

Válasz

Professzor Kappelmayer János egyetemi tanárnak

az MTA doktori pályázatombhoz írott hivatalos bírálatára

Mindenekelőtt köszönöm Kappelmayer János egyetemi tanárnak, hogy dolgozatomat alaposan áttanulmányozta, elbírálta. Hálásan köszönöm az általános észrevételekben említett pozitívumokat, és elfogadom az ábraanyagra vonatkozó kritikai megjegyzést.

A specifikus kérdésekre azok sorrendjében válaszolok:

T. Bírálom kérdezi, hogy a glükokortikoidoknak az intracelluláris térből való eltávolítását végző ABC-transzportereknek lehet-e szerepe a familiáris glükokortikoid rezisztencia kialakulásában.

A familiáris glükokortikoid rezisztencia igen ritka, autoszomális dominánsan vagy autoszomális recesszíven öröklődő megbetegedés. A 2008. februárig közölt mind a 10 családban igazolták a glükokortikoid receptort kódoló gén (*NR3C1*) mutációját (Charmandari, JCEM, 2008), így mai tudásunk szerint nincs okunk feltételezni bármilyen más rendszer elsődleges szerepét a kórkép kialakulásában. Familiáris glükokortikoid rezisztenciában legjobb tudomásom szerint nem vizsgálták a PgP, PRP1, PRP vagy BCRP expressziót.

Ezzel szemben ma már egyértelmű, hogy az említett ABC-transzporterek kóros működése az egyik igen fontos patogenetikai tényező az asthma bronchiale, több malignus haematológiai kórkép és a colitis ulcerosa kialakulásában, különösen ezeknek a betegségeknek szövetspecifikusan szteroid-rezisztens változataiban.

T. Bírálom számos, aktuális és elgondolkodtató kérdést tett fel az incidentaloma fogalmával kapcsolatban.

A véletlenszerűen felfedezett, kérdéses jelentőségű észlelet feltehetően az orvoslás kezdetei óta szakmánk velejárója. Az incidentális leleteknek a valóban robbanás-szerű gyarapodását azonban az elmúlt 3 évtized hozta.

Az incidentálisan felismert elváltozásokkal jelentőségüknek megfelelően kell foglalkozni. A jelentőségük megállapításához rendszerint néhány további, célzott vizsgálat eredményének ismerete szükséges. Igazolni szükséges, hogy a beteg panaszai, tünetei nem függenek össze az incidentális vizsgálati eredménnyel. A beteg érdeke megkívánja annak igazolását is, hogy az incidentálisan megismert kóros állapot - legalábbis rövid távon -nem veszélyezteti a beteg életét, egészségét.

Nagyon találónak tartom, ahogy Kappelmayer professzor Úr analógiát keres és talál az incidentálisan felfedezett mellékvese adenomák és az említett haematológiai kórmegelőző állapotok között. Ezek mindegyike rendszerint incidentálisan felfedezett pathológiás állapot, ennek ellenére hosszantartó betegkövetést és rendszeres ellenőrző vizsgálatokat indokolnak, potenciális progressiójuk miatt.

T. Bírálom kérdezett a hiperkortizolizmus, a szubklinikai és a valódi Cushing-szindróma átfedéséről, a hiperkortizolizmus előfordulási gyakoriságáról a diabetes betegek körében.

A hiperkortizolizmus laboratóriumi fogalma messze nem egyenlő a Cushing-szindrómával. Hiperkortizolizmus számos fiziológiás (pl. terhesség) és patológiás állapotban (pl. depresszió, alkoholizmus, policisztás ovarium szindróma) előfordulhat. A patológiás állapotok közül a valódi Cushing-szindrómát legjobban megközelítő, és az endokrinológus számára a legnagyobb differenciál-diagnosztikai kihívást jelentő eseteket pseudo-Cushing-

szindróma néven foglaljuk össze. Ilyen értelemben a Cushing-szindróma a hiperkortizolizmus széles spektrumának csak egy szeletét képezi.

Az utóbbi 10 évben gyarapszik azoknak a közleményeknek a száma, amelyek egy-egy jól meghatározott, önálló - egyébként a Cushing-szindróma részjelenségét is képező - betegségben vizsgálják a hiperkortizolizmus előfordulását. Meglepően nagy gyakorisággal igazoltak hiperkortizolizmust 2-es típusú diabetes mellitusban, posztmenopauzális osteoporózisban. Ezen megfigyelések diagnosztikus ill. terápiás jelentősége ma még nem tisztázott, további vizsgálatokat igényelnek.

T. Bírálom rendkívül érdekes kérdéseket vetett fel a Cushing-szindrómát kísérő pszichopatológiai vonatkozásokkal kapcsolatban. Ez irányú saját vizsgálatok hiányában irodalmi adatok alapján kísérelem meg a rövid válaszadást.

Az akut stressz hatására bekövetkező szervezeti válasz a katekolamin-emelkedés, a katekolamin-emelkedés által indukált CRH- és AVP-emelkedés, valamint a kortizol-emelkedésre adott, másodperceken-perceken belül kialakuló nem-genomikus válasz útján valósul meg. A krónikus stressznek kitett egyéneket jellemző eltérések összességét a pszichopatológia a vulnerábilis fenotípus terminus technicus-szal írja le, amelynek hátterében a központi idegrendszer neurodegeneratív elváltozásai, a kognitív funkciók csökkenése állanak. Endogén Cushing-szindrómában a major pszichiátriai betegségek közül a leggyakoribb az atípusos depresszió előfordulása (52%), nem ritka a kórházi kezelést indokló mánia sem. Nem találtak összefüggést a kortizol koncentráció és a depresszió súlyossága között. A Cushing-szindróma gyógyulását követően a pszichopatológiai eltérések általában javulnak. A legújabb vizsgálatok azonban azt igazolják a hiperkortizolizmus végleges megszűnése ellenére a pszichopatológiai eltérések messze nem teljességgel reverzibilisek, a Cushing-szindrómából véglegesen gyógyult egyéneket gyakran csökkent kognitív funkció, rosszabb memória, maladaptív személyiség-változás jellemzi.

T. Bírálom kérdezi, mi az oka annak, hogy a csontok ásványi anyag tartalma a Cushing-szindróma gyógyulása után a gerincen és a femuron emelkedik, míg a radiuson átmeneti csökkenés után, csak évekkel később közelíti a betegség előtti szintet?

Eredményeink szerint Cushing-szindrómás betegeken is kimutatható a szervezet zsírszövet-tartalma indikátorának tekintett BMI és az ágyéki gerinc BMD, valamint a femur BMD közötti, egészséges egyéneken az 1990-es évektől ismert, és azóta számtalan alkalommal megerősített összefüggés. Néhány vizsgálatban azt is kimutatták, hogy statisztikai és biológiai értelemben véve is szignifikáns pozitív korreláció áll fenn a testsúly- ill. a BMI változása és a korral járó BMD-csökkenés között.

Az egészséges felnőtteken megfigyelt pozitív korrelációval szemben a glükokortikoid-indukált csontbetegség gyógyulási szakaszában kifejezetten szoros, negatív korrelációt találtunk a BMI és az ágyéki gerinc BMC változásai, ugyanakkor pozitív korrelációt igazoltunk a BMI és a radius BMC változásai között. A BMC-átrendeződés és a BMI-változás közötti összefüggés természete nem tisztázott, további vizsgálatokat igényel. Kézenfekvő feltételezésünk szerint a jelenség hátterében valamilyen, a zsírszövetből származó szignál állhat.

Köszönöm T. Bírálómnak a Cushing-szindrómás betegek véralvadási zavaraira vonatkozó kérdését.

A Cushing-szindróma valóban egy hiperkoagulábilis állapot, ami az átlagosnál gyakoribb thromboemboliás szövődményt eredményez. A protrombotikus változásokat a véralvadás komplex rendszerén belül főként a VIII-as és a von Willebrand faktorok szintjének emelkedésével, továbbá a fibrinolitikus rendszer károsodásával magyarázzák. Jóval

kevesebbet tudunk a glükokortikoidoknak a trombocita-számra és –funkcióra gyakorolt hatásáról. Ezen ismeretek gyakorlati jelentősége az, hogy a Cushing-szindrómás egyénekben végzett invazív vizsgálatok és műtéti beavatkozások során nagy hangsúlyt kell fektetni a megfelelő tromboprofilaxisra.

Kappelmayer professzor úr két, nehezen értelmezhető adatot emelt ki értekezéséből.

1. Az értekezés 38. oldalán hivatkozott 138 088 egyén Magyarország 1998-as lakosságának valóban nem 13,6, hanem csak 1,36%-át képviseli. A gépelési hibáért elnézést kérek.

2. A 38. és a 40. oldalon a szubklinikai Cushing-szindrómának valóban két különböző definícióját alkalmaztam a saját beteganyag csoportosításakor. Az első, ateroszklerotikus rizikót vizsgáló tanulmányban szereplő mellékvese daganatos betegek első endokrinológiai kivizsgálásakor (1990-2001 között) klinikánkon még nem volt rutin vizsgálat a nyugalmi plazma ACTH mérése, ezért a betegek szubklinikai Cushing-szindrómába való sorolásához csak két laboratóriumi paramétert (az éjszeli és a kis dózisú dexamethason teszt utáni szérumszint) értékeltünk. A második tanulmányban szereplő mellékvese daganatos betegeknél már csaknem minden beteg esetében rendelkezésünkre állt a nyugalmi plazma ACTH koncentráció is. Az első vizsgálatban két kritérium közül egy, a második tanulmányban három kritérium közül kettő megléte esetén diagnosztizáltunk szubklinikai Cushing-szindrómát.

3. A 16. ábrán bemutatott, 5 különböző laboratóriumi paraméter ROC-görbéinek számszerű paraméterei a 18. táblázatban kerültek bemutatásra. Ezek az adatok azt jelzik, hogy manifest Cushing-szindrómás betegeknek a kontroll csoporttól való elkülönítésének vizsgálatakor nem volt statisztikailag szignifikáns különbség a 24:00 órás nyál kortizol, 24:00 órás, valamint a kis dózisú dexamethason adása utáni szérumszint kortizol, valamint a 24 órás vizelet kortizol ürítés között.

Az értekezés Megbeszélés fejezetében, a 100. oldalon a szérumszint oszteokalcin diagnosztikus érzékenységét vettem össze a Cushing-szindróma diagnózisára jelenleg ajánlott és használt legjobb teszteknek egy 2008-ban publikált nagy metaanalízis adatain alapuló görbe alatti területeivel. Saját adataink szerint a szérumszint oszteokalcin ROC analízissel nyert görbe alatti területe (egyik vizsgálatunkban 0,9227, a másikban 0,9220) alig volt kisebb, mint a Cushing-szindróma diagnózisára jelenleg ajánlott és használt legjobb tesztek görbe alatti területe (vizelet szabad kortizol ürítés, 0,9645; éjszeli szérumszint kortizol, 0,9730; rövid kis dózisú dexamethason teszt, 0,9771; hosszú kis dózisú dexamethason teszt, 0,9399).

Válaszok Kappelmayer professzor Úr metodikai jellegű megjegyzéseire és kérdéseire:

T. Bírálóm több kérdést tett fel a szteroid hormonoknak saját fejlesztésű RIA-val történő meghatározásával kapcsolatban.

A Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinikáján 1959-ben alapított, napjainkban is működő, évtizedeken át Gláz Edit professzor asszony által irányított szteroid laboratóriumban az első, RIA-módszerrel történő hormonmeghatározás 1974-ben került bevezetésre, és 2008-ig összesen 20 szteroid hormonnak plazmából vagy nyálból RIA-val történő meghatározásának beállítása történt meg. Ugyan a NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) irányelvek csak a 90-es években jelentek meg, de a laboratóriumi módszereink a kezdettől fogva pontosan definiáltak voltak, a mintavételi körülményektől egészen az eredmények kiértékelésig. A laboratórium fennállásának kezdetétől törekedett –a hazai laboratóriumi medicina lehetőségei által megengedett módon- a

külső és belső minőség-ellenőrzés fokozatosan fejlődő követelményeinek eleget tenni. A szteroid molekulák pontosan definiáltak, így a molekulatömeg ismeretében a kalibráláshoz 4 tizedes pontossággal gravidimetriásan bemért standardokat használtunk.

A külső minőség-ellenőrzés hosszú éveken át csak külföldi kollaboráció útján volt lehetséges. Az 1990-es évektől a külföldről beszerezhető (RANDOX RIQAS) külső kontroll, majd 1999-től a QualiCont hazai külső kontroll hálózattól szereztük be a kontroll szérumokat. Laboratóriumunk napjainkban is rendszeresen küld mintát a QualiCont, RIQAS és EQAS szervezeteknek. A megadott célértékeknek, tartományoknak mindenkor megfelelt a laboratóriumunk. Végso soron a minőség-ellenőrzés egyik módszerének tekinthetjük a munkacsoport nemzetközi tudományos folyóiratokban elfogadott számos közleményét is.

T. Bírálóm több kérdést vetett fel a mellékvese daganatos betegcsoport lipidértékeivel kapcsolatban.

A betegek első kivizsgálása klinikánkon az 1990 és 2001 közötti években történt. Akkor még nem volt a mellékvese daganatos betegek rutin kivizsgálásának a része a HDL- és LDL-koleszterin meghatározása. Ezzel szemben az átlagosan 9 évvel később megtörtént betegkövetés általunk kidolgozott protokollja már tartalmazta a HDL- és LDL-koleszterin vizsgálatát, amihez direkt módszert, homogén enzimatis k kolorimetriás tesztet alkalmaztunk. A vizsgálat eredményeit leíró kézirat első változataiban még szerepelt az LDL-koleszterin meghatározás eredménye, amit – éppen a kiindulási adatok hiánya miatt - a későbbi és a végleges változatokból elhagytunk. Így a hyperlipidémia gyakoriságának felmérésekor csak az össz-koleszterin és a triglicerid szinteket vettük figyelembe. Annak ellenére, hogy a dolgozat végso változatában az LDL-koleszterin értékeket semmilyen formában nem vettük figyelembe, a dolgozat módszertani részében az LDL-koleszterin szint első verziójú cut-off értéke bent maradt, és az - tévesen - az értekezésembe is bekerült. Mindezt T. Bírálóm fedezte fel elsőként, amiért köszönetemet fejezem ki, és egyúttal elnézését is kérem ezen tévedésért.

Az elmondottak értelmében a hormonálisan inaktív mellékvese adenomás betegeinken talált, az értekezés 6. táblázatában bemutatott adatokat, a hiperlipidémia általunk megadott előfordulási gyakoriságát továbbra is fent tartom. Az átlagosan 9 évvel később megtörtént követéses vizsgálatkor talált össz-koleszterin csökkenés legvalószínűbb okának továbbra is a korszerű sztatín-készítményeknek lényegesen gyakoribb használatát tartom (a kiindulási 5% helyett a betegkövetés időpontjában a betegek 29%-a szedett sztatín-készítményt).

T. Bírálóm kérdéseket tett fel a kortizol mérés ideális biológiai mintájáról, a vizelet kortizol ürítés adatainak az alacsony GFR miatti esetleges korrekciójáról, a nyálminták kortizol meghatározás céljából történő előkészítésének metodikai problémáiról, továbbá a kortizol szérumból vagy plazmából történő meghatározásáról.

A kortizol mérésnek minden klinikai körülményre alkalmazható, ideális mintája nincs. Az Amerikai Endokrinológiai Társaság a Cushing-szindróma diagnózisára egyaránt ajánlja a kis dózisú dexamethason-tesztet (vér), a 24 órás vizelet kortizol valamint az éjféli nyálmintából vett kortizol-meghatározást. A Semmelweis Egyetem II. Belklinikáján mindhárom módszert alkalmazzuk. Az elvégzett tesztek száma és az ismétlés gyakorisága a hiperkortizolizmus gyanújának mértékétől függ. A vérből történő meghatározás során egyaránt használható szérum és plazma is, a kézikönyvek azonos referencia-értékeket adnak meg mindkét mintára.

T. Bírálóm joggal jegyzi meg, hogy az értekezésemben hol plazma, hol pedig szérum kortizol meghatározást említek. Ennek oka az, hogy a Klinikánkon hagyományosan plazmából végzett kortizol és egyéb szteroid hormon meghatározásokat fokozatosan állítottuk

át az automatizált ECLIA immuno-assay módszerrel történő meghatározásra, és ehhez –a gyártó előírásainak megfelelően- szérum mintákat gyűjtünk. Ugyanakkor ezek használati útmutatójában szerepel a plazma-minta használatának lehetősége is.

A nyálminták kortizol meghatározás céljából történő előkészítése során egyetlen probléma fordul elő ritkán: a nyálminta elégtelen mennyiségére csak a centrifugálás után derülhet fény.

A vesén át filtrációval ürülő kortizol ürítése veseelégtelenségben fokozatosan csökken, a GFR 60 ml/perc szintje alatt már előfordul, hogy a vizelet kortizol ürítés falsan alacsony. Ilyen esetekben a vizelet kortizol ürítést nem értékeljük. Bár néhány munkacsoport még ma is alkalmazza a vizelet kortizol ürített kreatininre történő korrigálását, az érvényben lévő amerikai ajánlás a vizelet kreatinin meghatározást a 24 órás gyűjtés pontosságának igazolására és nem az ürített kreatininre való korrigálás céljából javasolja. Veseelégtelenségben ezért a kis dózisú dexamethason tesztet vagy az éjszeli nyál kortizol szint meghatározást kell alkalmazni.

Fogamzásgátlót szedő nő ill. terhesség esetén csak a vizelet és a nyálminta vizsgálata adhat reális eredményt. Antiepileptikumot szedő betegekben, terhességben, ciklikus Cushing-szindróma gyanúja esetén nem megfelelő ill. nem célszerű a dexamethason teszt alkalmazása.

Még egyszer köszönöm Kappelmayer János egyetemi tanárnak az MTA doktori értekezésem alapos és szakszerű bírálatát, elismerő szavait. Tisztelettel kérem válaszaim elfogadását.

Budapest, 2012. február 23.

dr. Tóth Miklós
egyetemi docens