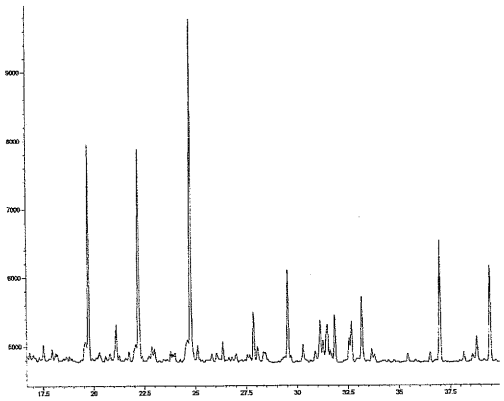
SZTEROID-PROFILOK ENDOKRIN ÉS IDEGRENDSZERI KÓRKÉPEKBEN

PhD értekezés

Poór Viktória



Témavezetők: Dr. Juricskay Istvánné, Dr. Kilár Ferenc

Pécsi Tudományegyetem,
Általános Orvostudományi Kar
Bioanalitikai Intézet

2007

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK **2**

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE **3**

BEVEZETÉS **5**

IRODALMI ÁTTEKINTÉS **6**

1. VIZELETSZTEROID-PROFIL MÓDSZER 6
   1.1 Szteroid hormonok szerkezete, típusai és metabolizmusa *6*
   1.2 A vizeletszteroid-profil meghatározás alapjai *12*
      1.2.1 Mintaelőkészítés a gázkromatográfiás analízishez 12
      1.2.2 A szteroidok gázkromatográfiája 14
   1.3 Életkori és nemi sajátosságok a szteroid metabolizmusban *16*
   1.4 Szteroid-profil a klinikai diagnosztikában *19*
2. SZTEROID HORMONOK SZEREPE KÜLÖNBÖZŐ ENDOKRIN BETEGSÉGEKBEN NŐKNÉL 22

CÉLKITŰZÉSEK **25**

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK **26**

1. BETEGANYAG 26
   1.1 Emlőrákos betegek *26*
   1.2 Csontritkulásos (osteoporosis) betegek *28*
   1.3 Depressziós betegek *28*
2. VIZELETSZTEROID-PROFIL MEGHATÁROZÁS 29
   2.1. Minták gyűjtése és tárolása *29*
   2.2. Mintaelőkészítés *29*
      2.2.1 Szteroidok kivonása 29
      2.2.2 Konjugátumok hidrolízise és kivonása 30
      2.2.3 Származékképzés 30
   2.3 Gázkromatográfiás mérések *31*
   2.4 Az eredmények statisztikai értékelése *33*

EREDMÉNYEK **34**

1. SZTEROID HORMON PROFIL VIZSGÁLATOK EMLŐRÁKOS NŐKNÉL 34
2. SZTEROID HORMON PROFIL VIZSGÁLATOK CSONTRITKULÁSBAN SZENVEDŐ NŐKNÉL 37
3. SZTEROID HORMON PROFIL VIZSGÁLATOK MAJOR DEPRESSZIÓS BETEGEKNÉL 39

EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE **41**

ÖSSZEFOGLALÁS **45**

HIVATKOZÁSOK JEGYZÉKE **47**

FÜGGELÉK **55**

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE **64**

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS **67**

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

Szteroid metabolitok rövidítései

RÖVIDÍTÉS	TUDOMÁNYOS NÉV	TRIVIÁLIS NÉV
5α-AD	5α-androsztán-3α, 17β-diol	5α-androsztándiol
Δ5-AD	5-androsztén-3β, 17β-diol	androszténdiol
An	5α-androsztán-3α-ol-17-on	androszteron
Δ5-AT	5-androsztén-3β, 16α, 17β-triol	androszténtriol
aTHB	5α-pregnán-3α, 11β, 21-triol-20-on	allo-tetrahidrokortikoszteron
aTHF	5α-pregnán-3α, 11β, 17α, 21-tetrol-20-on	allo-tetrahidrokortizol
α–C	5β-pregnán-3α, 11β, 17α, 20α, 21-pentol	α-kortol
β-C	5β-pregnán-3α, 11β, 17α, 20β, 21-pentol	β-kortol
α–CL	5β-pregnán-3α, 17α, 20α, 21-tetrol-11-on	α-kortolon
β–CL	5β-pregnán-3α, 17α, 20β, 21-tetrol-11-on	β-kortolon
DHEA	5-androsztén-3β-ol-17-on	dehidroepiandroszteron
DHEAS	5-androsztén-3β-ol-17-on szulfát	dehidroepiandroszteron-szulfát
Et	5β-androsztán-3α-ol-17-on	etiokolanolon
F	4-pregnén-11β, 17α, 21-triol-3, 20-dion	kortizol
IS	5α-androsztán-3β, 17β-diol	
KB	3β-hidroxi-5-kolesztén 3-butirát	koleszteril-butirát
11-O-An	5α-androsztán-3α-ol-11, 17-dion	11-keto-androszteron
11-OH-An	5α-androsztán-3α, 11β-diol-17-on	11β-hidroxi-androszteron
16-OH-DHEA	5-androsztén-3β,16α-diol-17-on	16α-hidroxi-DHEA
11-O-Et	5β-androsztán-3α-ol-11, 17-dion	11-keto-etiokolanolon
11-OH-Et	5β-androsztán-3α, 11β-diol-17-on	11β-hidroxi-etiokolanolon
11-O-PT	5β-pregnán-3α, 17α, 20α-triol-11-on	11-keto-pregnántriol
17-OH-Pg	5β-pregnán-3α, 17α–diol-20-on	17-hidroxi-pregnanolon
PD	5β-pregnán-3α, 20α-diol	pregnándiol
Δ5-PD	5-pregnén-3β, 20α-diol	pregnéndiol
PT	5β-pregnán-3α, 17α, 20α-triol	pregnántriol
Δ5-PT	5-pregnén-3β, 17α, 20α-triol	pregnéntriol

SS	5, 22-kolesztadien-24β-etil-3β-ol	sztigmaszterol
THA	5β-pregnán-3α, 21-diol-11, 20-dion	tetrahidro-11-dehidrokortikoszteron
TH-Aldo	5β-pregnán-3α, 11β, 21-triol-18, 20-dion	tetrahidroaldoszteron
THB	5β-pregnán-3α, 11β, 21-triol-20-on	tetrahidrokortikoszteron
THE	5β-pregnán-3α, 17α, 21-triol-11, 20-dion	tetrahidrokortizon
THF	5β-pregnán-3α, 11β, 17α, 21-tetrol-20-on	tetrahidrokortizol
THS	5β-pregnán-3α, 17α 21-triol-20-on	tetrahidro-11-deoxikortizol

Egyéb rövidítések

BMD	csontsűrűség (bone mineral density)
CAH	congenitalis adrenalis hyperplasia (veleszületett adrenogenitális szindróma)
HSD	hidroxiszteroid dehidrogenáz
SEM	az átlag szórása (standard error of mean)

BEVEZETÉS

A szteroid hormonok szerepe a szervezet fiziológiás folyamataiban nagyon sokrétű. Minőségi és mennyiségi meghatározásuk ezért fontos az orvosi diagnosztikában és a különböző betegségek patofiziológiájának felderítésében.

A patofiziológiás állapotokban jelentőséggel bíró szteroid hormonok és metabolitjaik mérésére többféle módszer ismeretes, mint pl. a kolorimetriai, a fluorimetriai, a kromatográfiai módszerek és az immunoesszék. Napjainkban leggyakrabban az utóbbi kettőt alkalmazzák.

A szérumból, plazmából és egyes komponensek esetében nyálból és vizeletből történő egyedi szteroid mérések (általában immunoesszék) gyorsan végezhetők, könnyen kivitelezhetők és többnyire automatizálhatók, de csak a keringésben lévő szteroidokról adnak egy-egy pillanatnyi információt (*Andrew, 2001*).

A vizeletből történő mérések viszont, a mirigyekben és a perifférián történő metabolizmusról is tájékoztatást adnak. A **vizeletszteroid-profil**, ill. -spektrum néven ismert gázkromatográfiás módszer több szteroid csoport egyidejű mérését teszi lehetővé. A 24 órán át gyűjtött vizeletből történő mérés átfogó képet nyújt egy napi szteroid anyagcseréről, a szteroidok metabolikus útjairól és a szintézisben résztvevő enzimek működéséről is, kiküszöbölve az egyes szteroidokra jellemző napi ingadozásokból adódó mérési eltéréseket. Előnyei közé tartozik, hogy a mintavételi eljárás fájdalommentes és kevesebb stresszel jár, mint a vérvétel, ami fontos szempont a gyermekek, ill. a stresszel kapcsolatos betegségek vizsgálatánál.

A vizeletszteroid-profil módszer több endokrin megbetegedés differenciál diagnosztikájában és kutatásában (*Függelék 1. táblázat*) kiemelkedő fontossággal bír. Magyarországon egyedülállóan a PTE ÁOK Bionalitikai Intézetében végezzük a méréseket, a szteroid-profil módszerrel dolgozó laboratóriumokat összefogó nemzetközi szervezet tagjaként.

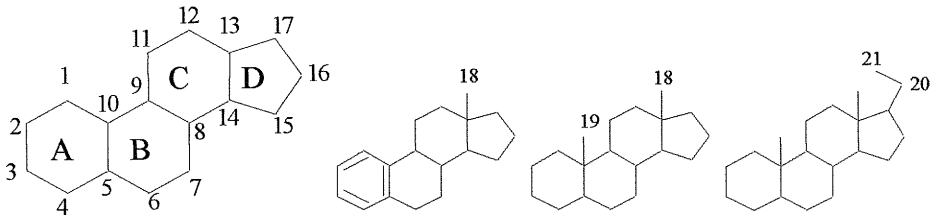
Értekezésem első részében áttekintést adok a vizeletszteroid-profil módszerről, röviden kitérve néhány fontosabb orvosdiagnosztikai alkalmazásra, majd ismertetem azokat a betegségeket, melyeknél szteroid-profil meghatározásokat végeztünk. Ezt követi az anyagok és módszerek fejezet, majd a célkitűzéseknek megfelelően az eredmények ismertetése és összegzése.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1. VIZELETSZTEROID-PROFIL MÓDSZER

1.1 Szteroid hormonok szerkezete, típusai és metabolizmusa

A szteroid hormonok embernél a mellékvesében és az ivarmirigyekben termelődnek. Közös kémiai alapjuk a ciklopentanoperhidrofenantrén (szterán) váz (1. ábra). A szteroid hormonok szintézise azonos szubsztrátból (koleszterin) indul ki, és a szintézis nagy része azonos enzimek közreműködésével folyik (2. ábra). Az elválasztásra kerülő hormonok azonban mind a kémiai szerkezetüket, mind a biológiai hatásaikat tekintve nagymértékben különböznek. A különböző szteroidok a szénatomok számában, a kettőskötések helyzetében, és a különféle szubsztituensek jelenlétében és helyzetében térnek el egymástól. Szénatomszámuk alapján három csoportba oszthatók: a 18 szénatomból álló ösztrán az ösztrogének, 19 szénatomból álló androsztán az androgének, a 21 szénatomból álló pregnán pedig a kortikoszteroidok és gesztagének alapvázát képezi (1. ábra).



. 1 2. 3. 4.

1. ábra A szterán váz és a szteroid csoportok alapvázai

1. szterán váz, 2. ösztrán, 3. androsztán, 4. pregnán vázak

A C18 és C19 helyzetű metil csoportok, amelyek a gyűrűrendszer síkja elé irányulnak, viszonyítási pontok; azok a szubsztitúciók, amelyek azonos irányultságúak

β (vagy cisz), amelyek a gyűrű síkja mögött helyezkednek el α (vagy transz) helyzetűek. A kettős kötés helyzetét a $\Delta^{\text{szám}}$ jelöli.

A szteroidokat az élő szervezetben betöltött szerepük alapján mineráló- és glükokortikoidokra, ill. szexuálszteroidokra (androgének, ösztrogének, gesztagének) oszthatjuk fel. A mineráló- és glükokortikoidok a mellékvesekéregben, a szexuálszteroidok kisebb részt a mellékvesekéregben, nagyobb részt pedig az ivarmirigyekben keletkeznek. Az emberi szervezetben termelődő szteroid hormonokat az 1. táblázat mutatja.

1. táblázat Szteroid hormonok az emberi szervezetben

	Az elválasztott végtermék	
	Neve	*Fő hatása*
Mellékvesekéreg Zona glomerulosa Zona fasciculata Zona reticuláris	aldoszteron kortizol dehidroepiandroszteron dehidroepiandroszteron-szulfát	mineralókortikoid glükokortikoid gyenge androgén
Here	tesztoszteron	erős androgén
Petefészek	progeszteron androszténdion ösztradiol	gesztagén gyenge androgén ösztrogén
Méhlepény	progeszteron ösztradiol ösztriol	gesztagén ösztrogén ösztrogén

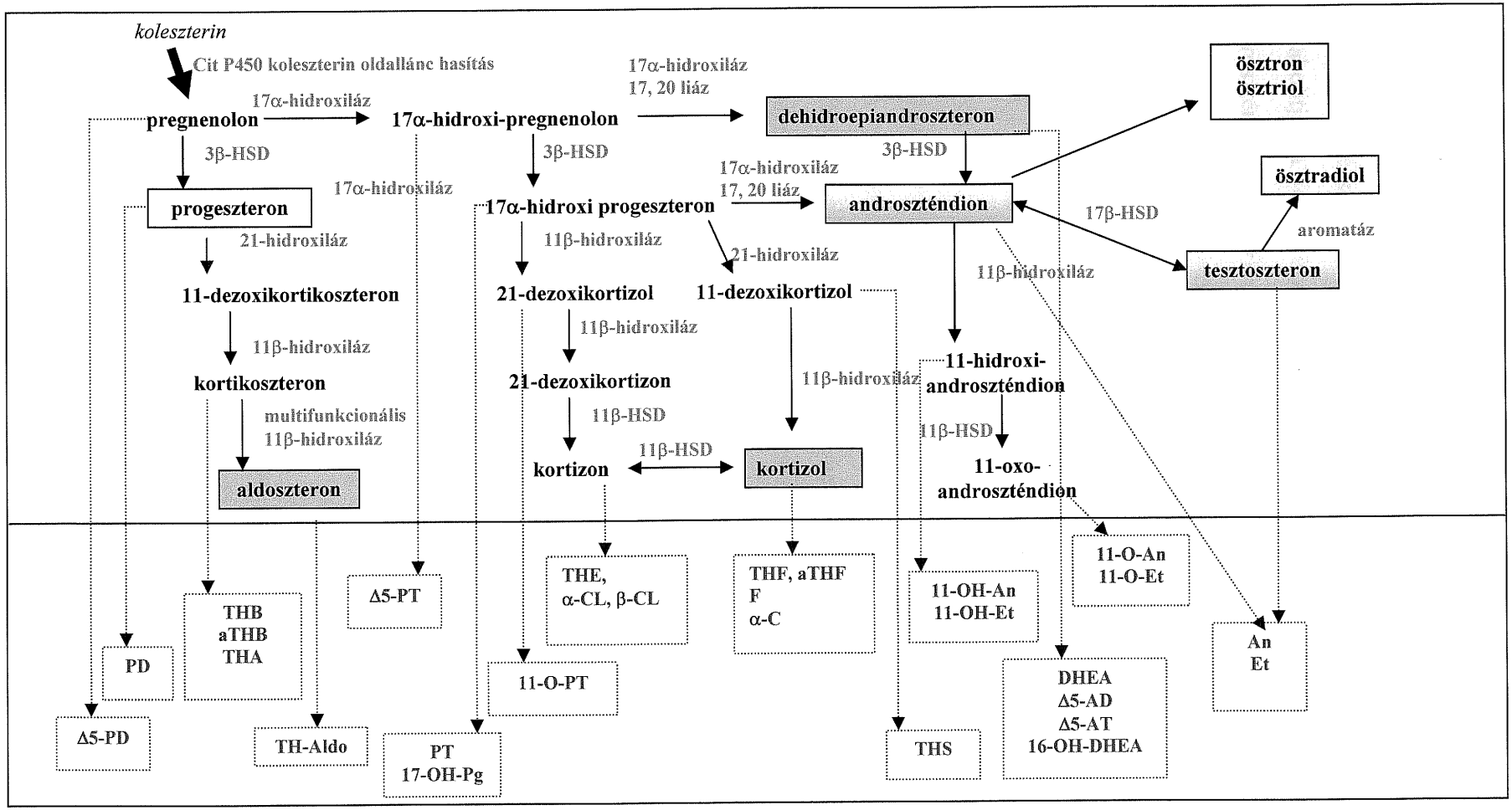
A szteroid hormonok az anyagcseréjük során a periférián tovább alakulhatnak még szintén hatásos vegyületté (pl.: az androgének ösztrogénekké, ill. az androgének hatásosabb androgénekké). A kialakuló aktív hormon ugyanazon sejtekben is kifejtheti hatását, ahol szintetizálódott. Labrie és mtsai az ilyen szerveket intrakrin szerveknek nevezték, a folyamatot, pedig intrakrin működésnek (*Labrie, 1991*). Az intrakrin folyamatok során keletkező aktív hormonok nem kerülnek a vérkeringésbe, ezért a plazmából történő mérések nem adnak információt az itt termelődő hormonokról. (*AAL*).

Az anyagcsere másik útja az inaktiválódás, melynek során a hormonok elveszítik biológiai hatásosságukat, majd vízoldékony formát képezve a vizelettel ürülnek. Mindkét átalakulás legnagyobb része a májban történik. A szteroidok a biológiai hatásosságukat redukciós folyamatok során veszítik el, melyek alapja ugyanaz a legtöbb szteroid (androgének, progesztagének, kortikoszteroidok, aldoszteron) esetében: az A gyűrűben (4 és 5 szénatom közötti kettős kötésnél) és a keto csoportokon (C3, 11, és 20 helyzetben) redukció történik.

A redukciós lépések után a vízoldékony vegyület úgy alakul ki, hogy a már inaktivált szteroid szulfáttal, vagy glükuronsavval konjugálódik, majd a szteroid-szulfátot, vagy -glükuronidot a vese választja ki. A 3-keto-4-én szteroidok főleg szabadon, vagy 21-szulfátként ürülnek a vizeletben. A 3α-hidroxi-5α és a 3α-hidroxi-5β szteroidok glükuronid, a 3β-hidroxi-5-én szteroidok pedig mono- vagy diszulfát formában választódnak ki. Bizonyos konjugált formák (pl.: DHEAS) a keringésben maradva visszaalakulhatnak szabad formájukba (*Shackleton, 1986*).

A vizelettel ürülő szteroid metabolitok nagy része a mellékvese hormonjaiból, kisebb része az ivarmirigyek hormonjaiból származik, és vannak olyan metabolitok, amelyek mindkét szervben termelődő hormonokból származnak. Emellett szintjük magában foglalja a perifférián keletkezett, keringésbe nem kerülő hormonok metabolitjait is (Wudy és mtsai, 2004; *AAL*).

A fontosabb vizelettel ürülő metabolitokat a 2.ábrán foglaltam össze.



2. ábra A vizeletben ürülő fontosabb szteroid metabolitok erdete

Az ábra a főbb szteroidok kialakulásának reakcióit és fontosabb metabolitjainak eredét szemlélteti, az átalakulásban közreműködő enzimek piros színnel vannak feltűntetve. A szervezetben nincs olyan sejt, amelyikben valamennyi átalakulás végbemenne. A rövidítések jelentése a RÖVIDÍTÉSEK fejezetben található (3 o.). A vízszintes vonal felett a szérumban előforduló horomonok és a közti termékek, a vonal alatt a vizelettel ürülő metabolitok láthatók. Az átalakulásban közreműködő enzimek piros színnel vannak feltüntetve.

□-ivarmirgyek, ▨ mellékvese fő végtermékei. HSD- hidroxiszteroid dehidogenáz.

(Homma és mtsai, 2003; Rodin és mtsai, 1994 közleményei alapján)

A *tesztoszteron és az androszténdion* vizeletben ürülő fontosabb metabolitjai: az androszteron (An) és az etiokolanolon (Et), amelyek származhatnak mind a mellékvese, mind a petefészek eredetű hormonokból. A dehidroepiandroszteron (DHEA) és fő metabolitjai: a 16α-hidroxi-DHEA (16-OH-DHEA), az androszténtriol (Δ5-AT) és az androszténdiol (Δ5-AD), a mellékvese androgén termelését jellemzik.

A 11-oxi- /11-keto-androszteron (11-O-An), 11-keto-etiokolanolon (11-O-Et)/ és 11-hidroxi- 17-ketoszteroidok /11β-hidroxi-androszteron (11-OH-An) és 11β-hidroxi-etiokolanolon (11-OH-Et)/ *gyenge androgén* hatású metabolitok, amelyek oldallánc hasítással kortizolból is keletkezhetnek.

A 11-deoxi-17-ketoszteroidok (An, Et, DHEA, 16-OH-DHEA, Δ5-AD, Δ5-AT), és a 11-oxi- és 11-hiroxi-17-ketoszteroidok aránya felvilágosítást adhat az androgén-kortikoid hormonális egyensúlyról (*Lee és mtsai, 1999)*.

A petefészekben termelődő *progeszteron* legfontosabb vizeletben ürülő metabolitja a pregnándiol (PD), melynek szintje pontos jelzője a progeszteron mennyiségének, ezért ciklusmonitorozásra, sárgatest funkció megítélésére használatos.

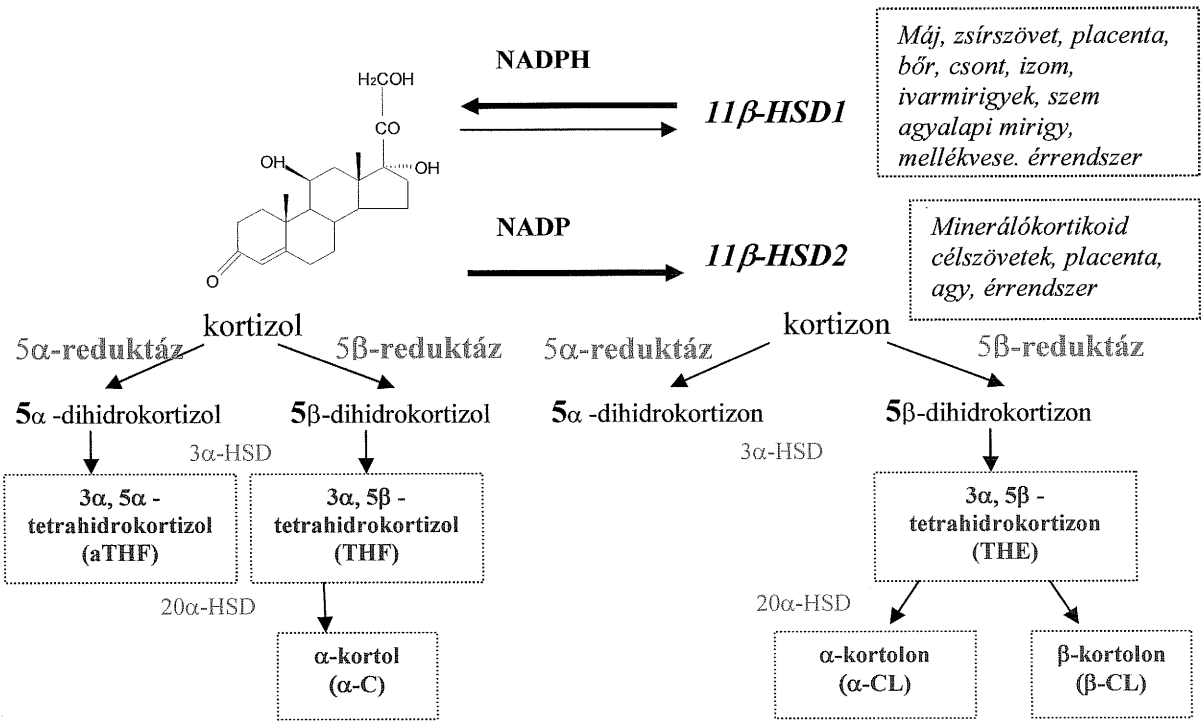
A 11-oxo-kortizol (kortizon) /tetrahidrokortizon (THE), α-kortolon (α-CL), β-kortolon (β-CL)/ és a 11-hidroxi-kortizol /tetrahidrokortizol (THF), allo-tetrahidrokortizol (aTHF), α-kortol (α-C)/ metabolitok összege a *napi kortizol* termelést jellemzi.

A tetrahidro-11-dehidrokortikoszteron (THA), tetrahidrokortikoszteron (THB), allo-tetrahidrokortikoszteron (aTHB) metabolitok a *kortikoszteron* termelést jellemzik.

A vizeletszteroid-profil módszerrel a különböző szteroid hormonok metabolitjait egyidejűleg tudjuk mérni, ezáltal lehetővé válik, hogy az egyes metabolitok egymáshoz viszonyított arányát is nyomon kövessük, és információt kapjunk metabolizmusban szerepet játszó enzimek működéséről.

A metabolikus utak közti termékei: a 17-hidroxi-pregnenalon (17-OH-Pg), a pregnéndiol (Δ5-PD), a pregnántriol (PT), a pregnéntriol (Δ5-PT), a 11-keto-pregnántriol (11-O-PT) és a tetrahidro-11-deoxikortizol (THS) metabolitok mennyiségének megváltozása központi jelentőségű a congenitalis adrenalis hyperplasia (veleszületett adrenogenitális szindróma) betegségcsaládba tartozó enzimműködési zavarok diagnosztizálásában (Bővebben ld. 1.4 alfejezet, 2. táblázat) *(Shackleton, 1986; Sólyom, 1998, 2001)*.

A mellékvese által termelt kortizol szintjét a perifériás szövetekben a 11β-HSD enzim rendszer szabályozza. Az elmúlt években 2 izoenzimjét azonosították. Mindkét izoenzim genetikai defektje, vagy megváltozott működése humán megbetegedéseket idézhet elő *(Krozowsky és mtsai, 1999)*. A 11-oxo-kortizol (kortizon) és 11-hidroxi kortizol metabolitok aránya az enzim működését jellemzi (3. ábra).



3. ábra 11β-HSD enzimrendszer működése

A kortizol és a kortizon hormonok enzimatikus egyensúlyban vannak, átalakulásukért a 2 izoenzimből álló 11β-HSD enzimrendszer a felelős. In vivo, a 11β-HSD1 elsősorban NADPH függő reduktáz (kortizon→kortizol), de működése 2 irányú, van dehidrogenáz (kortizol→kortizon) aktivitása is. A 11β-HSD2 kizárólag NAD függő dehidrogenáz, a kortizolt inaktív kortizonná alakítja. A THE/ (THF+aTHF) ill. a (THE+α-CL+β-CL)/ (THF+aTHF+α-CL) metabolit-arány az enzimrendszer működését jellemzi (Krozowsky és mtsai, 1999).

1.2 A vizeletszteroid-profil meghatározás alapjai

Több szteroid csoport egyidejű, gázkromatográffal történő vizsgálatával 1966 óta találkozunk az irodalomban, azóta a módszerben a technikai fejlődés adta lehetőségeket kihasználva jelentős változások történtek *(Shackleton és Honour, 1976; Shackleton és Whitney, 1980a; Shackleton 1986; Shackleton, 1990; Honour, 1997a).*

1.2.1 Mintaelőkészítés a gázkromatográfiás analízishez

A biológiai környezetből származó minták gázkromatográfiás analízise előtt általában több munkafolyamatból álló mintaelőkészítést kell végezni. A kvantitatív vizeletszteroid-profil meghatározáshoz, a mintaelőkészítés során az alábbi feltételeknek kell teljesülnie *(Shackleton, 1986)*:

-24-órás vizeletgyűjtés

-a minta megfelelő tárolása a gyűjtés és feldolgozás közötti időszakban

-a konjugált szteroidok kvantitatív kivonása vizeletből

-a konjugált szteroidok tökéletes hidrolízise

-a felszabadított szteroidok kvantitatív visszanyerése

-az összes szteroid kvantitatív átalakulása illékony származékokká

-szennyeződések hiánya

A szteroidok kivonása a vizeletből kezdetben oldószeres extrakcióval történt. Ezt felváltotta az egyszerűbb és lényegesen kevesebb időt igénylő szilárd fázisú kivonás, melynek során szűrők közé töltött, konjugált és szabad szteroidok kivonására is alkalmas oktadecilszilán fázist tartalmazó kis oszlopokat használnak (*Shackleton és Whitney, 1980a).*

A szteroid-konjugátumok nem minden esetben gázkromatografálhatóak, ezért az extrakciós lépést a konjugátumok kémiai (szolvolízis), vagy enzimatikus hidrolízise követi. A folyamat során a szteroid-szulfátként, illetve –glükuronidként ürülő metabolitokat felszabadítják a konjugált formáikból. Az összes vizelet szteroid kvantitatív hidrolízisének megvalósítása nagyon nehéz. Többféle enzim alkalmazható (pl.: bakteriális /Eserichia coli/ és marhamáj enzimek), de a legtipikusabb az éti csiga

(Helix pomatia) emésztőenzimeinek használata, amelyek alkalmasak az összes szteroid glükuronid és a legtöbb szulfát forma hidrolizálására *(Shackleton, 1986)*. A konjugátumok hidrolízise után a felszabadított szteroidokat ismét szilárd fázisú extrakcióval nyerik vissza.

A szteroid metabolitok kis illékonyságú, és magas hőmérsékleten erősen bomlékony anyagok, ezért a gázkromatográfiás analízis előtt olyan kémiai átalakítást szükséges végezni rajtuk, melynek során a metabolitok illékonysága és hőstabilitása is megnő. Az eljárás során a hőbomlást és az illékonyságot befolyásoló poláris csoportok (hidroxil és keto csoportok) átalakítása történik. Többféle származékképzési eljárás ismert. A szteroidok hidroxil- csoportjait általában trimetilszilil, az oxo-csoportokat pedig O-metiloxim származékká alakítják át. Mindkét funkciós csoport jelenléte esetén, a csoportok blokkolásának leggyakoribb módja az O-metiloxim-trimetilszilil származékok (éterek) képzése. Az átalakítás során először az enolizációra hajlamos keto csoportok blokkolás történik metiloxim képzéssel, majd a hidroxil csoportok hidrogénjét cserélik inaktív, trimetilszilil csoportokra *(Shackleton és mtsai, 1990)* (4. ábra).

a., $R{=}C{=}O + H_2NOCH_3.HCl \rightarrow R{=}C{=}NOCH_3 + H_2O + HCl$

b., $R\text{-}OH + Me_3SiX \rightarrow R\text{-}OSiMe_3 + HX$

4. ábra Származékképzési reakciók

Az a., reakció a keto csoportok metoxim származékokká történő átalakítása. A reagens metoxiamin hidroklorid 2%-os piridines oldata.
A b., reakció a trimetilszililezési reakció általános sémája. Számos szililezőszer létezik pl.: trimetilszililimidazol (TMSI) és a N-metil-trimetilszilil-trifluoroacetamid (MSTFA) (Garzó, 1974 alapján).

Egyes szililező reagensek (pl.: TMSI) roncsolhatják a gázkromatográfiás mérésekhez használt kapilláris oszlopot, ezért a feleslegüket a mérés előtt el kell távolítani a mintákból.

1.2.2 A szteroidok gázkromatográfiája

A szteroidok származékait folyadék halmazállapotban juttatják a gázkromatográfba. A mintaadagolás kritikus pontja a kromatografálásnak, mert nagyon fontos, hogy a minta pillanatszerűen és kvantitative elpárologjon. Számos mintaadagoló rendszer közül az un. split-splitless mintabeviteli rendszer a leggyakrabban alkalmazott. Ebben az esetben a mintát mikrofecskendő segítségével juttatják a többnyire szilikon szeptummal lezárt, 1-2 cm^3 térfogatú üvegbetétet tartalmazó, fűthető elpárologtatóba. Kétféle mintabemerési technika létezik. A split mintabemérés során a mintából képződő gőz bizonyos hányadát egy mintaáram elosztó segítségével a szabadba engedik, csak a kisebb, szükséges mennyiségű hányad jut az oszlopra. A splitless technika esetén a minta bevitelét követően a teljes elpárologtatásig nem alkalmaznak mintaáram elosztást, ezután azonban nem engedik a teljes mennyiséget az oszlopra jutni, a túlterhelés elkerülése végett. A mintabemérő hőmérséklete a mintaadagolás során, a szteroidok magas forráspontja miatt 300 °C körüli.

A legtöbb szteroid metabolit elválasztása, kémiai tulajdonságaiknak megfelelően, apoláros és kismértékben poláros állófázisokat (nem szelektív, metilszilikon fázisok) tartalmazó kapilláris oszlopokon pl.: HP-1 oszlop (Agilent Company) történik. Az oszlopok kb. 15-30m hosszúak, a belső átmérő 0,2-0,4 mm, az állófázis vastagsága 0,33-0,1 μm.

A komponensek elválasztására hőmérsékleti programot alkalmaznak. Az oszlopot, a minta bejuttatását követően, rövid várakozási idő (1-2 perc) után gyorsan felfűtik az analitikus hőmérsékletre (180 °C), majd lassan (kb. 2 °C /perc) tovább emelik a legkevésbé illékony összetevő forráspontjáig kb. 300 °C-ig (*Shackleton, 1990*).

Mivel a szteroidok elválasztására használt oszlopokban az állófázis vékony, ezek az oszlopok kis kapacitásúak, így nagy érzékenységű detektorra van szükség. Sokféle gázkromatográfiás detektor közül a szteroidok mérésénél legelterjedtebben alkalmazott a lángionizációs detektor és a tömegspektrométer. A lángionizációs detektor egy hidrogén/levegő eleggyel táplált mikroégő, amely fölé elektródpárt helyeznek el, amelyre feszültséget kapcsolnak. A vivőgáz által szállított komponensek a lángban, többlépcsős reakcióban, oxigén közreműködésével ionizálódnak. Az elektródok között a bejutó ionok hatására áram folyik, ami erősítés hatására mérhető. A lángionizációs

detektor tömegérzékeny, az elektromos jelet az egységnyi idő alatt áthaladt tömeg szabja meg.

A tömegspektrométer gáz-halmazállapotú ionok (töltéssel rendelkező gáz molekulák), tömegük alapján történő szétválasztására szolgál. A tömegspektrometriás mérés az alábbi részfolyamatokból áll:

a) A minta gázállapotba hozása

b) Ionizáció

c) A keletkezett ionok elektromos tér segítségével történő felgyorsítása

d) Elektromos és mágneses térben tömegük (illetve töltésegységre jutó tömegük) szerint elválasztott ionnyalábok regisztrálása.

A fenti folyamatoknak vákuumban (10^{-3} Pa) kell végbe mennie, mivel az ionsugarak ütközése a berendezést megtöltő gázzal (levegővel) meghamisítaná az eredményt. A tömegspektrometria analitikai alkalmazása azon alapul, hogy gondosan ellenőrzött, azonos kísérleti körülmények között a molekulák fragmentációja azonos módon történik. Ezen túlmenően a fragmensek tömege és mennyisége a molekula szerkezetének, funkciós csoportjainak függvénye. Így a tömegspektrum adataiból a molekula szerkezetére is következtethetünk.

A szteroid komponensekből álló elegy minőségi és mennyiségi analízisére legcélszerűbb a belső standard módszert alkalmazni, ezáltal kiküszöbölhetők a mintaelőkészítés és a mintabemérés hibái. Ez a módszer kalibrációs görbe segítségével dolgozik, de lényegében relatív kalibrációt alkalmaz. A mintaelőkészítés során, vagy a mintabemérés előtt a mérendő anyaghoz hozzáadnak egy olyan komponenst (belső standard), amelynek csúcsa teljesen elválik a többi csúcstól, nincs jelen a vizsgálandó elegyben és nincs semmilyen zavaró hatása. A kalibrációs görbét a meghatározni kívánt anyagok és a belső standard keverékével készítik el előzetesen. A mennyiségi meghatározás során, az összes mért komponens, a kalibráció során meghatározott érzékenységi tényezővel korrigált csúcs alatti területét az ismert mennyiségű belső standard csúcs alatti területéhez viszonyítják. Belső standardok alkalmazásával kiküszöbölődnek a mintaelőkészítés és a mintabemérés bizonyos hibái.

Szteroidok mérésénél gyakori 3 belső standard: az 5α-androsztán-3β,17β-diol (IS), sztigmaszterol (SS) és a koleszteril-butirát (KB) együttes használata. Az 5α-androsztán-3β,17β-diolt a mennyiségi és minőségi analízisben használják. A sztigmaszterol a származékképzés ellenőrzését szolgálja. Erre azért van szükség, mert a

trimetilszilil éterek nagyon érzékenyek, viszonylag könnyen hidrolizálódnak, ha víz vagy sav nyomok maradnak a mintában. A sztigmaszterol trimetilszilil étere különösen könnyen hidrolizálódik, így a folyamat során bekövetkező hiba esetén a csúcs alatti területe azonos mennyiség esetén is jelentősen kisebb lesz, mint a koleszteril-butirát standardé *(Shackleton, 1986; Honour, 1997a)*.

A szteroid-profil módszerrel dolgozó laboratóriumok munkáját segíti a holland MCA szekció SKZL (Stichting Kwaliteitscewaking Klinisch Chemishie Ziekenhuislaboratoria) külső minőségbiztosítási programja *(www.skzl-mca.nl)*. A nemzetközi ellenőrző programban több európai laboratórium, köztük a PTE ÁOK Bioanalitikai Intézetének gázkromatográfiás laboratóriuma is részt vesz.

1.3 Életkori és nemi sajátosságok a szteroid metabolizmusban

A születéstől az életkor előrehaladtával a vizeletből kimutatható szteroidok összetétele és mennyisége változik.

Az újszülötteknél számos speciális szteroid ürül. Ennek oka a magzati mellékvese eltérő felépítése és működése, továbbá a méhlepény szteroid termelése. A gázkromatográfiás mérés előtt a szulfáttal és glükuronsavval konjugált formákat ajánlott szétválasztani, így kielégítőbb információt lehet kapni a mellékvesekéreg egyes zónáinak működéséről. A szulfát frakcióban a 3β-hidroxi-5-én szteroidok dominálnak, amelyek többnyire a mellékvese magzati zónája által termelt dehidroepiandroszteron-szulfát (DHEAS) hidroxilált származékai. Ez a zóna a magzati élet során alakul ki, és rendszerint eltűnik a születés utáni 6 hónap alatt. A glükuronid frakciót főleg a definitív zóna által termelt kortizon és a nagyrészt méhlepény eredetű progeszteron metabolitjai alkotják. A tetrahidrokortizon (THE) és a β-kortolon (β-CL) szteroidokat leszámítva az újszülött kortizon metabolitjai polárisabbak, mint a felnőtteké, mert több hidroxil csoportot tartalmaznak 1β, 6α, 6β helyzetekben. A tetrahidrokortizol (THF) és az allo-tetrahidrokortizol (aTHF) metabolitok nincsenek jelen a profilban (*Shackleton és mtsai, 1980b; Sólyom és mtsai, 1990*).

A születés utáni hetekben, hónapokban a szteroid hormonok szekréciója, metabolizációja alapvető változásokon megy keresztül. A dehidroepiandroszteron-szulfát (DHEAS) koncentráció jelentősen csökken a születés utáni első hónapban, és a

méhlepény eredetű progeszteron metabolitok is eltűnnek 1 hetes életkorra. A kortizon szint a testtömegre vonatkoztatva relatíve konstans marad (*Shackleton és mtsai, 1980; Honour, 1997a*).

6 hónapos kortól 3-6 éves korig főleg kortizol és kortizon metabolitok láthatóak a vizeletszteroid-profilon. Az androgén szintézis mindkét nemnél alacsony szinten mozog, és a bioszintézis köztes termékeinek metabolitjai is csak nyomokban vannak jelen (*Shackleton és mtsai, 1980b*).

A serdülőkort megelőzően kb. 5-8 éves korban fejlődésnek indul a mellékvesekéreg legbelső, velőállományt körülvevő hálózatos zónája (zona reticuláris), amely a továbbiakban az androgén termelés egyik színtere lesz. A zona reticuláris növekedésével párhuzamosan fokozódik az androgénszekréció, amely a 17-ketoszteroidok szintjének megemelkedéséhez vezet a vizeletben. Ezt a megnövekedett mellékvese eredetű androgén szekrécióval járó időszakot adrenarchnak nevezik. Az ivarmirigy eredetű androgénszekréció ekkor még alacsony, a kortizol metabolitok szekréciója nem változik (*Shackleton és mtsai, 1980b*).

A serdülőkorban folytatódik az adrenarchban elkezdődött androgén szint növekedése, kiegészülve az ivarmirigyek androgéntermelésével. Szintjük ekkor éri el csúcsértékét, és 40-50 éves korig ezen a magas értéken marad.

A felnőtt nők és férfiak vizelettel ürülő szteroid metabolitjai azonosak, de mennyiségi különbségek vannak (*Honour, 1997a, Shamin és mtsai, 2001*). A legszembetűnőbb kivétel a fő progeszteron metabolitnak a pregnándiolnak a mennyisége, amely nőknél ciklusosan változik, és csúcspontját az ovuláció után az un. szekréciós fázisban éri el.

Férfiaknál az androgén aktivitás nagy része ivarmirigy eredetű, nőkben és csecsemőkben azonban jelentős része a mellékveséből ered. A női mellékvese fő androgénjei a gyenge androgén hatású dehidroepiandroszteron (DHEA) és szulfát észtere a dehidroepiandroszteron-szulfát (DHEAS). Az előbbi szteroid 70-80%-a, az utóbbi több mint 95%-a mellékvese eredetű, a fennmaradó részt pedig a petefészek termeli (*Leonard és mtsai, 1993)*. Nőknél a tesztoszteron és az androszténdion közelítőleg egyenlő arányban származik a petefészekből és a mellékveséből, de jelentős mennyiségű tesztoszteron termelődik extraglanduláris forrásokban is *(Clark, 1986)*. Az enyhén androgén hatású hormonok perifériás átalakulásuk során erősebb androgénekké, ill., ösztrogénné alakulhatnak.

Az öregedés során a mellékvese eredetű androgének szintje jelentősen csökken (adrenopauza). A menopauza után csökkenés figyelhető meg a petefészek eredetű androgének szintjében is. A here tesztoszteron termelése 50 éves kor körül csökken. A kortizol, kortikoszteron szekréció az életkor előrehaladtával csak kis mértékben mérséklődik (*Shackleton és mtsai, 1980b*).

A nemi és az életkori sajátosságok mellett bizonyos szteroidok szintjét befolyásolhatja az évszakok változása, az életmód (fizikai aktivitás, táplálkozás) és az etnikai hovatartozás (*Honour, 1997a; Binello, 2003*).

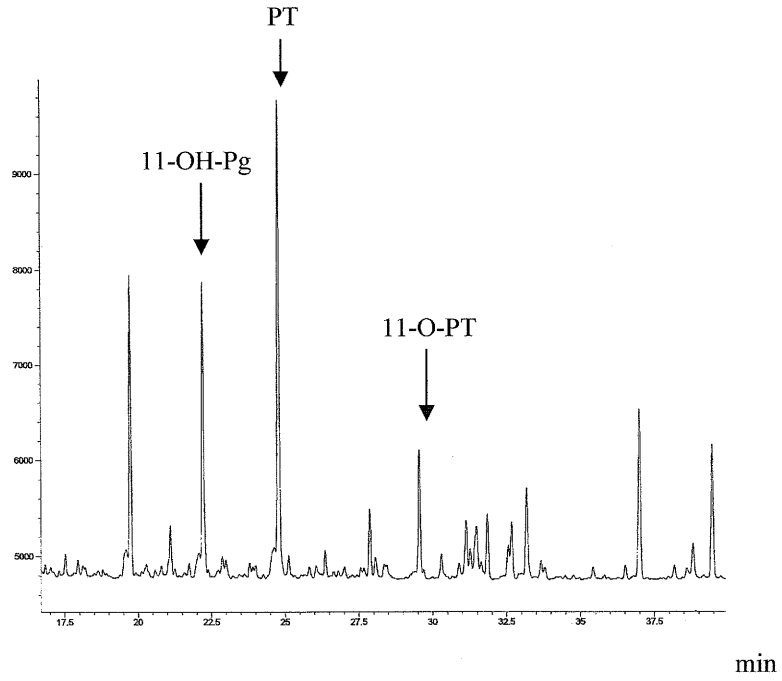
Az életkori és nemi sajátosságok miatt szteroid-profil meghatározások esetében szükség van nem és életkor szerinti referencia értékekre (*Honour, 1997a, Shamin és mtsai, 2001*). Referencia értékek találhatók Weykamp és mtsai (1989), Honour (1990) és Homma és mtsai (2003) közleményeiben.

1.4 Szteroid-profil a klinikai diagnosztikában

A szteroidok szintézisét és metabolizmusát befolyásoló betegségek többsége a normáltól lényegesen különböző, jellegzetes vizeletszteroid-profilokat ad. A vizeletszteroid-profil módszer ezért kiemelkedő fontossággal bír különböző betegségek, mint pl.: a sóvesztő állapotok, magas vérnyomás (hypertonia), kövérség (obesitas), havi vérzés elmaradása (amennorhea), korai ardrenarch, szeméremszőrzet korai megjelenése (pubarche praecox), korai nemi érés (pubertas praecox), bizonytalan neműség (intersex genitaliák), férfiasodás (virilizáció) és hiperandrogén állapotok hátterében álló okok felderítésében, és bizonyos betegségek esetében segíti az egész életen át tartó kezelés monitorozását.

A legismertebb, jellegzetes profillal rendelkező betegségcsalád a veleszületett adrenogenitalis szindróma (congenitális adrenális hyperplasia, CAH, AGS). A betegségcsaládba a szteroidszintézis ötféle veleszületett enzimműködési zavara tartozik (5. ábra, 2. táblázat), melyek a mellékvese és az ivarmirigyek szteroidképzésének összetett rendellenességét okozzák, elégtelen kortizolképzéshez vezetnek változatos tüneteket okozva. A sokféle klinikai kép magyarázata az, hogy a mineralókortikoidok és az androgének termelése a károsodott enzim típusától és mértékétől függően lehet fokozott, ill. mérsékelt, másrészt az, hogy a fiúkban és a lányokban a nemi hormontermelési zavar következményei különbözőek lehetnek, és megjelenési időpontjuk is változhat. Végül a betegség enyhe, közepesen súlyos és súlyos formában is előfordulhat (*Sólyom, 2001*). Az enzimek nem megfelelő működése következtében az enzim defektus előtti szteroidok termelése jelentősen fokozódik, a blokk utáni szteroidok mennyisége pedig kórosan csökken. A prekurzor és a végtermék vizeletben ürülő metabolitjainak mennyiségéből ill. arányából azonosítható, hogy melyik enzim működése nem megfelelő.

Jellegzetes profilt ad még az 5α-reduktáz, 11-β és 17β-HSD enzimek elégtelen működése is, továbbá egyes szteroid-termelő tumorok (*Shackleton, 1990*).



5. ábra Jellegzetes vizeletszteroid-profil congenitális adrenális hyperplasia betegségcsaládba tartozó 21-hidroxiláz enzim defektusban

A CAH leggyakoribb oka a 21-hidroxiláz enzim defektusa. Az enzim nem megfelelő működése miatt a 17α-hidroxi-progeszteron vizeletben ürülő metabolitjainak (17-OH-Pg, PT, és 11-OPT) szintje kiugróan magas.

A 2. táblázatban néhány, jellegzetes vizeletszteroid-profillal rendelkező betegséget foglaltam össze.

2. táblázat Jellegzetes vizeletszteroid-profilok

BETEGSÉG	*OK*	*A VIZELETSZTEROID-PROFIL VÁLTOZÁSAI*
congenitalis adrenalis hyperplasia, (CAH)	*21-hidroxiláz defektus*	-csökkent kortizol metabolitok -emelkedett 21-deoxi-szteroidok (17-OH-Pg, PT, 11-O-PT) és androgén metabolitok -enyhe formájában (néhány későn manifesztálódó formában is) a kortizol metabolitok szintje normális, de a 17-hidroxi-progeszteron és a kortizol metabolitok aránya megnövekszik
	11β-hidroxiláz defektus	-teljes defektusnál alig detektálhatók a kortizol metabolitok -emelkedett 11-deoxi-kortizol (THS) és 11-deoxi-androgén metabolitok (An, Et)
	3β- HSD defektus	-csökkent kortizol metabolitok -emelkedett 3β-hidroxi-5én szteroid-szulfátok (pl.: Δ5 PT), -leányoknál túlzott, férfiakban elégtelen androgén termelés
	17α-hidroxiláz defektus	-teljes defektusnál a kortizol és androgén metabolitok alig detektálhatóak -fő vizelet szteroidok a kortikoszteron metabolitjai (THB, aTHB)
Cushing szindróma		-emelkedett az összes kortizol metabolit szintje
hormontermelő tumorok	*mellékvese tumorok*	-bizonyos szteroidok szintje emelkedett (pl.: 3β-hidroxi-5-én szteroidok, 11-OH-An)
	ivarmirigy tumorok	-különféle típusú petefészek (PT), ill. here eredetű metabolitok emelkedett szintje (tesztoszteron és metabolitjai, és 3β-hidroxi-5-én szteroidok)
androgéntermelés zavarai	*5α-reduktáz defektus*	-5α-redukált szteroidok alacsony szintje -emelkedett 5α/5β metabolit arány pl.: An/Et THF/aTHF
	17β- HSD defektus	-emelkedett An és Et szint

(Shackleton és mtsai, 1986; Shackleton és mtsai, 1990; Sólyom, 1998; Wudy 2004 közlemények alapján)

2. SZTEROID HORMONOK SZEREPE KÜLÖNBÖZŐ ENDOKRIN BETEGSÉGEKBEN NŐKNÉL

Napjainkban, a nőket leginkább veszélyeztető betegségek közé tartozik az emlőrák, a csontritkulás és a depresszió. Kialakulásukban számos kockázati tényező ismert. Az emlőrák és a csontritkulás esetében széleskörűen kutatott a női nemi hormonok érintettsége. A klinikai és kísérleti adatok amellett szólnak, hogy az emlődaganatok kialakulásában az ösztrogének jelentős szerepe lehet. A hatásmód nem tisztázott, de feltételezik, hogy a magas ösztrogénszint elősegíti az emlő sejtjei által termelt növekedési faktorok sejtburjánzást fokozó hatását, ami a rák kialakulását okozhatja (*Dimitrakakis és mtsai, 2002*). Továbbá ismert tény, hogy a menopauza után jelentkező csontritkulás kialakulásában egyik fő kockázati tényező a petefészek-működés leállásának következtében kialakuló ösztrogénhiány. A női nemi hormonszintek változásaira vezethető vissza a terhességi, a szülés utáni, a menstruáció előtti és a klimax idején fennálló depresszió (*www.ogyei.hu*).

Azonban újabb klinikai és szövettenyészeteken végzett vizsgálatok vetik fel az **androgének** szerepét pl.: emlőrák, csontritkulás és pszichés zavarok esetében *(áttekintés Davison és Davis, 2003 közleményében).*

Irodalmi adatok szerint az androgének módosíthatják az ösztrogének és hatásait, megváltozott szintjük előre jelezheti az **emlőrák** kialakulását, befolyásolhatja a rákos folyamat kiújulását és a betegek túlélését, továbbá az androgén-kortikoszteroid egyensúly eltolódása elősegítheti a malignus folyamatot (*Lee és mtsai, 1999*; *Liao és Dickinson, 2002*). Léteznek olyan feltételezések is, hogy az androgéneknek a menopauza egyes szakaszaiban eltérő a szerepe (*Liao és Dickinson, 2002*). Korai tanulmányok vizsgálták emlőrákos betegeknél az androgének és metabolitjaik vizeletkoncentrációját. Ezek általában csökkent 11-deoxi-17-ketoszteroid szinteket találtak emlőrákos nőknél, ill. olyan egészséges nőknél, akiknél később emlőrák alakult ki. A függelékben (3.1 táblázat) összefoglaltam néhány, emlőrákos nő vizeletszteroid metabolitjait vizsgáló korai és mai tanulmány eredményeit. Plazmából történő androgén méréseket végző kutatók beszámolnak normál, csökkent és emelkedett androgén szintekről is emlőrákos betegek esetében (*áttekintések: Liao és Dickinson, 2002; Dimitrikakis és mtsai, 2002)*. Az egyes közlemények eredményei gyakran különbözők,

és a magyarázataik ellentmondásosak. A különböző mérési közegek, illetve módszerek alkalmazása, eltérő életkorú és az emlőrák különböző stádiumaiban lévő betegek vizsgálata miatt nem lehet összevetni az adatokat.

Több kutató vizsgálta a tesztoszteron, az androszténdion és a dehidroepiandroszteron (DHEA) szintje és a csontsűrűség (BMD) közötti kapcsolatot. Néhány fontosabb közlemény eredményeit a Függelékben (3.2 táblázat) foglaltam össze. A tanulmányok többsége pozitív korrelációról számol be ezen androgének szintje és a csontsűrűség között, de a vizsgált csonthelyek és a nők életkora különbözött, és voltak olyan esetek is, amikor nem mutattak ki összefüggést. Több tanulmány számolt be csökkent androgén szintekről **csontritkulásban** szenvedő betegeknél. Az adatok többsége szérumból és plazmából történő mérésekből származik. Vizeleszteroid-profil mérésekről nem találtunk adatokat. A posztmenopauzás csontritkulás terápiájában általában ösztrogén, ill. ösztrogén-gesztagén kombinált hormon szubsztitúciós kezeléseket alkalmaznak. Jelenleg nincs egységes álláspont az androgének terápiás használatáról, napjainkban is folynak in vivo és in vitro kutatások szerepük kiértékeléséről a posztmenopauzás csontritkulás kezelésben *(Editorial, 2003)*.

A **depresszió** esetében irodalmi adatok utalnak arra, hogy a főként a mellékvesében termelődő, de az agyban is megtalálható dehidroepiandroszteron (DHEA) és szulfát észtere (DHEAS) szerepet játszik a hangulat szabályozásában, ezáltal szerepe lehet a depresszió kialakulásában és fenntartásában. A közlemények eredményei között nincs egyetértés ezzel kapcsolatosan, beszámolnak változatlan, csökkent, emelkedett és normál, plazmában, nyálban és vizeletben mért értékekről is (Függelék 3.3 táblázat). Ennek egyik feltehető oka, hogy a dehidroepiandroszteron mennyisége függ a vizsgált személy nemétől és korától is, és termelődésének napi ritmusa van. Azonban egyes vizsgálatok, melyekben DHEA-val kezeltek adott ideig depressziós betegeket, megerősítik a komponens antidepresszáns hatását (*van Broekhoven és Verkes, 2003; Wolkowitz és mtsai, 1997; Morales és mtsai, 1994; van Niekerk és mtsai, 2001)*. Mivel a DHEA antidepresszív és neuroprotektív tulajdonságú, a kortizol pedig ezzel ellentétes hatású, a kortizol és a DHEA metabolitok egymáshoz viszonyított aránya informatív lehet a depressziós betegeknél *(Goodyer és mtsai, 1998, Wolkovitz és mtsai, 1997, Young és mtsai, 2002, van Niekerk és mtsai, 2001)*.

Az emelkedett kortizol szint idegrendszeri, pszichés (depresszió) és táplálkozási zavarokat is okozhat (*Steckler és mtsai, 1999*), csontritkulást indukálhat (*Lakatos, 2001).*

Újabb tanulmányok szerint a kortizol-kortizon átalakulást szabályozó 11β-hidroxiszteroid-dehidrogenáz (11β-HSD) enzim rendszer működésének megváltozása is szerepet játszhat a depresszió *(Raven, 1998)* és a csontritkulás (*Cooper és mtsai, 2000*) patofiziológiájában.

CÉLKITŰZÉSEK

Az utóbbi években, különböző kórképekben vizsgáltunk vizeletszteroid-profilokat. Olyan komplex endokrin hátterű, főként nőket érintő betegségeket választottunk (emlőrák, csontritkulás, depresszió), melyek patofiziológiája nem teljesen felderített, és kapcsolatos a szteroid metabolizmus módosulásával. A betegségcsoportok kiválasztásában hangsúlyt kapott, hogy ezekben a betegségekben a szteroid metabolizmust illetően az irodalmi adatok ellentmondásosak. *Vizsgálni kívántuk, létezik-e ezekre a kórképekre specifikusan jellemző szteroid-profil,* ill. egyes metabolitok egymáshoz viszonyított aránya alapján *enzimműködésbeli változás, továbbá a detektált változások értelmezhetők-e a diagnosztika, ill. terápia szintjén.*

1.1 A 90-es évek közepén laboratóriumunkban, menopauzában lévő emlőrákos nők vizeletszteroid-profiljait elemezték. Ezt a projektet folytattuk, olyan emlőrákos betegek vizeletszteroid-profiljának mérésével, akiknél a menopauza előtt és a menopauza körül alakult ki a betegség. Célunk volt a metabolizmus változásainak megismerése a menopauza különböző szakaszaiban.

1.2 Vizsgálni kívántuk az androgének és a 11β-HSD enzim érintettségét a posztmenopauzában kialakuló csontritkulásban.

1.3 Célunk volt a DHEA és a kortizol szint változásának vizsgálata depressziós betegeknél, figyelembe véve a nemi és életkori sajátosságokat, továbbá lehetséges markerekként használható metabolit arányok felderítése.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1. BETEGANYAG

Munkánk során 24 óráig gyűjtött vizeletmintákkal dolgoztunk. A betegcsoportokat a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Klinikáinak betegei közül választottuk ki, a klinikák orvosainak segítségével. A betegek a vizeletgyűjtés megkezdése előtt szteroid metabolizmust befolyásoló gyógyszeres kezelésben nem részesültek, és hozzájárultak a kutatásban való részvételhez. Tekintettel a szteroid metabolizmus életkori sajátosságaira, az egyes csoportokat úgy szerveztük, hogy a korösszetételük minél homogénebb legyen. Kontroll csoportként a legtöbb esetben azonos nemű és hasonló életkorú egészséges személyek közreműködését kértük. A vizsgált betegségeket, a betegek és a kontroll személyek számát, nem és kor szerinti megoszlását a 3. táblázatban foglaltam össze.

1.1 Emlőrákos betegek

Olyan, műtét előtt álló betegek kerültek kiválasztásra, akiknél a menopauza előtt, illetve a menopauza körül fejlődött ki az emlőrák. Az utolsó, petefészekhormonok által kiváltott havivérzés időpontja a menopauza. Az utolsó havivérzés körüli, a menstruációs ciklus változásaival és hőhullámokkal jellemezhető időszak a perimenopauza, amely a menstruáció elmaradása után egy évvel ér véget. Az ezt megelőző életszakaszt premenopauza, az ezután következőt a posztmenopauza elnevezéssel illetik. Ezen kritériumok alapján történt a csoportok besorolása.

Kontroll személyek más okból műtét előtt álló pre- illetve perimenopauzában lévő nők voltak. A műtéti stressz módosíthatja a szteroid termelést (*Juricskay és Kecskés, 1985*), ezért e hatás kiküszöbölése érdekében a mintagyűjtés mindkét csoportnál a műtét előtti napon történt.

3. táblázat A vizsgált betegségek, a betegek és a kontroll személyek száma (n), nem és kor szerinti megoszlása, származása

BETEGSÉGEK	NEM	BETEGEK			KONTROLLOK		
		n	**életkor (átlag)**	**származási hely**	**n**	**életkor (átlag**	**származási hely**
emlőrák	nők (premenopuaza)	10	33-52 év (42)	III.sz- Sebészeti Klinika	16	22-55 év (37)	III.sz. Sebészeti Klinika fekvőbetegei, akiket más okokból operáltak
	nők (perimenopauza)	10	45-51 év (48)		12	40-58 év (48)	
csontritkulás	nők (posztmenopauza)	8	49-65 év (54)	Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika	13	41-68 év (57)	egészséges egyedek
major depresszió	nők	11	20-53 év (35)	Pszichiátriai és Orvosi Pszichológia Klinika	21	23-50 év (33)	egészséges egyedek
	férfiak	8	30-63 év (47)		8	27-54 év (34)	

1.2 Csontritkulásos (osteoporosis) betegek

Olyan csontritkulásos betegeket választottunk ki, akiknél menopauza után alakult ki a betegség. A csontritkulás kimutatása röntgensugár-abszorpció mérésén alapuló módszerrel (DEXA) történt az ágyéki csigolyák és a proximális femurharmand csonttartalmának meghatározásával. Kontroll személyek posztmenopauzában lévő egészséges nők voltak.

1.3 Depressziós betegek

Olyan járóbetegek kerültek kiválasztásra, akik a DSM-IV (*American Psychiatric Association, 1994*) kritériumai szerint major depressziót diagnosztizáltak 2002-ben.

A kórházi tartózkodás (hospitalizációs hatás) stresszforrás lehet a betegek számára, ami befolyásolhatja a kortizol metabolizmust, és ezáltal módosíthatja a mérési eredményeket (*Szadoczky és mtsai, 1986*). Azzal, hogy csak járóbetegek vettek részt a vizsgálatban, elkerültük a hospitalizációs hatás kialakulását. Mivel vizelemintákkal dolgoztunk, kiküszöböltük a vérvétel okozta stressz pillanatnyi módosító hatását is.

A vizsgálatok a Helsinki egyezménynek megfelelően történtek, a kiértékelés pedig az alábbi egyezményes irányelvek szerint: a vizsgálatban azon betegek vehettek részt, akik 18-nál magasabb pontszámot értek el a Hamilton-féle Depressziós Skálán (HAMD) (*Williams, 1978)* és 20-at, vagy többet a Beck-féle Depressziós Skálán (*Beck és mtsai, 1961)*. Kizáró feltételek voltak: drog, vagy alkoholfogyasztás a megelőző 12 hónapban, major nem affektív vagy bipoláris affektiv zavar, egyéb egyidejű betegség, olyan gyógyszerek szedése, amelyek befolyásolják a hypothalamusz-agyalapimirigy-mellékvese tengelyt (dextromfetamin, neuroleptikumok, fogamzásgátlók, antidepresszánsok). A betegek és kontroll személyek nem voltak elhízva, egyikük sem fogyasztott grapefruit levet vagy édesgyökér kivonatot, fizikai aktivitásuk hasonló volt.

Kontroll személyek egészséges egyedek voltak.

2. VIZELETSZTEROID-PROFIL MEGHATÁROZÁS

Az általunk használt módszer alapja C. H. L. Shackleton és mtsai által kidolgozott szteroid-profil meghatározás volt *(Shackleton, 1976; Homoki és mtsai, 1987; Shackleton és Whitney, 1980a; Shackleton, 1990).*

2.1. Minták gyűjtése és tárolása

A 24 órás vizeletgyűjtési idő betartására fokozottan felhívtuk a betegek és a kontroll személyek figyelmét. A 24 órás vizeletgyűjtés a következők alapján történt: a lefekvés előtti utolsó vizeletürítés után üres hólyaggal indult a gyűjtés, és 24 óra múlva az utolsó vizeletürítéssel fejeződött be. A vizeletek mennyiségének meghatározása után a mintákból 100-100 ml-t a feldolgozásig fagyasztva (-20°C) tároltunk.

2.2. Mintaelőkészítés

2.2.1 Szteroidok kivonása

A szteroid konjugátumok kivonása a vizeletből szilárd fázisú extrakcióval történt. Betegenként 20 ml vizeletet extraháltunk szűrők közé töltött oktadecilszilán fázist tartalmazó Sep-pak C18 oszlopokon (Waters Assoc, Milford, MA USA). Az oszlopokat előzőleg 5 ml metanollal aktiváltuk, 5 ml vízzel mostuk, majd 10 ml-es üvegfecskendővel két részletben az oszlopokra juttattuk a vizeletet ~20 ml/perces áramlási sebeséggel. A szteroidokat 5 ml vízzel és 5 ml levegővel való mosás után 5 ml metanollal nyertük vissza. A mintákat a negyedik csepptől kezdve 10 ml-es, teflonos bevonatú műanyag tetővel zárható üvegcsövekben gyűjtöttük. Az oszlopokat 5 ml metanollal és 5 ml vízzel tisztítottuk. A metanolt 40°C-on N_2 gázzal elpárologtattuk.

2.2.2 Konjugátumok hidrolízise és kivonása

A mintákat 4 ml 0,1 M acetát pufferben (pH 4,6) oldottuk, majd 50 μl β-glükuronidáz- (~30 U/ml) arilszulfatáz (~60 U/ml) enzim keveréket (Helix pomatia, Merck KGsA, Darmstadt, Germany) adva hozzájuk enzimatikus hidrolízissel (48 óra, 37°C) szabadítottuk fel a szteroidokat a glükuronid, ill. szulfát konjugátumaikból. A felszabadított szteroidokat a 2.1.1 pontban leírtak szerint extraháltuk. N_2 gázzal történő bepárlás után a kivonatokat 2 ml metanolban oldottuk.

2.2.3 Származékképzés

A kémiai átalakítás előtt mintánként 200 μl-t üvegcsövekbe mértünk, majd 200 μl előzőleg elkészített metanolban oldott belső standardokat adtunk hozzájuk. Az oldat 5 - 5 μg-ot tartalmazott a következő szteroidokból: 5α-androsztan-3β, 17β-diol (IS), sztigmaszterol (SS) és koleszteril-butirát (KB) (Sigma Chemical Co., St. Luis, MO, USA). A mintákat N_2 gázzal bepároltuk, majd 4 csepp (~60 μl), 2%-os piridinben oldott metoxiamin-hidrokloridot (Sigma Chemical Co., St. Luis, MO, USA) adtunk hozzájuk. 2 órás 60°C-os inkubáció után a piridint N_2 gázzal elpárologtattuk és 7 csepp (~100 μl) trimetilszililimidazolt (Pierce Chemical Co, Rockford, IL.) adtunk a mintákhoz. A 100 °C-os, egy éjszakán át tartó származékképzés során metiloxim-trimetilszilil éterek keletkeztek.

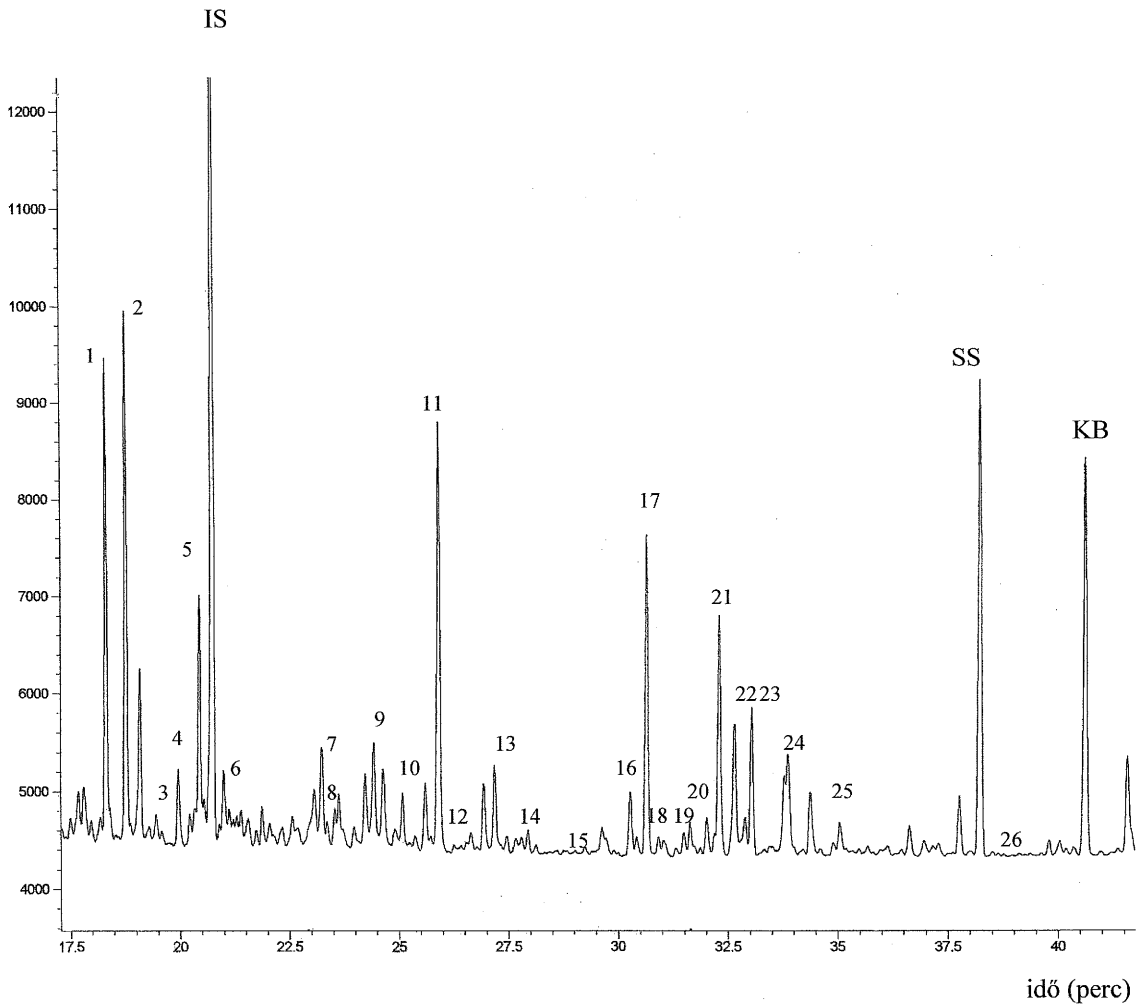
A szililező reagens feleslegét oszlopkromatográfiával távolítottuk el a mintákból. Lipidex 5000 (10-20% hidroxil-alkoxipropil-Sephadex, 80-100% metanol) (Packard Bioscience BV, Groeningen, Netherland) felhasználásával géloszlopokat készítettünk Pasteur pipettákban az alábbiak szerint. A Lipidex 5000-t mostuk kétszer 5 ml metanollal, 5 ml etanollal, majd kétszer 5ml ciklohexánnal. Ezt követően 100 mm-es géloszlopokat töltöttünk a Pasteur pipettákba, amelyek elkeskenyedő végébe a gél betöltése előtt üveggyapotot helyeztünk. A géloszlopokat átmostuk kétszer 0,5 ml ciklohexánnal és kétszer 0,5 ml ciklohexán: piridin: hexametildiszilazán (CPH) 98:1:1 térfogat arányú elegyével. A kivont szteroidokat 1 ml ciklohexánban oldottuk, felvittük az oszlopokra, majd leoldottuk négyszer 1 ml CPH-val. Végezetül a mintákat N_2 gázzal 100 μl-re pároltuk.

2.3 Gázkromatográfiás mérések

Méréseink során Hewlett-Packard 5890 Series II, lángionizációs detektorral felszerelt gázkromatográffal dolgoztunk, a komponenseket Ultra-1 (25 m* 0,2 mm* 0,33 μm), (Hewlett-Packard Company, USA), vagy az azonos állófázist tartalmazó Optima-1 (25 m * 0,2 mm * 0,1 μm) (Macherey-Nagel, Germany) oszlopokon választottuk el. Vivőgázként hidrogént (2 ml/perc), kiegészítő gázként nitrogént (50 ml/perc) alkalmaztunk. A split-splitless mintabemérő és a detektor hőmérsékletét 300°C-ra állítottuk. A hőmérsékleti program a következő volt: az 50°C-os kezdeti hőmérsékletet 2 percig tartottuk, 30°C/perc sebességgel 180°C-ra emeltük, majd egy 4 perces izoterm periódus után tovább növeltük 300°C-ra 2,1°C/perces növekedési ütemmel, és ezt a hőmérsékletet tartottuk 8 percig. Splitless injektálási technikát alkalmaztunk.

A mérések előtt kalibrációt végeztünk. A kalibráció ismert mennyiségű referencia szteroidok, és a belső standardok (Sigma Chemical Co., St. Luis, MO, USA) elegyével történt. A metabolitokat relatív retenciós idők alapján azonosítottuk. A mennyiségi meghatározás során az összes mért komponens érzékenységi faktorokkal korrigált csúcs alatti területét az 5α-androsztan-3β, 17β-diol (IS) csúcs alatti területéhez viszonyítottuk. A szteroidok 24 órás mennyiségét mintánként kiszámolt szorzófaktor alkalmazásával kaptuk meg. A metabolitok azonosítását és az integrált területek alapján történő mennyiségi analízist a HPChem program automatikusan végezte.

A vizeletben az alábbi 28 szteroid metabolitot mértük (6. ábra). A metabolitok szerkezeti- és összegképlete a Függelék 2. táblázatában található.



6. ábra A mért vizelet szteroid metabolitok *(18 éves egészséges nő kromatogramja)*

1:An, 2:Et, 3:5α-AD, 4:DHEA, 5:Δ5-AD, 6:11-O-An, 7:11-OH-An, 8:11-OH-Et, 9:16-OH-DHEA, 10:PD, 11:PT, 12:Δ5-PD, 13:Δ5-AT, 14:THS, 15:11-OPT, 16:Δ5-PT, 17:THE, 18:THA, 19:THB, 20:aTHB, 21:THF, 22:aTHF, 23:α-CL, 24:β-CL, 25:α-C, 26:F.

Ugyanazon vizeletből származó minta ismételt feldolgozása és mérése esetén az eredmények relatív szórása 7-25% szteroidtól függően. Ez elfogadható mértékű szteroid-profilok esetében. A gázkromatográfiás mérés ismételhetősége 1,2-5,4 %. Lángionizációs detektálás esetén a legkisebb mérhető mennyiség kb. 10 ng injektált szteroid ez egy napi szteroid termelésre vonatkoztatva kb. 50 μg/24 óra mennyiséget jelent.

2.4 Az eredmények statisztikai értékelése

A betegek mintáiban mért szteroid metabolitok 24 órás mennyiségét (μmol/24 óra), a fontosabb szteroid termelést jellemző metabolit összegeket és enzimműködést jellemző metabolit arányokat (4. táblázat) a minta eloszlásának megfelelő statisztikai próbákkal hasonlítottuk össze (kétmintás t-próba, Mann-Whitney U próba, varianciaanalízis /ANOVA/) hasonló korú egészséges kontrollok szteroid értékeivel.

4. táblázat Jellemző vizeleszteroid-összegek és enzimműködést jelző arányok

An +Et DHEA + 16-OH-DHEA + Δ5-AD + Δ5-AT	11-deoxi-17-ketoszteroidok és metabolitjaik a vizeletszteroid profil fő androgénjei
An + Et	tesztoszteron és az androszténdion fő metabolitjai a vizeletben
DHEA + 16-OH-DHEA + Δ5-AD + Δ5-AT **DHEA + 16-OH-DHEA**	*DHEA és metabolitjai* A mellékvese androgén szekréciójának markerei
11-OH-An + 11-OH Et + 11-O-An	*11-oxi és 11-hidroxi-17-ketoszteroidok* kortizolból is keletkező gyenge androgén hatású metabolitok
THE+ α-CL + β-Cl	*11-oxo-kortizol metabolitok* (kortizon metabolitok)
THF + aTHF + α-C	*11-hidroxi kortizol metabolitok*
THE + THF + aTHF + α-CL + β-Cl + α-C	*11-oxo/11-hidroxi kortizol metabolitok összege* a kortizolprodukciót jellemzi egy nap során
(THE + α-CL + β-CL)/ (THF + aTHF+ α-CL) **THE/ (THF + aTHF)**	*11β-HSD ezim működését jellemező arány*
(An + ET + DHEA + 16-OH-DHEA + Δ5-AD + Δ5-AT) /(11-OH-An + 11-OH Et + 11-O-An)	*11-deoxi-17-ketoszteroidok és metabolitjaik* és a *11-oxi és 11-hidroxi-17-ketoszteroidok aránya* az androgén-kortikoidok hormonális egyensúlyt jellemzi

Rodin és mtsai,1994; Raven és mtsai, 1995, Lee és mtsai, 1999 alapján

EREDMÉNYEK

Vizeletszteroid-profil méréseket végeztünk emlőrákos, csontritkulásos, depressziós és evészavarral járó betegségekben. A 24 órán át gyűjtött vizeletből standardizált extrakciós és származékképzési eljárás után androgén, kortizol és progeszteron metabolitokat mértünk gázkromatográfiás technikával. A betegeknél és az egészséges kontrolloknál kapott értékeket statisztikai módszerek alkalmazásával összehasonlítottuk és elemeztük.

1. SZTEROID HORMON PROFIL VIZSGÁLATOK EMLŐRÁKOS NŐKNÉL

10-10 menopauza előtti, és menopauza körüli, műtét előtt álló emlőrákos nő vizeletszteroid-metabolitjait mértük, és hasonlítottuk össze az előbbi esetben 16, az utóbbiban 12 más okból műtét előtt álló nők értékeivel. A 5. táblázat tartalmazza a mért vizeletszteroid értékeket (átlag ± SEM, μmol/24 óra) és a szignifikánsan változott összegeket.

A premenopauzában lévő emlőrákos nőknél a kontrollok értékeihez viszonyítva szignifikáns csökkenést tapasztaltunk az androgén metabolitok közül az An szintjében ($p<0,05$), az An és Et metabolitok összegében ($p<0,05$), míg a menopauza körüli betegeknél az 5α-AD és Δ5-AT ($p<0,05$) értékében.

A 11-deoxi-17-ketoszteroidok összege, a 11-hidroxi- és 11-oxi-17-ketoszteroidok szintje és összege egyik csoportnál sem különbözött.

A premenopauzás betegeknél szignifikáns csökkenést tapasztaltunk a fő kortizol metabolitok összegében ($p< 0,01$), ezen metabolitok közül szignifikánsan csökkent a THE, THF, aTHF és βCL ($p<0,05$) szintje. Perimenopauzában nem változott a fő kortizol metabolitok szintje és összege a normál értékekhez képest.

5. táblázat Emlőrákos és kontroll nők vizeletszteroid értékei (μmol/24 óra) (átlag ± SEM)

	Premenopauza		Perimenopauza	
	beteg	*kontroll*	*beteg*	*kontroll*
	n=10 38-52 év (átlag 42,4 év)	**n=16 22-55 év (átlag 36,9 év)**	**n=10 45-51 év (átlag 48,4 év)**	**n=12 40-58 év (átlag 48 év)**
An	**2,1** ± 0,39 **p < 0,05**	3,7 ± 0,48	3,0 ± 0,47	3,2 ± 0,52
Et	3.3 ± 0,79	5,0 ± 0,82	4,9 ± 1,31	4,5 ± 0,76
5α-AD	0,1 ± 0,03	0,1 ± 0,03	**0,1** ± 0,03 **p < 0,01**	0,4 ± 0,07
DHEA	0.7 ± 0,17	0,8 ± 0,21	1,0 ± 0,45	0,8 ± 0,21
Δ5-AD	0,2 ± 0,10	0,2 ± 0,11	0,3 ± 0,11	0,4 ± 0,25
11-O-An	0,8 ± 0,35	1,2 ± 0,42	1,3 ± 0,45	1,3 ± 0,37
11-OH-An	2,7 ± 0,99	3,2 ± 0,77	3,2 ± 0,67	3,5 ± 0,86
11-OH-Et	0,5 ± 0,17	0,9 ± 0,14	1,4 ± 0,50	1,1 ± 0,21
16-OH-DHEA	1,7 ± 0,43	2,2 ± 0,63	1,3 ± 0,28	5,7 ± 2,61
PD	1,4 ± 0,50	1,0 ± 0,19	1,9 ± 1,55	2,1 ± 0,75
PT	1,1 ± 0,29	1,4 ± 0,36	1,3 ± 0,23	1,0 ± 0,15
Δ5-PD	0,2 ± 0,07	0,6 ± 0,25	0,4 ± 0,26	0,3 ± 0,09
Δ5-AT	1,1 ± 0,20	1,2 ± 0,29	**0,5** ± 0,12 **p < 0,05**	2,2 ± 0,78
THS	0,3 ± 0,06	0,5 ± 0,09	0,4 ± 0,14	0,4 ± 0,12
11-O-PT	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,06	0,6 ± 0,33	0,1 ±0,04
Δ5-PT	0,4 ± 0,08	0,5 ± 0,07	0,3 ± 0,06	0,5 ±0,16
THE	**3,8** ± 0,37 **p < 0,05**	6,5 ± 0,84	5,9 ± 0,65	6,0 ± 1,33
THA	0,5 ± 0,15	0,5 ± 0,19	1,4 ± 0,53	0,7 ±0,29
THB	0,5 ± 0,13	0,8 ± 0,16	1,5 ± 0,68	0,8 ± 0,16
aTHB	0,8 ± 0,20	0,7 ± 0,16	1,1 ± 0,37	1,1 ± 0,44
THF	**1,2** ± 0,15 **p < 0,05**	2,2 ± 0,37	3,2 ± 0,88	2,7 ± 0,56
aTHF	**1,0**± 0,09 **p < 0,05**	1,7 ± 0,27	1,8 ± 0,24	2,2 ± 0,45
α-CL	1,4± 0,24 **p < 0,05**	1,7 ± 0,31	1,9 ± 1,35	1,6 ± 0,24
β-CL	**0,8** ± 0,10 **p < 0,05**	1,4 ± 0,19	1,3± 0,19	1,5 ± 0,25
α–C	0,5 ±0,08	0,5 ± 0,11	0,6± 0,13	2,2 ± 1,15
F	0,5 ±0,14	0,9 ± 0,27	0,7± 0,20	1,0 ± 0,23
An + Et	**5,4** ± 3,47 **p < 0,05**	8,7 ± 4,39	7,9 ± 1,70	7,7 ± 1,16
Kortizol metabolitok összege THE + THF + aTHF + α–CL + β–CL + α–C	**8,7** ± 1,94 **p < 0,01**	14,0 ± 6,87	14,7 ± 1,87	16,2 ± 3,37

A betegek és a kontrollok mért értékei közötti szignifikáns különbségeket piros betűvel jelöltük. p: szignifikancia szint

Nem találtunk szignifikáns eltérést 11-deoxi-17-ketoszteroidok és 11-oxi ill. 11-hidroxi 17-ketoszteroidok arányában sem a pre-, sem a perimenopauzás emlőrákos nőknél a kontrollok értékeihez képest.

Munkacsoportunk egy korábbi vizsgálat során posztmenopauzás emlőrákos nőknél nem tapasztalt változást az androgén és kortizol metabolitok szintjében, egyedül a PD szintje ($p<0,05$) csökkent szignifikánsan a betegeknél (*Juricskay és mtsai, 1997*).

2. SZTEROID HORMON PROFIL VIZSGÁLATOK CSONTRITKULÁSBAN SZENVEDŐ NŐKNÉL

8 menopauza után lévő csontritkulásos nő és 13 szintén menopauza után lévő egészséges nő vizeletszteroid-metabolitjait mértük és elemeztük. A 6. táblázat tartalmazza a mért vizeletszteroid értékeket (átlag ± SEM, μmol/24 óra) és a szignifikánsan változott szteroid termelést jellemző összegeket.

Szignifikáns csökkenést tapasztaltunk több androgén metabolit szintjében posztmenopauzás csontrikulásos nőknél. Szignifikánsan csökkent az Et ($p<0,05$), a DHEA ($p<0,01$) és a gyenge androgén hatású 11-O-An ($p<0,05$) szintje. A 11-deoxi-17-ketoszteroidok és metabolitjaik összege, és az An és Et metabolitok összege szignifikánsan alacsonyabb volt a betegeknél ($p<0,05$), mint a kontroll csoportnál.

A kortikoszteron metabolitok közül a THA ($p<0,05$), és az aTHB ($p<0,05$) szintjében tapasztaltunk szignifikáns csökkenést a kontroll értékekhez képest.

Nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést a szabad kortizol szintekben a két csoportnál, viszont meglepők voltak azon eredmények, hogy az egy napi kortizol termelést jellemző összeg és ezen összeget alkotó néhány metabolit, a THE ($p<0,01$), β–CL és az α–C ($p<0,05$) szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a betegeknél ($p<0,01$).

A progeszteron metabolitok szintjében nem volt szignifikáns különbség a beteg és kontroll csoportok között.

A 11β-HSD enzim működését jellemző metabolit arányban nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget a két csoport között.

6. táblázat Posztmenopauzában lévő csontritkulásos és egészséges nők vizeletszteroid szintjei (μmol/24h) (átlag ± SEM)

	beteg	*kontroll*
	n=8 49-65 év (átlag 53,8 év)	**n=13 41-68 év (átlag 56,6 év)**
An	1,6 ± 0,28	2,8 0,58±
Et	**1,6** ± 0,38 **p < 0,05**	3,2 ± 0,59
5α-AD	0,5 ± 0,12	0,2 ± 0,09
DHEA	**0,2** ±0,03 **p < 0,01**	0,6 ± 0,11
Δ5-AD	0,8±	
11-O-An	**0,2** ± 0,11 **p < 0,05**	1,3 ± 0,45
11-OH-An	2,1 ± 0,74	2,5 ± 0,54
11-OH-Et	3,1 ± 1,32	1,0 ± 0,26
16-OH-DHEA	1,0 ± 0,44	1,9 ± 0,45
PD	1,0 ± 0,41	0,9 ± 0,17
PT	1,5 ± 0,47	1,0 ± 0,20
Δ5-PD	0,2 ± 0,09	0,3 ± 0,07
Δ5–AT	0,8 ± 0,09	1,1 ± 0,19
THS	0,2 ± 0,11	0,5 ± 0,12
11-O-PT	0,1 ± 0,04	0,1 ± 0,03
Δ5-PT	0,1 ± 0,07	0,6 ± 0,11
THE	**3,5** ± 1,06 **p < 0,01**	9,2 ± 1,58
THA	**0,2** ± 0,05 **p < 0,05**	0,8 ± 0,25
THB	0,8 ± 0,53	1,1 ± 0,23
aTHB	**0,6** ± 0,19 **p < 0,05**	1,4 ± 0,29
THF	1,9 ± 0,58	3,3 ± 0,64
aTHF	1,9 ± 0,50	3,0 ± 0,65
α–CL	1,8 ± 0,42	2,9 ± 0,63
β–CL	**1,3** ± 0,23 **p < 0,05**	2,5 ± 0,42
α–C	**0,4** ± 0,1 **p < 0,01**	1,4 ± 0,23
F	1,3 ± 1,30	0,7 ± 0,16
11-deoxi-17-ketoszteroidok (C19 androgének) An + Et + DHEA+ 16-OH-DHEA+ Δ5-AT	**5,2** ± 2,40	9,6 ±5,85
An + Et	**3,2** ± 1,65 **p < 0,05**	6,0 ± 4,04
Kortizol produkciót jellemző metabolitok összege THE + THF + aTHF + α–CL + β–CL + α–C	**10,8** ± 6,93 **p < 0,05**	22,3± 13,04

A betegek és a kontrollok mért értékei közötti szignifikáns különbségeket piros betűvel jelöltük. p: szignifikancia szint

3. SZTEROID HORMON PROFIL VIZSGÁLATOK MAJOR DEPRESSZIÓS BETEGEKNÉL

A 11 depressziós nő, 8 depressziós férfi, 21 egészséges nő és 8 egészséges férfi vizeletszteroid-metaboltjait mértük és az eredményeket értékeltük.

A mért vizeletszteroid értékeket (átlag ± SEM, μmol/24 óra) és a szignifikánsan változott metabolit arányt a 7. táblázat tartalmazza.

Szignifikáns különbséget tapasztaltunk mindkét nemnél több vizeletszteroid szintjében a normál értékekhez képest. Azonban a változások többnyire eltérőek voltak az egyes nemeknél.

A minket kiemelten érdeklő DHEA szintjének változásában nemi különbséget tapasztaltunk ($F=6,6617$ $p<0,05$). Míg a komponens szintje lényeges csökkenést mutatott a depresszióban szenvedő férfiaknál, addig a nőknél nem mutatott változást a kontroll értékekhez képest. Az androgén metabolitok közül a depresszióban szenvedő nőknél az Et szintje csökkent szignifikánsan ($p<0,05$).

Nőknél csökkent volt még a THB ($p<0,01$) metabolit szintje is.

Míg a férfiaknál nem volt különbség a kortizol exkrécióban a beteg és kontroll csoport között, addig a depressziós nőknél szignifikánsan emelkedett szabad kortizol ($p<0,01$) szintet mutattunk ki. A β-CL szintje szignifikánsan ($p<0,01$) csökkent volt mindkét nemnél depresszió esetében.

Az aTHB metabolit szintje szintén nemi különbséget mutatott a depressziós csoportokban ($F=13,406$ $p<0,01$): szintje nőknél megemelkedett ($p<0,05$), férfiaknál lecsökkent ($p<0,05$) a kontrollokéhoz képest.

A fő kortizol metabolitok összege és a kortizol/DHEA metabolitok aránya nem különbözött egyik depressziós csoport esetében sem.

11β-HSD I. izoenzim működését jellemző 11-oxo és 11β-hidroxi-kortizol metabolitok aránya szignifikánsan csökkent ($p<0,01$) mindkét beteg csoport esetében a kontrollokéhoz képest, de a változás mértéke nagyobb volt a depresszióban szenvedő férfiak esetében ($F=4,107$, $p<0,05$).

7. táblázat Major depresszióban szenvedő betegek és kontrollok vizeletszteroid szintjei (μmol/24h) (átlag ± SEM)

	NŐK		**FÉRFIAK**	
	beteg	***kontroll***	***beteg***	***kontroll***
	n=11 20-53 év (átlag 35,3 év)	**n=21 23-50 év (átlag 32,6 év)**	**n=8 30-63 év (átlag 46,6 év)**	**n=8 27-54 év (átlag 34,4 év)**
An	3,3 ± 0,92	3,3 ± 0,29	6,0 ± 1,89	6,4 ± 0,81
Et	**2,4** ± 0,45 **p < 0,05**	4,2 ± 0,55	4,4 ± 1,76	5,1 ± 0,85
5α-AD	0,1 ± 0,01	0,2 ± 0,06	0,3 ± 0,16	0,3 ± 0,05
DHEA	0,5 ± 0,19	0,9 ± 0,41	**0,7** ± 0,25 **p < 0,01**	5,6 ± 2,20
Δ5-AD	0,3 ± 0,03	0,7 ± 0,15	0,4 ± 0,15	1,0 ± 0,29
11-O-An	0,8 ± 0,25	1,4 ± 0,24	0,9 ± 0,32	1,4 ± 0,36
11-OH-An	1,8 ± 0,37	2,1 ± 0,21	4,2 ± 1,15	2,6 ± 0,40
11-OH-Et	0,7 ± 0,20	1,3 ± 0,29	1,3 ± 0,48	2,0 ± 0,51
16-OH-DHEA	1,3 ± 0,15	2,5 ± 0,34	2,1 ± 0,71	3,4 ± 0,72
PD	1,3 ± 0,64	2,5 ± 0,67	1,2 ± 0,4	1,3 ± 0,39
PT	1,4 ± 0,40	1,4 ± 0,14	1,2 ± 0,39	1,5 ± 0,2
Δ5-PD	0,5 ± 0,15	0,7 ± 0,11	0,5 ± 0,19	1,1 ± 0,16
Δ5-AT	0,7 ± 0,14	1,1 ± 0,13	1,2 ± 0,51	1,4 ± 0,29
THS	0,4 ± 0,08	0,6 ± 0,13	0,4 ± 0,19	0,8 ± 0,26
11-O-PT	0,2 ± 0,08	0,3 ± 0,08	0,1 ± 0,03	0,4 ± 0,10
Δ5-PT	0,3 ± 0,08	0,4 ± 0,14	0,4 ± 0,12	0,9 ± 0,20
THE	4,6 ± 0,73	6,4 ± 0,71	11,0 ± 4,60	12,7 ± 1,83
THA	0,5 ± 0,07	1,5 ± 0,31	1,2 ± 0,52	2,5 ± 0,41
THB	2,0 ± 0,51	1,4 ± 0,25	**0,8** ± 0,36 **p < 0,01**	2,8 ± 0,37
aTHB	**2,5** ± 0,36 **p < 0,05**	**1,5** ± 0,17	**3,0** ± 1,10 **p < 0,05**	8,0 ± 1,97
THF	4,9 ± 0,72	4,3 ± 0,52	10,1 ± 4,4	6,4 ± 0,86
aTHF	2,3 ± 0,45	2,0 ± 0,39	5,4 ± 1,28	3,1 ± 0,28
α–CL	3,2 ± 0,52	2,8 ± 0,32	5,3 ± 2,30	6,2 ± 1,20
β–CL	**1,2** ± 0,18 **p < 0,01**	**2,4** ± 0,32	**2,2** ± 0,71 **p < 0,01**	5,3 ± 0,79
α–C	0,9 ± 0,14	0,9 ± 0,14	1,4 ± 0,43	1,5 ± 0,31
F	**1,0** ± 0,20 **p < 0,01**	0,5 ± 0,08	1,5 ± 0,54	0,7 ± 0,30
11β-HSD enzim működését jellemző index (THE + α–CL + β–CL)/ (THF + aTHF + α–C)	**1,1** ± 0,34 **p < 0,01**	1,6 ± 0,49	**1,1** ± 0,35 **p < 0,01**	2,3 ±0,88

A betegek és a kontrollok mért értékei közötti szignifikáns különbségeket piros betűvel jelöltük. p: szignifikancia szint

EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

4 endokrin, ill. idegrendszeri, a szteroid metabolizmust érintő kórképben elemeztük a betegek 24 órás vizeletszteroid-profiljait. A több szteroid csoport egyidejű vizsgálatára alkalmas szteroid-profil módszer hosszabb időt és magasabb technikai hátteret igényel, mint egyes pillanatnyi szteroid koncentrációkat mérő egyéb laboratóriumi rutinmódszerek, de előnye, hogy áttekinthető képet ad egy napi szteroid szintéziséről beleértve a mirigyek anyagcseréjét és a perifériás anyagcserét is. Az egyes metabolitok szintjében és egymáshoz viszonyított arányában bekövetkezett változások ráirányítják a figyelmet az adott enzimek és szteroid csoportok szerepére, így segítséget nyújthatnak az egészségestől eltérő állapotok felismerésében, kezelésében.

Intézetünkben a 90-es évek végén indult egy projekt, mely a menopauza után lévő **emlőrákos nők** vizeletszteroid-profiljának a jellegzetességeit tanulmányozta *(Juricskay és mtsai, 1997)*. Vizsgálataink célja a projekt kiegészítéseként, a metabolizmus jellegzetességeinek a feltárása volt a menopauza előtt álló emlőrákos nőknél, ill. olyan betegeknél, akinél a rák a női szervezetben bekövetkező hormonális változás átmenti időszakában, a perimenopauzában alakult ki. A menopauza körüli időszakban kialakuló emlőrákkal kapcsolatosan nem találtunk szteroidokra vonatkozó adatokat a szakirodalomban.

Eredményeink szerint, eltérő változásokat tapasztaltunk a menopauza különböző szakaszaiban lévő emlőrákos nőknél. A különböző menopauzás stádiumban lévő betegeknél a több androgén metabolit szintjében igazolódott szignifikáns csökkenés megerősíti azt, hogy az androgének szerepet játszanak az emlőrákos folyamatban, nemcsak a premenopauzában, hanem a menopauza körül is. A menopauza előtt megbetegedő emlőrákos nőknél tapasztalt eltérések a tesztoszteron és androszténdion, a perimenopauzás emlőrákos nőknél pedig a fő mellékvese androgén DHEA metabolizmus változását jelzik. Azonban egyértelmű következtetéseket nehéz lenne levonni, hisz a DHEA mennyisége, ill. a mellékvese androgén termelést jellemző összeg nem változott szignifikánsan. Egyes szövettenyészeteken végzett vizsgálatok szerint az androgének magas ösztrogén szint mellett ösztrogén ellenes hatást fejthetnek ki *(Boccuzzi és mtsai, 1994; Boccuzzi és mtsai, 1996)*, lehetséges, hogy a relatíve magas

ösztrogén szinttel rendelkező premenopauzás nőknél hiányuk megnövelheti a rák kialakulásának kockázatát?

Lee és mtsai (1999) eredményeivel ellentétben nem tapasztaltunk változást az androgén-kortikoszteroid egyensúlyban egyik menopauzás szakaszban sem a kontroll értékekhez képest az emlőrákos betegeknél. Több kortizol metabolit szintjében igazolódott azonban csökkenés a premenopauzás emlőrákos nőknél.

Lényeges különbségre mutat rá tehát az egyedül a premenopauzában tapasztalt kortizol metabolit szintek csökkenése, és csak a posztmenopauzában tapasztalt progeszteron metabolit, a PD csökkenése, ráirányítva a figyelmet a glükokortikoidok ill., a progeszteron eltérő szerepére a menopauza különböző szakaszaiban kialakuló emlőrákos folyamatokban.

Csontritkulásos nők vizeletszteroid-profiljainak elemzésében hangsúlyt kapott, hogy az androgének szintjének alakulása a menopauza után kialakuló betegség esetében. A szakirodalomból ismert szérumból és plazmából történő mérések alapján *(Függelék, 3.2 táblázat)* azt vártuk, hogy az androgén metabolitok szintje alacsonyabb lesz a kontroll értékekhez képest. Az általunk tapasztalt jelentősen csökkent androgén metabolit szintek megerősítik annak a lehetőségét, hogy a női nemi hormonok mellett az androgének is szerepet játszhatnak a csontvesztés folyamatában a menopauza után. Irodalmi adatok szerint az androgének pozitív hatást fejtenek ki a csontsűrűségre (*Függelék 3.2 táblázat*). Bizonyos feltételezések szerint az androgének csontvesztést akadályozó hatásának szerepe a menopauza utáni ösztrogénhiányos állapotban megnő (*Tok és mtsai, 2004*). Hatásukat kifejthetik ösztrogénné alakulva, illetve közvetlenül, androgén receptorokon keresztül. Szérum-, ill. vizelet ösztrogén értékek nem álltak a rendelkezésünkre, így nem kaptunk információt arról, hogy történt-e változás a csontritkulásos betegek ösztrogén szintjében a kontroll posztmenopauzás nőkéhez képest, ill. van-e összefüggés az androgének és ösztrogének szintek alakulása között a posztmenopauzás csontritkulásban.

A menopauza után kialakuló csontritkulás kezelésére többféle lehetőség létezik. Az optimális eredmény eléréséhez sok tényezőt kell figyelembe venni. Irodalmi adatok alapján a hormonpótló kezelések a leghatékonyabbak a betegség megelőzésében és kezelésében. Leggyakrabban használt ösztrogén, ill. ösztrogén-gesztagén hormonpótló terápiák mellett a sikeresen kipróbált alacsony virilizációjú szintetikus androgének *(Editorial, 2003)* is bővítik a lehetőségek körét. Az általunk tapasztalt

dehidroepiandroszteron szint csökkenés szintén felveti a lehetőséget annak, hogy megfelelő körültekintéssel ez a komponens terápiásan alkalmazható lehet a posztmenopauzás csontritkulásban, a komponens szintjének mérése, ill. csontsűrűségre gyakorolt hatásának vizsgálata bizonyos esetekben segítheti a megelőzést, hatékonyabbá teheti a kezelést.

A kortizol metabolitok csökkenése ellentmondásosnak tűnik a glükokortikoidok ismert, csontritkulást indukáló hatásával. Lehetséges, hogy ez csökkenés nem más, mint a szervezet belső kompenzációja, mely a csontritkulás irányába ható hormon csökkenéséhez vezetett?

Célunk volt a **depressziós betegek** dehidroepiandroszteron és kortizol metabolizmusának vizsgálata, továbbá lehetséges markerként használható vizelet metabolit arányok felderítése. Szakirodalmi adatok főleg a DHEA esetében néhol ellentmondásosak, nehezen összevethetőek az alkalmazott módszerek, választott korcsoportok és nemek különbözősége miatt. Ezért indokoltnak láttuk, hogy a depressziós betegeket nemek szerint elkülönítve vizsgáljuk.

Lényeges és eddigi információk alapján várt eredmény a DHEA és a kortizol szint módosulása a depressziós betegek esetében. Fontos különbségekre mutattak azonban rá az eredményeink az egyes nemek esetében. A kortizol szint emelkedése a depressziós nőknél és a DHEA szint csökkenése a depressziós férfiaknál, utalhat arra, hogy a hipotalamusz-agyalapimirigy-mellékvese tengely működése eltérően módosul a két nemnél, és a két szteroid hatása eltérőképpen érvényesül. A fentiek ellenére egyik nemnél sem mutatkozott eltérés a kortizol és a dehidroepiandroszteron egymáshoz viszonyított arányában a kontroll értékekhez képest, tehát a kortizol/DHEA arány nem bizonyult informatívnak az általunk vizsgált depressziós betegeknél.

Vizeletszteroid metabolit arányok alapján igazolódott, hogy a 11β-HSD enzimrendszer működése nemtől függetlenül módosult a depresszióban szenvedő betegeknél. Depressziós betegeknél több kortizon alakult át aktív kortizollá, mint a kontrolloknál. Raven és Taylor, (1998) szintén 24 órás vizelet szteroid metabolit arányokat alkalmazva, csak a depressziós nőknél tapasztalt emelkedett 11β-HSDI, aktivitást. Weber és mtsai (2000) plazmából végzett vizsgálatai nem mutattak ki eltérést ezen izoenzim működésében. Eredményeink felvetik, hogy hasznos lehet a depresszió hátterében álló biokémiai változások felderítéséhez a nemek elkülönített vizsgálata. Érdekes információkkal szolgálhat, annak megvizsgálása, hogy a változások mértéke és

a depresszió tüneteinek súlyossága között van-e kapcsolat. Csökkent DHEA szint megfontolandó lehetőséget vet fel az alkalmazott gyógyszeres kezelés szempontjából. Egyes tanulmányok már beszámolnak olyan estekről, amelyeknél a DHEA pótlás hatására enyhültek a depresszió tünetei (*van Broekhoven és Verkes, 2003; Wolkowitz és mtsai, 1993; Morales és mtsai, 1994;* van *Niekerk és mtsai, 2001)*.

ÖSSZEFOGLALÁS

Egyes mellékvese, vagy ivarmirigy eredetű betegségek jellegzetes szteroid-profillal rendelkeznek, ezekben az esetekben a profilok jelentős diagnosztikai értékűek, ezért a módszert széleskörűen alkalmazzák a gyermekgyógyászat, bőrgyógyászat, belgyógyászat, nőgyógyászat területén.

Az általunk vizsgált betegségeknek komplex endokrin háttere van, patofiziológiájukban a szteroid hormonok szerepe összetett. A vizsgált betegségeknél több esetben tapasztaltunk változásokat a szteroid profilban az azonos nemű és hasonló korú egészséges kontrollokéhoz képest. A 8. táblázat összefoglalva mutatja azon metabolitokat, amelyek esetében szignifikáns eltérést tapasztaltunk az egyes betegségcsoportoknál.

8. táblázat Szignifikánsan változott szteroid szintek a vizsgált betegségekben

	emlőrák		***csontritkulás***	***major depresszió***	
	pre-menopauza n=10 38-52 év	*per-i menopauza* n=10 45-51 év	n=8 49-65 év	*nők* n=11 20-53 év	*férfiak* n=8 30-63 év
An	↓	-	-	-	-
Et	-	-	↓	↓	-
5α-AD	-	↓	-	-	-
DHEA	-	-	↓	-	↓
Δ5-AD	-	-	-	-	-
11-O-An	-	-	↓	-	-
Δ5–AT	-	↓	-	-	-
THE	↓	-	↓	-	-
THA	-	-	↓	-	-
THB	-	-	-	-	↓
aTHB	-	-	↓	↑	↓
THF	↓	-	-	-	-
aTHF	↓	-	-	-	-
α–CL	-	-	-	-	-
β–CL	↓	-	↓	↓	↓
α–C	-	-	↓	-	-
F	-	-	-	↑	-
11β-HSD enzim működését jellemző index (THE + XΛ +β–CL) / (THF + aTHF + α–C	-	-	-	↓	↓

Fontosabb eredményeink:

-Rámutattunk, hogy a menopauza különböző szakaszaiban megbetegedett emlőrákos nőknél eltérő hormonális változások figyelhetőek meg. A pre- és perimenopauzában bizonyos androgén metabolitok szintjében igazolódott csökkenés. További lényeges eltérések a glükokortikoid, illetve a progeszteron metabolizmus különbségei az egyes szakaszokban.

-A posztmenopauzás csontritkulás esetében számos androgén metabolit szintjében igazolódott szignifikáns csökkenés, mely egyben jelezheti, hogy a menopauza utáni csontvesztésben a szexuálszteroidok csontrendszerre gyakorolt hatása nemcsak az ösztrogénekkel áll összefüggésben. A kortizol és metabolitjai esetében nem várt csökkenés látszólag ellentmondásosak azzal a ténnyel, hogy glükokortikoidok emelkedett szintje csontritkulást indukálhat.

-Felhívtuk a figyelmet arra, hogy a depressziós betegeknél bekövetkező szteroid metabolizmus változásban nemi különbségek vannak. Az eltérések magyarázata lehet, hogy a hipotalamusz-agyalapimirigy-mellékvese tengely működése eltérően módosul a két nemnél, de ennek igazolása további vizsgálatokat igényel. Igazoltuk, hogy a depressziós betegeknél a kortizol-kortizon átalakulást szabályozó 11β-HSD enzim működése nemtől függetlenül módosult, eltolódott a kortizon→kortizol átalakulás irányába.

-Depressziós férfiak és csontritkulásban szenvedő nőknél tapasztalt csökkent DHEA szintek felvetik a komponens terápiás alkalmazásának a lehetőségét.

Látható azonban, hogy az egyes metabolitok szintjében tapasztalt hasonló változások, az egyes betegségeknél különböző tünetekkel járnak, tehát a módszer alkalmas a változások detektálására, de az egyes komponensek szerepének feltárásához és pontosításához további szövetspecifikus vizsgálatok szükségesek.

HIVATKOZÁSOK JEGYZÉKE

Albanese, C.V., Civitelli, R., Tibollo, F.G., Masciangelo, R., Mango, D., 1996. Endocrine and physical determinants of bone mass in late postmenopause. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes 104, 263-270.

American Psychiatric Association, 1994. In: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th Edition ed.), American Psychiatric Association, Washington, DC.

Andrew, R. 2001. Clinical measurement of steroid metabolism. Best Practice Res 15, 1-16.

Argülles, A.E., Poggi, U.L., Saborida, C., Hoffman, C., Chekherdemian, M., Blanchard, O., 1973. Endocrine profiles and breast cancer. Lancet 1, 165-168.

Barrett-Connor, E., Silverstein, D.K., Edelstein, S.L., 1993. A prospective study of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) and bone mineral density in older men and women. Am. J. Epidemol. 137, 201-206.

Beck, A.T., Ward, C. H., Mendelson, M., Mochad, J. E., Erbaugh, J.K., 1961. Arc. Gen. Psychiatry 4, 561-571.

Binello, E., Gordon, C. M., 2003. Clinical uses and missues of dehydroepiandrosterone. Curr Opin. Pharmacol. 3, 635-641.

Boccuzzi, G., Brignardello, E. 1996. Adrenal androgen action in breast cancer. Ann. New York Acad. Sci. 784, 349-361.

Boccuzzi, G., Brignardello, E., Di Monaco, M., Gatto, V., Leonardi, L., Pizzini, A., Gallo, M., 1994. 5-en-androstene-3-β -diol inhibits the growth of MCF-7 breast cancer cells when oestrogen receptors are blocked by oestradiol. Br. J. Cancer 70, 1035-1039.

Boccuzzi, G., Di Monaco, M., Brignardello, E., Leonardi, L., Gatto, V., ., Pizzini, A., Gallo, M., 1993. Dehydroepiandrosterone antiestrogenic action through androgen receptor in MCF-7 human breast cancer cell line. Anticancer Res. 13, 2267-2272.

Bulbrook, R.D., Haywrad, J.L., Spicer, C.C., 1971. Relation between urinary androgen excretion and corticoid excretion and subsequent breast cancer. Lancet 395-398.

Cameron, E.D.H., Griffiths, K., Gleave, E.N., Stewart, H.J., Forrest, A.P.M., Campbell, H., 1970. Benign and malignant breast disease in South Wales: a study of urinary steroids. Br. Med. J. 4, 768-771.

Clark, A.F., 1986. Androgen biosynthesis, production, and transport in the normal and hyperandrogenic women. Semin. Reprod. Endocrinol. 4, 77-87.

Cooper MS, Walker EA, Bland R, Fraser WD, Hewison M, Stewart PM, 2000. Expression and functional consequences of 11ß-hydroxysteroid dehydrogenase activity in human bone. Bone 27, 375–381

Csábi, Gy. Juricsaky, S., Molnár, D. 2000. Urinary cortisol to cortisone metabolites in hypertensive obese children. J. Endocrinol. Invest. 7, 435-439.

Davison, S., L., Davis, S.R., 2003. Androgens in women. J. Steroid Biochem. 85, 363-366.

De Lorenzo, A., Lello, S., Andreoli, A., Guardianelli, F., Romanini, C., 1998. Body composition and androgen pattern in the early period of postmenopause. Gynecol. Endocrinol. 12, 171-177.

Dimitrakakis, C., Zhou, J., Bondy, C., 2002. Androgens and mammary growth and neoplasia. Fertil. Steril. 77 (4), S26-S33.

Editorial, Can DHEA used to prevent bone loss and osteoporosis. 2003. Joint Bone Spine 70, 1-2.

Ferguson, H.C., Bartram, A.C.G., Fowlie, H.C., Cathro, D.M., Birchall, K., Mitchell, F.L., 1964. A preliminary investigation of steroid excretion in depressed patients before and after electroconvulsive therapy. Acta Endocrinol. 47, 58-68.

Fonyó, G A., 1997. Az orvosi élettan tankönyve. Medicina Könyvkiadó, Bp.

Garzó, T., 1974. Biológiailag aktív anyagok gázkromatográfiás elemzésénél alkalmazott származékképző eljárások, különös tekintettel a trimetilszililezésre. Garzó Tamásné (Szerk.) Biológiailag aktív anyagok gázkromatográfiás elemzése, Dabasi Nyomda, Bp. 5-19o.

Goodyer, I.M., Herbert, J., Altham, P.M.E., Pearson, J., Secher, S.M., Shiers, H.M., 1996. Adrenal secretion during major depression in 8-to 16-year olds, I. Altered diurnal rhythms in salivary cortisol and dehydroepiandrosterone at presentation. Psychol. Med. 26, 245-256.

Goodyer, I.M., Herbert, J., Altham, P.M.E., 1998. Adrenal steroid secretion and major depression in 8-to 16-year-olds, III. Influence of cortisol/DHEA ratio at presentation on subsequent rates of disappointing life events and persistent major depression. Psychol. Med. 28, 265-273.

Hansen, C.R., Kroll, J., Mackenzie, T.B., 1982. Dehydroepiandrosterone and affective disorders. Am. J. Psychiatry 139, 386-387.

Heuser, I., Deuschile, M., Luppa, P., Schweiger, U., Standler, H., Weber, B., 1998. Increased diurnal plasma concentration of DHEA in depressed patients. J. Clin. Endocrinol. Metab. 83, 3130-3133.

Homma, K., Hasegawa, T., Masumoto, M., Takeshita, E., Watanabe, K., Chiba, H., Kurosawa, T., Takahashi, T., Matsuo, N., 2003. Reference values for urinary steroids in japanese newborn infants: gas chromatography/mass spectrometry in selected ion monitoring. Endocr. J.50 (6), 783-792.

Homoki, J., Rodens, K. and Teller, W., 1987. Infantile spasm: urinary steroid excretion during corticotropin (ACTH) treatment. In: Görög S. (Eds.) Proc. Symp. Anal. Steroids, Sopron, 473-478 o.

Honour, J.W. 1990. Steroid profile for urine reference values. Clin. Chem. 36 (8), 1528-1529.

Honour, J.W., 1997a. Steroid profiling. Ann. Clin Biochem. 34, 32-44.

Honour, J.W., Brook, C.G.D., 1997b. Clinical indications for the use of urinary steroid profiles in neonates and children. Ann. Clin Biochem. 34, 45-54

Honour, J.W., 2001. Urinary steroid profile analysis. Clin. Chim. Acta. 313, 45-50.

Jezela Stanek, A, Malunowicz, E., CIiara, E., Popowska, E., Goryluk Kozakiewic, B., Spodar, K., Czerwiecka, M., Jezuita, J., Nowaczyk M., J., Krajewska-Walasek, M., 2006. Maternal urinary steroid profiles in prenatal diagnosis of Smith-Lemli-Opitz syndrome: first patient series comparing biochemical and molecular studies. Clin. Genet. 69, 77-85.

Jung, B.H., Bai, S.W., Chung, B.C. 2004. Endogenous urinary steroids in premenopusal women with uterine leiomymas. Int. J. Gynecol. Obstet. 84 (1), 55-60.

Juricskay, S., Kecskés, L., 1985. The effect of surgical stress on the steroid metabolism of girls measured by gas chromatography. Görög, S. (Ed.) In: Advances in steroid analysis'84. Akadémiai Press, Bp. Pp. 337-346.

Juricskay, S., Szabó, I., Kett, K., 1997. Urinary steroids at time of surgery in postmenopausal women with breast cancer. Breast Cancer Res. Tr. 44, 83-89.

Juricsaky, S., Telegdy, E. 2000. Urinary steroids in women with androgenic alopecia. Klin. Biochem. 33 (2), 97-101.

Kodama, M., Kodama, T., Yoshida, M., Totania, R., Aoki, K., 1975. Hormonal status of breast cancer. II: Abnormal urinary steroid excretion. J. Natl. Cancer Inst. 54, 1275-1282.

Krozowsky, Z., Li, K.X.Z., Koyama, K., Smith, R.E., Obeyesekere, V.R., Stein-Oakley, A., Sasano, H., Coulter, C., Cole, T., Sheppard, K.E., 1999. The type I and type II 11β-hydroxisteroid dehydrogenase enzymes. J. Steroid Biochem. 69, 391-401.

Kumaoka, S., Sakauchi, N., Abe, O., Kusama, M., Takata, O., 1968. Urinary 17-ketosteroid excretion of women with advanced breast cancer. J Clin. Endocr. 28, 667-672.

Labrie, F., 1991. Intracrinology. Molecular and Cellular Endocrinology 78, C113-118.

Lee, S.H., Nam, S.Y., Chung, B.C. 1998. Altered profile of endogenous steroids in the urine of patinents with prolactinoma. Clin. Biochem. 31 (7), 529-535.

Lee, S.,H., Kim, S.O., Kwon, S.W., Chung, B.C., 1999. Androgen imbalance in premenopausal women with benign breast disease and breast cancer. Clin. Biochem. 32 (5), 375-380.

Leonard, C., Speling, M.C., Heimer, W.L., 1993. Androgen biology as a basis for the diagnosis and treatment of androgenic disorders in women. J. Am. Acad. Dermatol. 28, 669-683.

Liao, D., Dickson, R.B., 2002. Roles of androgens in the development, growth, and carcinogenesis of the mammary gland. J. Steroid Biochem. 80, 175-189.

Michael, A., Jenaway, A., Paykel, E. S., Herbert, J., 2000. Altered salivary dehydroepiandrosterone levels in major depression in adults. Biol. Psychiatry 48 10, 989-995

Miklós, S., 1995. Dehydroepiandrsterone sulphate in the diagnosis of osteoporosis. Acta Biomad. Ateneo Parmense 66, 139-146.

Morales, A. J., Nolan, J. J., Nelson, J. C., Yen, S. S. C., 1994. Effects of a replacement dose of dehydroepiandrosterone in men and women of advancing age. J. Clin. Endocrinol. Metabol. 78, 1360-1367.

Natawa, H., Yanase, T., Goto, K., Okabe, T., Ashida, K., 2002. Mechanism of action of anti-aging DHEA-S and the replacement of DHEA-S. Mech. Ageing Dev. 123, 1101-1106.

Osran, H., Reist, C., Chen, C.-C., Lifrak, E.T., Chicz-DeMet, A., Parker, L.N. 1993. Adrenal androgens and cortisol in major depression. Am J Psychiatry 150, 806-809.

Pasqualini, J.R., 1993. Role of androgens in breast cancer. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 45, 167-172.

Raven, P.W., Checkley, S.A., Taylor, N.F., 1995. Extra adrenal effects of metrapone include inhibition of 11-oxoreductase activity of 11β-hydroxysteroid dehydrogenase: a model for 11-HSD I deficiency. Clin. Endocrinol. 43, 637-644.

Raven, P.W., Taylor, N.F., 1998. 11β-HSD and 17β-HSD as biological markers of depression: sex differences and correlation with symptom severity. Endocr. Res. 24, 659-662.

Remer, T., Boye, K.R., Hartmann, M.F., Wudy, S.A., 2005. Urinary markers of adrenarch: reference values in healthy subjects aged 3-18 years. J. Clin. Endocr. Metab.90, (4) 2015-2021.

Rodin, A., Thakkar, H., Taylor, N., Clayton, R., 1994. Hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. Evidence of dysregulation of 11β-hydroxisteroid dehydrogenase. New Engl. J. Med. 330 (7), 460-465.

Schlaghecke, R.Beuscher, H., Kley, K. Juli, E. 1991. Age-related changes in 11β-hydroxy-androstenedione concentration in normal and osteoporotic women. J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 40, 731-733.

Schmidt, P.J., Murphy, J. H.,Haq, N., Danaceau, M. A., St Clair, L., 2002. Basal plasma hormone levels in depressed perimenopausal women. Psychoneuroendocrinol. 27 (8)907-920.

Secreto, G., Zumoff, B. 1994. Abnormal production of adrenal androgen in women with breast cancer. Anticancer Res. 14, 2113-2117.

Shackleton, C.H.L., Honour, J.W., 1976. Simultaneous estimation of urinary steroids by semi-automated gas chromatography. Investigation of neo-natal infants and children with abnormal steroid synthesis. Clin. Chim. Acta. 69, 267-283.

Shackleton, C.H.L., Whitney, J.O., 1980a. Use of Sep-pak ®cartridges for urinary steroid extraction: evaluation of the method for use prior to gas chromatographic analysis. Clin. Chim. Acta. 107, 231-243.

Shackleton, C.H.L., Taylor, N.F., Honour, J.W., 1980b. An Atlas of Gas Chromatographic Profiles Neutral Urinary steroids in Health and Disease, Packard-Becker, Delft, The Netherlands

Shackleton, C.H.L., Honour, J.W., Dillon, M.J., Chantler, C., Jones, R.W.A., 1980c. Hypertension in a four-year-old child: gas chromatographic and mass spectrometric evidence for deficient haptic metabolism of steroids. J. Clin. Endocr.. Metab. 50 (4) 786-792.

Shackleton, C.H.L., 1986. Review. Profiling steroid hormones and urinary steroids. J. Chromatogr. 379, 91-156.

Shackleton, C.H.L., Merdinck, J., Lawson, A.M., 1990. Steroid and bile acid analyses. McEwen, C.N., Larsen, B.S., (Eds) In: Mass spectrometry of biological materials. 297-375 o.

Shamim, W., Yousufuddin, M., Bakhai, A., Coats, A.J.S., Honour, J.W., 2000. Gender differences in the urinary excretion rates of cortisol and androgen metabolites. Ann. Clin. Biochem. 37, 770-774.

Sólyom, J., Fehér, T. 1986. Az egyes 17-ketoszteroidok ürítése kezeletlen congenitális adrenális hyperplasiában az életkor függvényében. Gyermekgyógyászat 37, 301-305.

Sólyom, J., Homoki, J., Teller, W.M. 1987. Profiling urinary steroids by capillary gas-chromatogrpahy in children with adrenocortical disorders. In: Görög S. (Eds.) Proc. Symp. Anal. Steroids, Sopron, 473-478 o.

Sólyom, J., Wachter, U., Homoki, J., Teller, W. 1990. Vizelet-szteroidok újszülöttkorban. Gyermek-gyógyászat 41. 293-301.

Sólyom, J. 1998. Gyermekgyógyászati diagnosztika és hormonvizsgálatok. Medicina Könyvkiadó, Bp.

Sólyom, J., 2001. Congenitalis adrenalis hyperplasia. Leövey András (Szerk.) A klinikai endokrinológia és anyagcsere-betegségek kézikönyve, Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 419-429 o.

Spector, T.D., Thompson, P.W., Perry, L.A., McGarrigle, H.H., Edwards, A.C., 1991. The realtionship between sex steroids and bone mineral content in women soon after menopause. Clin. Endocrinol. 34, 37-41.

Steckler, T., Holsboer, F., Reul, J.M.H.M., 1999. Glucocorticoids and depression. Best practice Res. Clin. Endocrinol. Metabol. 13 (4) 597-614.

Szadoczky, E., Rihmer, Z., Arato, M., 1986. Influence of hospital admission on DST results in patients with panic disorders. Am. J. Psychiatry. 143 (10), 1315-1316.

Szilágyi, A., Homoki, J., Bellyei, Sz., Szabó, I. 2000. Hormonal and clinical effects of chronic gonadotropin-releasing hormone agonist treatmet in policistic ovary syndome. Gynecol. Endocrinol. 14, 337-341.

Takayanagi, R., Goto, K., Suzuki, S., Tanaka,S., Shimoda, S., Nawata, H., 2002. Dehydroepiandrosterone (DHEA) as a possible source for estrogen formation in bone cells:correlation between bone mineral density and serum DHEA-sulfate concentration in postmenopausal women, and the presence of aromatase to be enhanced by 1, 25 dihydroxivitamin D in human osteoblast. Mech. Ageing. Dev. 123, 1107-1114.

Takebayashi, M., Kagaya, A., Uchitomi, Y., Kugaya, A., Muraoka, M., Yokota, N., et al., 1998. Plasma dehydroepiandrosteronesulfate in unipolar major depression. J. Neural. Transm. 105, 537-542.

Tok, E.C., Ertunc, D., Oz, U., Camdeviren, H., Ozdemir, G., Dilek, S., 2004. The effect of circulating androgens on bone mineral density in postmenopausal women. Maturitas 48, 235-2452.

Tollefson, G.D., Haus, E., Garvey, M.J., Evans, M., Tauson, V.B., 1990. 24 hour urinary dehydroepiandrosterone sulfate in unipolar depression treated with cognitive and/or pharmacotherapy. Ann. Clin. Psychiatry 2, 39-45.

Van Broekhoven, F., Verkes, R.J., 2003. Neurosteroids in depression: a review. Psychopharmacology (Berl) 165, 97-110.

van Niekerk, J.K., Huppert, F. A., Herbert, J. 2001. Salivary cortisol and DHEA association with measures of cognition and well being-in normal older men and effects of three months of DHEA supplementation. Psyhoneuroendocrinol., 26 6, 591-612.

Weber, B., Lewicka, S., Deuschle, M., Colla, M., Vecsei, P.,Heuser, I., 2000. Increased diurnal plasma concentrations of cortisone in depressed patients. J. Clin. Endocrinol. Metab. 85 3, 1133-1136.

Weykamp, C. W., Penders, T.J., Schmidt, N.A., Borburgh, A.J., van de Calseyde, J.F., Wolthers, B.J. 1989. Steroid profile for urine: Reference Values. Clin. Chem. 35 (12) 2281-2284.

Williams, J.B.W., 1978. A structured interview guide for Hamilton Depression Rating Scale. Arc. Gen. Psycgiatry 45, 742-747.

Wolkowitz, O.M., Reus, V.I., Roberts, E., Manfredi, F., Chan, T., Raum, W.J., et al., 1997. Dehydroepiandrosterone(DHEA) treatment of depression. Biol. Psychiatry. 41, 311-318.

Wolthers.B:G:, Kraan, G.P.B. 1999. Clinical applications of gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry of steroids. J. Chromatogr. 843, 247-274.

Wudy, S:A., Hartman, M. F., 2004. Gas chromatography-mass spectrometry profiling of steroids in times of molecular biology. Horm. Metab. Res. 36, 415-422.

Young, A.H., Gallagher, P., Poter, R.J., 2002. Elevation of the cortisol-dehydroepiandrosterone ratio in drug free depressed patients. Am. J. Psychiatry 159 7, 1237-1239.

Zofková, I., Bahbouh, R., Hill, M., 2000. The pathophysiological implications of circulating androgens on bone mineral density in a normal female population. Steroids 65, 857-861.

Internetes források jegyzéke

www.skzl-mca.nl Holland külső minőségbiztosítási program

AAL: www.aalrl.com AAL Reference Laboratories, INC.

www.ogyei.hu Országos Gyermekegészségügyi Intézet „A szülés utáni depressziómegelőzési stratégiái" továbbképzés vázlatok

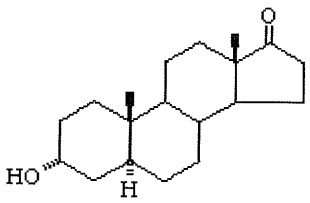
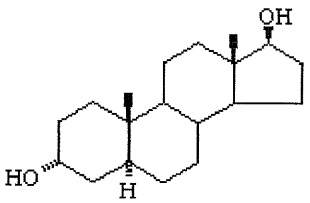
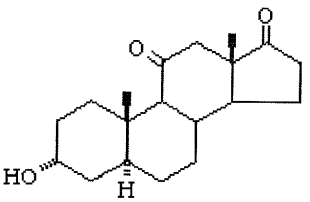
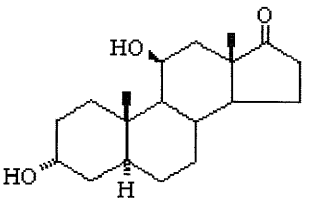
FÜGGELÉK

1. táblázat Szteroid profilok az utóbbi évek kutatásaiban

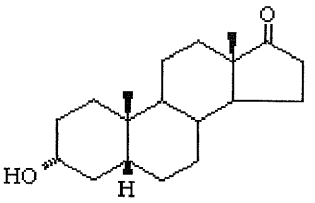
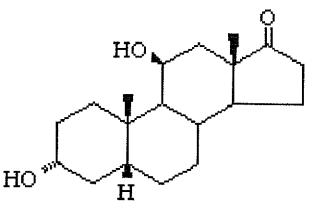
Betegségek	*Hivatkozások*
átfogó tanulmányok	*Shackleton, és mtsai, 1986* *Sólyom és Fehér, 1986* *Sólyom és mtsai, 1987* *Honour, és mtsai, 1997b; 2001* *Wolthers, és mtsai, 1999*
adrenarch	*Remer és mtsai, 2005*
policisztikus petefészek szindróma (policystás ovarium) (PCOS)	*Rodin és mtsai 1994* *Szilágyi, és mtsai 2000*
magas vérnyomás (hypertonia)	*Shackleton, és mtsai 1980c* *Csábi, és mtsai, 2000*
férfias típusú kopaszodás (androgen alopecia)	*Juricskay és Telegdy, 2000*
depresszió	*Raven és mtsai, 1995* *Raven és Taylor, 1998*
emlőrák	*Juricskay és mtsai, 1997* *Lee és mtsai, 1999*
méh simaizom daganata (leiomyoma)	*Jung és mtsai, 2004*
prolaktint termelő hipofízis daganat (prolactinoma)	*Lee és mtsai, 1998*
Smith-Lemli-Opitz szindróma	*Jezela-Stanek és mtsai, 2006*

2. táblázat A mért vizeletszteroid metabolitok szerkezeti és összegképlete

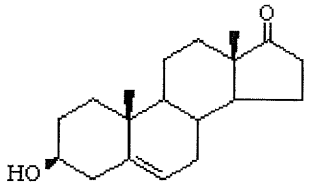
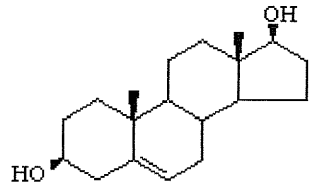
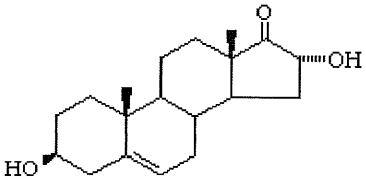
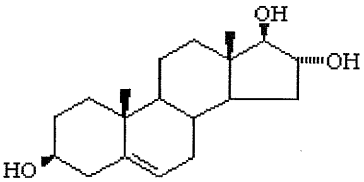
2.1

5α-androsztán	
5α-androsztán-3α-ol-17-on **androszteron** An $C_{19}H_{30}O_2$	
5α-androsztán-3α, 17β-diol **androsztándiol** 5α-AD $C_{19}H_{32}O_2$	
5α-androsztán-3α-ol-11, 17-dion **11-keto androszteron** 11-O-An $C_{19}H_{28}O_3$	
5α-androsztán-3α, 11β-diol-17-on **11β-hidroxi-androszteron** 11-OH-An $C_{19}H_{30}O_3$	

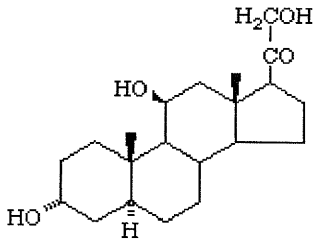
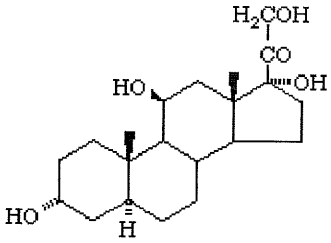
2.2

5β-androsztán	
5β-androsztán-3α-ol-17-on **etiokolanolon** Et $C_{19}H_{30}O_2$	
5β-androsztán-3α, 11β-diol-17-on **11β-hidroxi-etiokolanolon** 11-OH-Et $C_{19}H_{30}O_3$	

2.3

5-androsztén	
5-androsztén-3β-ol-17-on **dehidroepiandroszteron** DHEA $C_{19}H_{28}O_2$	
5-androsztén-3β,17β-diol **androszténdiol** Δ5-AD $C_{19}H_{30}O_2$	
5-androsztén-3β,16α-diol-17-on **16α-hidroxi-DHEA** 16-OH-DHEA $C_{19}H_{28}O_3$	
5-androsztén-3β, 16α, 17β-triol **androszténtriol** Δ5-AT $C_{19}H_{30}O_3$	

2.4

5α-pregnán	
5α-pregnán-3α, 11β, 21-triol-20-on **allo-tetrahidrokortikoszteron** aTHB $C_{21}H_{34}O_4$	
5α-pregnán-3α, 11β, 17α, 21-tetrol-20-on **allo-tetrahidrokortizol** aTHF $C_{21}H_{34}O_5$	

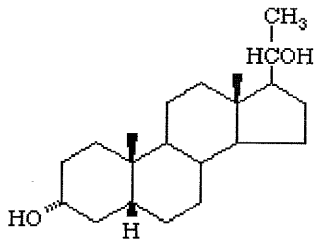
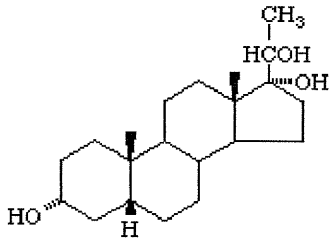
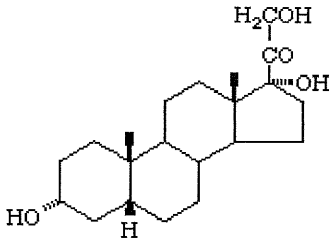
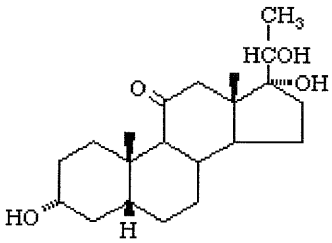
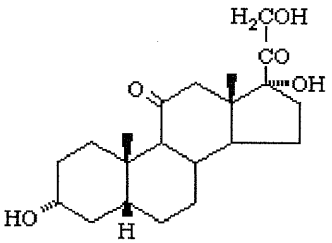
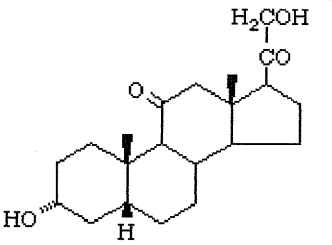
2.5

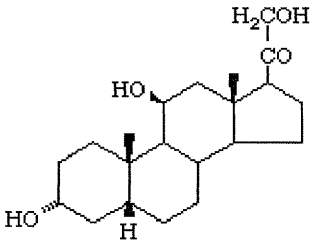
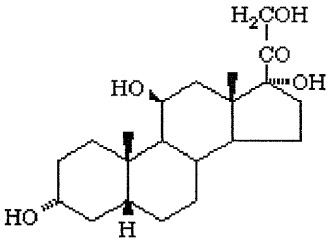
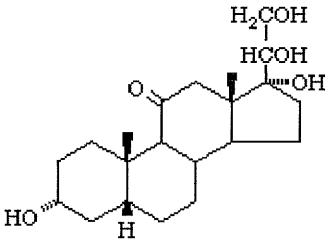
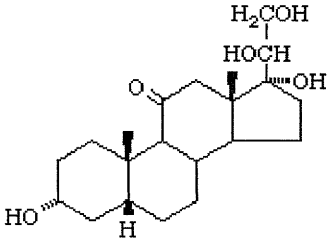
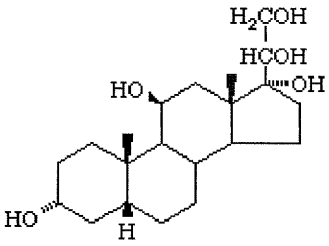
4-pregnén	
4-pregnén-11β, 17α, 21-triol-3, 20-dion **kortizol** F $C_{21}H_{30}O_5$	
4-pregnén-6β, 11β, 17α, 21-tetrol-3, 20-dion **6β-hidroxikortizol** 6β-OH-F $C_{21}H_{30}O_6$	
4-pregnén-11β, 17α, 20α, 21-tetrol-3, 20-dion **20α-hidroxikortizol** 20α-OH-F $C_{21}H_{32}O_5$	

2.6

5-pregnén	
5-pregnén-3β,20α-diol **pregnéndiol** Δ5-PD $C_{21}H_{34}O_2$	
5-pregnén-3β, 17α, 20α-triol **pregnéntriol** Δ5-PT $C_{21}H_{34}O_3$	

2.7

5β-pregnán	
5β-pregnán-3α,20α-diol **pregnándiol** PD $C_{21}H_{36}O_2$	
5β-pregnán-3α,17α,20α-triol **pregnántriol** PT $C_{21}H_{36}O_3$	
5β-pregnán-3α, 17α 21-triol-20-on **tetrahidro-11-deoxikortizol** THS $C_{21}H_{34}O_4$	
5β-pregnán-3α, 17α, 20α-triol-11-on **11-keto-pregnántriol** 11-O-PT $C_{21}H_{34}O_4$	
5β-pregnán-3α, 17α, 21-triol-11, 20-dion **tetrahidrokortizon** THE $C_{21}H_{32}O_5$	
5β-pregnán-3α, 21-diol-11, 20-dion **tetrahidro-11-dehidrokortikoszteron** THA $C_{21}H_{32}O_4$	

5β-pregnán-3α, 11β, 21-triol-20-on **tetrahidrokortikoszteron** THB $C_{21}H_{34}O_4$	
5β-pregnán-3α, 11β, 17α, 21-tetrol-20-on **tetrahidrokortizol** THF $C_{21}H_{34}O_5$	
5β-pregnán-3α, 17α, 20α, 21-tetrol-11-on **α-kortolon** α-CL $C_{21}H_{34}O_5$	
5β-pregnán-3α, 17α, 20β, 21-tetrol-11-on **β-kortolon** β-CL $C_{21}H_{34}O_5$	
5β-pregnán-3α, 11β, 17α, 20α, 21-pentol-11-on **α-kortol** α-C $C_{21}H_{36}O_5$	

3. táblázat Szteroid mérések eredményei (szakirodalmi adatok)

3.1. Vizeletszteroid mérések emlőrákos betegeknél

mért metabolit	*változás a mért metabolit szintjében a normál értékekhez képest*	*vizsgált személyek, egyéb megjegyzések*	*referenciák*
11-OH-An, 11-OH-Et	**csökkenés**	premenopauzában lévő emlőrákos nők	*Kodama és mtsai, 1975*
An,Et DHEA			*Kumaoka és mtsai, 1968*
11-deoxi-17 ketoszteroidok (An, Et, DHEA, Δ5-AD, 16-OH-DHEA)			*Argülles és mtsai, 1973* *Cameron és mtsai, 1970*
An, Et, DHEA			
An, Et		egészséges nők, náluk később emlőrák alakult ki	*Bulbrook és mtsai, 1971*
DHEA és metabolitjai		nőknél,akik később rákosok lettek nők rákkal nőknél, akiknél kiújult	*Secreto és mtsai, 1994* *Bocuzzi és Brignardello, 1996* *Passqualini, 1993*

3.2 táblázat *Szteroid mérések posztmenopauzában lévő csontritkulásos nőknél*

mért metabolit	*mérés helye*	*eredmények*	*referenciák*
DHEA	szérum,	**pozitív korreláció a szteroid szintje és a csontsűrűség között**	*Zofková és mtsai, 2000*
DHEAS			*Zofková és mtsai, 2000*
			Natawa és mtsai, 2002 *Spector és mtsai, 1991* *Takayanagi és mtsai, 2002* *Tok és mtsai, 2004*
szabad tesztoszteron	szérum		*Tok és mtsai, 2004*
			Zofková és mtsai, 2000
androszténdion	szérum		*De Lorenzo és mtsai, 1998*
			Zofková és mtsai, 2000
DHEAS	plazma	**nincs szignifikáns kapcsolat a szteroid szintje és a csontsűrűség között**	*Barret-Connor és mtsai, 1993*
androszténdion	szérum		*Albanese és mtsai, 1996*
DHEAS	szérum	**a szteroid szintje szignifikánsan alacsonyabb volt a csontritkulásos betegeknél**	*Miklós, 1995*
11β-hidoxi-androszténdion	szérum		*Schlaghecke és mtsai, 1991*

3.3 táblázat Szteroid mérések depressziós betegeknél

mért metabolit vizsgált arány	*mérés helye*	*változás a mért metabolit szintjében a normál értékekhez képest*	*depressziós betegek neme, életkora, egyéb megjegyzések*	*referenciák*
DHEAS	vizelet (24 órás)	**emelkedés**	mindkét nem (18-60 év),	*Tollefson és mtsai, 1990*
	plazma		mindkét nem (19-45 év)	*Takebayashi és mtsai, 1998*
DHEA	plazma		mindkét nem	*Hansen és mtsai, 1982*
			mindkét nem (22-77 év) napi átlagértékek	*Heuser és mtsai, 1998*
F /DHEA arány a depresszió markere	nyál			*Young, és mtsai, 2002*
			férfiak (reggel és este mért értékek átlaga)	*Van Niekerk és mtsai, 2001*
			mindkét nem (reggel és, este mért érétkek külön kezelve	*Michael és mtsai, 2000*
			Lányoknál, és fiúknál e lőrejelezte a később kialakuló depressziót (este mért értékek)	*Goodyer és mtsai, 1998*
DHEAS	plazma	**nincs változás**		*Reus 1993*
	nyál		lányoknál, és fiúknál (8-16 év)	*Goodyer, és mtsai 1996*
DHEAS	plazma	**csökkenés**	perimenopauzában lévő nők (reggeli érték)	*Scmidt és mtsai, 2002*
	vizelet (24 órás)		Nők és férfiak	*Ferguson és mstai, 1964*
DHEA	plazma			*Osran és mtsai, 1993*
			perimenopauzában lévő nők (reggeli érték)	*Scmidt és mtsai, 2002*
	nyál		lányoknál, és fiúknál (8-16 év)	*Goodyer, és mtsai 1996*
			mindkét nem (20-64)év (reggel és este mért értékek külön kezelve)	*Michael és mtsai, 2000*

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Cikkek:

1. **V. Poór**, S. Juricskay, I. Szabó, K. Kett, Urinary steroids in premenopausal women with breast cancer at the time of surgery, *Chromatographia* 2002; 56: 45-148
   IF 1,23

2. **V. Poór**, S. Juricskay, Á. Gáti, P. Osváth, T. Tényi, Urinary steroid metabolites and 11β-hydroxysteroid dehyrogenase activity patients with unipolar recurrent major depression *(URMD), Journal of Affective Disorders* 2004; 81: 55-59
   IF 2,703

3. **V. Poór**, A. Bufa , I. Bíró, F. Wilhelm, S. Juricskay, Examination of sex steroids in the urines of postmenopausal women with osteoporosis, *Chromatographia* 2004; 59: 1-4
   IF 1,145

4. **V. Poór**, A. Bufa, I. Bíró, Szabó I., F. Wilhelm, I. Juricskay és P. Gőcze, Androgén hatású sexuálszteroidok csökkenése szerepet játszik a posztmenopauzában kialakult fokozott csontvesztésben, Oszteológiai Közlemények 2004; 3: 155-157

5. **V. Poór**, A. Bufa, I. Bíró, E. Telegdy, T. Tényi, Á. Gáti, P. Osváth, F. Wilhelm, S. Juricskay, Urinary steroid measurement in some endocrine and psychiatric disease, *Current Medicinal Chemistry*, 2005, 12: 763-771
   IF 4,382

Poszter, absztraktok:

1. **V. Poór**, S. Juricskay, T, Tényi, Á. Gáti, P. Osváth, Changes in the steroid metabolism in patients with major depression, 14th, European College of Neuropsychopharmacology, Isztambul, Turkey, 2001, *The journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 2001; 11(3): S343,

2. **V. Poór**, S. Juricskay, E. Telegdy, Urinary steroids in men with male-pattern alopecia, 6th Symposium on Instrumental Analysis, Graz, Austria, 2001

3. **V. Poór**, S. Juricskay, I. Szabó, K. Kett, Urinary steroids in premenopausal women with breast cancer at the time of surgery, Balaton Symposium on High-Performance separation methods, Siófok, Hungary, 2001

4. **V. Poór**, S. Juricskay, The role of steroid metabolism in women with breast cancer in different menopausal status, Comprehensive study, 6th International Symposium on Predictive Oncology and Intervention Strategies, Pasteur Institute, Paris, France, 2002

5. E. Telegdy, **V. Poór**, S, Juricskay, B. Farkas, Examination of urinary steroid metabolites in men with male-pattern alopecia, EHRS 2002-Hair workshop, Brussels, 2002

6. A. Bufa, I. Bíró, **V. Poór**, F. Wilhelm, S. Juricskay, Examination of Sex Steroids in the Urines of Postmenopausal Women with Osteoporosis, 5th Balaton Symposium on High-Performance separation methods, Siófok, Hungary, 2003

7. I. Bíró, **V. Poór**, A. Bufa, Á, Gáti, I. Fenyvesi, S. Juricskay, T. Tényi, Urinary steroids in young women with eating disorders, 7th International Symposium on Instrumental Analysis, Pécs, Hungary, 2004

8. **V. Poór**, S. Juricskay, A. Bufa, I. Bíró, E. Telegdy, T. Tényi, Á. Gáti, P. Osváth, F. Wilhelm, Urinary steroid measurements in some endocrine and psychiatric

diseases, Advances in Chromatography and Electrophoresis-Conferentia Chemometria, Budapest, Hungary, 2003

9. **V. Poór**, A. Bufa, I. Bíró, I. Szabó, F. Wilhelm, I. Juricskay, P. Gőcze, A postmenopausális osteoporosis egyik oki tényezője az androgén hatású sexuálszteroidok csökkenése lehet, Magyar Szülészeti és Nőgyógyászati Endokrinológiai Társaság (MSzNET), Harkány, 2004

10. A. Bufa, I. Bíró, F. Wilhelm, **V. Poór**, F. Kilár, P. Gőcze, Vizelet szteroid profil vizsgálatok jelentősége a posztmenopauzában. Magyar Menopauza társaság VI. Országos Kongresszusa, Siófok, 2005

11. S. Fekete, P. Osvath, V. Vörös and **V. Poor**, Urinary steroid metaboilites in patients with violent suicidal and nonsuicidal depressive disorders. European Psychiatry, In Press, Corrected Proof, 2007

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik nélkül ez a munka nem jöhetett volna létre.

Mindenek előtt köszönettel tartozom témavezetőmnek, dr. Juricskay Istvánnénak, aki 2000 óta vezette és segítette a munkámat. A szakmai segítség mellett emberileg is támogatott, bíztatott, és újabb lendületet adott, amikor elakadtam.

Köszönöm dr. Kilár Ferencnek, a PTE ÁOK Bioanalitikai Intézet igazgatójának, hogy lehetővé tette, hogy az Intézetben dolgozhassak, és értékes tanácsokkal segítette a munkámat.

Köszönöm a PTE ÁOK Klinikáin dolgozó orvosoknak a kutatási együttműködésben nyújtott hasznos szakmai segítségét.

Köszönettel tartozom Golobné Wassenszky Ritának, aki bevezetett a precíz laboratóriumi munkába, és rengeteg segítséget nyújtott a minták feldolgozása során.

Köszönöm dr. Aradi Ferencnek az elgondolkodtató és bíztató beszélgetéseket.

És nem utolsó sorban köszönöm a barátaimnak, a családomnak és a páromnak, hogy meghallgattak, elviseltek, segítettek és támogattak.