm 1,4$, während Patienten ohne Akromegalie einen mittleren MIB-1 labeling Index von $3,1 \pm 1,7$ aufwiesen (Ergebnis des unabhängigen t-Tests: $p = 0,56$). Eine multivariate binäre logistische Regressionsanalyse wurde durchgeführt, wobei das Alter bei der Diagnose, das Plasmafibrinogen, das IGF-1, das ACTH und das FSH als Variablen berücksichtigt wurden. Die Analyse ergab, dass das Alter bei der Diagnose, das Plasmafibrinogen, das IGF-1 und das ACTH signifikant mit einem MIB-1 labeling Index von $\geq 4\%$ assoziiert waren. Abbildung 3 fasst die Ergebnisse der multivariaten binären logistischen Regressionsanalyse zusammen.

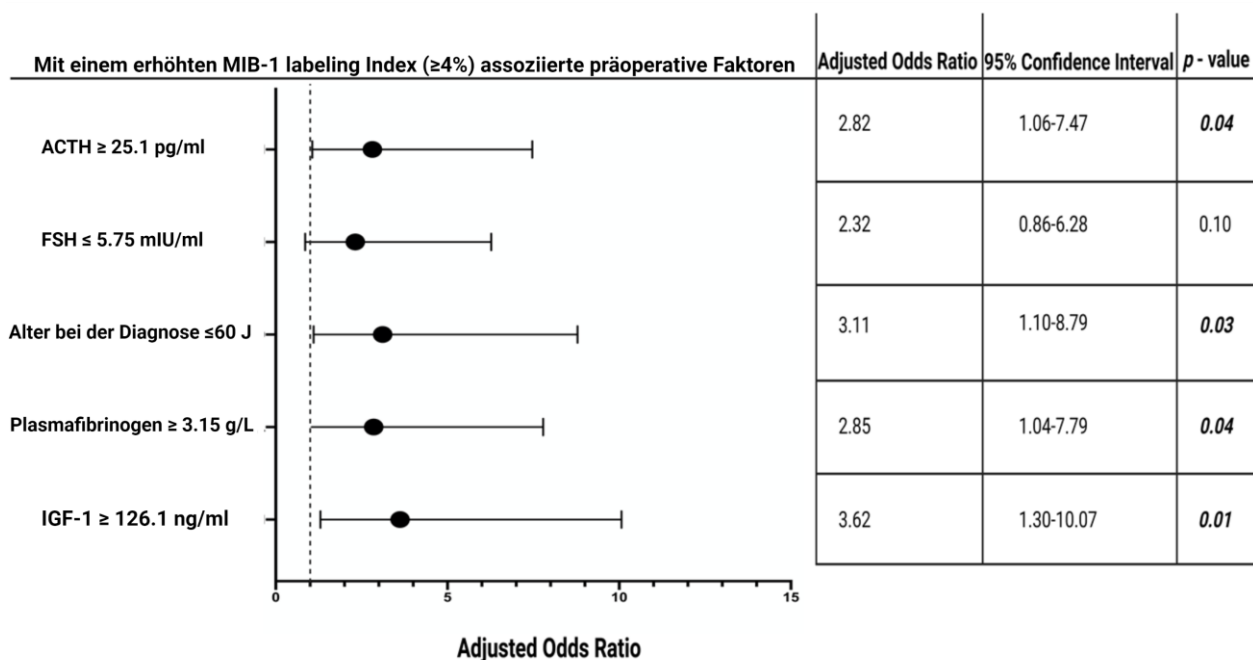


Abb. 3: Forest Plots – Diagramm zur Darstellung der Ergebnisse der multivariablen binären logistischen Regressionsanalyse: IGF-1 $\geq 126,1$ ng/ml, Alter ≤ 60 Jahre bei der Diagnose, ACTH $\geq 25,1$ pg/ml und Plasmafibrinogen $\geq 3,15$ g/L sind Variablen, die unabhängig mit einem erhöhten MIB-1 labeling Index assoziiert sind. Die schwarzen Kreise kennzeichnen die adjusted Odds Ratio für jede Variable und die entsprechenden Balken stellen das dazugehörige 95%-Konfidenzintervall dar. P-Werte in Fett- und Kursivdruck kennzeichnen statistisch signifikante Ergebnisse. Modifiziert nach Maiseyeu et al. (Maiseyeu et al., 2022)

1.3.5 Entwicklung, Bewertung und Anwendung des FATE-Scores zur Vorhersage des progressionsfreien Überlebens

Ein Scoring-System wurde entwickelt, um den MIB-1 labeling Index bei HAs abzuschätzen und zu bewerten. Das Ziel des FATE-Scores war es, eine praktikable Einschätzung des MIB-1 labeling Indexes anhand leicht zugänglicher präoperativer Parameter zu ermöglichen und vielleicht zukünftige Integration in den klinischen Alltag zu gewährleisten. Der neuen Score, der als "FATE"-Score bezeichnet wurde, verteilt Punkte von 0 bis 5 wie folgt: Präoperatives IGF-1 $\geq 126,1$ ng/ml (2 Punkte); präoperatives Alter bei der Diagnose ≤ 60 Jahre (1 Punkt); präoperatives ACTH $\geq 25,1$ pg/ml (1 Punkt); präoperatives Plasmafibrinogen $\geq 3,15$ g/L (1 Punkt). Bei Patienten mit einem MIB-1 labeling Index ≥ 4

% betrug die mittlere Gesamtpunktzahl 3,7 (SD = 2,18), während sie bei Patienten mit einem MIB-1 labeling Index < 4 % bei 2,7 (SD = 1,17) lag ($p = 0,009$).

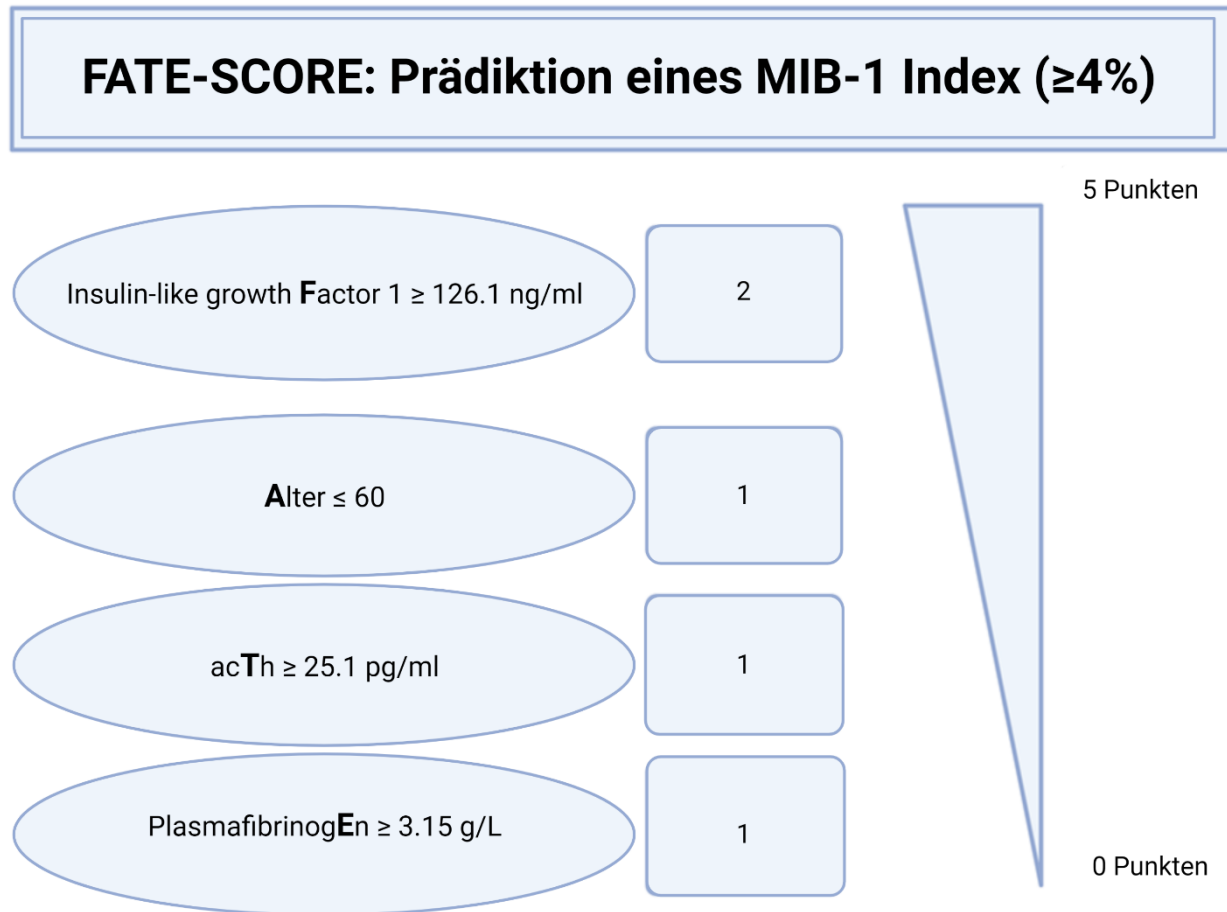


Abb. 4: Präoperatives klinisches Scoring-System dient zur Identifizierung von Patienten mit dem Risiko eines erhöhten MIB-1 labeling Index (≥ 4 %). Ein additiver Gesamtscore-Wert von < 3 Punkten ergibt eine Wahrscheinlichkeit von 85,2 %, kein erhöhtes proliferatives Potenzial zu haben. Modifiziert nach Maiseyeu et al. (Maiseyeu et al., 2022)

Es wurde eine ROC-Kurve erstellt, um die Leistungsfähigkeit des FATE-Scores bei der Abschätzung eines MIB-1 labeling Indexes ≥ 4 % zu bewerten. Die AUC für den FATE-Score bei der Vorhersage eines erhöhten MIB-1 labeling Indexes (≥ 4 %) betrug 0,79 (95 % CI: 0,70-0,88, $p < 0,001$). Bei einem Gesamtpunktwert von 3 ergab der Score eine Sensitivität von 72,0 %, eine Spezifität von 68,0 % (Youden-Index: 0,40), einen positiven prädiktiven Wert von 48,0 % und einen negativen prädiktiven Wert von 85,2 %. Die Abbildung 5 illustriert die ROC-Kurve mit den entsprechenden Analyseergebnissen. Ein

Gesamtpunktwert von <3 Punkten wies eine Wahrscheinlichkeit von 85,2 % auf, keinen MIB-1 labeling Index ≥ 4 % zu haben.

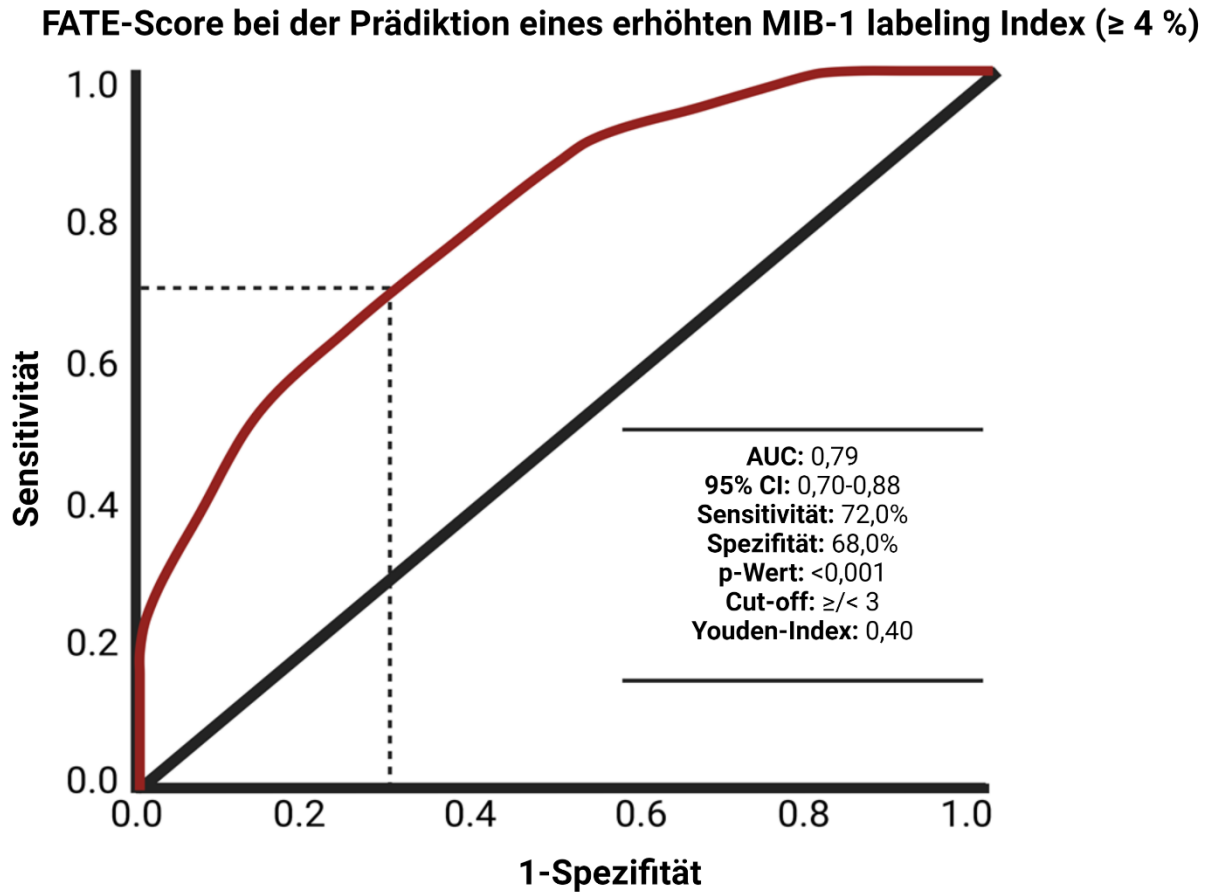


Abb. 5: Receiver-Operating-Charakteristik-Kurve zur Darstellung des FATE-Scores bei der präoperativen Einschätzung des MIB-1 labeling Indexes (≥ 4 %). Modifiziert nach Maiseyeu et al. (Maiseyeu et al., 2022)

Die primäre Funktion des FATE-Scores liegt in der präoperativen Einschätzung des MIB-1 labeling Indexes. Eine ROC-Kurvenanalyse des FATE-Scores zur Abschätzung der Tumorprogression nach vollständiger Resektion des Hypophysenadenoms wurde durchgeführt. Die AUC für den FATE-Score betrug 0,88 (95% CI: 0,77-0,99). Der optimale Cut-off-Wert des FATE-Scores für die Vorhersage des progressionsfreien Überlebens (PFS) lag bei ≥ 4 / < 4 Punkten. Unter Verwendung dieses Cut-off-Werts zeigte der FATE-Score eine Sensitivität von 100,0 % und eine Spezifität von 75,0 % (Youden-Index: 0,75) für die Vorhersage der HA-Progression. Die Analyse der ROC-Kurve ist in Abbildung 6

(A) dargestellt. Die Untersuchung der HA-Progression erfolgte in der Studienkohorte von Patienten, die eine vollständige Resektion erhielten, indem der FATE-Score in <4 ($n = 45$) vs. ≥ 4 ($n = 16$) Punkte unterteilt wurde. Die durchschnittliche Follow-up-Zeit betrug $32,8 \pm 28,3$ Monate. Bei drei Patienten ($3/16$; $18,75\%$) mit vollständiger Resektion und einem FATE-Score ≥ 4 trat ein Rezidiv auf, während kein Patient mit vollständiger Resektion und einem FATE-Score <4 ein Rezidiv erlebte. Die mittlere Zeit bis zum Rezidiv bei Patienten mit vollständiger Resektion und einem erhöhten FATE-Score (≥ 4) betrug $94,0$ Monate. Der Log-Rank-Test ergab eine signifikant verkürzte Zeit bis zur HA-Progression bei Patienten mit vollständiger Resektion und einem FATE-Score ≥ 4 im Vergleich zu denen mit einem FATE-Score <4 ($p = 0,014$). Abbildung 6 (B) zeigt die Kaplan-Meier-Kurve des progressionsfreien Überlebens bei vollständig resezierten Hypophysenadenomen, aufgeteilt nach FATE-Score "0-3 Punkte" und "4 oder 5 Punkte".

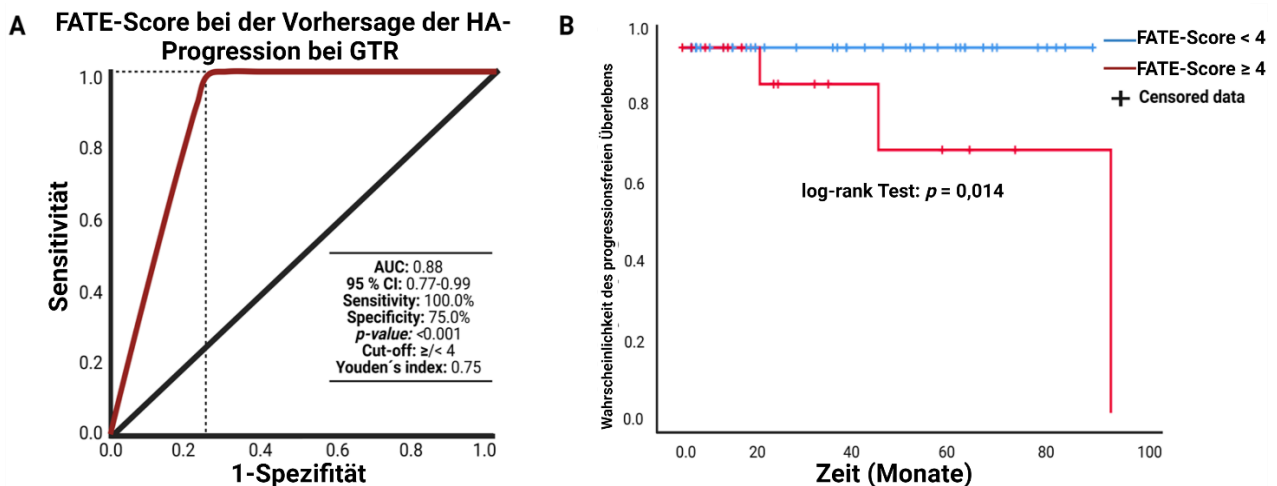


Abb. 6: (A) Receiver-Operating-Charakteristik-Kurve mit Darstellung des FATE-Scores bei der Vorhersage der Tumorprogression nach transspenoidaler GTR eines HAs (B) Kaplan-Meier-Analyse der Tumorprogressionswahrscheinlichkeit stratifiziert nach "Score: 0-3 Punkte" (blaue Linie) und "Score: ≥ 4 Punkte" (rote Linie). Vertikale Striche zeigen zensierte Daten (hier: progressionsfreier Zustand beim letzten Follow-up) innerhalb der progressionsfreien Überlebenskurven an. Die Zeitachse ist auf 100 Monate begrenzt. $p = 0,014$ (Log-Rank-Test) Modifiziert nach Maiseyeu et al. (Maiseyeu et al., 2022)

1.4 Diskussion

Initiale Tumorgroße, Resttumorvolumen, invasives Wachstum und junges Alter gelten als etablierte Prädiktoren für ein erneutes Wachstum bei sporadischen HAs (Hlaváč et al.,

2020). Ein erhöhter MIB-1 labeling Index wird als molekularer Marker für eine aggressive Tumorbilologie betrachtet und ist mit einem erhöhten Risiko für invasives Wachstum und eine beschleunigte Tumorprogression bei HAs verbunden (Das et al., 2019). Mehrere Studien haben gezeigt, dass ein erhöhter MIB-1 labeling Index mit einer erhöhten proliferativen Aktivität und Aggressivität bei HA einhergeht (Glebauskiene et al., 2018). Bei der präoperativen Vorbereitung der HA-Patienten ist es entscheidend, dass sowohl Patienten als auch ihre Angehörige aufgeklärt werden. Dies ermöglicht einen maximal effektiven Austausch zwischen Arzt und Patient, der auf einer angemessenen Risikostratifizierung basiert. Trotzdem kann der MIB-1 labeling Index, der die proliferative Aktivität widerspiegelt, allein nicht zur präoperativen Therapieplanung verwendet werden, um das Ausmaß der Resektion oder die Entscheidung zwischen chirurgischer und konservativer Behandlung zu bestimmen. Die vorliegende Studie schlägt einen Score zur Einschätzung eines erhöhten MIB-1 labeling Indexes vor. Dieses Modell zielt darauf ab, Patienten zu identifizieren, bei denen ein erhöhtes Risiko für einen hohen MIB-1 labeling Index besteht, und verwendet dafür vier präoperative Parameter. Darüber hinaus könnte dieses Scoring-System dazu beitragen, Hochrisikopatienten zu identifizieren, die eine verkürzte Zeit bis zur Progression ihres Hypophysenadenoms aufweisen.

In dieser Studie wurde ein Kaplan-Meier-Diagramm für die Wahrscheinlichkeit des progressionsfreien Überlebens bei vollständig resezierten HA stratifiziert nach dem MIB-1 labeling Index erstellt. Der optimale Cut-off-Wert wurde auf der Literaturgrundlage bei $\geq 4\%$ festgelegt (Thapar et al., 1996). Es konnte identifiziert werden, dass ein MIB-1-Index $\geq 4\%$ signifikant mit einer verkürzten Zeit bis zur HA-Progression bei vollständig resezierten HAs assoziiert ist. Präoperativ könnte eine genauere Einschätzung des MIB-1 labeling Index Neurochirurgen, Endokrinologen und Strahlentherapeuten dabei helfen, einen maßgeschneiderten Behandlungsplan zu erstellen. Der MIB-1 labeling Index wurde auch in ein fünfstufiges Klassifizierungssystem hinsichtlich des invasiven Wachstums und des Proliferationspotenzials integriert. Dieses erwähnte Klassifizierungssystem für Hypophysenadenome wurde in einer externen Validierung in vier unabhängigen Kohorten etabliert (Trouillas et al., 2020).

Zusammenfassend konnte nach retrospektiver Analyse der Daten der vorliegenden Patientenkohorte festgestellt werden, dass ein Cut-off-Wert des MIB-1 labeling Indexes von 4 % eine Risikostratifizierung in Bezug auf rezidivierende und nicht rezidivierende

HAs bei denjenigen Patienten ermöglicht, die sich einer vollständigen Resektion unterziehen. Ein erhöhter IGF-1 Wert, ein junges Alter bei Diagnosestellung, ein erhöhter ACTH Wert und ein erhöhter Plasmafibrinogen Spiegel waren signifikant mit einem erhöhten (≥ 4 %) MIB-1 labeling Index assoziiert. Das Vorhandensein von mindestens zwei Variablen wie etwa junges Alter bei Diagnosestellung, erhöhter Plasmafibrinogen Wert und erhöhter ACTH Wert in Kombination mit einem erhöhten IGF-1 Wert führt zu einem erhöhten Risiko hinsichtlich eines kürzeren Zeitraums bis zu einem HA-Rezidiv bei zuvor vollständig resezierten HAs

Der IGF-1-Spiegel und der MIB-1 labeling Index wurden in verschiedenen Studien hinsichtlich ihrer Bedeutung für das Rezidiv eines HA untersucht, wobei ihre Signifikanz jedoch kontrovers diskutiert wurde (Iuchi et al., 2000; Losa et al., 2001; Yonezawa et al., 1997; Fusco et al., 2008). IGF-1 wird primär in der Leber produziert und fungiert als ein wichtiger Vermittler des Wachstumshormons. Daher wird eine erhöhte Serumkonzentration von IGF-1 oft als bevorzugter Screening-Test bei der Diagnose von Akromegalie-Patienten verwendet (Lugo et al., 2012). Obwohl der MIB-1 labeling Index in früheren Studien als ein bedeutender klinischer Parameter für die Tumorkontrolle bei somatotrophen HAs vorgeschlagen wurde, zeigten einige davon keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen dem MIB-1 labeling Index und den IGF-1-Serumspiegeln (Fusco et al., 2008). Epidemiologische Studien legen nahe, dass ein erhöhter IGF-1-Spiegel mit einem erhöhten Risiko für verschiedene Karzinome, wie zum Beispiel Mammakarzinome, verbunden sein könnte. In der Tat wurde eine starke Korrelation zwischen dem IGF-1-Spiegel und dem MIB-1-Index bei Mammakarzinomen festgestellt. (Zhu et al., 2020; Yakar et al., 2004; Yakar et al., 2005). Die pathophysiologischen Mechanismen, die diesem Zusammenhang zugrunde liegen könnten, sind vielfältig. IGF-1 spielt eine komplexe Rolle bei der Genese und Progression verschiedener Erkrankungen. Unter normalen physiologischen Bedingungen kann IGF-1 das Zellüberleben fördern und die Apoptose hemmen, während es unter pathologischen Bedingungen möglicherweise die Karzinomprogression unterstützt oder die Adipozytenzahl erhöht (Puche und Castilla-Cortázar, 2012; Yeves et al., 2018; Cittadini et al., 1998; Laughlin et al., 2004; Juul et al., 2002). Interessanterweise liegt der in der Studie ermittelte optimale IGF-1-Cutoff-Wert zur Identifizierung eines erhöhten MIB-1-Indexes innerhalb des physiologischen Referenzbereichs. Zudem zeigte sich, dass die

klinische Symptomatik der Akromegalie selbst kein Prädiktor für einen erhöhten MIB-1 labeling Index war. Diese Befunde deuten darauf hin, dass der beobachtete Zusammenhang paradox sein könnte. Es könnte sein, dass bei HA andere Faktoren eine Rolle spielen, die die Interaktion zwischen IGF-1 und dem MIB-1 labeling Index beeinflussen. Möglicherweise spielen auch individuelle genetische Variationen oder Mikroumgebungen im Tumor eine Rolle, die die Reaktion des Tumors auf IGF-1 verändern. Dennoch lassen diese Befunde vermuten, dass das entwickelte Scoring-System nicht nur für Patienten mit somatotropen HAs geeignet sein könnte, sondern auch auf andere Formen von HAs übertragbar sein könnte. Die Untersuchung der Beziehung zwischen IGF-1 und der Progression von HAs stellt jedoch eine komplexe Herausforderung dar und erfordert weitere umfassende Studien. Insbesondere die Identifizierung der zugrunde liegenden Mechanismen, die die Interaktion zwischen IGF-1 und dem MIB-1 labeling Index beeinflussen, könnte wichtige Erkenntnisse liefern und die Entwicklung zielgerichteter Therapien ermöglichen.

Des Weiteren haben verschiedene Studien die Bedeutung von Alter und MIB-1 labeling Index untersucht. In Übereinstimmung mit den Befunden von Cai et al. zeigte sich eine inverse Assoziation zwischen Alter und MIB-1 labeling Index (Cai et al., 2021). Dieser Zusammenhang wurde auch in anderen Studien zu nicht-funktionellen und somatotropen HAs bestätigt (Tanaka et al., 2003; Mohseni et al., 2019). Zusätzlich ergab eine multivariate Cox-Regressionsanalyse in einer retrospektiven Studie mit 145 Patienten, dass ein höheres Alter mit einem niedrigeren Risiko für Tumorrezidive bei nicht-funktionellen HAs assoziiert war (Lyu et al., 2021).

Die Assoziation zwischen dem ACTH-Spiegel und einem erhöhten MIB-1 labeling Index wurde ebenfalls beobachtet und durch frühere Studien gestützt. Pizzaro et al. fanden heraus, dass ACTH-sekretierende Adenome einen signifikant höheren MIB-1 labeling Index aufweisen (Pizarro et al., 2004). Darüber hinaus wiesen ACTH-sekretierende HAs im Vergleich zu anderen hormonsekretierenden oder nicht-funktionellen Adenomen einen höheren MIB-1 labeling Index auf, wie von Mastronardi et al. berichtet wurde (Mastronardi et al., 2000).

Eine weitere interessante Beobachtung war die unabhängige Assoziation zwischen Plasmafibrinogen und dem MIB-1 labeling Index. Diese Verbindung könnte auf die Regulation durch den Interleukin-6-Genpromotor und die autokrine Funktion von

Hypophysenadenomzellen zurückzuführen sein (Kurotani et al., 2001). Zudem deuteten Studien auf einen Zusammenhang zwischen dem Zytokin-Sekretom von HAs und dem MIB-1 labeling Index hin, wobei eine schädliche Immunphänotypen mit höherem MIB-1 labeling Index assoziiert waren (Marques et al., 2019). Daher wurde auch festgestellt, dass die systemische inflammatorische Wirkung bei HA-Patienten höher ist als bei gesunden Personen (Chen et al., 2018). Zum Sekretom von HA gehören auch Hormone wie ACTH, die in den Blutkreislauf ausgeschüttet werden und die Hämatopoese sowie die zirkulierenden Immunzellen erheblich modulieren, was zum Ausmaß der systemischen Inflammation beiträgt. Dieser pathophysiologische Zustand der HA-Sekretom-induzierten Inflammation ist für das Cushing-Syndrom bekannt (Ambrogio et al., 2014; Masri-Iraqi et al., 2014; Marques et al., 2021).

Des Weiteren ergab die Studie keinen Zusammenhang zwischen plurihormonalen HAs in der Kohorte und einem erhöhten MIB-1 labeling Index. Es ist jedoch wichtig anzumerken, dass die Methoden zur Bestimmung von plurihormonalen HAs anhand klinischer Merkmale, Serumhormonkonzentrationen und pathologischer Befunde zunehmend kontrovers diskutiert werden. In aktueller Studie wurden plurihormonale HA durch immunhistochemische Methoden identifiziert, wie es von anderen Forschern empfohlen wurde (Wei et al., 2008; Ho et al., 2001). Dennoch führt der immunhistochemische Nachweis von Hormonen nicht immer zu einer Erhöhung der Serumhormonspiegel im Labor oder zu klinischen endokrinen Manifestationen. Dies wirft die Frage auf, ob diese Klassifizierung klinische Relevanz hat. Es ist möglich, dass die von HA freigesetzten Hormone biologisch inaktiv sind oder ihre Funktion nach dem Eintritt in den Blutkreislauf verloren haben könnten (Wei et al., 2008; Shi et al., 2022).

Zusätzlich konnte in der Studie keine Verbindung zwischen der p53-Expression und einem erhöhten MIB-1 labeling Index festgestellt werden. Die prognostische Bedeutung der Bestimmung der p53-Expression bei HA ist umstritten, und es gibt keine Empfehlung, diese routinemäßig in den Klassifizierungsprozess gemäß den WHO-Richtlinien aufzunehmen (Louis et al., 2016). Darüber hinaus führten unterschiedliche Färbemethoden und heterogene Kohorten (mit unterschiedlichen Anteilen von Mikro- und Makroadenomen) zu einer beträchtlichen Bandbreite von 17 % bis 60 % hinsichtlich der Häufigkeit der beobachteten p53-Expression (Ozer et al., 2003; Zakir et al., 2016).

Einschränkungen.

Die Studie weist mehrere Einschränkungen auf, die bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden müssen. Zunächst basiert die Analyse auf retrospektiven Daten, was die Möglichkeit von Verzerrungen und unbeabsichtigten Fehlerquellen mit sich bringt. Diese retrospektive Natur könnte die Zuverlässigkeit und Genauigkeit der erhobenen Daten beeinträchtigen und somit die Evidenzstärke der Arbeit mindern. Darüber hinaus waren in der Studie nicht alle potenziellen Entzündungsmarker verfügbar, wie zum Beispiel bestimmte Zytokine, die zusätzliche Einblicke in die komplexen Wechselwirkungen zwischen Entzündung und Tumorproliferation bieten könnten.

Ein weiterer wichtiger Punkt sind potenzielle Unterschiede zwischen den Laboren, insbesondere in Bezug auf die Methoden zur Bestimmung der Hypophysenhormonkonzentrationen und des MIB-1 labeling Index im Tumorgewebe. Diese Unterschiede können zu Variabilität in den Ergebnissen führen und die Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Studien beeinträchtigen. Zum Beispiel können verschiedene Labore unterschiedliche Techniken zur Bildanalyse verwenden, wie digitale Bildgebung, Hotspot-Messungen oder Durchschnittsmethoden, was zu variablen Ergebnissen führen kann (Jang et al., 2017).

Angesichts dieser Einschränkungen ist es wichtig, die vorliegende Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren und weitere Forschung durchzuführen, um die Validität der Erkenntnisse zu bestätigen. Eine vielversprechende Möglichkeit zur Überprüfung der Ergebnisse wäre eine multizentrische prospektive Studie, die ein detailliertes und einheitliches Studienprotokoll verwendet. Eine solche Studie könnte die externe Validierung des Scores ermöglichen und dazu beitragen, seine Anwendbarkeit und Zuverlässigkeit in der klinischen Praxis zu bestätigen. Dies wäre ein wichtiger Schritt, um sicherzustellen, dass der Score effektiv in die medizinische Betreuung von Patienten mit Hypophysenadenomen integriert werden kann.

1.5 Zusammenfassung

Eine wichtige Erkenntnis der Studie ist die starke Assoziation zwischen dem MIB-1 labeling Index und der Prognose einer Tumorprogression bei komplett resezierten Hypophysenadenomen. Diese Verbindung unterstreicht die Bedeutung des MIB-1

labeling Index als prädiktiver Marker für das Tumorverhalten und das Progressionsrisiko bei dieser Patientenpopulation.

Darüber hinaus konnte ein präoperativen Score namens "FATE" entwickelt werden, der es ermöglicht, den MIB-1 labeling Index individuell einzuschätzen. Dieser Score basiert auf präoperativen Parametern wie dem IGF-1-Spiegel, dem Alter bei der Diagnose, dem ACTH-Spiegel und dem Plasmafibrinogen. Die Implementierung dieses Scores in die klinische Praxis könnte den präoperativen Arzt-Patienten-Dialog verbessern, indem er Ärzten und Patienten dabei hilft, fundierte Entscheidungen über das weitere Vorgehen zu treffen.

Durch die präoperative Einschätzung des MIB-1 labeling Index mithilfe des FATE-Scores könnten Neurochirurgen, Endokrinologen und Strahlentherapeuten einen maßgeschneiderten Behandlungsplan erstellen, der auf den individuellen Risikoprofilen der Patienten basiert. Dies könnte die Planung der HA-Operation optimieren und dazu beitragen, potenzielle Risiken und Komplikationen zu minimieren.

Darüber hinaus könnte der FATE-Score auch eine gründliche Risiko-Nutzen-Abwägung der medizinischen Versorgung von HA-Patienten ermöglichen. Indem er Patienten identifiziert, die ein erhöhtes Progressionsrisiko haben, kann der Score dazu beitragen, die Behandlungsstrategie zu optimieren und die langfristige Prognose zu verbessern.

Insgesamt liefert die Studie wichtige Einblicke in die Bedeutung des MIB-1 labeling Index und zeigt das Potenzial eines präoperativen Scores zur individualisierten Einschätzung des Tumorverhaltens bei Hypophysenadenomen auf. Weitere Studien sind erforderlich, um die Validität und Anwendbarkeit dieses Scores zu bestätigen und seine Rolle in der klinischen Praxis weiter zu untersuchen.

1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Almeida JP, Tabasinejad R, Kalyvas A, Takami H, Mohan N, O'Halloran PJ, Sanchez MM, Velasquez C, Zadeh G, Gentili F. The Importance of Long Term Follow Up After Endoscopic Pituitary Surgery: Durability of Results and Tumor Recurrence. *Neurol India* 2020; 68: S92-S100

- Ambrogio AG, Martin M de, Ascoli P, Cavagnini F, Pecori Giraldi F. Gender-dependent changes in haematological parameters in patients with Cushing's disease before and after remission. *Eur J Endocrinol* 2014; 170: 393–400
- Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo H. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. *Nature* 1987; 326: 515–517
- Cai X, Zhu J, Yang J, Tang C, Yuan F, Cong Z, Ma C. A Nomogram for Preoperatively Predicting the Ki-67 Index of a Pituitary Tumor: A Retrospective Cohort Study. *Front Oncol* 2021; 11: 687333
- Chen M, Zheng S-H, Yang M, Chen Z-H, Li S-T. The diagnostic value of preoperative inflammatory markers in craniopharyngioma: a multicenter cohort study. *J Neurooncol* 2018; 138: 113–122
- Chiloiro S, Bianchi A, Doglietto F, Waure C de, Giampietro A, Fusco A, Iacovazzo D, Tartaglione L, Di Nardo F, Signorelli F, Lauriola L, Anile C, Rindi G, Maira G, Pontecorvi A, Marinis L de. Radically resected pituitary adenomas: prognostic role of Ki 67 labeling index in a monocentric retrospective series and literature review. *Pituitary* 2014; 17: 267–276
- Cittadini A, Ishiguro Y, Strömer H, Spindler M, Moses AC, Clark R, Douglas PS, Ingwall JS, Morgan JP. Insulin-like growth factor-1 but not growth hormone augments mammalian myocardial contractility by sensitizing the myofilament to Ca²⁺ through a wortmannin-sensitive pathway: studies in rat and ferret isolated muscles. *Circ Res* 1998; 83: 50–59
- Dallapiazza RF, Grober Y, Starke RM, Laws ER, Jane JA. Long-term results of endonasal endoscopic transsphenoidal resection of nonfunctioning pituitary macroadenomas. *Neurosurgery* 2015; 76: 42-52; discussion 52-3
- Das C, Mondal P, Mukhopadhyay M, Mukhopadhyay S, Ghosh I, Handral A. Evaluation of prognostic utility of Ki-67, P53, and O-6-methylguanine-DNA methyltransferase expression in pituitary tumors. *J Lab Physicians* 2019; 11: 323–329
- Dawe M, Shi W, Liu TY, Lajkosz K, Shibahara Y, Gopal NEK, Geread R, Mirjahanmardi S, Wei CX, Butt S, Abdalla M, Manolescu S, Liang S-B, Chadwick D, Roehrl MHA, McKee TD, Adeoye A, McCready D, Khademi A, Liu F-F, Fyles A, Done SJ. Reliability and Variability of Ki-67 Digital Image Analysis Methods for Clinical Diagnostics in Breast Cancer. *Lab Invest* 2024; 104: 100341

- Fusco A, Zatelli MC, Bianchi A, Cimino V, Tilaro L, Veltri F, Angelini F, Lauriola L, Vellone V, Doglietto F, Ambrosio MR, Maira G, Giustina A, Degli Uberti EC, Pontecorvi A, Marinis L de. Prognostic significance of the Ki-67 labeling index in growth hormone-secreting pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 2746–2750
- Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133: 1710–1715
- Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983; 31: 13–20
- Gerges MM, Rumalla K, Godil SS, Younus I, Elshamy W, Dobri GA, Kacker A, Tabae A, Anand VK, Schwartz TH. Long-term outcomes after endoscopic endonasal surgery for nonfunctioning pituitary macroadenomas. *J Neurosurg* 2020: 1–12
- Glebauskiene B, Liutkeviciene R, Vilkeviciute A, Gudnaviciene I, Rocyte A, Simonaviciute D, Mazetyte R, Kriauciuniene L, Zaliuniene D. Association of Ki-67 Labelling Index and IL-17A with Pituitary Adenoma. *Biomed Res Int* 2018; 2018: 7490585
- Henson JW, Ulmer S, Harris GJ. Brain tumor imaging in clinical trials. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008; 29: 419–424
- Hlaváč M, Knoll A, Mayer B, Braun M, Karpel-Massler G, Etzrodt-Walter G, Coburger J, Wirtz CR, Pařa A. Ten years' experience with intraoperative MRI-assisted transsphenoidal pituitary surgery. *Neurosurg Focus* 2020; 48: E14
- Ho DM, Hsu CY, Ting LT, Chiang H. Plurihormonal pituitary adenomas: immunostaining of all pituitary hormones is mandatory for correct classification. *Histopathology* 2001; 39: 310–319
- Incandela F, Feraco P, Putortì V, Geraci L, Salvaggio G, Sarno C, La Tona G, Lasio G, Gagliardo C. Malignancy course of pituitary adenoma in MEN1 syndrome: Clinical-Neuroradiological signs. *Eur J Radiol Open* 2020; 7: 100242
- Iuchi T, Saeki N, Osato K, Yamaura A. Proliferation, vascular endothelial growth factor expression and cavernous sinus invasion in growth hormone secreting pituitary adenomas. *Acta Neurochir* 2000; 142: 1345–1351

- Jang MH, Kim HJ, Chung YR, Lee Y, Park SY. A comparison of Ki-67 counting methods in luminal Breast Cancer: The Average Method vs. the Hot Spot Method. *PloS One* 2017; 12: e0172031
- Juul A, Scheike T, Davidsen M, Gyllenborg J, Jørgensen T. Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease: a population-based case-control study. *Circulation* 2002; 106: 939–944
- Kurotani R, Yasuda M, Oyama K, Egashira N, Sugaya M, Teramoto A, Osamura RY. Expression of interleukin-6, interleukin-6 receptor (gp80), and the receptor's signal-transducing subunit (gp130) in human normal pituitary glands and pituitary adenomas. *Mod Pathol* 2001; 14: 791–797
- Laughlin GA, Barrett-Connor E, Criqui MH, Kritz-Silverstein D. The prospective association of serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-1 levels with all cause and cardiovascular disease mortality in older adults: the Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 114–120
- Losa M, Ciccarelli E, Mortini P, Barzaghi R, Gaia D, Faccani G, Papotti M, Mangili F, Terreni MR, Camanni F, Giovanelli M. Effects of octreotide treatment on the proliferation and apoptotic index of GH-secreting pituitary adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5194–5200
- Louis DN, Perry A, Reifenberger G, Deimling A von, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016; 131: 803–820
- Lugo G, Pena L, Cordido F. Clinical manifestations and diagnosis of acromegaly. *Int J Endocrinol* 2012; 2012: 540398
- Lyu W, Fei X, Chen C, Tang Y. Nomogram predictive model of post-operative recurrence in non-functioning pituitary adenoma. *Gland Surg* 2021; 10: 807–815
- Maiseyeu I, Güresir Á, Vatter H, Herrlinger U, Becker A, Wach J, Güresir E. Preoperative Risk Stratification of Increased MIB-1 Labeling Index in Pituitary Adenoma: A Newly Proposed Prognostic Scoring System. *J Clin Med* 2022; 11
- Majores M, Lehe M von, Fassunke J, Schramm J, Becker AJ, Simon M. Tumor recurrence and malignant progression of gangliogliomas. *Cancer* 2008; 113: 3355–3363

- Majores M, Schick V, Engels G, Fassunke J, Elger CE, Schramm J, Blümcke I, Becker AJ. Mutational and immunohistochemical analysis of ezrin-, radixin-, moesin (ERM) molecules in epilepsy-associated glioneuronal lesions. *Acta Neuropathol* 2005; 110: 537–546
- Marques P, Barry S, Carlsen E, Collier D, Ronaldson A, Awad S, Dorward N, Grieve J, Mendoza N, Muquit S, Grossman AB, Balkwill F, Korbonits M. Chemokines modulate the tumour microenvironment in pituitary neuroendocrine tumours. *Acta Neuropathol Commun* 2019; 7: 172
- Marques P, Vries F de, Dekkers OM, van Furth WR, Korbonits M, Biermasz NR, Pereira AM. Pre-operative serum inflammation-based scores in patients with pituitary adenomas. *Pituitary* 2021; 24: 334–350
- Masri-Iraqi H, Robenshtok E, Tzvetov G, Manistersky Y, Shimon I. Elevated white blood cell counts in Cushing's disease: association with hypercortisolism. *Pituitary* 2014; 17: 436–440
- Mastronardi L, Guiducci A, Spera C, Puzzilli F, Liberati F, Ruggeri A, Peciarolo A. Adrenocorticotrophic hormone secreting pituitary adenomas: analysis of growth fraction using the MIB-1 antibody. *Tumori* 2000; 86: 229–232
- Melmed S. Pituitary-Tumor Endocrinopathies. *N Engl J Med* 2020; 382: 937–950
- Micko ASG, Wöhrer A, Wolfsberger S, Knosp E. Invasion of the cavernous sinus space in pituitary adenomas: endoscopic verification and its correlation with an MRI-based classification. *J Neurosurg* 2015; 122: 803–811
- Mohseni S, Aboeerad M, Sharifi F, Tavangar SM, Mohajeri-Tehrani M. Associations of Ki-67 Labeling Index with Clinical and Paraclinical Features of Growth Hormone-Secreting Pituitary Adenomas: A Single Center Report from Iran. *Int J Endocrinol Metab* 2019; 17: e81983
- Ozer E, Canda MS, Ulukus C, Guray M, Erbayraktar S. Expression of Bcl-2, Bax and p53 proteins in pituitary adenomas: an immunohistochemical study. *Tumori* 2003; 89: 54–59
- Petersenn S, Fleseriu M, Casanueva FF, Giustina A, Biermasz N, Biller BMK, Bronstein M, Chanson P, Fukuoka H, Gadelha M, Greenman Y, Gurnell M, Ho KKY, Honegger J, Ioachimescu AG, Kaiser UB, Karavitaki N, Katznelson L, Lodish M, Maiter D, Marcus HJ, McCormack A, Molitch M, Muir CA, Neggers S, Pereira AM, Pivonello R, Post K, Raverot G, Salvatori R, Samson SL, Shimon I, Spencer-Segal J, Vila G, Wass J, Melmed S.

- Diagnosis and management of prolactin-secreting pituitary adenomas: a Pituitary Society international Consensus Statement. *Nat Rev Endocrinol* 2023; 19: 722–740
- Pizarro CB, Oliveira MC, Coutinho LB, Ferreira NP. Measurement of Ki-67 antigen in 159 pituitary adenomas using the MIB-1 monoclonal antibody. *Braz J Med Biol Res* 2004; 37: 235–243
- Puche JE, Castilla-Cortázar I. Human conditions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) deficiency. *J Transl Med* 2012; 10: 224
- Rybenkov VV, Ullsperger C, Vologodskii AV, Cozzarelli NR. Simplification of DNA topology below equilibrium values by type II topoisomerases. *Science* 1997; 277: 690–693
- Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 2000; 182: 311–322
- Shi R, Wan X, Yan Z, Tan Z, Liu X, Lei T. Clinicopathological Characteristics of Plurihormonal Pituitary Adenoma. *Front Surg* 2022; 9: 826720
- Shu X-J, Chang H, Wang Q, Chen W-G, Zhao K, Li B-Y, Sun G-C, Chen S-B, Xu B-N. Deep Learning model-based approach for preoperative prediction of Ki67 labeling index status in a noninvasive way using magnetic resonance images: A single-center study. *Clin Neurol Neurosurg* 2022; 219: 107301
- Tanaka Y, Hongo K, Tada T, Sakai K, Kakizawa Y, Kobayashi S. Growth pattern and rate in residual nonfunctioning pituitary adenomas: correlations among tumor volume doubling time, patient age, and MIB-1 index. *J Neurosurg* 2003; 98: 359–365
- Thapar K, Kovacs K, Scheithauer BW, Stefaneanu L, Horvath E, Pernicone PJ, Murray D, Laws ER. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery* 1996; 38: 99-106; discussion 106-7
- Trouillas J, Jaffrain-Rea M-L, Vasiljevic A, Raverot G, Roncaroli F, Villa C. How to Classify the Pituitary Neuroendocrine Tumors (PitNET)s in 2020. *Cancers* 2020; 12
- Trouillas J, Labat-Moleur F, Sturm N, Kujas M, Heymann M-F, Figarella-Branger D, Patey M, Mazucca M, Decullier E, Vergès B, Chabre O, Calender A. Pituitary tumors and hyperplasia in multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome (MEN1): a case-control study in a series of 77 patients versus 2509 non-MEN1 patients. *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 534–543

- Ugga L, Cuocolo R, Solari D, Guadagno E, D'Amico A, Somma T, Cappabianca P, Del Basso de Caro ML, Cavallo LM, Brunetti A. Prediction of high proliferative index in pituitary macroadenomas using MRI-based radiomics and machine learning. *Neuroradiology* 2019; 61: 1365–1373
- van Diest PJ, Brugal G, Baak JP. Proliferation markers in tumours: interpretation and clinical value. *J Clin Pathol* 1998; 51: 716–724
- Wach J, Apallas S, Schneider M, Güresir A, Schuss P, Herrlinger U, Vatter H, Güresir E. Baseline Serum C-Reactive Protein and Plasma Fibrinogen-Based Score in the Prediction of Survival in Glioblastoma. *Front Oncol* 2021a; 11: 653614
- Wach J, Brandecker S, Güresir A, Schuss P, Vatter H, Güresir E. The impact of the MIB-1 index on facial nerve outcomes in vestibular schwannoma surgery. *Acta Neurochir* 2020; 162: 1205–1213
- Wach J, Lampmann T, Güresir Á, Schuss P, Vatter H, Herrlinger U, Becker A, Hölzel M, Toma M, Güresir E. FORGE: A Novel Scoring System to Predict the MIB-1 Labeling Index in Intracranial Meningiomas. *Cancers* 2021b; 13
- Wang X, Li M, Jiang X, Wang F, Ling S, Niu C. Prediction of Higher Ki-67 Index in Pituitary Adenomas by Pre- and Intra-Operative Clinical Characteristics. *Brain Sci* 2022; 12
- Wei L, Yue Z, Wang S. Immunopathological study of plurihormonal pituitary adenomas. *Chin J Neurosurg* 2008
- Yakar S, LeRoith D, Brodt P. The role of the growth hormone/insulin-like growth factor axis in tumor growth and progression: Lessons from animal models. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 407–420
- Yakar S, Pennisi P, Zhao H, Zhang Y, LeRoith D. Circulating IGF-1 and its role in cancer: lessons from the IGF-1 gene deletion (LID) mouse. *Novartis Found Symp* 2004; 262: 3-9; discussion 9-18, 265-8
- Yeves AM, Burgos JI, Medina AJ, Villa-Abrille MC, Ennis IL. Cardioprotective role of IGF-1 in the hypertrophied myocardium of the spontaneously hypertensive rats: A key effect on NHE-1 activity. *Acta Physiol (Oxf)* 2018; 224: e13092
- Yonezawa K, Tamaki N, Kokunai T. Clinical features and growth fractions of pituitary adenomas. *Surg Neurol* 1997; 48: 494–500
- Zakir JCdO, Casulari LA, Rosa JWC, Rosa JWC, Mello PA de, Magalhães AV de, Naves LA. Prognostic Value of Invasion, Markers of Proliferation, and Classification of Giant

Pituitary Tumors, in a Georeferred Cohort in Brazil of 50 Patients, with a Long-Term Postoperative Follow-Up. *Int J Endocrinol* 2016; 2016: 7964523

Zheng X, Li S, Zhang W, Zang Z, Hu J, Yang H. Current biomarkers of invasive sporadic pituitary adenomas. *Ann Endocrinol (Paris)* 2016; 77: 658–667

Zhu Y, Wang T, Wu J, Huang O, Zhu L, He J, Li Y, Chen W, Chen X, Shen K. Associations Between Circulating Insulin-Like Growth Factor 1 and Mortality in Women With Invasive Breast Cancer. *Front Oncol* 2020; 10: 1384

2. Veröffentlichung



Journal of
Clinical Medicine



Article

Preoperative Risk Stratification of Increased MIB-1 Labeling Index in Pituitary Adenoma: A Newly Proposed Prognostic Scoring System

Ivan Maiseyeu, Ági Güresir, Hartmut Vatter, Ulrich Herrlinger, Albert Becker, Johannes Wach and Erdem Güresir

Special Issue

Pituitary Tumors: Diagnosis and Treatment

Edited by
Prof. Dr. Ting Lei



<https://doi.org/10.3390/jcm11237151>

Article

Preoperative Risk Stratification of Increased MIB-1 Labeling Index in Pituitary Adenoma: A Newly Proposed Prognostic Scoring System

Ivan Maiseyeu ^{1,*}, Ági Güresir ¹, Hartmut Vatter ¹, Ulrich Herrlinger ², Albert Becker ³, Johannes Wach ^{1,†} 
 and Erdem Güresir ^{1,†} 

¹ Department of Neurosurgery, University Hospital Bonn, 53127 Bonn, Germany

² Division of Clinical Neurooncology, Department of Neurology and Centre of Integrated Oncology, University Hospital Bonn, 53127 Bonn, Germany

³ Department of Neuropathology, University Hospital Bonn, 53127 Bonn, Germany

* Correspondence: ivan.maiseyeu@ukbonn.de; Tel.: +49-228-287-16521

† These authors contributed equally to this work.

Abstract: The MIB-1 index is an important risk factor for progression-free survival (PFS) in pituitary adenoma (PA). Preoperatively, the MIB-1 index is not available in the decision-making process. A preoperative method regarding MIB-1 index estimation in PA has not been evaluated so far. Between 2011 and 2021, 109 patients with tumor morphology data, MIB-1 index data, and inflammatory and pituitary hormone laboratory values underwent surgery for PA. An MIB-1 index cutoff point (≥ 4 / < 4 %) determines the probability of PFS in completely resected PA. An elevated MIB-1 index (≥ 4 %) was present in 32 cases (29.4%) and was significantly associated with increased IGF-1, age ≤ 60 , increased ACTH, and increased fibrinogen levels in the multivariable analysis. A scoring system (“FATE”) using preoperative IGF-1, age, ACTH, and plasma fibrinogen level enables the estimation of the MIB-1 index (sensitivity 72%, specificity 68%). The FATE score is also significantly associated with the time to PA progression after the complete resection of the PA. We propose the FATE score to preoperatively estimate the risk of an elevated MIB-1 index (≥ 4 %), which might enable tailoring to medical decision-making, and follow-up interval scheduling, as well as inform future studies analyzing proliferative activities.

Keywords: pituitary adenoma; MIB-1; score; progression-free survival



Citation: Maiseyeu, I.; Güresir, Á.; Vatter, H.; Herrlinger, U.; Becker, A.; Wach, J.; Güresir, E. Preoperative Risk Stratification of Increased MIB-1 Labeling Index in Pituitary Adenoma: A Newly Proposed Prognostic Scoring System. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 7151. <https://doi.org/10.3390/jcm11237151>

Academic Editor: Ting Lei

Received: 19 October 2022

Accepted: 28 November 2022

Published: 1 December 2022

Publisher’s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Pituitary adenomas (PAs) are considered to be predominantly benign neoplastic diseases and account for 15% of all central nervous system (CNS) tumors [1]. The prediction of the natural course of PAs is very challenging because of a vast heterogeneity of influencing factors such as clinical signs, neuropathological characteristics, proliferative activity, and the growth pattern with potential invasion into surrounding anatomical structures [2]. The reduction of mass effect to relieve clinical signs (e.g., loss of vision) and the prevention of such dysfunctions, in case of further tumor growth, are the primary indications for surgical resection. Due to the low-risk profile of the transsphenoidal approach, neurosurgical resection is the treatment of choice in all cases except for prolactinoma.

Elevated cellular proliferation is the main avenue of oncogenesis [3]. The Molecular Immunology Borstel (MIB-1)-1 labeling index is an established immunohistochemical diagnostic to identify nuclear structures that are found in cells during proliferation. The Ki-67 antigen can be detected in the nuclei of neoplastic cells in the following phases of mitosis and cell division cycle: G1, S, and G2. Hence, the labeling of this antigen is a simple method to identify the growing fraction of tumor tissue [4–6]. Moreover, the MIB-1 labeling index was suggested to distinguish PAs and pituitary carcinomas [7]. Elevated

MIB-1 labeling indices were reported to be associated with a higher probability of PA progression [8]. However, the routine examination and inclusion of the MIB-1 labeling index for the classification of PAs are still highly debated. A systematic review analyzing 28 studies on the MIB-1 labeling index, identified 18 studies that found increased MIB-1 labeling indices in recurrent PAs, whereas 10 studies found no correlation [9].

To achieve an optimum long-term outcome regarding PA progression, reliable preoperative evaluation, adequate medical information about the goals of surgical therapy, and surgical treatment with preservation of function are of paramount importance. Nevertheless, the MIB-1 labeling index is not available in the preoperative phase of the oncological decision-making process and interactive doctor-patient consultation. An increased MIB-1 labeling index implies an increased need to achieve maximum cytoreductive surgical therapy. To date, there are approaches such as machine learning models using T2 weighted magnetic resonance imaging (MRI) or nomograms combining clinical, demographic, and imaging characteristics to preoperatively estimate the MIB-1 labeling index [10,11]. However, no simple and quick-to-use scoring sheet exists so far to enable an estimation of the MIB-1 index prior to surgical resection. Hence, we have investigated our patient population of sporadic PAs regarding preoperative clinical signs, laboratory inflammatory and hormone markers, and imaging risk factors for an elevated MIB-1 labeling index. Moreover, the present investigation was intended to devise a proposal for a new scoring sheet to display demographic data, laboratory inflammatory data, and endocrine functioning to identify PA patients who are at risk of having an elevated MIB-1 labeling index.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Inclusion Criteria

Between January 2011 and December 2021, 269 patients were surgically treated for PAs at the neurosurgical institution. A retrospective review of PA patient data was performed. The criteria for inclusion in this investigation were neuropathologically confirmed primary PA, age at diagnosis ≥ 18 years, the availability of the MIB-1 indices, preoperative plasma and serum inflammatory markers (fibrinogen and C-reactive protein (CRP)), pituitary hormone levels, and neurosurgical treatment via a microscopic resection. PA patients with multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1)-associated PA were excluded due to different treatment regimens and different neuropathological characteristics [12,13]. One hundred and nine patients were included in the final data analysis (see Figure 1).

2.2. Data Recording

The following clinical data were retrospectively recorded and summarized in a computerized database file (SPSS, version 27, IBM Corp., Armonk, NY): age at diagnosis, sex, comorbidities, Karnofsky Performance Status (KPS), body mass index (BMI), maximum tumor size (mm), tumor growth pattern (cavernous sinus invasion), presence of pituitary apoplexy, WHO classification based on postoperative histopathological examination, immunohistochemistry, the extent of tumor resection based on postoperative gadolinium-enhanced magnetic resonance imaging (MRI), and postoperative follow-up data. Preoperative MR imaging was routinely performed within 2 days before PA surgery. PA size was calculated using a diameter-based method selecting the single largest diameter on a single transverse preoperative contrast-enhanced T1-weighted MR plane [14]. Laboratory information system Lauris (version 17.06.21, Swisslab GmbH, Berlin, Germany) was used for the recording of laboratory values. Venous blood samples were drawn within one day prior to PA surgery. The individual blood draws were conducted at constant time points, which enables an investigation of the time to PA progression. The routine testing included the following parameters: complete blood count, kidney and liver testing, coagulation profile, plasma fibrinogen, and serum c-reactive protein (CRP). Preoperatively, plasma fibrinogen concentrations were calculated using the Clauss method, which involves the administration of a standard and high concentration of thrombin (Dade[®] thrombin reagent, Siemens Healthineers, Erlangen, Bavaria, Germany) to platelet-poor plasma. Afterward, fibrinogen

concentration is investigated using a reference curve. CRP concentrations were measured by turbidimetric immunoassays with a CRPL3 reagent (Roche, Basel, Switzerland) [15]. Moreover, a panel to determine pituitary hormone levels (Thyroid-stimulating hormone (TSH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), Adrenocorticotrophic hormone (ACTH), Follicle-Stimulating Hormone (FSH), Luteinizing hormone (LH), prolactin, estradiol, testosterone, and growth hormone) was also routinely collected within this examination.

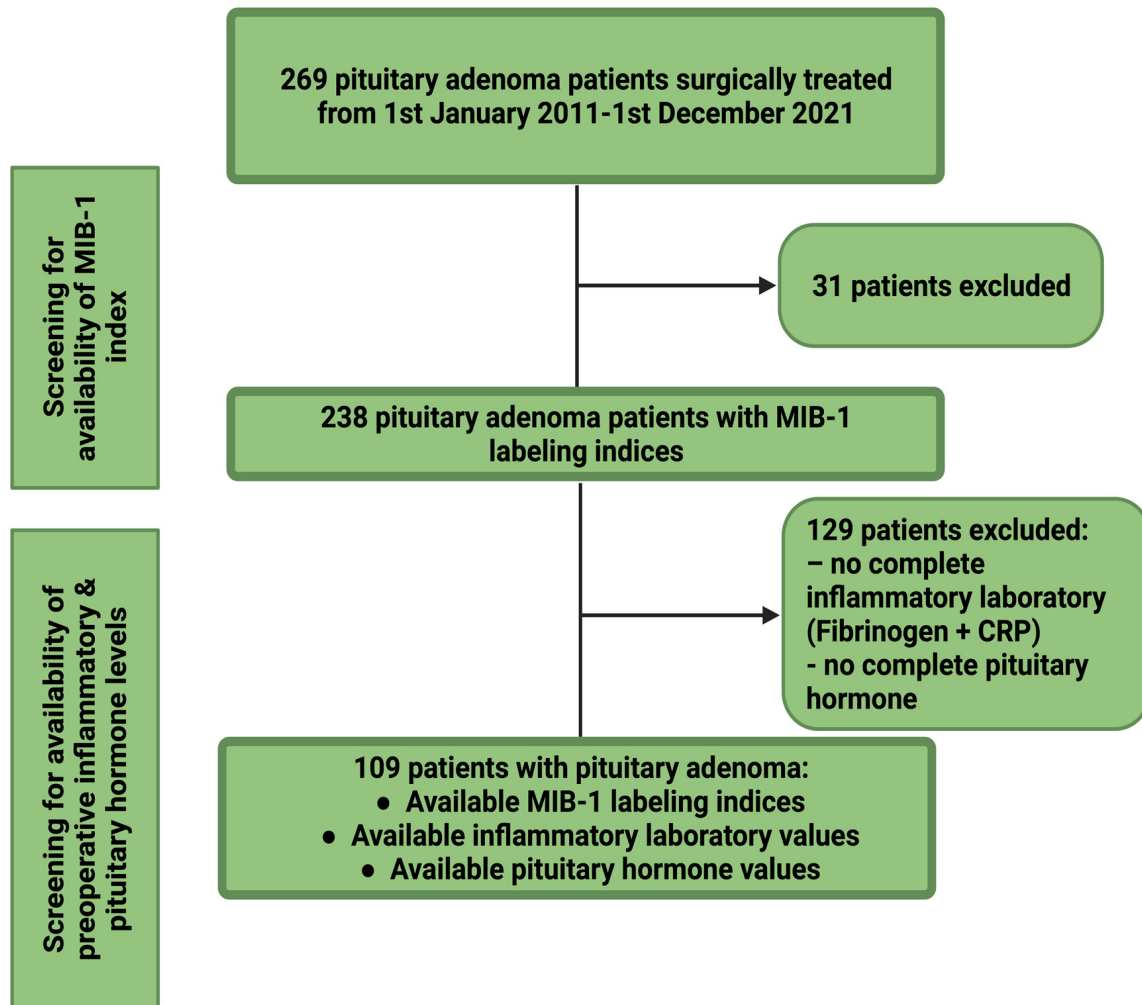


Figure 1. Flowchart summarizing the selection process of consecutive pituitary adenoma patients between 1 January 2011 and 1 December 2021. Abbreviations: The Molecular Immunology Borstel (MIB-1)-1 labeling index, c-reactive protein (CRP).

2.3. Neuropathology

The neuropathological classification was performed according to the 2016 WHO criteria [16]. All neuropathological diagnoses underwent renewed investigation to reconfirm that diagnoses were in line with those requirements. Immunohistochemical labeling was carried out, as previously described before, for paraffin-embedded biopsy tumor samples [17,18]. The MIB-1 labeling index was calculated using the following antibody kit: Anti-Ki67 (Clone 2B11+PD7/26). Diaminobenzidine was used for visualization, and a neuropathological investigation had been carried out by an expert neuropathologist (AB). Further immunohistochemistry for each adenohypophyseal cell lineage and the detection of p53 was performed.

2.4. Follow-Up Scheduling

Clinical and imaging follow-up (MR imaging) appointments were performed 3 months after surgery as well as annually for the following 5 years. Earlier clinical and imaging examinations were set in case of novel or progressive clinical signs (e.g., visual dysfunction, and clinical signs of hormone dysfunction) deficits as well as radiological signs of PA regrowth. Progression was defined as a 25% increase in the volume of the previous PA size [19]. The time to PA progression was defined as the time interval between the initial surgery and the first subsequent treatment (e.g., radiotherapy or redo surgery).

2.5. Statistical Analysis

Data were organized and analyzed using SPSS for Mac (version 27.0; IBM Corp, Armonk, New York, NY, USA). The dichotomization of the MIB-1 labeling index into normal and elevated groups was performed according to a previously identified cutoff value ($<4\%$ / $\geq 4\%$) [20]. Kaplan–Meier charts with the corresponding log-rank test confirmed the significance of the MIB-1 labeling index regarding PA progression in a completely resected PA. Normally distributed variables were reported as mean (\pm standard deviation (SD)). Comparisons of categorical data were performed using Fisher’s exact test (two-sided) and an independent *t*-test for continuous data. Receiver operating characteristic curves were constructed for age, ACTH, IGF-1, FSAH, and fibrinogen to analyze their association with the MIB-1 labeling index. The areas under the ROC curve (AUC) were analyzed with regard to the optimal cutoff values for those variables (CRP, fibrinogen, tumor size). Variables that resulted in a *p*-value <0.10 according to the univariable analysis were included in the multivariable analysis. Multivariable binary logistic regression analysis of preoperative factors influencing the MIB-1 labeling index was performed. Dichotomized variables were investigated using the Wald test. A *p*-value threshold set at <0.05 was defined as statistically significant. Significant variables of the multivariate analysis were included in a five-point scoring system regarding the estimation of the MIB-1 labeling index. The ROC curves and Kaplan–Meier charts of the developed score and its association with PFS were also calculated.

3. Results

3.1. Probability of Progression-Free Survival in Pituitary Adenoma and Prognostic Value of MIB-1 Labeling Index in the Prediction of Recurrent Pituitary Adenoma

MR imaging follow-up was available in all 229 patients (229/269; 85.1%) who underwent surgery for pituitary adenoma between January 2011 and December 2021. A gross total resection was achieved in 147 patients (147/229; 64.2%), and a subtotal resection was performed in 82 of those patients (82/229; 35.8%). The mean time to PA progression in those who underwent a GTR was 112.9 (95% CI: 104.2–121.5) months, and in those who underwent an STR was 92.8 months, respectively ($p < 0.001$). Figure 2A shows the corresponding Kaplan–Meier chart. The diagnostic performance of the MIB-1 labeling index regarding PA progression in those who underwent a GTR was further investigated. MIB-labeling indices were available for 133 patients (133/147; 90.5%) who underwent a GTR with available postoperative follow-up data. The mean time (months) to pituitary adenoma progression in those patients with an elevated MIB-1 labeling index ($\geq 4\%$, $n = 30$) was 85.5 (95% CI: 71.9–99.0) months, and 118.9 (95% CI: 111.9–125.9) months in those with a normal MIB-1 labeling index ($<4\%$, $n = 103$), respectively (log-rank test result: $p = 0.029$). Figure 2B shows the probabilities of PA progression for gross totally resected tumors stratified by MIB-1 labeling indices groups ($\geq 4\%$ / $<4\%$).

3.2. Patient Characteristics of the Screening Group for Baseline Characteristics Being Associated with Elevated MIB-1 Labeling Index

One hundred and nine patients were surgically treated for pituitary adenoma and imaging, laboratory (inflammatory and hormone), and immunohistochemical data were available. The median age at PA diagnosis was 60 years (IQR 47–70) and there was a male

predominance among the study population (49 females (45.0%)) and 60 males (55.0%). The median preoperative Karnofsky performance scale (KPS) at admission was 90 (IQR 90–100). Further characteristics are summarized in Table 1.

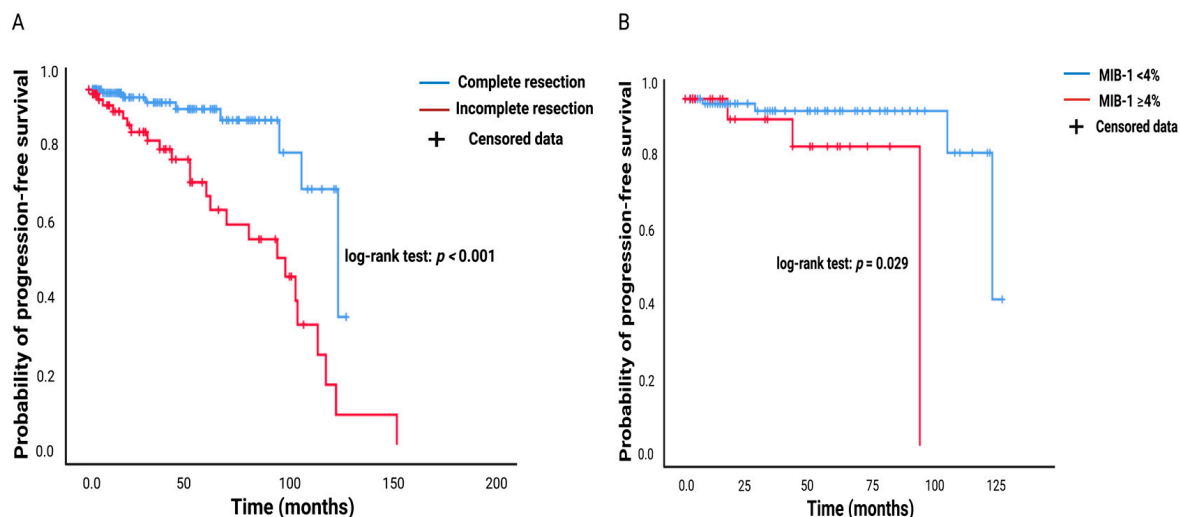


Figure 2. (A) Kaplan–Meier chart of tumor progression probability stratified by “complete resection” (blue line) and “incomplete resection” (red line). Censored patients are labeled by the vertical dashes (here: Absence of PA progression at last follow-up) within the progression-free survival curves. The time axis is right-censored at 200 months. $p < 0.001$ (log-rank test). (B) Kaplan–Meier chart of PA progression probability stratified by “MIB-1 $\geq 4\%$ ” (red line) and “MIB-1 $< 4\%$ ” (blue line) in completely resected pituitary adenomas. The time axis is right-censored at 125 months. $p = 0.029$. Abbreviations: The Molecular Immunology Borstel (MIB-1)-1 labeling index.

Table 1. Patient characteristics ($n = 109$).

Median Age (IQR) (In y)	60 (47–70)
Sex	
Female	49 (45.0%)
Male	60 (55.0%)
Median preoperative KPS (IQR)	90 (90–100)
Maximum diameter (mm)	21 (14–27)
Cavernous sinus invasion	43 (39.4%)
Pituitary apoplexy	6 (5.5%)
Extent of resection	
Gross total resection	67 (61.5%)
Subtotal resection	42 (38.5%)
Pathological tumor types	
Gonadotroph adenoma	49 (45%)
Plurihormonal adenoma	35 (32.1%)
Null cell adenoma	11 (10.1%)
Corticotroph adenoma	8 (7.3%)
Somatotroph adenoma	3 (2.8%)
Prolactinoma	2 (1.8%)
Thyrotroph adenoma	1 (0.9%)
Median MIB-1 labeling index (%), IQR	3 (2–4)
p53 expression (available in 88 patients)	44 (50.0%)

Abbreviations: interquartile range (IQR), The Molecular Immunology Borstel (MIB-1)-1 labeling index.

3.3. Pituitary Adenoma Growth Pattern, Surgical Therapy, and Neuropathological Pituitary Adenoma Types

The median maximum diameter (IQR, in mm) of pituitary adenomas was 21 (14–27). The invasion of the tumor into the cavernous sinus was observed in 43 patients (39.4%). Six patients (5.5%) presented with pituitary apoplexy. Gross totally resected patients with available MIB-1 labeling indices, imaging data, and complete preoperative inflammatory as well as hormone panel was achieved in 67 (61.5%) patients. Neuropathological investigations using immunohistochemistry to determine the adeno-hypophysial-cell lineage were performed. Gonadotroph adenoma (49/109; 45%) was the most common type of pituitary adenoma in the present study cohort, followed by plurihormonal (32.1%) and null cell adenoma (10.1%). The median (IQR) MIB-1 labeling index was 3% (2–4). The expression of p53 was observed in 44 (40.4%) patients.

3.4. Screening for Associations between MIB-1 Labeling Index and Patient Characteristics

An MIB-1 labeling index $\geq 4\%$ was found in 32 (29.4%) patients and 77 (70.6%) patients had an MIB-1 labeling index $< 4\%$. PA patients with an elevated MIB-1 labeling index were significantly younger compared to those with an MIB-1 index of $< 4\%$. The mean baseline ACTH levels (39.54 ± 34.36 vs. 26.76 ± 20.34 ; $p = 0.03$) were significantly higher in those PA patients with an MIB-1 labeling index $\geq 4\%$. Continuous data of mean values of plasma fibrinogen levels (3.55 ± 0.89 vs. 3.19 ± 0.89 ; $p = 0.06$) and baseline IGF-1 (293.46 ± 310.77 vs. 189.56 ± 238.51 ; $p = 0.06$) also tended to be significantly higher in patients with an MIB-1 staining index $\geq 4\%$. Furthermore, baseline FSH levels were lower in those with an elevated MIB-1 index ($\geq 4\%$) compared to those with a normal MIB-1 index (8.07 ± 12.63 vs. 13.53 ± 18.47 ; $p = 0.09$). Tumor size was also not associated with the MIB-1 labeling index. Thirteen patients (16.9%) with a MIB-1 index $< 4\%$ had a microadenoma, and six patients (18.7%) with a MIB-1 index $\geq 4\%$ had a microadenoma, respectively ($p = 0.79$). Furthermore, the mean maximum diameter (in mm) of those with an MIB-1 index $< 4\%$ was 21.8 ± 9.8 , whereas the mean maximum diameter in those patients with an MIB-1 index $\geq 4\%$ was 21.3 ± 9.0 ($p = 0.81$). The expression of p53 was not associated with the MIB-1 labeling index in our cohort. P53 expression was homogeneously distributed among both MIB-1 labeling indices groups. Immunohistochemically detected plurihormonal PAs were observed in 24 cases (31.2%) among patients with an MIB-1 index $< 4\%$, whereas 11 plurihormonal PAs (34.4%) were found among those with an MIB-1 index $\geq 4\%$ ($p = 0.82$). The mean MIB-1 labeling index among those with a plurihormonal PA was 3.09 ± 1.74 , and 3.18 ± 1.76 among those with a non-plurihormonal PA, respectively ($p = 0.80$). Additional demographic, tumor growth pattern, medication, and laboratory features in PA patients were not heterogeneously distributed among the MIB-1 groups and are shown in Table 2.

Table 2. Preoperative demographic, clinical, imaging, and laboratory features in pituitary adenoma patients with a normal and increased MIB-1 labeling index. *P*-values written in italics and bold label statistically significant results. ($n = 109$).

Variable	MIB-1 < 4% ($n = 77$)	MIB-1 $\geq 4\%$ ($n = 32$)	<i>p</i> -Value
Sex			
Female	38 (49.4%)	11 (34.3%)	0.21
Male	39 (50.6%)	21 (65.5%)	
Age, mean \pm SD	61.4 \pm 15.6	49.3 \pm 15.9	<0.001
Preoperative KPS, mean \pm SD	90.9 \pm 10.8	92.2 \pm 8.7	0.55
Body mass index, mean \pm SD	28.7 \pm 5.8	30.8 \pm 9.1	0.16
Acromegaly			
Present	12	6	0.78
Not present	65	26	

Table 2. Cont.

Variable	MIB-1 < 4% (n = 77)	MIB-1 ≥ 4% (n = 32)	p-Value
Cushing's disease			
Present	2	2	0.58
Not present	75	30	
Diabetes			
Present	8 (10.4%)	6 (18.8%)	0.35
Not present	69 (89.6%)	26 (81.2%)	
Acetylsalicylic acid intake			
Present	8 (10.4%)	3 (18.8%)	0.99
Not present	69 (89.6%)	29 (81.2%)	
Pituitary apoplexy			
Present	4 (5.2%)	2 (6.3%)	0.99
Not present	73 (94.8%)	30 (93.7%)	
Maximum diameter (mm), mean ± SD	21.8 ± 9.8	21.3 ± 9.0	0.81
Microadenoma	13 (16.9%)	6 (18.7%)	0.79
Macroadenoma	64 (83.1%)	26 (81.3%)	
Plurihormonal (immunohistochemical)			
Present	24 (31.2%)	11 (34.4%)	0.82
Not present	53 (61.8%)	21 (65.6%)	
Cavernous sinus invasion			
Present	28 (36.4%)	15 (46.9%)	0.39
Not present	49 (63.6%)	17 (53.1%)	
Preoperative hormone replacement			
Hydrocortisone	12 (15.6%)	11 (34.4%)	0.14
Levothyroxine	11 (14.3%)	5 (15.6%)	
Testosterone	0 (0.0%)	1 (3.1%)	
Levothyroxine and testosterone	1 (1.3%)	0 (0.0%)	
Hydrocortisone and levothyroxine	10 (13.0%)	4 (12.5%)	
Hydrocortisone and testosterone and levothyroxine	1 (1.3%)	0 (0.0%)	
None	42 (54.5%)	11 (34.4%)	
p53 expression (available in 88 patients)			
present	27 (46.55%)	17 (56.66%)	0.50
not present	31 (53.45%)	13 (43.33%)	
Baseline Plasma fibrinogen (g/L), mean ± SD	3.19 ± 0.89	3.55 ± 0.89	0.06
Baseline Serum C-reactive protein (mg/I), mean ± SD	4.76 ± 14.81	6.22 ± 11.55	0.62
Baseline TSH (μU/mL), mean ± SD	1.30 ± 0.83	1.44 ± 0.81	0.45
Baseline IGF-1 (ng/mL), mean ± SD	189.56 ± 238.51	293.46 ± 310.77	0.06
Baseline ACTH (pg/mL), mean ± SD	26.76 ± 20.34	39.54 ± 34.36	0.03
Baseline LH (U/I), mean ± SD	5.15 ± 6.40	3.56 ± 4.68	0.22
Baseline FSH (mIU/mL), mean ± SD	13.53 ± 18.47	8.07 ± 12.63	0.09
Baseline prolactin (ng/mL), mean ± SD	29.18 ± 33.00	28.48 ± 39.73	0.93
Baseline estradiol (pg/mL), mean ± SD	21.38 ± 25.77	47.84 ± 93.66	0.38
Baseline testosterone (ng/mL), mean ± SD	1.98 ± 1.85	1.53 ± 1.11	0.20
Baseline growth hormone (ng/mL), mean ± SD	5.15 ± 12.64	6.50 ± 12.24	0.69

ROC curves were constructed and the AUCs of age at diagnosis, plasma fibrinogen, IGF-1, and ACTH in the estimation of an MIB-1 labeling index (≥4%) were performed (Supplementary Figure S1). The AUCs for age at diagnosis, plasma fibrinogen, IGF-1, ACTH, and FSH were 0.72 (95% CI: 0.61–0.82), 0.64 (95% CI: 0.52–0.75), 0.71 (95% CI: 0.60–0.82),

0.65 (95% CI: 0.53–0.77), and 0.57 (95% CI: 0.45–0.68), respectively. The following optimum cutoff values regarding MIB-1 index ($\geq 4\%$) estimation were identified: age at diagnosis ($\leq 60 / > 60$), plasma fibrinogen ($\geq 3.15 / < 3.15$ g/L), IGF-1 ($\geq 126.1 / < 126.1$ ng/mL), ACTH ($\geq 25.1 / < 25.1$ pg/mL), and FSH ($\leq 5.75 / > 5.75$ mIU/mL). The corresponding values regarding sensitivity, specificity, and Youden's index of each variable were determined (see Figure S1). Patients with an increased IGF-1 (≥ 126.1 ng/mL) had a mean (\pm SD) BMI of 30.7 ± 8.7 , whereas patients with an IGF-1 < 126.1 ng/mL had a mean (\pm SD) BMI of 28.2 ± 4.9 (independent *t*-test result: $p = 0.08$). Acromegaly, because of chronic overproduction of IGF-1 levels, was present in 18 (16.5%) cases. Patients with an acromegaly had a mean (\pm SD) MIB-1 labeling index of 2.9 ± 1.4 , and those without an acromegaly had a mean (\pm SD) MIB-1 labeling index of 3.1 ± 1.7 , respectively ($p = 0.56$). Subanalyses of associations between IGF-1 with age and sex were performed. It was found from the subanalyses that there was a significant association between IGF-1 and age but not with sex. Twenty-seven (27/49; 55.1%) female patients had an IGF-1 ≥ 126.1 ng/mL, whereas 23 (23/60; 38.3%) male patients had an IGF-1 ≥ 126.1 ng/mL (Fisher's exact test (two-sided): $p = 0.09$). Patients with an IGF-1 ≥ 126.1 ng/mL had a mean age of 50.4 ± 16.2 , whereas those with an IGF-1 < 126.1 ng/mL had a mean age of 64.2 ± 14.3 (independent *t*-test: $p < 0.001$). Multivariate binary logistic regression analysis with the inclusion of the following variables was performed: age at diagnosis ($\leq 60 / > 60$), plasma fibrinogen ($\geq 3.15 / < 3.15$ g/L), IGF-1 ($\geq 126.1 / < 126.1$ ng/mL), ACTH ($\geq 25.1 / < 25.1$ pg/mL), and FSH ($\leq 5.75 / > 5.75$ mIU/mL). The multivariate analysis revealed that age at diagnosis ($\leq 60 / > 60$), plasma fibrinogen ($\geq 3.15 / < 3.15$ g/L), IGF-1 ($\geq 126.1 / < 126.1$ ng/mL), and ACTH ($\geq 25.1 / < 25.1$ pg/mL) were significantly associated with an MIB-1 labeling index $\geq 4\%$. Figure 3 summarizes the results of the multivariate analysis.

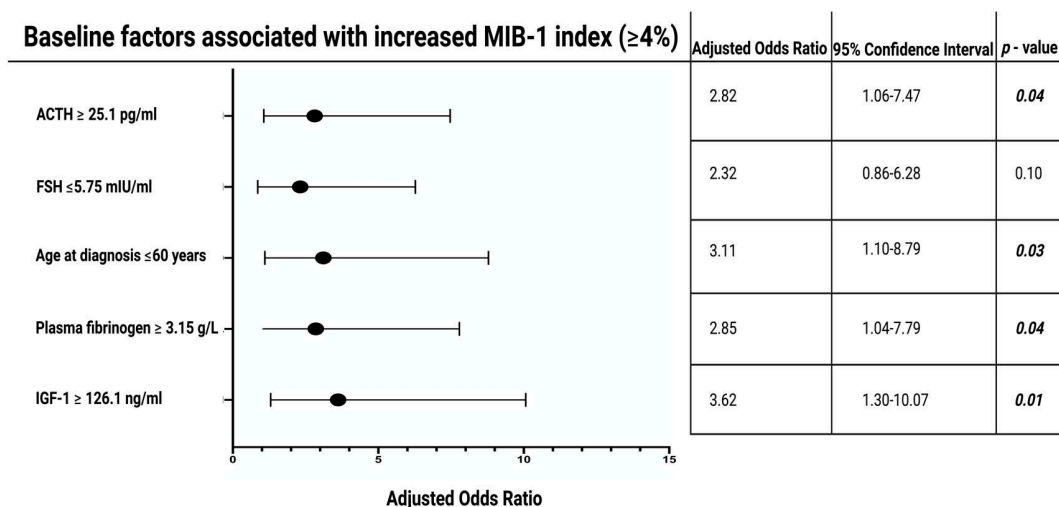


Figure 3. Forest plots illustrating the results of the multivariable binary logistic regression analysis: IGF-1 ≥ 126.1 ng/mL, age ≤ 60 years at diagnosis, ACTH ≥ 25.1 pg/mL, and plasma fibrinogen ≥ 3.15 g/L are variables being independently associated with an elevated MIB-1 labeling index. Black circles show the adjusted odds ratio for each variable and the corresponding lines represent the 95% confidence interval. *p*-values written in bold and italics label statistically significant results. Abbreviations: The Molecular Immunology Borstel (MIB-1)-1 labeling index, Adrenocorticotrophic hormone (ACTH), Follicle-Stimulating Hormone (FSH), Insulin-like growth factor 1 (IGF-1).

3.5. Scoring System

We evaluated and devised a scoring system to estimate the MIB-1 labeling in pituitary adenoma. The present score was developed with the following aims: (1) Feasible estimation of the MIB-1 labeling index using routinely recordable preoperative features, and (2) easy

inclusion into the clinical workflow. The following allocation of the points in the new score, which we called the “FATE” score, ranging from 0 to 5 points (Figure 4) was applied: Preoperative IGF-1 ≥ 126.1 ng/mL (2 points); preoperative age at diagnosis ≤ 60 years (1 point); preoperative ACTH ≥ 25.1 pg/mL (1 point); preoperative plasma fibrinogen ≥ 3.15 g/L (1 point). The mean total score points in patients with an MIB-1 labeling index $\geq 4\%$ were 3.7 (SD = 2.18), and 2.7 (SD = 1.17) in patients with an MIB-1 labeling index $< 4\%$, respectively ($p = 0.009$).

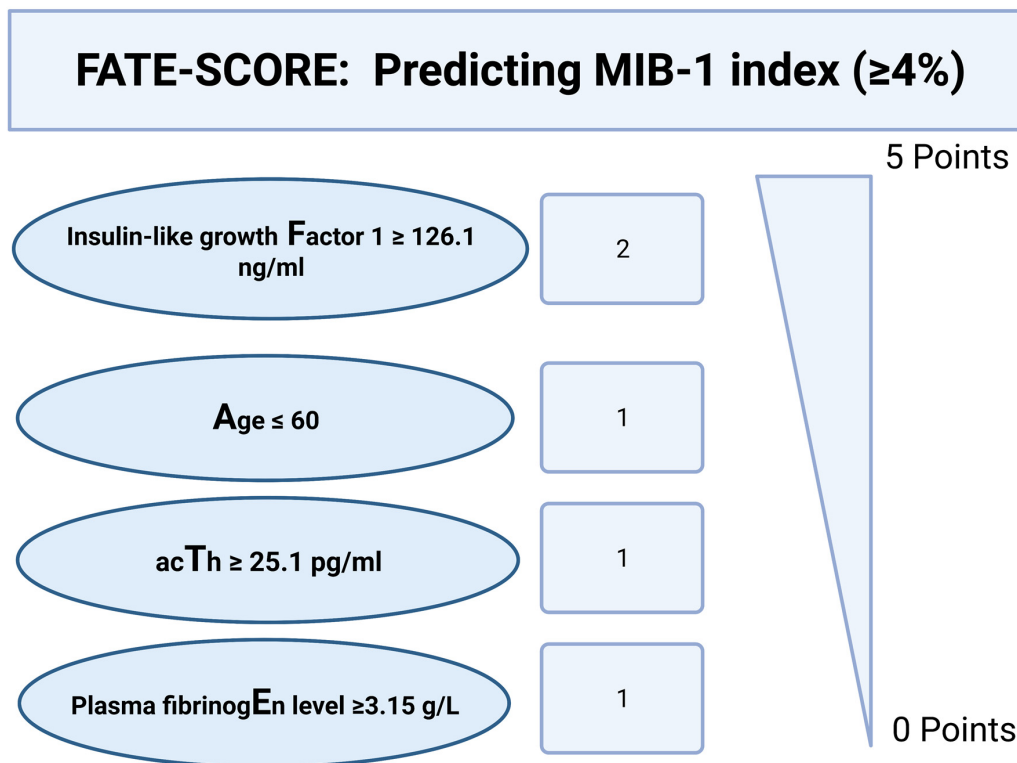


Figure 4. A preoperative clinical scoring system to identify patients at risk of an elevated MIB-1 labeling index ($\geq 4\%$). A cumulative total score of < 3 points results in an 85.2% probability of not having an elevated proliferative potential. Abbreviations: The Molecular Immunology Borstel (MIB-1)-1 labeling index, Adrenocorticotrophic hormone (ACTH).

The ROC curve was created and the AUC of FATE score estimating an MIB-1 labeling index $\geq 4\%$ was performed. The AUC for the FATE score in the estimation of an increased MIB-1 labeling index ($\geq 4\%$) was 0.79 (95% CI: 0.70–0.88, $p < 0.001$). Using a threshold set at a total scoring value of 3 points, the score yields a sensitivity of 72.0%, a specificity of 68.0% (Youden’s index: 0.40), a positive predictive value of 48.0%, and a negative predictive value of 85.2%. Figure 5 shows the ROC curve with the corresponding results of the analysis. A total score value of < 3 points results in an 85.2% probability of not finding an MIB-1 labeling index $\geq 4\%$.

3.6. FATE Score and Progression-Free Survival

The development of the FATE score was primarily carried out to enable a sufficient preoperative estimation of the MIB-1 labeling index. The ROC curve analysis of the FATE score in the prediction of tumor progression after a completely resected pituitary adenoma was performed. The AUC for the FATE score was 0.88 (95% CI: 0.77–0.99). The optimum cutoff threshold of the FATE score predicting PFS was $\geq 4 / < 4$ points. The sensitivity and specificity of the FATE score using the optimum threshold for predicting PA progression were 100.0% and 75.0%, respectively (Youden’s index: 0.75). Figure 6A displays the

ROC curve analysis. We investigated PA progression in the study cohort of patients who underwent gross total resection using a dichotomization of the FATE score into <4 ($n = 45$) vs. ≥ 4 ($n = 16$) points. The mean (\pm SD) follow-up time was 32.8 ± 28.3 months.

FATE-Score in the prediction of increased MIB-1 labeling index ($\geq 4\%$)

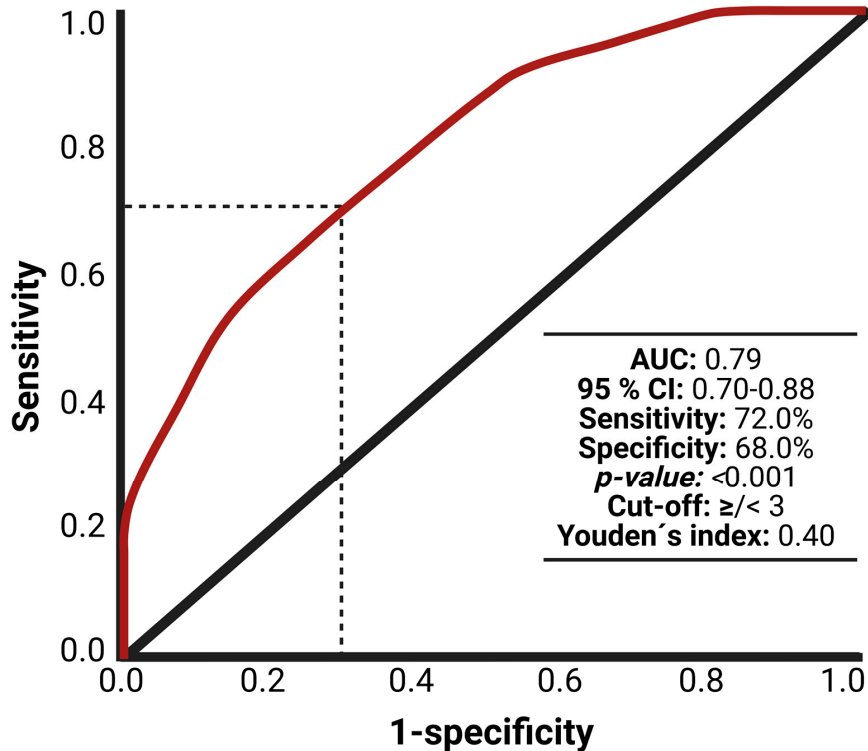


Figure 5. Receiver operating characteristic curve displaying FATE score in the preoperative estimation of the MIB-1 labeling index ($\geq 4\%$). Abbreviations: The Molecular Immunology Borstel (MIB-1)-1 labeling index, area under the curve (AUC).

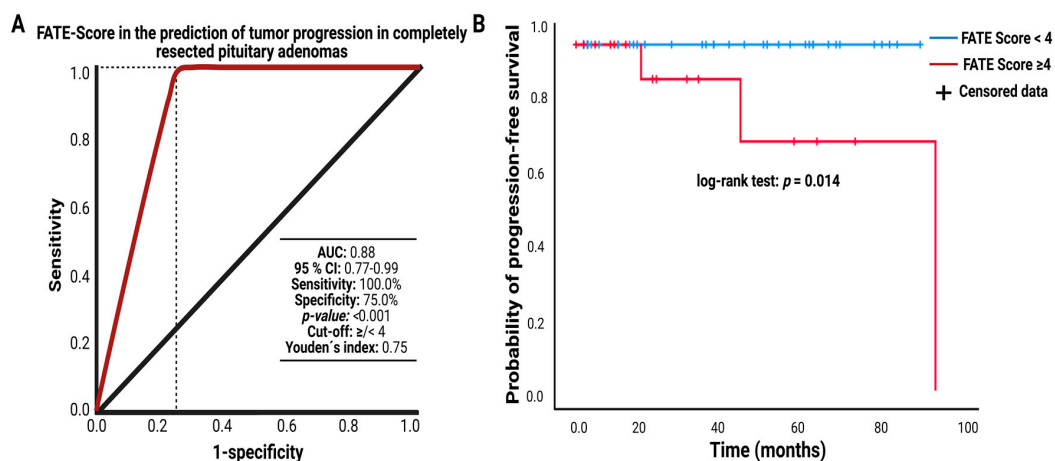


Figure 6. (A) Receiver operating characteristic curve displaying the FATE score in the prediction of tumor progression after a transsphenoidal GTR of a pituitary adenoma (B) Kaplan–Meier analysis of tumor progression probability stratified by “score: 0–3 points” (blue line) and “score: ≥ 4 points” (red line). Vertical dashes indicate censored data (here: progression-free at the last follow-up) within the progression-free survival curves. The time axis is right-censored at 100 months. $p = 0.014$ (log-rank test). Abbreviations: area under the curve (AUC).

Three patients (3/16; 18.75%) of those with complete resection and a FATE score ≥ 4 had a recurrence, whereas no patient who underwent a gross total resection with a FATE score < 4 had a PA regrowth. The mean time to PA recurrence in those with a gross total resection and an increased FATE score (≥ 4) was 94.0 months. The log-rank test found a significantly shorter time to PA progression in gross totally resected patients having a FATE score ≥ 4 compared to those with a FATE score < 4 ($p = 0.014$). Figure 6B displays the Kaplan–Meier curve of PFS in gross totally resected pituitary adenoma stratified by a FATE score of “0–3 points” and “4 or 5 points”.

4. Discussion

Residual tumor volume, invasive growth, and young age are known poor predictors regarding regrowth in sporadic PAs [21]. An increased MIB-1 labeling index is considered a molecular marker for aggressive tumor biology, which implies an increased risk for invasive growth and shortened time to tumor progression in PAs [22]. Several investigations have revealed that an elevated MIB-1 labeling index is associated with increased proliferative activity and aggressive nature in PAs [23]. In a typically elective setting regarding the hospital admission of PA patients, it is essential that PA patients as well as their relatives are provided with a maximally profound physician–patient dialog. Nevertheless, the MIB-1 labeling index reflecting the proliferative activity cannot be used in the preoperative therapy planning regarding the extent of resection or weighing-up of surgical and conservative treatment. The present investigation suggests a score to estimate an elevated MIB-1 labeling index. This system strives to identify patients at risk of a high MIB-1 labeling index and uses four preoperative characteristics. Moreover, this scoring template might enable the identification of high-risk patients regarding a shortened time to PA progression.

Our results can be described as follows: (1) a threshold MIB-1 labeling index value of 4% enables a risk stratification regarding recurring and nonrecurring PAs in those who underwent complete resection; (2) increased IGF-1, young age at diagnosis, increased ACTH, and increased plasma fibrinogen were significantly associated with an elevated ($\geq 4\%$) MIB-1 labeling index; (3) at least one characteristic among young age, increased plasma fibrinogen, and increased ACTH combined with an increased IGF-1 seems to identify patients at risk of an elevated MIB-1 labeling index; and (4) the presence of at least two variables among young age, increased plasma fibrinogen and increased ACTH in combination with an increased IGF-1 results in an increased risk for shortened time to PA regrowth in completely resected PAs.

In the present investigation, we created a Kaplan–Meier chart for the probability of PFS in completely resected PAs stratified MIB-1 index. The optimum threshold was set at $\geq 4\%$ based on the literature [20]. We found that an MIB-1 index $\geq 4\%$ is significantly associated with a shortened time to PA progression in completely resected PAs. Preoperatively, an accurate estimation of the MIB-1 labeling index might guide neurosurgeons, endocrinologists, and radiotherapists to provide a tailored treatment schedule. The MIB-1 labeling index was also integrated into a five-tiered classification system regarding invasive growth and proliferative potential. This mentioned classification system for pituitary adenomas underwent an external validation in four independent cohorts [24].

The insulin-like growth factor-1 is synthesized in the liver and acts as a mediator of GH. Elevated serum concentrations of IGF-1 are broadly accepted as the screening test of choice in the diagnostic workflow of patients with acromegaly [25]. Several studies suggested the MIB-1 labeling index as an important clinical outcome parameter regarding tumor control in somatotroph PAs. However, previous studies found no significant association between the MIB-1 labeling index and IGF-1 serum levels [26]. Epidemiological studies suggested a strong association between circulating serum IGF-1 levels and the risk of several cancers such as breast cancer. Furthermore, IGF-1 signaling is potentially associated with cancer progression [27,28]. In breast cancer, IGF-1 levels were found to strongly correlate with the MIB-1 index [29]. Several potential pathophysiological mechanisms might be responsible for our findings. IGF-1 has multiple functions and different roles in the development

and progression of several diseases. In a physiological setting, IGF-1 inhibits apoptotic effects and supports cell survival, whereas, in pathophysiological conditions, IGF-1 can enhance cancer progression or increase the number of adipocytes [30–34]. However, our identified optimum cutoff value of IGF-1 regarding the identification of an elevated MIB-1 index is within the physiological reference interval. Furthermore, the clinical symptom of acromegaly itself was no predictor of an increased MIB-1 labeling index. Therefore, the identified association seems to be paradoxical. Nevertheless, those findings suggest that the created scoring system is not exclusively designed for a cohort of somatotroph PAs, and it might be generally transferrable to all primary PAs. Further investigations with a special focus on the association between IGF-1 and PA progression are necessary.

Furthermore, age was also found to have an inverse association with an increased MIB-1 labeling index. This result is also in line with the findings of Cai et al. [11]. They found that the mean age of patients with an MIB-1 labeling index $\geq 3\%$ is significantly higher compared to those with an MIB-1 labeling index $< 3\%$. This inverse association between age and MIB-1 index was also reconfirmed in further investigations of nonfunctional PAs, and somatotroph PAs [35,36]. Furthermore, advanced age was found to effectively inhibit tumor recurrence in nonfunctioning PAs according to the results of the multivariable Cox regression analysis in a retrospective study of 145 patients [37].

We found an association between ACTH levels and increased MIB-1 index. This finding is also supported by the study of Pizzaro et al. [38] which measured the MIB-1 labeling index in 159 PAs and revealed that ACTH-secreting adenomas have significantly higher MIB-1 labeling indices [38]. Moreover, Mastronardi et al. [39] found that ACTH-secreting PAs have a mean MIB-1 labeling index of $5.88 \pm 9.13\%$, whereas other hormone-secreting or nonfunctioning PAs had a mean MIB-1 labeling index of $2.33 \pm 2.4\%$.

Plasma fibrinogen was found to be independently associated with the MIB-1 index. Plasma fibrinogen is linked to the interleukin-6 (IL-6) gene promoter and is induced by the autocrine functioning of pituitary adenoma cells [40]. In a pathological study evaluating the localization and expression of IL-6, IL-6 receptor, and the signal-transducing subunit (gp130) using immunohistochemistry and reverse transcription PCR, IL-6 was predominantly expressed in ACTH- and FSH/LH-secreting cells. Furthermore, IL-6 might function in GH and prolactin-secreting cells through paracrine and endocrine pathways, whereas IL-6 may function in FSH-secreting PA cells in an autocrine manner [40]. The analysis of the cytokine secretome in 24 PAs in primary cultures using an immunoassay panel with 42 cytokines found that PAs with a deleterious immune phenotype including dense macrophage infiltrates and a cluster of differentiation (CD) 4^+ T lymphocytes had higher MIB-1 labeling indices. Hence, it was suggested that PA-derived chemokines might enhance the recruitment of macrophages, neutrophils, and T cells into the tumor tissue resulting in a more aggressive behavior [41]. Hence, the systemic inflammatory burden was also identified to be higher in PA patients compared to healthy individuals [42]. The secretome of PAs also includes hormones such as ACTH which are secreted into the circulation and significantly modulate the hematopoiesis as well as circulating immune cells contributing to the degree of systemic inflammatory burden. This pathophysiological condition of PA's secretome-induced inflammation is well-known for Cushing's disease [43,44]. Marques et al. [45] performed a retrospective evaluation of 424 PA patients and investigated the usefulness of blood-based inflammation markers to predict the disease course. They found that a score using serum inflammation markers might predict invasive and refractory PAs. Nevertheless, it has to be reminded that there is also a potential confounding effect because systemic inflammatory markers might be influenced by further comorbidities and corticosteroid treatment. Furthermore, plurihormonal PAs were not associated with an increased MIB-1 index in our cohort. However, it also has to be reminded that the determination methods of plurihormonal PA using clinical signs, serum hormone concentrations, and pathological results are increasingly discussed [46]. In the present series, the plurihormonal PAs are determined using immunohistochemical methods as recommended by other investigators [46,47]. Nevertheless, the immunohistochemical detection of hor-

mones might not always result in a laboratory increase in serum hormone concentrations or clinical endocrine signs. Hence, it is debatable whether this classification has some clinical implications. This phenomenon might be explained by the fact that hormones secreted by the PA are biologically inactive or that they lost their functioning after entry into the blood system [46,48]. Moreover, in the present series, we did not identify an association between p53 expression and an increased MIB-1 labeling index. The prognostic value of determining p53 expression in PAs is controversial and there is no recommendation to routinely include it in the classification workflow according to the WHO [16]. Furthermore, different staining methods and heterogeneous cohorts (proportions of micro- and macroadenomas) also resulted in a broad range from 17% to 60% regarding the frequency of observed p53 expression [49,50].

The novel FATE score in the present investigation provides a score to preoperatively estimate an increased MIB-1 labeling index and might guide physicians in estimating the risk of tumor progression in completely resected PAs. This risk index may facilitate the preoperative treatment planning and the patient–physician dialog because neuropathological characteristics are only available after surgery so far. PA patients with an elevated FATE score (≥ 3) who prefer a conservative regimen of an incidental PA have to be informed about a more stringent follow-up imaging schedule regarding the time intervals. Furthermore, the FATE score was also found to be significantly associated with the probability of PFS in completely resected PA patients. Therefore, the identification of the FATE score as a potential sufficient surrogate marker for the MIB-1 index might facilitate devising the treatment strategy for PA patients and facilitate tailored postoperative follow-up scheduling.

Limitations

Several limitations are present in this investigation. Despite the data being acquired from a selective and homogeneous population, the retrospective nature of this investigation suffered from a monocentric experience. Furthermore, other inflammatory markers such as cytokines, which may provide more profound details regarding the interaction between inflammation and proliferation, were not available in this retrospective investigation. Moreover, there are potential interlaboratory differences regarding the determination methods of pituitary hormone concentrations and also the determination methods of the MIB-1 labeling index in cancer tissue (e.g., digital imaging analysis, hotspot, average method) [51]. Those limitations must be considered before our results can be transferred to clinical practice or external validation. Therefore, a multicentric prospective trial with a thorough, homogeneously balanced study protocol should provide external validation for this score to enable its reliable integration into the healthcare of PA patients.

5. Conclusions

A strong association between the MIB-1 labeling index and the probability of PFS in completely resected pituitary adenomas was found. Moreover, we created a score (“FATE”), which may preoperatively facilitate a tailored estimation of the MIB-1 index which enhances the preoperative physician–patient dialog, PA surgery planning, and a thorough risk/benefit evaluation of the healthcare for pituitary adenoma patients.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jcm11237151/s1>, Figure S1: (A) A receiver operating characteristic curve illustrating ACTH, IGF-1, and plasma fibrinogen in the positive correlation with increased MIB-1 labeling index ($\geq 4\%$) (B) Receiver operating characteristic curve illustrating age and FSH in the inverse correlation with increased MIB-1 labeling index ($\geq 4\%$).

Author Contributions: Conceptualization I.M., E.G. and J.W.; methodology I.M., E.G. and J.W.; data curation I.M. and J.W.; writing—original draft preparation I.M., J.W. and E.G.; writing—review and editing Á.G., A.B., U.H., H.V., J.W. and E.G.; visualization I.M., J.W. and E.G.; supervision E.G., J.W. and H.V. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This investigation received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of the Medical Faculty and the University Hospital of Bonn (code: 198/22).

Informed Consent Statement: Patient informed consent was not needed according to the retrospective design of the study and after approval of our Ethics Committee Approval.

Data Availability Statement: All data is included in the present manuscript.

Acknowledgments: BioRender was used to create the graphical abstract.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Melmed, S. Pituitary-Tumor Endocrinopathies. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *382*, 937–950. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Dallapiazza, R.F.; Grober, Y.; Starke, R.M.; Laws, E.R., Jr.; Jane, J.A., Jr. Long-term results of endonasal endoscopic transsphenoidal resection of nonfunctioning pituitary macroadenomas. *Neurosurgery* **2015**, *76*, 42–52. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Van Diest, P.J.; Brugal, G.; Baak, J.P. Proliferation markers in tumours: Interpretation and clinical value. *J. Clin. Pathol.* **1998**, *51*, 716–724. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Wach, J.; Brandecker, S.; Güresir, A.; Schuss, P.; Vatter, H.; Güresir, E. The impact of the MIB-1 index on facial nerve outcomes in vestibular schwannoma surgery. *Acta Neurochir.* **2020**, *162*, 1205–1213. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Gerdes, J.; Schwab, U.; Lemke, H.; Stein, H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int. J. Cancer.* **1983**, *31*, 13–20. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Scholzen, T.; Gerdes, J. The Ki-67 protein: From the known and the unknown. *J. Cell. Physiol.* **2000**, *182*, 311–322. [[CrossRef](#)]
- Chiloiro, S.; Bianchi, A.; Doglietto, F.; de Waure, C.; Giampietro, A.; Fusco, A.; Iacovazzo, D.; Tartaglione, L.; Di Nardo, F.; Signorelli, F.; et al. Radically resected pituitary adenomas: Prognostic role of Ki 67 labeling index in a monocentric retrospective series and literature review. *Pituitary* **2014**, *17*, 267–276. [[CrossRef](#)]
- Almeida, J.P.; Tabasinejad, R.; Kalyvas, A.; Takami, H.; Mohan, N.; O'Halloran, P.J.; Sanchez, M.M.; Velasquez, C.; Zadeh, G.; Gentili, F. The Importance of Long Term Follow Up After Endoscopic Pituitary Surgery: Durability of Results and Tumor Recurrence. *Neurol. India* **2020**, *68*, S92–S100.
- Zheng, X.; Li, S.; Zhang, W.; Zang, Z.; Hu, J.; Yang, H. Current biomarkers of invasive sporadic pituitary adenomas. *Ann. Endocrinol.* **2016**, *77*, 658–667. [[CrossRef](#)]
- Ugga, L.; Cucolo, R.; Solari, D.; Guadagno, E.; D'Amico, A.; Somma, T.; Cappabianca, P.; Del Basso de Caro, M.L.; Cavallo, L.M.; Brunetti, A. Prediction of high proliferative index in pituitary macroadenomas using MRI-based radiomics and machine learning. *Neuroradiology* **2019**, *61*, 1365–1373. [[CrossRef](#)]
- Cai, X.; Zhu, J.; Yang, J.; Tang, C.; Yuan, F.; Cong, Z.; Ma, C. A Nomogram for Preoperatively Predicting the Ki-67 index of a Pituitary Tumor: A Retrospective Cohort Study. *Front. Oncol.* **2021**, *11*, 687333. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Incandela, F.; Feraco, P.; Putorti, V.; Geraci, L.; Salvaggio, G.; Sarno, C.; La Tona, G.; Lasio, G.; Gagliardo, G. Malignancy course of pituitary adenoma in MEN1 syndrome: Clinical-Neuroradiological signs. *Eur. J. Radiol. Open* **2020**, *7*, 100242. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Trouillas, J.; Labat-Moleur, F.; Sturm, N.; Kujas, M.; Heymann, M.F.; Figarella-Branger, D.; Patey, M.; Mazucca, M.; Decullier, E.; Verges, B.; et al. Pituitary tumors and hyperplasia in multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome (MEN1): A case-control study in a series of 77 patients versus 2509 non-MEN1 patients. *Am. J. Surg. Pathol.* **2008**, *32*, 534–543. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Henson, J.W.; Ulmer, S.; Harris, G.J. Brain tumor imaging in clinical trials. *Am. J. Neuroradiol.* **2008**, *29*, 419–424. [[CrossRef](#)]
- Wach, J.; Apallas, S.; Schneider, M.; Güresir, A.; Schuss, P.; Herrlinger, U.; Vatter, H.; Güresir, E. Baseline Serum C-Reactive Protein and Plasma Fibrinogen-Based Score in the Prediction of Survival in Glioblastoma. *Front. Oncol.* **2021**, *11*, 653614. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Louis, D.N.; Perry, A.; Reifenberger, G.; von Deimling, A.; Figarella-Branger, D.; Cavenee, W.K.; Ohgaki, H.; Wiestler, O.D.; Kleihues, P.; Ellison, D.W. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A summary. *Acta Neuropathol.* **2016**, *131*, 803–820. [[CrossRef](#)]
- Majores, M.; Schick, V.; Engels, G.; Fassunke, J.; Elger, C.E.; Schramm, J.; Blumcke, I.; Becker, A.J. Mutational and immunohistochemical analysis of ezrin-, radixin-, moesin (ERM) molecules in epilepsy-associated glioneuronal lesions. *Acta Neuropathol.* **2005**, *110*, 537–546. [[CrossRef](#)]
- Majores, M.; von Lehe, M.; Fassunke, J.; Schramm, J.; Becker, A.J.; Simon, M. Tumor recurrence and malignant progression of gangliogliomas. *Cancer* **2008**, *113*, 3355–3363. [[CrossRef](#)]
- Gerges, M.M.; Rumalla, K.; Godil, S.S.; Younus, I.; Elshamy, W.; Dobri, G.A.; Kacker, A.; Tabee, A.; Anand, V.K.; Schwartz, T.H. Long-term outcomes after endoscopic endonasal surgery for nonfunctioning pituitary macroadenomas. *J. Neurosurg.* **2020**, *31*, 1–12. [[CrossRef](#)]
- Thapar, K.; Kovacs, K.; Scheithauer, B.W.; Stefaneau, L.; Horvath, E.; Pernicone, P.J.; Murray, D.; Laws, E.R., Jr. Proliferative activity and invasiveness among pituitary adenomas and carcinomas: An analysis using the MIB-1 antibody. *Neurosurgery* **1996**, *38*, 99–106; discussion 106–107. [[CrossRef](#)]

21. Hlaváč, M.; Knoll, A.; Mayer, B.; Braun, M.; Karpel-Massler, G.; Etzrodt-Walter, G.; Coburger, J.; Wirtz, C.R.; Pařa, A. Ten years' experience with intraoperative MRI-assisted transsphenoidal pituitary surgery. *Neurosurg. Focus* **2020**, *48*, E14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Das, C.; Mondal, P.; Mukhopadhyay, M.; Mukhopadhyay, S.; Ghosh, I.; Handral, A. Evaluation of prognostic utility of Ki-67, P53, and O-6-methylguanine-DNA methyltransferase expression in pituitary tumors. *J. Lab. Physicians* **2019**, *11*, 323–329. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Glebauskiene, B.; Liutkeviciene, R.; Vilkeviciute, A.; Gudinaviciene, I.; Rocyte, A.; Simonaviciute, D.; Mazetyte, R.; Kriauciuniene, L.; Zaliuniene, D. Association of Ki-67 Labelling Index and IL-17A with Pituitary Adenoma. *BioMed Res. Int.* **2018**, *31*, 7490585. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Trouillas, J.; Jaffrain-Rea, M.L.; Vasiljevic, A.; Raverot, G.; Roncaroli, F.; Villa, C. How to Classify the Pituitary Neuroendocrine Tumors (PitNET)s in 2020. *Cancers* **2020**, *12*, 514. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Lugo, G.; Pena, L.; Cordido, F. Clinical manifestations and diagnosis of acromegaly. *Int. J. Endocrinol.* **2012**, *2012*, 540398. [[CrossRef](#)]
26. Fusco, A.; Zatelli, M.C.; Bianchi, A.; Cimino, V.; Tilaro, L.; Veltri, F.; Angelini, F.; Lauriola, L.; Vellone, V.; Doglietto, F.; et al. Prognostic significance of the Ki-67 labeling index in growth hormone-secreting pituitary adenomas. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2008**, *93*, 2746–2750. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Yakar, S.; Pennisi, P.; Zhao, H.; Zhang, Y.; LeLeroith, D. Circulating IGF-1 and Its Role in Cancer: Lessons from the IGF-1 Gene Deletion (LID) Mouse. *Novartis Found. Symp.* **2004**, *262*, 3–18. [[PubMed](#)]
28. Yakar, S.; Leroith, D.; Brodt, P. The role of the growth hormone/insulin-like growth factor axis in tumor growth and progression: Lessons from animal models. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2005**, *16*, 407–420. [[CrossRef](#)]
29. Zhu, Y.; Wang, T.; Wu, J.; Huang, O.; Zhu, L.; He, J.; Li, Y.; Chen, W.; Chen, X.; Shen, K. Associations Between Circulating Insulin-Like Growth Factor 1 and Mortality in Women With Invasive Breast Cancer. *Front. Oncol.* **2020**, *10*, 1384. [[CrossRef](#)]
30. Puche, J.E.; Castilla-Cortazar, I. Human conditions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) deficiency. *J. Transl. Med.* **2012**, *10*, 224.
31. Yeves, A.M.; Burgos, J.I.; Medina, A.J.; Villa-Abrille, M.C.; Ennis, I.L. Cardioprotective role of IGF-1 in the hypertrophied myocardium of the spontaneously hypertensive rats: A key effect on NHE-1 activity. *Acta Physiol.* **2018**, *224*, e13092. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Cittadini, A.; Ishiguro, Y.; Strömer, H.; Spindler, M.; Moses, A.C.; Clark, R.; Douglas, P.S.; Ingwall, J.S.; Morgan, J.P. Insulin-like growth factor-1 but not growth hormone augments mammalian myocardial contractility by sensitizing the myofilament to Ca²⁺ through a wortmannin-sensitive pathway. *Circ. Res.* **1998**, *83*, 50–59. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Laughlin, G.A.; Barrett-Connor, E.; Criqui, M.H.; Kritz-Silverstein, D. The prospective association of serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein-1 levels with all cause and cardiovascular disease mortality in older adults: The Rancho Bernardo study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2004**, *89*, 114–120. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Juul, A.; Scheike, T.; Davidsen, M.; Gyllenborg, J.; Jorgensen, T. Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease. *Circulation* **2002**, *106*, 939–944. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Tanaka, Y.; Hongo, K.; Tada, T.; Sakai, K.; Kakizawa, Y.; Kobayashi, S. Growth pattern and rate in residual nonfunctioning pituitary adenomas: Correlations among tumor volume doubling time, patient age, and MIB-1 index. *J. Neurosurg.* **2003**, *98*, 359–365. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Mohseni, S.; Aboerad, M.; Sharifi, F.; Tavangar, S.M.; Mohajeri-Tehrani, M. Associations of Ki-67 Labeling Index with Clinical and Paraclinical Features of Growth Hormone-Secreting Pituitary Adenomas: A Single Center Report from Iran. *Int. J. Endocrinol. Metabol.* **2019**, *17*, e81983. [[CrossRef](#)]
37. Lyu, W.; Fei, X.; Chen, C.; Tang, Y. Normogram predictive model of post-operative recurrence in non-functioning pituitary adenoma. *Gland Surg.* **2021**, *10*, 807–815. [[CrossRef](#)]
38. Pizzaro, C.B.; Oliveira, M.C.; Coutinho, L.B.; Ferreira, N.P. Measurement of Ki-67 antigen in 159 pituitary adenomas using the MIB-1 monoclonal antibody. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2004**, *37*, 235–243. [[CrossRef](#)]
39. Mastronardi, L.; Guiducci, A.; Spera, C.; Puzzilli, F.; Liberati, F.; Ruggeri, A.; Peciarolo, A. Adrenocorticotrophic hormone secreting pituitary adenomas: Analysis of growth fraction using the MIB-1 antibody. *Tumori* **2000**, *86*, 229–232. [[CrossRef](#)]
40. Kurotani, R.; Yasuda, M.; Oyama, K.; Egashira, N.; Sugaya, M.; Teramoto, A.; Osamura, R.Y. Expression of interleukin-6, interleukin-6 receptor (gp80), and the receptor's signal-transducing subunit (gp130) in human normal pituitary glands and pituitary adenomas. *Mod. Pathol.* **2001**, *14*, 791–797. [[CrossRef](#)]
41. Marques, P.; Barry, S.; Carlsen, E.; Collier, D.; Ronaldson, A.; Awad, S.; Dorward, N.; Grieve, J.; Mendoza, N.; Muquit, S.; et al. Chemokins modulate the tumour microenvironment in pituitary neuroendocrine tumours. *Acta Neuropathol. Commun.* **2019**, *7*, 172. [[CrossRef](#)]
42. Chen, M.; Zheng, S.H.; Yang, M.; Chen, Z.H.; Li, S.T. The diagnostic value of preoperative inflammatory markers in craniopharyngioma: A multicenter cohort study. *J. Neurooncol.* **2018**, *138*, 113–122. [[CrossRef](#)]
43. Ambrogio, A.G.; De Martin, M.; Ascoli, P.; Cavagnini, F.; Pecori Giraldi, F. Gender-dependent changes in haematological parameters in patients with Cushing's disease before and after remission. *Eur. J. Endocrinol.* **2014**, *170*, 393–400. [[CrossRef](#)]
44. Masri-Iraqi, H.; Robenshtok, E.; Tzvetov, G.; Manistersky, Y.; Shimon, I. Elevated white blood cell counts in Cushing's disease: Association with hypercortisolism. *Pituitary* **2014**, *17*, 393–400. [[CrossRef](#)]

45. Marques, P.; de Vries, F.; Dekkers, O.M.; van Furth, W.R.; Korbonits, M.; Biermasz, N.R.; Pereira, A.M. Pre-operative serum inflammation-based scores in patients with pituitary adenomas. *Pituitary* **2021**, *24*, 334–350. [[CrossRef](#)]
46. Wei, L.; Yue, Z.; Wang, S. Immunopathological study of plurihormonal pituitary adenomas. *Chin. J. Neurosurg.* **2008**, *13*, 208.
47. Ho, D.M.; Hsu, C.Y.; Ting, L.T.; Chiang, H. Plurihormonal pituitary adenomas: Immunostaining of all pituitary hormones is mandatory for correct classification. *Histopathology* **2001**, *39*, 310–319. [[CrossRef](#)]
48. Shi, R.; Wan, X.; Yan, Z.; Tan, Z.; Liu, X.; Lei, T. Clinicopathological Characteristics of Plurihormonal Pituitary Adenoma. *Front. Surg.* **2022**, *9*, 826720. [[CrossRef](#)]
49. Ozer, E.; Canda, M.S.; Ulukus, C.; Guray, M.; Erbayraktar, S. Expression of Bcl-2, Bax and p53 proteins in pituitary adenomas: An immunohistochemical study. *Tumori* **2003**, *89*, 54–59. [[CrossRef](#)]
50. Zakir, J.C.; Casulari, L.A.; Rosa, J.W.; Rosa, J.W.; de Mello, P.A.; de Malhaes, A.V.; Naves, L.A. Prognostic Value of Invasion, Markers of Proliferation, and Classification of Giant Pituitary Tumors, in a Georeferred Cohort in Brazil of 50 Patients, with a Long-Term Postoperative Follow-Up. *Int. J. Endocrinol.* **2016**, *2016*, 7964523. [[CrossRef](#)]
51. Jang, M.H.; Kim, H.J.; Chung, Y.R.; Lee, Y.; Park, S.Y. A comparison of Ki-67 counting methods in luminal Breast Cancer: The Average Method vs. the Hot Spot Method. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0172031. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

3. Danksagung

Viele Personen haben zum Erfolg dieser Dissertation beigetragen, und ich möchte ihnen allen meinen Dank aussprechen.

Zuallererst möchte ich meinem Doktorvater, Herrn Prof. Güresir, meinen Dank aussprechen. Er hat mich von der Themenfindung bis zur Einreichung der fertigen Arbeit begleitet und angeleitet und stand mir stets mit großer Unterstützung zur Seite.

Herrn Dr. Wach danke ich für seine wissenschaftliche Betreuung, seine Einführung in die Methodik und seine Hilfe bei der Auswertung und im Schreibprozess.

Ein besonderer Dank geht an den Direktor der Klinik, Herrn Prof. Vatter, für seine klinische und wissenschaftliche Ausbildung, die ich dank ihm erfahren durfte.

Den Oberärztlichen Team der Klinik für Neurochirurgie möchte ich ebenfalls danken für den wissenschaftlichen Austausch und ihre Unterstützung im klinischen Alltag.

Leider wird eine Person meine Dissertation nicht mehr lesen können: Frau Prof. Behnke-Mursch spielte eine besondere Rolle in meiner ärztlichen Tätigkeit in Deutschland. Ihr und Herrn Prof. Mursch gilt mein besonderer Dank.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Familie, insbesondere bei meiner Frau, bedanken, die mich durch ihre ständige Unterstützung auf meinem Werdegang begleitet hat.