

**SZTEROIDOK IZOLÁLÁSA, MENNYISÉGI
MEGHATÁROZÁSA SZÖVETEKBŐL, ÉS ALKALMAZÁSA A
SZTEROIDHORMON-ANYAGCSERE VIZSGÁLATÁRA**

PhD. tézisek

(Elfogadásra benyújtva a József Attila Tudományegyetem
Természettudományi Karának Doktori Tanácsához.)

Készítette:

Dr. SZÉCSI MIHÁLY
okleveles vegyész

a

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem
Endokrinológiai Önálló Osztály és Kutató Laboratóriumában.
Szeged, 1997.

TARTALOM

	Oldal
I. BEVEZETÉS.....	1
Szöveti szteroidok meghatározásának célja, módszertani problémái.....	1
II. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK (tézisek).....	3
1. Szöveti szteroidok meghatározására kifejlesztett új analitikai módszerek.....	3
2. Patkány here- és prosztataszövetek androgén szteroidkoncentrációinak meghatározása, enziminhibitorok in vivo hatásának vizsgálata..	8
3. Androgén szteroidok vizsgálata egészséges és benignus hiperpláziás (BPH-s) emberi prosztatában.....	15
4. Hasnyálmirigy daganat szteroidkoncentrációinak meghatározása.....	20
5. Petefészek daganat szteroidkoncentrációinak meghatározása.....	22
6. Progeszteron kimutatása amerikai csótány rovarban.....	24
III. ÖSSZEFOGLALÁS.....	26
Szteroid elnevezések és jelölések jegyzéke.....	27
Jelölések és rövidítések jegyzéke.....	28
IV. IRODALOM.....	29
A tézisek témájában megjelent publikációk.....	29
MELLÉKLET	
A tézisek témájában megjelent publikációk másolatai	

I. BEVEZETÉS

Szöveti szteroidok meghatározásának célja, módszertani problémái.

A szteroidhormonok élettani hatása szöveti koncentrációjuk függvénye, s azokat a szteroid-metabolizmusban fellépő változások érzékenyen befolyásolják. A szteroidhormonokat termelő endokrin mirigyek, valamint a hormonok célszervei, szövetei fiziológiájának és pathofiziológiájának tanulmányozása a szöveti szteroidok specifikus és precíz meghatározását igényli.

A szteroidhormonok rendkívül hasonló molekulaszerkezettel, és ezáltal csaknem azonos kémiai, illetve immunkémiai tulajdonságokkal rendelkeznek, jóllehet biológiai hatásukban jelentősen különbözhetnek. Azonosításuk, specifikus mérésük ezért nem könnyű feladat. Szövetekmintákból végzett mérésüknél további nehézséget jelent, hogy ott koncentrációjuk igen kicsiny, valamint a szennyező anyagoktól való megtisztításuk, izolálásuk különleges elválasztási módszereket igényel.

Célkitűzésünk a szöveti szteroidok meghatározására szolgáló, a biológiai következtetések levonására megfelelően szelektív és érzékeny, jól reprodukálható

analitikai módszer kifejlesztése volt. E módszerrel egészséges, hiperpláziás és daganatos szövetek, szervek szteroidanyagcseréjét tanulmányoztuk. A prosztatata androgénháztartásának vizsgálata során in vivo patkánykísérleteket végeztünk. A szöveti szteroidok meghatározására szolgáló módszerünket rovarok szteroidháztartásának vizsgálatára is felhasználtuk.

II. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK (tézisek)

1. Szöveti szteroidok meghatározására kifejlesztett új analitikai módszerek

1.1. Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) módszerek szöveti szteroidhormonok izolálására és szimultán meghatározására [1,2].

Szöveti szteroidok koncentrációjának mérésére az immunoassay, radioimmunoassay módszerek önmagukban nem alkalmasak. A mennyiségi meghatározásra ebben az esetben is kiválóan alkalmas radioimmunoassay-eket ezért, extrakciós és kromatográfiás elválasztási és izolálási módszerekkel kell kombinálni.

A szövetminták szteroidtartalmának kivonását a leghatékonyabbnak bizonyult oldószerrel, etilacetáttal végezzük, amely a közepesen poláris jellege miatt egyaránt hatásosan képes átjutni a szövetek hidrofil és hidrofób struktúráin is, és benne a szteroidok is igen jól oldódnak. Az ultrahangos homogenizálással elősegített extrakciót követően a kinyert szteroidokat, a főként lipoprotein szennyezőktől, a HPLC adszorbenshez hasonló típusú C₁₈-szilikagél töltetű oszlopon, metanol-víz eluensek segítségével tisztítjuk.

A szteroidok HPLC-s elválasztására egyszerűsége és gazdaságossága miatt a fordított fázisú kromatográfiát

alkalmazzuk. Mivel a mérendő szteroidok molekulaszerkezete (tér szerkezete, funkcióscsoportjai) igen hasonló, ezért kémiai viselkedésük, kromatográfiás tulajdonságaik is csaknem megegyeznek. A fordított fázisú adszorbensek közül ezért szétválasztásukra a polaritásbeli különbségeket legjobban differenciáló, hosszú szénláncú, C_{18} -szilikagél adszorbenst alkalmazunk. Az eluens szerves komponenseként metanolt használunk, amely az eltérő számú vagy konfigurációjú oxo- és hidroxil-csoportot tartalmazó szteroid molekulákat a Rorhschneider-féle oldószer szelektivitási táblázat szerint a leginkább meg tudja különböztetni. Az egyes szteroidok optimális leoldásához különböző, lépcsős gradiens elúciós módszereket dolgoztunk ki. A szétválasztott szteroidok leoldódásának detektálására a szövetmintákhoz adott tríciált belső standard szteroidok radioaktivitását mérjük. Ezáltal a csak radioimmunoassay-vel kimutatható mennyiségű szteroidok leoldódása is követhető, a detektálást a kísérő anyagok nem zavarják.

A leoldódó szteroidokat tartalmazó eluensből frakciókat gyűjtünk, amelyek kis részleteinek radioaktivitása alapján mindegyik szteroidra meghatározzuk a négy, legtöbb anyagot tartalmazó frakciót, ezeket egyesítjük, majd a metanoltartalmú eluens teljes

1. táblázat

Szöveti szteroidhormonok elválasztására, izolálására kifejlesztett nagyhatékonyságú
folyadékkromatográfiás (HPLC) módszerek.

Adsorbens: BST SI-100-S C18-szilikagél (5 μ m, 100 Å) 250 mm x 4 mm (Bioszeparációs Rt.)

Eluens: Metanol - 0,01 M NaH₂PO₄-puffer

Egyéb param.: inj. minta 400 μ l, áramlási seb. 1 ml/perc, frakciók 1 ml-ként, szobahőm., 21-23 kPa

Szteroidhormon csoport	Eluens metanol koncentrációja és térfogata	Szteroidok jellemző retenciós térfogata		Alkalmazás
Androgének (C ₁₉ -szteroidok)	55tf% 0-75. ml	4-én-dion	28-31. ml	Androgének mérése patkány prosztata-, hereszövetben, és emberi prosztata-szövetben (2. és 3. tézispont)
		Teszt	35-38. ml	
		DHA	41-44. ml	
		5-én-diol	48-51. ml	
		DHT	58-61. ml	
		3 β -diol	64-67. ml	
	65tf% 76-90. ml	3 α -diol	79-82. ml	
Progesztogének (C ₂₁ -szteroidok)	60tf% 0-40. ml	17-OH-Prog	20-23. ml	Progeszteron azonosítása rovarban (6. tézis pont)
	65tf% 41-80. ml	17-OH-Preg	27-30. ml	
		Prog	46-49. ml	
		Preg	59-62. ml	
Nemi szteroidok (C ₂₁ -, C ₁₉ -, C ₁₈ -szteroidok)	51tf% 0-65. ml	4-én-dion	46-49. ml	Petefészek daganat szteroidkoncentrációinak meghatározása (5. tézispont)
		E2	52-55. ml	
		17-OH-Prog	57-60. ml	
	55tf% 66-100.ml	Teszt	60-69. ml	
		DHA	68-71. ml	
		5-én-diol	77-80. ml	
		DHT	89-92. ml	
	64tf% 101-120.ml	3 β -diol	95-98. ml	
		3 α -diol	106-109. ml	
		Prog	111-114. ml	
C ₂₁ -, C ₁₉ -Szteroidok	45tf% 0-25.ml	Ald	16-18. ml	Hormontermelő ektópiás hasnyálmirigy daganat szteroidkoncentrációjának meghatározása (4. tézispont)
	51tf% 26-85.ml	Cort	20-23.ml	
		4-én-dion	58-61. ml	
		17OH-Prog	66-69. ml	
	55tf% 86-120.ml	Teszt	72-75. ml	
		DHA	78-81. ml	
		5-én-diol	89-92. ml	
		DHT	100-103. ml	
	65tf% 121-140. ml	3 β -diol	106-109. ml	
		3 α -diol	122-125. ml	
		Prog	127-130. ml	

bepárlásával radioimmunoassay mérésre előkészítjük az izolált szteroidokat.

Számos szövetextraktum kromatografálása után az irreverzibilisen kötődő szennyezőanyagok miatt a HPLC-oszlop hatékonysága romlik, ezért regenerálására izo-propanolos és diklórmétános mosást vezettünk be.

A szteroidhormonok egyes csoportjainak optimális szétválasztárása kifejlesztett különböző HPLC módszereket táblázatos összefoglalás (1. táblázat) tartalmazza.

1.2. Az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol, az 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol és az 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol radioimmunoassay-k beállítása, szelektivitásának ellenőrzése [1,3].

A szövetmintából kivont szteroidok mennyiségi meghatározása a HPLC-s izolálást követő radioimmunoassay méréssel történik. A szöveti androszt-5-én-3 β ,17 β -diol, az 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol és az 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol meghatározásához új radioimmunoassay-eket dolgoztunk ki. A három diol molekulaszervezete, antigéndetermináns helyei csaknem azonosak, így az egyedileg termelt antiszérumok jelentős keresztreakciót adnak. A diolokat nagy affinitással az anti-androszt-5-én-3 β ,17 β -diol anti-szérum kötötte, így az 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol és az 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol meghatározásában is ezt az antiszérumot, és az ahhoz kidolgozott radioimmunoassay módszereket alkalmaztuk (2. táblázat).



2. táblázat

Szöveti androszt-5-én 3β , 17β -diol, 5α -androsztán- 3α , 17β -diol és 5α -androsztán- 3β , 17β -diol mérésére kidolgozott radioimmunoassay-k fontosabb paraméterei.

Mért szteroid	5-én-diol	3α -diol	3β -diol
Antisérum			
immunogén	5-én-diol-7-CMO-BSA	5-én-diol-7-CMO-BSA	5-én-diol-7-CMO-BSA
állat	kecske	kecske	kecske
végigítás	1:154 000	1:77 000	1:77 000
Jelzett szteroid és fajlagos aktivitása (Ci/mmol)	[1,2- $^3\text{H}(\text{n})$]5-én-diol 51,5	[1 α ,2 α^3 H(n)] 3α -diol 41	[1 α ,2 α^3 H(n)] 3β -diol 44
Kalibrációs görbe dózistartománya (pg/cső)	0-750	0-500	0-750
Kimutatási határ (pg/cső)	15	15	15

A radioimmunoassay-k beállítása során mind a három módszerre vonatkozóan meghatároztuk az antiszérum optimális hígítását, a radioaktív antigén, a tríciummal két helyen jelzett szteroid tracerek mennyiségét.

Módszereinket, a többi szteroid radioimmunoassay-hez hasonlóan a World Health Organization-nek a szteroid radioimmunoassay-kre vonatkozó ajánlásai szerint végeztük.

A diolok radioimmunoassay-inek beállítása után ellenőriztük, hogy a HPLC-s elválasztás ebben az esetben is biztosítja a megfelelő szelektivitást.

1.3. A radioimmunoassay nyomjelzőivel azonos, triciált belső standardok használata, a radioimmunoassay kiértékelését lehetővé tevő korrekciós számítási módszer bevezetése [3,4].

A szteroidok szöveti koncentrációi a radioimmunoassay-ben mért mennyiségekből a kinyerésnek szövetminta típusonként és az egyes szteroidonként is többé-kevésbé eltérő hatásfokának, valamint az extrahálási, tisztítási és kromatográfiás lépésekben bekövetkező ingadozó veszteségek figyelembevételével számíthatók ki. Módszerünk pontosságát, reprodukálhatóságát triciált belső standardok segítségével biztosítjuk. A visszanyerés hatásfokának pontos mérésére más módszerekhez képest több radioaktív belső standardot használunk, és azt a mérendő összes szteroidból még a homogenizálás és extrahálás

előtt a mintához adjuk. Mennyiségüket úgy választjuk meg, hogy aktivitásuk a radioimmunoassay minták nyomjelzőjével megközelítőleg azonos legyen. A belső standardok aktivitását a radioimmunoassay-k kiértékelésénél korrekcióba vesszük.

A radioaktív belső standardok felhasználásával a szöveti szteroidok meghatározása igen széles koncentrációtartományban - a kimutatási határ 100-200 pg/szövetmintától egészen a néhány 10 μ g/szövetmintáig - a biológiai mintáknál igen jónak mondható, 10-15 C.V.% variációs koefficienssel végezhető. A belső standardok alkalmazásával kiküszöbölhetők a hasonló analitikai módszerek helyességének elemzésekor elvégzendő addíciós ellenőrzések. Módszerünk ily módon általánosítható, azt bármely típusú szövetmintánál, gyakorlatilag tetszőleges szteroidhormonok koncentrációjának meghatározására fel lehet használni.

2. Patkány here- és prosztataszövetek androgén szteroid-koncentrációinak meghatározása, enziminhibitorok in vivo hatásának felmérésére alkalmas módszer bevezetése.

2.1. Androgén szteroidok koncentrációi patkányok prosztaszövetében kasztrálást követően [3,5-7].

Kifejlett, hím (Wistar törzs, 350-450 g-os testtömegű) patkányok prosztatájában megmértük annak kifejlődése, növekedése és működése szempontjából jelentős androgén szteroidok, a dehidroepiandroszteron, az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol, az androszt-4-én-3,17-dion, a tesztoszteron, az 5 α -dihidrotesztoszteron, az 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol és az 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol koncentrációját, valamint azok változását a radikális androgénmegvonást, a kasztrálást követően. A herék eltávolításának az egész szervezet hormonháztartására gyakorolt hatását a fenti androgének vérszérumszintjeinek azonos módszerrel történő mérésével ellenőriztük.

Az intakt állatok szérumában legnagyobb koncentrációban (2,75 ng/ml) a tesztoszteront találtuk, a többi androgének csak jóval kisebb mennyiségét mértük (3. táblázat).

A prosztataszövetben a cirkuláló androgén, tesztoszteron, valamint prosztatában hatékony 5 α -dihidrotesztoszteron arányai az 5 α -reduktáz hatására megváltoznak. A tesztoszteron mennyisége elenyésző (0,18 ng/g) a

3. táblázat

A kasztráció hatása a patkány vészérum androgén szteroidhormon-tartalmára
(két mérés középértéke és szórása, S.E.)

Állatcsoport	Szteroidtartalom $\pm$ S.E. (ng/ml)						
	DHA	5-én-diol	4-én-dion	Teszt	DHT	3 α -diol	3 β -diol
Intakt	0,04 $\pm$ 0,01	<0,04	0,08 $\pm$ 0,01	2,75 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,03	0,21 $\pm$ 0,04
Kasztrálás után							
8 órával	<0,025	<0,04	0,03 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	<0,06
16 órával	<0,025	<0,04	<0,025	0,02 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	<0,06
24 órával	<0,025	<0,04	<0,025	0,02 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	<0,06
48 órával	<0,025	<0,04	<0,025	<0,02	0,02 $\pm$ 0,01	<0,04	<0,06

A kasztráció hatása a patkány prosztata androgén szteroidhormon-tartalmára
(két mérés középértéke és szórása, S.E.) és tömegére (5-5 prosztata átlaga).

Állatcsoport	Szteroidtartalom $\pm$ S.E. (ng/g nedves szövet)							Prosztata tömeg (g)
	DHA	5-én-diol	4-én-dion	Teszt	DHT	3 α -diol	3 β -diol	
Intakt	<0,10	0,18 $\pm$ 0,01	<0,10	0,18 $\pm$ 0,01	16,25 $\pm$ 0,15	0,98 $\pm$ 0,35	1,26 $\pm$ 0,13	0,378
Kasztrálás után								
8 órával	<0,10	0,17 $\pm$ 0,01	<0,10	<0,08	2,88 $\pm$ 0,02	<0,15	<0,25	0,355
16 órával	<0,10	<0,15	<0,10	<0,08	0,96 $\pm$ 0,18	<0,15	<0,25	0,447
24 órával	<0,10	<0,15	<0,10	<0,08	0,81 $\pm$ 0,21	<0,15	<0,25	0,284
48 órával	<0,10	<0,15	<0,10	<0,08	0,62 $\pm$ 0,08	<0,15	<0,25	0,379

prosztatában, az 5α -dihidrotesztoszteron viszont igen nagy koncentrációban, 16,25 ng/g-ban volt kimutatható. Ez az 5α -dihidrotesztoszteron-koncentráció mintegy 1,5-2,5-szerese az irodalmi adatoknak, mivel módszerünknel a visszanyerések egyedi követésével az 5α -dihidrotesztoszteron nagyobb mennyiségét pontosabban lehetett meghatározni. Az 5α -telített metabolitok, az 5α -androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diol és az 5α -androsztán- $3\beta,17\beta$ -diol 0,98 és 1,26 ng/g-os prosztata szöveti koncentrációja, a nagy mennyiségben előforduló 5α -dihidrotesztoszteron lebomlásának eredménye. Az androgénszintézis prekursorai, az androszt-5-én- $3\beta,17\beta$ -diol, az androszt-4-én- $3,17$ -dion a szérumhoz hasonlóan kicsiny mennyiségben fordul elő, a dehidroepiandroszteron koncentrációja a prosztataszövetben is elenyésző.

Kasztrálást követően a szérum tesztoszteron szint rohamosan csökkent, s 8 óra alatt az eredeti érték 1,5 %-ára, 0,04 ng/ml-re csökkent. A tesztoszteron a prosztatából is hasonló gyorsasággal eliminálódott. Az 5α -reduktáz szubsztrátumának utánpótlásának megszüntével a prosztataszövet nagy 5α -dihidrotesztoszteron koncentrációja is csökkent, de lényegesen lassabban: az intakt állatok prosztatájának 16,25 ng/g-os 5α -dihidrotesztoszteron tartalma 8 óra alatt 18 %-ára, 2,88 ng/g-ra, 16 óra alatt 6 %-ára, 0,96 ng/g-ra csökkent.

Az 5α -dihidrotesztoszteron csökkenésével párhuzamosan tűntek el a szövetből a prosztatában képződő metabolitjai, 5α -androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diol és 5α -androsztán- $-3\beta,17\beta$ -diol. Mennyiségük az 5α -dihidrotesztoszteronhoz hasonlóan 8 óra alatt a kiindulási érték 20 %-a alá csökkent. A tesztoszteronprekursoroknak tekinthető szteroidhormonok, a dehidroepiandroszteron, az androszt- -5 -én- $3\beta,17\beta$ -diol, és az androszt- 4 -én- $3,17$ -dion közül csak az androszt- 5 -én- $3\beta,17\beta$ -diol volt kimutatható patkányok prosztatájában. Mennyiségük a kasztrálást követően a többi szteroidhormonhoz hasonlóan csökkent.

A rövid kísérleti időtartam alatt a patkányok prosztatamirigyének tömege (3. táblázat) nem változott, vagyis az androgének megvonása az eltelt 48 óra alatt morfológiai változásokat még nem okozott.

Méréseink bizonyították, hogy a prosztatamirigy androgénháztartását a legfontosabb keringő androgén, a tesztoszteron, és belőle a prosztatában képződő 5α -dihidrotesztoszteron jellemzi, illetve határozza meg. E két hormon mennyiségének követése megfelelő tájékoztatást ad az androgénmegvonás mértékéről, és az 5α -dihidrotesztoszteron prosztatanövekedésben játszott kulcsszerepe miatt útmutatást tud adni a mirigy várható méretváltozásáról. A többi androgén szteroidhormonok (dehidroepiandroszteron, az androszt- 5 -én- $3\beta,17\beta$ -diol, androszt- 4 -én- $3,17$ -dion, 5α -androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diol és

5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol) mennyisége, és ennek következtében szerepe is elhanyagolhatónak mutatkozott. A sebészi úton kasztrált patkányokban megállapított szérum és prosztataszöveti szteroidkoncentrációk viszonyítási alapot adnak a más módszerekkel előidézett androgén-megvonás hatásosságának tanulmányozásához.

2.2. A 4-MA enziminhibitor in vivo hatásának igazolása patkány here- és prosztataszövet androgéntartalmának mérésével [8-10].

A 4-MA (17 β -N,N-dietyl-karbamoil-4 β -metil-4-aza-5 α -androsztán-3-on) az in vitro inkubációs vizsgálatok szerint az 5 α -reduktáz és a 3 β -hidroxiszteroid dehidrogenáz/ Δ^{5-4} -izomeráz enzimek inhibitora. In vivo kísérleteinkben patkányok 4-MA kezelése után here- és prosztataszöveti androgén szteroidjainak meghatározásával vizsgáltuk a gátlóhatást. A szövetmintákat az egyszeri, 1 és 4 mg-os sub cutan 4-MA kezelést követően 4 órával metszettük ki.

Eredményeink szerint a hereszövetben a 4-MA hatására emelkedett a dehidroepiandroszteron (<0,1 ng/g-ról 0,57 ng/g-ra), az androszt-4-én-3,17-dion (2,8 ng/g-ról 5,5 ng/g-ra) és az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol (<0,15 ng/g-ról 0,30 ng/g-ra) koncentrációja (4. táblázat). Csökkent az 5 α -dihidrotesztoszteron (4,0 ng/g-ról 0,85 ng/g-ra), és

metabolitjainak az 5α -androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diolnak ($3,7$ ng/g-ról $<0,15$ ng/g-ra) és az 5α -androsztán- $3\beta,17\beta$ -diol ($2,6$ ng/g-ról $0,35$ ng/g-ra) mennyisége. A tesztoszteron koncentrációja 124 ng/g-ról az 1 mg-os dózis hatására 66 ng/g-ra csökkent, de a 4 mg-mal kezelt patkányok heréjében ismét a kontroll állatokéval közel azonos, 117 ng/g volt mérhető.

4. táblázat

Szöveti szteroidkoncentrációk változása patkány prosztatában és herében
4-MA 1- és 4 mg/patkány dózisú (sub cutan) 4-MA kezelést követően 4 órával.

Szteroid	Here szteroid koncentráció (ng/g)			Prosztata szteroid koncentráció (ng/g)		
	Kontroll 0 mg 4-MA	Kezelt		Kontroll 0 mg 4-MA	Kezelt	
		1 mg 4-MA	4 mg 4-MA		1 mg 4-MA	4 mg 4-MA
Progeszteron	24	8	11	0,84	3,7	5,7
Dehidroepiandroszteron	$<0,10$	0,32	0,57	$<0,10$	$<0,10$	$<0,10$
Androszt-5-én- $3\beta,17\beta$ -diol	$<0,15$	$<0,15$	0,30	$<0,15$	$<0,15$	$<0,15$
Androszt-4-én- $3,17$ -dion	2,8	4,3	5,5	$<0,10$	0,19	0,20
Tesztoszteron	124	66	117	0,30	2,2	3,5
5α -Dihidrotesztoszteron	4,0	2,5	0,85	18	14	10
5α -Androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diol	3,7	1,0	$<0,15$	0,76	0,36	$<0,15$
5α -Androsztán- $3\beta,17\beta$ -diol	2,6	$<0,25$	0,35	0,82	0,60	$<0,25$

A prosztataszövetben ugyancsak az 5α -redukált szteroidok koncentrációja mutatott csökkenést, az 5α -dihidrotesztoszteron 18 ng/g-ról 10 ng/g-ra, az 5α -androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diolnak 0,76 ng/g-ról <0,15 ng/g-ra, az 5α -androsztén- $3\beta,17\beta$ -diol 0,82 ng/g-ról <0,25 ng/g-ra változott. A tesztoszteron mennyisége viszont 0,3 ng/g-ról 3,5 ng/g-ra emelkedett.

Méréseinkből megállapítható, hogy a 4-MA in vivo körülmények között is befolyásolja a szteroidkonvertáló enzimek aktivitását. A prosztataszövet 5α -reduktáz enzimének gátlásával a szubsztrátum tesztoszteron felszaporodását és a produktum 5α -dihidrotesztoszteron mennyiségének csökkenését idézi elő.

2.3. A Strogen forte kezelés hatásának vizsgálata a patkányhere tesztoszteron és progeszteron tartalmára [11-16].

A Strogen forte a törpepálma (*Sabalís Serrulata*) termésének extraktumából a benignus prostata hiperplázia kezelésére előállított gyógyszerkészítmény. A terápiás hatás részletes mechanizmusa még felderítetlen, de a szer bizonyítottan 5α -reduktáz gátló hatású. In vitro kísérleteinkben emellett a 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz/ Δ^{5-4} -izomeráz enzim aktivitását is gátolta.

Kísérleteinkben Strogen forte kezelés után a patkányok hereszövetében a 3β -hidroxi-dehidrogenáz/ Δ^{5-4} -izomeráz produktumai, a tesztoszteron és progeszteron koncentrációjának meghatározásával vizsgáltuk az inhibitor hatást. Az állatokat 30 napig, naponta egyszer 0,5 g/testsúly kg és 2,0 g/testsúly kg dózisokkal orálisan kezeltük. Az ezt követően eltávolított herékben sem a tesztoszteron, sem pedig a progeszteron mennyiségében nem tapasztaltunk csökkenést. A tesztoszteron koncentrációja a kontroll és a kezelt szövetekben is 90-110 ng/g körüli volt. A progeszteron koncentrációja mindegyik csoportban 25-35 ng/g között változott.

A Strogen forte in vivo 3β -hidroxi-dehidrogenáz/ Δ^{5-4} -izomeráz inhibitor hatását szövet szteroid méréseink tehát nem igazolták.

3. Androgén szteroidok vizsgálata egészséges és benignus hiperpláziás (BPH-s) emberi prosztatában

3.1. Műtéti és autopsziás (cadaver) eredetű prosztata-szövetek szteroidkoncentrációi összehasonlíthatóságának igazolása. [1,17].

A benignus hiperpláziás prosztaták gyakorinak számító műtéti eltávolításával ellentétben, egészséges prosztatákat nem távolítanak el a szervezetből. Mérési módszerünk mintegy egy grammos szövetmintaigénye - valamint az orvosetikai szabályok - miatt ez utóbbi esetben a biopsziás mintavétel sem alkalmazható. Egészségesnek számító, tehát a kóros szövetekhez képest összehasonlítási alapot jelentő szövetminták így kizárólag holttestekből gyűjthetők. Eldöntendő, hogy a holttestekből származó, valamint az élő szervezetből kimetszett prosztaták szteroidtartalma összehasonlítható-e, megfigyeltük egy-egy szövetmintában a koncentrációk időbeni változásait.

A szövetek természetes lebomlási feltételeinek megfelelő, levegőtől elzártan, 4°C-on, 25 illetve 50 óráig történő tárolási körülmények között a vizsgált hét androgén szteroidhormon közül kettőnek - a dehidroepiandroszteronnak és az androszt-5-én-3 β ,17 β -diolnak - a

koncentrációja változott jelentősen, vagyis 25 óránként mintegy megkétszereződött. A hiperpláziás szövet dehidroepiandroszteron-tartalma 3,5 ng/g-ról a 25. órára 29 ng/g-ra, 50 óra alatt 56 ng/g-ra emelkedett. Az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol koncentrációja az autopsziás mintában 25 óra alatt 22 ng/g-ról 40 ng/g-ra nőtt, a hiperpláziás szövetben 0,34 ng/g-ról 25 óra alatt 0,96 ng/g-ra, 50 óra alatt 2,3 ng/g-ra emelkedett (5. táblázat).

Kisebb mértékű növekedést tapasztalhattunk az androszt-4-én-3,17-dionnak (25 óra alatt 0,55 ng/g-ról 1,1 ng/g-ra) és az 5 α -dihidrotesztoszteronnak (50 óra alatt 7,8 ng/g-ról 15 ng/g-ra) az egészséges, illetve hiperpláziás szövetbeni koncentrációjában. E változások vagy csak az egyik szövettípusban voltak megfigyelhetők, vagy abszolút értékük, vagy pedig arányaik miatt nem voltak jelentősek. A tesztoszteron, illetve a telített diolok (5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol és 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol) szöveti koncentrációi a minták tárolása, lebomlása során gyakorlatilag változatlanak bizonyultak.

A fenti eredmények alapján megállapítható, hogy a mintagyűjtési idő alatt a dehidroepiandroszteron és az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol felszaporodnak a prosztataszövetben, így koncentrációik csak azonos eredetű, műtétilag nyert szövetmintákon lennének vizsgálathatók. Az androszt-4-én-3,17-dion, a tesztoszteron, a 5 α -dihidrotesztoszteron, az 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol,

5. táblázat

Autopsziával nyert egészséges, és műtéti eredetű benignus hiperpláziás (BPH-s) emberi prosztataszövet-minták szteroidtartalmának változása a természetes bomlás körülményeit imitáló tárolás során. (Egy-egy mintán végzett 2-5 párhuzamos mérés középértéke és a középérték szórása, S.E.)

Prosztataszövet- minta típusa	Szteroidtartalom $\pm$ S.E. (ng/g nedves szövet)							
	tárolási idő	DHA	5-én-diol	4-én-dion	Teszt	DHT	3 α -diol	3 β -diol
Egészséges (autopsziás)	0 óra	--	--	--	--	--	--	--
	25 óra	22 $\pm$ 3	22 $\pm$ 1	0,55 $\pm$ 0,08	0,74 $\pm$ 0,12	1,5 $\pm$ 0,3	1,9 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,5
	50 óra	22 $\pm$ 5	40 $\pm$ 1	1,1 $\pm$ 0,1	0,59 $\pm$ 0,03	2,3 $\pm$ 0,4	1,9 $\pm$ 0,2	4,3 $\pm$ 0,1
BPH-s (műtéti)	0 óra	3,5 $\pm$ 0,4	0,34 $\pm$ 0,11	0,27 $\pm$ 0,04	0,27 $\pm$ 0,07	7,8 $\pm$ 0,3	0,23 $\pm$ 0,02	0,75 $\pm$ 0,20
	25 óra	29 $\pm$ 1	0,96 $\pm$ 0,01	<0,10	0,15 $\pm$ 0,02	9,5 $\pm$ 0,5	<0,15	0,63 $\pm$ 0,11
	50 óra	56 $\pm$ 2	2,3 $\pm$ 0,5	<0,10	0,40 $\pm$ 0,01	14 $\pm$ 0,2	<0,15	0,79 $\pm$ 0,51

valamint az 5α -androsztán- $3\beta,17\beta$ -diol koncentrációi nem, vagy csak elhanyagolható mértékben változtak a szövet természetes lebomlási körülményeit imitáló, legfeljebb 50 órás tárolás során. Ez utóbbi szteroidok esetén, tehát a műtéti, illetve autopsziás úton nyert szövetek egyenértékűek, koncentrációik a két szövettípusban összehasonlíthatók.

3.2. Az egészséges és benignus hiperláziás prosztataszövet androgén szteroidkoncentrációinak meghatározása [1,17].

Az idősödő férfiak népbetegségének számító benignus prosztata hiperplázia kóroktana az évtizedek óta tartó intenzív kutatások ellenére máig is felderítetlen. Kialakulásának egyik fő oka az androgén hatású szteroidok prosztatán belüli anyagcseréjének kóros megváltozása, az 5α -reduktáz enzim fokozott aktivitása, és produktumának a leghatásosabb androgén 5α -dihidrotesztoszteronnak a prosztataszövetbeni felszaporodása.

Az emberi prosztaták szteroidkoncentrációinak vizsgálata során 5 egészséges (autopsziából származó) és 8 benignus hiperpláziás (műtéti eredetű) prosztata androgéntartalmát határoztuk meg (6. táblázat). A hullából származó szövetminták, dehidroepiandroszteron és androszt-5-én- $3\beta,17\beta$ -diol-tartalma a mintagyűjtés alatt

változhatott, ezért az egészséges prosztatákra jellemző adatként nem volt elfogadható, így azok a végső kiértékelésből is kimaradtak.

A prosztatán belüli szteroidszintézis kiindulási anyagának, a dehidroepiandroszteronnak átlagos mennyiségét a hiperpláziás szövetben $2,6 \pm 1,1$ ng/g-nak találtuk. Bár a prostata növekedésére közvetlenül nincs hatással, viszonylag nagy mennyisége alapján prekursor szerepét feltételezhetjük. Az androszt-5-én- 3β , 17β -diol a hiperpláziás, míg az androszt-4-én- $3,17$ -dion mindkét prostatatípusban kis koncentrációban volt kimutatható, így jelentőségük valószínűleg az androgénhatás szempontjából is elhanyagolható.

A hiperpláziás prostataszövetek bizonyítottan nagyobb 5α -reduktáz aktivitásának következtében azok 5α -dihidrotesztoszteron-tartalmát ($6,3 \pm 1,6$ ng/g) szignifikánsan, mintegy hétszer nagyobbak találtuk, mint az egészséges prostataszövetekét ($0,84 \pm 0,42$ ng/g). Különbség a prekursor tesztoszteron szöveti koncentrációjában nem volt, mindkét szövettípusban $0,23$ ng/g körüli érték.

A gyors képződés mellett ugyancsak az 5α -dihidrotesztoszteron koncentrációjának emelkedését idézi elő a lebontó enzimek, a 3α - és a 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz jelentősen csökkent aktivitása. E két enzim által egyensúlyi reakcióban előállított telített diolok, az

6. táblázat

Egészséges egyének boncolással nyert prosztataszövet-mintájának szteroidtartalma (két mérés középértéke), valamint azok középértéke és szórása (S.D.).

Név (életkor)	elhalálozás és a boncolás között eltelt idő	Szteroidtartalom (ng/g nedves szövet)						
		DHA	5-én-diol	4-én-dion	Test	DHT	3 α -diol	3 β -diol
Zs. A. (30 év)	25 h	22	22	0,55	0,74	1,5	1,9	3,5
T. B. (36 év)	48 h	21	13	0,17	<0,08	1,0	1,9	2,5
P. L. (39 év)	50 h	23	22	0,39	0,26	0,78	0,90	2,9
Sz. M. (47 év)	30 h	30	16	<0,10	<0,08	0,42	0,92	4,0
M. Gy. (52 év)	48 h	17	14	<0,10	<0,08	0,52	1,3	1,9
Középérték $\pm$ S.D.		23 $\pm$ 5	18 $\pm$ 4	0,23 $\pm$ 0,23	0,23 $\pm$ 0,30	0,84 $\pm$ 0,42	1,4 $\pm$ 0,5	3,0 $\pm$ 0,8

Benignus prosztata hiperpláziás egyének műtéttel eltávolított prosztataszövet-mintájának szteroidtartalma (két mérés középértéke), valamint azok középértéke és szórása (S.D.).

Név (életkor)		Szteroidtartalom (ng/g nedves szövet)						
		DHA	5-én-diol	4-én-dion	Teszt	DHT	3 α -diol	3 β -diol
B.F.	(66 év)	3,2	0,47	0,30	0,18	7,5	0,51	1,3
P. I.	(67 év)	4,2	<0,15	0,57	0,27	7,8	0,20	1,1
Z. A.	(67 év)	3,5	0,34	0,27	0,27	7,8	0,23	0,75
R. A.	(68 év)	1,6	<0,15	<0,10	0,12	6,9	<0,15	0,67
K. S.	(69 év)	2,9	0,26	0,38	0,15	5,1	0,12	0,50
Sz. I.	(73 év)	2,8	0,21	0,23	0,21	7,3	0,25	0,63
M.F.	(76 év)	1,4	<0,15	0,15	0,19	4,1	0,25	0,48
N. J.	(81 év)	0,97	0,17	0,57	0,38	4,2	<0,15	0,55
Középért. $\pm$ S.D. 2,6 $\pm$ 1,1 0,21 $\pm$ 0,15 0,32 $\pm$ 0,18 0,22 $\pm$ 0,08 6,3 $\pm$ 1,6 0,23 $\pm$ 0,13 0,75 $\pm$ 0,30								

5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol, valamint az 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol az egészséges prosztatákban $1,4 \pm 0,5$ ng/g és $3,0 \pm 0,8$ ng/g, míg a hiperpláziás szövetekben szignifikánsan kisebb, csak $0,23 \pm 0,13$ és $0,75 \pm 0,30$ ng/g-os koncentrációkban fordultak elő. Az egyensúlyoknak a 5 α -dihidrotesztoszteron irányába történő eltolódását mutatja a két telített diol és az 5 α -dihidrotesztoszteron aránya, amely egészséges szövetek esetén 3,6-11,7 közötti (átlagosan 5,2), míg a hiperpláziás prosztatákban csak 0,12-0,24 közötti érték (átlagosan 0,16) volt. A képződő 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol és az 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol koncentrációinak aránya megközelítőleg azonos - 0,25-0,76 és 0,18-0,52 közötti - volt az egészséges és hiperpláziás szövetekben. Annak ellenére tehát, hogy a 3 α - és 3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz aktivitása hiperpláziás szövetben jelentősen csökkent, a kétféle enzimreakció sebességének aránya állandó maradt.

4. Hasnyálmirigy daganat szteroidkoncentrációinak meghatározása, kortizol termelésének bizonyítása [18,19].

A hasnyálmirigy rosszindulatú daganatos szöveteiben gyakran kimutathatók szteroidkonvertáló enzimek (5 α -reduktáz, aromatáz), s aktivitásuk a perifériás vér szteroidszintjeinek megváltozását is eredményezheti.

Hasnyálmirigy daganat mintánk egy 51 éves nőbetegből származott, akinek vérszérumában igen emelkedett, napszakos ritmust nem mutató kortizol szint volt mérhető. A többi szteroid koncentrációi normálisnak mutatkoztak. (7. táblázat).

A műtét során eltávolított karcinómás hasnyálmirigy-szövetben kiemelkedően nagy, a többi szteroidnál nagyságrenddel nagyobb kortizol koncentrációt (5700 ng/g) mértünk. A dehidroepiandroszteron 8,1 ng/g, az androszt-4-én-3,17-dion 3,3 ng/g, a progeszteron 1,9 ng/g, a tesztoszteron 1,3 ng/g mennyiségben volt mérhető. Az egyéb szteroidok koncentrációi a kimutatási határ (0,3 ng/g) alatt voltak.

A szövet igen magas kortizol koncentrációja igazolja, hogy a szérum emelkedett kortizol szintje a hasnyálmirigyből származott. Az egyéb szteroidok sokkal kisebb mennyiségei alapján a daganatos hasnyálmirigy más szteroidot nem szintetizált.



7. táblázat

Szteroidkoncentrációk hormontermelő ektópiás hasnyálmirigy daganat szövetében, és a perifériás vérszérumban

Szteroid	Koncentráció a daganatos hasnyálmirigy szövetben (ng/g)	Koncentráció a perifériás vérszérumban (ng/ml) műtét előtt	Normálérték vérszérumban, *follicularis fázis (ng/ml)
Progeszteron	1,9	-	0,20-1,0*
17 α -hidroxi-progeszteron	< 0,3	2,8	0,40-1,4*
Kortizol	5700	400-500	80-180
Aldoszteron	< 0,3	0,044	0,030-0,080
Dehidroepiandroszteron	8,1	3,6-7,8	2,3-7,2
Androszt-5-én-3 β ,17 β -diol	< 0,3	-	
Androszt-4-én-3,17-dion	3,3	2,6	0,50-2,6
Tesztoszteron	1,3	0,73	0,25-0,80
5 α -Dihidrotesztoszteron	< 0,3	-	
5 α -Androsztán-3 α ,17 β -diol	< 0,3	-	
5 α -Androsztán-3 β ,17 β -diol	< 0,3	-	

Az 5 α -dihidrotesztoszteron kicsiny koncentrációja, valamint a nagy szöveti tesztoszteron/5 α -dihidrotesztoszteron arány szerint ebben a hasnyálmirigy szövetben az 5 α -reduktáz aktivitása sem volt jelentős.

5. Petefészek daganat szteroidkoncentrációinak vizsgálata [18,20].

A petefészek a női nemi hormonok elsődleges forrása, ezért daganatos elváltozásainak többsége együtt jár a szteroidhormonok fokozott produkciójával.

Az általunk vizsgált tumoros petefészekszövet-minta egy 18 éves, virilizációs tüneteket mutató nőbetegből származott. Vércsérumban kiemelkedően magas androgén-szinteket (dehidroepiandroszteron 19,0 ng/ml, androsztén-4-én-3,17-dion 10,3 ng/ml, tesztoszteron 3,8 ng/ml), emelkedett progesztogén szinteket (progeszteron 1,4 ng/ml, 17 α -hidroxi-progeszteron 3,9 ng/ml), valamint normális 17 β -ösztradiol koncentrációt (0.049 ng/ml) mértünk. E szérumban szteroid szintek a petefészek daganat eltávolítását követően gyorsan normalizálódtak (8. táblázat).

A petefészek szöveti szteroidkoncentrációi nem tükrözték pontosan a perifériás vérben mért szinteket. Legnagyobb koncentrációban a 17 α -hidroxi-progeszteront és a tesztoszteront mutattuk ki (2100 ng/g és 1600 ng/g), emellett viszonylag magas dehidroepiandroszteron (860 ng/g) és androszt-4-én-3,17-dion (830 ng/g) szintet mértünk, míg a többi szteroidok kisebb, a progeszteron 100 ng/g, az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol 90 ng/g, az 5 α -

dihidrotesztoszteron 19 ng/g, a 5α -androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diol és a 5α -androsztán- $3\beta,17\beta$ -diol 5,8, illetve 8,1 ng/g, az ösztradiol 3,3 ng/g koncentrációban voltak jelen.

Petefészek szöveti szteroidjaira vonatkozó adatok nem ismeretesek. A nemi ciklus follicularis szakaszában lévő egészséges nők petefészek vénájának vérében mért koncentráció arányokhoz hasonlítva, a szövetben a tesztoszteron felszaporodása a legjelentősebb. A mérési eredmények nem magyarázzák a perifériás vér ilyen mértékben emelkedett dehidroepiandroszteron és androszt-4-én- $3,17$ -dion szintjét. Azok perifériás konverzió eredményei lehetnek.

A szteroidoknak a tumoros petefészekszövetben mért nagy mennyiségei, a szövettanilag igazolt, virilizáló arrhenoblastomának megfelelnek.

6. Progeszteron azonosítása amerikai csótány (*Periplaneta americana*) rovarban [21,22].

Rovarokban a saját vedlési hormon ekdiszteroidok mellett egyéb szteránvázas vegyületek, köztük a gerincesekre jellemző szteroidhormonok (progesztogének, androgének, ösztrogének) is kimutathatók. Az irodalmi adatok azonban ellentmondásosak e szteroidok eredetére és biológiai szerepére vonatkozóan.

Saját kísérleteink során az amerikai csótány, *Periplaneta americana* (Dictyopter., Blattidae) különböző korú prokutikula fázisú, hím és nőstény imágóiban vizsgáltuk a progesztogén szteroidok előfordulását. A kromatográfia nélküli radioimmunoassay-vel végzett előkísérletek a progeszteron nagy (100-150 ng/g) koncentrációját jelezték, ezért a specifikus HPLC-radioimmunoassay módszerrel végzett méréseink célja a progeszteron tényleges jelenlétének igazolása, más progesztogén szteroidok keresztreakcióiból adódó zavaró hatások kizárása volt.

Méréseink során a rovarok teljестest homogenizátumából készítettünk extraktumot, azt tisztítottuk, majd HPLC módszerrel izoláltuk a progeszteront, illetve elkülönítve összegyűjtöttük a másik három progesztogén

szteroid, a pregnénolon, a 17α -hidroxi-pregnénolon és a 17α -hidroxi-progeszteron leoldódási frakcióit is.

Kísérleteink igazolták a progeszteron jelentős előfordulását az amerikai csótányban. A közvetlenül a lárva-ímágó vedlés utáni (0 órás) hím egyedekben 13 ng/g, a nőstény rovarokban 16 ng/g progeszteron koncentrációt mértünk. Az egy nappal idősebb (24 órás) nőstény egyedekben a progeszteron mennyisége 2,0 ng/g-ra csökkent (24 órás hímekből nem állt minta a rendelkezésünkre), ami a progeszteron vedléskori felszaporodására, s esetleg abban játszott tényleges biológiai szerepére utal. Progeszteronszerű immunreaktivitás a másik három összegyűjtött HPLC frakcióban nem volt kimutatható, tehát a korábbi mérések kiemelkedően magas progeszteronkoncentrációi nem a szerkezetileg rokon progesztogének keresztreaktivitásából származnak.

Módszerünkkel ellenőriztük a lárvák által elfogyasztott tápkeverék progeszteron tartalmát is, amely 1,8 ng/g-nak adódott. Az abból származó külső progeszteron bevitel nem magyarázza a progeszteron felszaporodását a rovarok testében. Az tehát feltehetően belső biotranszformáció eredménye.

III. ÖSSZEFOGLALÁS

A szteroidhormonok élettani hatása szöveti koncentrációik függvénye, s azokat a szteroidmetabolizmusban fellépő változások érzékenyen befolyásolják. A szteroidok szöveti koncentrációinak meghatározására új analitikai eljárást dolgoztunk ki. A módszer az extrakció, az oszlopkromatográfiás előtisztítás és a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás elválasztás következtében az egyes szteroidokra teljesen specifikusnak, valamint a radioimmunoassay mérések miatt igen érzékenynek bizonyult. Az eljárás reprodukálhatóságát, bármilyen szövetmintában, tetszőleges szteroid mérésére való felhasználhatóságát triciált belső standardokkal biztosítottuk.

Méréseink során patkány here- és prosztataszövetek androgén szteroidkoncentrációinak meghatározásával vizsgáltuk a kasztrálás, valamint egyes enziminhibitorok (4-MA, Strogen forte) in vivo hatását. Kimutattuk a benignus hiperláziás emberi prosztataszövet normálistól eltérő androgén szteroidkoncentrációit. Hasnyálmirigy daganat szteroidkoncentrációinak meghatározásával nagymennyiségű kortizol termelését bizonyítottuk. Vizsgáltuk petefészek daganat kóros szteroidmetabolizmusát, kimutattuk annak fokozott tesztoszteron és 17α -hidroxiprogeszteron termelését. Szteroid meghatározási módszerünkkel progeszteront mutattunk ki amerikai csótány rovarban.

Szteroid elnevezések és jelölések jegyzéke

- Ald - aldoszteron
(11 β ,21-dihidroxi-3,20-dioxopregn-4-én-18-al 18,11-hemiacetál)
- Kort - kortizol
(11 β ,17,21-trihidroxipregn-4-én-3,20-dion)
- DHA - dehidroepiandroszteron
(3 β -hidroxiandroszt-5-én-17-on)
- DHT - 5 α -dihidrotesztoszteron
(17 β -hidroxi-5 α -androsztán-3-on)
- 3 α -diol - 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol
- 3 β -diol - 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol
- 4-én-dion - androszt-4-én-3,17-dion
- 5-én-diol - androszt-5-én-3 β ,17 β -diol
- E2 - ösztradiol
(ösztra-1,3,5(10)-trién-3,17 β -diol)
- Preg -pregnenolon
(3 β -hidroxi-pregn-5-én-3-on)
- 17-OH-Preg - 17 α -hidroxi-pregnénolon
(3 β ,17 α -dihidroxi-pregn-5-én-3-on)
- Prog - progeszteron
(pregn-4-én-3,20-dion)
- 17-OH-Prog - 17 α -hidroxi-progeszteron
(17 α -hidroxi-pregn-4-én-3,20-dion)
- Teszt - tesztoszteron
(17 β -hidroxiandroszt-4-én--3-on)
- 4-MA - 17 β -N,N-dietil-karbamoil-4 β -metil-4-aza-5 α -androsztán-3-on

Jelölések és rövidítések jegyzéke

BPH - benignus prosztata hiperplázia (jóindulatú prosztata megnagyobbodás)

BSA - marha szérum albumin (bovine serum albumin)

CMO - karboximetil-oxim

C.V.% - variációs együttható %-ban

HPLC - nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia

$\triangle^5$ -3 β -HSD - 3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz/ $\triangle^5$ -4-izomeráz

5 α -R - 5 α -reduktáz

RIA - radioimmunoassay

S.D. - standard deviáció

S.E. - standard hiba (error), szórás

IRODALOM

A tézisek témájából megjelent publikációk

1. **Szécsi M.**, Tóth I., Faredin I.: Determination of androgen steroids in prostatic tissue. Laboratory Diagnostics **18(3)**, F-3-10, 1991. (abstr.)
2. **Szécsi M.**, Tóth I., Faredin I.: Radioaktív androgén szteroidok és prekursoraik elválasztása nagynyomású folyadék-kromatográfiával. Izotóptechnika, Diagnosztika **34**, 111-114. 1991.
3. **Szécsi M.**, Tóth I., Faredin I.: $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ kettős jelölés alkalmazása szteroidok identifikálására. Izotóptechnika, Diagnosztika **33**, 249-258. 1990.
4. **Szécsi M.**, Tóth I., Faredin I.: The levels of androgens in rat prostate and serum after castration. Endocrine Regulation (Endocrinologica Experimentalis) **29**, 107-113. 1995.
Imp. f.: 0,450
5. **Szécsi M.**, Tóth I., Faredin I.: Comparative study of methods for investigation of the androgen metabolism. Laboratory Diagnostics **19(3)**, P9-41, 1992. (abstr.)
6. **Szécsi M.**, Tóth I., Faredin I.: Effect of total androgen withdrawal on serum and prostate steroids of rats. Laboratory Diagnostics **21(3)**, 228. 1994. (abstr.)
7. Pávó I., Varga Cs., Szűcs M., László F., **Szécsi M.**, Gardi J., László F. A.: Testosterone has a positive effect on renal vasopressin V_2 receptor concentration and the antidiuretic response to vasopressin in rat. Life Sciences **56(14)**, 1215-1222. 1995.
Imp. f.: 2,345
8. Tóth I., Tuba Z., Horváth J., Scultéty S., **Szécsi M.**, Faredin I.: Inhibition of human testicular and dermal $\Delta^5-3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in vitro. In: Advances in Steroid Analysis '93. (Eds: S. Görög, E. Heftmann) Akadémiai Kiadó, Budapest, 1993. pp. 391-396.

9. Tóth I., **Szécsi M.**, Faredin I., Scultéty S.: Inhibition of steroid biosynthesis in vitro. Friuli Medico (Alpe-Adria Journal of Medicine). **49(S2)**, 87. 1994. (abstr.)
10. Tóth I., Julesz J., **Szécsi M.**, Faredin I.: The activity and inhibition of 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta5-4-isomerase in human skin. Skin Pharmacology (közlésre elfogadva).
Imp. f.: 0,594
11. **Szécsi M.**, Tóth I., Julesz J., Faredin I., Behnke B.: Effect of Strogen Forte extract on the testicular delta5-3β-hydroxysteroid dehydrogenase activity in vitro. European Journal of Endocrinology (Acta Endocrinologica) **130(S2)**, 120. 1994. (abstr.)
Imp. f.: 1,427
12. Tóth I., **Szécsi M.**, Julesz J., Faredin I., Behnke B.: A Strogen forte extractum in vitro gátló hatása a patkány és emberi prostata 5alfa-reduktáz enzim aktivitására. (Inhibitory effects of Strogen Forte extract on the activities of rat and human prostatic 5alpha-reductase in vitro. Hungarian, abstract in English.) Magyar Urológia **8**, 246-252, 1996.
13. Tóth I., **Szécsi M.**, Julesz J., Faredin I., Behnke B.: Effect of Strogen Forte extract on the prostatic 5α-reductase activity in vitro. European Journal of Endocrinology (Acta Endocrinologica) **130(S2)**, 53. 1994. (abstr.)
Imp. f.: 1,427
14. Tóth I., **Szécsi M.**, Julesz J., Faredin I., Behnke B.: A Strogen forte extractum in vitro gátló hatása a patkány és emberi here delta5-3béta-hidroxiszteroid dehidrogenáz enzim aktivitására. (Inhibitory effects of Strogen Forte extract on the activities of rat and human testicular delta5-3beta-hydroxysteroid dehydrogenase in vitro. Hungarian, abstract in English.) Magyar Urológia **8**, 235-241, 1996.
15. Tóth I., **Szécsi M.**, Faredin I., Julesz J.: Strogen Forte, an inhibitor of steroid biosynthesis. Clinical and Experimental Laboratory Medicine **23**, 136. 1996. (abstr.)

16. Tóth I., **Szécsi M.**, Julesz J., Faredin I., Behnke B.: In vitro inhibition of testicular delta5-3beta-hydroxysteroid dehydrogenase and prostatic 5alpha-reductase activities in rats and in humans by Strogen forte extract. *International Urology and Nephrology* **28**, 337-348, 1996.
17. **Szécsi M.**, Tóth I., Rengei B., Scultéty S., Faredin I.: Androgenic steroids in normal and hyperplastic tissue samples from human prostates. In: *Advances in Steroid Analysis '93*, (Eds: S. Görög, E. Heftmann) Akadémiai Kiadó, Budapest, 1993. pp. 469-474.
18. Julesz J., Laczi F., **Szécsi M.**, Vecsernyés M., Tóth I., Faredin I., Szarvas F.: Klinikai endokrinológiai laboratóriumi rutin diagnosztikus eljárások. *Magyar Belorvosi Archivum*, **1994/1**, 5-9. 1994.
19. **Szécsi M.**, Tóth I., Faredin I., Julesz J.: Steroid concentrations in a cancerous pancreatic gland. *Journal of Endocrinology* **144**, P156. 1995. (abstr.)
Imp. f.: 2,560
20. **Szécsi M.**, Tóth I., Faredin I., Julesz J.: Steroids in virilizing ovarian tumor. *Friuli Medico (Alpe-Adria Journal of Medicine)*. **49(S2)**, 80. 1994. (abstr.)
21. Darvas B., Székács A., Fónagy A., **Szécsi M.**, Tóth I.: Van-e élettani funkciója a progeszteronnak és az ösztradiolnak a rovarok szaporodásában? *Növényvédelmi Tudományos Napok*, Budapest, 1995. február 21-22. (abstr.)
22. Darvas B., Székács A., Fónagy A., **Szécsi M.**, Tóth I.: Progesterone in *Periplaneta americana* and *Neobellieria bullata* adults from the procuticle phase until the first progeny production. *General and Comparative Endocrinology* (közlésre elküldve).
Imp. f.: 1,486

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönetet mondok Dr. Faredin Imre egyetemi tanár, és Dr. Tóth István tudományos tanácsadó laboratórium vezetőknél, hogy tőlük megtanulhattam az endokrinológia, valamint a klinikai kémia alapjait. Elméleti útmutatásaikkal irányították, gazdag tapasztalataik átadásával, és gyakorlati tanácsaikkal segítették munkámat.

Köszönettel tartozom Dr. Szarvas Ferenc egyetemi tanárnak és Dr. Julesz János egyetemi tanárnak, hogy vezetésük alatt az Endokrinológiai Önálló Osztály és Kutató Laboratóriumban doktori értekezésemet elkészíthettem.

Köszönöm Dr. Vecsernyés Miklós tudományos munkatárs hasznos tanácsait.

Köszönöm Bodóné Varga Katalinnak és Bárkányi Tibornénak a kísérletek során végzett odaadó gyakorlati munkáját.

Köszönetet mondok Tánczos Zsuzsannának a kézirat gépeléséért, a táblázatok megszerkesztéséért.

Segítségükért hálás vagyok az Endokrinológiai Önálló Osztály és Kutató Laboratórium valamennyi dolgozójának.