

dc_117_10

MTA Doktori Pályázat
Doktori Értekezés

**A glükokortikoid-termelés és a glükokortikoid-hatás vizsgálata a
hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely megbetegedéseiben**

Dr. Tóth Miklós

Semmelweis Egyetem
II. sz. Belgyógyászati Klinika

Budapest, 2010

Tartalomjegyzék

	Oldal
1.0 Rövidítésjegyzék	7
2.0 Bevezetés, előzmények	8
2.1 A hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely működésének rövid áttekintése	8
2.2 Glükokortikoid hormonok a keringésben. A célsejtek glükokortikoid ellátottságát módosító mechanizmusok	9
2.3 Glükokortikoidok iránti fokozott érzékenység és rezisztencia	9
2.3.1 A glükokortikoidok iránti érzékenység vizsgálatának módszerei	10
2.4 A 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz	11
2.4.1 A 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz izoformái és működésük	11
2.4.2 Az 1-es típusú 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz génjének szerkezete és variánsai	12
2.5 A glükokortikoid receptor	13
2.5.1 A glükokortikoid receptor genetikai variánsai	14
2.6 Véletlenszerűen felfedezett mellékvese daganatok	16
2.6.1 A mellékvese incidentalómák klinikopatológiai háttere	17
2.6.2 A CRH-ACTH-kortizol tengely rendellenességei hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegeken	18
2.6.3 Hormonálisan inaktív adrenokortikális daganatos betegek követéses vizsgálatai	19
2.7 Az endogén Cushing-szindróma	19
2.7.1 Cushing-kór	20
2.7.2 Adrenális Cushing-szindróma	21
2.7.3 Ektópiás Cushing-szindróma	22
2.7.4 A Cushing-szindróma klinikai tünetei és szövődményei	22
2.7.5 A szubklinikai Cushing-szindróma helye a glükokortikoid túltermelés spektrumában	23
2.7.6 Ateroszklerotikus kockázat és mortalitás endogén Cushing-szindrómában	25

2.7.7	A Cushing-szindróma laboratóriumi diagnosztikája	26
2.7.7.1	Szérum kortizol meghatározás, cirkadián ritmus	26
2.7.7.2	Kis dózisú dexamethason szuppressziós teszt	26
2.7.7.3	Vizelet kortizol ürítés és nyál kortizol meghatározás	27
2.8	Glükokortikoid-indukált oszteoporózis	28
2.8.1	A glükokortikoid-indukált oszteoporózis kialakulásának patomechanizmusa	29
2.9	A csontszövet működésének laboratóriumi vizsgálata	31
2.9.1	A glükokortikoid túlsúly hatása a csontmetabolizmus laboratóriumi markereire	32
2.10	A glükokortikoid érzékenység jelentősége patológiás állapotokban	32
3.0	Célkitűzések	34
4.0	Betegek	36
4.1	A dehidroepiandrosteron-szulfát koncentráció vizsgálata hormonálisan aktív, valamint inaktív mellékvese daganatos betegeken	37
4.2	Hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegek ateroszklerotikus kockázati tényezői és szövődményei	37
4.3	A csontok ásványi anyagtartalmának és vetületi felszínének vizsgálata Cushing-szindrómában és a betegség gyógyulását követően	38
4.4	Egyszeri, kis dózisú dexamethason és egyszeri depot-ACTH hatása a szérum csontmarkerekre	39
4.5	A csontépítés és csontbontás jellegzetességei Cushing-szindrómában és a betegség gyógyulását követően	39
4.6	A nyál kortizol és a szérum oszteokalcin vizsgálata az endogén Cushing-szindróma diagnosztikájában	40
4.7	A <i>GR</i> gén genetikai variánsainak jelentősége a Cushing-szindrómát kísérő csontbetegségben	40
4.8	A <i>HSD11B1</i> gén 83,557insA variánsának vizsgálata a Cushing-szindróma megjelenésében és a csontbetegség kialakulásában	41

5.0	Módszerek	42
5.1	Hormonmeghatározások	43
5.2	A Cushing-szindróma klinikai diagnosztikájában alkalmazott legfontosabb módszerek	42
5.3	Ateroszklerotikus kockázati tényezők és szövődmények vizsgálata	43
5.4	A csontbontás és csontépítés markereinek vizsgálata	43
5.5	A csontok ásványi anyagtartalmának vizsgálata	44
5.6	A csonttörések számának felmérése	45
5.7	Molekuláris genetikai vizsgálatok	45
5.7.1	A <i>GR</i> gén polimorfizmusainak kimutatása	45
5.7.2	A <i>HSD11B1</i> gén 83,557insA polimorfizmusának kimutatása	46
5.8	Statisztikai módszerek	46
6.0	Eredmények	48
6.1	A dehidroepiandroszteron-szulfát koncentráció vizsgálata hormonálisan aktív, valamint inaktív mellékvese daganatos betegeken és a daganat eltávolítását követően	48
6.2	Hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegek ateroszklerotikus kockázati tényezői és szövődményei	51
6.2.1	Ateroszklerotikus kockázati tényezők és laboratóriumi paraméterek	52
6.2.2	Ateroszklerotikus események és az ateroszklerózis szövőd-ményei miatt végzett beavatkozások gyakorisága	56
6.2.3	Szubklinikai Cushing-szindróma	57
6.3	A csontok ásványi anyagtartalmának és vetületi felszínének vizsgálata Cushing-szindrómában és a betegség gyógyulását követően	57
6.3.1	A klinikai paraméterek és a csontsűrűség, valamint a csont-törések közötti összefüggések	59
6.3.2	A csontok ásványi anyagtartalmának és vetületi felszínének változása a Cushing-szindróma gyógyulását követően	60
6.4	Egyszeri, kis dózisu dexamethason és egyszeri depot-ACTH hatása a szérum csontmarkerekre	64
6.5	A csontépítés és csontbontás jellegzetességei Cushing-szindrómában és a betegség gyógyulását követően	67

6.5.1	A csontmarkerek összefüggése a kortizol koncentrációval és a Cushing-szindróma egyes szövődményeivel	68
6.5.2	A csontmarkerek változása a Cushing-szindróma gyógyítását követően	70
6.5.3	A csontépítés és a csontbontás kapcsoltságának vizsgálata	71
6.6	A nyál kortizol és a szérum oszteokalcin meghatározás értékének vizsgálata a Cushing-szindróma diagnosztikájában	72
6.6.1	A nyál kortizol meghatározás diagnosztikus értékének vizsgálata	72
6.6.2	A szérum csontmarkerek diagnosztikus értékének vizsgálata	77
6.6.3	A szérum oszteokalcin összefüggései egyéb laboratóriumi paraméterekkel	80
6.7	A <i>GR</i> gén genetikai variánsainak jelentősége a Cushing-szindróma megjelenésében és a glükokortikoid-indukált csontbetegségben	80
6.7.1	A <i>GR</i> gén polimorfizmusok allél-gyakorisága Cushing-szindrómás betegekben és kontroll személyekben	81
6.7.2	<i>GR</i> gén polimorfizmusok, csontsűrűség és csontmarkerek közti összefüggések	82
6.8	A <i>HSD11B1</i> gén 83,557insA genetikai variánsának jelentősége a Cushing-szindróma megjelenésében és a glükokortikoid-indukált csontbetegségben	85
6.8.1	A 83,557insA variáns gyakorisága endogén Cushing-szindrómában szenvedő betegekben és kontroll személyekben	86
6.8.2	A 83,557insA variáns és a csontmarkerek, valamint a BMD közötti összefüggések	87
6.8.3	A 83,557insA variáns és egyéb paraméterek közti összefüggések	89
7.0	Megbeszélés	91
7.1	A dehidroepiandrosteron-szulfát koncentráció vizsgálata hormonálisan aktív, valamint inaktív mellékvese daganatos betegeken	91
7.2	Hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegek ateroszklerotikus kockázati tényezői és szövődményei	92
7.3	Cushing-szindrómás betegek csont ásványi anyagtartalma, csonttörések	93
7.4	A csontsűrűség és a csontméretek változása a Cushing-szindróma gyógyulását követően	95

7.5	A glükokortikoid-túlsúly hatása a szérumbontmarkerekre	96
7.6	A nyál kortizol meghatározás diagnosztikus értéke	98
7.7	A szérumbontmarkerek laboratóriumi vizsgálatának potenciális jelentősége a Cushing-szindróma diagnosztikájában	99
7.8	A <i>GR</i> gén genetikai variánsainak vizsgálata	100
7.9	A <i>HSD11B1</i> gén 83,557insA variánsának vizsgálata	101
8.0	Új megállapítások	103
9.0	Köszönetnyilvánítás	105
10.0	A doktori értekezés alapjául szolgáló saját közlemények jegyzéke	106
11.0	A doktori értekezésben nem szereplő, a PhD fokozatszerzés után megjelent idegen nyelvű saját közlemények jegyzéke (1999-2010)	108
12.0	Az értekezéshez kapcsolódó magyar nyelvű saját közlemények jegyzéke (1999-2010)	114
13.0	Az értekezés témájához kapcsolódó könyvfejezetek	116
14.0	Irodalomjegyzék	118

1.0 Rövidítésjegyzék

ACTH	adrenokortikotrop hormon
BMC	csont ásványi anyagtartalom
BMD	csontsűrűség
BMI	testtömeg index
CBG	kortikoszteroid-kötő globulin
CAAT	citidin-adenozin-adenozin-timidin
C/EBP	CAAT/ enhancer kötő fehérje
CRH	kortikotrop releasing hormon
CT	komputer tomográfia
CTX	1-es típusú kollagén karboxiterminális telopeptid
DEXA	kettős energiájú röntgen abszorpciometria
DHEA	dehidroepiandroszteron
DHEAS	dehidroepiandroszteron-szulfát
ECLIA	elektrokemilumineszcens assay
GR	glükokortikoid receptor
HDL(-koleszterin)	magas denzitású lipoprotein (koleszterin)
HSD11B	11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz
HSD11B1	1-es típusú 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz
HSD11B2	2-es típusú 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz
hsp	hősokk-fehérje
IL	interleukin
LDL(-koleszterin)	alacsony denzitású lipoprotein (koleszterin)
MRI	mágneses rezonanciás képalkotás
OC	oszteokalcin
PCR	polimeráz láncreakció
POMC	proopiomelanocortin
PPAR γ	peroxiszóma-proliferátor-aktivált-receptor- gamma
RANK	NF- κ B receptor aktivátor molekula
RANK-L	NF- κ B receptor aktivátor molekula ligandja
ROC	receiver operating characteristics
TNF- α	tumornekrózis-faktor- α

2.0 Bevezetés, előzmények

2.1 A hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely működésének rövid áttekintése

A mellékvese glükokortikoid termelését alapvetően meghatározó ACTH 39 aminosavból álló peptidhormon, ami a proopiomelanocortinból (POMC) képződik. A POMC 241 aminosavat tartalmaz, ami kisebb peptidhormonokra hasad, mégpedig szövetenként különböző módon. A hasítási termékek között találjuk meg a melanocytá stimuláló hormonokat (α -, β - és γ -MSH). A POMC-ból lehasadó egyéb peptidek (β -lipoprotein, N-terminális peptid, stb.) biológiai funkciója nem teljes mértékben tisztázott, enyhe szteroidogenetikus és mellékvesekéreg növekedést stimuláló hatásuk is lehet.

A kortikotrop sejtek POMC- ill. ACTH-termelését számos humorális tényező befolyásolja, amelyek közül a két döntő jelentőségű hormon a kortikotrop releasing hormon (CRH) és az arginin-vazopresszin. A 41 aminosavból álló CRH a hypothalamus nucleus paraventricularisában képződik, a hypothalamus-hypophysis portalis keringéssel jut a hypophysis-be, és stimulálja a kortikotrop sejtek felszínén elhelyezkedő 1-es típusú CRH-receptorokat. CRH azonban számos egyéb szövetben is képződik, így például a herében, a gasztro-intesztinális traktusban, méhlepényben, stb. A részben szintén a nucleus paraventricularisban képződő arginin-vazopresszin a kortikotrop sejtek V1B receptorain hat és nagymértékben fokozza a CRH hatását. A kortikotrop sejtek működését számos egyéb hormon és citokin is befolyásolja (katekolaminok, angiotenzin-II, pitvari natriuretikus hormon, cholecystokinin, a szomszédos hypophysis sejtek termékei, tumor nekrosis faktor- α , interleukin-1, interleukin-6, stb.).

Az adrenokortikális sejtek felszínén expresszáldó 2-es típusú melanocortin receptorhoz (MC2-R) kötődő ACTH percekben belül fokozza a mellékvesekéreg-sejtek szteroid-termelését, tartós emelkedése pedig az egész mellékvesekéregállomány hiperpláziáját és hipertrófiáját okozza. A keringésbe került kortizol a hypothalamus és a hypophysis kortikotrop sejtjeiben lévő glükokortikoid receptorok (GR) közvetítésével az ACTH-szekrécióra negatív feedback hatást fejt ki.

Az ismertett szabályozó mechanizmusok együttesen biztosítják a szervezet mindenkor szükségletét fedező kortizol szekréciót. Egészséges egyénben a hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely egyik legjellemzőbb sajátossága a plazma kortizol napszaki ritmusa, azaz a plazma kortizol koncentrációjának az esti-éjszakai órákban való jelentős

csökkenése. Már a plazma kortizol koncentráció esti-éjszakai csökkenésének az elmaradása is elegendő a glükokortikoid túltermelés klinikai tüneteinek megjelenéséhez.

2.2 Glükokortikoid hormonok a keringésben. A célsejtek glükokortikoid ellátottságát módosító mechanizmusok

A keringésbe került kortizol mintegy 90%-a a kortikoszteroid-kötő globulinhoz (CBG) kötődik, a biológiai hatásért a CBG-hez nem kötött, mintegy 5%-ot kitevő szabad kortizol a felelős. A CBG plazma szintjét számos fiziológiás, farmakológias és patológias tényező módosítja (pl. terhesség, ösztrogének, gyulladásos reakciók) (1, 2).

A sejtekbe a sejthártyán át diffúzióval belépő kortizol intracelluláris koncentrációját csökkenti egy, a sejtmembránban elhelyezkedő, adenosin-trifoszfát (ATP) -dependens efflux pumpaként működő foszfo-glikoprotein (multidrug resistance-MDR pumpa), ami többek között gyógyszereknek a sejtől való eltávolítását is végzi (3). Intracellulárisan a kortizol a citoszolban elhelyezkedő GR-hoz kötődik. A GR aktivitása nagymértékben függ a GR foszforilációjának a mértékétől, a mitogén-aktiválta protein kináz aktivitásától.

A kortizol intracelluláris elérhetőségét -még a GR-hez történő kötődést megelőzően (prereceptorális szabályozás)- egy fontos további mechanizmus, a 11 β -hidroxiszteroid dehidrogenáz enzim 1-es típusa (HSD11B1) szabályozza (4).

Újabban számos adat utal arra, hogy a hagyományos szemlélettel ellentétben a kortizol nemcsak a sejthártyán át történő diffúzióval, hanem ún. karrier-mediált felvétellel is beléphet a sejtbe, vagy hatását a sejtmembránban elhelyezkedő membránreceptor közvetítésével is kifejtheti. Ily módon a glükokortikoidok hatása - szemben a klasszikus genomikus hatás-mechanizmussal - akár másodperceken belül is kialakulhat. A kortizol nem-klasszikus hatás-mechanizmusával kapcsolatos ismeretek további megerősítésre várnak (5).

2.3 Glükokortikoidok iránti fokozott érzékenység és rezisztencia

A mindennapos orvosi gyakorlat azt mutatja, hogy a glükokortikoidok iránti érzékenységet kifejezett egyéni variabilitás jellemzi. Ez a nagyfokú variabilitás megfigyelhető mind az exogen glükokortikoidok alkalmazásakor, mind az endogén Cushing-szindróma fenotípusos változatosságában. Az endogén Cushing-szindróma tünetei és szövődményei súlyosságának variabilitása messze kifejezettebb, mint azt a szérumban kortizol szintek, vagy akár a napi kortizol-szekréció mérésekor észlelhető variabilitás indokolná. Ez az inter-

individuális variabilitás jelenik meg a glükokortikoidok iránti fokozott érzékenység és rezisztencia fogalmában is. A glükokortikoidok iránti fokozott érzékenység ill. rezisztencia legtöbbször csak enyhe, és ilyenkor az észlelt eltérés az egészséges egyének fenotípusos variabilitása részének tekinthető. Esetenként több-kevesebb panaszt, esetleg élethossziglan tartó, de még nem feltétlenül betegségként értékelendő eltérést okoz (krónikus fáradtság szindróma). Súlyos esetekben a glükokortikoid rezisztencia öröklődő betegségként jelentkezik (familiaris glükokortikoid rezisztencia szindróma)(6, 7).

2.3.1 A glükokortikoidok iránti érzékenység vizsgálatának módszerei

A glükokortikoidok iránti érzékenység *in vitro* vizsgálatának leggyakrabban használt tesztsejtje a lymphocyt. A glükokortikoid hatást jellemezhetjük izotóppal jelzett timidin inkorporációjával, lymphoblast-tenyészethez adva a blasztos transzformáció mértékével, különböző citokinek termelésének kvantitatív kimutatásával, stb.

A legtöbbet használt *in vivo* módszer a dexamethason teszt, ami a hypophysis kortikotrop sejtjeinek érzékenységét használja ki. A dexamethason a hypophysis kortikotrop sejtjeinek glükokortikoid receptorához kötődve, genomikus úton, dózis-dependens módon gátolja az ACTH-szekréciót. Egészséges egyének tesztelésére legtöbbször 0,25-1,0 mg dózisú, éjfélkor adott dexamethasont alkalmaznak, ezt követően 8 óra múlva vérvétel történik kortizol meghatározás céljából. Az érzékenységet a 08:00 órás kortizol koncentrációval, vagy a kortizol koncentráció csökkenésével lehet jellemezni.

A glükokortikoidok iránti érzékenységbeli különbségek vizsgálatára szokás további, jóval kevésbé specifikus, de populációs vizsgálatokban mégiscsak informatívnak talált paramétereket vizsgálni. Az antropometriai vizsgálatok közül a testsúly, testmagasság, has- és csípőkörfog, szubkután zsírszövet vastagságának mérése, a laboratóriumi vizsgálatok közül metabolikus paraméterek, úgymint a különböző lipid-frakciók, a szérum glükóz, per os glükóz terhelés, inzulin meghatározása ill. HOMA-index számítása a legelterjedtebb (HOMA - homeostatic model assessment). A szervezet globális glükokortikoid-érzékenységén túlmenően jelentős eltérések lehetnek az egyes szervek ill. szövetek glükokortikoid érzékenységében, és ezeknek a különbségeknek a feltárásához egyszerre több paraméter vizsgálata szükséges. Bár a glükokortikoidok csontszöveti hatásaival kapcsolatos ismereteink az utóbbi 1-2 évtizedben jelentősen bővültek, a csontszövet egyéni érzékenységbeli különbözőségét meghatározó –esetlegesen szövet-specifikus- genetikai tényezőkről ma még összességében szegényesek az ismereteink.

Az 1. táblázatban Manenschijn közleményére alapozva mutatom be, hogy milyen klinikai megjelenésre számíthatunk a glükokortikoidok iránti fokozott érzékenység ill. rezisztencia enyhe, még nem feltétlenül betegségként értékelendő eseteiben (8).

1. táblázat

Glükokortikoidok iránti fokozott érzékenység és rezisztencia várható klinikai manifesztációi

	Glükokortikoid hiperszenzitivitás	Glükokortikoid rezisztencia
Központi idegrendszer	álmatlanság, depresszió, kognitív zavar, nyugtalanság	fáradékonyság, aluszékonyság, kognitív zavar
Máj	glükoneogenesis ↑, lipogenesis ↑ hiperglikémia, hiperlipidémia	hipoglikémia, diabetes mellitus hiánya
Zsírszövet	viszcerális zsír szövet ↑	alacsony testsúly, súlygyarapodási képtelenség
Érrendszer	hipertónia	hipotónia
Csontszövet	alacsonynövés, osteoporózis	magasabb BMD (?)
Gyulladás/immunitás	immun-szuppresszió, infekciókra való fokozott hajlam, tumor-hajlam ↑	autoimmun betegségek ↑, allergiás betegségek ↑

Manenschijn nyomán, módosítva (Manenschijn 2009)

2.4 A 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz

2.4.1 A 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz izoformái és működésük

A glükokortikoid aktivitás szöveti szintű szabályozását a 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz enzim (HSD11B) két izoenzimje biztosítja; az 1-es típusú, reduktáz aktivitással rendelkező HSD11B1 a hormonálisan inaktív kortizont hormonálisan aktív kortizollá alakítja át, míg a 2-es típusú izoenzim a HSD11B2 dehidrogenáz aktivitása révén a kortizol inaktiválását végzi (4, 9, 10) (1. ábra [12. oldal]).



1. ábra A 11β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz izoenzimek működése.

Az endoplazmás retikulumhoz való viszonya alapján a HSD11B1 enzim három részre osztható; egy rövid, öt aminosavból álló szakasz a citoszolban található, ezt követi a transzmembrán szakasz, az enzim katalitikus doménje pedig az endoplazmás retikulumban helyezkedik el (11). A mikroszómális hexóz-6-foszfát dehidrogenáz feladata a redukált nikotin-savamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADP) képzése, amely a szintén mikroszómális lokalizációjú HSD11B1 izoenzim működéséhez kofaktorként szolgál (4, 9) (2. ábra, [15. oldal]).

A HSD11B1 enzim expresszióját számos tényező szabályozza. Glükokortikoidok, C/EBP, PPAR γ és néhány proinflammatorikus citokin (TNF- α , IL-1 β) az enzim expresszióját növelik, míg a növekedési hormon az inzulinszerű növekedési faktor I közvetítésével, illetve a májban található aktivált X-receptor a HSD11B1 enzim expresszióját csökkenti (4).

A HSD11B1 enzim elsősorban a glükokortikoid célszövetekben expresszálódik; legnagyobb mennyiségben a májban, a gonádokban, a zsírsejtekben és az agyban figyelhető meg (4, 12), kimutatták az ép hypophysisben (13) és ACTH-termelő hypophysis adenomákban is (14, 15). A HSD11B izoenzimek közül a vesében először az 1-es típusú enzim jelenlétét írták le, melynek expressziója humán vizsgálatok szerint a vese velőállományára korlátozódik. A glükokortikoidok serkentik a sejt differenciációt és gátolják a sejtproliferációt, így részben daganatellenes hatásúak. A HSD11B1-et nagy mennyiségben expresszáló sejtek proliferációs aktivitása nagy általánosságban alacsonyabb, míg a HSD11B2 jelenléte esetén a proliferációs aktivitás fokozott (16).

2.4.2 Az 1-es típusú 11β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz enzim génjének szerkezete és variánsai

A humán *HSD11B1* gént Tannin és munkatársai klónozták és izolálták először 1991-ben (17). Az enzim génje az 1. kromoszóma (1q32.2-41) hosszú karján helyezkedik el; 6 exonból (182, 130, 111, 185, 143 és 617 bázispár), és a közöttük levő, nem kódoló intronikus (776, 767, 120, 25300 és 1700 bázispár) régiókból áll, hosszát 30 kilobázisra becsülik (4, 9). Az enzim promoterében számos transzkripciós faktor kötőhelyét azonosították, úgy, mint a

glükokortikoid érzékeny elem, hepatocytá nukleáris faktor 1, hepatocytá nukleáris faktor 3 és C/EBP kötőhelyeit (4).

Az USA National Center for Biotechnology Information központjának az interneten elérhető adatbázisa alapján a humán *HSD11B1* génen napjainkig 61 különböző polimorfizmust írtak le (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/snp>). A gén három leggyakrabban vizsgált polimorfizmusa a promóter régióban elhelyezkedő rs846910 (A/G) és rs846911 (A/C), illetve a 3. intronikus régióban található 83,557insA (-/A) (3. ábra, [15. oldal]).

Az rs846910-es variáns adenin/guanin szubsztitúciót eredményez, és az eddigi populációgenetikai vizsgálatok alapján inzulin rezisztenciára, 2-es típusú diabetes mellitusra, hipertóniára hajlamosít (18, 19). A promóter régióban található másik genetikai variáns az rs846911, amit kognitív megbetegedésekkel, Alzheimer-kórral hoztak összefüggésbe (20), bár mások az összefüggést nem tudták megerősíteni (21).

A *HSD11B1* gén napjainkig legtöbbet vizsgált genetikai variánsa a 3. intronikus régióban elhelyezkedő adenin inzerció, a 83,557insA (rs45487298). Ezt a variánst számos kórallappal kapcsolatban vizsgálták. Több vizsgálat utalt arra, hogy ennek a variánsnak funkcionális jelentősége lenne, azonban végleges vélemény egyelőre nem alakult ki (18, 22-28).

Saját publikációnkat megelőzően mindössze egy közleményben vizsgálták a *HSD11B1* gén variánsainak a csontsűrűséggel kapcsolatos összefüggéseit. Egy koreai munkacsoport azt találta, hogy posztmenopauzális oszteoporotikus betegeken a *HSD11B1* gén hat vizsgált polimorfizmusa közül kettő (rs1000283 és rs932335) jelenléte szignifikánsan csökkent a vertebrális törési rizikót (29).

A *HSD11B1* enzim aktivitásának jelentőségét igazolja az a két esetismertetés is, ahol ACTH-termelő hypophysis adenoma (30) ill. kortizol-termelő mellékvese adenoma (31) okozott laboratóriumilag súlyos hiperkortizolizmust, ennek ellenére a betegek fenotípusa nem utalt Cushing-szindrómára és hiperkortizolizmus egyéb, komolyabb következményét sem észlelték. Mindkét esetben a szérum és vizelet szteroid analízis *HSD11B1* enzim-defektusra utalt. *HSD11B1* genetikai vizsgálat egyik esetben sem történt.

2.5 A glükokortikoid receptor

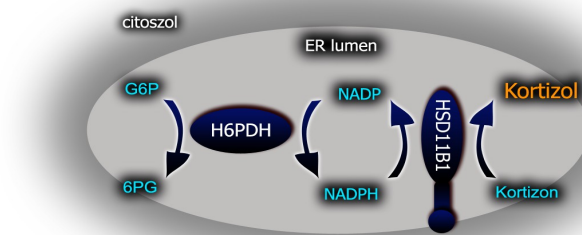
Az emberi szervezetben a GR többféle izoformája létezik, amelyek alternatív splicing útján képződnek. Közülük a GR α és GR β izoformák működéséről és klinikai jelentőségéről áll rendelkezésünkre a legtöbb irodalmi adat. Ezen izoformákban az 1-727 aminosav szakasz azonos, míg a 9-es exonnak megfelelő karboxi-terminális szakasz különböző (32, 33). A

GR β -hoz sem a fiziológiás, sem a szintetikus glükokortikoidok nem kötődnek. A GR α -GR β dimerben a GR β domináns negatív hatást fejt ki a GR α működésére (34-37). Gyulladásos állapotokban az IL-2, IL-4, IL-1, IL-8, illetve a TNF- α hatására a GR β fokozottan expresszálódik (32, 38, 39).

A *GR* génjét 1985-ben klónozták (40), a gén az 5. kromoszóma 5q31-es szakaszán helyezkedik el, 9 exonból áll, a fehérje kódoló rész a 2-es exonon kezdődik. A 2-es exon kódolja az első transzaktivációs domént, a 3-4. exonok a két cink-ujjat és a DNS kötő domén többi részét, az 5. exontól kezdődően pedig a ligandkötő domén található (41). A humán *GR* mRNS-ben legalább 3 különböző promótert írtak le (1A, 1B, 1C). Ligand nélküli, inaktív állapotban a GR a citoszolban helyezkedik el, heterooligomert képezve többféle fehérjével (hsp90, hsp70, hsp56, hsp40, immunophilin p59, calreticulin). A ligand kötődése után a GR leválik a hősokk-fehérjékről és homodimerként a sejtmagba vándorol. Itt transzkripciós faktorokkal, illetve a genom glükokortikoid-érzékeny elemeivel lép kölcsönhatásba és közvetlenül, vagy más faktorok kapcsolódását befolyásolva serkenti (transzaktiváció), vagy gátolja (transzrepresszió) a cél gének transzkripcióját (32). Glükokortikoid kezelés az összes gén mintegy 20%-ának átíródását módosítja (42). A *GR* gén polimorfizmusok eltérően befolyásolhatják a transzaktiváció ill. a transzrepresszió folyamatát (43).

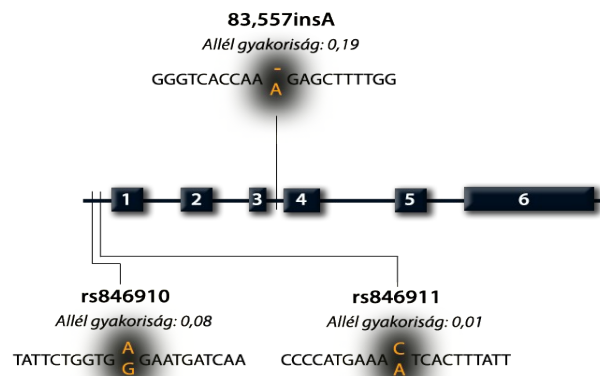
2.5.1 A glükokortikoid receptor genetikai variánsai

Irodalmi adatok szerint a *GR* génen napjainkig leírt 42 genetikai elváltozás közül elsősorban négy polimorfizmus hozható összefüggésbe a glükokortikoidok iránti egyéni érzékenység különbözőségével. Az ún. BclI-es (C>G) polimorfizmus a 2. és 3. exon között elhelyezkedő, fehérjét nem kódoló, intronikus régióban található. Az N363S és az ER22/23EK variánsok fehérjét kódoló szakaszon helyezkednek el, a 2. exonon. Az N363S (1220 A>G) polimorfizmus jelenléte aszparagin $\rightarrow$ szerin cserét eredményez, míg az ER22/23EK (198G>A és 200 G>A) variáns esetében a két együtt előforduló nukleotid-csere eredményez aminosav változást (glutamin $\rightarrow$ glutamin, arginin $\rightarrow$ lizin). A GR β splice variáns A3669G (A>G) polimorfizmusa a transzkripció szempontjából fontos intronikus régióban helyezkedik el (33) (4. ábra [15. oldal]).

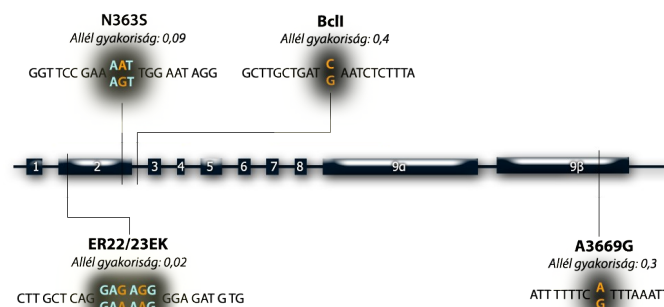


2. ábra Az 1-es típusú 11β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz enzim sejten belüli elhelyezkedése és működése.

H6PDH: hexóz-6-foszfát dehidrogenáz; HSD11B1: 1-es típusú 11β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz; ER: endoplazmatikus retikulum; G6P: glükóz-6-foszfát; 6PG: 6-foszfoglükonát; NADP: nikotinsavamid-adenin-dinukleotid-foszfát



3. ábra Az 1-es típusú 11β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz enzim génjének leggyakoribb polimorfizmusai és allél gyakoriságuk.



4. ábra A glükokortikoid receptor gén leggyakrabban vizsgált polimorfizmusai és allél-gyakoriságuk.

A BclI polimorfizmus (rs41423247) irodalmi adatok szerint a glükokortikoidok iránti fokozott érzékenységgel jár. Ennek molekuláris hatásmechanizmusát illetően az a legelfogadottabb feltételezés, hogy a *GR* gén transzkripciója során, a promóter régióra kifejtett hatásán keresztül befolyásolja a transzkripció folyamatát (44).

Az N363S polimorfizmus (rs56149945) in vivo és in vitro vizsgálatok alapján - a BclI-es polimorfizmushoz hasonlóan - a glükokortikoidok iránti érzékenységet fokozza. Kis adag dexamethason adását követően a plazma kortizol szint csökkenése szignifikánsan kifejezettebb az N363S polimorfizmust hordozó személyekben, mint a polimorfizmust nem hordozókban (44-46), bár egy vizsgálat ezt az összefüggést nem igazolta (47). Az N363S polimorfizmus társulását igazolták obezitással (48, 49) és koszorúér-betegséggel (50). Munkacsoportunk egy korábbi közleményében leírtuk, hogy az N363S polimorfizmus szerepet játszhat a kétoldali mellékvese-adenomák patogenézisében (51).

Ellentétben az előbbieken bemutatott két *GR* gén polimorfizmussal, az ER22/23EK genetikai variáns (rs6189-6190) a glükokortikoidok iránti érzékenységet csökkenti. A polimorfizmust hordozó egyénekben dexamethason adását követően kevésbé csökken a szérum kortizol koncentrációja (52, 53). Az ER22/23EK jelenléte kedvezőbb metabolikus állapotot eredményez (54), a polimorf allélt hordozó egészséges idős egyénekben alacsonyabb éhomi vércukor-, inzulin- és teljes koleszterin-szintet, valamint alacsonyabb LDL-koleszterin koncentrációt mutattak ki (44, 53).

A *GRβ* splice variánson található A3669G polimorfizmus (rs6198) a *GRβ* mRNS-t stabilizálja és *GRβ* fehérje mennyiségét növeli (38). Feltételezik, hogy a polimorfizmus jelenléte esetén - a *GRβ* fokozott expressziója miatt - a *GRα* transzkripcionális aktivitása, következményesen a glükokortikoidok iránti érzékenység csökken (55).

2.6 Véletlenszerűen felfedezett mellékvese daganatok

A véletlenszerűen felfedezett mellékvesedaganat (gyakran használt elnevezéssel: mellékvese incidentaloma) alatt olyan, 1 cm-nél nagyobb átmérőjű mellékvese daganatot értünk, amelyet nem mellékvese betegség gyanúja miatt kért képalkotó vizsgálat során fedeznek fel (56, 57). Ily módon a mellékvese incidentaloma, mint orvosi probléma a képalkotó vizsgálat

módszerek (ultrahang - UH, komputer tomográfia - CT, mágneses rezonancia vizsgálat - MRI) elterjedésével hozható összefüggésbe.

A napjainkban felfedezett mellékvese incidentalomákat 2-3 évtizeddel ezelőttig csak a kórboncolás tárta fel. A mellékvese daganatok prevalenciája természetesen nagymértékben függ a kritériumként használt daganat-átmérő nagyságától. Több, nagy esetszámot felölelő boncolási statisztika alapján megállapítható, hogy az első három évtizedben elhunytak boncolásakor a mellékvese daganat gyakorisága kevesebb, mint 1 %. A 4. évtizedtől a gyakoriság fokozatosan növekszik; a 70 évesnél idősebb elhunytak esetén – függően a méretbeli határvonaltól – 1,7-15,5 %, a nagy boncolási tanulmányok alapján átlagosan 6,9 % (58). Ezeknek az eseteknek a túlnyomó többségében azonban a klinikopatológiai elemzést éppen a részletes endokrinológiai kivizsgálás hiánya hátráltatta. A mellékvese incidentalomák gyakorisága függ még az alkalmazott képalkotó eljárástól, az adott készülék felbontóképességétől, rétegvizsgálat esetén a rétegvastagságtól és a rétegek egymástól való távolságától. Hasi CT vizsgálatok során a mellékvese incidentalomák gyakorisága a 20-29 év közötti egyéneknél 0,2%, a 70 év felettiekben 7% volt. Napjainkban ismerkedünk a pozitron emissziós tomográfias vizsgálatok során felfedezett mellékvese incidentalomákkal. A mellékvese incidentaloma gyakorisága függ a vizsgált betegcsoport betegség szerinti összetételétől is: az incidentalomák gyakorisága nagyobb, ha hipertóniás, és még nagyobb, ha korábban rosszindulatú daganatos betegségben szenvedők körében történik a hasi képalkotó vizsgálat.

2.6.1 A mellékvese incidentalomák klinikopatológiai háttere

Patológiai értelemben a mellékvese incidentaloma elnevezés nem szerencsés, hiszen a név nem utal a daganat hisztogenezisére, nem jelzi a daganat várható biológiai viselkedését. Bár az elnevezés daganatos betegséget sugall, a mellékvese incidentalomák körébe számos nem daganatos kórkép is (anatómiai variáció, fejlődési rendellenesség, gyulladásos megbetegedés, stb.) tartozik.

A mellékvese incidentalomák klinikai jelentősége két tényezővel írható le. Az első és talán legfontosabb, hogy a véletlenszerűen felfedezett mellékvese daganatok egy jelentős része több-kevesebb hormonális aktivitással rendelkezik, aminek igazolása esetén minden esetben mérlegelni kell a műtéti megoldás szükségességét. A második tényező az, hogy a felismert daganat - a korábban magát egészségesnek tudó egyének körében szerencsére csak nagyon ritkán - malignus lehet. A mellékvesekéreg karcinómák incidenciája 0,5-2,0/ millió/év, a malignus pheochromocytomák gyakorisága ennél is alacsonyabb. Amint azt az eddig elmondottak jelzik, a véletlenszerűen felfedezett mellékvesedaganatok klinikai jelentő-

ségének megítélése komplex belgyógyászati feladat, aminek számos endokrinológiai, urológiai, gasztroenterológiai, onkológiai és radiológiai vetülete van. A daganatos lézió valódi természetének megismeréséhez pedig sokszor még ma is elengedhetetlen a kórszövettani vizsgálat.

A mellékvesedaganat preoperatív megítélésében a rosszindulatúság mérlegelésekor a hagyományos patológiai kritériumok (inhomogenitás, nekrózis, környezettel való összekapaszkodás, invazív növekedésmód, áttétképződés, stb.) mellett jelentős szerepe van a daganat átmérőjének. 4 cm-nél kisebb daganatok esetében az adrenokortikális karcinóma valószínűsége 2%, 4-6 cm között 6%, 6 cm-nél nagyobb daganatok esetében pedig 25% (59-61).

2.6.2 A CRH-ACTH-kortizol tengely rendellenességei hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegeken

A hormonálisan inaktív mellékvese daganatokban –az ép mellékveséhez hasonlóan- a szteroid-bioszintézishez szükséges enzimek, továbbá a renin és az angiotenzinogén, valamint ezek messenger RNS-ei kimutathatók (62, 63). A hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegeken nagy gyakorisággal igazolható a 24 órás integrált szérum kortizol koncentráció növekedése, a szérum kortizol egészséges egyénekben észlelhető cirkadián ingadozásának mérséklődése (64), a 24 órás vizelet-kortizol ürítés emelkedése (65), a szérum kortizol dexamethasonnal történő szupprimálhatóságának mérséklődése (64-66), a bazális plazma ACTH-szint csökkenése és a CRH adása utáni plazma ACTH-emelkedés mérséklődése (64, 66).

1994-ben ismertették először és azóta több más munkacsoport is megerősítette, hogy a hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegeken dehidroepiandrosteron-szulfát (DHEAS) koncentrációja alacsony (64). A keringő DHEAS koncentrációjának alacsony voltát először Cushing-szindrómás betegeken írták le (67). 1991-ben közölték, hogy kortizol-termelő mellékvese daganat eltávolítását követően 15 hónapig is szupprimált maradt a DHEAS (68). Az 1990-es években számos munkacsoport igazolta, hogy az alacsony DHEAS hormonálisan inaktív mellékvese adenomás betegekre is jellemző (64, 65, 69). A jelenség oka egyértelműen még ma sem tisztázott; legtöbbször a daganat enyhe kortizol-túlermelése miatt kialakuló ACTH-szuppresszióval magyarázzák (61), míg mások specifikus, a DHEAS termelődését szabályozó POMC fragmens kóroki szerepének lehetőségét vetették fel (70). Mások azt feltételezték, hogy ezekben a mellékvese tumoros betegeken kongenitális vagy

szerzett enzimzavar - pl. 17,20 liáz defektus (71), dehidroepiandroszteron szulfotranszferáz defektus (72) - áll fenn, ami hajlamosítana a mellékvesekéreg tumor kialakulására.

A mellékvesében zajló kortizol- és a DHEA-/DHEAS-szintézis arányainak egymástól való nagymértékű eltérése (kortizol-DHEAS disszociáció) nemcsak patológiás állapotokban fordul elő, ezt észleljük pl. az adrenarche során is (73, 74).

2.6.3 Hormonálisan inaktív adrenokortikális daganatos betegek követéses vizsgálatai

A többnyire incidentálisan felfedezett, hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenomás, nem operált betegek eddig publikált követéses vizsgálataiban rendszerint a következő két fontos tényezőt vizsgálták: 1.) a követés során milyen gyakorisággal változik a daganat mérete, 2.) a követés során változik-e a daganat hormonális aktivitása.

Ad 1.) Egy 690 beteget felölelő, átlagosan 3 éves követés során a daganat átmérőjének 1 cm-nél nagyobb növekedését a betegek 8%-ában, csökkenését 7%-ában észlelték (75). Egy hasonló felépítésű, 115 betegre terjedő, átlagosan 4 éves követési idejű olasz vizsgálatban 0,5 cm-nél nagyobb daganat-átmérő növekedést a betegek 9%-ában, csökkenést a betegek 3%-ában észlelték (76). Egy svéd vizsgálatban (229 beteg, átlagosan 2 év követés) az 5 mm-nél nagyobb növekedés gyakorisága 7%, a csökkenés 5% (77). Ezen –nem hosszú- követéses vizsgálatok egyikében sem észlelték a mellékvese daganat malignus transzformációját (75, 78).

Ad 2.) Hormonálisan inaktív, nem-operált mellékvesekéreg daganatok hormonális aktivitásának a betegkövetés során bekövetkező változásáról még csak kevés és közepesnél (3-5 év) nem hosszabb távú adattal rendelkezünk (78, 79). Ezen betegek esetében -ha egyáltalán van változás a betegkövetés alatt- általában a kortizol-szekréció változik, mégpedig az i) inaktív adenoma – ii) szubklinikai Cushing-szindróma – iii) manifest Cushing-szindróma skálán egy fokozatnyi elmozdulás következhet be, mindkét irányba. A kortizol-szekrécióban bekövetkező változás gyakorisága a betegkövetés első három évében 4-12% (75), vagy még ennél is ritkább (80).

2.7 Az endogén Cushing-szindróma

Az endogén Cushing-szindróma kifejezetten ritka megbetegedés. Populációs gyakoriságáról kevés adat áll rendelkezésre, ezek alapján incidenciája 2,5/millió/évre becsülhető.

Az endogén hiperkortizolizmusnak három fő csoportját különítjük el. ACTH-túltermelés miatti szekunder hiperkortizolizmus áll fenn (1) ACTH-termelő hypophysis

adenoma és (2) ektópiás Cushing-szindróma esetén. A (3) mellékvese eredetű primer hiperkortizolizmusban (adrenális Cushing-szindróma) az ACTH szupprimált (81-84).

A Cushing-szindróma klinikai tüneteinek leírása Harvey Cushing amerikai idegsebész nevéhez fűződik (85). Cushing megfigyelése szerint a szindróma legfontosabb összetevői az elhízás, a diabetes mellitus, a hirsutismus és a mellékvesekéreg hiperplázia. Cushing azt is megállapította, hogy ezeknek a betegeknek a legnagyobb részében a hypophysisben basophil adenoma található. A múlt század '30-as éveiben ismertették először a hasonló klinikai tüneteket okozó, és adrenalectomiával gyógyítható, mellékvesekéreg daganat okozta primer adrenális hiperkortizolizmust. Harvey Cushing emlékére nevezzük ma Cushing-kórnak a hypophysis ACTH-termelő adenomája okozta betegséget, illetve Cushing-szindrómának a bármely eredetű endogén glükokortikoid-túlermelés, továbbá az exogén glükokortikoid túlادagolás okozta tünetegyüttest.

2.7.1 Cushing-kór

Az endogén Cushing-szindróma hátterében álló leggyakoribb betegség a Cushing-kór, incidenciája 1,2-2,4/millió/év (86, 87). A műtetre kerülő hypophysis tumoros betegek mintegy 10%-a Cushing-kóros. ACTH-termelő hypophysis adenoma bármely életkorban kialakulhat, legtöbbször a 3-5. életévtizedben jelentkezik. Gyermekkorban, különösen a pubertás előtt kifejezetten ritka. A pubertást követően minden életkorban jóval gyakoribb nőkben, mint férfiakban, a nő/férfi arány 5-8/1 (88).

Az ACTH-termelő hypophysis adenomák típusosan mikroadenomák, makroadenoma az esetek 5-10%-ában fordul elő. Korábban nagy jelentőséget tulajdonítottunk a daganat haematoxylin-eosin festődési sajátosságainak: az ACTH-termelő daganatok többnyire basophilek, ritkán chromophobok, és rendszerint PAS-pozitívak (89). Immunhisztokémiai vizsgálattal az ACTH-n kívül beta-lipotropin és beta-endorphin mutatható ki.

A szokásostól eltérő biológiai viselkedése miatt érdemel említést az ACTH-termelő hypophysis adenomák egyik alcsoportja, az ún. silent kortikotropinoma (90, 91). Ezek a daganatok rendszerint makroadenomák, festődésük alapján lehetnek chromophobok vagy basophilek, immunhisztokémiaileg pedig definíciószerűen ACTH-pozitívak. Az ACTH-termelő hypophysis adenomákat általánosságban jellemző női túlsúllyal szemben a silent kortikotropinomát a 2:1 férfi:nő arány jellemzi. Ezek a daganatok gyakran invazívak, gyakori bennük a nekrozis és a bevérzés (92).

A kortikotropinomákat jellemző, dexamethasonnal szembeni csökkent válaszkészség hátterében feltételezett glükokortikoid rezisztencia molekuláris háttere tisztázatlan. A glüko-

kortikoid receptor gén eltérései mellett a HSD11B2 fokozott aktivitására utaló adatok is vannak (13).

Az ACTH-termelő hypophysis adenoma klinikai diagnózisával hypophysis műtétre kerülő betegek 1-10%-ában a szövettani vizsgálat során adenomát nem, csak a kortikotrop sejtek hiperpláziáját észlelik. Az ilyen esetek hátterében a kórlefolyás során alkalmanként neuroendokrin daganat kerül felismerésre, és - a rendelkezésre álló laboratóriumi módszerektől függően- a daganat ektópiás CRH vagy vazopresszin termelése bizonyítható vagy legalábbis feltételezhető. Ezen betegek dinamikus hormonvizsgálatai során gyakran Cushing-kórra utaló eredményeket kapunk.

A hypothalamikus CRH-túltermelés rendkívül ritka, hypothalamikus hamartoma, gangliocytoma tumor okozhatja.

2.7.2 Adrenális Cushing-szindróma

Az endogén Cushing-szindrómás eseteknek kisebb részét képezik az ACTH-independens formák, amelyek felnőttkorban az esetek mintegy 15%-át, gyermekkorban az összes eset közel felét teszik ki.

Újabb adatok szerint a Cushing-szindróma gyakoribb, mint azt korábban gondoltuk. Ennek egyik magyarázata az, hogy az incidentálisan felfedezett mellékvese és hypophysis daganatos betegek számának ugrás-szerű növekedésével, ezeknek a betegeknek az endokrinológiai kivizsgálása során egyre több olyan egyént azonosítunk, akik a hiperkortizolizmus mértéke szerinti igen széles skála klinikailag enyhe eseteit képviselik. Újabb vizsgálatok szerint 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő betegek akár 2-5%-ában is igazolható az endogén hiperkortizolizmusnak valamilyen, többnyire adrenális formája (88, 93).

A mellékvesekéreg adenomák és karcinomák monoklonális sejtprolifерációk, amelyek kialakulásához -minden bizonnyal több lépcsőben bekövetkező- multifaktoriális események láncolata vezet. A kortizol-termelő daganatokban kimutatott genetikai eltérések mai ismereteink szerint nem különböznek a hormontermeléssel nem járó mellékvesekéreg daganatokban kimutatott eltérésektől. A kortizol-termelő daganatok jelentős része ACTH adására kifejezett kortizol- és egyéb szteroid-hormon termeléssel reagál, ugyanis a daganatok jelentős részében a daganatsejtek felszínén expresszálódik az ACTH-receptor. E daganatok keletkezésében egyéb POMC-eredetű peptideknek, és számos növekedési faktornak is jelentőséget tulajdonítunk (bázikus fibroblaszt növekedési faktor, inzulin-szerű növekedési faktor 2, transzformáló növekedési faktor α és β). A normális mellékvesekéreg sejtekhez

hasonlóan a szteroid-termelő daganatok is expresszálnak glükokortikoid receptort, aminek élettani és kórélettani jelentőségét ma még nem ismerjük, minden esetre ez a tény alapul szolgál arra, hogy a szteroid termelő daganatokban egy ún. ultrarövid szabályozási mechanizmus léteivel számoljunk.

Az utóbbi évtizedben a *mellékvesekéreg hiperpláziák* talaján kialakuló Cushing-szindróma patogenezését illetően ugrásszerűen gyarapodtak az ismereteink (94, 95). Ezekben a betegségekben a mai ismereteink szerint a hormonreceptor - stimuláló G-fehérje – adenilcikláz - proteinkináz rendszer valamelyik pontja mindig sérült, mégpedig oly módon, hogy az a rendszernek nem-fiziológiás, ACTH-independens stimulációját okozza.

2.7.3 Ektópiás Cushing-szindróma

Az ektópiás Cushing-szindrómát okozó daganatok nagy része nemcsak ACTH-t, hanem egyidejűleg CRH-t is termel, ezért a szindrómát ektópiás ACTH/CRH-szindrómának is nevezhetjük. Az ektópiás Cushing-szindróma felnőttkorban a Cushing-szindróma 10-20%-át képezi, gyermekkorban csak kivételesen fordul elő. A betegség diagnosztikájának, differenciáldiagnosztikájának és kezelésének legfontosabb elemeit, évtizedek alatt gyűjtött tapasztalatokat a közelmúltban két vezető endokrinológiai intézmény is összegezte (National Institute of Health, Bethesda, Szent Bertalan kórház, London) (96, 97).

2.7.4 A Cushing-szindróma klinikai tünetei és szövődményei

A súlyos Cushing-kór okozta tünetegyüttes felismerése általában nem okoz nehézséget (98). A betegek rendszerint jelentős testsúly-gyarapodást észlelnek, a szubkután zsírszövet megfogyatkozik, a vizszerális zsírszövet felszaporodik, gyakran széles alapú livid striák jelennek meg. A Cushing-szindrómára leginkább specifikusak azok a tünetek és panaszok, amelyek a kortizol katabolikus, negatív nitrogén-egyensúlyt eredményező anyagcsere hatásával hozhatók összefüggésbe. Ezek közé tartozik a bőr kifejezett atrófiája, sérülékenysége és vérzékenysége, a kifejezett proximális myopathia és az oszteoporózis. A sebgyógyulás gyakran elhúzódó. A DEXA-val mérhető ásványianyag-tartalom csökkenés mértékéhez viszonyítva is jóval gyakoribbak a csonttörések. A jellegzetes töréstípusok: csigolyatörés, bordatörés, csípőtáji törés.

A Cushing-kóros betegek mintegy 80%-ában jelentkező magasvérnyomás kialakulásában szerepet játszik a kortizol intrinsic mineralokortikoid aktivitása, a renális tubulushámsejtek HSD11B2 enzimkapacitásának kimerülése, fokozódik a máj angiotenzinogén termelése, növekszik a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer aktivitása

(99). Fokozódik a szív- és érrendszernek a vazokonstriktorok, a béta-adrenerg receptoroknak a katekolaminok iránti érzékenysége, valamint megemelkedik a szérum endothelin-1 koncentrációja. Csökken a vazodilatátor rendszer aktivitása, inzulin-rezisztencia alakul ki. Mindezek következménye a teljes perifériás ellenállás fokozódása. Végül, de nem utolsósorban a Cushing-szindrómában kialakuló hipertónia egyik nagyon fontos patogenetikai tényezője az alvási apnoe szindróma.

Az endogén Cushing-szindrómás betegekben kialakuló diabetes mellitus ill. csökkent glükóztolerancia prevalenciájáról meglepően kevés adatunk van. Négy tanulmány alapján a diabetes mellitus prevalenciája 35-50%-ra, a csökkent glükóztolerancia prevalenciája 10-30%-ra tehető (100). Két tanulmányban a hiperkortizolémia ill. a vizelettel történő 24-órás kortizol ürítés korrelált az inzulin-rezisztencia mértékével, a másik két vizsgálatban ezt nem tudták megerősíteni (100). Bár a glükokortikoidok komplex módon, közvetlenül is károsítják a pankreasz béta-sejtjeinek működését (101), a Cushing-szindrómát kísérő diabetes mellitus patogenezisében elsődlegesnek az inzulin-rezisztenciát tartják (100, 101).

A nőbetegek többsége fokozott szőrnövekedést, a menstruációs ciklus felborulását, többnyire raro- ill. amenorrhoea kialakulását panaszolja. Mind férfiaknál, mind nőknél gyakori a libido csökkenése és az infertilitás. Megváltozik a hangulati/érzelmi élet, a betegeknek akár 50%-ánál uni-, 30%-ánál bipoláris depresszió diagnosztizálható. A hangulati élet megváltozása rendszerint intermittálóan jelentkezik, mániás fázissal ritkán találkozunk. A gyermekkorban jelentkező Cushing-kórnak gyakran vezető tünete a növekedési elmaradás, a pubertas lassulása vagy elmaradása.

Kortizol-termelő mellékvesekéreg daganat esetén a hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely szupprimált, az ellenoldali mellékvese atrófiás. ACTH-termelő hypophysis adenoma esetében a nem-daganatos hypophysis kortikotrop sejtjei szupprimáltak. A kortizol-termelő mellékvese adenoma ill. az ACTH-termelő hypophysis adenoma eltávolítását követően a betegek heteken-hónapokon át, kivételesen akár 1 évnél is hosszabb ideig hipadréniásak, és ezért az Addison-kóros betegekhez hasonló dózisban glükokortikoid pótlást, interkurrens betegség esetén glükokortikoid dózis-emelést igényelnek. Kétoldali adrenalektomiát követően természetesen életfogytiglani glükokortikoid és mineralokortikoid pótlás szükséges.

2.7.5 A szubklinikai Cushing-szindróma helye a glükokortikoid túltermelés spektrumában

A hiperkortizolizmusra vezető, többnyire daganatos betegségek –induljanak ki azok a hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely bármely pontjáról vagy okozzanak megbetege-

dést ektópiás hormontermelés révén- a kortizol-túltermelés mértéke szerint folytonosságot képeznek. A spektrum egyik végén a súlyos klinikai tünetek formájában jelentkező, elsőként Harvey Cushing által leírt klasszikus Cushing-szindróma, a másik végén pedig a hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenoma áll. Az 1980-as évek elejétől fokozatosan vált elfogadottá a ma többnyire szubklinikai Cushing-szindróma elnevezéssel illetett fogalom (szinonimái: preklinikai Cushing-szindróma, silent Cushing-szindróma, pre-Cushing-szindróma) (102-104). A szubklinikai Cushing-szindróma fogalmát ma legtöbbször a mellékvese daganatokkal kapcsolatban használjuk. A legelfogadottabb definíció szerint szubklinikai Cushing-szindrómáról akkor beszélünk, ha a hormonvizsgálatok autonóm kortizol-túltermelést jeleznek, de a Cushing-szindróma klasszikus klinikai tünetei, szövődményei nincsenek jelen. A definícióban tehát a hormonvizsgálatok eredményei mellett a klinikai kép megítélése is komoly szereppel bír. A definíció a klinikai kép esetenként szubjektív megítélése mellett azért is pontatlan, mert a kortizol-túltermelés, valamint a túltermelés autonómiájának a hormonális kritériumai nem egységesek.

A hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenomától való elkülönítés céljából a legtöbb szerző a szubklinikai Cushing-szindróma elengedhetetlen feltételének tartja a szérumban kortizol kis dózisú dexamethasonnal nem szupprimálható voltát. A kis dózisú dexamethason adása utáni szérumban kortizol koncentráció elvágási határában azonban messze nincs konszenzus, leggyakrabban az 1,8 µg/dl (80), a 3,0 µg/dl (105) és az 5,0 µg/dl (61) elvágási határokat használják. Mellékvese daganatos betegek esetében egyes szerzők –a kis dózisú dexamethason teszt szenzitivitásának és specificitásának fokozása céljából- a rövid kis dózisú dexamethason teszt során 1 mg helyett 2 vagy 3 mg dexamethason alkalmazását javasolják. Emellett további 1-3, a glükokortikoid szekréció rendellenességét jelző hormonális rendellenesség kimutathatóságát követelik meg – függően a rendelkezésre álló hormonmeghatározási lehetőségektől (pl. emelkedett éjszakai szérumban kortizol, emelkedett 24-órás vizelet kortizol-ürítés, szupprimált plazma ACTH, alacsony szérumban DHEAS, CRH-val nem stimulálható plazma ACTH, stb.) (106).

A kortizol-túltermelés azonban nemcsak a mellékvese primer megbetegedéseiben képez folytonos spektrumot, hanem a hypophysis ACTH-termelő adenomái esetében is. Ennek jellemző példája a napjainkban általában silent kortikotropinoma néven említett kórforma.

2.7.6 Ateroszklerotikus kockázat és mortalitás endogén Cushing-szindrómában

A Cushing-szindróma az életkilátásokat komolyan veszélyeztető endokrin betegség. Harvey Cushing feljegyzései szerint a kezeletlen Cushing-kóros betegek átlagos túlélési ideje a diagnózis megállapítását követően 4,7 év volt (107). Plotz 1952-ben a kezeletlen Cushing-kóros betegek 5 éves túlélését 50%-osnak találta (108). A betegséggel járó mortalitás növekedés (standard mortalitási ráta: 3,68-3,80) elsősorban a hipertónia és a diabetes mellitus következményeként kialakuló kardio- és cerebrovaszkuláris szövődményekkel magyarázható (81, 82, 86, 87). A Cushing-szindróma eredményes gyógyítása esetén a betegség számos –az ateroszklerotikus kockázatot alapvetően befolyásoló– metabolikus szövődménye javul vagy megszűnik, aminek alapján a hosszútávú morbiditás és mortalitás csökkenése lenne várható. Colao és mtsai azonban azt igazolták, hogy a Cushing-szindróma eredményes gyógyítását követően 5 év múlva is fokozott az egykor Cushing-szindrómás betegek csaknem minden vizsgált ateroszklerotikus kockázati tényezője (BMI, derék- csípőkörfogát arány, szisztolés és diasztolés vérnyomás, teljes koleszterin, valamint LDL- és HDL-koleszterin, trigliceridek, fibrinogén, lipoprotein(a), vércukor és cukorterheléssel stimulált inzulin-válasz, Dopplerrel vizsgált carotis intima-media vastagság, az ateroszklerotikus plakkok száma, nagysága és vastagsága) (109). Mindez azt jelenti, hogy a glükokortikoid túltermelés –még akkor is, ha a műtéti megoldás a betegség definitív gyógyulását eredményezi– hosszútávon is növeli a mortalitást (110), ami néhány ateroszklerotikus rizikó-tényező (reziduális abdominális obezitás, inzulin-rezisztencia) perzisztálásával magyarázható (109, 122). A hiperkortizolizmus kardiovaszkuláris kockázatának pontos felmérése csak hosszú távú (akár >30 év) követéses betegvizsgálattal lenne lehetséges (111).

Az elmúlt 15-20 évben számos munkacsoport vizsgálta és igazolta, hogy az incidentálisan felfedezett mellékvese adenomás betegekben az átlagnépességhez képest jóval gyakoribb a hipertónia, a csökkent glükóztolerancia és diabetes mellitus, a hiperlipidémia és obezitás (104, 113-119), mind a végső értékelés szerinti nem-funkcionáló, mindpedig a szubklinikai Cushing-szindrómás (104, 114, 120) betegcsoportban. Az aterogén lipid-profil mellett a gyulladásos markerek ill. citokinek (pl. interleukin-8, osteoprotegerin) eltérései is az aterogenezis fokozódása irányában hatnak (121) és ezek az eltérések a Cushing-szindróma gyógyulása után is hosszú éveken át fennmaradhatnak (122).

A szubklinikai hiperkortizolizmus megszüntetése esetén számos metabolikus eltérés kedvező irányban változik (117, 123), bár mások ezt nem tudták megerősíteni (80). Kemény végpontú vizsgálatok hiányában azonban nem ismert, hogy a mellékvese adenoma eltávolítása

után bekövetkező kedvező irányú metabolikus változások csökkentik-e a közép- és hosszútávú ateroszklerotikus szövődmények gyakoriságát.

2.7.7 A Cushing-szindróma laboratóriumi diagnosztikája

A Cushing-szindróma kórismézésének első lépése mindig a hiperkortizolizmus igazolása, aminek alapja a szérumból, vizeletből, nyálból történő kortizol meghatározás (124).

2.7.7.1 Szérum kortizol meghatározás, cirkadián ritmus

A plazma kortizol vizsgálata során tapasztalt leggyakoribb eltérés a napszaki kortizol ritmus megszűnése és a plazma kortizol dexamethasonnal történő szupprimálhatóságának hiánya. Nagy valószínűséggel kizárható az endogén hiperkortizolizmus, ha az éjszaka 23-24 óra között, alvás alatt vett vérmintában a plazma kortizol koncentrációja $< 1,8 \mu\text{g/dl}$ ($< 50 \text{ nmol/l}$) (125). Nagy a valószínűsége az endogén hiperkortizolizmusnak, ha az éjfélkor vett vérmintában a plazma kortizol koncentrációja $> 8,3 \mu\text{g/dl}$ ($> 230 \text{ nmol/l}$).

A plazma kortizol meghatározás legnagyobb hátránya, hogy a meghatározás során nem tudjuk elkülöníteni a biológiai aktivitást meghatározó szabad kortizoltól a szállítófehérjéhez kötött, és így közvetlen biológiai aktivitással nem rendelkező kortizolt. A CBG kortizol-kötő kapacitása átlagosan $20 \mu\text{g/dl}$ (550 nmol/l) szérum kortizol koncentrációnál merül ki, ennél magasabb kortizol koncentrációk esetén a szabad kortizol koncentrációja és a vizelettel ürülő kortizol mennyisége ugrásszerűen emelkedik.

2.7.7.2 Kis dózisú dexamethason szuppressziós teszt

A dexamethason az egyik leghatékonyabb szintetikus glükokortikoid, így –egészséges egyéneken- a dexamethason kis mennyiségével is maximális kortizol szuppresszió váltható ki. A tesztnek két formáját is alkalmazzuk. Az ún. rövid teszt során 23-24 óra között 1 mg dexamethasont kap szájon át a beteg, és másnap reggel 8-9 óra között történik a vérvétel. A hosszú teszt kezdetén reggel 8 órakor vérvétel történik a kiindulási kortizol koncentráció meghatározására, déli 12 órakor, és azt követően 6 óránként $0,5 \text{ mg}$ dexamethasont kap szájon át a beteg, összesen 8 alkalommal. Az utolsó adag bevitelét követően 2 óra múlva vérvétel történik kortizol meghatározásra. Mind a rövid, mind pedig a hosszú teszt során az $1,8 \mu\text{g/dl}$ (50 nmol/l) szérum kortizol koncentrációt használjuk elvághási határként (125). Az ennél alacsonyabb értékek esetén hiperkortizolizmus fennállása igen valószínűtlen.

Mind a rövid, mindpedig a hosszú dexamethason-tesztnek vannak előnyei és hátrányai. A kis dózisú dexamethason-teszt előnye az egyszerű kivitelezhetőség. Az 1,8 µg/dl elvágási határt alkalmazva a teszt szenzitivitása jó (98%, azaz csaknem minden beteget detektál), ezen elvágási határnál azonban a specificitás már nem megfelelő, a beteganyagtól függően akár 70%-os lehet. A hosszú dexamethason-teszt jól együttműködő beteget feltételez, elvégzése nehézkes, de specificitása jelentősen meghaladja a rövid dexamethason teszt specificitását.

2.7.7.3 Vizelet kortizol ürítés és nyál kortizol meghatározás

A vizelet és a nyál kortizol koncentrációja egyaránt arányos a plazmában keringő szabad kortizol koncentrációjával, ezért a plazma össz-kortizol koncentrációjánál sokkal érzékenyebben tükrözik a biológiailag aktív kortizol koncentrációt. A nyálmirigyekben a kortizol –lipid-oldékonyságánál fogva- szabadon és gyorsan diffundál az acináris sejteken keresztül, ezért a nyál kortizol néhány perc alatt equilibriumba kerül a plazma szabad kortizol frakciójával, és így koncentrációja nem függ a nyáltermelés ütemétől. A nyál kortizol a szérum kortizol biológiailag aktív, szabad frakciójának pillanatnyi koncentrációját tükrözi (126).

Cushing-szindrómára gyanús betegek kivizsgálása során gyakori, hogy a vizelettel történő napi kortizol-ürítés meghaladja a referencia-tartomány felső határát. Ezeknek a betegeknek jelentős része a további vizsgálatok során egészségesnek vagy esetleg pseudo-Cushing-szindrómában szenvedőnek bizonyul. A referencia tartomány felső határa négyszeresénél magasabb kortizol-ürítés azonban már legtöbbször valódi Cushing-szindrómára utal. A napi kortizol-ürítés ingadozása miatt előfordul, hogy Cushing-kóros betekben normális vizelet kortizol-ürítést mérünk, emiatt a Cushing-szindróma fennállása csak akkor zárható ki, ha a napi vizelet kortizol-ürítés három alkalommal is normális. A kortizol-ürítés függ a vesefunkciótól is; 60 ml/min alatti glomeruláris filtrációs ráta esetén a kortizol-ürítés jelentősen csökken, ilyen esetekben ál-negatív eredményt kaphatunk (127).

Míg a korábban használatos laboratóriumi módszerekkel a vizeletben ürülő kortizol metabolitokat határoztuk meg, napjainkban legtöbbször antitest-alapú, direkt kortizol meghatározás történik (127). Számos egyéb módszer is használható, legpontosabbnak a magasnyomású folyadék-kromatográfiát és a tömeg-spektrográfias módszereket tartják (126). A közölt tanulmányokban -még látszólag azonos laboratóriumi módszer esetén is- nagyok a különbségek a nyál kortizol meghatározás szenzitivitásában és specificitásában (128, 129, 130, 131, 132). Új assay bevezetésekor, minden laboratóriumnak feltétlenül javasolt a saját

referencia tartományt meghatározni, a diagnosztikus teljesítőképesség legfontosabb paramétereit (szenzitivitás, specificitás) megállapítani. Az éjszakai nyál kortizol meghatározás diagnosztikus értékét vizsgáló, 11 különböző assay-ben az elvágási határt 0,08-0,55 µg/dl, a vizsgálat szenzitivitását 88-100%, specificitását 71-100%-nak találták (133). A vizsgálat teljesítőképességét a referencia-tartomány meghatározását szolgáló kontroll csoport összetétele is befolyásolja. Számos - a nyál kortizol meghatározást értékelő - tanulmányban a kontroll csoportot a mindennapi endokrinológiai praxis betegei (obezitás, diabetes mellitus, hirsutismus, hipertónia, stb) helyett egészséges önkéntesek képezték (126, 134, 135).

A nyálból történő kortizol meghatározás előnye a szérumból történő meghatározással szemben az egyszerű kivitelezhetősége, hiszen a mintavételhez nem szükséges egészségügyi személyzet közreműködése. Egy 2008-ban publikált összefoglaló szerzői 11 olyan, a Cushing-szindróma diagnosztikáját tanulmányozó közleményt találtak, amelyek elegendő adatot tartalmaztak az éjszakai nyál kortizol meghatározás szenzitivitásának és specificitásának megállapításához (126) Az eddigi vizsgálatok szerint a nyál kortizol meghatározásnak akkor a legnagyobb a diagnosztikus értéke, ha azt az éjszakai órákban gyűjtik. Ekkor mind a szenzitivitás, mind pedig a specificitás 92-100% közötti (125). Rendszerint elegendő a nyálat 1-2 percen át gyűjteni, a nyál-minta kortizol-koncentrációja 0-4 C-on történő tárolás mellett egy héten át sem csökken, ill. a minta -20 C-ra fagyasztva még hosszabb ideig tárolható.

Amennyiben a laboratóriumi vizsgálatok egyértelműen alátámasztották a hiperkortizolizmus diagnózisát, a következő lépés az ACTH-függőség vizsgálata, majd ennek eredményétől függően képalkotó vizsgálatok végzése. Ez utóbbi lépések azonban nem tartoznak az értekezés témakörébe, ezért ezeket nem részletezem.

2.8 Glükokortikoid-indukált osteoporózis

A Cushing-szindróma első leírása óta ismert, hogy a betegséggel súlyos csontrendszeri tünetek, csonttörések társulhatnak. A tartós glükokortikoid túlsúly okozta csontbetegség a metabolikus osteopátiák közé tartozik, és a kórképet leggyakrabban glükokortikoid-indukált osteoporózisnak nevezzük. A glükokortikoid-indukált osteoporózisról származó ismereteink túlnyomó része azonban mind a mai napig az exogén glükokortikoidok alkalmazásának mellékhatásaként kialakuló csontbetegségekre vonatkoznak. A glükokortikoidok anti-inflammatorikus, immunszuppresszív hatásának felhasználása számos kórkép kezelésében nélkülözhetetlen, és glükokortikoidok tartós adására kényszerülünk a daganatos megbetegedések jelentős hányadának kezelése során is. A glükokortikoidok széleskörű

terápiás alkalmazásának "mellékterméke" többek között az, hogy a glükokortikoid-indukált oszteoporózis ma a szekunder oszteoporózis leggyakoribb oka.

Egy mára már klasszikusnak számító, 1995-ben Nagy-Britanniában készült populációs szintű tanulmány szerint egy adott időpontban a lakosság 0,5%-a, az 55 év feletti egyének 1,4%-a részesült glükokortikoid kezelésben (136). A glükokortikoid kezelés átlagosan 3 éven át tartott, a betegek 97%-a prednizolont kapott, az átlagos napi dózis 8 mg volt. A kezelést indokló 3 leggyakoribb alapbetegség a rheumatoid arthritis (23%), a polymyalgia rheumatica (22%) és az asthma bronchiale (19%) volt, amelyeket az egyéb autoimmun és daganatos ill. hematológiai betegségek hosszú sora követett. A glükokortikoid-kezelés gyakorisága a 80. életévig az életkorral fokozatosan növekszik, nők körében mintegy kétszer gyakoribb, mint férfiaknál. A glükokortikoid-kezelés 3. hónapjától már kimutatható mind a vertebrális, mind a nem-vertebrális csonttörések növekedése, ami napi 20 mg prednizolon-ekvivalens dózis felett ugrásszerűen növekedett. Mintegy 2 évtizeddel ezelőttig a napi 7,5 mg prednizolon-ekvivalens adagot tekintettük oszteoporogénnek, a legújabb epidemiológiai adatok szerint tartós kezelés esetén már napi 2,5 mg prednizolon is növeli a csonttraktus kialakulásának esélyét és a csonttörések gyakoriságát (137).

2.8.1 A glükokortikoid-indukált oszteoporózis kialakulásának patomechanizmusa

A glükokortikoid-indukált oszteoporózis patogenezisében az 1990-es évek elejéig a hipogonadizmus kialakulását tekintették döntő tényezőnek, mind nőkben, mind férfiakban. Glükokortikoiddal kezelt betegekben - a glükokortikoidok közvetlen hypothalamicus/hypophyseális hatásának eredményeként - hipogonadotrop hipogonadizmus alakul ki, férfiakban alacsony össz- és szabad tesztoszteron-, nőkben alacsonyabb ösztadiol szintek mérhetőek. Az ACTH szuppressziójának következtében csökken a mellékvese eredetű androgének és androgén-prekursorok (androsztendion, DHEAS), nőkben a mellékvese eredetű ösztrogének (öszttron) elválasztása is. A hipogonadizmus mellett nagy szerepet tulajdonítottak még az intesztinális kalcium abszorpció csökkenésének és a renális kalcium-ürítés fokozódásának.

A korábbi elképzelések szerint a glükokortikoidok közvetlen csonthatása elsődlegesen az oszteoklasztok aktivitásának fokozódásában jelenik meg, bár az erre vonatkozó irodalmi adatok mindmáig meglehetősen ellentmondásosak. A fokozott csont-reszorpció egyesek szerint inkább a csökkent intesztinális kalcium-abszorpció, következményes enyhe hipokalcémia miatt kialakuló szekunder hyperparathyreosis eredménye. Az újabb, intakt, ill. közép-régiójú parathormon-meghatározáson alapuló vizsgálatok szerint glükokortikoid-

indukált oszteoporózisban nem igazolható szekunder hyperparathyreosis fennállása, és a vizeletből történő C-telopeptid meghatározás sem jelez fokozott csont-reszorpciót.

A iatrogén Cushing-szindrómát kísérő glükokortikoid-indukált oszteoporózis megismerését, mechanizmusának pontos feltárását nagymértékben nehezíti, hogy ezekben a betegekben az alapbetegség részeként, vagy az alapbetegség egyéb módszerekkel történő kezelésének (kemoterápia, irradiáció, immunszuppresszív, egyéb hormonkezelés) eredményeként kialakuló oszteopáthia is hozzájárul a csontbetegség súlyosbodásához.

Mai szemléletünk szerint a glükokortikoid-indukált oszteoporózis kialakulásában elsősorban a glükokortikoidok közvetlen csonthatásának, a csontszövetet alkotó sejtes elemek közül pedig az oszteoblasztokra gyakorolt hatásának van a legnagyobb jelentősége (138). A szemléletváltozást megerősítette, hogy mind a GR-t (139, 140), mind pedig a HSD11B1-t (141, 142) sikerült a csontszövetben kimutatni. Humán oszteoblaszt sejteken végzett in vitro vizsgálatok alapján a HSD11B1 enzim aktivitása pozitív korrelációt mutatott az életkorral, az enzim aktivitását az in vitro alkalmazott glükokortikoidok dózis-függő módon fokozták (143). Emellett az in vitro alkalmazott proinflammatorikus citokinek (TNF- α és IL-1) fokozták az enzim expresszióját és reduktáz aktivitását (144).

Glükokortikoidok hatására csökken az oszteoblasztos differenciálódás, mérséklődik az oszteoblasztok aktivitása, fokozódik az érett oszteoblasztok apoptózisa (145). Ezzel párhuzamosan növekszik a RANK-L expresszió és csökken az oszteoprotegerin képződés (146), és – talán csak a glükokortikoid-kezelés kezdetén - fokozódik az oszteoklasztok aktivitása, gyorsul a csontbontás (146, 147).

A glükokortikoidok azonban nem mindig csak negatív hatást fejtenek ki a csontszövetre. Kimutatták, hogy a HSD11B1 enzim expressziója és aktivitása elengedhetetlenül szükséges az oszteoblasztok differenciálódásához, legalábbis a folyamat kezdeti lépéseiben (148).

A Cushing-szindrómát kísérő glükokortikoid-indukált oszteoporózisra vonatkozó, ugrásszerűen bővülő ismereteink ellenére mind a mai napig nagyrészt feltáratlan, hogy mi az oka a glükokortikoid-indukált oszteoporózis kialakulásában illetve súlyosságában észlelt nagymértékű interindividuális különbségeknek. Nem tudjuk, hogy a glükokortikoid dózisa vagy az alkalmazás időtartamának van-e nagyobb jelentősége. A mai napig vitatott, hogy reverzibilis-e, és ha igen, milyen mértékben reverzibilis a glükokortikoid-indukált oszteoporózis.

2.9 A csontszövet működésének laboratóriumi vizsgálata

A vázrendszer integritásának fenntartása a csontszövet folyamatos megújulásával, átépülésével (remodeling) biztosítható. Az átépülés a csontbontás (reszorpció) és a csontképzés (formáció) folyamatainak harmonikusan összehangolt, szorosan összekapcsolt voltát feltételezi. A két folyamat összehangolásában mai tudásunk szerint a legfontosabb összekötő elem a RANKL-RANK-oszteoprotegerin rendszer (149).

A *csontképzés* celluláris letéteményese a mesenchymális őssejtből differenciálódó oszteoblaszt. Működésének legfontosabb terméke a csontmatrix szerves anyagának 90%-át képező, 1-es típusú kollagén. Az 1-es típusú kollagén az 1-es típusú prokollagén C- és N-terminálisainak enzimatis hasítása révén keletkezik, a lehasadó termékek az 1-es típusú kollagén karboxiterminális (PICP) és aminoterminális (PINP) propeptidjei. Az oszteoblasztok további fontos, a csontmatrix mineralizációjához nélkülözhetetlen terméke az alkalikus foszfatáz (AP). Ezt több szövet is termeli, a csont-eredetű alkalikus foszfatáz kimutatására specifikus immuno-assay-t fejlesztettek ki (bone-specific AP - BSAP). A BSAP-hoz hasonlóan még napjainkban sem pontosan tisztázott az oszteoblasztok nem-kollagén termékei között a legnagyobb mennyiségben termelt, 49 aminosavból álló oszteokalcin (OC) biológiai funkciója (150). A szérumban az intakt OC mellett az OC bomlástermékei is kimutathatók, ezért a szérumban mért OC koncentrációk közötti különbséget a különböző OC assay-k közötti különbséggel is lehet magyarázni (151). Napjainkban a kereskedelmi forgalomban kapható csontképzési markerek (OC, BSAP, PICP, PINP) mindegyike a csontformáció más és más aspektusát jellemzi, az egészséges és kóros állapotok elkülönítésére leginkább alkalmasnak az OC-t és a BSAP-t tartják (152, 153).

A *csontbontás* a hemopoietikus eredetű oszteoklasztok feladata. Az oszteoklasztok által kialakított savas mikrokörnyezetben az általuk termelt enzimek bontják a csontmatrixot. A legtöbb csont-reszorpciós assay az 1-es típusú kollagén különböző hasítási termékeinek kimutatásán alapul. Egy-két évtizeddel ezelőtt a csontreszorpció laboratóriumi vizsgálata a hasítási termékeket a szérumnál rendszerint magasabb koncentrációban tartalmazó vizeletből történt. A napjainkban csaknem kizárólagosan használt immuno-assay-k az 1-es típusú kollagén C- és N-terminálisáról lehasadt molekulákat (1-es típusú kollagén karboxiterminális telopeptid –CTX, 1-es típusú kollagén aminoterminális telopeptid - NTX) a szérumból mutatják ki. Az oszteoklasztok enzimatis termékei közül a tartarát-rezisztens savi foszfatáz és a katepszinek (katepszin K és L) szerepét vizsgálták, azonban alkalmazásuk nem terjedt el (154).

2.9.1 A glükokortikoid túlsúly hatása a csontmetabolizmus markereire

A glükokortikoidok csont-reszorpcióra gyakorolt hatását vizsgáló tanulmányok értékelésekor figyelembe kell venni, hogy akut - és többnyire közép, vagy nagydózisú, exogén - vagy krónikus (mint például az endogén hiperkortizolizmusok) glükokortikoid túlsúlyról van-e szó.

Az emelkedett kortizol szint csontkárosító hatása többféle mechanizmuson keresztül érvényesül. Célszerűnek látszik megkülönböztetni a csontszövetre kifejtett direkt, valamint az egyéb szövetekre, szervekre gyakorolt, de áttételesen a csontszövet működését is befolyásoló indirekt hatásokat (155). A glükokortikoid effektus intenzitása -azaz a betegség súlyossága, illetve az exogén glükokortikoid dózisa- mellett a glükokortikoid hatás időtartamának (rövid ideig tartó ill. krónikus glükokortikoid túlsúly) is jelentősége van. Cushing-szindrómás betegekben -az egyetlen, mindössze 12 beteget vizsgáló tanulmány (156) kivételével- a közlemények többségében azt találták, hogy a csontmarkerek szérum koncentrációi nem korrelálnak sem a 24 órás vizelet kortizol ürítéssel (157-160), sem a szérum kortizol koncentrációkkal (157, 159, 161).

Akutan, nagy dózisban, naponta alkalmazott glükokortikoid (15 mg/kg/nap methylprednizolon) hatására emelkedik, majd a 8. naptól csökken a szérum CTX (147). Krónikus glükokortikoid túltermelés - így például endogén Cushing-szindróma - esetén a csont-reszorpció vonatkozásában az irodalmi adatok messze nem egybehangzóak, normális (64, 161, 158, 162), csökkent (161, 163, 164) és fokozott (159, 165, 166) csont-reszorpciót is igazoltak.

2.10 A glükokortikoid érzékenység jelentősége patológias állapotokban

Csaknem minden, glükokortikoidok adásával kezelhető betegcsoportban ismert a szteroid-rezisztencia fogalma. Ilyen például a már a betegség kezdetétől fennálló, vagy rövidebb-hosszabb szteroid-kezelést követően kialakuló szteroid-rezisztens asthma bronchiale, szisztémás lupus erythematosus, Crohn-betegség, colitis ulcerosa, rosszindulatú daganatos betegségek, stb. (3). Feltételezhető, hogy a glükokortikoid érzékenység ill. rezisztencia közötti átmenet ezekben a patológias állapotokban is fokozatos, multifaktoriális és - legalábbis részben - genetikailag meghatározott.

Rendkívül korlátozottak az ismereteink arról, hogy a sejtek glükokortikoid ellátottságát szabályozó ill. módosító, a korábbi fejezetekben vázolt fiziológias mechanizmusok működése

megváltozik-e Cushing-szindrómában. Egészséges egyénekből és Cushing-szindrómás betegekből preparált perifériás mononukleáris sejtekben a GR-ok számát azonosnak találták, viszont a GR kortizolhoz való affinitása szignifikánsan alacsonyabb volt, amit a vizsgálók a tartósan emelkedett kortizol szintekre adott válaszreakciónak tulajdonítottak (167). Egy másik tanulmányban azt is igazolták, hogy Cushing-szindrómában a *GR β* expresszió fokozott, gyógyulás után viszont csökkent (168). Mariniello és munkatársai elhízottak hasfali zsírszövetében fokozott, Cushing-szindrómásokban azonban az egészséges kontroll csoporttal megegyező *HSD11B1* mRNS expressziót tudtak kimutatni; utóbbit a tartós hiperkortizolémia által kiváltott down-regulációval magyaráztak (169). Feltételezik, hogy Cushing-szindrómában az enzim-aktivitás növekedésének hiánya - a GR esetében megfigyelhető reverzibilis affinitás csökkenéshez hasonlóan - a tartósan fokozott glükokortikoid hatást tompító ellenregulációs mechanizmusok részét képezi (170).

3.0 Célkitűzések

1. A mellékvese adenomás betegek egy részére jellemző alacsony DHEAS koncentráció okának jobb megértése érdekében vizsgálni kívántuk, hogy a mellékvese adenoma eltávolítását követően normalizálódik-e a plazma DHEAS koncentrációja.
2. Vizsgálni kívántuk, hogy a hormonálisan inaktív, valamint a szubklinikai Cushing-szindrómát okozó mellékvesekéreg adenomás betegek ateroszklerotikus kockázati tényezőit ill. a szív- és érrendszeri szövődmények előfordulási gyakoriságát befolyásolja-e a mellékvese daganat eltávolítása.
3. Tanulmányozni kívántuk az endogén Cushing-szindrómás betegek csontsűrűségének az egyéb klinikai és hormonális paraméterekkel való összefüggéseit.
4. Sikeresen gyógyított Cushing-szindrómás betegek DEXA-vizsgálattal történő utánkövetésével kívántuk vizsgálni a glükokortikoid-indukált oszteoporózis reverzibilitását. Jellemezni kívántuk a gyógyulást követő BMC-, BMD- és vetületi felszín változásokat.
5. Annak vizsgálata, hogy a mellékvese betegségek kivizsgálása során alkalmazott, egyszeri, rövid időtartamú glükokortikoid effektust jelentő teszteknek (egyszeri kis dózisú dexamethason ill. ACTH) milyen hatása van a csontépítés és csontbontás szérumszintjére.
6. Jellemezni kívántuk a csontépítés és a csontbontás szérumszintjének változását Cushing-szindrómás betegekben, a betegség súlyosságát reprezentáló klinikai és hormonális paraméterek függvényében, továbbá a betegség gyógyulását követően.
7. Értékelni kívántuk a nyál kortizol és a szérumszint OC meghatározás diagnosztikus érzékenységét különböző súlyosságú endogén hiperkortizolémias állapotokban.
8. Célul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy a *GR* gén négy ismert polimorfizmusa (BclI, N363S, ER22/23EK, A3669G) összefüggésbe hozható-e az endogén Cushing-szindróma különböző formáinak kialakulásával, a Cushing-szindrómás betegek csontsűrűségével és/vagy a csontépítés/csontbontás markereivel.

9. Vizsgálni kívántuk, hogy a 11β -hidroxiszteroid dehidrogenáz enzimet kódoló *HSD11B1* gén 83,557insA variánsa összefüggésbe hozható-e a Cushing-szindróma különböző formáinak kialakulásával, a Cushing-szindrómás betegek csontsűrűségével és/vagy a csontépítés/csontbontás markereivel.

4.0 Betegek

Az értekezésem alapját képező közlemények a II. Belgyógyászati Klinika betegein történt vizsgálatokra alapozódnak. A betegek rendszerezéséhez komputeres adatbázist készítettünk, ami a klinikánkon az 1970-es évek közepétől 1997. december 31-ig diagnosztizált, illetve kezelt, összesen 517 mellékvese daganatos beteget tartalmazza. Ezen adatbázis folytatásaként és továbbfejlesztéseként 1998. óta vezetjük a Cushing-szindrómás betegek adatbázisát. A különböző időpontokban megjelent közlemények értelemszerűen különböző számú mellékvese-daganatos illetve Cushing-szindrómás beteg vizsgálati eredményeit tartalmazzák ill. összegzik.

Klinikánk endokrin részlegén diagnosztizált illetve kezelt Cushing-szindrómás betegek száma az 1970-es évektől folyamatosan emelkedik. Az 1970-es és 1980-as években évi 1-2, a 2000-es évek elején évente 5-6 új beteget diagnosztizáltunk, illetve vettünk kezelésbe. A Cushing-szindrómában szenvedő betegeket 2005. december 31-vel bezárólag összesítő tanulmányunk adatai szerint 115 Cushing-szindrómás beteg közül 64 betegnél ACTH-termelő hypophysis adenoma, 38 betegnél egy- vagy kétoldali primer mellékvese betegség (20 egyoldali adenoma, 13 karcinóma, 5 esetben kétoldali hiperplázia), 13 esetben ektópiás ACTH-termelés okozta a betegséget (171).

Az ACTH-termelő hypophysis adenoma okozta Cushing-kór sebészi kezelésének sikerességét a műtét utáni korai remisszióval szokás jellemezni. Az Országos Idegtudományi Intézetben operált betegeink korai remissziós aránya a vizsgált évtizedekben fokozatosan növekedett, napjainkra 76%-ot ért el (171). Sikeres hypophysis műtét, korai remisszió esetén is gyakran, betegeink 20%-ában a műtét utáni 5 éven belül kiújult a Cushing-kór. Az egy- és kétoldali benignus mellékvese elváltozások okozta Cushing-szindróma adrenalectomiát követően minden egyes esetben gyógyult. A mellékvesekéreg karcinóma és az ektópiás ACTH-szindróma változó, de összességében rossz kórlefordulású volt (171).

A betegeknek a nemzetközileg elfogadott diagnosztikus algoritmusok szerinti kivizsgálását ill. rutinszerű ellenőrzését meghaladó vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem Tudományos Kutatásetikai Bizottságának, a genetikai vizsgálatokat az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyásával végeztük. A genetikai vizsgálatokhoz a betegek írásos beleegyezésüket adták.

4.1 A dehidroepiandroszteron-szulfát koncentráció vizsgálata hormonálisan aktív, valamint inaktív mellékvese daganatos betegeken

A vizsgálatban 170, egyoldali mellékvese daganat miatt 1987 és 1994 között klinikánkon kivizsgált és mellékvese műtéten átesett, valamint további 5, mellékvese cisztával bíró, nem operált beteg adatait dolgoztuk fel. Az endokrinológiai és a patológiai diagnózist figyelembe véve az operált betegek közül 10 betegnél kortizol-termelő, 56 betegnél hormonálisan inaktív, 59 betegnél aldoszteron-termelő adenoma, 13 betegnél adrenokortikális karcinóma, 24 esetben adrenomedulláris daganat (22 phaeochromocytoma, 2 ganglioneuroma), valamint 8 betegnél hormonális eltérést nem okozó mellékvese ciszta állt a háttérben (2. táblázat [49. oldal]).

Az adrenalectomián átesett, gondozott betegeink DHEAS koncentrációját átlagosan 4,4 éven át (max. 8 év) követtük, 7 korábban kortizol-termelő, 26 korábban aldoszteron-termelő és 15 korábban hormonálisan inaktív mellékvese adenomás beteg esetében.

89 hazai egészséges egyén (69 nő, 20 férfi) DHEAS koncentrációját határoztuk meg, az amerikai egészséges személyekből (481 nő, 981 férfi) (175) vett mintával való összehasonlítás céljából.

4.2 Hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegek ateroszklerotikus kockázati tényezői és szövődményei

A 2006-ban elkezdett utánkövetéses vizsgálatban 125 olyan beteg vett részt, akinél a klinikánkon 1990 és 2001 között történt első endokrinológiai kivizsgálás során egyoldali, hormonálisan inaktív mellékvese adenomát diagnosztizáltunk. Valamennyi betegtől beszereztük az összes írásos orvosi dokumentumot, a személyesen megjelenő 113 beteg ellenőrző laboratóriumi vizsgálaton is részt vett. A követéses vizsgálatra az első kivizsgálás után 5-16 évvel került sor (átlagosan 9,1 év). 47 beteg esetében a mellékvese daganat eltávolításra került, 78 beteg esetében nem történt műtéti beavatkozás. Az ellenőrző vizsgálatot járóbetegként végeztük el, a laboratóriumi vizsgálatok mellett –amennyiben a megelőző 1 évben nem történt- kontroll mellékvese CT-t is végeztünk. A betegek legfontosabb klinikai adatait és hormon leleteit a 5. táblázat tartalmazza [52. oldal].

Szubklinikai Cushing-szindrómát diagnosztizáltunk, ha Cushing-szindróma jelei és tünetei hiányoztak, és a következő két kritérium közül legalább az egyik teljesült: i) éjféli

szérum kortizol $>5,0 \mu\text{g/dl}$, ii) a rövid kis dózisú dexamethason adása utáni szérum kortizol $>3,6 \mu\text{g/dl}$.

A mellékvese daganatos betegeknél talált hipertónia és diabetes mellitus prevalenciáját Magyarország lakosságának 13,6%-ára (71 körzeti orvosi praxis 138.088 lakosára) kiterjedő, a magyar népességet jól reprezentáló (172) mintával vetettük össze, nem és életkor szerint is egyeztve.

4.3 A csontok ásványi anyagtartalmának és vetületi felszínének vizsgálata Cushing-szindrómában és a betegség gyógyulását követően

Prospektív vizsgálatunkban 68 egymást követő, az endogén Cushing-szindróma különböző formáiban szenvedő beteget vontunk be (51 nő, 17 férfi; életkori tartomány 15-74 év). A betegek legfontosabb demográfiai adatait, betegségük súlyosságát jelző legfontosabb hormonleleteit, egyes szövődményeik gyakoriságát a 10. táblázatban mutatom be [58. oldal]. Egyetlen beteg sem szenvedett egyéb metabolikus csontbetegségben. Nem vontunk be a vizsgálatba szubklinikai Cushing-szindrómás beteget és kizáró oknak tekintettük a korábban alkalmazott csonttritkulás elleni kezelést.

A 41 ACTH-termelő hypophysis adenomás beteg közül 38 esetében történt transspenoidalis hypophysis műtét, akik közül a műtét eredményeként 28 beteg került teljes remisszióba. A mellékvese eredetű Cushing-szindrómás betegek közül 18 betegnek egyoldali (közülük 4 malignus), 3 betegnek kétoldali daganata volt. A 6 ektópiás Cushing-szindrómában szenvedő beteg közül 4 betegnek bronchiális, 2 betegnek pancreas eredetű neuroendokrin tumora volt.

A Cushing-szindrómát okozó daganat sebészi eltávolításának eredményességét a szérum kortizol koncentrációk mérésével, szükség esetén kis dózisú dexamethason szuppressziós teszt segítségével, továbbá a -rendszerint sok éven át tartó- ambuláns kontroll vizsgálatok során, a klinikai kép változásának nyomonkövetésével állapítottuk meg.

A betegeknél DEXA-vizsgálatot végeztünk a betegség diagnosztizálása után, évente. Nem értékeltük a követéses DEXA-vizsgálatok eredményét, ha (1) a Cushing-szindróma perzisztálását vagy relapszusát diagnosztizáltuk, ha időközben (2) anti-reszorptív vagy (3) növekedési hormon kezelést kezdtünk. Összesen 26 beteg esetében történt legalább egy alkalommal követéses DEXA-vizsgálat. Az átlagos követési idő 36,8 hónap (12-96 hónap) volt.

4.4 Egyszeri, kis dózisú dexamethason és egyszeri depot-ACTH hatása a szérumsontmarker koncentrációkra

A mellékvese betegség gyanúja miatti kivizsgálás részeként elvégzett kis dózisú dexamethason teszt valamint depot-ACTH teszt kollagén keresztkötésre (CTX) és oszteokalcinra (OC) gyakorolt rövid távú hatását 40 egészséges (35 nő, 5 férfi; életkor 18-69 év), 49 mellékvese incidentalomás (34 nő, 15 férfi; életkor 19-77 év) és 8 endogén Cushing-szindrómában szenvedő betegben (3 nő, 5 férfi; életkor 19-70 év) hasonlítottuk össze.

4.5 A csontépítés és csontbontás jellegzetességei Cushing-szindrómában és a betegség gyógyulását követően

A csontépítés és csontbontás jellegzetességeit 87 endogén Cushing-szindrómában (69 nő, 18 férfi; átlagéletkor 44 év, min-max 16-63 év) és 161 egészséges kontroll személyben (118 nő, 43 férfi; átlagéletkor 37, min-max 15-74 év) tanulmányoztuk. 49 betegnél ACTH-termelő hypophysis adenoma, 29-nél mellékvese betegség (26 adrenokortikális adenoma, 3 karcinóma), 9 beteg esetében ektópiás ACTH-termelő daganat okozta a Cushing-szindrómát. A betegek és a kontroll csoport életkori és nemek szerinti összetételét a 14. táblázatban mutatom be [67. oldal].

A 87 beteg közül 37-nél (43%) diabetes mellitust, 22-nél (25%) csökkent glükóz toleranciát, 70-nél (80%) magasvérnyomás betegséget, 26-nál (30%) klinikai tünetet okozó myopathiát találtunk. 27 (31%) beteg anamnézisében 5 éven belül elszenvedett csonttörés szerepelt. A vizsgálatban kizáró kritériumnak tekintettük, ha 2 éven belül antireszorptív készítményt szedett a beteg. Amennyiben a betegen végzett sebészeti beavatkozás a Cushing-szindróma megszűntét eredményezte, kezdetben 1-3 havonta, a későbbiekben 6-12 havonta került sor ellenőrző vizsgálatokra, melynek során kerestük a Cushing-szindróma recidivájának laboratóriumi és/vagy klinikai jeleit.

A csontmarkerek vérből történő meghatározásának laboratóriumunkba történő bevezetését (1999) követően 71 Cushing-szindrómás betegnél vizsgáltuk a szérumsontmarkereket. A műtét utáni első csontmarker meghatározásra rendszerint az 5-14. posztoperatív napon került sor. A további csontmarker meghatározásokat a posztoperatív 1, 6, 12, 24, 36 és >48 hónapokban végeztük el (23, 19, 12, 8, 5 és 12 beteg). 16 beteg esetében a kuratív műtét 1999 előtt történt, esetükben csak a posztoperatív csontmarker értékeket elemezhettük.

4.6 A nyál kortizol és a szérum OC vizsgálata az endogén Cushing-szindróma diagnosztikájában

A vizsgálatba 151 olyan, egymást követő beteget választottunk be, akiknek a kezelő orvosa (rendszerint háziorvosa) endokrinológiai kivizsgálást kezdeményezett obezitás vagy gyors testsúlynövekedés, magas vérnyomás, livid striák, menstruációs zavar, hirsutismus, csonttritkulás vagy véletlenszerűen felfedezett mellékvese tumor miatt és a kivizsgálás során Cushing-szindróma gyanúja is felmerült.

A betegeket a végső diagnózis szerint négy csoportba soroltuk be (16. táblázat [73. oldal]). (1) „A” csoport: manifeszt Cushing-szindróma (23 fő), (2) „B” csoport: szubklinikai Cushing-szindróma (18 beteg), (3) „C” csoport: hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenoma (40 beteg), (4) „D” csoport: hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely rendellenesség nélküli betegek (70 olyan beteg, akiknél hiperkortizolizmust kizártunk, ismert mellékvese tumoruk nem volt).

A szubklinikai Cushing-szindróma diagnózisát akkor állítottuk fel, ha a Cushing-szindróma klinikai jelei hiányoztak és a következő három hormonális kritérium közül legalább kettő teljesült: 1) éjféle szérum kortizol > 5,0 µg/dl; 2) kis dózisú dexamethason utáni kortizol > 3,6 µg/dl; 3) plazma ACTH < 7,2 pg/ml.

4.7 A *GR* gén genetikai variánsainak jelentősége a Cushing-szindrómát kísérő csontbetegségben

A *GR* gén BclI, N363S, ER22/23EK és A3669G genetikai variánsainak jelentőségét 60 endogén Cushing-szindrómában szenvedő betegnél és 129 egészséges kontroll személynél vizsgáltuk. A vizsgált személyek legfontosabb demográfiai és hormonleleteit a 21. táblázatban mutatjuk be [81. oldal]. A kontroll egyéneknél, továbbá -alapbetegségüktől eltekintve- a Cushing-szindrómás betegeknél nem állt fenn egyéb, a csontmetabolizmust ismerten megváltoztató betegség. A vizsgálatban részt vevő személyek nem álltak a csontanyagcserét befolyásoló gyógyszeres kezelés alatt.

4.8 A *HSD11B1* gén 83,557insA variánsának vizsgálata a Cushing-szindróma megjelenésében és a csontbetegség kialakulásában

A *HSD11B1* gén 83,557insA variánsának jelentőségét 41 Cushing-kóros, 32 adrenális Cushing-szindrómás és 129 egészséges, hazai populációból származó személyben vizsgáltuk. A vizsgált személyek demográfiai adatait, a betegek legfontosabb hormonleleteit a 24. táblázat tartalmazza [85. oldal].

5.0 Módszerek

5.1 Hormonmeghatározások

A hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely daganatos megbetegedései esetén az endokrin kivizsgálás rendszerint kórházi körülmények között, lehetőség szerint a hormonmeghatározásokat zavaró gyógyszereknek a nemzetközi ajánlások szerint szükséges idejű kihagyását követően történt. A dinamikus hormonvizsgálatokat (szérum kortizol diurnális ritmusának vizsgálata, kis- és szükség esetén nagydózisú dexamethason teszt, a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer vizsgálata) standard módszerekkel végeztük (173). A betegek endokrin kivizsgálása során a szteroid-hormonokat (kortizol, aldoszteron, DHEAS, tesztoszteron, 17-hidroxi-progeszteron) saját fejlesztésű RIA-val határoztuk meg (173, 174), az ACTH- és plazma renin aktivitás meghatározásához kereskedelmi forgalomban lévő KIT-eket alkalmaztunk (CIS Bio International ill. Rianen, DuPont).

A plazma DHEAS koncentráció normálistól való eltérésének mértékét a kor- és nem-specifikus átlagértékek (175) százalékában fejeztük ki (DHEAS%). Ily módon a vizsgált személy nemétől és életkorától függetlenül tudtuk a továbbiakban elemezni és értékelni a keringő DHEAS koncentrációt. A 5. ábra [48. oldal] adatainak vizuális elemzésével állapítottuk meg a DHEAS% referencia-tartományát; alacsonynak tekintettük a plazma DHEAS% koncentrációt <40%, normálisnak 40-230%, emelkedettnek >230% esetén.

A nyál kortizol meghatározását 2008. augusztusáig klinikánkon a nyálminta diklórmetánnal történt extrakcióját és papírkromatográfiás futtatását követően radioimmunoassay módszerrel végeztük. 2008. szeptemberétől a nyálminták gyűjtéséhez Salivette csöveket (Sarstedt, Nümbrecht, Németország) használunk, a nyál kortizol koncentrációjának rutinszerű meghatározása elektro-kemilumineszcens módszerrel történik (ECLIA, Elecsys E170, Roche Diagnostics, Switzerland, Basel).

5.2 A Cushing-szindróma klinikai diagnosztikájában alkalmazott legfontosabb módszerek

A tanulmány tárgyát képező időszakban a Cushing-szindróma szűrését és a diagnózis megerősítését az esetek döntő többségében a szérum kortizol meghatározásra alapoztuk. A szérum kortizol diurnális ritmusának meghatározásán kívül a betegek többségében éjfélkor

adott kis dózisú (1 mg) és nagy dózisú (8 mg) dexamethason szuppressziós tesztet végeztünk. A plazma ACTH meghatározására 1976-tól volt módunk, az ACTH vizsgálattal egybekötött CRH-stimulációs tesztet 1987-től alkalmaztuk. A kivizsgálás során a betegek egy részénél a mellékvese rezerv kapacitásának vizsgálatára ACTH-tesztet alkalmaztunk (1 mg Cortrosyn depot, 14:00 h-kor im.), vérvétel kortizol meghatározás céljából másnap reggel 08:00 h-kor.

A hypophysis eredetű és az ektópiás ACTH-tútermelés elkülönítésére 1999 óta végezzük a sinus petrosus inferiorok szelektív szimultán katéterezését ill. az innen vett vérmintákból történő ACTH-meghatározást. A megfelelő radiológiai vizsgálatokat (CT, MRI, szomatosztatin-receptor szcintigráfia, fluoro-dezoxi-glükóz pozitron emissziós tomográfiás vizsgálat -FDG-PET) hazai bevezetésük óta alkalmazzuk.

A betegség felismerésekor jelenlévő, a Cushing-szindróma részjelenségének tekintett manifesztációk közül kerestük az időben elsőként észlelt részjelenséget, és az azóta eltelt időtartamot tekintettük a Cushing-szindróma becsült betegségtartamának.

5.3 Ateroszklerotikus kockázati tényezők és szövődmények vizsgálata

A betegek kivizsgálása során standard laboratóriumi módszereket használtunk. A hipertonia (176), hiperlipidémia (össz-koleszterin >5,2 mmol/l, LDL-koleszterin >2,6 mmol/l, triglicerid >1,7 mmol/l), obesitas (BMI >30,0 kg/m²) és szénhidrát-anyagcsere rendellenességek (177) diagnózisának megállapítására nemzetközileg elfogadott kritériumokat alkalmaztunk. A lipid-csökkentő ill. antidiabetikus terápiában részesülő betegeket hiperlipidémiásnak ill. cukorbetegnek tekintettük.

Az ateroszklerotikus szövődmények és a miattuk végzett beavatkozások gyakoriságát az anamnézis ismételt felvételével, a bekért és az egyéb rendelkezésre álló dokumentumok alapján állapítottuk meg. Szubklinikai Cushing-szindrómát diagnosztizáltunk, ha Cushing-szindróma jelei és tünetei hiányoztak, és a következő két kritérium közül legalább az egyik teljesült: i) éjfélel szérum kortizol >5,0 µg/dl, ii) a rövid kis dózusú dexamethason utáni szérum kortizol > 3,6 µg/dl.

5.4 A csontbontás és csontépítés markereinek vizsgálata

A csontanyagcsere markereinek meghatározása 1999-2006 között Klinikánk laboratóriumában, 2007-től a Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumában történt. A vizsgálatok módszere 1999-től nem változott, a csontépítés monitorozására a szérum OC, a csont-

bontás monitorozására a szérumban kollagénkereszt-kötés meghatározást alkalmaztuk, a gyártó előírásai szerint (ECLIA, N-MID Osteocalcin és Elecsys b-CrossLaps - CTX, Roche). A gyártó által meghatározott szérumban OC referencia értékek: egészséges premenopauzális nők: 12-41 ng/ml; egészséges férfiak: 11-46 ng/ml. A szérumban CTX gyártó által megadott felső 95%-os percentilise premenopauzális nőkre 0,28 ng/ml, férfiakra 0,30 ng/ml volt. A szérumban CTX és OC meghatározás analitikai jellemzői a következők: méréstartomány 0,01–6,00 ill. 0,5–300 ng/ml; intra-assay precizitás 1,0–4,6 ill. 0,5–1,1 CV%; teljes precizitás 2,7–7,6 ill. 1,1–1,6 CV%.

A klinikai kivizsgálás során mindig törekedtünk arra, hogy –hacsak nem éppen az volt a vizsgálat célja- a betegség kivizsgálására alkalmazott endokrin teszteket (pl. kis dózisú dexamethason teszt, depot-ACTH) megelőzően, vagy ezen tesztek után 1 héttel történjen vérvétel a csontanyagcsere laboratóriumi vizsgálata céljából. Nem értékeltük a csontmarker vizsgálatok eredményét, ha a beteg antireszorptív, vagy más, a csontanyagcserét ismertén befolyásoló gyógyszeres kezelésben részesült.

5.5 A csontok ásványi anyagtartalmának vizsgálata

A csontok ásványi anyagtartalmát kettős energiájú röntgen-foton abszorpciometriával (DEXA) mértük, a II. Belgyógyászati Klinikán 1997. májusától működő Osteodenzitometriás Laboratóriumban, Hologic QDR 4500C, 2002. óta pedig Hologic Delphi W típusú készülékkel is. A vizsgált csontterületek: lumbalis gerinc L1-L4 csigolyák, proximális combcsont (teljes femur, valamint femur-nyak, trochanterikus és intertrochanterikus régiók), nem-domináns radius (teljes radius, valamint ultradisztális radius és a radius disztális harmadolópontja – disztális 1/3). A mérési eredményeket ásványi anyagtartalomban (bone mineral content – BMC; gramm), felületi sűrűségben (gramm/cm²), az életkor- és nem-specifikus átlagtól való - szórásegységben kifejezett - eltérés (z-score), továbbá a fiatalok csúcs-csonttömegétől való - szórásegységben kifejezett - eltérés (t-score) formájában adtuk meg. Referencia értéként a gyártó által rendelkezésre bocsátott adatokat használtuk. A műszert minden munkanap reggelén a gyártó által készített gerinc-fantommal kalibráltuk, e módszerrel a készülék hosszútávú pontossága variációs koefficiens formájában kifejezve 0,0035 volt. A csontsűrűségmérés in vivo, rövid-távú pontosságának értékelése céljából 30, a laboratóriumunkba csontsűrűségmérés céljából küldött beteget mértünk meg, egymást követően két alkalommal. A két mérés között a betegeket felállítottuk, majd újra pozícionáltuk. A mérés variációs koefficiense az International Society for Clinical Densitometry

(ISCD) által ajánlott módszerrel (ISCD Advanced Precision Calculating Tool) számolva a lumbális gerincen 0,015, a combnyakon 0,018, a trochanterikus régióban 0,017, az intertrochanterikus régióban 0,017, a teljes femuron pedig 0,012 volt.

A DEXA vizsgálat eredményeit a t-score-ra alapozva, a WHO ajánlása szerint értékeltük, normális, osteopeniás, osteoporotikus és súlyos osteoporózisban szenvedő betegeket elkülönítve (178).

Követéses DEXA-vizsgálatunkban a csontsűrűség (BMD, bone mineral density) mellett a csontok vetületi felszínének (area) és ásványi anyagtartalmának (BMC, bone mineral content) változását is értékeltük, a lumbális 1-4 csigolyákon, a teljes proximális femuron és a teljes disztális radiuszon, valamint ezek szubrégióiban.

5.6 A csonttörések számának felmérése

Minden egyes csontsűrűség mérés alkalmával rögzítettük a betegek testsúlyát és testmagasságát, felvettük a csonttörési anamnézist. A korábbi orvosi dokumentumokban kerestük a csigolyatörésre utaló adatokat. Háti és/vagy ágyéki gerinc fájdalom esetén kompressziós csigolyatörés gyanújával radiológiai vizsgálatot végeztünk. A Cushing-szindróma diagnózisának megállapítását megelőző 5 éven belül bekövetkezett csonttöréseket a glükokortikoid-indukált osteoporózis szövődményeként értékeltük.

5.7 Molekuláris genetikai vizsgálatok

A vizsgálatokat az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága engedélyezte, a vizsgálatokba a betegek írásos beleegyezésüket adták.

A polimorfizmusok kimutatásához szükséges laboratóriumi eljárások során első lépésben perifériás vérmintákból DNS-t izoláltunk a kereskedelembe forgalmazott kit-ek segítségével (DNA Isolation Kit for Mammalian Blood, Boehringer Mannheim, Németország, illetve Qiamp DNA Blood Kit, Qiagen, USA). Az így kapott DNS mintákat a felhasználásig $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

5.7.1 A GR gén polimorfizmusainak kimutatása

A molekuláris genetikai vizsgálatok során perifériás vérből izolált DNS mintákból a BclI és az N363S polimorfizmust a laboratóriumunkban kidolgozott allél-specifikus polimeráz láncreakcióval (PCR) (179, 180), míg az ER22/23EK polimorfizmust PCR reakciót

követő restrikciós enzim emésztéssel mutattuk ki (53). Az így kapott amplifikált DNS szakaszokat 2%-os ethidium-bromid-agaróz gélelektroforézissel választottuk szét. A *GRβ* izoformán található A3669G variáns kimutatásához Taqman allél diszkriminációs assay-t használtunk, gyárilag tervezett próba és PCR primerek segítségével (Applied Biosystems). A TaqMan vizsgálat 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems) alkalmazásával történt, a gyártó előírásának megfelelően.

5.7.2 A *HSD11B1* gén 83,557insA polimorfizmusának kimutatása

A *HSD11B1* génen található adenin inzerció kimutatásához az irodalomban leírt restrikciós fragmens hossz polimorfizmus módszer (22) általunk módosított változatát használtuk. Az amplifikált DNS szakaszokat az XcmI restrikciós enzimmel emésztettük. A polimorf allélt hordozók esetében az emésztés után 461 bázispár helyett 252 és 210 bázispár méretű fragmenseket kaptunk. Az emésztett PCR termékeket 2%-os agaróz gélben történő kromatográfiát követően digitális kamerával detektáltuk. Az eredményeket automata DNS szekvenálással ellenőriztük. A szekvenálást Big Dye Terminator Cycle-Sequencing kit segítségével, 310 Genetic Analyser készüléken (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) végeztük.

5.8 Statisztikai módszerek

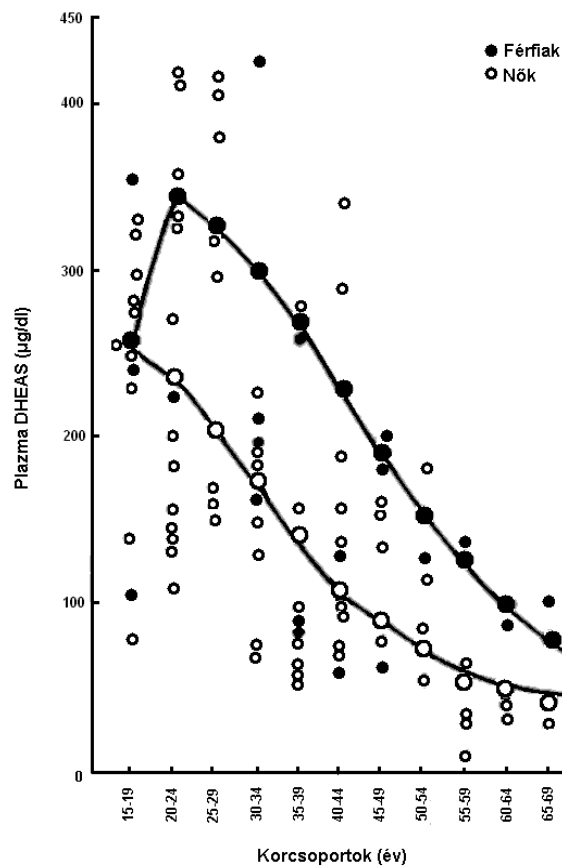
Az adatokat az SPSS 12.0 és 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), valamint a Statistica (7.0 verzió, Statsoft Inc) programcsomagokkal elemeztük. Az adatok normalitását Shapiro-Wilk's W-teszt segítségével ellenőriztük. A gyakoriságokat a χ^2 -teszt és Fisher-féle egzakt tesztekkel hasonlítottuk össze. Az átlagok összehasonlítására a Student-féle t-tesztet, a nem normális eloszlásúaknál pedig a Mann-Whitney U-tesztet használtuk. Kettőnél több független minta összehasonlítása egy-utas varianciaanalízissel - one-way ANOVA –, illetve Kruskal-Wallis-féle próbával történt, többszörös összehasonlítás korrekciójára Bonferroni-tesztet használtunk. Amennyiben a folytonos függő változót több független változó függvényében vizsgáltuk, és a magyarázó változók között kategóriás és folytonos változó egyaránt szerepelt, az adatok értékelését kovariancia analízis segítségével végeztük. A korreláció vizsgálatokhoz a Spearman-féle rang korrelációs tesztet használtuk. Statisztikailag szignifikánsnak a $p > 0,05$ értéket tekintettük. Az egyes polimorfizmusok vizsgálata során – amennyiben az allél gyakoriság lehetővé tette – ellenőriztük a Hardy-Weinberg egyensúly meglétét.

Ún. receiver operating characteristics (ROC) analízissel meghatároztuk a Cushing-szindróma diagnosztikájában általunk használt módszerek görbe alatti területét, az ezekhez tartozó 95%-os konfidencia intervallumokat. Youden-módszerrel meghatároztuk a különböző laboratóriumi módszerek elvágási (cut-off) értékeit, és ezeket felhasználva kiszámoltuk az egyes módszerek szenzitivitását és specificitását, mind a manifeszt, mind a szubklinikai Cushing-szindrómára nézve.

6.0 Eredmények

6.1 A dehidroepiandroszteron-szulfát koncentráció vizsgálata hormonálisan aktív, valamint inaktív mellékvese daganatos betegeken és a daganat eltávolítását követően

89 hazai egészséges egyén plazma DHEAS koncentrációjának meghatározásával mutattuk be, hogy a hazai és az amerikai (175) egészséges személyek DHEAS koncentrációi nem térnek el egymástól (5. ábra).



5. ábra A keringő DHEAS koncentrációja az életkor függvényében, egészséges nőkben és férfiakban.

A nagy karikák 1462 egészséges, New Yorkban élő egyén adatai alapján az átlagos DHEAS koncentrációt jelölik (175). A kis karikák hazai egészséges egyének egyedi adatai (69 nő ill. 20 férfi).

A mellékvesekéreg adenomás betegek mindhárom vizsgált alcsoportjában (kortizol-termelő, hormonálisan inaktív és aldosteron-termelő adenoma) a DHEAS% koncentráció a kontroll csoporthoz képest szignifikánsan alacsonyabb volt (2. táblázat).

2. táblázat Szöveti vizsgálatokkal igazolt mellékvese daganatos betegek klinikai adatai és plazma DHEAS% koncentrációi.

Betegcsoport	N	Ffi/nő	Életkor (év)	Tumor átmérő (mm)	DHEAS %	
			átlag (min-max)	átlag (min-max)	átlag (min-max)	95 % CI
Adrenokortikális adenoma						
• kortizol-termelő	10	2/8	40,7 (24-55)	39,4 (10-70)	15,2* (7-66)	9,4-24,7
• hormonálisan inaktív	56	13/43	51,0 (28-69)	38,7 (12-100)	28,4* (3-151)	22,4-36,0
• aldosteron-termelő	59	25/34	45,3 (32-64)	18,7 (5-40)	55,4* (18-192)	47,1-65,1
Adrenokortikális karcinóma	13	2/11	55,8 (36-73)	60,1 (12-100)	84,0 (4-878)	33,2-212,5
Mellékvese ciszta**	13	2/11	42,2 (20-61)	42,6 (15-60)	53,7 (5-240)	27,7-104,3
Adrenomedulláris daganat	24	10/14	47,4 (15-74)	48,5 (15-11)	75,1 (13-298)	55,4-101,8

* $p < 0,001$ vs. egészséges egyének

** 5 beteg esetében nem történt adrenalectomia

Ezekben a betegcsoportokban magas DHEAS% koncentrációt egyetlen betegnél sem találtunk (3. táblázat).

3. táblázat Alacsony, normális és magas plazma DHEAS% koncentrációval bíró betegek száma a mellékvese daganatos betegek különböző csoportjaiban.

Betegcsoport	Beteg- szám	<u>Plazma dehidroepiandroszteron szulfát</u>		
		alacsony (<40 %)	normális (40-230 %)	magas (>230 %)

Adrenokortikális adenoma				
kortizol-termelő	10	9	1	0
hormonálisan inaktív	56	32	24	0
aldoszteron-termelő	59	17	42	0
Adrenokortikális karcinóma	13	4	5	4
Mellékvese ciszta	13	5	7	1
Adrenomedulláris daganat	24	6	16	2

A mellékvesekéreg karcinómás betegek DHEAS% koncentrációja tág határok között változott (4-878%; 4. táblázat), az emelkedett DHEAS% koncentráció esetén a mellékvese karcinóma okozta halálozás gyakoribbnak tűnik (4/4), mint az alacsony vagy normális DHEAS% esetén (2/5) (4. táblázat).

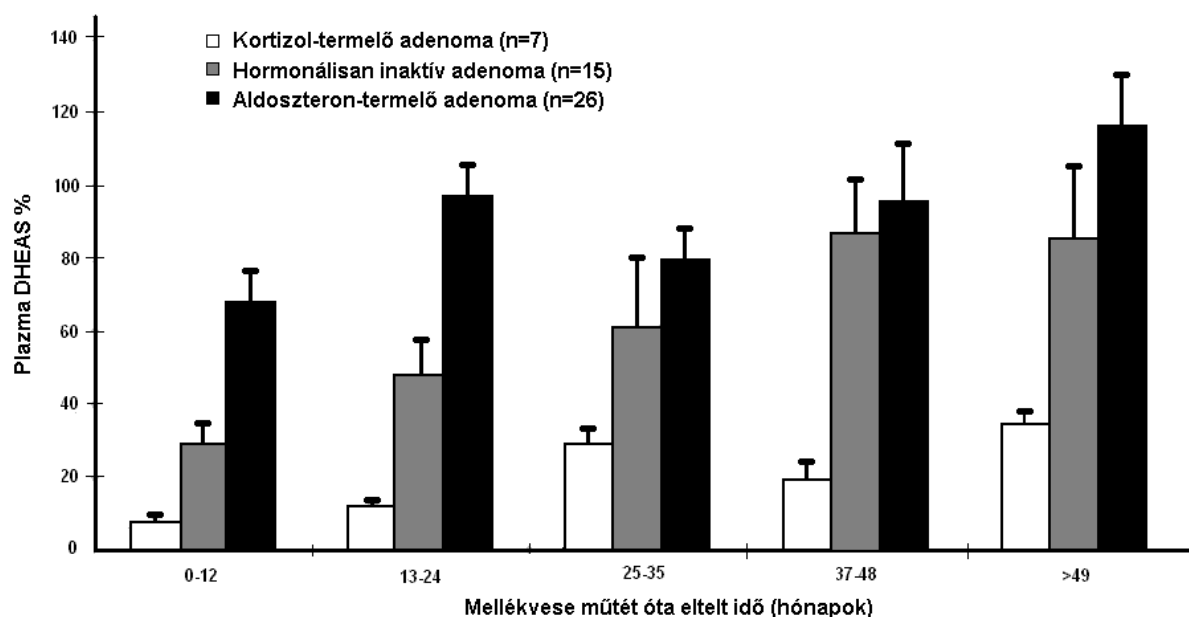
4. táblázat A mellékvesekéreg karcinómás betegek klinikai és hormonális leleteinek összefoglalása.

	Életkor (év)	Nem	Tumor átmérő (mm)	Termelt szteroid hormon	Daganat- áttét	Követési időtartam (hónap)	Daganatos halál (adr. cc.)	Preoperatív plazma DHEAS (%)
1	58	nő	60	DOC	nem	68	él	15
2	66	nő	100	F	igen	8	igen	61
3	70	nő	80	T, AD	igen	20	igen	304
4	36	nő	70	F, DOC	igen	3	igen	670
5	62	nő	15	F, T	igen	3	igen	878
6	49	nő	45	---	nem	21	él	88
7	36	nő	80	F, DOC, 17-OH-P	igen	1	igen	807
8	43	nő	34	---	nem	98	egyéb ¹	7
9	63	nő	120	DOC, 17-OH-P	igen	30	igen	157
10	70	férfi	80	---	nem	10	nem ismert	4
11	73	nő	80	F, DOC	nem	1	egyéb ²	38
12	63	nő	70	---	nem	2	nem ismert	150
13	56	nő	90	DOC	nem	60	él	123

¹emlőrák okozta halál, ²műtét közbeni halál

(F, kortizol; DOC, 11-dezoxi-kortikoszteron; 17-OH-P, 17-hidroxi-progeszteron; T, tesztoszteron; AD, androsztendion)

A műtét után éveken át követett betegek átlagos DHEAS% koncentrációja fokozatosan emelkedett, a korábban aldoszteron-termelő adenomás betegeké a posztoperatív 2. évben, a korábban hormonálisan inaktív adenomás betegeké a posztoperatív 4. évben normalizálódott, míg a kortizol-termelő mellékvese adenoma miatt operált betegek DHEAS% koncentrációja a 4. évet követően is szupprimált maradt (6. ábra [51. oldal]).



6. ábra A keringő DHEAS koncentrációja (DHEAS%) kortizol-termelő, hormonálisan inaktív, valamint aldoszteron-termelő adenómás betegek adrenalectomiáját követően (átlag $\pm$ SE)

6.2 Hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegek ateroszklerotikus kockázati tényezői és szövődményei

A követéses vizsgálatban részt vett 125 beteg legfontosabb demográfiai adatait és hormonleleteit az 5. táblázatban [52. oldal] mutatom be. Az operált és a nem operált betegek férfi/nő aránya, életkora, követési ideje, szérumban kortizol és plazma ACTH koncentrációi nem különböztek egymástól. Az operált betegek mellékvese daganatainak átmérője szignifikánsan nagyobb volt, mint a nem operált betegeké ($33,4 \pm 10,8$ mm vs. $21,5 \pm 10,2$ mm).

5. táblázat A követéses vizsgálatban résztvevő betegek legfontosabb demográfiai adatai és hormonleletei.

	Adrenalectomián átesett betegek	Nem operált betegek	Statisztikai különbség
Betegek száma	47	78	
Férfi/nő	8/39	21/57	NS
Életkor a vizsgálat kezdetén (év)	50,6 ± 7,2	52,5 ± 11,2	NS
Életkor a követéses vizsgálat időpontjában (év)	60,0 ± 7,1	61,4 ± 11,3	NS
Kezdeti tumor-átmérő (mm)	33,4 ± 10,8	21,5 ± 10,2	p<0,0001
Követési idő (év)	9,4 ± 3,6	8,8 ± 2,8	NS
Szérum kortizol, 24:00 h (µg/dl)	2,6 ± 1,7	3,1 ± 2,6	NS
Szérum kortizol, 08:00 h (µg/dl)	9,8 ± 5,8	10,9 ± 4,6	NS
Szérum kortizol, KDD után (µg/dl)	2,2 ± 2,4	1,9 ± 0,7	NS
Plazma ACTH (pg/ml)	33,9 ± 18,5	23,3 ± 12,9	NS

NS: nem szignifikáns, KDD: kis dózisú dexamethason

6.2.1 Ateroszklerotikus kockázati tényezők és laboratóriumi paraméterek

A kiindulási és a betegkövetéskor fennálló ateroszklerotikus kockázati tényezők gyakoriságát és a laboratóriumi paramétereket a 6. táblázat [53. oldal] tartalmazza, az összes betegre együttesen, valamint az adrenalectomiával kezelt ill. a nem operált betegcsoportokban külön-külön is.

6. táblázat Ateroszklerotikus kockázati tényezők száma, gyakorisága, laboratóriumi eredmények a vizsgálat kezdetén és a végén, műtéttel ill. konzervetívan kezelt, hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenomás betegekből.

	Összes beteg (n=113)			Operált betegek (n=43)			Konzervetívan kezelt betegek (n=70)			Különbség az operált és nem operált betegek között (p-érték)	
	Vizsgálat kezdetén	Vizsgálat végén	p-érték	Vizsgálat kezdetén	Vizsgálat végén	p-érték	Vizsgálat kezdetén	Vizsgálat végén	p-érték	Vizsgálat kezdetén	Vizsgálat végén
Magasvérnyomás, n, (%)	93 (82%)	101 (89%)	NS	37 (86%)	38 (88%)	NS	56 (80%)	63 (90%)	NS	NS	NS
BMI (kg/m ²)	29,7±5,3	30,2±5,2	NS	30,8±5,1	31,2±5,3	NS	29,0±5,2	29,5±4,8	NS	NS	NS
Obezitás, n, (%)	56 (50%)	56 (50%)	NS	27 (63%)	26 (60%)	NS	29 (41%)	30 (43%)	NS	0,027	NS
Hyperlipidemia, n, (%)	66 (58%)	93 (82%)	<0,0001	24 (56%)	39 (91%)	<0,0001	42 (60%)	54 (77%)	<0,05	NS	NS
Össz-koleszterin, mmol/l	6,1±1,2	5,3±1,1	<0,0001	5,9±1,4	5,4±1,2	NS	6,1±1	5,3±1,1	<0,0001	NS	NS
Triglicerid, mmol/l	1,9±1,1	1,9±1,1	NS	1,9±1,1	2,1±1,4	NS	2,0±1,1	1,9±0,8	NS	NS	NS
Antihipertenzív kezelés, n, (%)	80 (71%)	93 (80%)	NS	31 (71%)	33 (77%)	NS	49 (70%)	60 (86%)	<0,05	NS	NS
Statin terápia, n, (%)	6 (5%)	33 (29%)	<0,05	4 (9%)	12 (28%)	<0,05	2 (3%)	21 (30%)	<0,05	NS	NS
Fibrát terápia, n, (%)	1 (0,8%)	7 (6%)	NS	1 (2%)	3 (7%)	NS	0	4 (6%)	NS	NS	NS
IGT, n, (%)	26 (23%)	11 (9%)	<0,05	15 (35%)	7 (16%)	<0,05	11 (16%)	4 (6%)	NS	<0,05	NS
Diabetes mellitus, n, (%)	23 (20%)	54 (48%)	<0,0001	4 (9%)	18 (42%)	<0,001	19 (27%)	36 (51%)	<0,05	<0,05	NS
Plazma glükóz, mmol/l	5,7±1,2	6,1±2,3	NS	5,4±1,1	5,9±1,9	NS	5,8±1,3	6,2±2,6	NS	NS	NS
Orális antidiabetikus kezelés, n, (%)	8 (7%)	30 (27%)	<0,05	2 (5%)	12 (28%)	<0,05	6 (9%)	18 (26%)	<0,05	NS	NS
Inzulin kezelés, n, (%)	1 (0,8%)	6 (5%)	NS	0	1 (2%)	NS	1 (1%)	5 (7%)	NS	NS	NS
Orális antidiabetikus + inzulin kezelés, n, (%)	9 (8%)	36 (32%)	<0,05	2 (5%)	13 (30%)	<0,05	7 (10%)	23 (33%)	<0,05	NS	NS

A hipertonia prevalenciája mind az operált, mind pedig a nem operált betegcsoportban kiemelkedően magas volt (86% és 80%), és ezt a nagy gyakoriságot észleltük a betegkövetéskor is, függetlenül attól, hogy a beteg átesett-e adrenalectomián vagy sem. A BMI és az obezitás gyakorisága azonos volt a két betegcsoportban, és a betegkövetés időpontjáig sem változtak, függetlenül attól, hogy történt-e műtéti beavatkozás vagy sem.

A hiperlipidémia gyakorisága nőtt a két vizsgálati időpont között (58%-ról 82%-ra), a két betegcsoportban külön-külön is, miközben az össz-koleszterin-szint csökkent és a trigliceridek szintje változatlan maradt. A két vizsgálati időpont között a sztatin-terápia gyakorisága szignifikánsan emelkedett (5%-ról 29%-ra), a fibrát-terápia gyakorisága nem változott. Az operált és a nem-operált betegcsoportban a sztatin- és a fibrát-terápia gyakorisága nem különbözött.

Az operált és a nem operált betegek csoportjai nem különböztek egymástól –sem kiinduláskor, sem pedig a betegkövetés idejében– az átlagos vércukor koncentrációban, a diabetes mellitus és a csökkent glükóztolerancia, valamint a per os antidiabetikus készítmények ill. az inzulin-kezelés alkalmazásának gyakoriságában. Nem találtunk különbséget a követéses betegvizsgálat során az operált vs. nem operált betegek csoportjai között az inzulin ($48,6 \pm 49,3$ μ IU/ml vs. $41,2 \pm 48,0$ μ IU/ml), a C-peptid ($4,7 \pm 5,2$ ng/ml vs. $4,6 \pm 5,4$ ng/ml) és a HbA1c ($6,2 \pm 0,9\%$ vs. $6,3 \pm 1,4\%$) szintekben sem. Nem volt különbség az operált és a nem operált betegek átlagos HbA1c szintjeiben akkor sem, ha az összehasonlítást az antidiabetikus kezelésben részesülő ill. nem részesülő betegek alcsoportjain végeztük el (az adatokat nem mutatom). A betegkövetés során szignifikánsan emelkedett a diabetes mellitusban szenvedő (20%-ról 48%-ra) és csökkent a csökkent glükóztoleranciájú betegek aránya (23%-ról 9%-ra), függetlenül attól, hogy történt-e műtéti beavatkozás vagy sem.

A hipertonia és a diabetes mellitus szignifikánsan gyakoribb a hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegekben, mint a magyar populációban, mind a vizsgálat kezdetén (7. táblázat [55. oldal]), mind a betegkövetés időpontjában (8. táblázat [55. oldal]), és ez a műtéttel kezelt betegcsoportra nézve is igaznak bizonyult.

7. táblázat Magasvérnyomás és cukorbetegség prevalenciája hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenomás betegek körében (*a vizsgálat kezdetén*) és a magyar népességet reprezentáló mintában.

	Mellékvesekéreg daganatos betegek		Magyar népesség		Statisztikai különbség	
	Nők	Férfiak	Nők	Férfiak	Nők	Férfiak
Nem						
Betegek száma, n	89	24	23000	22079		
Betegek átlag életkora (év) Életkori tartomány (év)	50,8	53,4	45-54	45-54		
Magasvérnyomás, n (%)	72 (81%)	21 (87%)	6184 (27%)	5877 (27%)	P<0,0001	P<0,0001
Diabeteses mellitus, n (%)	16 (18%)	7 (29%)	982 (4%)	1595 (7%)	P<0,0001	P<0,0001

8. táblázat Magasvérnyomás és cukorbetegség prevalenciája hormonálisan inaktív nem-operált mellékvesekéreg adenomás betegek körében (*a betegkövetés időpontjában*) és a magyar népességet reprezentáló mintában.

	Mellékvesekéreg daganatos betegek		Magyar népesség		Statisztikai különbség	
	Nők	Férfiak	Nők	Férfiak	Nők	Férfiak
Nem						
Betegek száma, n	53	17	19799	16691		
Betegek átlag életkora (év) Életkori tartomány (év)	60,5	63,2	55-64	55-64		
Magasvérnyomás, n (%)	47 (89%)	16 (94%)	9716 (49%)	7414 (44%)	P<0,0001	P<0,0001
Diabeteses mellitus, n (%)	25 (47%)	11 (65%)	2082 (11%)	2347 (14%)	P<0,0001	P<0,0001

6.2.2 Ateroszklerotikus események és az ateroszklerózis szövődményei miatt végzett beavatkozások gyakorisága

A mellékvese daganat felismerése és a betegkövetés időpontja között bekövetkezett ateroszklerotikus események, szövődmények és beavatkozások (kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás, major kardiovaszkuláris események, angina pectoris, akut miokardiális infarktus, koronária-intervenció, perkután transluminális koronária plasztika, koronária bypass, perifériás artériás stenosis ill. occlusio miatt végzett beavatkozás, cerebrovaszkuláris stroke) gyakorisága nem különbözött az adrenalectomián átesett és a nem operált betegek csoportjában (9. táblázat).

9. táblázat A betegkövetési időszakban kialakult kardiovaszkuláris/cerebrovaszkuláris események az operált és a nem operált, hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenomás betegek körében.

	Operált betegek (n=47)	Nem operált betegek (n=78)	Statisztikai különbség (p érték)
Összes kardiovaszkuláris megbetegedés, n (%)	16 (34%)	25 (32%)	0,8
Major kardiovaszkuláris esemény, n (%)	9 (19%)	13 (17%)	0,7
Angina pectoris, n (%)	7 (15%)	9 (12%)	0,58
Akut szívinfarktus, n (%)	2 (4%)	9 (12%)	0,16
Kardiovaszkuláris halálozás, n (%)	2 (4%)	3 (4%)	0,9
Koronária intervenció, n (%)	1 (2%)	6 (8%)	0,2
PTCA, n (%)	1 (2%)	3 (4%)	0,6
Koronária bypass, n (%)	0	4 (5%)	0,1
Perifériás artériás stenosis/occlusio, n (%)	7 (15%)	5 (6%)	0,1
Cerebrovaszkuláris stroke, n (%)	7 (15%)	12 (15%)	0,9

PTCA: Perkután transluminális koronária angioplasztika

6.2.3 Szubklinikai Cushing-szindróma

A 125 hormonálisan inaktív mellékvese daganatos beteg közül 13 esetében (10,4%) diagnosztizáltunk szubklinikai Cushing-szindrómát, közülük 5 betegnél történt adrenalectomia. Nem találtunk különbséget a fentebb ismertetett ateroszklerotikus kockázati tényezőkben ill. az ateroszklerotikus események gyakoriságában a szubklinikai Cushing-szindrómás és a többi, hormonálisan inaktív mellékvese tumoros beteg között (az adatokat nem mutatom).

6.3 A csontok ásványi anyagtartalmának és vetületi felszínének vizsgálata Cushing-szindrómában és a betegség gyógyulását követően

A vizsgálatba bevont 68 beteg kiindulási klinikai, antropometriai és hormonális adatait a 10. táblázatban mutatom be [58. oldal].

10. táblázat Cushing-szindrómás betegek klinikai, antropometriai és hormonális alapadatai

	Cushing-kór	Adrenális Cushing-szindróma	Ektópiás Cushing-szindróma
Betegszám, n	41	21	6
Nő / férfi, n	33/8	16/5	2/4
Posztmenopauzális nők, n	7	5	0
Átlagéletkor, év (min – max)	34,9 (15 – 65)	46,0 (29-74)	42,2 (31-65)
Becsült betegségtartam, év (átlag ± SD)	3,7 ± 2,79	3,8 ± 3,65	1,2 ± 1,08
Testsúlya, kg, (átlag ± SD)	80,1 ± 19,5	81,5 ± 13,9	80,7 ± 15,5
Testtömeg index, kg/m ² , (átlag ± SD)	30,2 ± 6,25	31,3 ± 4,46	27,4 ± 5,14
Szérum kortizol, 08:00 h, µg/dl, (átlag ± SD)	23,5 ± 11,6	20,8 ± 9,0	30,7 ± 7,6
Szérum kortizol, 24:00 h µg/dl, (átlag ± SD)	19,2 ± 12,7	15,9 ± 7,3	25,1 ± 9,3
Szérum kortizol, KDD után µg/dl, (átlag ± SD)	18,6 ± 11,4	16,0 ± 7,0	33,0 ± 19,8
IGT/diabeteses betegek száma, n, (%)	30 (73,2 %)	11 (52,4 %)	5 (83,3 %)
Hypophysis microadenoma (n)	30	-	-
Hypophysis macroadenoma (n)	11	-	-
Mellékvese daganat átmérője mm, (átlag± SD)	-	46,6 ± 29,6	-
Csonttörésen átesett betegek száma (n)	vertebrális	7	3
	nem-vertebrális	11	6
	bármilyen	16	8
	vertebrális	18	5
Csonttörések száma (n)	nem-vertebrális	15	10
	összes	33	15
			0
Legalább 1 követéses DEXA-vizsgálaton átesett betegek száma, nő/férfi, n	14 / 3	7 / 1	0 / 1

KDD: kis dózisú dexamethason

A betegek BMD z-score értéke az ultradisztális radius kivételével minden régióban az életkor és nem szerinti referencia populációnál kisebb volt. Egyetlen vizsgált régióban sem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a Cushing-kóros és az adrenális Cushing-szindrómás betegek BMD z-score értékei között. A BMD z-score a lumbális gerincen volt a legalacsonyabb ($-1,24 \pm 1,13$) (11. táblázat).

11. táblázat Cushing-szindrómás betegek csontsűrűség z-score értékei a különböző csont-régiókban.

	Cushing-kór	Cushing-szindróma	Ectopiás Cushing-szindróma	Összes beteg
Betegek száma	n=41	n=21	n=6	n=68
Lumbális gerinc	$-1,30 \pm 1,14$	$-1,29 \pm 1,00$	$-0,73 \pm 1,51$	$-1,24 \pm 1,13$
Teljes femur	$-0,76 \pm 0,99$	$-0,70 \pm 0,97$	$-0,16 \pm 0,70$	$-0,69 \pm 0,96$
• combnyak	$-0,83 \pm 1,05$	$-0,95 \pm 0,80$	$+0,39 \pm 0,76$	$-0,83 \pm 0,95$
• trochanterikus régió	$-0,76 \pm 1,05$	$-0,73 \pm 0,77$	$-0,04 \pm 1,00$	$-0,68 \pm 0,97$
• intertrochanterikus régió	$-0,72 \pm 0,91$	$-0,57 \pm 1,05$	$-0,20 \pm 0,68$	$-0,62 \pm 0,94$
Teljes radius	$-1,02 \pm 1,02$	$-1,08 \pm 1,40$	$-0,64 \pm 1,46$	$-1,00 \pm 1,18$
• ultradisztális	$+0,54 \pm 1,08$	$+0,41 \pm 1,10$	$+0,84 \pm 1,00$	$+0,53 \pm 1,07$
• disztális 1/3	$-0,75 \pm 1,02$	$-0,71 \pm 1,75$	$-0,56 \pm 1,67$	$-0,72 \pm 1,33$

Adatok bemutatása: átlag $\pm$ SD

6.3.1 A klinikai paraméterek és a csontsűrűség, valamint a csonttörések közötti összefüggések

A 68 vizsgált beteg közül 24 (35%) szenvedett el a diagnózist megelőző 5 évben csonttörést (23 vertebrális és 25 nem-vertebrális csonttörés) (10. táblázat [58. oldal]).

Szignifikáns pozitív korrelációt találtunk a BMI és a BMD z-score között az ágyéki gerincen ($r=0,24$, $p=0,049$), a teljes femuron ($r=0,33$, $p=0,008$), valamennyi femur szubrégióban (nyak, $r=0,32$, $p=0,009$; trochanter, $r=0,254$, $p=0,041$; intertrochanter, $r=0,333$, $p=0,007$) és az ultradisztális radiuson ($r=0,38$, $p=0,003$). Nem találtunk összefüggést a szérumban a kortizol koncentrációk (08:00 h, 24:00 h, kis dózisú dexamethason után) és a BMD között, sem az Cushing-szindrómás betegek egyes alcsoportjaiban, sem a betegek összevont csoportjában (adatokat nem mutatom).

A csonttörésen átesett betegek a nem töröttekhez viszonyítva idősebbek voltak ($44,6 \pm 15,0$ év vs. $35,2 \pm 11,5$ év, $p=0,007$), becsült betegségtartamuk hosszabb ($4,91 \pm 4,25$ év vs. $2,83 \pm 1,86$ év, $p=0,034$), BMD z-score értékük alacsonyabb volt a teljes radiuson ($-1,57 \pm 0,94$ vs. $-0,63 \pm 1,24$, $p=0,002$), a disztális 1/3 radiuson ($-1,30 \pm 1,37$ vs. $-0,38 \pm 1,24$, $p=0,011$) és az intertrochanterikus régióban ($-0,93 \pm 0,72$ vs. $-0,46 \pm 0,97$, $p=0,045$), de nem különbözött a lumbális gerincen, a femur egyéb szubrégióiban és az ultradisztális radiuson. A csonttörésen átesett és a nem törött betegek között nem találtunk különbséget a szérum kortizol koncentrációkban (08:00 h, 24:00 h, kis dózisú dexamethason után), testsúlyban és BMI-ben, valamint a menopausalis statusban.

6.3.2 A csontok ásványi anyagtartalmának és vetületi felszínének változása a Cushing-szindróma gyógyulását követően

Az endogén hiperkortizolizmus megszűnését követően 4 éven át a BMC folyamatos növekedését észleltük az ágyéki gerincen és a teljes femuron. Az ágyéki gerincen észlelt BMC-növekedés a kiindulási érték 20-25%-át érte el (12. táblázat [61. oldal] és 7. ábra [62. oldal]). A posztoperatív 4. évben a gerinc és teljes femur BMD lényegében nem különbözött a referencia populációtól (8. ábra, B panel [62. oldal]).

12. táblázat Cushing-szindrómás betegek kiindulási és a gyógyulás utáni betegkövetés során DEXA-val mért paramétereit. A csontok vetületi felszíne, ásványianyag tartalma, sűrűsége és BMD z-score-ja.

	Kiindulás	Változás a kiinduláshoz viszonyítva			
	(n=26)	Első év (n=21)	Második év (n=11)	Harmadik év (n=9)	Negyedik év (n=6)
Lumbalis 1-4 csigolya					
area (cm ²)	57,03 ± 7,76	+1,25 ± 2,06 *	+3,74 ± 1,43 ***	+3,74 ± 1,44 ***	+3,79 ± 2,26 **
BMC (g)	50,16 ± 12,63	+4,20 ± 4,32 ***	+10,71 ± 5,30 ***	+9,71 ± 7,35 **	+12,75 ± 6,07 **
BMD (g/cm ²)	0,87 ± 0,12	+0,05 ± 0,56 ***	+0,11 ± 0,06 ***	+0,13 ± 0,10 **	+0,16 ± 0,08 **
z-score	-1,49 ± 1,11	+0,48 ± 0,50 ***	+1,18 ± 0,49 ***	+1,22 ± 0,93 **	+1,42 ± 0,73 **
Teljes prox. femur					
area (cm ²)	34,94 ± 5,46	+0,59 ± 1,03 *	+0,88 ± 0,93 *	+0,98 ± 1,52	0,00 ± 1,21
BMC (g)	29,67 ± 8,64	+0,78 ± 1,81	+2,65 ± 2,07 **	+2,44 ± 2,45 *	+3,56 ± 2,20 *
BMD (g/cm ²)	0,84 ± 0,15	+0,01 ± 0,04	+0,05 ± 0,03 ***	+0,04 ± 0,05 *	+0,10 ± 0,06 *
z-score	-0,90 ± 1,22	+0,16 ± 0,31 *	+0,42 ± 0,23 **	+0,51 ± 0,30 **	+0,80 ± 0,34 **
Femur-nyak					
area (cm ²)	5,16 ± 0,51	+0,05 ± 0,25	+0,08 ± 0,40	+0,19 ± 0,35	+0,06 ± 0,24
BMC (g)	3,79 ± 0,72	+0,04 ± 0,35	+0,29 ± 0,27 *	+0,38 ± 0,26 **	+0,30 ± 0,37
BMD (g/cm ²)	0,73 ± 0,12	+0,00 ± 0,05	+0,04 ± 0,05 *	+0,04 ± 0,04 *	+0,04 ± 0,07
z-score	-1,02 ± 1,12	+0,11 ± 0,44	+0,32 ± 0,32 *	+0,64 ± 0,31 **	+0,56 ± 0,61
Teljes radius					
area (cm ²)	25,17 ± 5,27	-0,47 ± 0,88 *	-0,38 ± 0,77	-0,24 ± 0,66	+0,08 ± 0,6
BMC (g)	13,30 ± 4,78	-0,77 ± 0,69 ***	-0,82 ± 0,85 *	-0,34 ± 0,49	-0,22 ± 1,16
BMD (g/cm ²)	0,52 ± 0,09	-0,02 ± 0,02 ***	-0,02 ± 0,02 **	-0,01 ± 0,02	-0,01 ± 0,04
z-score	-0,98 ± 1,35	-0,35 ± 0,36 ***	-0,37 ± 0,37 *	-0,10 ± 0,29	-0,10 ± 0,57
Ultradisztális radius					
area (cm ²)	5,91 ± 0,72	-0,20 ± 0,42 *	-0,04 ± 0,38	+0,02 ± 0,46	+0,04 ± 0,15
BMC (g)	2,66 ± 0,66	-0,23 ± 0,22 ***	-0,21 ± 0,19 **	-0,12 ± 0,23	+0,00 ± 0,15
BMD (g/cm ²)	0,45 ± 0,07	-0,02 ± 0,02 ***	-0,03 ± 0,03 **	-0,02 ± 0,03	-0,00 ± 0,02
z-score	+0,48 ± 1,15	-0,43 ± 0,44 ***	-0,54 ± 0,49 **	-0,30 ± 0,53	+0,04 ± 0,46
Radius 1/3					
area (cm ²)	4,95 ± 0,93	-0,06 ± 0,12 *	-0,02 ± 0,16	-0,01 ± 0,17	0,00 ± 0,15
BMC (g)	3,26 ± 0,99	-0,13 ± 0,12 ***	-0,13 ± 0,16 **	-0,03 ± 0,10	-0,04 ± 0,24
BMD (g/cm ²)	0,65 ± 0,11	-0,02 ± 0,02 **	-0,20 ± 0,02 *	-0,01 ± 0,02	-0,01 ± 0,03
z-score	-0,65 ± 1,43	-0,27 ± 0,38 **	-0,26 ± 0,37	-0,10 ± 0,41	-0,07 ± 0,49
Testsúly (kg)					
	82,96 ± 19,21	-4,19 ± 3,77 ***	-4,85 ± 2,82 **	-3,97 ± 2,70 **	-3,20 ± 3,34 *

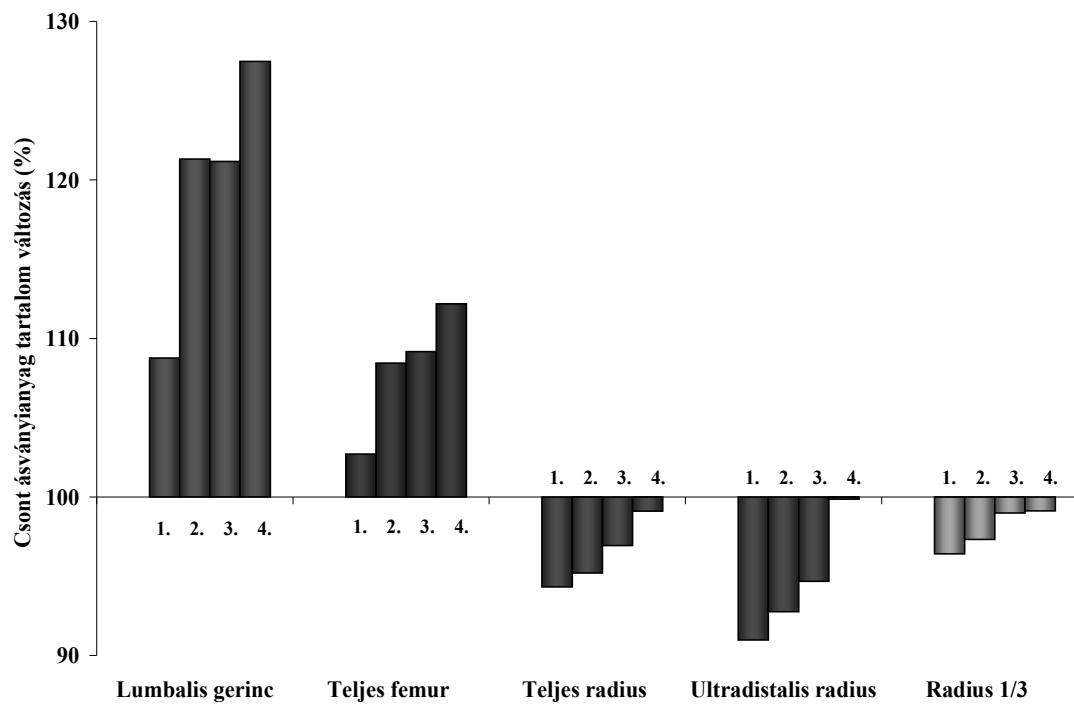
Adatok bemutatása: átlag ± SD

BMC: csont ásványianyag tartalom, BMD: csontsűrűség, radius 1/3: a radius disztális harmadolópontja

* p < 0,05 követéses adat vs. kiindulás

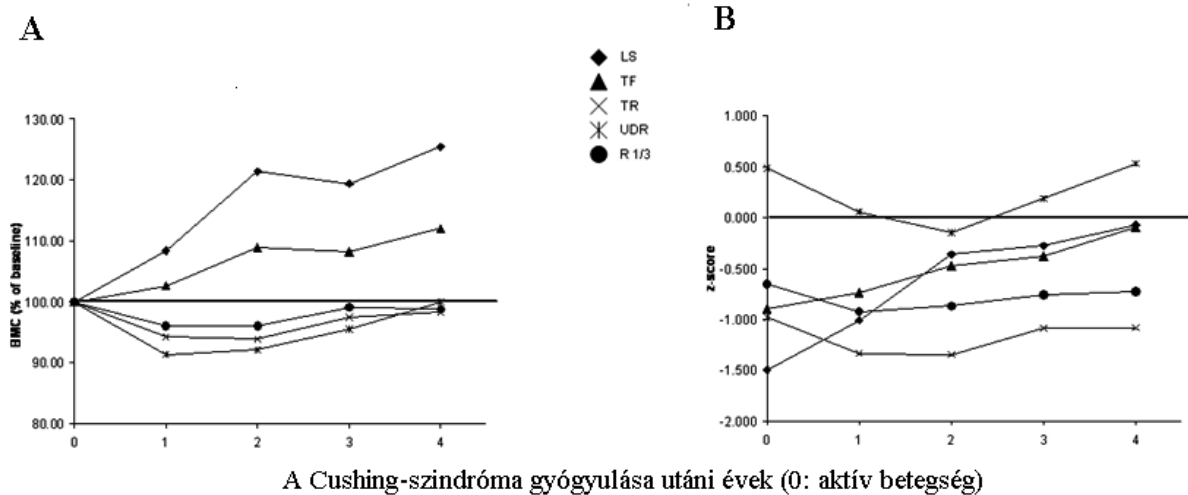
** p < 0,01 követéses adat vs. kiindulás

*** p < 0,001 követéses adat vs. kiindulás



7. ábra A csont ásványianyag tartalom változása a Cushing-szindróma gyógyulása után 1, 2, 3 és 4 évvel, a betegség aktív szakaszában mért értékhez (100%) viszonyítva (a 12. táblázatban szereplő adatokból (BMC) szerkesztett oszlopdiagramm).

Radius 1/3: a radius disztális harmadolópontja



8. ábra Csont ásványianyag tartalom (BMC – A panel) és BMD z-score értékek (B panel).

Cushing-szindrómás betegekben ill. a gyógyulásuk után 1., 2., 3. és 4. évvel nyert adatok átlagai.

A panel: 100% a betegség aktív szakaszában mért kiindulási BMC, B panel: z-score értékek.

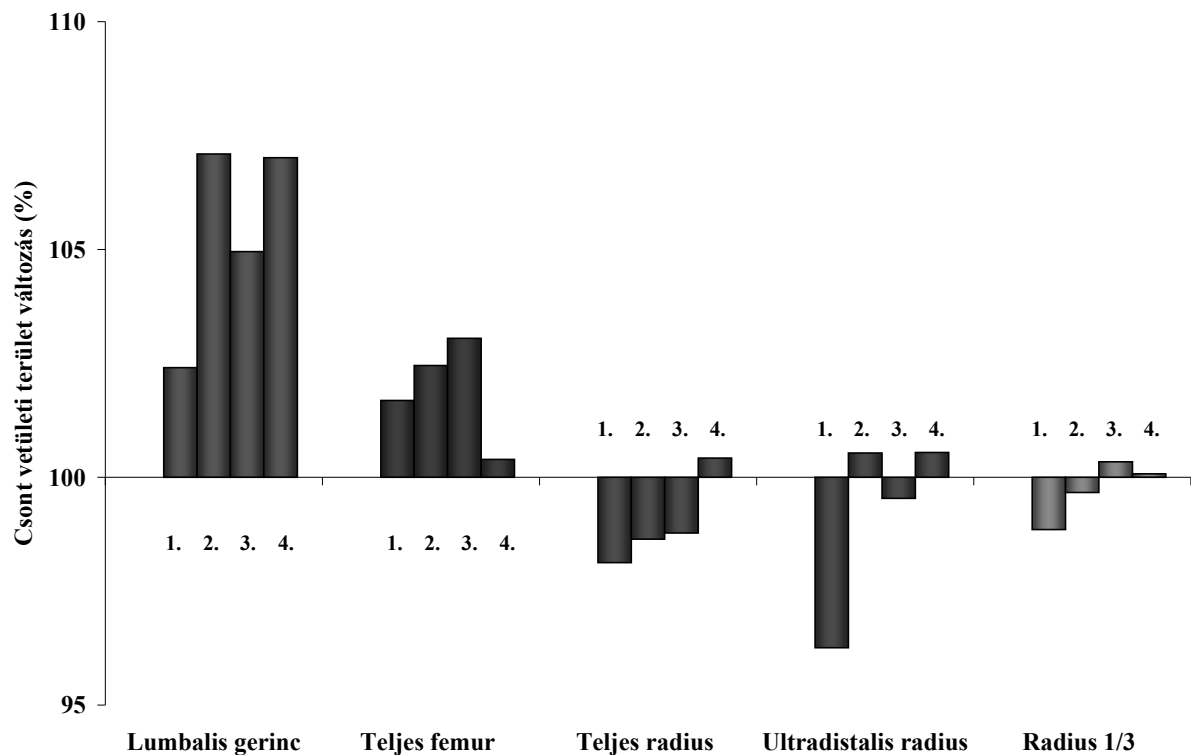
LS: lumbális 1-4 csigolyák; TF: teljes (proximális) femur, TR: teljes (disztális) radius, UDR: ultradisztális radius, R1/3: radius disztális harmadolópontja

Az ágyéki gerinctől eltérően, a teljes radiuson és a radius szubrégióiban szignifikáns BMC- és BMD-csökkenést mutattunk ki, a betegség gyógyulását követő első két esztendőben (12. táblázat [61. oldal] és 7. ábra [62. oldal]). A radius szubrégiói közül az ultradisztális radiuson mutattuk ki a legnagyobb mértékű (10%-ot megközelítő) csökkenést. A gyógyulást követő 3. és 4. évben a BMC a radiuson is növekedett, azonban még így sem érte el a betegség diagnózisakor mért értékeket és messze elmaradt a referencia populáció értékeitől (12. táblázat [61. oldal] és 8. ábra, B panel [62. oldal]).

A hiperkortizolizmus gyógyulása utáni ágyéki gerinc BMC növekedés és a teljes radius BMC csökkenése egymással szignifikánsan korrelált, mind az első ($r = -0,528$, $p = 0,008$), mind a 2. posztoperatív évben ($r = -0,604$, $p = 0,029$). A vizsgált paraméterek (életkor, nem, BMI változása) közül a BMI változása volt a műtét utáni BMC változások egyetlen független prediktora, mind az ágyéki gerincen ($r = -0,80$, $p = 0,00004$; $\beta = -0,71$), mind a teljes radiuson ($r = 0,60$, $p = 0,04$; $\beta = 0,38$), mind a radius disztális harmadoló pontján ($r = 0,58$, $p = 0,01$; $\beta = 0,52$).

A hiperkortizolizmus gyógyulását követően a vizsgált régiók vetületi felszíne szignifikánsan növekedett a lumbális gerincen és a teljes femuron, viszont szignifikánsan csökkent a radius valamennyi mérési helyén (12. táblázat [61. oldal] és 9. ábra [64. oldal]).

Egyetlen csonttörés sem történt a hiperkortizolizmus gyógyulását követően.



9. ábra A csontok vetületi felszínének változása a Cushing-szindróma gyógyulása után 1, 2, 3 és 4 évvel, a betegség aktív szakaszában mért értékhez (100%) viszonyítva (a 12. táblázatban [61. oldal] szereplő adatokból (area) szerkesztett oszlopdiagramm).

Radius 1/3: a radius disztális harmadolópontja

6.4 Egyszeri, kis dózisú dexamethason és egyszeri depot-ACTH hatása a szérumsontmarkerekre

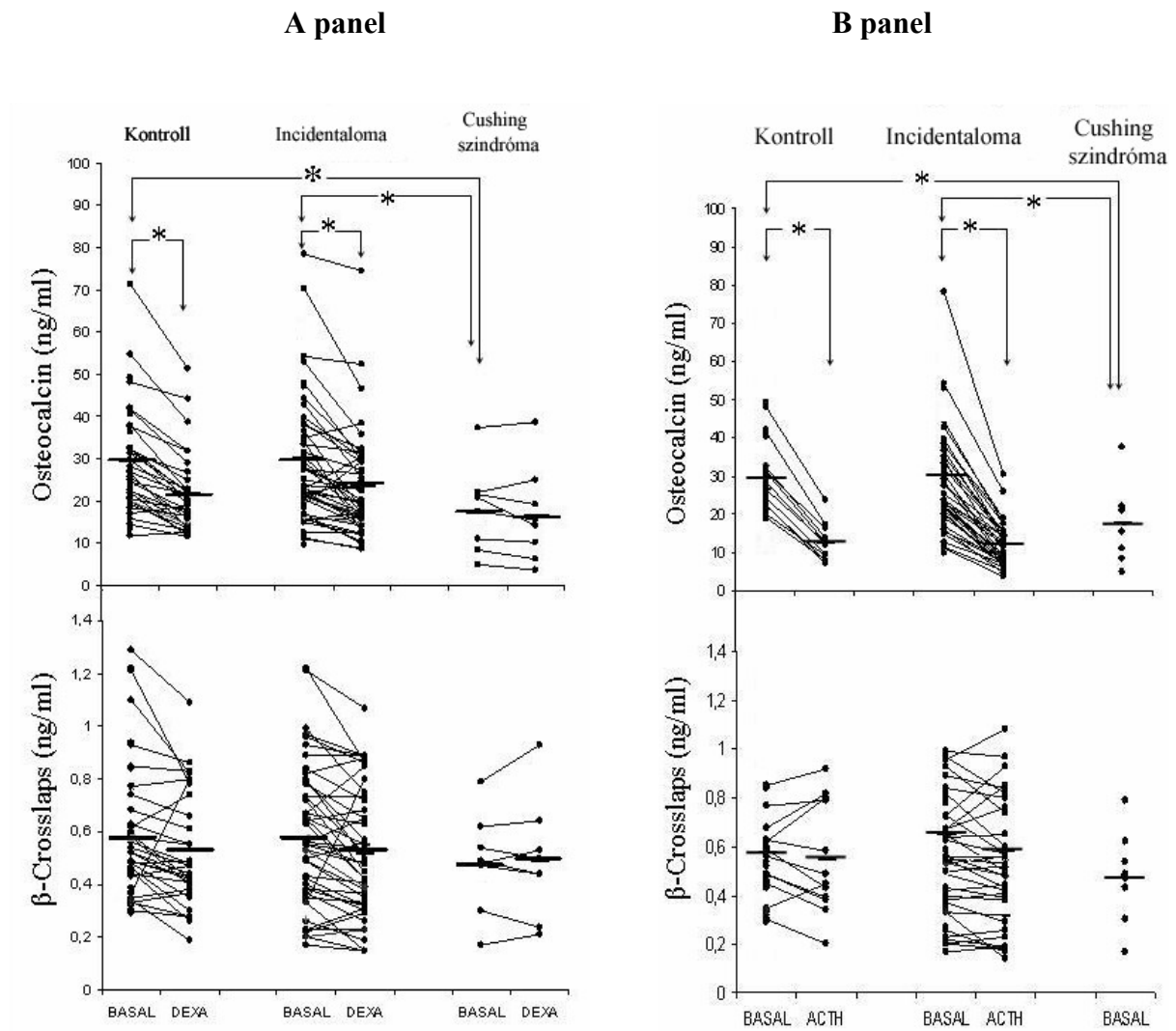
A vizsgált 3 csoport (egészséges egyének, hormonálisan inaktív mellékvese adenomás, valamint endogén Cushing-szindrómás betegek) szérumszorongortizol, szérumszorongOC és CTX diurnális ritmus vizsgálatának eredményeit, továbbá a kis dózisú dexamethason és a depot-ACTH adása utáni szérumszorongortizol koncentrációit a 13. táblázatban mutatom be [65. oldal].

13. táblázat Szérum kortizol, oszteokalcin (OC) és kollagén keresztkötés (CTX) diurnális ritmusa, egyszeri kis dózisú dexamethason és depot-ACTH hatása a szérum kortizol koncentrációjára egészséges egyéneken, hormonálisan inaktív mellékvese adenomás valamint Cushing-szindrómás betegeken.

	Egészséges kontroll csoport (n=40)	Hormonálisan inaktív mellékvese adenomás betegek (n=49)	Cushing szindrómás betegek (n=8)
Szérum kortizol (µg/dl)			
24:00 h	3,6 ± 2,3	4,3 ± 4,8	13,4 ± 9,4 *
08:00 h	11,8 ± 6,0	11,9 ± 4,5	23,9 ± 7,8 *
KDD után	1,5 ± 0,8	2,2 ± 1,3	11,9 ± 11,2 *
ACTH után	58,3 ± 19	79,3 ± 24,4 *	-
Szérum oszteokalcin (ng/ml)			
24:00 h	24,5 ± 7,0	31,1 ± 14,6	18,5 ± 12,0*
08:00 h	28,3 ± 12,2	29,8 ± 15,9	17,7 ± 9,6 *
Szérum CTX (ng/ml)			
24:00 h	0,5 ± 0,2	0,63 ± 0,45	0,49 ± 0,22
08:00 h	0,57 ± 0,25	0,65 ± 0,40	0,47 ± 0,17

Adatok bemutatása: átlag ± SD, * p < 0,05 betegek vs. egészséges kontroll; KDD: kis dózisú dexamethason

Kis dózisú dexamethason adását követően 8 órával a reggeli szérum OC szignifikánsan csökkent egészséges egyéneken (28,3±12,2-ről 21,8±9,5 ng/ml-re) és mellékvese incidentalomás betegeken (29,8±15,9-ről 24,1±14,1 ng/ml-re), míg a Cushing-szindrómára jellemző alacsony szérum OC koncentráció nem változott (10. ábra A-panel [66. oldal]). Depot-ACTH adása után 18 órával még ennél is alacsonyabb szérum OC koncentrációkat mértünk, mind egészségesekben (12,5±4,6 ng/ml), mind hormonálisan inaktív mellékvese adenomás betegeken (12,2±6,5 ng/ml) (10. ábra B-panel [66. oldal]). Nem észleltünk szignifikáns változást a szérum CTX koncentrációkban sem a kis dózisú dexamethason teszt során, sem pedig depot-ACTH adása után, egyik betegcsoportban sem.



10. ábra A szérumszerteokalcin (fent) és kollagén keresztkötés (β -Crosslaps, lent) koncentrációi a dexamethason teszt során (A panel), valamint depot-ACTH adása után (B panel) egészséges kontroll egyéneknél, hormonálisan inaktív mellékvese daganatos, valamint Cushing-szindrómás betegekben.

*statistikailag szignifikáns különbség ($p < 0,05$), BASAL=reggeli érték, DEXA=dexamethason utáni érték.

6.5 A csontépítés és csontbontás jellegzetességei Cushing-szindrómában és a betegség gyógyulását követően

Endogén Cushing-szindrómában szenvedő 87 beteg csontmarkereinek vizsgálatakor azt találtuk, hogy a betegekben a szérum OC szignifikánsan alacsonyabb volt, mint az életkorban és nemi összetételben statisztikailag nem különböző, 161 egészséges egyénből álló kontroll csoportban, míg a szérum CTX-ben nem volt különbség (14. táblázat).

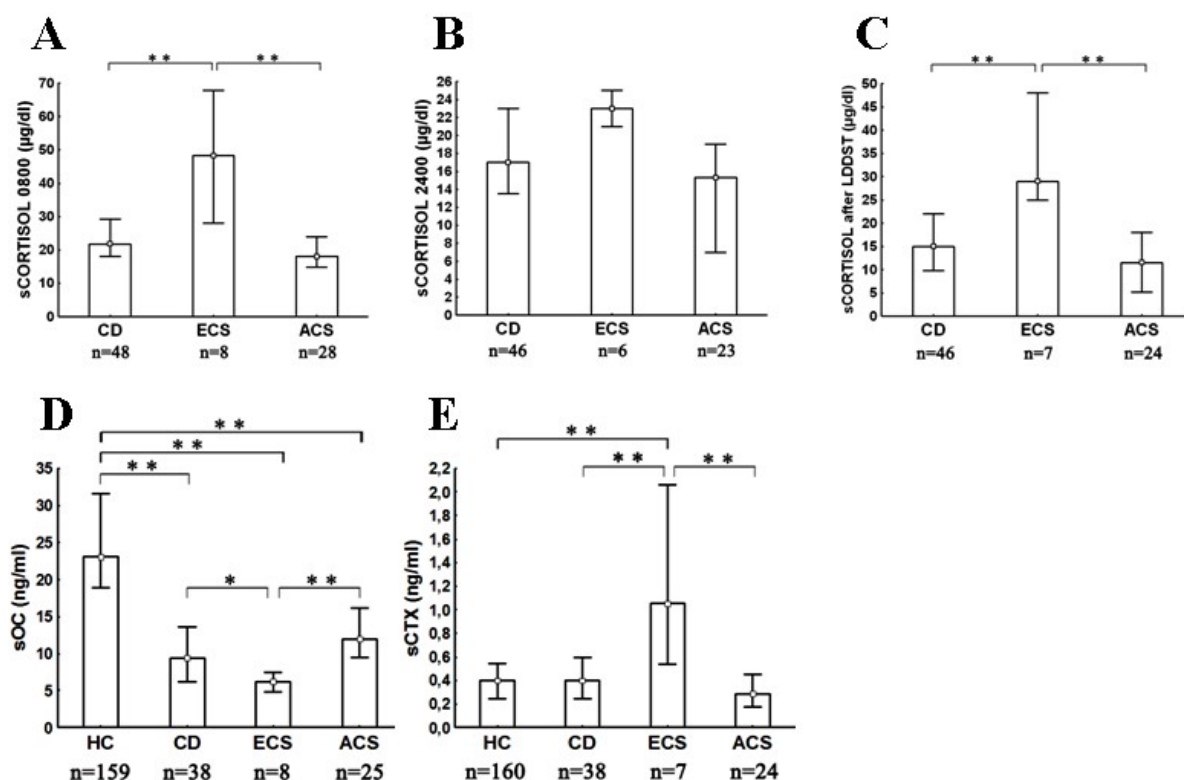
14. táblázat Demográfiai adatok, szérum kollagén keresztkötés (CTX) és oszteokalcin (OC) koncentrációk Cushing-szindrómában szenvedő betegekben, valamint egészséges kontroll személyekben.

	Egészséges kontroll csoport	Cushing-szindrómás betegek
Betegszám, n	161	87
Nő/férfi arány	118/43	69/18
Átlag életkor, év	44 (16-63)	37 (15-74)
BMI, kg/m²	24,1 (17,3-41,2)	29,4 (18,6-55,8) *
Szérum CTX, ng/ml	0,40 (0,01-1,32)	0,38 (0,05-2,82)
Szérum OC, ng/ml	23,1 (8,4-68,7)	9,9 (0,5-32,7) *

Az eredmények bemutatása: medián és szélső értékek.

*: p<0,001 vs. kontroll csoport

A Cushing-szindrómás betegek 3 alcsoportja (Cushing-kór, adrenális Cushing-szindróma, ektópiás Cushing-szindróma) közül az ektópiás Cushing-szindrómás betegek 08:00 órás és a kis dózisú dexamethason utáni szérum kortizol koncentrációja magasabb volt a másik két csoporténál. Az ektópiás Cushing-szindrómás betegek szérum OC koncentrációja szignifikánsan alacsonyabb, míg a szérum CTX koncentrációja szignifikánsan magasabb volt a másik két betegcsoporténál (11. ábra [68. oldal]).



11. ábra Reggeli (A panel), éjféli (B panel) és kis dózisú dexamethason utáni (C panel) szérumszékortizol koncentrációk Cushing-kóros, ektópiás Cushing-szindrómás és adrenális Cushing-szindrómás betegekben.

Szérumszékosteoalkalcin (D panel) és szérumszékollagén keresztkötés (E panel) koncentrációk Cushing-kóros, ektópiás Cushing-szindrómás és adrenális Cushing-szindrómás betegekben és egészséges kontroll személyekben.

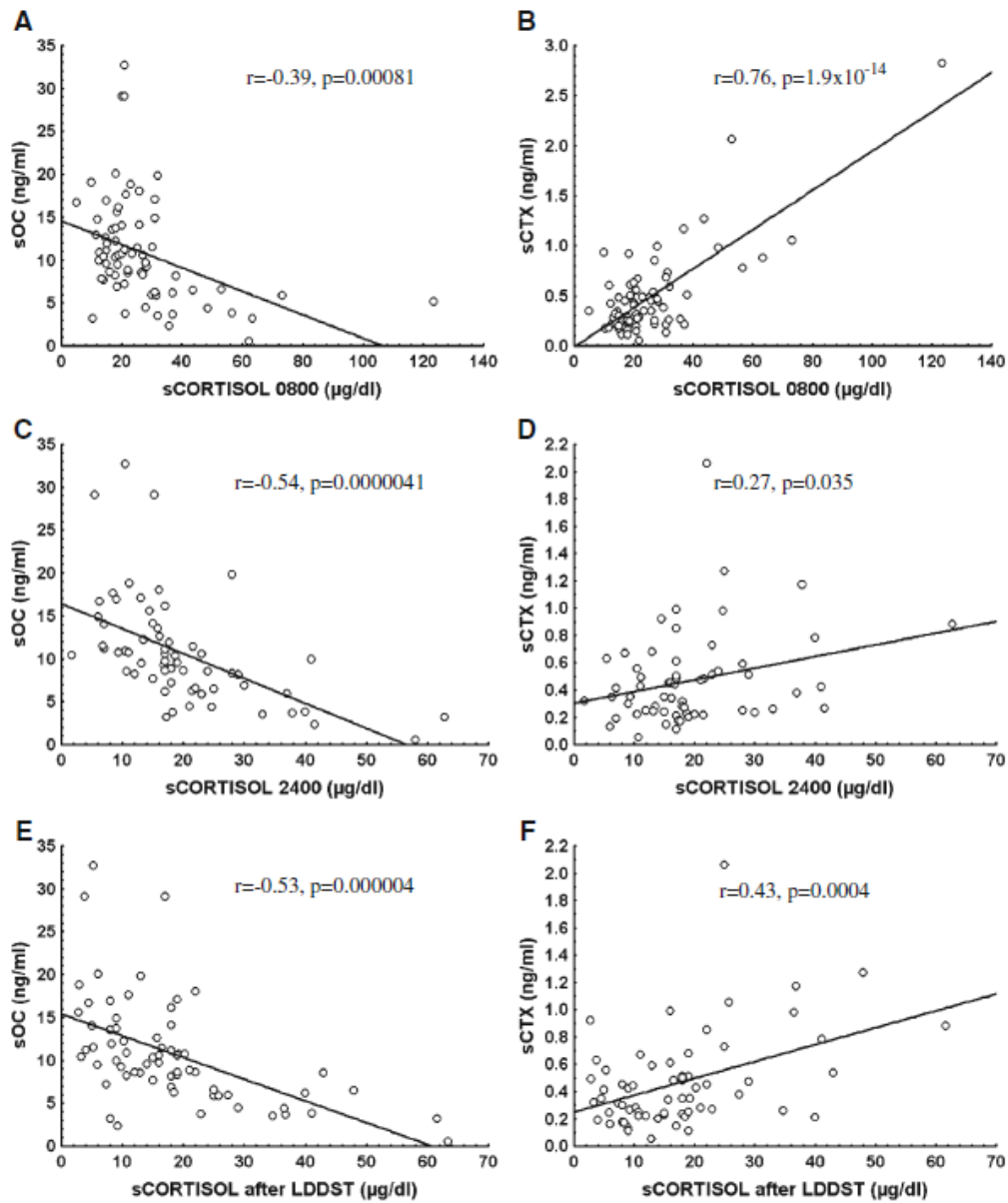
Eredmények bemutatása: medián és 25-75%-os percentilis.

CD: Cushing-kór, ECS: ektópiás Cushing-szindróma, ACS: adrenális Cushing-szindróma. HC: egészséges kontroll csoport, LDDST (low dose dexamethasone suppression test): kis dózisú dexamethason szuppressziós teszt, *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$

6.5.1 A csontmarkerek összefüggése a kortizol koncentrációval és a Cushing-szindróma egyes szövődményeivel

A szérumszék OC koncentrációk szignifikáns negatív korrelációt mutattak a reggeli ($r = -0,39$, $p < 0,001$), az éjféli ($r = -0,54$, $p < 0,001$) és a kis dózisú dexamethason után mért ($r = -0,53$, $p < 0,001$) szérumszékortizol koncentrációkkal. Ezzel szemben a szérumszék CTX szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a reggeli ($r = 0,76$, $p < 0,001$), az éjféli ($r = 0,27$,

$p=0,035$) és a kis dóziséú dexamethason adása utáni szérú kortizol koncentrációval ($r=0,43$, $p<0,001$) (12. ábra).



12. ábra Szérú oszteokalcin (sOC), valamint kollagén keresztökés (sCTX) és a szérú kortizol koncentrációk közötti lineáris korrelációk, Cushing-szindrómás betegekben.

A és B panelek: reggeli (08:00 h), C és D panelek: éjféli (24:00 h), E és F panelek: kis dóziséú dexamethason utáni szérú kortizol koncentrációk.

LDDST (low dose dexamethasone suppression test): kis dóziséú dexamethason szuppressziós teszt

A Cushing-szindróma szövődményei közül a csökkent glükóz tolerancia, a diabetes mellitus és a myopathia jelenléte, valamint a szérum OC koncentráció között szignifikáns összefüggést találtunk (15. táblázat). Nem találtunk ugyanakkor összefüggést a hipertónia és a csonttörések előfordulása, valamint a szérum OC között. A szérum CTX koncentráció az előbb említett 5 szövődmény egyikével sem mutatott összefüggést.

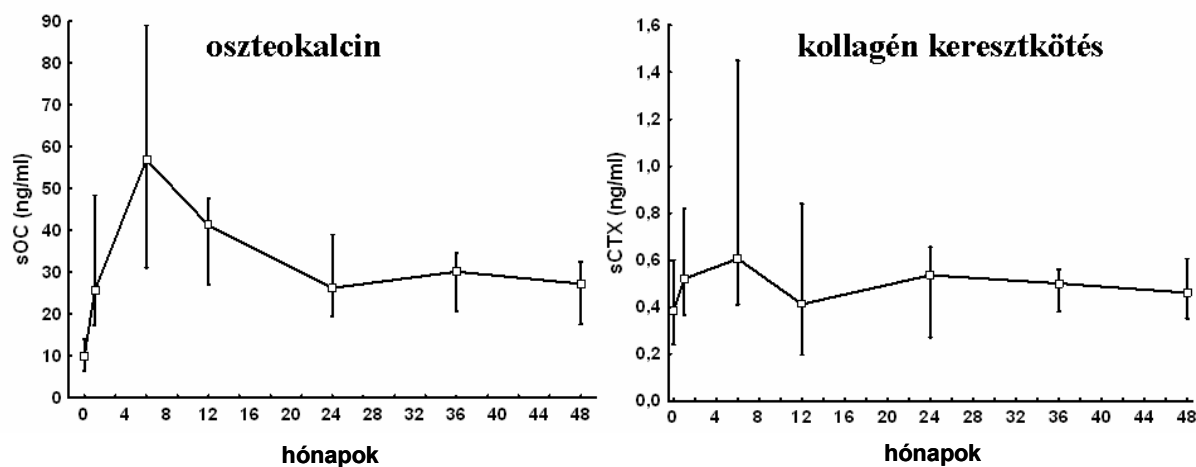
15. táblázat A szérum oszteokalcin (OC) összefüggése a Cushing-szindróma egyes részjelenéseivel.

	Szövődmény nincs van	(-) (+)	Szérum OC (ng/ml)	Szignifikancia
Csökkent glükóztolerancia	–		14,1±7,7	p=0,03
	+		8,6±4,0	
Diabetes mellitus	–		14,1±7,7	p=0,04
	+		9,9±5,1	
Myopathia	–		12,2±5,8	p=0,001
	+		8,3±6,3	
Hipertónia, csonttörések				NS

6.5.2 A csontmarkerek változása a Cushing-szindróma gyógyulását követően

A Cushing-szindróma műtéti kezelését követően, rendszerint a műtét utáni 5-14. napon elvégzett első vizsgálatkor a szérum OC szignifikáns emelkedését észleltük. A szérum OC emelkedés a csúcspontot a műtét utáni 6. hónapban érte el, a referencia tartomány felső határát jóval meghaladva. A hiperkortizolizmus megszűnése nem okozott statisztikailag értékelhető változást a szérum CTX koncentrációkban. A Cushing-szindróma gyógyulása

utáni 3. évtől a csontforgalom markerei nem különböztek az egészséges kontrolloktól (13. ábra).



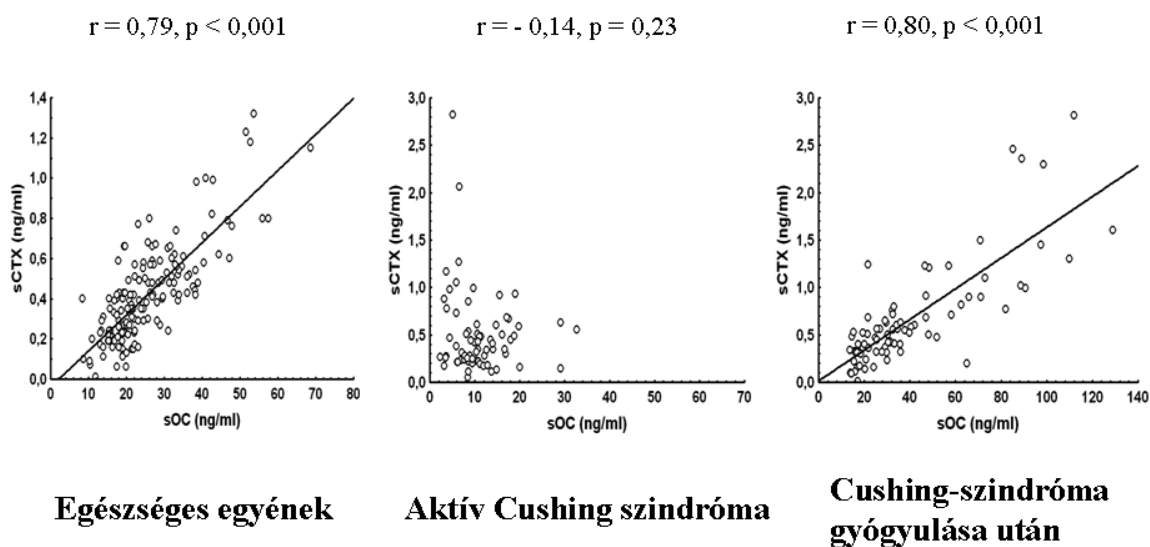
13. ábra A szérumszerteokalcin és kollagén keresztkötés koncentrációk időbeni változása a Cushing-szindróma gyógyulása után. A 0. hónap a Cushing-szindróma aktív szakaszát képviseli, a további értékek a gyógyulást eredményező műtéti beavatkozás utáni hónapokat jelzik.

Betegszám a 0, 1, 6, 12, 24, 36 és 48+ hónapokban: 71-23-19-12-8-5-12.

Eredmények bemutatása: medián és 25-75%-os percentilis.

6.5.3 A csontépítés és a csontbontás kapcsoltságának vizsgálata

A szérumszerteokalcin és CTX között nem volt kimutatható összefüggés a betegség aktív szakaszában, míg a betegség gyógyulását követően a két folyamat egymással szoros, pozitív korrelációt mutatott ($r = 0,80$, $p < 0,001$), hasonlóan az egészséges kontroll egyénekhez ($r = 0,79$, $p < 0,001$) (14. ábra [72. oldal]).

14. ábra A szérumszteokalcin (sOC) és kollagén keresztkötés (sCTX) közötti korreláció

egészséges egyéneknél, a Cushing-szindróma aktív stádiumában, valamint a betegség gyógyulása után.

A szérumszteokalcin diagnosztikus értékét a Cushing-szindróma diagnózisában két tanulmányban is vizsgáltuk. A most tárgyalt vizsgálat (*A. vizsgálat*, Szappanos és mtsai, Osteoporos Int, 2010) adatainak történt ROC analízis eredményeit a *B. vizsgálat* eredményeivel együtt, a 6.6.2 fejezetben mutatom be [77. oldal].

6.6 A nyál kortizol és a szérumszteokalcin meghatározás értékének vizsgálata a Cushing-szindróma diagnosztikájában

6.6.1 A nyál kortizol meghatározás diagnosztikus értékének vizsgálata

A végső endokrinológiai diagnózis szerint kialakított 4 betegcsoport (manifeszt Cushing-szindróma <A csoport>, szubklinikai Cushing-szindróma <B csoport>, hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenoma <C csoport>, hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely rendellenesség nincs <D csoport>) betegeknek legfontosabb demográfiai és endokrinológiai adatait a 16. táblázat tartalmazza [73. oldal].

16. táblázat A vizsgált betegek legfontosabb klinikai adatai és a hormonvizsgálatok eredményei.

Megbetegedés	A csoport	B csoport	C csoport	D csoport
	Cushing-szindróma	Szubklinikus Cushing-szindróma	Hormonálisan inaktív mellékvese adenoma	HHM tengely rendellenesség nem igazolható
Betegek száma, n	23	18	40	70
Nők aránya (%)	83	83	83	70
Életkor (év) (min-max)	47,0 ± 12,6 (29,6-69,5)	58,6 ± 11,0 (26,7-79,0)	59,1 ± 10,1 (36,2-84,0)	31,9 ± 14,9 (8,2-67,0)
BMI (kg/m ²) (min-max)	29,8 ± 7,0 (21,3-43,1)	32,3 ± 6,1 (24,2-46,7)	34,1 ± 8,3 (22,0-55,3)	33,3 ± 8,6 (20,7-63,3)
Elhízottak aránya, BMI>30 kg/m ² , (%)	38	55	69	38
Súlyosan elhízottak aránya, BMI>40 kg/m ² , (%)	14	6	19	20
Nyál kortizol, 24:00 h (µg/dl)	1,17 ± 1,34	0,35 ± 0,21	0,16 ± 0,10	0,14 ± 0,12
Nyál kortizol, 08:00 h (µg/dl)	0,67 ± 0,46	0,81 ± 0,52	0,61 ± 0,48	0,47 ± 0,39
Szérum kortizol, 24:00 h (µg/dl)	25,14 ± 14,99	7,81 ± 4,66	3,82 ± 3,00	3,60 ± 3,77
Szérum kortizol, 08:00 h (µg/dl)	26,94 ± 13,48	15,84 ± 7,27	14,82 ± 6,90	16,78 ± 6,59
Vizelet kortizol ürítés (nmol/24 h)	1270 ± 1346	172 ± 208	101 ± 64	125 ± 99
Szérum kortizol, KDD után (µg/dl)	25,44 ± 17,26	3,41 ± 2,00	1,89 ± 3,35	0,61 ± 1,05
Szérum oszteokalcin (ng/ml)	8,35 ± 4,32	16,24 ± 4,96	18,12 ± 5,73	21,55 ± 11,84

Adatok bemutatása: átlag ± SD,

HHM: hypothalamus-hypophysis-mellékvese; KDD: kis dózisú dexamethason

A 23 Cushing-szindrómás betegből („A” csoport) 11-nél ACTH termelő hypophysis adenomát, 2 betegnél ektópiás Cushing-szindrómát, 8 beteg esetében mellékvese eredetű Cushing-szindrómát diagnosztizáltunk. A „D” csoport betegek között a végső diagnózis simplex obezitás, esszenciális hipertónia, policisztás ovárium szindróma, idiopáthiás hirsutismus és oszteoporózis voltak. Minden betegcsoportban jelentős volt az elhízottak aránya. Az A-D betegcsoportokban talált nyál kortizol és szérum OC koncentrációk statisztikai összehasonlításának eredményeit a 17. táblázat tartalmazza.

17. táblázat A 16. táblázat [73. oldal] A-D betegcsoportjai nyál kortizol és szérum oszteokalcin koncentrációi közötti különbségek statisztikai értékelése (p értékek)

	A-B	A-C	A-D	B-C	B-D	C-D
Nyál kortizol, 24:00 h	<0,0001	<0,0001	<0,0001	1,000	0,805	1,000
Nyál kortizol, 08:00 h	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Szérum oszteokalcin	0,044	0,002	<0,0001	1,000	0,324	0,947

Az „A” csoport (manifeszt Cushing-szindróma) 24:00 órás nyál kortizol koncentrációja az összes többi csoporthoz viszonyítva magasabb volt, míg a többi csoporté nem különbözött egymástól. A 08:00 órás nyál kortizol koncentrációkban nem volt különbség a négy betegcsoport között. Az „A” csoport szérum OC koncentrációja az összes többi csoporténál alacsonyabb volt, a „B” csoport (szubklinikai Cushing-szindróma) szérum OC koncentrációja azonban nem különbözött a „C” és a „D” csoportokétól. A „C” és a „D” csoportok 08:00 és 24:00 h-s szérum és nyál kortizol koncentrációi és a napi vizelet kortizol ürítése nem különbözött egymástól. A „C” és „D” csoport betegeinek összevonásával képzett csoportot tekintettük kontroll csoportnak (összesen 110 beteg) a következő bekezdésben leírt ROC vizsgálathoz.

A Cushing-szindróma diagnosztikájában használt ill. vizsgált módszerek ROC analízis során nyert paramétereit a 18. táblázat (Cushing-szindróma) és a 19. táblázat (szubklinikai Cushing-szindróma) [76. oldal] tartalmazzák, a ROC görbéket a 16. ábrán (manifeszt Cushing-szindróma [79. oldal]) és a 17. ábrán (szubklinikai Cushing-szindróma [80. oldal]) mutatom be. Manifeszt Cushing-szindrómás betegeknek a kontroll csoporttól való elkülönítésének vizsgálatakor nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a 24:00 órás nyál kortizol, 24:00 órás, valamint a kis dózisú dexamethason adása utáni szérumszékély kortizol, valamint a 24 órás vizelet kortizol ürítés között (18. táblázat [75. oldal]). A szubklinikai Cushing-szindróma laboratóriumi diagnosztikájában valamennyi vizsgált paraméter teljesítőképessége –a Cushing-szindrómához viszonyítva- jelentősen alacsonyabb volt (19. táblázat [76. oldal]).

18. táblázat Az egyes laboratóriumi tesztek diagnosztikai értéke a Cushing-szindróma és a kontroll csoport elkülönítésében.

	Elvágási határ	ROC görbe alatti terület (95% CI)	Szenzitivitás (%)	Specifitás (%)
Nyál kortizol, 24:00 h (µg/dl)	0,36	0,9790 (0,956-1,003)	91,3	94,5
Nyál kortizol, 08:00 h (µg/dl)	0,46	0,6130 (0,393-0,833)	66,7	54,8
Szérum kortizol, 24:00 h (µg/dl)	11,3	0,9940 (0,983-1,004)	95,7	94,8
Szérum kortizol, 08:00 h (µg/dl)	20,3	0,7790 (0,679-0,879)	60,9	74,5
Vizelet kortizol ürítés (nmol/24 h)	371	0,9950 (0,986-1,005)	94,7	97,8
Szérum kortizol, KDD után (µg/dl)	7,1	0,9930 (0,980-1,007)	100,0	98,7
Szérum oszteokalcin (ng/ml)	12,9	0,9220 (0,860-0,984)	90,9	75,5

KDD: kis dózisú dexamethason

19. táblázat Az egyes laboratóriumi tesztek diagnosztikai értéke a szubklinikai Cushing-szindróma és a kontroll csoport elkülönítésében.

	Elvágási határ	ROC görbe alatti terület (95% CI)	Szenzitivitás (%)	Specifitás (%)
Nyál kortizol, 24:00 h (µg/dl)	0,24	0,8140 (0,694-0,934)	72,2	81,8
Nyál kortizol, 08:00 h (µg/dl)	0,52	0,6940 (0,451-0,936)	75,0	61,2
Szérum kortizol, 24:00 h (µg/dl)	4,1	0,8240 (0,731-0,917)	87,5	73,4
Szérum kortizol, 08:00 h (µg/dl)	16,0	0,4680 (0,331-0,604)	44,4	58,4
Vizelet kortizol ürítés (nmol/24 h)	105	0,5830 (0,412-0,754)	61,5	55,6
Szérum kortizol, KDD után (µg/dl)	1,66	0,8430 (0,740-0,947)	88,2	81,0
Szérum oszteokalcin (ng/ml)	15,7	0,3890 (0,228-0,550)	46,3	36,7

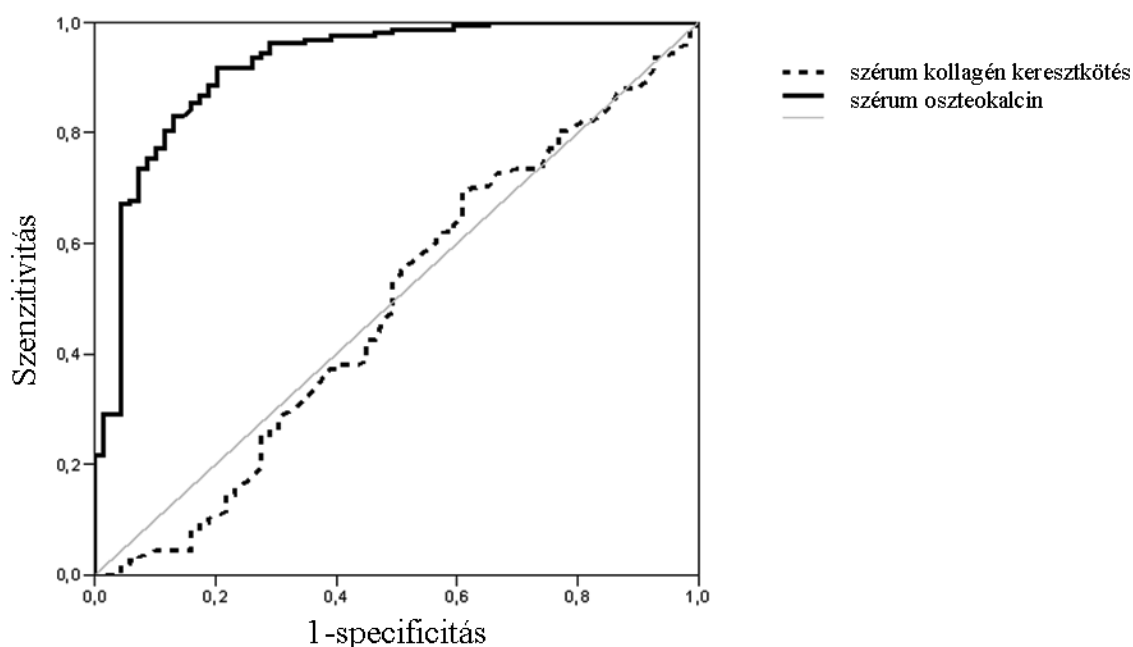
KDD: kis dózisú dexamethason

6.6.2 A szérum csontmarkerek diagnosztikus értékének vizsgálata

A szérumszintek diagnosztikus értékét a Cushing-szindróma diagnózisában két tanulmányunkban vizsgáltuk (A. vizsgálat, Szappanos és mtsai, Osteoporos Int, 2010; B. vizsgálat, Sereg és mtsai, Steroids, 2010). A két közlemény betegek és kontroll csoportjai között nem volt átfedés.

A. vizsgálat (Szappanos és mtsai, Osteoporos Int, 2010)

A szérumszintek OC és CTX hatékonyságát a Cushing-szindrómás betegeknek az egészséges kontrolloktól való elkülönítésében 71 manifest endogén Cushing-szindrómás beteg és 161 egészséges egyén (a kontroll- és a betegcsoport részletes leírását a 4.5 fejezet [39. oldal] tartalmazza) szérumszintjének ROC analízisével tanulmányoztuk. A szérumszint OC ROC görbe alatti területe 0,9227 volt (95% CI, 0,8822-0,9632) (15. ábra).



15. ábra A szérumszint oszteokalcin és kollagén keresztkötés diagnosztikus értéke aktív Cushing-szindrómás betegek és egészséges egyének elkülönítésére, ROC görbék formájában

Ha a szérumszint OC elvágható értékének a 15 ng/ml-t választjuk, saját betegeink és saját kontroll csoportunk eredményei alapján a szérumszint OC szenzitivitása 80%, specifitása 92%. A szérumszint OC szenzitivitását és specifitását a Cushing-szindróma diagnosztikájában gyakran alkalmazott két teszttel –a kis dózisú dexamethason tesztnek három különböző, gyakran használt elvágható határát is vizsgálva- a 20. táblázatban hasonlítjuk össze. A 20. táblázatban szereplő szenzitivitás értékeket és a szérumszint OC specifitását saját betegeink eredményeiből

számoltuk, a zárójelben megadott specificitás értékeket egy nagy metaanalízisből vettük át (128).

20. táblázat A szérum oszteokalcin, a 24:00 h-s, valamint három különböző elvágási határ melletti, kis dózisú dxm utáni szérum kortizol meghatározás szenzitivitása és specificitása a Cushing-szindrómás és az egészséges egyének elkülönítésére.

Vizsgált teszt	Elvágási határ	Szenzitivitás (%)	Specificitás (%)
Szérum oszteokalcin (ng/ml)	15	80	92
Szérum kortizol, 24:00 (µg/dl)	7,5	90	(83-100)
Szérum kortizol, KDD után (µg/dl)	5,0	92	(92-98)
Szérum kortizol, KDD után (µg/dl)	3,6	95	(88-100)
Szérum kortizol, KDD után (µg/dl)	1,8	100	(57-100)

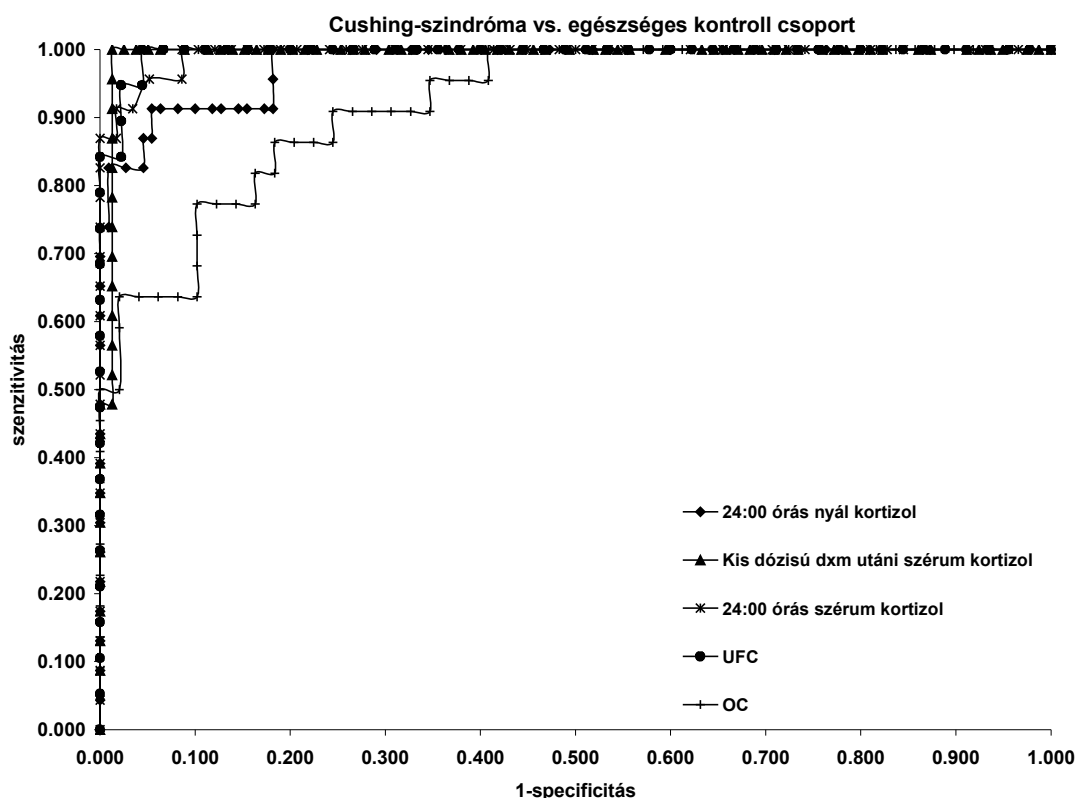
KDD: kis dózisú dexamethason

A zárójelben lévő specificitás értékek Elamin és mtsai metaanalíziséből származó adatok (128)

B. vizsgálat (Sereg és mtsai, Steroids, 2010)

A szérum OC diagnosztikus értékének további vizsgálata érdekében 23 manifeszt és 18 szubklinikai Cushing-szindrómás betegnek az eredményeit hasonlítottuk össze a 110 egyént tartalmazó kontroll-csoportéval (a kontroll- és a betegcsoport részletes leírását a 4.6 fejezet [40. oldal] tartalmazza).

A szérum OC diagnosztikus értékét vizsgálva a manifeszt Cushing-szindrómás betegeknek a kontroll csoporttól való elkülönítésére a ROC görbe alatti terület 0,9220 volt (16. ábra [79. oldal]).

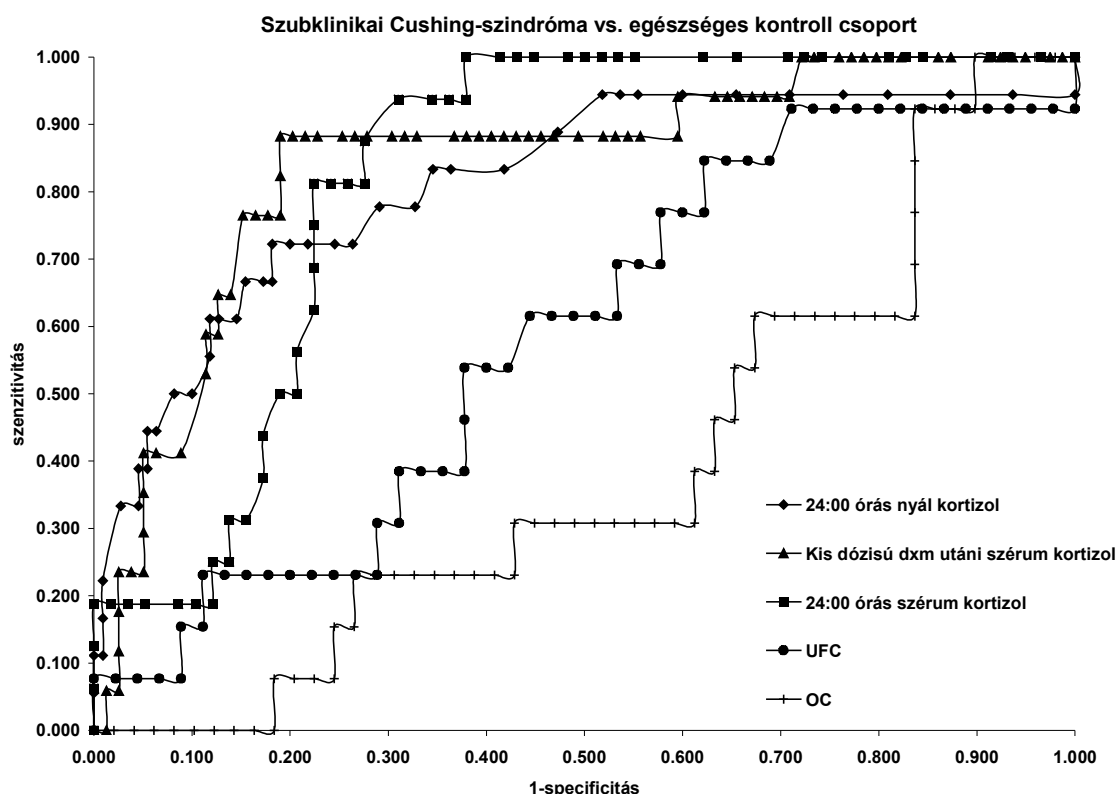


16. ábra 5 különböző laboratóriumi vizsgálat ROC görbéje a Cushing-szindróma vs. kontroll csoport elkülönítésére.

UFC: 24 órás vizelet kortizol ürítés, OC: szérums oszteokalcin

Nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbséget a szérums OC, a 24:00 óras nyál és szérums kortizol, valamint a kis dózisú dexamethason adása utáni szérums kortizol görbe alatti területe között (18. táblázat [76. oldal]). A manifest Cushing-szindrómás betegeknek a kontrollcsoporttól való elkülönítésére a 12,9 ng/ml-es szérums OC koncentrációt találtuk a legjobbnak, ahol a vizsgálat szenzitivitása 90,9%-nak, specificitása 75,5%-nak bizonyult. A szérums OC minden Cushing-szindrómás betegben $\leq 17,8$ ng/ml volt, ezzel szemben a kontroll egyének 60%-ában a szérums OC $> 17,8$ ng/ml.

Szubklinikai Cushing-szindrómának a kontroll csoporttól való elkülönítésére a szérums OC teljesítőképessége szignifikánsan alacsonyabb, mint a 24:00 óras nyál, valamint a 24:00 óras és a kis dózisú dexamethason adása utáni szérums kortizol teljesítőképessége (19. táblázat [76. oldal] és 17. ábra [80. oldal]).



17. ábra 5 különböző laboratóriumi vizsgálat ROC görbéje a szubklinikai Cushing-szindróma vs. kontroll csoport elkülönítésére.

UFC: 24 órás vizelet kortizol ürítés, OC: szérums oszteokalcin

6.6.3 A szérums oszteokalcin összefüggései egyéb laboratóriumi paraméterekkel

Manifeszt Cushing-szindrómás betegekben (A csoport) szignifikáns negatív korrrelációt találtunk a szérums OC és a 24:00 órás nyál kortizol ($r = -0,5421$, $p = 0,009$), a 24:00 órás ($r = -0,6397$, $p = 0,001$), a 08:00 órás ($r = -0,7340$, $p < 0,001$), valamint a kis dózisu dexamethason adása utáni szérums kortizol között ($r = -0,5421$, $p = 0,009$). A szérums OC nem korrrelált a 08:00 órás nyál, valamint a 24 órás vizelet kortizol ürítéssel. Nem találtunk összefüggést a szérums OC és egyetlen laboratóriumi paraméter között sem a B, C és D betegcsoportokban.

6.7 A GR gén genetikai variánsainak jelentősége a Cushing-szindróma megjelenésében és a glükokortikoid-indukált csontbetegségben

A GR gén BclI, N363S, ER22/23EK és A3669G genetikai variánsainak jelentőségét 60 endogén Cushing-szindrómában szenvedő betegnél és 129 egészséges kontroll személynél

vizsgáltuk. A vizsgált személyek legfontosabb demográfiai és hormonleleteit a 21. táblázatban mutatom be. A Cushing-szindrómás betegek mindkét csoportjának BMI-je a kontrollnál szignifikánsan nagyobb volt, a Cushing-kóros betegek fiatalabbak voltak, mind az adrenális Cushing-szindrómásokhoz, mindpedig az egészségesekhez viszonyítva. A Cushing-kóros betegek éjszakai és a kis dózisu dexamethason adása utáni szérumban kortizol koncentrációja szignifikánsan magasabb volt, mint az adrenális Cushing-szindrómás betegeké.

21. táblázat Cushing-kóros és adrenális Cushing-szindrómában szenvedő betegek és a kontroll személyek demográfiai adatai és a betegséget jellemző legfontosabb hormonvizsgálati eredményei.

	Cushing-kór	Adrenális Cushing- szindróma	Kontroll
Betegek száma, n	35	25	129
Nő/férfi arány	30/5	22/3	94/35
Átlag életkor, (év)	34,63 ± 12,97 ^{**} , ^a	46,88 ± 14,09	49,38 ± 14,95
BMI (kg/m²)	30,15 ± 5,38 ^a	30,09 ± 5,05 ^a	26,47 ± 4,70
Plazma ACTH, 08:00 h, (pg/ml)	141,83 ± 88,32 ^{**}	4,75 ± 5,38	-
Szérumban kortizol, 08:00 h, (µg/dl)	22,93 ± 11,16	17,93 ± 6,59	-
Szérumban kortizol, 24:00 h, (µg/dl)	19,15 ± 13,0 [*]	11,76 ± 6,74	-
Szérumban kortizol, KDD után, (µg/dl)	17,84 ± 10,73 [*]	12,33 ± 7,70	-

Eredmények bemutatása: átlag ± SD

*: p<0,05 vs. adrenális Cushing-szindróma, **: p<0,01 vs. adrenális Cushing-szindróma, ^a: p<0,01 vs. egészséges kontroll csoport, KDD: kis dózisu dexamethason

A lumbális és a femorális régiókban mért BMD, z- és t-score értékek a kontroll csoporthoz viszonyítva szignifikánsan alacsonyabbak voltak mind a Cushing-kóros, mind az adrenális Cushing-szindrómás betegeknél. A két betegcsoport oszteodenzitometriás paramétereiben nem volt szignifikáns különbség (az adatokat nem mutatom).

6.7.1 A GR gén polimorfizmusok allél-gyakorisága Cushing-szindrómás betegeknél és kontroll személyekben

A BclI, N363S, ER22/23EK és az A3669G genetikai variánsok allél gyakorisága nem mutatott szignifikáns különbséget a Cushing-kóros és az adrenális Cushing-szindrómás

betegek között. Az egyes betegcsoportokban a polimorf allélek gyakorisága nem különbözött a kontroll populációban észlelt gyakoriságtól sem (22. táblázat). A BclI és az A3669G variánsok genotípus eloszlása mindhárom csoportban megfelelt a Hardy-Weinberg egyensúlynak, az N363S és az ER22/23EK polimorfizmusok alacsony allél gyakorisága nem tette lehetővé a Hardy-Weinberg egyensúly értékelését.

22. táblázat GR gén polimorfizmusok allél-gyakorisága Cushing-kóros, adrenális Cushing-szindrómás és egészséges személyekben.

	Cushing-kór (n=35)		Cushing-szindróma (n=25)		Kontroll (n=129)	
	Genotípus megoszlás	Polimorf allél gyako- risága	Genotípus megoszlás	Polimorf allél gyako- risága	Genotípus megoszlás	Polimorf allél gyako- risága
BclI						
CC	10 (28,6%)	0,41	14 (56,0%)	0,26	54 (41,9%)	0,34
CG	21 (60,0%)		9 (36,0%)		61 (47,3%)	
GG	4 (11,4%)		2 (8,0%)		14 (10,8%)	
N363S						
AA	33 (94,3%)	0,03	23 (92,0%)	0,04	122 (94,6%)	0,03
AG	2 (5,7%)		2 (8,0%)		7 (5,4%)	
GG	0		0		0	
A3669G						
AA	22 (62,9%)	0,18	17 (68,0%)	0,16	82 (63,6%)	0,22
AG	13 (37,1%)		8 (32,0%)		37 (28,7%)	
GG	0		0		10 (7,7%)	
ER22/23EK						
GG	34 (97,1%)	0,014	25 (100%)	0,00	127 (98,4%)	0,01
GA	1 (2,9%)		0		2 (1,6%)	
AA	0		0		0	

6.7.2 GR gén polimorfizmusok, csontsűrűség és csontmarkerek közti összefüggések

A BclI polimorfizmust homozigóta formában hordozó Cushing-szindrómás betegek BMD z-score értéke a vad típust hordozó Cushing-szindrómás egyénekhez képest alacsonyabb volt a combnyakon ($-1,44 \pm 0,73$ vs. $-0,39 \pm 0,91$, $p < 0,05$) és a trochanterikus régióban ($-1,89 \pm 0,47$ vs. $-0,54 \pm 0,98$, $p < 0,05$). A BclI polimorfizmust homozigóta formában hordozó betegek szérum CTX koncentrációja szignifikánsan magasabb volt, mint a heterozigóta BclI és a vad típusú Cushing-szindrómás betegeké (23. táblázat [83. oldal] és 18. ábra [84. oldal]). A szérum OC nem különbözött az egyes BclI variánsok között.

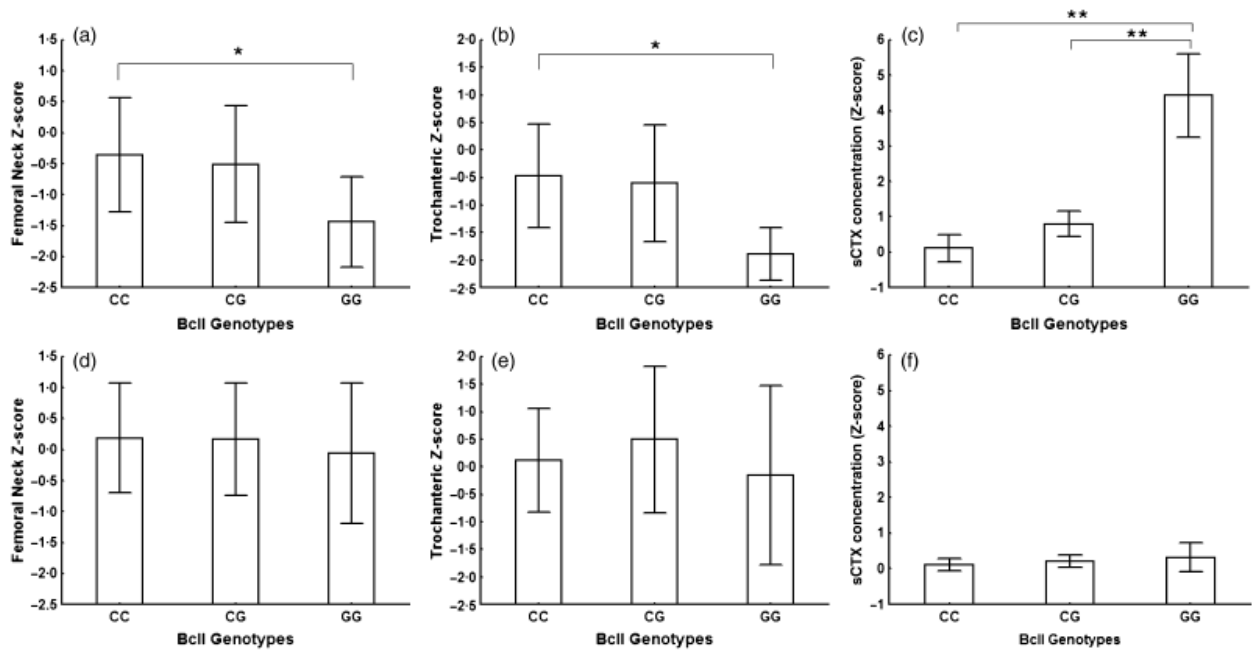
23. táblázat Cushing-szindrómás betegek oszteodenzitometriás paraméterei és szérumszint marker koncentrációi, a BclI polimorfizmus genotípusai szerinti bontásban.

	BclI genotípusok			
	CC	CG	GG	P*
Lumbalis 1-4 BMD, g/cm ²	0,883 ± 0,136	0,874 ± 0,115	0,833 ± 0,068	0,46 ^a
Lumbalis 1-4 Z-score	-0,98 ± 1,16	-1,11 ± 1,20	-1,85 ± 0,56	0,25
Lumbalis 1-4 T-score	-1,53 ± 1,24	-1,61 ± 1,06	-2,01 ± 0,64	0,64
Teljes femur BMD, g/cm ²	0,835 ± 0,130	0,847 ± 0,119	0,725 ± 0,018	0,25 ^a
Teljes femur Z-score	-0,54 ± 1,00	-0,53 ± 1,00	-1,74 ± 0,11	0,067
Teljes femur T-score	-0,94 ± 1,05	-0,87 ± 0,97	-1,86 ± 0,11	0,05
Femur-nyak BMD, g/cm ²	0,731 ± 0,124	0,743 ± 0,097	0,683 ± 0,081	0,19 ^a
Femur-nyak-score	-0,39 ± 0,91	-0,55 ± 0,94	-1,44 ± 0,73	0,048
Femur-nyak T-score	-1,13 ± 1,06	-1,08 ± 0,88	-1,61 ± 0,87	0,47
Intertrochanterikus BMD, g/cm ²	0,981 ± 0,156	1,000 ± 0,142	0,866 ± 0,052	0,32 ^a
Intertrochanterikus Z-score	-0,55 ± 1,00	-0,45 ± 0,91	-1,51 ± 0,20	0,10
Intertrochanterikus T-score	-0,82 ± 1,00	-0,74 ± 0,93	-1,62 ± 0,12	0,07
Trochanterikus BMD, g/cm ²	0,621 ± 0,104	0,621 ± 0,106	0,515 ± 0,041	0,25 ^a
Trochanterikus Z-score	-0,54 ± 0,98	-0,63 ± 1,07	-1,89 ± 0,47	0,049
Trochanterikus T-score	-0,88 ± 0,99	-0,90 ± 1,02	-1,98 ± 0,57	0,078
Szérumszint OC, ng/ml	11,77 ± 6,61	12,83 ± 9,05	17,77 ± 13,89	0,14 ^b
Szérumszint β-CTx, ng/ml	0,39 ± 0,26	0,44 ± 0,22	0,90 ± 0,32	0,005 ^b
Szérumszint β-CTx Z-score	+0,11 ± 1,47	+0,79 ± 1,67	+4,42 ± 2,37	0,0002

Adatok bemutatása: átlag ± tapasztalati szórás

P*: ANOVA /ANCOVA szignifikancia vizsgálat eredménye

^a: korra, nemre és BMI-re illesztve; ^b: korra és nemre illesztve



18. ábra Femur-nyak BMD z-score (a, d panelek), trochanterikus BMD z-score (b, e panelek), valamint kollagén keresztmets (CTX) z-score értékek (c, f panelek) Cushing-szindrómás (a, b, c panelek) és egészséges egyénekben (d, e, f panelek), a BclI genotípus szerinti bontásban.

Adatok ábrázolása: átlag $\pm$ szórás; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$

Egészséges kontroll egyénekben sem a BclI polimorfizmus, sem a többi *GR* variáns hordozása nem mutatott összefüggést egyetlen régióban sem a BMD-vel, sem pedig a szérums CTX és OC koncentrációkkal.

Nem találtunk statisztikailag szignifikáns összefüggést a vizsgált *GR* gén polimorfizmusok (BclI, N363S, ER22/23EK és A3669G) és a szérums kortizol koncentrációk (08:00 h, 24:00 h, kis dózisú dexamethason után), a szérums OC és CTX koncentrációk, a BMD, a csonttörések, valamint a betegség-tartam között.

6.8 A *HSD11B1* gén 83,557insA genetikai variánsának jelentősége a Cushing-szindróma megjelenésében és a glükokortikoid-indukált csontbetegségben

A *HSD11B1* gén 83,557insA variánsának jelentőségét 41 Cushing-kóros, 32 adrenális Cushing-szindrómás és 129 egészséges, hazai populációból származó személyben vizsgáltuk. A vizsgált személyek demográfiai adatait, a betegek legfontosabb hormonleleteteit a 24. táblázat, a csontsűrűségmérés és a csontmarker meghatározások összefoglaló adatait a 25. táblázat [86. oldal] tartalmazza.

24. táblázat Cushing-kóros, valamint adrenális Cushing-szindrómás betegek és kontroll személyek demográfiai adatai és hormon szintjei.

	Cushing-kór	Adrenális Cushing- szindróma	Egészséges kontroll
Betegek száma	41	32	129
Nő/férfi arány	35/6	27/5	94/35
Átlag életkor, év	34,46 ± 12,30 ^{**} , ^a	48,66 ± 13,60	49,38 ± 14,95
BMI, kg/m ²	30,53 ± 6,73 ^a	29,74 ± 5,84 ^a	26,47 ± 4,7
Plazma ACTH, 08:00 h, (pg/ml)	142,04 ± 133,28 ^{**}	5,34 ± 7,58	-
Szérum kortizol, 08:00 h, (µg/dl)	22,86 ± 11,32	19,48 ± 10,48	-
Szérum kortizol, 24:00 h, (µg/dl)	19,82 ± 13,27 [*]	14,31 ± 11,47	-
Szérum kortizol, KDD után (µg/dl)	17,82 ± 9,62	14,89 ± 11,67	-

Referencia tartomány: plazma ACTH: 20-70 pg/ml; 08:00 szérum kortizol: 8-25 µg/dl; 24:00 szérum kortizol: <5 µg/dl; kis dózisú dexamethason utáni szérum kortizol <2,0 µg/dl. Eredmények bemutatása: átlag ± tapasztalati szórás.

*: p<0,05 vs. adrenális Cushing-szindróma, **: p<0,01 vs. adrenális Cushing-szindróma

^a: p<0,01 vs. egészséges kontroll csoport

KDD: kis dózisú dexamethason

25. táblázat Cushing-kóros és mellékvese eredetű Cushing-szindrómás betegek és egészséges kontroll személyek oszteodenzitometriás vizsgálati eredményei és szérumszintjeik értékei.

	Cushing-kór	Adrenális Cushing- szindróma	Egészséges kontroll
Lumbalis 1-4 BMD, g/cm ²	0,878 ± 0,127**	0,863 ± 0,117**	1,051 ± 0,183
Lumbalis 1-4 Z-score	-1,21 ± 1,27**	-1,05 ± 1,12**	-0,12 ± 1,13
Teljes femur BMD, g/cm ²	0,843 ± 0,117**	0,833 ± 0,132**	0,997 ± 0,147
Teljes femur Z-score	-0,66 ± 1,01**	-0,48 ± 1,09	+0,11 ± 1,10
Femur-nyak BMD, g/cm ²	0,744 ± 0,105**	0,722 ± 0,119**	0,872 ± 0,114
Femur-nyak Z-score	-0,67 ± 0,97**	-0,36 ± 1,10*	+0,15 ± 0,97
Intertrochanterikus BMD, g/cm ²	0,988 ± 0,138 **	0,989 ± 0,164**	1,161 ± 0,167
Intertrochanterikus Z-score	-0,63 ± 0,89**	-0,41 ± 1,10	+0,11 ± 1,02
Trochanterikus BMD, g/cm ²	0,622 ± 0,104**	0,631 ± 0,108**	0,763 ± 0,123
Trochanterikus Z-score	-0,71 ± 1,13**	-0,54 ± 1,07*	+0,27 ± 1,16
Szérumszint OC, ng/ml	10,21 ± 5,39**	14,38 ± 9,95**	25,18 ± 9,86
Szérumszint CTX, ng/ml	0,47 ± 0,28	0,39 ± 0,22	0,44 ± 0,20

Eredmények bemutatása: átlag ± SD

*: p<0,05 vs. kontroll csoport, **: p<0,01 vs. kontroll csoport,

^a: p<0,05 vs. adrenális Cushing-szindróma

6.8.1 A 83,557insA variáns gyakorisága endogén Cushing-szindrómában szenvedő betegekben és kontroll személyekben

A 83,557insA genetikai variáns allél-gyakorisága nem mutatott szignifikáns különbséget a Cushing-kóros és az adrenális Cushing-szindrómás betegek, valamint a kontroll személyek között (26. táblázat [87. oldal]). A 83,557insA variáns genotípus eloszlása mindhárom csoportban megfelelt a Hardy-Weinberg egyensúlynak.

26. táblázat A *HSD11B1* gén 83,557insA polimorfizmusának genotípus megoszlása és allél gyakorisága Cushing-kóros, adrenális Cushing-szindrómás betegekben és egészséges kontroll személyekben.

	Cushing-kór (n=41)		Cushing-szindróma (n=32)		Kontroll (n=129)	
83,557insA	29	(70,7%)	23	(71,9%)	86	(66,7%)
-/-	11	(26,9%)	9	(28,1%)	40	(31,0%)
-/A	1	(2,4%)	0	(0%)	3	(2,3%)
A/A						
Polimorf allél gyakorisága	0,16		0,14		0,18	

Az egészséges kontroll populációban nem volt kimutatható összefüggés a 83,557insA polimorfizmus, valamint a BMI, lumbális és femorális régiókban mért BMD, illetve csontmarkerek között (az adatokat nem mutatom).

6.8.2 A 83,557insA variáns és a csontmarkerek, valamint a BMD közötti összefüggések

A 83,557insA variánst hordozó Cushing-szindrómás betegekben a szérum OC szignifikánsan magasabb volt, mint a polimorf allélt nem hordozó betegekben ($15,88 \pm 10,24$ ng/ml vs. $10,24 \pm 5,87$ ng/ml, $p=0,027$). Nem volt kimutatható összefüggés a polimorfizmus hordozása és a különböző régiókban mért oszteodenzitometriás paraméterek között (27. táblázat [88. oldal]).

27. táblázat Oszteodenzitometriás paraméterek és szérumszintek a 83,557insA variáns előfordulása szerinti bontásban, a Cushing-szindrómás betegek összevont csoportjában.

	83,557insA		
	nem hordozók	hordozók	p-érték
Lumbalis 1-4 BMD, g/cm ²	0,876 ± 0,129	0,860 ± 0,106	0,64
Lumbalis 1-4 Z-score	-1,13 ± 1,20	-1,16 ± 1,24	0,93
Teljes femur BMD, g/cm ²	0,841 ± 0,134	0,835 ± 0,097	0,873
Teljes femur Z-score	-0,60 ± 1,14	-0,52 ± 0,77	0,80
Femur-nyak BMD, g/cm ²	0,743 ± 0,118	0,712 ± 0,091	0,33
Femur-nyak Z-score	-0,47 ± 1,11	-0,66 ± 0,82	0,52
Intertrochanterikus BMD, g/cm ²	0,981 ± 0,727	1,005 ± 0,126	0,42
Intertrochanterikus Z-score	-0,62 ± 1,05	-0,30 ± 0,75	0,12
Trochanterikus BMD, g/cm ²	0,627 ± 0,116	0,598 ± 0,071	0,35
Trochanterikus Z-score	-0,59 ± 1,22	-0,74 ± 0,74	0,63
Szérumszint CTX, ng/ml	0,43 ± 0,28	0,46 ± 0,20	0,44
Szérumszint oszteokalcin, ng/ml	10,24 ± 5,87	15,88 ± 10,24	0,027

Eredmények bemutatása: átlag ± SD

A 83,557insA variáns és a csontanyagcsere paraméterek közötti összefüggés statisztikai elemzését kovarianciaanalízis segítségével is elvégeztük. A 83,557insA hordozása és a szérumszint OC szintek közötti összefüggés akkor is kimutatható maradt, ha néhány további, a csontanyagcserét ismertén befolyásoló tényezőt (életkor, nem és BMI) is figyelembe vettünk (28. táblázat [89. oldal]).

28. táblázat Cushing-szindrómás betegek szérum csontmarkerei és a 83,557insA polimorfizmus közötti összefüggések kovariancia analízise.

	Kontroll		Endogén Cushing szindróma	
	statisztikai modell	P	statisztikai modell	P
Szérum CTX	83,557insA	0,727	83,557insA	0,953
	Kor	0,237	Kor	0,189
	Nem	0,828	Nem	0,423
	BMI	0,097	BMI	0,482
Szérum OC	83,557insA	0,839	83,557insA	0,004
	Kor	0,206	Kor	0,015
	Nem	0,114	Nem	0,024
	BMI	0,059	BMI	0,07

6.8.3 A 83,557insA variáns és egyéb paraméterek közti összefüggések

A reggeli, az éjszakai és a kis dózisú dexamethason után mért szérum kortizol koncentrációkban nem volt különbség a 83,557insA-t hordozó és nem hordozó, adrenális Cushing-szindrómában szenvedő betegekben. Ugyanakkor az ACTH szintek összefüggést mutattak a 83,557insA polimorfizmus hordozásával; a 83,557insA-t heterozigóta formában hordozó adrenális Cushing-szindrómás betegek plazma ACTH koncentrációi szignifikánsan magasabbak (azaz kevésbé szupprimáltak) voltak, mint a polimorfizmust nem hordozó betegeké ($7,38 \pm 4,05$ pg/ml vs. $4,81 \pm 8,25$ pg/ml, $p=0,025$). A 83,557insA-t hordozókban a mellékvese daganat mérete kisebb volt, mint a polimorfizmust nem hordozók daganata ($28,44 \pm 9,91$ mm vs. $51,05 \pm 38,53$ mm, $p=0,03$) (29. táblázat [90. oldal]).

29. táblázat Adrenális Cushing-szindrómás és Cushing-kóros betegek hormon-eredményei és egyes klinikai paraméterek a 83,557insA genotípus szerinti bontásban.

	Adrenális Cushing-szindróma			Cushing-kór		
	83,557insA nem hordozók	83,557insA hordozók	P	83,557insA nem hordozók	83,557insA hordozók	P
Plazma ACTH, 08:00 h (pg/ml)	4,81 ± 8,25	7,38 ± 4,05	0,025	143,66 ± 91,22	138,41 ± 204,15	0,11
Szérum kortizol, 08:00 h (µg/dl)	19,62 ± 11,53	19,00 ± 6,58	0,73	24,55 ± 11,97	19,07 ± 9,00	0,20
Szérum kortizol, 24:00 (µg/dl)	15,63 ± 12,40	9,50 ± 5,39	0,17	19,36 ± 12,15	20,93 ± 16,20	0,80
Szérum kortizol, KDD után (µg/dl)	16,63 ± 12,51	9,43 ± 6,45	0,09	18,18 ± 9,22	16,94 ± 10,94	0,69
Δ szérum kortizol (µg/dl)	2,70 ± 8,65	9,57 ± 10,55	0,09	6,37 ± 7,98	2,77 ± 4,94	0,17
Átlag életkor, év	45,78 ± 11,77	56,00 ± 15,87	0,05	36,59 ± 12,61	29,33 ± 10,24	0,09
BMI (kg/m ²)	29,92 ± 6,69	29,21 ± 1,95	0,79	31,14 ± 7,02	29,08 ± 6,03	0,22
Mellékvese tumor átmérő (mm)	51,05 ± 38,53	28,44 ± 9,91	0,03			

Eredmények bemutatása: átlag ± SD

Δ kortizol: kis dózisú dxm utáni szérum kortizol szint csökkenés a 08:00 szérum kortizol értékekhez viszonyítva

KDD: kis dózisú dexamethason

Cushing-kóros betegekben a 83,557insA polimorfizmus nem mutatott összefüggést a plazma ACTH és a szérum kortizol koncentrációkkal, a BMI-vel (29. táblázat), továbbá a betegség fennállásának idejével.

7.0 Megbeszélés

7.1 A dehidroepiandroszteron-szulfát koncentráció vizsgálata hormonálisan aktív, valamint inaktív mellékvese daganatos betegeken

A dolgozat bevezetőjében vázlatosan ismertettem a mellékvese daganatos betegek alacsony DHEAS koncentrációjára vonatkozó ismeretek fejlődését, a kortizol-DHEAS disszociáció kialakulására vonatkozó elméleteket. A mellékvesekéregben –elsősorban a zona reticularisban- szintetizálódó DHEA és DHEAS képződéséhez a koleszterin oldallánc-hasító, a 17 α -hidroxiláz/17,20 liáz és a DHEA-szulfotranszferáz enzimekre van szükség. A StAR protein [steroidogenic acute regulatory protein] jelenléte a koleszterinnek a mitokondriumokba való bejutásához szükséges. Fontos szabályozó mechanizmus része lehet a csak a zona reticularisban expresszálódó citokróm b5, ami stimulálja az DHEA- és DHEAS-szintézisét (181).

1997-ben megjelent közleményünkben kimutattuk, hogy a keringő DHEAS nemcsak a kortizol-termelő és a hormonálisan inaktív mellékvese adenomás betegeken, hanem az aldoszteron-termelő adenomás betegeken is szupprimált. Éveken át tartó követéses vizsgálatban elsőként igazoltuk, hogy a daganat eltávolítását követően a DHEAS szuppressziója a kortizolénál jóval lassabban, csak sok év után mérséklődik ill. szűnik meg. Bár a DHEAS szuppresszió kialakulásának pontos mechanizmusát máig sem tartja mindenki lezártnak és továbbra is vizsgálatok tárgya (182), a legtöbb szerző a mellékvesekéreg daganat –ideértve az aldoszteron-termelő adenomákat is- enyhe, klinikai tüneteket nem okozó glükokortikoid túltermelésével magyarázza ill. magyarázza a jelenséget (61, 183, 184). Ha elfogadjuk ezt a magyarázatot, akkor a műtét előtti DHEAS% értékek, valamint a DHEAS% koncentrációk posztoperatív normalizálódásának üteme alapján a benignus kéreg-adenomák glükokortikoid túltermelésének mértékében a következő sorrend állítható fel: aldoszteron-termelő < hormonálisan inaktív < kortizol-termelő mellékvese adenoma. Meg kell jegyezni, hogy az 1997-ben megjelent közleményünkben még nem választottuk külön a hormonálisan inaktív és a szubklinikai Cushing-szindrómát okozó mellékvese daganatokat.

A mellékvesekéreg karcinomás betegek száma a vizsgálatunkban ugyan alacsony volt, mégis kiemeljük, hogy a DHEAS koncentrációt DHEAS% formájában kifejezve és értékelve magas DHEAS koncentrációt csak a karcinomás betegeken (a betegek 1/3-ában) találtunk. Eredményeink szerint az alacsony DHEAS kedvező prognosztikai paraméter lehet.

A mellékvesevelő eredetű tumorok és a mellékvese ciszták esetében a DHEAS koncentráció normálisnak bizonyult, ami összhangban áll azokkal a korábbi irodalmi adatokkal, melyek szerint ezek a betegségek rendszerint nem okoznak számottevő eltérést a hypothalamus-hypophysis mellékvese tengely működésében.

7.2 Hormonálisan inaktív mellékvese daganatos betegek ateroszklerotikus kockázati tényezői és szövődményei

Bemutatott eredményeink megerősítik számos korábbi vizsgálat eredményeit abban a vonatkozásban, hogy a hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenomás betegekben az ateroszklerózis kockázati tényezőinek gyakorisága jóval magasabb, mint az átlag népességben (104, 106, 112-114, 117-119, 185-187). Az első endokrinológiai kivizsgáláskor átlagosan 51,8 éves betegeinkben észlelt hipertónia (82%), diabetes mellitus (20%), hiperlipidemia (58%) és obezitás (50%) prevalencia a betegcsoport igen magas kardiovaszkuláris kockázatát jelzi.

Az endokrinológiai irodalomban hosszú ideig tartotta magát az a nézet, hogy a hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenomáknak –az értekezés bevezető részében részletesen ismertetett- enyhe, csak alig-alig kimutatható, a szubklinikai Cushing-szindrómás betegcsoportban ennél valamivel exaktabban megfogalmazható, de általánosan elfogadott diagnosztikus kritériumrendszerbe ma még nem vonható hormontermelése okozza vagy tartja fenn az e betegcsoportra jellemző kedvezőtlen metabolikus paramétereket. A betegkövetéses longitudinális vizsgálatunk legfontosabb kérdése éppen az volt, hogy a hormonálisan inaktív mellékvese adenoma műtéti eltávolítása miként befolyásolja az ateroszklerózis kockázati tényezőinek és szövődményeinek előfordulását. Hormonálisan inaktív mellékvese adenomás betegcsoportban hasonló kérdésfelvetéssel végzett középtávú, valamint az ateroszklerózis ún. kemény végpontjait is értékelő vizsgálatot mind a mai napig nem közöltek.

Az a tény, hogy -tanulmányunk szerint- az ateroszklerózis kockázati tényezőinek kiemelkedően magas prevalenciája ellenére a mellékvese adenoma műtéti eltávolítása nem csökkenti szignifikánsan a kockázati tényezők ill. az ateroszklerotikus szövődmények gyakoriságát, arra utal, hogy a kedvezőtlen metabolikus paramétereknek legalábbis a fenntartásában ezen adenomáknak feltehetően nincs szerepe. Vizsgálati eredményeink összeegyeztethetőek azzal az – időről időre újból felvetett (188, 189) – alternatív hipotézissel, ami szerint a mellékvese adenoma nem az oka, hanem csak részjelensége lenne a metabolikus szindrómának.

Betegeink körében a hipertónia prevalenciája már induláskor is -a hazai kontroll népességet messze meghaladóan- magas (80%) volt. Ez a kiemelkedően nagy gyakoriság minden bizonnyal nem a betegek mellékvese adenomájával függ össze, hanem feltételezésünk szerint azzal, hogy a mellékvese daganat felismerését eredményező hasi ultrahang illetve CT vizsgálatok egyik leggyakoribb indikációja maga a magasvérnyomás betegség. A betegek relative alacsony száma (főleg a szubklinikai Cushing-szindrómás betegek kis száma) a tanulmányunknak egy figyelembe veendő fontos korlátja, bár ezt részben kompenzálja a relative hosszú követési idő (átlagosan 9,1 év). A vizsgálat retrospektív természetéből eredő további korlát az, hogy a hipertónia és a metabolikus betegségek kezelésére alkalmazott gyógyszeres kezelés nem volt standardizálva. Fontosnak tartjuk azonban kiemelni, hogy –a mellékvese műtét megtörténtétől függetlenül- a betegek hosszútávú gyógyszeres kezelését, a kezelés módosítását elsősorban a beteg háziorvosa végezte. A követéses betegvizsgálat időpontjában a hipertónia és a különböző metabolikus eltérések (hiperlipidémia, csökkent glükóztolerancia, diabetes mellitus, obesitas), valamint a miattuk alkalmazott gyógyszeres kezelés gyakoriságában nem volt szignifikáns különbség a korábban adrenalectomiával kezelt ill. a nem műtött betegcsoport között. Hangsúlyozzuk azonban, hogy a retrospektív vizsgálat nem optimális módszere a daganat sebészi eltávolítása anyagcsere hatásai felmérésének. A kérdés definitív megválaszolását csak egy jóval nagyobb betegszámú, prospektív, randomizált vizsgálat tenné lehetővé.

7.3 Cushing-szindrómás betegek csont ásványi anyagtartalma, csonttörések

Az endogén glükokortikoid-túltermelés által kiváltott csontbetegség lényegi kérdése, hogy van-e összefüggés a kortizol-túltermelés mértéke ill. a szérum kortizol koncentrációk és a csontsűrűség között. Számos, kis betegszámú vizsgálatban nem találtak korrelációt a BMD és a szérum kortizol koncentrációk (159, 160, 190) ill. a 24 órás vizelet kortizol ürítés között (157, 158, 160, 191, 192). Ugyanakkor a mindmáig legnagyobb betegszámot (80) felölelő, endogén Cushing-szindrómás betegeket feldolgozó olasz tanulmányban a szérum reggeli kortizol és a gerinc ill. a femorális BMD között statisztikailag gyenge negatív korrelációt találtak, ami a 24 órás vizelet kortizol ürítést vizsgálva nem volt kimutatható (164). Ezt a kérdést vizsgáló dolgozatunkban –68 beteg adatait feldolgozva- azt találtuk, hogy a szérum kortizol koncentráció nem függ össze a csontok ásványi anyagtartalmával, sem az egyes alcsoportokon belül, sem a betegek összevont csoportjában. A kortizol koncentráció és a BMD közötti összefüggés kérdése azonban nem tekinthető lezártnak, ugyanis egy 2009-ben

megjelent, 287 mellékvese incidentalomás (köztük 85 szubklinikai Cushing-szindrómás) beteget feldolgozó tanulmányban a vizelettel történő 24-órás kortizol ürítés, valamint a kis dózisú dexamethason adása utáni szérum kortizol és a lumbális gerinc, valamint a combnyak BMD közötti –nem túl szoros- korrelációt igazoltak (105). Mindez feltehetően azt jelenti, hogy a csontok ásványi anyagtartalmának mérése a hiperkortizolizmus ill. a glükokortikoid-indukált csontbetegség súlyosságának felmérésére csak korlátozottan alkalmas, relatíve érzéketlen módszer.

A Cushing-szindrómás betegek csontsűrűségét vizsgáló tanulmányunk megerősítette azt a korábbi, nagyjából iatrogén Cushing-szindrómás betegeken tett megállapítást, miszerint a glükokortikoid-indukált oszteoporózist jellemző BMD-csökkenés a gerincen a legkifejezettebb (158, 164). A publikált vizsgálatok eredményei messze nem egységesek abban a tekintetben, hogy a Cushing-kóros vagy az adrenális Cushing-szindrómás betegek BMD-csökkenése a kifejezettebb-e. Eredményeink szerint e két betegcsoport BMD-je között nincs lényeges különbség. A glükokortikoid-indukált csontbetegséget vizsgáló DEXA-tanulmányokban alig-alig találunk adatot a perifériás csontok sűrűségéről (164, 192). Vizsgálatunk meglepő eredménye –a korábban Cushing-szindrómás betegekben sosem vizsgált, a csigolyákhoz hasonlóan nagyrészt trabeculáris csontszövetből álló - ultradisztális radiusnak a magas, a többi vizsgált régió denzitását 1,0-1,5 z-score-nyi értékkel meghaladó denzitása.

A glükokortikoid-indukált oszteoporózis bőséges irodalmában alig találunk olyan adatot, amelyik az endogén Cushing-szindrómás betegek csonttöréseit is feldolgozza (164, 191, 193). A 68, Cushing-szindrómás betegünknek a betegség felismerését megelőző 5 évben elszenvedett 25 perifériás csonttörése 340 betegév alatt következett be, ami átszámítva 73,5/1000 betegév perifériás törést jelent. Érdekesnek tartom ezt az adatunkat egy 2010-ben publikált nagy metaanalízis (194) adataival összehasonlítani. Ebben a metaanalízisben 9, csonttritkulás kezelése céljából indított, placebo-kontrollált kettős vak vizsgálat placebo ágán bekövetkezett perifériás törések gyakoriságát kivétel nélkül jelentősen alacsonyabbnak találták (50,8-31,6-21,3-48,7-56,2-43,0-33,5-53,0-26,7/1000 betegév) (194), mint mi a Cushing-szindrómás betegeinken. A csonttörési gyakoriságban észlelt különbséget még hangsúlyosabbá teszi az a tény, hogy a metaanalízis betegei nyilvánvalóan idősebbek, csontsűrűségük pedig alacsonyabb volt, mint a saját vizsgálatunkban résztvevő Cushing-szindrómás betegeké. Ezt pedig úgy értékeljük, hogy a glükokortikoid-indukált csontbetegségben a csontminőség romlása legalább olyan fontos tényező, mint a csontsűrűség. Ezzel lényegében azonos következtetésre jutottak egy 2009-ben megjelent, exogén glükokortikoid-

kezelésben részesülő férfiakat tanulmányozó japán munkacsört szerzői. Az általuk vizsgált, glükokortikoiddal kezelt 87 férfi esetében a glükokortikoid kezelés a csigolyatöréseknek önálló, az életkortól és a BMI-től független kockázati tényezője volt. A gerinc BMD –még az életkorra és BMI-re való illesztés után sem- függött össze a csigolyatörésekkel, még akkor sem, ha az aktuális vagy a múltbeli maximális glükokortikoid dózist független tényezőnek tekintették (195).

Kivizsgálási protokollunknak nem volt rutinszerű része a csigolyatörések megállapítását lehetővé tévő gerinc röntgen vizsgálat, így saját anyagunkban a csigolyatörések száma a talátnál jóval magasabb lehet. A gerinc röntgen-felvételek morfometriás elemzésével a Cushing-szindrómás betegek 76%-ában (164), a szubklinikai Cushing-szindrómás betegek 70,6%-ában lehetett csigolyatörést igazolni (105).

A Cushing-szindrómát kísérő csontbetegséget vizsgáló tanulmányainkban egy mások által csak ritkán –és a csontbetegséggel kapcsolatban egyáltalán nem- vizsgált paraméter, a betegség tartam jelentőségét is megpróbáltuk értékelni. A feladat nehézsége nyilvánvaló, hiszen a betegség kezdete pontosan sosem ismert, csak becsülhető. Saját vizsgálatunkban igazoltuk, hogy a z-score-ban kifejezett csontsűrűség nem függött össze a becsült betegség tartammal, a csonttörések száma azonban igen.

7.4 A csontsűrűség és a csontméretek változása a Cushing-szindróma gyógyulását követően

A perifériás és az axiális csontoknak a Cushing-szindróma gyógyulását követő DEXA-vizsgálatával új ismereteket szereztünk a gyógyulást követő BMC- és BMD-változás mértékéről és időbeli lefolyásáról, továbbá a csontok vetületi felszínének változásáról. A betegség gyógyulása után legalább 4 éven át folyamatos BMC- és BMD-növekedést tapasztaltunk, a 4. évnél a BMD-z-score értékek tetőződtek és -legalábbis a femur és az ágyéki gerinc régiók- már nem különböztek a referencia populáció értékeitől.

Érdekes, és korábban nem közölt megállapítást tettünk a perifériás csontok gyógyulást követő BMD-változásával kapcsolatban: a Cushing-szindróma gyógyulását követő, a gerincen és a femuron tapasztalható gyors - az ágyéki gerincen 20-25%-ot is elérő - BMC-növekedéssel szemben a végtagi csöves csontokat reprezentáló disztális radiuson jelentős – az ultra-disztális radiuson 10%-ot megközelítő - BMC-csökkenés következett be. Mindez analógiába hozható a zsírszövetnek a Cushing-szindróma kialakulása során jól ismert átrendeződésével (periféria felől a viszcerális zsírszövet irányába), majd a gyógyulást követő

viisszarendeződésével. Ez a megfigyelés minden bizonnyal azt jelenti, hogy a Cushing-szindróma gyógyulását követően a szervezet csont ásványi anyag tartalma átrendeződik, a perifériás csontok felől az axiális csontok felé, mintegy –legalábbis részleges- forrásául szolgálva az ott bekövetkező gyors ásványi anyag tartalom növekedésnek.

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 (196). Néhány vizsgálatban azt is kimutatták, hogy statisztikai és biológiai értelemben véve is szignifikáns pozitív korreláció áll fenn a korral járó (involúciós) BMD-csökkenés és a testsúly- ill. BMI változása között, mind nőkben (197-200), mind férfiakban (197). 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 között. Ugyanakkor pozitív korrelációt igazoltunk a BMI és a radius BMC változásai között, ami más szavakkal azt jelenti, hogy a glükokortikoid-indukált csontbetegség gyógyulási szakaszában kimutatott BMC-átrendeződés szorosan összefügg a posztoperatív BMI-változással. 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. Itt jegyezzük meg, hogy az utóbbi évek kutatásai felhívták a figyelmet a tápláltsági állapot, a zsírszövetből származó hormonális tényezők (leptin, adiponectin, rezisztin), valamint a hasnyálmirigy béta-sejtjeiből származó hormonok (inzulin, amylin, preptin) és a csontanyagcsere illetve csontsűrűség közötti kapcsolatra (196).

Egy vizsgálat alapján már korábban is ismert volt, hogy a Cushing-szindrómás betegek DEXA-vizsgálattal megállapítható csontméretei szignifikánsan kisebbek, mint a megfelelően megválasztott kontroll csoporté (166). Vizsgálatainkkal igazoltuk, hogy a Cushing-szindróma gyógyulása során nem csak a BMC, hanem a csontméretek is dinamikusan változnak: az axiális csontok méretének növekedésével párhuzamosan a perifériás csontok méretei átmenetileg csökkennek.

7.5 A glükokortikoid-túlsúly hatása a szérumban a csontmarkerekre

Az ebben a témakörben publikált első tanulmányunk szerint a hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely vizsgálata során gyakran alkalmazott, kis dózsisú egyszeri glükokortikoid-hatás már elegendő a csontmarkerek szérumban a koncentrációjának a

megváltoztatásához. 1 mg dexamethason adása után 8 órával ill. im. alkalmazott 1 mg depot-ACTH adása után 18 órával szignifikáns szérumszintű OC csökkenést tapasztaltunk, a szérumszintű CTX koncentrációja azonban nem változott. Farmakológiai dózissal exogén glükokortikoid ugyanakkor több vizsgálat szerint fokozza a csontreszorpciót (146, 147).

Következő tanulmányunkban endogén hiperkortizolizmusban szenvedő betegek csontanyagcsere változásait vizsgáltuk a betegség aktív stádiumában, majd a gyógyulást eredményező műtét után, 4 éven keresztül. Az irodalomban megjelent korábbi eredményekhez hasonlóan (156, 159, 163, 164, 166), az általunk vizsgált Cushing-szindrómás betegek szérumszintű OC koncentrációi szignifikánsan alacsonyabbak voltak az egészséges kontroll populációhoz viszonyítva. A Cushing-kóros és az adrenális Cushing-szindrómás betegek szérumszintű CTX koncentrációja azonban nem különbözött az egészséges kontrollokétól. A hiperkortizolizmus a legkifejezettebb –legalábbis a szérumszintű kortizol koncentrációk alapján– az ektópiás Cushing-szindrómás betegek csoportjában volt, a csontbontás egyedül ebben az alcsoportban volt fokozott.

A korábbi, többnyire kevés Cushing-szindrómás beteg adatait feldolgozó tanulmányok –egy kivételével– azt jelezték, hogy sem a 24 órás vizelet kortizol ürítés, sem pedig a szérumszintű kortizol koncentráció nem korrelál a csontmetabolizmus szérumszintű markereivel (157-161). Ezen irodalmi adatokkal szemben –a korábbi dolgozatokban publikálnál jóval nagyobb számú beteget vizsgálva– saját eredményeink meggyőző, szoros összefüggést igazoltak a szérumszintű kortizol és a csontépítés (negatív korreláció a szérumszintű OC-nal) ill. a csont-reszorpció között (pozitív korreláció a szérumszintű CTX-szel).

Cushing-szindrómás betegeken tett megfigyeléseinkkel ellentétben, Cooper és mtsai egészséges egyéneknél nem találtak összefüggést a reggeli szérumszintű kortizol és a reggeli OC valamint a vizelettel ürülő I-es típusú kollagén amino-terminális telopeptid koncentrációival (201). A dolgozat szerzői ugyanakkor szoros korrelációt mutattak ki a szérumszintű kortizon és OC szintek között, amit a HSD11B1 enzim osteoblast sejtekben való jelenléte indirekt bizonyítékként értelmeztek. A szérumszintű kortizol és OC koncentrációk közötti viszonyt az egészséges és a Cushing-szindrómás egyéneknél megfigyelt különbözőségének ellentmondása feloldható úgy, ha feltételezzük, hogy a szérumszintű kortizol koncentrációnak létezik egy olyan –a fiziológiai kortizol koncentráció felső határa körüli– küszöbértéke, ami alatt a kortizol csak minimális, felette azonban jelentős hatással bír a csontszövetre. Ezen feltételezés jogosságát támasztja alá az a korábbi megfigyelés is, miszerint egészséges nőkben a szérumszintű kortizol koncentrációk csak a kóros tartomány felső harmadában mutattak összefüggést a BMD értékekkel (202). A szérumszintű kortizol fiziológiai cirkadián ingadozása szintén egy lehetséges

magyarázat a reggeli kortizol és OC szintek közötti korreláció hiányára. A szérumban OC koncentrációk ugyanis mintegy 6 órával követik a szérumban kortizol koncentrációban bekövetkező változásokat, így lehetséges, hogy egészséges személyekben a reggeli magasabb OC szintek elsősorban az éjszakai alacsonyabb kortizol koncentrációt tükrözik. A szérumban OC cirkadian ritmusát összefüggésbe tudták hozni a szérumban kortizol napi változásával, a csontreszorpciót jelző markerek napi ritmusával azonban nem (203).

Korábbi szórványos irodalmi adatok szerint a Cushing-szindróma gyógyulása után a csontmarkerek jellegzetes eltérései –köztük elsősorban a csontképzés szupprimált volta- a Cushing-szindróma gyógyulása után rendeződnek (159). Az általunk publikált tanulmány volt az első, amelyik a csontmarker-változások időbeli dinamikájának feltárását tűzte ki célul. A szérumban OC már a posztoperatív első napokban-hetekben gyorsan emelkedik, az emelkedés a csúcspontját a műtét utáni 6. hónapban érte el. A 24. hónaptól a szérumban OC nem változik. A szérumban OC-nal ellentétben a Cushing-szindróma gyógyulása nem okozott statisztikailag értékelhető változást a szérumban CTX koncentrációkban a 4 éves utánkövetési periódus alatt.

A csontbontás és a csontépítés üteme közismerten variábilis, azonban a két folyamat között szoros összefüggés áll fenn: a legtöbb fiziológias és patológias állapotban mindkét folyamat azonos irányban, és többé-kevésbé azonos mértékben változik. A két folyamatnak ezt a szoros összefüggését kapcsolságnak (coupling) nevezik. A kapcsolat hiánya (uncoupling), más szóval a két folyamat disszociációja mindössze néhány patológias állapotra jellemző, úgymint myeloma multiplex, immobilizáció, anorexia nervosa, malignus betegségeket kísérő hypercalcaemia és a Cushing-szindróma. Kristo és munkatársait (159) követően másodikként igazoltuk, hogy a csontbontás és a csontépítés Cushing-szindrómára jellemző disszociációja a betegség gyógyulását követően megszűnik, és az egészséges egyénekre jellemző kapcsolság helyreáll.

7.6 A nyál kortizol meghatározás diagnosztikus értéke

A vérben keringő, plazma fehérjékhez nem kötött, biológiailag aktív kortizol koncentrációjának megközelítésére 1981-ben javasolták először a nyál kortizol meghatározását (204). Az elmúlt évtizedekben számos munkacsoport publikálta a nyál kortizol meghatározással kapcsolatos technikai és/vagy klinikai tapasztalatait, melyeket a közelmúltban megjelent néhány nagy összefoglaló referátum összegez (126, 129, 132, 134).

Ismertetett közleményünkben a nyál kortizol meghatározás értékelését összekötöttük a szérumban OC meghatározásra vonatkozó, manifeszt valamint szubklinikai Cushing-szindrómás

betegeken tett megfigyeléseinkkel. A szérumszint OC-ra vonatkozó eredményeinket a következő fejezetben diszkutáljuk.

A bevezetőben is említett számos, a nyál kortizol meghatározással foglalkozó tanulmány birtokában vizsgálatunknak az elsődleges célja az volt, hogy a „valós” életben (hazai viszonyaink között, klinikánk beteganyagában, saját laboratóriumi háttérünkkel) értékeljük a nyál kortizol meghatározás diagnosztikus teljesítőképességét, és elvágási határra tegyünk javaslatot. Tanulmányunk azonban mégis tartalmaz újdonságot, hiszen a korábbi vizsgálatokban nagy részt házi fejlesztésű radioimmuno-assay-eket alkalmaztak. Automatizált elektrokemilumineszcens immunoassay-vel végzett nyál kortizol vizsgálatot munkacsoporthunk publikált elsőként (133). Ehhez hasonlóan kevesen vizsgálták a nyál kortizol meghatározás értékét szubklinikai Cushing-szindrómás betegekben (206).

Cushing-szindrómás betegeknek a nem-hiperkortizolémiás betegekétől való elkülönítésére az éjszakai kortizol meghatározás általunk ajánlott elvágási határa ($>0,36 \mu\text{g/dl}$) mellett a vizsgálat szenzitivitása (91,3%) és specifitása (94,5%) az egyéb elsővonalbeli diagnosztikus szűrőtesztekhez hasonlóan magasnak minősíthető (125, 128). Egy, még megerősítésre váró tanulmány eredményei szerint a nyál kortizol meghatározás specifitását növeli, ha a nyálminta gyűjtését kis dózisú dexamethason teszttel kötik egybe (207).

A szubklinikai Cushing-szindróma azonosítására - ahogyan az várható is volt - valamennyi vizsgált teszt teljesítőképessége jelentősen alacsonyabb, a 6 vizsgált teszt közül 3 (éjszakai nyál és szérumszint kortizol, valamint a kis dózisú dexamethason adása utáni szérumszint kortizol) tűnik használhatónak, a tesztek eredménye azonban jelentős átfedést mutat a kontroll csoport eredményeivel.

7.7 A szérumszint oszteokalcin laboratóriumi vizsgálatának potenciális jelentősége a Cushing-szindróma diagnosztikájában

Két, egymástól független vizsgálatunkban is szoros, statisztikailag szignifikáns összefüggést tudtunk kimutatni a Cushing-szindrómás betegek szérumszint OC, valamint a szérumszint és nyál kortizol koncentrációi között. Igazoltuk, hogy a betegek kivizsgálásakor alkalmazott, egyszeri, kis dózisú glükokortikoid terhelés szignifikáns szérumszint OC csökkenést okoz. Igazoltuk továbbá, hogy a betegek gyógyulása után -akár napokon belül is- a szérumszint OC gyorsan emelkedik. Statisztikailag szignifikáns korrelációt mutattunk ki a szérumszint OC és a Cushing-szindróma egyes metabolikus szövődményei (csökkent glükóztolerancia, diabetes mellitus), ill. az orvosi tapasztalat szerint az egyik legjellegzetesebb és legsúlyosabb szövöd-

mény, a myopathia között. Mindezek alapján úgy gondoljuk, hogy a szérums OC a hiperkortizolizmus súlyosságának jellemzésére alkalmas biológiai markernek tekinthető, és ezirányú további vizsgálatok végzését javasoljuk.

A szérums OC-nal kapcsolatos, az előző fejezetekben tárgyalt megfigyeléseink adták meg számunkra az alapot arra, hogy megvizsgáljuk, alkalmas-e a szérums OC meghatározás a Cushing-szindrómás betegeknek az egészségesektől való elkülönítésére. A szérums OC 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; éjszakai szérums kortizol, 0,9730; rövid kis dózisú dexamethason teszt, 0,9771; hosszú kis dózisú dexamethason teszt, 0,9399) (128).

Saját beteganyagunkban nem találtunk szignifikáns különbséget a szérums OC és az éjszakai nyál, valamint az éjszakai szérums, továbbá a kis dózisú dexamethason adása utáni szérums kortizol koncentráció diagnosztikus teljesítőképessége között (a görbék 95%-os konfidencia intervallumai átfedik egymást). Érdemesnek tartjuk megjegyezni, hogy a Cushing-szindrómás és a kontroll betegcsoport elkülönítését célzó ROC analízis során a szérums OC Youden-index módszerrel kapott elvágható határa (12,9 ng/ml) csaknem azonos a szérums OC referencia értékének a gyártó által megadott alsó határával (premenopauzás nőknél 12 ng/ml, férfiaknál 11 ng/ml).

A szérums OC-nal kapcsolatban tett megfigyeléseink alapján a szérums OC diagnosztikus értékének további vizsgálatát javasoljuk.

7.8 A GR gén genetikai variánsainak vizsgálata

A nemzetközi irodalomban elsőként vizsgáltuk a *GR* gén polimorfizmusokat Cushing-szindrómás betegekben, továbbá a *GR* polimorfizmusok és a szérums csontmarkerek közötti esetleges összefüggést. A vizsgált négy polimorfizmus allél-gyakorisága nem különbözött a Cushing-kóros, az adrenális Cushing-szindrómás és az egészséges kontroll egyénekben. Megjegyezzük, hogy a vizsgált négy polimorfizmus közül kettőnek az egészséges és a Cushing-szindrómás betegek között is meglehetősen alacsony az előfordulási gyakorisága. Ezen eredményeinket úgy értékeljük, hogy a vizsgált *GR* gén polimorfizmusok feltehetően nem befolyásolják a Cushing-szindróma iránt fogékonyságot.

Statisztikailag szignifikáns összefüggést találtunk a *GR* gén BclI polimorfizmus hordozása és a Cushing-szindrómás betegek, de nem az egészséges kontroll egyének

femorális BMD-je, valamint a szérumban CTX koncentrációja között. Adataink alapján a polimorfizmusnak elsősorban homozigóta formában történő hordozása (GG genotípus) növeli a csontszövet glükokortikoidok iránti érzékenységét.

A *GR* gén *BclI* polimorfizmusának a csontsűrűséggel kapcsolatos összefüggésére utaló eredményeinkkel összhangban van az a megfigyelés, ami szerint –858 egészséges, idős holland emberen- a *BclI* homozigóta polimorfizmusa (GG) alacsonyabb csontsűrűséggel jár együtt; ez az asszociáció csak a femuron volt kimutatható, az ágyéki gerincen nem (202). Egy másik holland vizsgálatban a BMD és a *BclI* polimorfizmus hordozása közti összefüggés viszont a BMI-re történő korrekció után eltűnt (208).

Meg kell jegyezni, hogy a glükokortikoid érzékenység vizsgálatakor az egészséges és a Cushing-szindrómás egyénekben nyert eredmények csak nagy fenntartással vethetők össze. Például a *GR* érzékenységének fokozódását eredményező genetikai variáns egészséges egyénekben –megtartott feedback mechanizmus miatt- feltételezhetően nem befolyásolja a csontmetabolizmust. Ugyanez a *GR* érzékenységet fokozó genetikai variáns Cushing-kóros beteg perifériáján –például a csontszövetben- fokozott kortizol-hatást okozhat (209). Mindez azt eredményezi, hogy egy adott genetikai variáns jelenlétének más lesz a következménye hiperkortizolémiás betegben mint egészséges egyénben.

7.9 A *HSD11B1* gén 83,557insA variánsának vizsgálata

A *HSD11B1* gén 83,557insA polimorfizmusának jelentőségét Cushing-szindrómás betegekben vizsgálva azt találtuk, hogy a insA variáns gyakorisága sem a Cushing-kóros, sem a Cushing-szindrómás betegcsoportban nem tér el az egészséges kontroll csoporttól, azaz ez a genetikai variáns nem módosítja a betegség kialakulásának kockázatát.

Vizsgálatunknak további fontos megállapítása az, hogy 1.) a 83,557insA-t hordozó Cushing-szindrómás betegekben szignifikánsan magasabb a szérumban OC koncentrációja, mint a polimorf allélt nem hordozó betegeké, továbbá 2.) a 83,557insA -t hordozó, adrenális Cushing-szindrómás betegek plazma ACTH koncentrációja is szignifikánsan magasabb, azaz kevésbé szupprimált volt. Mindkét eltérés magyarázható úgy, ha feltételezzük, hogy a 83,557insA variáns csökkent glükokortikoid ellátottsággal és így csökkent glükokortikoid érzékenységgel jár. A szérumban OC-nal kapcsolatban a csontszövet ill. konkrétan az oszteoblasztok, az adrenális Cushing-szindrómás betegek ACTH szintjével kapcsolatban pedig az ép hypophysis kortikotrop sejtjeinek csökkent kortizol érzékelését tételezzük fel. Ezen eredményeink összeegyeztethetők a témára vonatkozó igencsak gyér irodalmi adatokkal. A

HSD11B1 gén 83,557insA polimorfizmust tartalmazó intronikus régiójában található egy transzkripció aktivátor fehérjét kötő DNS szakasz is. Az adenin inzerció jelenléte ezen régióban a *HSD11B1* gén csökkent transzkripcionális aktivitását eredményezi (25), ami minden bizonnyal csökkent HSD11B1 enzim aktivitással jár.

Saját publikációnkat megelőzően mindössze egy közleményben vizsgálták a *HSD11B1* gén variánsainak a csontsűrűséggel kapcsolatos összefüggéseit. Egy koreai munkacsoport 2009-ben azt találta, hogy posztmenopauzális oszteoporotikus betegeken a hat vizsgált polimorfizmus közül kettő (rs1000283 és rs932335) jelenléte szignifikánsan csökkentette a vertebrális törési rizikót (29). A szerzők azonban nem vizsgálták az általunk vizsgált 83,557insA variánst, és nem vizsgálták a genetikai variánsoknak a csontmarkerekkel való összefüggéseit.

Nem találtunk összefüggést a polimorfizmus hordozása és a Cushing-szindrómás betegek csontsűrűsége között, ami ismételten megerősíti azt megfigyelésünket, hogy a csontanyagcsere ill. a csontépítés sokkal érzékenyebben és/vagy gyorsabban reagál a glükokortikoid hatás változására, mint a csontok DEXA-val mérhető ásványianyag tartalma.

8.0 Új megállapítások

1. A mellékvese daganatok hormonális aktivitásától függő mértékben szupprimált keringő DHEAS a mellékvese műtét után - feltehetően a daganat glükokortikoid-aktivitása által meghatározott ütemben - évekkel később normalizálódik.
2. A hormonálisan inaktív mellékvese adenomás betegekre jellemző magas ateroszklerotikus kockázatot a mellékvese adenoma műtéti eltávolítása nem csökkenti, ami arra utal, hogy a kedvezőtlen metabolikus paramétereknek a fenntartásában a mellékvese adenomának nincs szerepe.
3. A Cushing-szindróma gyógyulását követően 4 éven át folyamatos BMC- ill. BMD-növekedést tapasztaltunk, a 4. évnél a BMD-z-score értékek az életkor és nem szerinti átlag közelébe kerültek.
4. Cushing-szindróma gyógyulását követően a csontok ásványi anyagtartalma a végtagi csontok felől az axiális csontok felé rendeződik át, részleges forrásául szolgálva az axiális csontok gyors BMC-növekedésének.
5. Cushing-szindróma gyógyulása során nemcsak a BMC, hanem a csontok méretei is változnak: az axiális csontok méretének növekedésével párhuzamosan a perifériás csontok méretei átmenetileg csökkennek.
6. Kis dózisú exogén glükokortikoidoknak egyszeri adása órákon belül kimutatható szérumszintű OC csökkenést okoz egészséges egyéneken és hormonálisan inaktív mellékvese adenomás, de nem a Cushing-szindrómás betegeknél.
7. Cushing-szindróma gyógyulása után 4 éven át tartó követéses vizsgálatban igazoltuk, hogy a csontképzés az első két évben nagymértékben felgyorsul, azt követően nem különbözik az egészséges egyénétől.
8. Igazoltuk, hogy az automatizált elektrokemilumineszcens immunoassay alkalmas a nyálkötizol rutinszerű meghatározására, a Cushing-szindróma szűrésére. Szubklinikai Cushing-

szindróma kimutatására a nyál kortizol meghatározás érzékenysége önmagában nem elegendő.

9. Szignifikáns korrelációt mutattunk ki a szérum OC és a Cushing-szindróma súlyosságát tükröző egyes szövődmények (csökkent glükóztolerancia ill. diabetes mellitus, myopathia) között.

10. A szérum OC meghatározás diagnosztikus értéke nem, vagy csak alig marad el a Cushing-szindróma szűrésére napjainkban ajánlott és használt tesztek diagnosztikus értékétől.

11. A *GR* gén 4 vizsgált genetikai variánsa (BclI, N363S, ER22/23EK és A3669G) nem módosítja a Cushing-kór ill. az adrenális Cushing-szindróma iránti fogékonyságot.

12. Cushing-szindrómában a BclI genetikai variáns alacsonyabb femur BMD-vel és fokozott csont-reszorpcióval jár együtt, ami a BclI-hordozók fokozottabb glükokortikoid érzékenységgel magyarázható.

13. A *HSD11B1* gén 83,557insA variánsa nem módosítja a Cushing-kór ill. az adrenális Cushing-szindróma iránti fogékonyságot.

14. Cushing-szindrómás betegekben a *HSD11B1* gén 83,557insA variánsának hordozása feltehetően csökkenti a glükokortikoidok iránti érzékenységet.

9.0 Köszönetnyilvánítás

Mindenek előtt Rácz Károly Professzornak, a Semmelweis Egyetem II. Belgyógyászati Klinikája igazgatójának tartozom köszönettel, aki PhD témavezetőként, majd az endokrinológiai munkacsoport irányítójaként a klinikai munkám kezdetétől napjainkig segítette és segíti szakmai fejlődésemet, tudományos előrehaladásomat.

Hálával és köszönettel gondolok mindazon Tanárainkra, Professzoraimra, akik az orvostudomány rejtelmeiben igyekeztek engem eligazítani. Pathológus tutoraim és professzoraim közül kiemelem Gomba Szabolcs, Szokol Miklós, Thomázy Vilmos, Sugár János és Szentirmay Zoltán nevét.

Köszönetemet fejezem ki Tulassay Zsolt Professzornak, a Klinika előző igazgatójának, aki mindvégig támogatta az endokrinológiai munkacsoportban végzett tevékenységemet. Szakmai pályafutásom egyik meghatározó tényezője lett, hogy megbízott a Klinika Osteodenzitometriás Laboratóriumának vezetésével, és felkeltette érdeklődésemet a csontanyagcsere iránt. Hálás vagyok Gláz Edit Professzor Asszonynak, aki kezdő klinikusként befogadott munkacsoportjába, megszerettette velem a klinikai endokrinológiát és az endokrinológiai kutatómunkát, a klinikán kitűzte elém első tudományos feladataimat.

Tudományos munkámat munkacsoportunk minden korábbi és jelenlegi tagja segítette, támogatta, valamennyiőjüknek őszinte hálával tartozom. Külön köszönetemet fejezem ki a II. Belgyógyászati Klinika Molekuláris Biológiai Laboratóriumát jelenleg vezető Patócs Attilának, aki a genetikai vizsgálatoknak biztos laboratóriumi háttérrel biztosított. Köszönet illeti valamennyi egykori és jelenlegi TDK és PhD hallgatómat, akik tudományos munkám nélkülözhetetlen segítői voltak.

Köszönöm a családomnak a türelmet és a munkám iránti megértést.

10.0 A doktori értekezés alapjául szolgáló saját közlemények jegyzéke

(Σ IF =25,080)

PhD dolgozatban szereplő közlemény

1. **Toth M**, Racz K, Varga I, Adleff V, Jakab C, Futo L, Kiss R, Glaz E. Plasma dehydroepiandrosterone sulfate levels in patients with hyperfunctioning and non-hyperfunctioning adrenal tumors before and after adrenal surgery.

Eur J Endocrinol, 136:290-295, 1997

IF: 1,968

PhD dolgozat megírása óta megjelent angol nyelvű közlemények (1999-2010)

(Σ IF =23,112)

2. Majnik J, Szucs N, Patocs A, **Toth M**, Balogh K, Varga I, Glaz E, Racz K. Effect of single doses of dexamethasone and adrenocorticotrop hormone on serum bone markers in healthy subjects and in patients with adrenal incidentalomas and Cushing's syndrome.

J Endocrinol Invest, 27:747-753, 2004

IF: 1,525

3. Fütő L, Tőke J, Patócs A, Szappanos Á, Varga I, Gláz E, Tulassay Z, Rác K, **Tóth M**. Skeletal differences in bone mineral area and content before and after cure of endogenous Cushing's syndrome.

Osteoporos Int, 19:941-949, 2008

IF: 4,290

4. Szappanos A, Patócs A, Tőke J, Boyle B, Sereg M, Majnik J, Borgulya G, Varga I, Likó I, Rác K, **Tóth M**. BclI polymorphism of the glucocorticoid receptor gene is associated with decreased bone mineral density in patients with endogenous hypercortisolism.

Clin Endocrinol (Oxf), 71:636-643, 2009

IF: 3,201

5. Sereg M, Szappanos A, Toke J, Karlinger K, Feldman K, Kaszper E, Varga I, Glaz E, Racz K, **Toth M**. Atherosclerotic risk factors and complications in patients with non-

functioning adrenal adenomas treated with or without adrenalectomy. A long-term follow-up study.

Eur J Endocrinol, 160:647-655, 2009

IF: 3,539

6. Szappanos A, Tőke J, Lippai D, Patócs A, Igaz P, Szücs N, Fütő L, Gláz E, Rác K, **Tóth M.** Bone turnover in patients with endogenous Cushing's syndrome before and after successful treatment.

Osteoporos Int, 21:637-645, 2010

IF: 4,997 (2009)

7. Sereg M, Tőke J, Patócs A, Varga I, Igaz P, Szücs N, Horányi J, Pusztai P, Cziráj S, Gláz E, Rác K, **Tóth M.** Diagnostic performance of salivary cortisol and serum osteocalcin measurements in patients with overt and subclinical Cushing's syndrome.

Steroids, 76:38-42, 2011

IF: 2,905 (2009)

8. Szappanos Á, Patócs A, Gergics P, Bertalan R, Kerti A, Ács B, Feldmann K, Rác K, **Tóth M.** The 83,557insA variant of the gene coding 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 enzyme associates with serum osteocalcin in patients with endogenous Cushing's syndrome.

J Steroid Biochem Mol Biol 123:79–84, 2011

IF: 2,655 (2009)

**11.0 A doktori értekezésben nem szereplő, a PhD fokozatszerzés után
megjelent idegen nyelvű saját közlemények jegyzéke (1999-2010)**

(ΣIF =82,220)

1. Racz K, **Toth M**, Patocs A, Glaz E. Incidentally discovered adrenal masses. Polish. J. Endocrinol. 1: 85-88, 2000
2. Nemetz A, **Toth M**, Garcia-Gonzalez M A, Zagoni T, Feher J, Pena A S, Tulassay Zs. Allelic variation at the interleukin-1 beta gene is associated with decreased bone mass in patients with inflammatory bowel diseases.
Gut, 49:644-649, 2001 **IF: 6,170**
3. Szucs N, Varga I, Jakab C, Patocs A, Glaz E, **Toth M**, Kiss R, Racz K. Leptin inhibits cortisol and corticosterone secretion in pathologic human adrenocortical cells.
Pituitary, 4:71-77, 2001
4. Patocs A, **Toth M**, Barta C, Sasvari-Szekely M, Varga I, Szucs N, Jakab C, Glaz E, Racz K. Hormonal evaluation and mutation screening for steroid 21-hydroxylase deficiency in patients with unilateral and bilateral adrenal incidentalomas.
Eur J Endocrinol, 147:349-355, 2002 **IF: 2,560**
5. Cserepes E, Szucs N, Patkos P, Csapo Z, Molnar F, **Toth M**, Dabasi G, Esik O, Racz K. Ovarian steroid cell tumor and a contralateral ovarian thecoma in a postmenopausal woman with severe hyperandrogenism.
Gynecol Endocrinol, 16:213-216, 2002 **IF: 0,899**
6. Horanyi J, Duffek L, Szlavik R, Darvas K, Lakatos P, **Toth M**, Racz K. Parathyroid surgical failures with misleading falls of intraoperative parathyroid hormone levels.
J Endocrinol Invest, 26:1095-1099, 2003 **IF: 1,621**

7. Varga I, Jakab C, Szucs N, Patocs A, **Toth M**, Kiss R, Glaz E, Racz K. Plasma and salivary 6beta-hydroxycortisol measurements for assessing adrenocortical activity in patients with adrenocortical adenomas.
Horm Metab Res, 35:421-426, 2003 **IF: 1,669**

8. Zalatnai A, Szende B, **Toth M**, Racz K. Primary malignant melanoma of adrenal gland in a 41-yr-old woman.
Endocr Pathol, 14:101-105, 2003 **IF: 0,914**

9. Szucs N, Varga I, Patocs A, **Toth M**, Glaz E, Racz K. Secretion of 6beta-hydroxycortisol by normal human adrenals and adrenocortical adenomas.
Steroids, 68:477-482, 2003 **IF: 2,444**

10. Patocs A, Valkusz Z, Igaz P, Balogh K, **Toth M**, Varga I, Racz K. Segregation of the V804L mutation and S836S polymorphism of exon 14 of the RET gene in an extended kindred with familial medullary thyroid cancer.
Clin Genet, 63:219-223, 2003 **IF: 2,025**

11. Speer G, **Toth M**, Niller H H, Salomon D, Takacs K, Mihelller P, Patocs A, Nagy Z, Bajnok E, Nyiri P, Varga I, Lakatos P. Calcium metabolism and endocrine functions in a family with familial hypocalciuric hypercalcemia.
Exp Clin Endocrinol Diabetes, 111: 486-90, 2003 **IF: 1,956**

12. Patocs A, Karadi E, **Toth M**, Varga I, Szucs N, Balogh K, Majnik J, Glaz E, Racz K. Clinical and biochemical features of sporadic and hereditary pheochromocytomas: an analysis of 41 cases investigated in a single endocrine centre.
Eur J Cancer Prev, 13:403-409, 2004 **IF: 1,785**

13. Hubina E, Kovács L, Szabolcs I, Szucs N, **Toth M**, Racz K, Czirjak S, Gorombey Z, Goth MI. The effect of gender and age on growth hormone replacement in growth hormone-deficient patients.
Horm Metab Res, 36:247-253, 2004 **IF: 1,946**

14. Ujhelyi R, Treszl A, Vasarhelyi B, Holics K, **Toth M**, Arato A, Tulassay T, Tulassay Z, Szathmari M. Bone mineral density and bone acquisition in children and young adults with cystic fibrosis: a follow-up study.
J Pediatr Gastroenterol Nutr 38:401-406, 2004 **IF: 1,764**

15. Hubina E, Lakatos P, Kovacs L, Szaboles I, Racz K, **Toth M**, Szucs N, Goth MI. Effects of 24 months of growth hormone (GH) treatment on serum carboxylated and undercarboxylated osteocalcin levels in GH-deficient adults.
Calcif Tissue Int, 74:55-59, 2004 **IF: 2,258**

16. Majnik J, Patocs A, Balogh K, **Toth M**, Racz K. A rapid and simple method for detection of Asn363Ser polymorphism of the human glucocorticoid receptor gene.
J Steroid Biochem Mol Biol, 92:465-468, 2004 **IF: 2,715**

17. Liko I, Igaz P, Patocs A, Toth S, Pazmany T, **Toth M**, Racz K. Sequence variants of the ligand-binding domain of the glucocorticoid receptor gene and their functional consequences on the three-dimensional protein structure.
Curr Med Chem, 11:3229-3237, 2004 **IF: 4,382**

18. Patocs A, Liko I, Varga I, Gergics P, Boros A, Futo L, Kun I, Bertalan R, Toth S, Pazmany T, **Toth M**, Szucs N, Horanyi J, Glaz E, Racz K. Novel mutation of the CYP17 gene in two unrelated patients with combined 17alpha-hydroxylase/17,20-lyase deficiency: Demonstration of absent enzyme activity by expressing the mutant CYP17 gene and by three-dimensional modeling.
J Steroid Biochem Mol Biol, 97:257-265, 2005 **IF: 2,866**

19. Majnik J, Patocs A, Balogh K, **Toth M**, Mondok A, Borgulya G, Prohaszka Z, Racz K. Over-representation of the N363S variant of the glucocorticoid receptor gene in patients with bilateral adrenal incidentalomas.
J Clin Endocrinol Metab, 91:2796-2799, 2006 **IF: 5,799**

20. Patocs A, Klein I, Szilvasi A, Gergics P, **Toth M**, Valkusz Z, Forizs E, Igaz P, Al-Farhat Y, Tordai A, Varadi A, Racz K, Esik O. Genotype-phenotype correlations in Hungarian patients with hereditary medullary thyroid cancer.
Wien Klin Wochenschr 118:417-421, 2006. **IF: 0,804**

21. Tőke J, Czirják G, Patócs A, Enyedi B, Gergics P, Csákváry V, Enyedi P, **Tóth M**. Neonatal severe hyperparathyroidism associated with a novel de novo heterozygous R551K inactivating mutation and a heterozygous A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor gene.
Clin Endocrinol, 67:385-392, 2007 **IF: 3,370**

22. Igaz P, Rác K, **Tóth M**, Gláz E, Tulassay Z. Treatment of iatrogenic Cushing's syndrome: questions of glucocorticoid withdrawal.
Hungarian Medical Journal, 1:63-72, 2007.

23. Balogh K, Hunyady L, Patocs A, Gergics P, Valkusz Z, **Toth M**, Racz K. MEN1 gene mutations in Hungarian patients with multiple endocrine neoplasia type.
Clin Endocrinol (Oxf). 67:727-734, 2007 **IF: 3,370**

24. Patocs A, Gergics P, Balogh K, **Toth M**, Fazakas F, Liko I, Racz K. Ser80Ile mutation and a concurrent Pro25Leu variant of the VHL gene in an extended Hungarian von Hippel-Lindau family.
BMC Med Genet, 9:29, 2008 **IF: 2,762**

25. Halász Z, Bertalan R, Toke J, Patócs A, **Tóth M**, Fekete G, Gláz E, Rác K. Laterality disturbance and hypopituitarism. A case report of co-existing situs inversus totalis and combined pituitary hormone deficiency.
J Endocrinol Invest 31:74-78, 2008. **IF: 1,888**

26. Tőke J, Patócs P, Balogh K, Gergics P, Stenczer B, Rác K, **Tóth M**. Parathyroid hormone -dependent hypercalcemia.
Wien Klin Wochenschr, 121:236-245, 2009 **IF: 0,955**

27. Mondok A, Varga I, Glaz E, Szucs N, **Tóth M**, Patocs A, Beko G, Racz K. Hydroxysteroid dehydrogenase activity in acromegalic patients with normal or impaired carbohydrate metabolism.
Steroids, 74:725-9, 2009 **IF: 2,905**

28. Gergics P, Patocs A, **Toth M**, Igaz P, Szucs N, Liko I, Fazakas F, Szabo I, Kovacs B, Glaz E, Racz K. Germline VHL gene mutations in Hungarian families with von Hippel-Lindau disease and patients with apparently sporadic unilateral pheochromocytomas.
Eur J Endocrinol, 161:495-502, 2009 **IF: 3,539**

29. Szabó PM, Wiener Z, Tömböl Z, Kovács A, Pócza P, Horányi J, Kulka J, Riesz P, **Tóth M**, Patócs A, Gaillard RC, Falus A, Rácz K, Igaz P. Differences in the expression of histamine-related genes and proteins in normal human adrenal cortex and adrenocortical tumors.
Virchows Arch, 455:133-42, 2009 **IF: 2,305**

30. Beko G, Varga I, Glaz E, Sereg M, Feldman K, **Toth M**, Racz K, Patocs A Cutoff values of midnight salivary cortisol for the diagnosis of overt hyper-cortisolism are highly influenced by methods.
Clin Chim Acta, 411:364–367, 2010 **IF: 2,535**

31. Horányi J, Duffek L, Szlávik R, Takács I, **Tóth M**, Romics L Jr. Intraoperative determination of PTH concentrations in fine needle tissue aspirates to identify parathyroid tissue during parathyroidectomy.
World J Surg, 34:538-543, 2010 **IF: 2,696 (2009)**

32. Szabó PM, Tamási V, Molnár V, Andrásfalvy M, Tömböl Z, Farkas R, Kövesdi K, Patócs A, **Tóth M**, Szalai C, Falus A, Rácz K, Igaz P. Meta-analysis of adrenocortical tumor genomics data: novel pathogenic pathways revealed.
Oncogene, 29:3163-572, 2010 **IF: 7,135 (2009)**

33. Boyle B, Butz H, Liko I, Zalatnai A, **Toth M**, Feldman K, Horanyi J, Igaz P, Racz K, Patocs A. Expression of glucocorticoid receptor isoforms in human adrenocortical adenomas.
Steroids, 75:695-700, 2010 **IF: 2,905 (2009)**
34. Sereg M, Buzogany I, Gonda G, Zoltan Sapi Z, Csoregh E, Zsuzsa Jakab Zs, Racz K, **Tóth M**. Gastrointestinal stromal tumor presenting as a hormonally inactive adrenal mass.
Endocrine, 39:1-5, 2011 **IF: 1,278 (2009)**

**12.0 Az értekezéshez kapcsolódó magyar nyelvű
saját közlemények jegyzéke (1999-2010)**

1. Szathmári M, **Tóth M**, Rác K, Varga I, Gláz E, Tulassay Zs, Holló I. Csont ásványi-anyag-tartalom vizsgálatok nem hiperfunkciós mellékvesekéreg adenomás betegekben. Magy Belorv Arch, 52:159-162, 1999
2. **Tóth M**, Tulassay Zs. Glükokortikoid-indukált osteoporosis. Orv Hetil, 141:219-223, 2000
3. Miheller P, **Tóth M**, Molnár E, Zágoni T, Rác K, Tulassay Z. Szérum csontmarkerek gyulladásos bélbetegséghez társuló csontanyagcsere-eltérésekben. Orv Hetil, 142:1557-1560, 2001
4. **Tóth M**, Tőke J, Fütő L, Varga I, Kiss R, Pusztai P, Szücs N, Adler I, Karlinger K, Horányi J, Czirják S Pásztor E, Gláz E, Rác K, Tulassay Zs. A Cushing-szindróma kezelésének eredményei 115 beteg adatainak retrospektív elemzése alapján. Magy Belorv Arch, 60:65-70, 2006
5. Majnik J, Patocs A, Balogh K, Luczay A, Torok D, Szabo V, Borgulya G, Gergics P, Szappanos A, Bertalan R, Belema B, Toke J, Sereg M, Nagy ZZ, Solyom J, **Tóth M**, Glaz E, Racz K, Nemeth J, Fekete G, Tulassay Z. Glüko-kortikoidreceptor gén szekvenciavariánsai és jelentőségük a glükokortikoidok iránti érzékenység meghatározásában. Orv Hetil 147:2107-2115. 2006
6. Igaz P, Rác K, **Tóth M**, Gláz E, Tulassay Zs. A iatrogén Cushing-szindróma kezelése: a glükokortikoid terápia leépítésének kérdései. Orv Hetil, 148: 195-202, 2007
7. **Tóth M**, Vajda Z, Görömbey Z, Molnár F, Major L, Tőke J, Szabolcs I, Szücs N, Kovács L, Kiss R, Czirják S, Fütő L, Gláz E, Góth M, Rác K. Sinus petrosus inferior

katéterezés értékelése az adrenokortikotrop hormon-dependens Cushing-szindróma elkülönítő diagnosztikájában. Orv Hetil 148:843-847, 2007

8. Barta, Gy, **Tóth, M**, Jakab, Zs, Karlinger, K, Illyés, Gy, Soltész, I, Szilvási, I, Zsiray, M, Tihanyi, T, Rácz, K, Tulassay, Zs. Diagnosztikai tévedést okozó intrapancreaticus melléklép Cushing-szindrómában. Magy Belorv Arch, 60:455-458, 2007
 9. Jozsa, Cs, **Tóth M**, Molnár, F, Vértesaljai, M, Sipos, F, Nádházi, Z, Rácz, K, Tulassay, Zs. Etomidat-kezelés súlyos Cushing-kórban. Magy. Belorv Arch, 60:465-468, 2007
- Tóth M.** Véletlenszerűen felfedezett mellékvese daganatok. Magyar Családorvosok Lapja, 11-15, 2009

13.0 Az értekezés témájához kapcsolódó könyvfejezetek

1. **Tóth M.** Phaeochromocytoma. In: Székács B (szerk.) Hipertonia 2000. Budapest: Promenade Publishing House; 170-177, 1997
2. **Tóth M** (szerk). A paraneoplasias, ectopias hormonképzés és szindrómái. In: Leövey A (szerk): A Klinikai Endokrinológia és Anyagcsere Betegségek Kézikönyve, Medicina, Budapest, 655-665, 2001
3. **Tóth M.** A mellékvesevelő. Tabularium endocrinologiae. Melánia, Budapest, 95-100, 2002
4. **Tóth M:** Paraneoplasia, neuroendocrin tumorok, carcinoid. Tabularium endocrinologiae. Melánia, Budapest, 112-117, 2002
5. **Tóth M.** Endokrinológiai betegségekben szenvedő várandós nők gondozása. In: Rigó J, Papp Z (szerk): A várandós nő gondozása: Medicina, Budapest, 415-426, 2005
6. **Tóth M.** Időskori kalciumanyagcsere-zavarok. In: Székács B (szerk): Geriátria. Semmelweis Kiadó, Budapest, 333-338, 2005
7. **Tóth M.** Az időskori hypophysis-hipofunkció és hypophysisdaganatok. In: Székács B (szerk): Geriátria. Semmelweis Kiadó, Budapest, 339-342, 2005
8. **Tóth M.** Az időskori mellékvese-betegségek klinikuma. In: Székács B (szerk): Geriátria. Semmelweis Kiadó, Budapest, 343-346, 2005
9. **Tóth M.** Cushing-kór és Nelson szindróma. In: Az endokrin és anyagcsere betegségek gyakorlati kézikönyve. (Szerk: Leövey A., Nagy E., Paragh Gy., Rácz K.). Medicina Könyvkiadó, Budapest, 104-116, 2011

10. **Tóth M.** Nem-funkcionáló hypophysis adenomák. Craniopharyngeoma és egyéb sellatájéki daganatok. In: Az endokrin és anyagcsere betegségek gyakorlati kézikönyve. (Szerk: Leövey A., Nagy E., Paragh Gy., Rác K.). Medicina Könyvkiadó, Budapest, 119-127, 2011
11. **Tóth M.** Cushing-szindróma. In: Az endokrin és anyagcsere betegségek gyakorlati kézikönyve. (Szerk: Leövey A., Nagy E., Paragh Gy., Rác K.). Medicina Könyvkiadó, Budapest, 280-291, 2011

14.0 Irodalomjegyzék

1. Perogamvros I, Aarons L, Miller AG, Trainer PJ, Ray DW. Corticosteroid-binding globulin regulates cortisol pharmacokinetics. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011; 74: 30-36.
2. Qureshi AC, Bahri A, Breen LA, Barnes SC, Powrie JK, Thomas SM, Carroll PV. The influence of the route of oestrogen administration on serum levels of cortisol-binding globulin and total cortisol. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007; 66: 632-635.
3. Marques AH, Silverman MN, Sternberg EM. Glucocorticoid dysregulations and their clinical correlates. From receptors to therapeutics. *Ann N Y Acad Sci*. 2009; 1179: 1-18.
4. Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M, Stewart PM. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocr Rev*. 2004; 25: 831-866.
5. Hong D, Chen HX, Ge RS, Li JC. The biological roles of extracellular and intracytoplasmic glucocorticoids in skeletal cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2008; 111: 164-170.
6. Charmandari E, Kino T, Souvatzoglou E, Vottero A, Bhattacharyya N, Chrousos GP. Natural glucocorticoid receptor mutants causing generalized glucocorticoid resistance: molecular genotype, genetic transmission, and clinical phenotype. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 1939–1949.
7. van Rossum EF, Lamberts SW. Glucocorticoid resistance syndrome: a diagnostic and therapeutic approach. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2006; 20: 611–626.
8. Manenschijn L, van den Akker EL, Lamberts SW, van Rossum EF. Clinical features associated with glucocorticoid receptor polymorphisms. An overview. *Ann N Y Acad Sci*. 2009; 1179: 179-198.

9. Draper N, Stewart PM. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the pre-receptor regulation of corticosteroid hormone action. *J Endocrinol.* 2005; 186: 251-271.
10. Penning TM. Molecular endocrinology of hydroxysteroid dehydrogenases. *Endocr Rev.* 1997; 18: 281-305.
11. Odermatt A, Arnold P, Stauffer A, Frey BM, Frey FJ. The N-terminal anchor sequences of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases determine their orientation in the endoplasmic reticulum membrane. *J Biol Chem.* 1999; 274: 28762-28770.
12. Ricketts ML, Verhaeg JM, Bujalska I, Howie AJ, Rainey WE, Stewart PM. Immunohistochemical localization of type 1 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in human tissues. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83: 1325-1335.
13. Korbonits M, Bujalska I, Shimojo M, Nobes J, Jordan S, Grossman AB, Stewart PM. Expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoenzymes in the human pituitary: induction of the type 2 enzyme in corticotropinomas and other pituitary tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 2728-2733.
14. Tateno T, Izumiyama H, Doi M, Yoshimoto T, Shichiri M, Inoshita N, Oyama K, Yamada S, Hirata Y. Differential gene expression in ACTH -secreting and non-functioning pituitary tumors. *Eur J Endocrinol.* 2007; 157: 717-724.
15. Nigawara T, Iwasaki Y, Asai M, Yoshida M, Kambayashi M, Sashinami H, Hashimoto K, Suda T. Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase eliminates impaired glucocorticoid suppression and induces apoptosis in corticotroph tumor cells. *Endocrinology.* 2006; 147: 769-772.
16. Rabbitt EH, Gittoes NJ, Stewart PM, Hewison M. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases, cell proliferation and malignancy. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2003; 85: 415-421.

17. Tannin GM, Agarwal AK, Monder C, New MI, White PC. The human gene for 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Structure, tissue distribution, and chromosomal localization. *J Biol Chem.* 1991; 266: 16653-16658.
18. Nair S, Lee YH, Lindsay RS, Walker BR, Tataranni PA, Bogardus C, Baier LJ, Permana PA. 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase Type 1: genetic polymorphisms are associated with Type 2 diabetes in Pima Indians independently of obesity and expression in adipocyte and muscle. *Diabetologia.* 2004; 47: 1088-1095.
19. Franks PW, Knowler WC, Nair S, Koska J, Lee YH, Lindsay RS, Walker BR, Looker HC, Permana PA, Tataranni PA, Hanson RL. Interaction between an 11betaHSD1 gene variant and birth era modifies the risk of hypertension in Pima Indians. *Hypertension.* 2004; 44: 681-688.
20. de Quervain DJ, Poirier R, Wollmer MA, Grimaldi LM, Tsolaki M, Streffer JR, Hock C, Nitsch RM, Mohajeri MH, Papassotiropoulos A. Glucocorticoid-related genetic susceptibility for Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet.* 2004; 13: 47-52.
21. Deary IJ, Hayward C, Permana PA, Nair S, Whalley LJ, Starr JM, Chapman KE, Walker BR, Seckl JR. Polymorphisms in the gene encoding 11B-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (HSD11B1) and lifetime cognitive change. *Neurosci Lett.* 2006; 393: 74-77.
22. Gelernter-Yaniv L, Feng N, Sebring NG, Hochberg Z, Yanovski JA. Associations between a polymorphism in the 11 beta hydroxysteroid dehydrogenase type I gene and body composition. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003; 27: 983-986.
23. Smit P, Dekker MJ, de Jong FJ, van den Beld AW, Koper JW, Pols HA, Brinkmann AO, de Jong FH, Breteler MM, Lamberts SW. Lack of Association of the 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene 83,557insA and hexose-6-phosphate dehydrogenase gene R453Q polymorphisms with body composition, adrenal androgen production, blood pressure, glucose metabolism, and dementia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 359-362.

24. San Millán JL, Botella-Carretero JI, Alvarez-Blasco F, Luque-Ramírez M, Sancho J, Moghetti P, Escobar-Morreale HF. A study of the hexose-6-phosphate dehydrogenase gene R453Q and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 gene 83557insA polymorphisms in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 4157-4162.

25. Draper N, Walker EA, Bujalska IJ, Tomlinson JW, Chalder SM, Arlt W, Lavery GG, Bedendo O, Ray DW, Laing I, Malunowicz E, White PC, Hewison M, Mason PJ, Connell JM, Shackleton CH, Stewart PM. Mutations in the genes encoding 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and hexose-6-phosphate dehydrogenase interact to cause cortisone reductase deficiency. *Nat Genet.* 2003; 34: 434-439.

26. Gambineri A, Vicennati V, Genghini S, Tomassoni F, Pagotto U, Pasquali R, Walker BR. Genetic variation in 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 predicts adrenal hyperandrogenism among lean women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91: 2295-2302.

27. White PC. Genotypes at 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 11B1 and hexose-6-phosphate dehydrogenase loci are not risk factors for apparent cortisone reductase deficiency in a large population-based sample. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 5880-5883.

28. Robitaille J, Brouillette C, Houde A, Després JP, Tchernof A, Vohl MC. Molecular screening of the 11beta-HSD1 gene in men characterized by the metabolic syndrome. *Obes Res.* 2004; 12: 1570-1575.

29. Hwang JY, Lee SH, Kim GS, Koh JM, Go MJ, Kim YJ, Kim HC, Kim TH, Hong JM, Park EK, Lee JY, Kim SY. HSD11B1 polymorphisms predicted bone mineral density and fracture risk in postmenopausal women without a clinically apparent hypercortisolemia. *Bone.* 2009; 45: 1098-1103.

30. Tomlinson JW, Draper N, Mackie J, Johnson AP, Holder G, Wood P, Stewart PM. Absence of Cushingoid phenotype in a patient with Cushing's disease due to defective cortisone to cortisol conversion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002, 87:57-62.

31. Arai H, Kobayashi N, Nakatsuru Y, Masuzaki H, Nambu T, Takaya K, Yamanaka Y, Kondo E, Yamada G, Fujii T, Miura M, Komatsu Y, Kanamoto N, Ariyasu H, Moriyama K, Yasoda A, Nakao K. A case of cortisol producing adrenal adenoma without phenotype of Cushing's syndrome due to impaired 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 1 activity. *Endocr J*. 2008; 55: 709-715.
32. DeRijk RH, Schaaf M, de Kloet ER. Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2002; 81: 103-122.
33. Bray PJ, Cotton RG. Variations of the human glucocorticoid receptor gene (NR3C1): pathological and in vitro mutations and polymorphisms. *Hum Mutat*. 2003; 21: 557-568.
34. Bamberger CM, Bamberger AM, de Castro M, Chrousos GP. Glucocorticoid receptor beta, a potential endogenous inhibitor of glucocorticoid action in humans. *J Clin Invest*. 1995; 95: 2435-2441.
35. Oakley RH, Sar M, Cidlowski JA. The human glucocorticoid receptor beta isoform. Expression, biochemical properties, and putative function. *J Biol Chem*. 1996; 271: 9550–9559.
36. Yudit MR, Jewell CM, Bienstock RJ, Cidlowski JA. Molecular origins for the dominant negative function of human glucocorticoid receptor beta. *Mol Cell Biol*. 2003; 23: 4319-4330.
37. Revollo JR, Cidlowski JA. Mechanisms generating diversity in glucocorticoid receptor signaling. *Ann N Y Acad Sci*. 2009; 1179:167-178.
38. Schaaf MJ, Cidlowski JA. AUUUA motifs in the 3'UTR of human glucocorticoid receptor alpha and beta mRNA destabilize mRNA and decrease receptor protein expression. *Steroids*. 2002; 67: 627-636.

39. Derijk RH, Schaaf MJ, Turner G, Datson NA, Vreugdenhil E, Cidlowski J, de Kloet ER, Emery P, Sternberg EM, Detera-Wadleigh SD. A human glucocorticoid receptor gene variant that increases the stability of the glucocorticoid receptor beta-isoform mRNA is associated with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2001; 28: 2383-2388.
40. Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES, Cerelli G, Oro A, Lebo R, Thompson EB, Rosenfeld MG, Evans RM. Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. *Nature.* 1985, 318: 635-641.
41. Encío IJ, Detera-Wadleigh SD. The genomic structure of the human glucocorticoid receptor. *J Biol Chem.* 1991; 266: 7182-7188.
42. Galon J, Franchimont D, Hiroi N, Frey G, Boettner A, Ehrhart-Bornstein M, O'Shea JJ, Chrousos GP, Bornstein SR: Gene profiling reveals unknown enhancing and suppressive actions of glucocorticoids on immune cells. *FASEB J.* 2002; 16: 61-71.
43. van den Akker EL, Russcher H, van Rossum EF, Brinkmann AO, de Jong FH, Hokken A, Pols HA, Koper JW, Lamberts SW. Glucocorticoid receptor polymorphism affects transrepression but not transactivation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91: 2800-2803.
44. van Rossum EF, Lamberts SW. Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition. *Recent Prog Horm Res.* 2004; 59: 333-357.
45. Huizenga NA, Koper JW, De Lange P, Pols HA, Stolk RP, Burger H, Grobbee DE, Brinkmann AO, De Jong FH, Lamberts SW. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene may be associated with and increased sensitivity to glucocorticoids in vivo. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83: 144-851.
46. Wüst S, Van Rossum EF, Federenko IS, Koper JW, Kumsta R, Hellhammer DH. Common polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene are associated with adrenocortical responses to psychosocial stress. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 565-573.

47. Rosmond R, Bouchard C, Björntorp P. Tsp509I polymorphism in exon 2 of the glucocorticoid receptor gene in relation to obesity and cortisol secretion: cohort study. *BMJ*. 2001; 322: 652-653.
48. Lin RC, Wang XL, Dalziel B, Caterson ID, Morris BJ. Association of obesity, but not diabetes or hypertension, with glucocorticoid receptor N363S variant. *Obes Res*. 2003; 11: 802-808.
49. Roussel R, Reis AF, Dubois-Laforgue D, Bellanné-Chantelot C, Timsit J, Velho G. The N363S polymorphism in the glucocorticoid receptor gene is associated with overweight in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003; 59: 237-241.
50. Lin RC, Wang XL, Morris BJ. Association of coronary artery disease with glucocorticoid receptor N363S variant. *Hypertension*. 2003; 41: 404-407.
51. Majnik J, Patocs A, Balogh K, Toth M, Gergics P, Szappanos A, Mondok A, Borgulya G, Panczel P, Prohaszka Z, Racz K. Overrepresentation of the N363S variant of the glucocorticoid receptor gene in patients with bilateral adrenal incidentalomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91: 2796-2799.
52. Koper JW, Stolk RP, de Lange P, Huizenga NA, Molijn GJ, Pols HA, Grobbee DE, Karl M, de Jong FH, Brinkmann AO, Lamberts SW. Lack of association between five polymorphisms in the human glucocorticoid receptor gene and glucocorticoid resistance. *Hum Genet*. 1997; 99: 663-668.
53. van Rossum EF, Koper JW, Huizenga NA, Uitterlinden AG, Janssen JA, Brinkmann AO, Grobbee DE, de Jong FH, van Duyn CM, Pols HA, Lamberts SW. A polymorphism in the glucocorticoid receptor gene, which decreases sensitivity to glucocorticoids in vivo, is associated with low insulin and cholesterol levels. *Diabetes*. 2002; 51: 3128-3134.
54. van Rossum EF, Voorhoeve PG, te Velde SJ, Koper JW, Delemarre-van de Waal HA, Kemper HC, Lamberts SW. The ER22/23EK polymorphism in the glucocorticoid

receptor gene is associated with a beneficial body composition and muscle strength in young adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 4004-4009.

55. Syed AA, Irving JA, Redfern CP, Hall AG, Unwin NC, White M, Bhopal RS, Weaver JU. Association of glucocorticoid receptor polymorphism A3669G in exon 9beta with reduced central adiposity in women. *Obesity.* 2009; 14: 759-764.
56. Glazer HS, Weyman PJ, Sagel SS, Levitt RG, McClennan BL. Nonfunctioning adrenal masses: incidental discovery on computed tomography. *Am J Roentgenol.* 1982; 139: 81-85.
57. Copeland PM. The incidentally discovered adrenal mass. *Ann Intern Med.* 1983; 98: 940-945.
58. Kloos RT, Gross MD, Francis IR, Korobkin M, Shapiro B. Incidentally discovered adrenal masses. *Endocr Rev.* 1995; 16: 460-484.
59. Anonymus. NIH state-of-the-science statement on management of the clinically inapparent adrenal mass ("incidentaloma"). *NIH Consens State Sci Statements.* 2002; 19: 1-25.
60. Grumbach MM, Biller BM, Braunstein GD, Campbell KK, Carney JA, Godley PA, Harris EL, Lee JK, Oertel YC, Posner MC, Schlechte JA, Wieand HS. Management of the clinically inapparent adrenal mass ("incidentaloma"). *Ann Intern Med.* 2003; 138: 424-429.
61. Mansmann G, Lau J, Balk E, Rothberg M, Miyachi Y, Bornstein S. The clinically inapparent adrenal mass: update in diagnosis and management. *Endocr Rev.* 2004; 25: 309-340.

62. Rácz K, Pinet F, Marton T, Szende B, Gláz E, Corvol P. Expression of steroidogenic enzyme messenger ribonucleic acids and corticosteroid production in aldosterone-producing and "nonfunctioning" adrenal adenomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 77: 677-682.
63. Rácz K, Pinet F, Gasc JM, Guyene TT, Corvol P. Coexpression of renin, angiotensinogen, and their messenger ribonucleic acids in adrenal tissues. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 75: 730-737.
64. Osella G, Terzolo M, Borretta G, Magro G, Ali A, Piovesan A, Paccotti P, Angeli A. Endocrine evaluation of incidentally discovered adrenal masses. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994; 79: 1532-1539.
65. Flecchia D, Mazza E, Carlini M, Blatto A, Olivieri F, Serra G, Camanni F, Messina M. Reduced serum levels of dehydroepiandrosterone sulphate in adrenal incidentalomas: a marker of adrenocortical tumour. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1995; 42:129-134.
66. Ambrosi B, Peverelli S, Passini E, Re T, Ferrario R, Colombo P, Sartorio A, Faglia G. Abnormalities of endocrine function in patients with clinically "silent" adrenal masses. *Eur J Endocrinol.* 1995; 132: 422-428.
67. Yamaji T, Ibayashi H. Plasma dehydroepiandrosterone sulfate in normal and pathological conditions. *J Clin Endocrinol Metab.* 1969; 29: 273-279.
68. Kleiber H, Rey F, Temler E, Gomez F. Dissociated recovery of cortisol and dehydroepiandrosterone sulphate after treatment for Cushing's syndrome. *J Endocrinol Invest.* 1991; 14: 489-492.
69. Terzolo M, Osella G, Ali A, Borretta G, Magro G-P, Termine A, Paccotti P, Angeli A. Different patterns of steroid secretion in patients with adrenal incidentaloma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81:740-744.

70. Cunningham SK, McKenna TJ. Dissociation of adrenal androgen and cortisol secretion in Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994; 41: 795-800.
71. Simpson ER, Waterman MR. Regulation of the synthesis of steroidogenic enzymes in the adrenal cortical cells by ACTH. *Ann Rev Physiol*. 1998; 50: 427-440.
72. Sasano H, Sato F, Shizawa S, Nagura H, Coughtrie MW. Immunolocalization of dehydroepiandrosterone sulfotransferase in normal and pathologic human adrenal gland. *Mod Pathol*. 1995; 8: 891-896.
73. Miller WL. Androgen synthesis in adrenarche. *Rev Endocr Metab Disord*. 2009; 10: 3-17.
74. Nakamura Y, Gang HX, Suzuki T, Sasano H, Rainey WE. Adrenal changes associated with adrenarche. *Rev Endocr Metab Disord*. 2009; 10: 19-26.
75. Tabarin A, Bardet S, Bertherat J, Dupas B, Chabre O, Hamoir E, Laurent F, Tenenbaum F, Cazalda M, Lefebvre H, Valli N, Rohmer V; French Society of Endocrinology Consensus. Exploration and management of adrenal incidentalomas. French Society of Endocrinology Consensus. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2008; 69: 487-500.
76. Bernini GP, Moretti A, Oriandini C, Bardini M, Taurino C, Salvetti A. Long-term morphological and hormonal follow-up in a single unit on 115 patients with adrenal incidentalomas. *British J Cancer*. 2005; 92: 1104-1109.
77. Bülow B, Jansson S, Juhlin C, Steen L, Thorén M, Wahrenberg H, Valdemarsson S, Wängberg B, Åhrén B. Adrenal incidentaloma - follow-up results from a Swedish prospective study. *Eur J Endocrinol*. 2006; 154: 419-423.
78. Barzon L, Scaroni C, Sonino N, Fallo F, Paoletta A, Boscaro M. Risk factors and long-term follow-up of adrenal incidentalomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84: 520-526.

79. Libè R, Dall'Asta C, Barbetta L, Baccarelli A, Beck-Peccoz P, Ambrosi B. Long-term follow-up study of patients with adrenal incidentalomas. *Eur J Endocrinol.* 2002; 147: 489-494.
80. Giordano R, Marinazzo E, Berardelli R, Picu A, Maccario M, Ghigo E, Arvat E. Long-term morphological, hormonal, and clinical follow-up in a single unit on 118 patients with adrenal incidentalomas. *Eur J Endocrinol.* 2010; 162: 779-785.
81. Arnaldi G, Angeli A, Atkinson AB, Bertagna X, Cavagnini F, Chrousos GP, Fava GA, Findling JW, Gaillard RC, Grossman AB, Kola B, Lacroix A, Mancini T, Mantero F, Newell-Price J, Nieman LK, Sonino N, Vance ML, Giustina A, Boscaro M. Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 5593-5602.
82. Nieman LK, Ilias I. Evaluation and treatment of Cushing's syndrome. *Am J Med.* 2005; 118: 1340-1346.
83. Newell-Price J, Trainer P, Besser M, Grossman A. The diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states. *Endocr Rev.* 1998; 19: 647-672.
84. Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet.* 2006; 367: 1605-1617.
85. Cushing H. The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism). *Bull Johns Hopkins Hosp.* 1932; 50: 137-195.
86. Etxabe J, Vazquez JA. Morbidity and mortality in Cushing's disease: an epidemiological approach. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1994; 40: 479-484.
87. Lindholm J, Juul S, Jorgensen JO, Astrup J, Bjerre P, Feldt-Rasmussen U, Hagen C, Jorgensen J, Kosteljanetz M, Kristensen L, Laurberg P, Schmidt K, Weeke J. Incidence and late prognosis of Cushing's syndrome: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 117-123.

88. Boscaro M, Arnaldi G. Approach to the patient with possible Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 3121-3131.
89. George DH, Scheithauer BW, Kovacs K, Horvath E, Young WF Jr, Lloyd RV, Meyer FB. Crooke's cell adenoma of the pituitary: an aggressive variant of corticotroph adenoma. *Am J Surg Pathol.* 2003; 27: 1330-1336.
90. Chacko G, Chacko AG, Lombardero M, Mani S, Seshadri MS, Kovacs K, Scheithauer BW. Clinicopathologic correlates of giant pituitary adenomas. *J Clin Neurosci.* 2009; 16: 660-665.
91. Pawlikowski M, Kunert-Radek J, Radek M. "Silent" corticotropinoma. *Neuro Endocrinol Lett.* 2008; 29: 347-350.
92. Erickson D, Scheithauer B, Atkinson J, Horvath E, Kovacs K, Lloyd RV, Young WF Jr. Silent subtype 3 pituitary adenoma: a clinicopathologic analysis of the Mayo Clinic experience. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009; 71: 92-99.
93. Reimondo G, Pia A, Allasino B, Tassone F, Bovio S, Borretta G, Angeli A, Terzolo M. Screening of Cushing's syndrome in adult patients with newly diagnosed diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007; 67: 225-229.
94. Stratakis CA, Kirschner LS, Carney JA. Clinical and molecular features of the Carney complex: diagnostic criteria and recommendations for patient evaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 4041-4046.
95. Stratakis CA. New genes and/or molecular pathways associated with adrenal hyperplasias and related adrenocortical tumors. *Mol Cell Endocrinol.* 2009; 300: 152-157.
96. Ilias I, Torpy DJ, Pacak K, Mullen N, Wesley RA, Nieman LK. Cushing's syndrome due to ectopic corticotropin secretion: twenty years' experience at the National Institutes of Health. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 4955-4962.

97. Isidori AM, Kaltsas GA, Pozza C, Frajese V, Newell-Price J, Reznick RH, Jenkins PJ, Monson JP, Grossman AB, Besser GM. The ectopic adrenocorticotropin syndrome: clinical features, diagnosis, management, and long-term follow-up. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91: 371-377.
98. RÁCZ K. Cushing-szindróma. In: A klinikai endokrinológia és anyagcsere betegségek kézikönyve (szerk: Leövey A.). 2001. 395-402.
99. Cicala MV, Mantero F. Hypertension in Cushing's syndrome: from pathogenesis to treatment. *Neuroendocrinology.* 2010; 92 Suppl 1:44-49.
100. Munir A, Newell-Price J. Management of diabetes mellitus in Cushing's syndrome. *Neuroendocrinol.* 2010; 92 Suppl 1: 82-85.
101. Pivonello R, De Leo M, Vitale P, Cozzolino A, Simeoli C, De Martino MC, Lombardi G, Colao A. Pathophysiology of diabetes mellitus in Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology.* 2010; 92 Suppl 1: 77-81.
102. Bertagna C, Orth DN. Clinical and laboratory findings and results of therapy in 58 patients with adrenocortical tumors admitted to a single medical center (1951-1978). *Am J Med.* 1981; 71: 855-875.
103. Charbonnel B, Chatal JF, Ozanne P. Does the corticoadrenal adenoma with "pre-Cushing's syndrome" exist? *J Nucl Med.* 1981; 22:1059-1061.
104. Reincke M, Nieke J, Krestin GP, Saeger W, Allolio B, Winkelmann W. Preclinical Cushing's syndrome in adrenal "incidentalomas": Comparison with adrenal Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 75: 826-832.

105. Chiodini I, Morelli V, Masserini B, Salcuni AS, Eller-Vainicher C, Viti R, Coletti F, Guglielmi G, Battista C, Carnevale V, Iorio L, Beck-Peccoz P, Arosio M, Ambrosi B, Scillitani A. Bone mineral density, prevalence of vertebral fractures, and bone quality in patients with adrenal incidentalomas with and without subclinical hypercortisolism: an Italian multicenter study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 3207-3214.
106. Terzolo M, Osella G, Ali A, Borretta G, Cesario F, Paccotti P, Angeli A. Subclinical Cushing's syndrome in adrenal incidentaloma. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998; 48: 899-897.
107. Hammer GD, Tyrrell JB, Lamborn KR, Applebury CB, Hannegan ET, Bell S, Rahl R, Lu A, Wilson CB. Transsphenoidal microsurgery for Cushing's disease: initial outcome and long-term results. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 6348-6357.
108. Plotz CM, Knowlton AI, Ragan C. The natural history of Cushing's syndrome. *Am J Med.* 1952; 13: 597-614.
109. Colao A, Pivonello R, Spiezia S, Faggiano A, Ferone D, Filippella M, Marzullo P, Cerbone G, Siciliani M, Lombardi G. Persistence of increased cardiovascular risk in patients with Cushing's disease after five years of successful cure. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84: 2664-2672.
110. Dekkers OM, Biermasz NR, Pereira AM, Roelfsema F, van Aken MO, Voormolen JH, Romijn JA. Mortality in patients treated for Cushing's disease is increased, compared with patients treated for nonfunctioning pituitary macroadenoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 976-981.
111. Clayton RN. Mortality in Cushing's disease. *Neuroendocrinology.* 2010; 92 Suppl 1: 71-76.
112. Terzolo M, Pia A, Ali A, Osella G. Adrenal incidentaloma: a new cause of the metabolic syndrome? *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 998-1003.

113. Leibowitz G, Tsur A, Chayen SD, Salameh M, Raz I, Cerasi E, Gross DJ. Preclinical Cushing's syndrome: an unexpected frequent cause of poor glycaemic control in obese diabetic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996; 44: 717-722.
114. Rossi R, Tauchmanova L, Luciano A, Di Martino M, Battista C, Del Viscovo L, Nuzzo V, Lombardi G. Subclinical Cushing's syndrome in patients with adrenal incidentaloma: clinical and biochemical features. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85: 1440-1448.
115. Vierhapper H, Heinze G, Gessl A, Exner M. Adrenocortical tumors: prevalence of impaired glucose tolerance and of "Paradoxical Rise" of cortisol during an oral glucose tolerance test. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2003; 111: 415-420.
116. Garappa GG, Pantanetti P, Arnaldi G, Mantero F, Faloia E. Body composition and metabolic features in women with adrenal incidentaloma or Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86: 5301-5306.
117. Midorikawa S, Sanada H, Hashimoto S, Suzuki T, Watanabe T. The improvement of insulin resistance in patients with adrenal incidentaloma by surgical resection. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001; 54: 797-804.
118. Bernini G, Moretti A, Lacconi P, Miccoli P, Nami R, Lucani B, Salvetti A. Anthropometric, haemodynamic, humoral and hormonal evaluation in patients with incidental adrenocortical adenomas before and after surgery. *Eur J Endocrinol*. 2003; 148 213-219.
119. Fernandez-Real JM, Ricart Engel W, Simó R, Salinas I, Webb SM, and the Study Group of Incidental Adrenal Adenoma: Study of glucose tolerance in consecutive patients harbouring incidental adrenal tumors. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998; 49: 53-61.
120. Tauchmanová L, Rossi R, Biondi B, Pulcrano M, Nuzzo V, Palmieri EA, Fazio S, Lombardi G. Patients with subclinical Cushing's syndrome due to adrenal adenoma have increased cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 4872-4878.

121. Kristo C, Ueland T, Godang K, Aukrust P, Bollerslev J. Biochemical markers for cardiovascular risk following treatment in endogenous Cushing's syndrome. *J Endocrinol Invest.* 2008; 31: 400-405.
122. Barahona MJ, Sucunza N, Resmini E, Fernández-Real JM, Ricart W, Moreno-Navarrete JM, Puig T, Farrerons J, Webb SM. Persistent body fat mass and inflammatory marker increases after long-term cure of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 3365-3371.
123. Erbil Y, Ademoglu E, Özbey N, Barbaros U, Tulumoglu Yanik B, Salmaslioglu A, Bozbora A, Özarmagan S. Evaluation of the cardiovascular risk in patients with Subclinical Cushing Syndrome before and after surgery. *World J Surg.* 2006; 30: 1665-1671.
124. Carroll TB, Findling JW. The diagnosis of Cushing's syndrome. *Rev Endocr Metab Disord.* 2010; 11:147-153.
125. Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM, Montori VM. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93: 1526-1540.
126. Carroll T, Raff H, Findling JW. Late-night salivary cortisol measurement in the diagnosis of Cushing's syndrome. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008; 4: 344-350.
127. Remer T, Maser-Gluth C, Wudy SA. Glucocorticoid measurements in health and disease-metabolic implications and the potential of 24-h urine analyses. *Mini Rev Med Chem.* 2008; 8: 153-170.
128. Elamin MB, Murad MH, Mullan R, Erickson D, Harris K, Nadeem S, Ennis R, Erwin PJ, Montori VM. Accuracy of diagnostic tests for Cushing's syndrome: a systematic review and metaanalyses. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93: 1553-1562.
129. Raff H. Utility of salivary cortisol measurements in Cushing's syndrome and adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 3647-3655.

130. Putignano P, Toja P, Dubini A, Pecori Giraldi F, Corsello SM, Cavagnini F. Midnight salivary cortisol versus urinary free and midnight serum cortisol as screening tests for Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 4153-4157.
131. Pecori Giraldi F, Ambrogio AG, De Martin M, Fatti LM, Scacchi M, Cavagnini F. Specificity of first-line tests for the diagnosis of Cushing's syndrome: assessment in a large series. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 4123-4129
132. Baid SK, Sinaii N, Wade M, Rubino D, Nieman LK. Radioimmunoassay and tandem mass spectrometry measurement of bedtime salivary cortisol levels: a comparison of assays to establish hypercortisolism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92: 3102-3107.
133. Beko G, Varga I, Glaz E, Sereg M, Feldman K, Toth M, Racz K, Patocs A Cutoff values of midnight salivary cortisol for the diagnosis of overt hypercortisolism are highly influenced by methods. *Clin Chim Acta.* 2010; 411:364–367.
134. Kidambi S, Raff H, Findling JW. Limitations of nocturnal salivary cortisol and urine free cortisol in the diagnosis of mild Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2007; 157: 725-731.
135. Papanicolaou DA, Mullen N, Kyrou I, Nieman LK. Nighttime salivary cortisol: a useful test for the diagnosis of Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 4515-4521.
136. Walsh LJ, Wong CA, Pringle M, Tattersfield AE. Use of oral corticosteroids in the community and the prevention of secondary osteoporosis: a cross sectional study. *BMJ.* 1996; 313: 344-346.
137. van Staa TP, Leufkens HG, Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2002; 13: 777-787.
138. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone: implications to glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 3441-3447.

139. Abu EO, Horner A, Kusec V, Triffitt JT, Compston JE. The localization of the functional glucocorticoid receptor alpha in human bone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 883-889.
140. Beavan S, Horner A, Bord S, Ireland D, Compston J. Colocalization of glucocorticoid and mineralocorticoid receptors in human bone. *J Bone Miner Res.* 2001; 16: 1496-1504.
141. Pierotti S, Gandini L, Lenzi A, Isidori AM. Pre-receptorial regulation of steroid hormones in bone cells: insights on glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008; 108: 292-299.
142. Cooper MS, Walker EA, Bland R, Fraser WD, Hewison M, Stewart PM. Expression and functional consequences of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in human bone. *Bone.* 2000; 27: 375-381.
143. Cooper MS, Rabbitt EH, Goddard PE, Bartlett WA, Hewison M, Stewart PM. Osteoblastic 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity increases with age and glucocorticoid exposure. *J Bone Miner Res.* 2002; 17: 979-986.
144. Cooper MS, Bujalska I, Rabbitt E, Walker EA, Bland R, Sheppard MC, Hewison M, Stewart PM. Modulation of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isozymes by proinflammatory cytokines in osteoblasts: an autocrine switch from glucocorticoid inactivation to activation. *J Bone Miner Res.* 2001; 16:1037-1044.
145. Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int.* 2007; 18: 1319-1328.
146. Sasaki N, Kusano E, Ando Y, Nemoto J, Iimura O, Ito C, Takeda S, Yano K, Tsuda E, Asano Y. Changes in osteoprotegerin and markers of bone metabolism during glucocorticoid treatment in patients with chronic glomerulonephritis. *Bone.* 2002; 30: 853-858.

147. Dovio A, Perazzolo L, Osella G, Ventura M, Termine A, Milano E, Bertolotto A, Angeli A. Immediate fall of bone formation and transient increase of bone resorption in the course of high-dose, short-term glucocorticoid therapy in young patients with multiple sclerosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 4923-4928.
148. Eijken M, Hewison M, Cooper MS, de Jong FH, Chiba H, Stewart PM, Uitterlinden AG, Pols HA, van Leeuwen JP. 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase expression and glucocorticoid synthesis are directed by a molecular switch during osteoblast differentiation. *Mol Endocrinol.* 2004; 19: 621-631.
149. Ross FP. Osteoclast biology and bone resorption. In: Rosen CJ, Compston JE, Lian JB (szerk): *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism.* Washington, 2008; American Society for Bone and Mineral Research, 16-22.
150. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev.* 2005; 26: 97-122.
151. Civitelli R, Armamento-Villareal R, Napoli N. Bone turnover markers: understanding their value in clinical trials and clinical practice. *Osteoporos Int.* 2009; 20: 843-851.
152. Bhattoa HP. A csontspecifikus biokémiai markerek. In: *Metabolikus csontbetegségek.* (szerk: Lakatos P – Takács I). Medintel Könyvkiadó, Budapest, 2006. 109-115.
153. Szulcz P, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. In: Rosen CJ, Compston JE, Lian JB (szerk): *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism.* Washington, 2008; American Society for Bone and Mineral Research, 174-179.
154. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover part II: clinical applications in the management of osteoporosis. *Clin Biochem Rev.* 2006; 27: 123-138.
155. Mazziotti G, Angeli A, Bilezikian JP, Canalis E, Giustina A. Glucocorticoid-induced osteoporosis: an update. *Trends Endocrinol Metab.* 2006; 17: 144-149.

156. Piovesan A, Terzolo M, Reimondo G, Pia A, Codegone A, Osella G, Boccuzzi A, Paccotti P, Angeli A. Biochemical markers of bone and collagen turnover in acromegaly or Cushing's syndrome. *Horm Metab Res.* 1994; 26: 234-237.
157. Di Somma C, Pivonello R, Loche S, Faggiano A, Marzullo P, Di Sarno A, Klain M, Salvatore M, Lombardi G, Colao A. Severe impairment of bone mass and turnover in Cushing's disease: comparison between childhood-onset and adulthood-onset disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002; 56: 153-158.
158. Francucci CM, Pantanetti P, Garrapa GG, Massi F, Arnaldi G, Mantero F. Bone metabolism and mass in women with Cushing's syndrome and adrenal incidentaloma. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002; 57: 587-593.
159. Kristo C, Jemtland R, Ueland T, Godang K, Bollerslev J. Restoration of the coupling process and normalization of bone mass following successful treatment of endogenous Cushing's syndrome: a prospective, long-term study. *Eur J Endocrinol.* 2006; 154: 109-118.
160. Minetto M, Reimondo G, Osella G, Ventura M, Angeli A, Terzolo M. Bone loss is more severe in primary adrenal than in pituitary-dependent Cushing's syndrome. *Osteoporos Int.* 2004; 15: 855-861.
161. Cortet B, Cortet C, Blanckaert F, d'Herbomez M, Marchandise X, Wémeau JL, Decoulx M, Dewailly D. Quantitative ultrasound of bone and markers of bone turnover in Cushing's syndrome. *Osteoporos Int.* 2001; 12: 117-123.
162. Camozzi V, Sanguin F, Albigier N, Scaroni C, Mantero F, Zaninotto M, Frigo A, Piccolo M, Luisetto G. Persistent increase of osteoprotegerin levels after cortisol normalization in patients with Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2010; 162: 85-90.

163. Sartorio A, Conti A, Ferrero S, Giambona S, Re T, Passini E, Ambrosi B. Evaluation of markers of bone and collagen turnover in patients with active and preclinical Cushing's syndrome and in patients with adrenal incidentaloma. *Eur J Endocrinol.* 1998; 138:146-1252.
164. Tauchmanová L, Pivonello R, Di Somma C, Rossi R, De Martino MC, Camera L, Klain M, Salvatore M, Lombardi G, Colao A. Bone demineralization and vertebral fractures in endogenous cortisol excess: role of disease etiology and gonadal status. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1779-1784.
165. Chiodini I, Carnevale V, Torlontano M, Fusilli S, Guglielmi G, Pileri M, Modoni S, Di Giorgio A, Liuzzi A, Minisola S, Cammisa M, Trischitta V, Scillitani A. Alterations of bone turnover and bone mass at different skeletal sites due to pure glucocorticoid excess: study in eumenorrheic patients with Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 ; 83:1863-1867.
166. Godang K, Ueland T, Bollerslev J. Decreased bone area, bone mineral content, formative markers, and increased bone resorptive markers in endogenous Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 1999; 141: 126-131.
167. Huizenga NA, De Herder WW, Koper JW, de Lange P, v D Lely AJ, Brinkmann AO, de Jong FH, Lamberts SW. Decreased ligand affinity rather than glucocorticoid receptor down-regulation in patients with endogenous Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2000; 142: 472-476.
168. Hagendorf A, Koper JW, de Jong FH, Brinkmann AO, Lamberts SW, Feelders RA. Expression of the human glucocorticoid receptor splice variants alpha, beta, and P in peripheral blood mononuclear leukocytes in healthy controls and in patients with hyper- and hypocortisolism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 6237-9243.
169. Mariniello B, Ronconi V, Rilli S, Bernante P, Boscaro M, Mantero F, Giacchetti G. Adipose tissue 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression in obesity and Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol.* 2006; 155: 435-341.

170. Espindola-Antunes D, Kater CE. Adipose tissue expression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in Cushing's syndrome and in obesity. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007; 51: 1397-1403.
171. Tóth M, Tóke J, Fütő L, Varga I, Kiss R, Pusztai P, Szücs N, Adler I, Karlinger K, Horányi J, Czirják S, Pásztor E, Gláz E, Rácz K, Tulassay Zs. A Cushing-szindróma kezelésének eredményei 115 beteg adatainak retrospektív elemzése alapján. *Magy Belorv Arch.* 2006; 60: 65-70.
172. Széles G, Vokó Z, Jenei T, Kardos L, Pocsai Z, Bajtay A, Papp E, Pásti G, Kósa Z, Molnár I, Lun K, Adány R. A preliminary evaluation of a health monitoring programme in Hungary. *Eur J Public Health.* 2005;15: 26-32.
173. Gláz E. A mellékvesekéreg-functio vizsgálata. In: *Klinikai endocrinologia* (szerk. Gláz E). Medicina, 1981, Budapest, 494-527.
174. Vecsei P, Onyechi R, Hornung J, Dietz R, Mast G, Hobler H. Use of corticosteroid antibodies for the study of corticosteroid biosynthesis in vitro. *J Steroid Biochem.* 1975; 6: 383-387.
175. Orentreich N, Brind JL, Rizer RL, Vogelmann JH. Age changes and sex differences in serum dehydroepiandrosterone sulfate concentrations throughout adulthood. *J Clin Endocrinol Metab.* 1984; 59: 551-555.
176. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension.* 2003; 42: 1206-1252.
177. Bennett PH. Impact of the new WHO classification and diagnostic criteria. *Diabetes Obes Metab.* 1999; 1 Suppl 2: S1-6.

178. Anonymus. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. World Health Organ Tech Rep Ser. 1994; 843: 1-129.
179. Gergics P, Patocs A, Majnik J, Balogh K, Szappanos A, Toth M, Racz K. Detection of the Bcl I polymorphism of the glucocorticoid receptor gene by single-tube allele-specific polymerase chain reaction. J Steroid Biochem Mol Biol. 2006; 100: 161-166.
180. Majnik J, Patócs A, Balogh K, Tóth M, Rác K. A rapid and simple method for detection of Asn363Ser polymorphism of the human glucocorticoid receptor gene. J Steroid Biochem Mol Biol. 2004; 92: 465-468.
181. Rainey WE, Nakamura Y. Regulation of the adrenal androgen biosynthesis. J Steroid Biochem Mol Biol. 2008; 108: 281-286.
182. Kamenicky P, Houdoin L, Ferlicot S, Salenave S, Brailly S, Droupy S, Meduri G, Sasano H, Suzuki T, Young J, Chanson P. Benign cortisol-secreting adrenocortical adenomas produce small amounts of androgens. Clin Endocrinol (Oxf). 2007; 66: 778-788.
183. Tsagarakis S, Roboti C, Kokkoris P, Vasiliou V, Alevizaki C, Thalassinou N. Elevated post-dexamethasone suppression cortisol concentrations correlate with hormonal alterations of the hypothalamo-pituitary adrenal axis in patients with adrenal incidentalomas. Clin Endocrinol (Oxf). 1998; 49: 165-171.
184. Nieman LK. Approach to the patient with an adrenal incidentaloma. J Clin Endocrinol Metab. 2010; 95: 4106-4613.
185. Mantero F, Terzolo M, Arnaldi G, Osella G, Masini AM, Ali A, Giovagnetti M, Opocher G, Angeli A. A survey on adrenal incidentaloma in Italy. Study Group on Adrenal Tumors of the Italian Society of Endocrinology. J Clin Endocrinol Metab. 2000; 85: 637-644.

186. Lazúrová I, Dudášová D, Wagnerová H, Dravecká I, Petrášová D. Adrenal incidentalomas and the metabolic syndrome – are there any differences between adenoma and hyperplasia? *Neoplasma*. 2006; 53: 324-327.
187. Terzolo M, Bovio S, Pia A, Conton PA, Reimondo G, Dall'Asta C, Bemporad D, Angeli A, Opocher G, Mannelli M, Ambrosi B, Mantero F. Midnight serum cortisol as a marker of increased cardiovascular risk in patients with a clinically inapparent adrenal adenoma. *Eur J Endocrinol*. 2005; 153: 307-315.
188. Reincke M, Fassnacht M, Väh S, Mora P, Allolio B. Adrenal incidentalomas: a manifestation of the metabolic syndrome? *Endocr Res*. 1996; 22: 757-261.
189. Peppia M, Boutati E, Koliaki C, Papaefstathiou N, Garoflos E, Economopoulos T, Hadjidakis D, Raptis SA. Insulin resistance and metabolic syndrome in patients with nonfunctioning adrenal incidentalomas: a cause-effect relationship? *Metabolism*. 2010; 59: 1435-1441.
190. Stěpán J, Weiss V, Marek J, Krsek M, Masatová A, Hána V. [Spontaneous remission of corticosteroid osteopenia after successful surgical treatment of Cushing's syndrome. A cross-sectional study]. [Article in Czech] *Cas Lek Cesk*. 1997; 136: 464-467.
191. Ohmori N, Nomura K, Ohmori K, Kato Y, Itoh T, Takano K. Osteoporosis is more prevalent in adrenal than in pituitary Cushing's syndrome. *Endocr J*. 2003; 50: 1-7.
192. Karavitaki N, Ioannidis G, Giannakopoulos F, Mavrokefalos P, Thalassinou N. Evaluation of bone mineral density of the peripheral skeleton in pre- and postmenopausal women with newly diagnosed endogenous Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004; 60: 264-270.
193. Vestergaard P, Lindholm J, Jørgensen JO, Hagen C, Hoeck HC, Laurberg P, Rejnmark L, Brixen K, Kristensen LØ, Feldt-Rasmussen U, Mosekilde L. Increased risk of osteoporotic fractures in patients with Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2002; 146: 51-56.

194. Bolland MJ, Grey AB, Gamble GD, Reid IR. Effect of osteoporosis treatment on mortality: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; 95: 1174-1181.
195. Hayashi K, Yamamoto M, Murakawa Y, Yamauchi M, Kaji H, Yamaguchi T, Sugimoto T. Bone fragility in male glucocorticoid-induced osteoporosis is not defined by bone mineral density. *Osteoporos Int.* 2009; 20: 1889-1894.
196. Reid IR. Fat and bone. *Arch Biochem Biophys.* 2010; 503: 20-27.
197. Dennison E, Eastell R, Fall CH, Kellingray S, Wood PJ, Cooper C. Determinants of bone loss in elderly men and women: a prospective population-based study. *Osteoporos Int.* 1999; 10: 384-391.
198. Wu F, Ames R, Clearwater J, Evans MC, Gamble G, Reid IR. Prospective 10-year study of the determinants of bone density and bone loss in normal postmenopausal women, including the effect of hormone replacement therapy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002; 56:703-11.
199. Blain H, Carrière I, Favier F, Jeandel C, Papoz L; EPIDOS Study Group. Body weight change since menopause and percentage body fat mass are predictors of subsequent bone mineral density change of the proximal femur in women aged 75 years and older: results of a 5 year prospective study. *Calcif Tissue Int.* 2004; 75: 32-39.
200. Wildner M, Peters A, Raghuvanshi VS, Hohnloser J, Siebert U. Superiority of age and weight as variables in predicting osteoporosis in postmenopausal white women. *Osteoporos Int.* 2003; 14: 950-956.
201. Cooper MS, Syddall HE, Fall CH, Wood PJ, Stewart PM, Cooper C, Dennison EM. Circulating cortisone levels are associated with biochemical markers of bone formation and lumbar spine BMD: the Hertfordshire Cohort Study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005; 62: 692-697.

202. van Schoor NM, Dennison E, Lips P, Uitterlinden AG, Cooper C. Serum fasting cortisol in relation to bone, and the role of genetic variations in the glucocorticoid receptor. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007; 67: 871-878.
203. Schlemmer A, Hassager C, Alexandersen P, Fledelius C, Pedersen BJ, Kristensen IO, Christiansen C. Circadian variation in bone resorption is not related to serum cortisol. *Bone*. 1997; 21: 83-88.
205. Nunes ML, Vattaut S, Corcuff JB, Rault A, Loiseau H, Gatta B, Valli N, Letenneur L, Tabarin A. Late-night salivary cortisol for diagnosis of overt and subclinical Cushing's syndrome in hospitalized and ambulatory patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94: 456-462.
206. Masserini B, Morelli V, Bergamaschi S, Ermetici F, Eller-Vainicher C, Barbieri AM, Maffini MA, Scillitani A, Ambrosi B, Beck-Peccoz P, Chiodini I. The limited role of midnight salivary cortisol levels in the diagnosis of subclinical hypercortisolism in patients with adrenal incidentaloma. *Eur J Endocrinol*. 2009; 160: 87-92.
204. Umeda T, Hiramatsu R, Iwaoka T, Shimada T, Miura F, Sato T. Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clin Chim Acta*. 1981; 110: 245-253.
207. Deutschbein T, Unger N, Hinrichs J, Walz MK, Mann K, Petersenn S. Late-night and low-dose dexamethasone-suppressed cortisol in saliva and serum for the diagnosis of cortisol-secreting adrenal adenomas. *Eur J Endocrinol*. 2009; 161: 747-753.
208. van Rossum EF, Koper JW, van den Beld AW, Uitterlinden AG, Arp P, Ester W, Janssen JA, Brinkmann AO, de Jong FH, Grobbee DE, Pols HA, Lamberts SW. Identification of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003; 59: 585-592.
209. Hardy R, Cooper MS. Adrenal gland and bone. *Arch Biochem Biophys*. 2010; 503: 137-145.