

dc_117_10

MTA Doktori Pályázat

Tézisek

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
Rövidítésjegyzék	3
BEVEZETÉS, ELŐZMÉNYEK	
A hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely betegségeivel kapcsolatos új kihívások.....	4
A 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz.....	5
A glükokortikoid receptor.....	5
Véletlenszerűen felfedezett mellékvese daganatok.....	6
Az endogén Cushing-szindróma diagnosztikájának legfontosabb elemei.....	6
Glükokortikoid-indukált oszteoporózis.....	8
A glükokortikoid érzékenység jelentősége patológiás állapotokban.....	8
CÉLKITŰZÉSEK	10
BETEGEK ÉS MÓDSZEREK	11
A mellékvese daganatok és a Cushing-szindróma klinikai diagnosztikájában alkalmazott legfontosabb módszerek.....	11
Nyál és vizelet kortizol meghatározás.....	12
Csontmarker vizsgálatok.....	12
A csontok ásványi anyagtartalmának meghatározása, csonttörések.....	12
Molekuláris genetikai vizsgálatok.....	13
Statisztikai módszerek.....	13
AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS MEGBESZÉLÉSE	14
ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK	20
A doktori értekezés alapjául szolgáló saját közlemények jegyzéke.....	22
A doktori értekezésben nem szereplő, a PhD fokozatszerzés után megjelent idegen nyelvű saját közlemények jegyzéke (1999-2010).....	23
Az értekezéshez kapcsolódó magyar nyelvű saját közlemények jegyzéke (1999-2010).....	27
Az értekezés témájához kapcsolódó könyvfejezetek.....	28
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	30

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

BEVEZETÉS, ELŐZMÉNYEK**A hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely betegségeivel kapcsolatos új kihívások**

A hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely klasszikus megbetegedéseivel kapcsolatban az utóbbi 1-2 évtizedben –részben a molekuláris biológiai ismeretek és módszerek, részben a klinikai vizsgáló módszerek fejlődésének köszönhetően- számos új kihívás keletkezett. Ezek közül a jelen tézisek keretei között csak néhánynak a kiemelésére van lehetőség.

A glükokortikoid hatás a glükokortikoid-termelés, -metabolizmus, és a célsejteken belüli intracelluláris folyamatok eredője. A sejtekbe a sejthártyán át diffúzióval belépő kortizol intracelluláris koncentrációját csökkenti egy, a sejtmembránban elhelyezkedő, adozin-trifoszfát-dependens efflux pumpaként működő foszfoligoprotein (multidrug resistance-MDR pumpa), ami többek között gyógyszereknek a sejtől való eltávolítását is végzi. 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- a 11 β -hidroxiszteroid dehidrogenáz enzim 1-es típusa (HSD11B1) szabályozza (prereceptorális szabályozás).

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 szérum kortizol szintek, vagy akár a napi kortizol-szekréció mérésekor észlelhető variabilitás indokolná. Ez az interindividuális 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).

A glükokortikoidok iránti érzékenység *in vitro* vizsgálatának leggyakrabban használt tesztsejtje a lymphocytá. A glükokortikoid hatást jellemezhetjük izotóppal jelzett timidin

inkorporációjával, lymphoblast-tenyészetéhez 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 glükokortikoidok iránti érzékenységbeli különbségek vizsgálatára szokás további, jóval kevésbé specifikus, de populációs vizsgálatokban mégiscsak informatívnak talált paramétereket vizsgálni (antropometriai vizsgálatok, lipid-frakciók, szérum glükóz, per os glükóz terhelés, inzulin meghatározás). 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.

A 11 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz

A glükokortikoid aktivitás szöveti szintű szabályozását a 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. 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 csökkenti a vertebrális törési rizikót.

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. Irodalmi adatok szerint a *GR* génen napjainkig leírt 42 genetikai elváltozás közül elsősorban négy polimorfizmus hozható összefüggésbe a glükokortikoidok iránti egyéni érzékenység különbözőségével.

A BclI polimorfizmus (rs41423247) 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. Az N363S polimorfizmus (rs56149945) *in vivo* és *in vitro* vizsgálatok alapján - a BclI 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. Az N363S polimorfizmus társulását igazolták obezitással és koszorúér-betegséggel. Munkacsoportunk egy korábbi közleményében leírtuk, hogy az N363S polimorfizmus szerepet játszhat a kétoldali mellékvese-adenomák patogenezisében.

Az ER22/23EK genetikai variáns (rs6189-6190) a glükokortikoidok iránti érzékenységet csökkenti, a polimorf allélt hordozó egészséges idős egyéneknél alacsonyabb éhomi vércukor-, inzulin- és teljes koleszterin-szintet, valamint alacsonyabb LDL-koleszterin koncentrációt mutattak ki. A *GRβ* splice variánsnál található A3669G polimorfizmus (rs6198) a *GRβ* mRNS-t stabilizálja és *GRβ* fehérje mennyiségét növeli. Feltételezik, hogy a polimorfizmus jelenléte esetén - a *GRβ* fokozott expressziója miatt - a *GRα* transzkripcionális aktivitása, következményesen a glükokortikoidok iránti érzékenység csökken.

Véletlenszerűen felfedezett mellékvese daganatok

A napjainkban felfedezett mellékvese incidentalomákat 2-3 évtizeddel ezelőttig csak a kórboncolás tárta fel. 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 glükokortikoid-túltermelés klasszikus tüneteit és szövődményeit okozó mellékvese daganatok esetében egyértelmű a műtéti indikáció. Az utóbbi 2 évtizedben publikációk hosszú sora igazolta, hogy részletes hormonvizsgálatokkal a mellékvese incidentalomák nagy részénél is igazolható hormonális aktivitás, aminek jól megfogható eseteit szubklinikai Cushing-szindróma névvel illetjük. Nem kellően ismertek ma még a hormonális aktivitás enyhe jeleit mutató mellékvese daganatok eltávolításának metabolikus következményei.

Az endogén Cushing-szindróma diagnosztikájának legfontosabb elemei

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

nmol/l). Nagy a valószínűsége az endogén hiperkortizolizmusnak, ha az éjfélnél vett vérmintában a plazma kortizol koncentrációja $> 8,3 \mu\text{g/dl}$ ($>230 \text{ nmol/l}$).

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

A dexamethason az egyik leghatékonyabb szintetikus glükokortikoid, egészséges egyéneken a dexamethason kis mennyiségével is maximális kortizol szuppresszió váltható ki. A tesztnek ún. rövid és hosszú, kis és nagy dózisú formáit alkalmazzuk. Mind a rövid, mindpedig a hosszú dexamethason-tesztnek vannak előnyei és hátrányai. A kis dózisú dexamethason-teszt előnye az egyszerű kivitelezhetőség. Az $1,8 \mu\text{g/dl}$ 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, specificitása azonban jelentősen meghaladja a rövid dexamethason teszt specificitását.

A vizelet és a nyál kortizol koncentrációja 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 plazma kortizol biológiailag aktív, szabad frakciójának pillanatnyi koncentrációját tükrözi.

A közölt tanulmányokban -még látszólag azonos laboratóriumi módszer esetén is- nagyok a különbségek a nyál kortizol meghatározás szenzitivitásában és specificitásában. Ajánlatos, hogy új assay bevezetésekor minden laboratórium határozza meg a saját referencia tartományait, az assay diagnosztikus teljesítőképességének legfontosabb paramétereit (szenzitivitás, specificitás). Az éjszakai nyál kortizol meghatározás diagnosztikus értékét vizsgáló, 11 különböző assay-ben az elvágási határt $0,08-0,55 \mu\text{g/dl}$, a vizsgálat szenzitivitását 88-100%, specificitását 71-100%-nak találták.

Glükokortikoid-indukált oszteoporózis

Mai ismereteink szerint a glükokortikoid-indukált oszteoporózis kialakulásában elsősorban a glükokortikoidok közvetlen csonthatásának, a csontszövetet alkotó sejtes elemek közül pedig az oszteoblasztokra gyakorolt hatásnak van a legnagyobb jelentősége. Glükokortikoidok hatására csökken az oszteoblasztos differenciálódás, csökken az oszteoblasztok aktivitása, fokozódik az érett oszteoblasztok apoptózisa. Ezzel párhuzamosan növekszik a RANK-L expresszió és csökken az oszteoprotegerin képződés, és – talán csak a glükokortikoid-kezelés kezdetén - fokozódik az oszteoklasztok aktivitása, gyorsul a csontbontás.

A glükokortikoidok célszerveken kialakuló hatását a mellékvese kortizol szekréciója, illetve terápiás alkalmazás esetén a napi dózis mellett számos egyéb tényező befolyásolja. Ezek közül csak a legfontosabbakat emeljük ki: (1) a kortizol-kötő globulin plazma koncentrációja ill. a kötő fehérjéhez nem kötött, „szabad” kortizol koncentrációja, (2) a glükokortikoid receptor (GR) érzékenysége, amit mai ismereteink szerint befolyásol a receptor alfa- és béta-alegységeinek aránya, és feltételezeten a *GR* gén polimorfizmusai, és végül (3) az utóbbi 20 évben ismertük meg a HSD11B enzim 1-es és 2-es típusának jelentőségét. Az HSD11B1 enzimet szinte valamennyi, glükokortikoid érzékeny célszövetben (máj, szubkután és vizsцерális zsírszövet, pankreasz, gonadok, központi idegrendszer, hypophysis, stb.) kimutatták, és jelen van a csontszövetben is. Mai tudásunk szerint a HSD11B a glükokortikoid hatás egyik legfontosabb szöveti szintű, prereceptorális meghatározója.

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 dózisonak 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.

A glükokortikoid érzékenység jelentősége patológiás 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, colitus ulcerosa, rosszindulatú daganatos betegségek, stb. Feltételezhető, hogy a glükokortikoid érzékenység ill. rezisztencia

közötti átmenet ezekben a patológiás 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 fiziológiás 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. Egy másik tanulmányban azt is igazolták, hogy Cushing-szindrómában a *GR β* expresszió fokozott, gyógyulás után viszont csökkent. 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 magyarázták. 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.

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 dózisu dexamethason ill. ACTH) milyen hatása van a csontépítés és csontbontás szérumban markereire.
6. Jellemezni kívántuk a csontépítés és a csontbontás szérumban markereinek 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 szérumban 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 *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.

BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

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 tartalmaznak ill. összegzik. 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.

A betegeknek a nemzetközileg elfogadott diagnosztikus algoritmusok szerinti kivizsgálását ill. rutinszerű ellenőrzését meghaladó vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem Tudományos Kutatás-Értékelési Bizottságának, a genetikai vizsgálatokat az Egészségügyi Tudos-

mányos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyásával végeztük. A genetikai vizsgálatokhoz a betegek írásos beleegyezésüket adták.

A mellékvese daganatok ill. Cushing-szindróma klinikai diagnosztikájában alkalmazott legfontosabb módszerek

A betegek endokrin kivizsgálása során a szteroid-hormonokat (kortizol, aldosteron, DHEAS, tesztoszteron, 17-hidroxi-progeszteron) saját fejlesztésű RIA-val határoztuk meg, 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 százalékában fejeztük ki (DHEAS%).

A tanulmány tárgyát képező időszakban a Cushing-szindróma diagnózisát az esetek döntő részében a szérum kortizol meghatározásra alapoztuk. A szérum kortizol diurnális ritmusának meghatározásán kívül a betegek többségében rövid kis dózisú (éjfélkor adott 1 mg) és nagy dózisú (8 mg) dexamethason szuppressziós tesztet végeztünk. A plazma ACTH meghatározását 1976-tól, az ACTH vizsgálattal egybekötött corticotropin releasing hormon (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, im.). A hypophysis eredetű és ektópiás ACTH-túltermelés elkülönítésére 1999 óta végezzük a sinus petrosus inferiorok szelektív szimultán katéterezését ill. az innen vett vérmintákból történő ACTH-meghatározást.

Nyál és vizelet kortizol meghatározás

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 ill. a vizelettel történő kortizol-ürítés rutinszerű meghatározása elektro-kemilumineszcens módszerrel történik (ECLIA, Elecsys E170, Roche Diagnostics, Switzerland, Basel).

Csontmarker vizsgálatok

A csontanyagcsere markereinek meghatározása 1999-ben kezdődött Klinikánk laboratóriumában, 2006-tól az egyetem Központi Laboratóriumában. A vizsgálatok módszere 1999-től nem változott, a csontépítés monitorozására a szérum oszteokalcin, a csontbontás

monitorozására a szérumban kollagénkereszt-kötés meghatározást alkalmaztuk, a gyártó előírásai szerint (ECLIA, N-MID Osteocalcin és Elecsys b-CrossLaps, Roche).

A csontok ásványi anyagtartalmának meghatározása, csonttörések

A csontok ásványi anyagtartalmát kettős energiájú röntgen-foton abszorpciometriával (DEXA) mértük, a II. Belgyógyászati Klinikán 1997. májusától működő Oszteodenzitometriás Laboratóriumban, Hologic QDR 4500C, 2002. óta Hologic Delphi W típusú készülékkel. A vizsgált csontterületek: a lumbalis gerinc L1-L4 csigolyák, a proximális combcsont (teljes femur, valamint femur-nyak, trochanterikus és intertrochanterikus régiók), a nem-domináns radius (teljes radius, valamint ultradisztális és disztális 1/3). A mérési eredményeket ásványi anyagtartalom (bone mineral content – BMC; gramm), felületi sűrűségben (gramm/cm²), az életkor- és nem-specifikus átlagtól való - szórás egységben kifejezett - eltérés (z-score), továbbá a fiatalkori csúcs-csonttömegetől - szórás egységben kifejezett - eltérés (t-score) formájában adtuk meg. A DEXA vizsgálat eredményeit a t-score-ra alapozva, a WHO ajánlása szerint értékeltük, normális, oszteopeniás, oszteoporotikus és súlyos oszteoporózisban szenvedő betegeket elkülönítve.

A csontsűrűség mérések alkalmával kikérdezéssel felvettük a csonttörési anamnézist. A korábbi orvosi dokumentumokban kerestük a csigolyatörésre utaló adatokat. Háti és/vagy az ágyéki gerinc fájdalom esetén kompressziós csigolyatörés gyanújával radiológiai vizsgálatot kértünk. Az endogén Cushing-szindróma diagnózisának megállapítását megelőző 5 éven belül bekövetkezett csonttöréseket a glükokortikoid-indukált oszteoporózis szövődményeként értékeltük.

Molekuláris genetikai vizsgálatok

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), míg az ER22/23EK polimorfizmust PCR reakciót követő restriktív enzim emésztéssel mutattuk ki. 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 HSD11B1 gén 83,557insA polimorfizmusának kimutatása

A *HSD11B1* génen található adenin inzerció kimutatásához az irodalomban leírt restriktációs fragmens hossz polimorfizmus módszer általunk módosított változatát használtuk. Az amplifikált DNS szakaszokat az XcmI restriktációs enzimmel emésztettük. Az emésztett PCR termékeket 2%-os agaróz gélben történő kromatográfiát követően digitális kamerával detektáltuk. Az eredményeket automata DNS szekvenálással ellenőriztük.

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 módszerét alkalmaztuk. 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.

AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS MEGBESZÉLÉSE

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

A vizsgálatban 170, egyoldali mellékvese daganat miatt kivizsgált és mellékvese műtéten átesett, valamint további 5, mellékvese cisztával bíró, nem operált beteg adatait dolgoztuk fel. 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.

Az adrenalectomián átesett, gondozott betegeink DHEAS koncentrációját átlagosan 4,4 éven át (max. 8 év) követtük. 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, a legtöbb szerző a mellékvesekéreg daganat –ideértve az aldoszteron-termelő adenomákat is– enyhe, klinikai tüneteket nem okozó glükokortikoid túltermelésével magyarázza ill. magyarázza a jelenséget. 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.

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. 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 műtét.

A hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenomás betegekben az ateroszklerózis kockázati tényezőinek gyakorisága jóval magasabb, mint az átlag népességben. Az első endokrinológiai kivizsgáláskor átlagosan 51,8 éves betegekben észlelt hipertónia (82%), diabetes mellitus (20%), hiperlipidémia (58%) és obezitás (50%) prevalencia a betegcsoport igen magas kardiovaszkuláris kockázatát jelzi.

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 (obezitás, hipertónia, diabetes mellitus, hiperlipidémia) ill. az ateroszklerotikus szövődmények (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) gyakoriságát, arra utal, hogy a kedvezőtlen metabolikus paramétereknek legalábbis a fenntartásában ezen adenomáknak feltehetően nincs szerepe. Vizsgálati eredményeink összeegyeztethetők azzal az – időről időre újból felvetett – alternatív hipotézissel, ami szerint a mellékvese adenoma nem az oka, hanem csak részjelensége a metabolikus szindrómának.

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 szérumban a kortizol koncentrációk és a csontsűrűség között. 68 beteg adatait feldolgozva azt találtuk, hogy a szérumban a kortizol koncentráció nem függ össze a csontok ásványi anyagtartalmával. 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 betegekben tett megállapítást, miszerint a glükokortikoid-indukált osteoporózist jellemző BMD-csökkenés a gerincen a legkifejezettebb. A glükokortikoid-indukált csontbetegséget vizsgáló DEXA-tanulmányokban alig-alig találunk adatot a perifériás csontok sűrűségéről. 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 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. Ez a törés-gyakoriság jóval magasabb, mint az alacsonyabb csontsűrűségű és magasabb életkorú posztmenopauzális oszteoporotikus betegek törésgyakorisága. Ezt pedig úgy értékeljük, hogy a glükokortikoid-indukált csontbetegségben a csontminőség romlása legalább olyan fontos tényező, mint a csontsűrűség.

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.

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 ultradisztális radiuson 10%-ot megközelítő - BMC-csökkenés következett be. Mindez analógiába hozható a zsírszövetnek a Cushing-szindróma kialakulása során jól ismert átrendeződésével (periféria felől a viscerális zsírszövet irányába), majd a gyógyulást követő visszarendeződésével. Igazoltuk, hogy a glükokortikoid-indukált csontbetegség gyógyulási szakaszában kimutatott BMC-átrendeződés szorosan összefügg a posztoperatív BMI-változással.

Egy korábbi vizsgálat alapján már ismert volt, hogy a Cushing-szindrómás betegek DEXA-vizsgálattal megállapítható csontméretei szignifikánsan kisebbek, mint a megfelelően megválasztott kontroll csoporté. 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.

A glükokortikoid-túlsúly hatása a szérumszintű csontmarkerekre

Az ebben a témakörben publikált első tanulmányunkban 3 csoportban (40 egészséges egyén, 49 hormonálisan inaktív mellékvese adenomás, 8 endogén Cushing-szindrómás beteg) vizsgáltuk a kis dózisú dexamethason teszt és a depot-ACTH-teszt szérumszintű csontmarkerekre

kifejtett hatását. 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.

Következő tanulmányunkban endogén Cushing-szindrómában szenvedő 87 beteg csontanyagcsere változásait vizsgáltuk a betegség aktív stádiumában, majd a gyógyulást eredményező műtét után, 4 éven keresztül. Az eredményeket 161 egészséges, korban és nemben nem különböző egészséges egyén adataival hasonlítottuk össze. Az irodalomban megjelent korábbi eredményekhez hasonlóan 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 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. 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).

Az általunk publikált tanulmány volt az első, amelyik a csontmarker-változások időbeli dinamikájának feltárását tűzte ki célul. A szérumszintű OC már a posztoperatív első napokban-hetekben gyorsan emelkedik, az emelkedés a csúcspontját a műtét utáni 6. hónapban érte el. A 24. hónaptól a szérumszintű OC nem változik. A szérumszintű OC-nal ellentétben a Cushing-szindróma gyógyulása nem okozott statisztikailag értékelhető változást a szérumszintű CTX koncentrációkban a 4 éves utánkövetési periódus alatt.

Kristó és munkatársait követően másodikként igazoltuk, hogy a csontbontás és a csontépítés Cushing-szindrómára jellemző disszociációja a betegség gyógyulását követően megszűnik, és az egészséges egyénekre jellemző kapcsoltság helyreáll.

A nyál kortizol meghatározás diagnosztikus értéke

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. 4 betegcsoportot vizsgáltunk: manifest Cushing-szindróma - 23 beteg;

szubklinikai Cushing-szindróma-18 beteg; hormonálisan inaktív mellékvesekéreg adenoma - 40 beteg; hypothalamus-hypophysis-mellékvese tengely rendellenesség nincs - 70 beteg. Az utóbbi két betegcsoport összevonásával a nyál kortizol (és a később ismertető szérumban OC) eredmények értékelése céljából kontroll csoportot alakítottunk ki.

Cushing-szindrómás betegeknek a nem-hiperkortizolémias betegektől való elkülönítésére az éjszakai nyál kortizol meghatározás általunk ajánlott elvágási határa ($>0,36 \mu\text{g/dl}$) mellett a vizsgálat szenzitivitása (91,3%) és specificitása (94,5%) az egyéb elsővonalbeli diagnosztikus szűrőtesztekhez hasonlóan magasnak minősíthető.

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 szérumban kortizol, valamint a kis dózisú dexamethason adása utáni szérumban kortizol) tűnik használhatónak, a tesztek eredménye azonban jelentős átfedést mutat a kontroll csoport eredményeivel.

A szérumban oszteokalcin laboratóriumi vizsgálatának potenciális jelentősége a Cushing-szindróma diagnosztikájában

Két, egymástól független vizsgálatunkban is szoros, statisztikailag szignifikáns összefüggést tudunk kimutatni a Cushing-szindrómás betegek szérumban OC, valamint a szérumban és nyál kortizol koncentrációi között. Igazoltuk, hogy a betegek kivizsgálásakor alkalmazott, egyszeri, kis dózisú glükokortikoid terhelés szignifikáns szérumban OC csökkenést okoz. Igazoltuk továbbá, hogy a betegek gyógyulása után -akár napokon belül is- a szérumban OC gyorsan emelkedik. Statisztikailag szignifikáns korrelációt mutattunk ki a szérumban OC és a Cushing-szindróma egyes metabolikus szövődményei (csökkent glükóztolerancia, diabetes mellitus), ill. az orvosi tapasztalat szerint az egyik legjellegzetesebb és legsúlyosabb szövődmény, a myopathia között. Mindezek alapján úgy gondoljuk, hogy a szérumban OC a hiperkortizolizmus súlyosságának jellemzésére alkalmas biológiai markernek tekinthető, és ezirányú további vizsgálatok végzését javasoljuk.

A szérumban OC-nal kapcsolatos, az előző fejezetekben tárgyalt megfigyeléseink adták meg számunkra az alapot arra, hogy megvizsgáljuk, alkalmas-e a szérumban OC meghatározás a Cushing-szindrómás betegeknek az egészségesektől való elkülönítésére. A szérumban 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 szérumban kortizol,

0,9730; rövid kis dózisú dexamethason teszt, 0,9771; hosszú kis dózisú dexamethason teszt, 0,9399).

Saját beteganyagunkban nem találtunk szignifikáns különbséget a szérum OC és az éjfélel nyál, valamint az éjfélel szérum, továbbá a kis dózisú dexamethason adása utáni szérum kortizol koncentráció diagnosztikus teljesítőképessége között (a görbék 95%-os konfidencia intervallumai átfedik egymást). A szérum OC-nal kapcsolatban tett megfigyeléseink alapján a szérum OC diagnosztikus értékének további vizsgálatát javasoljuk.

A GR gén genetikai variánsainak vizsgálata

A nemzetközi irodalomban elsőként vizsgáltuk a *GR* gén polimorfizmusokat Cushing-szindrómás betegekben, továbbá a *GR* polimorfizmusok és a szérum csontmarkerek közötti esetleges összefüggést. A vizsgált négy polimorfizmus (BclI, N363S, ER22/23EK és A3669G) allélgyakorisága 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 szérum CTX koncentrációja között. Adataink alapján a polimorfizmusnak elsősorban homozigóta formában történő hordozása (GG genotípus) növeli a csontszövet glükokortikoidok iránti érzékenységét.

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 tért 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 szérum 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.

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.

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 egyénektől.
8. Igazoltuk, hogy az automatizált elektrokemilumineszcens immunoassay alkalmas a nyálkötő 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 szövödmények (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.

A doktori értekezés alapjául szolgáló saját közlemények jegyzéke

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, Rácz 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, Rácz K, **Tóth M**. BclII 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, Rácz 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, Czirják S, Gláz E, Rácz 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, Rácz 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)**

**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, Miheller 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, Szabolcs 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, Buzogány I, Gonda G, Zoltán Sági Z, Csöregyhé É, Zsuzsa Jakab Zs, Rácz K, **Tóth M**. Gastrointestinal stromal tumor presenting as a hormonally inactive adrenal mass.
Endocrine, 39:1-5, 2011 **IF: 1,278 (2009)**

**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 gyulladáshoz 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, Rác, 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, Rác, 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

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 paraneoplasziás, ectopiás 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., Rácz 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., Rácz K.). Medicina Könyvkiadó, Budapest, 280-291, 2011

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 Tanárimra, Professzoraimra, akik az orvostudomány rejtelseiben 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 Oszteodenzitometriás 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 kítűzte 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.