

ANDROGÉN SZTEROIDHORMONOK MEGHATÁROZÁSA PROSZTATASZÖVETBEN

Egyetemi doktori értekezés

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

Készítette:

SZÉCSI MIHÁLY

okleveles vegyész

a

Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem
Endokrinológiai Önálló Osztály és Kutató Laboratóriumában.
Szeged, 1993.

TARTALOM

	Oldal
BEVEZETÉS.....	4
MÓDSZER.....	12
1. Elméleti alapok, irodalmi előzmények.....	12
2. Anyagok, vegyszerek.....	18
3. Szteroidhormonok kinyerése szövetmintákból.....	20
4. Androgén C ₁₉ -szteroidok elválasztása, izolálása nagynyomású folyadékkromatográfiával.....	23
5. Szövetmintákból izolált androgén szteroidok mennyiségének mérése radioimmunoassay-vel, belső standard korrekció.....	26
6. Eredmények megadása, a módszer jellemzői.....	34
PATKÁNY PROSZTATA ANDROGÉNHÁZTARTÁSÁNAK VIZSGÁLATA KASZTRÁLÁST KÖVETŐEN.....	36
1. Irodalmi előzmények a patkány szteroidanyagcseréjéről, vérérum és prosztataszöveti androgénkoncentrációiról.....	36
2. Intakt és kasztrált patkányok vérérum és prosztataszöveti androgénkoncentrációi és megbeszélésük.....	39
3. Következtetések.....	44
ANDROGÉN SZTEROIDOK VIZSGÁLATA EGÉSZSÉGES ÉS BENIGNUS HIPERPLÁZIÁS EMBERI PROSZTATÁBAN.....	45
1. Emberi prosztataszövetek szteroidtartalmának irodalmi adatai.....	45
2. A szteroidtartalom változásának meghatározása emberi prosztataszövetben a halál beállta és a boncolás között.....	51
3. Egészséges és benignus hiperpláziás emberi prostataamintákban mért androgén szteroid- koncentráció adatok és megbeszélésük.....	55
4. Következtetések.....	60

ÖSSZEFOGLALÁS.....	61
JELÖLÉSEK ÉS RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE.....	63
IRODALOM.....	65
1. Az értekezés témájából megjelent publikációk.....	65
2. Irodalomjegyzék.....	67
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	86

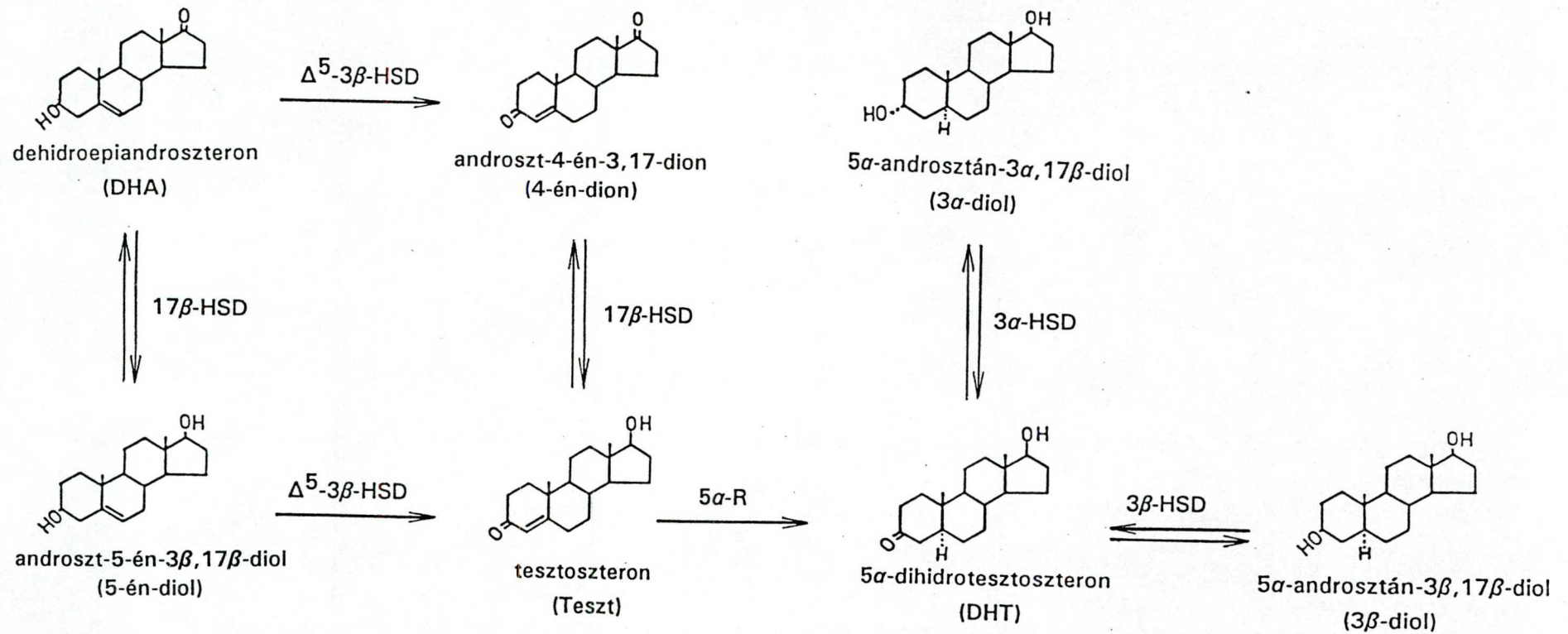
BEVEZETÉS

A prosztata (régí magyar orvosi nevén a dülmirigy) az emlősök páratlan, járulékos ivarmirigye. A húgycső kezdeti szakaszát körülfogva, a húgyhólyag alatt helyezkedik el. A részben simaizom szövetből (stromából), részben pedig hámszövetből (epitéliumból) álló belső mirigyes állományát kötőszövetes tok veszi körül. Nyúlós váladékának, a prosztatanedvnek – amely a többi nemi mirigy váladékával együtt képezi az ondót – a spermiumok anyagcseréjét befolyásoló, és a spermát hígító szerepe van. Hormondependens szerv, vagyis fejlődése, működése – a többi ivarmirigyhez hasonlóan – hormonok, elsődlegesen az androgen szteroidhormonok befolyása alatt áll. A prosztata a húgyivaröböl (sinus urogenitalis) endodermális hámjából fejlődik ki, és kialakulásának kezdete, párhuzamosan a többi hím ivarszervével, egybe esik az androgén szteroidok, főként a tesztoszteron (17β -hidroxandroszt-4-én-3-on, rövidítve Teszt) termelődésének megindulásával. Ennek megfelelően az emberi prosztata a magzati élet hetedik hetében a herekezdemény által elválasztott tesztoszteron hatására indul fejlődésnek. A születéskor mintegy 1 g-os mirigy a pubertás kezdetére 4 g-osra növekszik, majd a nemi éréssel együtt rohamosan tovább fejlődik, és annak végén, a körülbelül 20 éves életkorban átlagosan a 20 g-os tömeget is eléri [1-5].

A prosztata növekedéséért mégsem közvetlenül az általános androgénhatású tesztoszteron a felelős. A perifériás androgén célszervekben, így a prosztatában is a tesztoszteronnak a redukált származéka, az 5α -dihidrotesztoszteron (17β -hidroxi- 5α -androsztán-3-on, DHT) hatékony [3, 5, 6-15]. Az 5α -dihidrotesztoszteront a célszervekben lévő kolesztenon 5α -reduktáz, röviden 5α -reduktáz enzim (az International Union of Biochemistry enzimosztályozása szerint az E.C. 1.3.1.22. számú, szisztematikus nevén 3-oxo- 5α -szteroid:NADP⁺ Δ^4 -oxidoreduktáz [16]) a tesztoszteronból állítja elő [17-27]. Az így – in situ – képződött 5α -dihidrotesztoszteron nagy affinitással a specifikus androgén receptorhoz kapcsolódva a sejtmagba kerül, ahol a hormon-receptor komplex a DNS-hez kötődve megindítja a mRNS-transzkripciót. Ennek eredményeképpen a sejtben proteinszintézis indukálódik, ami többek között a sejtek növekedéséhez, osztódásához vezet. A kulcsszerepet játszó 5α -reduktáz mellett prosztataszövetben egyéb szteroidkonvertáló enzimek is működnek [28-42]. Az általuk katalizált lényegesebb reakciók szubsztrátum-, s produktumszteroidjai (1. ábra), az 5α -dihidrotesztoszteronhoz hasonlóan, lokális hatásúak, és főképp annak prekursoraiként – mint a dehidroepiandroszteron (3β -hidroxiandroszt-5-én-17-on, DHA), az androszt-5-én- 3β , 17β -diol (5-én-diol), az androszt-4-én-3, 17β -dion (4-én-dion), a tesztoszteron – vagy metabolitjaként – mint az 5α -androsztán- 3α , 17β -diol (3α -diol) és az

1. ábra

A prosztata androgénmetabolizmusa



Δ^5 -3 β -HSD: 3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz/ Δ^5 -4-izomeráz

17 β -HSD: 17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz

5 α -R: 5 α -reduktáz

3 α -HSD: 3 α -hidroxiszteroid-dehidrogenáz

3 β -HSD: 3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz

5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol (3 β -diol) – vesznek részt a biokémiai folyamatokban.

A prosztatának emberben bekövetkező leggyakoribb, időskori elváltozása a benignus prosztata hiperplázia. A mirigy szövetének e jóindulatú (tehát nem rákos) szaporodása, túltengése, s ezáltal a prosztata megnagyobbodása népbetegségnek tekinthető. Pontos tüneteit már az ókori egyiptomiak is leírták [43], napjainkban pedig nemzetközi felmérések szerint [4, 44-51] az 50 év feletti férfiak több, mint felét sújtja. A betegség legáltalánosabb megnyilvánulása, tünete a húgycső beszűkülése miatt bekövetkező vizeletürítési panaszok, súlyos esetben a teljes elzáródás hatására fellépő anúria. E zavarok kapcsán fertőződés, illetve vesekárosodás következhet be, és további veszélyt jelent, hogy egyes esetekben a szövettúltengés rosszindulatú, karcinómás szövetburjánzás kialakulását – ha nem is okozhatja, de – elősegítheti [52-54].

A benignus prosztata hiperplázia etiológiája, kóroktana – az évtizedek óta tartó intenzív kutatások ellenére – mindmáig felderítetlen. Napjainkban is több elmélet próbálja magyarázni a prosztata hiperpláziájának kialakulását, annak okait, mechanizmusát [30, 55]. Genetikai, esetleg környezeti eredetre mutatnak azok a megfigyelések, amelyek szerint a benignus prosztata hiperplázia előfordulása az emberfajták között eltérő: az európidokban és negroidokban gyakoribb, mint a mongoloid egyének között [3, 56-59]. Egyes, a 80-as években

született elméletek a szövetburjánzás megindulását kapcsolatba hozzák a hámszövet és a stroma normálistól eltérő kölcsönhatásával [49, 50, 55, 60-68], vagy pedig bizonyos parakrin, illetve autokrin eredetű, peptidtipusú növedési faktorokkal [50, 64, 69-77], esetleg a prosztatát kötőszövetes részének "újraéledt embrionális induktív potenciálját" jelölik meg [30, 63] a hiperplázia okaként.

Még a legújabb tapasztalatok és elméletek sem cáfolják, hanem megerősítik a klasszikus, a benignus hiperplázia kialakulását a prosztatát megbomlott szteroidhormon-háztartásával, az 5α -dihidrotesztoszteronnak a szövetben való felszaporodásával magyarázó teóriát. White, majd Cabot már 1895 és '96-ban szoros kapcsolatot mutatott ki az androgén szteroidhormonok és benignus prostata hiperplázia között. Az endogén androgének legfontosabb forrását, a herét eltávolítva az esetek mintegy 90 %-ában a prostata méretének csökkenését tapasztalták [78, 79]. Huggins és Stevens 1940-ben, ugyancsak kasztrálás után a prostata hámszöveti állományának zsugorodása mellett annak szövettani változásait állapította meg [80], amelyet Wendel 1972-es kísérletei is megerősítettek [81]. Ha a kasztrálás, tehát a tesztoszteron-megvonás még a pubertás előtt bekövetkezik, akkor nemcsak a prostata hiperplázia kialakulása válik lehetetlenné, hanem magának a prostatamirigynek a kifejlődése is befejezetlen marad [3, 45, 82]. A tesztoszteron-megvonással egyenértékű hatású, a pseudohermafroditizmusban fellépő 5α -reduktáz

hiány, amely még a normálisnál nagyobb tesztoszteron szint esetén is – az 5α -dihidrotesztoszteron képződésének elmaradásával – gátolja a prosztata kifejlődését, normális működését [83-86].

Ahogy az androgének megvonása gátolja, úgy exogén androgének bevitele – állatkísérletekben – fokozza a prosztata növekedését [87, 88], sőt az 5α -dihidrotesztoszteron, vagy az 5α -androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diol – ösztrogénekkel együtt történő – adása képes a benignus prosztata hiperplázia indukálására is [89-98]. Az 5α -dihidrotesztoszteron szerepéről alkotott elképzeléseket azok a 70-es években végzett in vitro kísérletek is megerősítették, amelyek a hiperpláziás szövetben, az 5α -dihidrotesztoszteron felszaporodásához vezető fokozott 5α -reduktáz [3, 21, 99-108] és csökkent 3α - és 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz (E.C. 1.1.1.50 számú 3α -hidroxiszteroid:NAD(P)⁺ oxidoreduktáz és E.C. 1.1.1.51 számú 3 vagy 17β -hidroxiszteroid:NAD(P)⁺ oxidoreduktáz) aktivitást mutattak ki [3, 37, 99, 101, 106, 107, 109, 110]. Az intraprosztatikus szteroidmetabolizmus változásait azok az – utóbbi időben megkérdőjelezett [41, 111] – kvantitatív mérések is igazolni látszanak, amelyek a benignus prosztata hiperpláziás szövetben az 5α -dihidrotesztoszteron emelkedett koncentrációját [102, 107, 110, 112-122], valamint az 5α -dihidrotesztoszteron/ 5α -androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diol koncentrációarány növekedését [106, 112-114, 116, 121, 123] mutatták ki.

A fenti elméleti eredményekre alapozva – s egyben bizonyítva is azokat – a klinikai gyakorlatba a szokásos sebészeti beavatkozások mellett számos kemoterápiás kezelési mód került, s kerül napjainkban is bevezetésre. Az általános antiandrogénhatású szerek (ciproteron-acetát [121, 124-132], flutamid [121, 128, 129, 133, 134], megösztrol-acetát [128, 129, 134-137], progeszteron-származékok [135, 138-140]) mellett, ma már a szelektív 5α -reduktáz gátló, szintetikus 4-metil-4-azaszteroid származékot, a finaszteridet tartalmazó Proscar használata is elterjedt [132, 141-146], sőt a növényi kivonatból előállított, természetes eredetű enzim-inhibitorokat tartalmazó készítmények (Strogen Forte, Permixon, Tadenon, Baroton, Harzol stb.) is egyre inkább polgárjogot nyertek [144, 147, 148].

Célkitűzés

A prosztata androgénjeinek a benignus hiperplázia kialakulásában játszott kulcsszerepe a több évtizede gyűjtött tapasztalatok és kísérleti adatok alapján bizonyított, ennek ellenére a folyamatok számos részletkérdése ma még tisztázatlan. Felderítetlen maradt az 5α -dihidrotesztoszteron részletes hatásmechanizmusa, valamint a főként az 5α -dihidrotesztoszteron prekursoraiként, illetve metabolitjaként számon tartott (1. ábra), ugyancsak androgénhatású szteroidhormonok felelőssége a hiperplázia kialakulásában. Jórészt

ismeretlen ezen szteroidhormonok esetleges szinergisztikus, vagy gátló hatása az 5α -dihidrotesztoszteron indukálta sejtproliferációra. Kérdésesek továbbá az ezen androgénekben a prosztata hiperpláziáját eredményező, vagy annak következményeként fellépő változások, valamint ezek módosulása a betegség terápiái során.

E szteroidhormonok élettani hatása szöveti előfordulásuk, mennyiségük függvénye (amely nem arányos a vérben cirkuláló koncentrációkkal [100, 106, 123, 149, 150]), s azokat a szteroidmetabolizmusban fellépő változások érzékenyen befolyásolják.

Mindezek alapján az androgéneknek a benignus prosztata hiperpláziára gyakorolt hatásának vizsgálatához **célul tűztük ki** a prosztata fontosabb androgén C_{19} -szteroidjai – a dehidroepiandroszteron, a 4-androsztén-3,17-dion, az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol, a tesztoszteron, az 5α -dihidrotesztoszteron, az 5α -androsztán-3 α ,17 β -diol és az 5α -androsztán-3 β ,17 β -diol – koncentrációinak mérését különböző prosztataszövet-mintákban. E szöveti szteroidok meghatározására szolgáló – a biológiai következtetések levonásához megfelelően szelektív és érzékeny, jól reprodukálható – analitikai módszer kifejlesztését. Koncentrációadatok gyűjtését, azokban a lehetséges különbségek kimutatását egészséges és benignus hiperpláziás emberi prosztatákban. Patkányon végzett kísérlet során az androgénmegvonás hatásának in vivo tanulmányozását a prosztata – illetve a vérszérum

szteroidkoncentrációin keresztül, az egész szervezet –
szteroidhormon-háztartására.

MÓDSZER

1. Elméleti alapok, irodalmi előzmények

A szteroidhormonok koncentrációját különböző biológiai mintákban napjainkban általában immunanalitikai módszerekkel mérik. Ezek között a radioaktív izotóppal jelzett nyomjelző vegyületeket alkalmazó radioimmunoassay-k (RIA-k) a legelterjedtebbek. Kedvező tulajdonságaik – kicsiny kimutatási határ, nagy szelektivitás – az egyes szteroidhormonoknak testfolyadékokból, köztük a vérszérumból végzett közvetlen meghatározását is lehetővé teszik. Szöveti szteroidok koncentrációjának mérésére, tekintettel a minta állagára, benne a nagymennyiségű kísérő anyagra, az igen hasonló molekulaszervezetű, esetlegesen keresztreagáló szteroidok együttes jelenlétére, a radioimmunoassay-k önmagukban nem alkalmasak. A mennyiségi mérésre ebben az esetben is kiválóan alkalmas radioimmunoassay-eket ezért, különböző – leggyakrabban extrakciós és kromatográfiás – elválasztási módszerekkel kombinálják [151-153].

A fenti elveknek megfelelően a prosztatata fő androgénjeinek szöveti és szérumbeli meghatározására szolgáló módszerünkben is oldószeres extrakció az első lépés. Az endogén szteroidhormonok szövetekből történő kinyerésére számos oldószer, illetve oldószerkeverék használatos. Egyaránt jó hatásfokú extrakciót eredményez

a diklórmétán [154-156], az éter [111, 117, 118, 157, 158], a metanol [113, 159, 160], az etanol [161] és az etilacetát [162], valamint a különböző elegyek, például kloroform/metanol [99, 163, 164], acetone/etanol [163, 164], éter/etilacetát [114] formaldehid/metanol [165] diklórmétán/acetone [166]. Tökéletes extrahálást a közepesen poláris oldószerektől remélhetünk, amelyek hatásosan képesek átjutni a szövetmintáknak mind a hidrofil, mind pedig hidrofób struktúráin [151], és bennük a kinyerni szánt elsődlegesen lipofil szteroidok jól oldódnak. Ennek figyelembe vételével a vízzel, szérummal nem elegyedő, gyorsan bepárolható, kevéssé emulzióképző etilacetátot [167] használunk extrahálószerként. A szövethomogenizátum és az oldószer keverése, a két fázis intenzív érintkeztetése ultrahangos homogenizátorral (Soniprep) történik, amely keverő hatása mellett a sejtmembránok szétroncsolásával, így a szövet feltárásával teszi kivonhatóvá az endogén szteroidokat.

Szteroidok elválasztására az összes szóba jöhető kromatográfiás módszeren belül számos adszorbens-eluens rendszer ismeretes [151, 168, 169]. A klasszikus, de még mai is széles körben alkalmazott vékonyréteg- vagy oszlopkromatográfiás módszerek két-három szteroid elválasztására maradéktalanul megfelelnek. Egy mintának ennél több, esetünkben hét – egymáshoz hasonló kromatográfiás tulajdonságú – szteroidjának elválasztására viszonylag kis felbontóképességük miatt,

azonban nem alkalmazhatóak sikeresen. További hátrányuk, hogy a vékonyréteg- vagy oszlopkromatográfiás módszereket követő radioimmunoassay-kben gyakran kell nagy "vak" értékek megjelenésére számítani [151, 170]. A modern, nagy teljesítőképességű kromatográfiás módszerek közül a szteroidok gázkromatográfiás analízise a hetvenes években élte virágkorát, és még napjainkban is használják – főként származékképzés mellett, tömegspektrometriás detektálással [120, 151, 158, 164,] – szteroid-koncentrációk mérésére. Biológiai mintákból kivont szteroidok elválasztásában a nagynyomású folyadék-kromatográfia azonban jórészt kiszorította, mivel az elválasztás végén a szteroidok eredeti minőségükben izolálhatók, így azok további vizsgálatoknak, igen érzékeny mennyiségi méréseknek (például radioimmunoassay-nek) vethetők alá. Szteroidok nagynyomású folyadék-kromatográfiája mind normál [151, 171, 172], mind pedig fordított fázisú [151, 172, 173] adszorbenseneken eredményesen vihető véghez. Viszonylagos egyszerűsége, gazdaságossága miatt, a biokémiai, klinikai laboratóriumi gyakorlatban a víztartalmú eluent felhasználó fordított fázisú kromatografálás az uralkodó módszer [152, 153, 156]. A prosztataszövetből kivont, és elválasztandó androgénhatású C₁₉-szteroidok – a dehidroepiandroszteron, a androszt-5-én-3 β ,17 β -diol, az androszt-4én3,17dion, a tesztoszteron, az 5 α -dihidrotesztoszteron, a 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol és a 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol – molekulaszervezete (funkciós-

csoportjai, térszerkezete) igen hasonló (1. ábra), ezért kémiai viselkedésük, kromatográfiás (adszorpciós és lipofilitási) tulajdonságaik is nagyon hasonlóak. Szétválasztásukra a fordított fázisú adszorbensek közül ezért, a polaritásbeli különbségeket legjobban differenciáló, hosszú, C_{18} -as szénláncokkal fedett szilikagél adszorbenst alkalmazzuk. Az eluens szerves komponenseként, az eltérő számú vagy konfigurációjú oxo- és hidroxil-csoportot tartalmazó molekulákat leginkább megkülönböztető metanolt használunk [173-176]. Az eluenshez pH-stabilizálóként nátrium-dihidrogén-foszfátot adunk. A szétválasztott szteroidok leoldódási csúcsainak detektálására, ezáltal minőségi azonosítására, a minden egyes mérendő szteroidból a szövetmintákhoz adott tríciált belső standardok radioaktivitását használjuk fel. Segítségükkel az összes – még a csak radioimmunoassay-vel kimutatható mennyiségű – szteroid leoldódása azonos módszerrel (az egyes frakciók részleteinek radioaktivitás mérésével) követhető. A standardok nagy fajlagos aktivitása miatt a kimutatáshoz igen kis jelzett anyagmennyiségek bevitele is elegendő, a detektálást a kísérő anyagok (például az eluens alkotórészei vagy esetleges szennyezések) nem zavarják. Számos szövetextraktum kromatografálása után az oszlop hatékonysága romlik, regenerálására izo-propanolos és diklórmétános mosást végzünk [177, 178].

A szövetből extrakcióval, majd kromatográfiás elválasztással izolált androgén szteroidok mennyiségeit

radioimmunoassay-vel mérjük. E módszer alapja a szteroid antigének és az azokat reverzibilisen kötő antitestek közötti, egyensúlyra vezető komplex képződési reakció [179-183]. A nagy affinitású és szelektív antitesteket megfelelő koncentrációban (vagyis az azokat tartalmazó antiszérumot alkalmas hígításban) felhasználva az immunkémiai reakció végén a szabad, illetve a komplexben kötött antigének egymással összemérhető koncentrációban vannak jelen, s arányuk az úgy nevezett kötés gátlási százalék az antigén összkoncentrációjának függvénye. A kétféle antigén frakció elválasztásával, azok igen kis mennyiségeik quantitativ mérését lehetővé tévő nyomjelzők – szteroidok esetén leggyakrabban tríciált antigén "tracer" – alkalmazásával, valamint ismert dózisokat tartalmazó kalibrációs görbe kötés gátlási százalékaikhoz való viszonyítással ismeretlen minták antigén koncentrációi is nagy érzékenységgel (ppt-os tartomány) és specifitással határozhatók meg.

A méréseinkhez felhasznált antiszérumok, amelyek a radioimmunoassay-k tulajdonságait alapvetően szabják meg, laboratóriumunkban végzett immunizálások termékei. Előállításuk karboximetil-oximmal (CMO-val) marha szérum albuminhoz (BSA-hoz) kapcsolt szteroid-immunogének ellen, nyúlban vagy kecskében történt. Tekintettel arra, hogy a mérendő három különböző diol molekulaszervezete, antigén-determináns helyei csaknem azonosak, és így az egyedi antiszérumok jelentős keresztreakciók adnának, a három diol mérésére ugyanazt az antiszérumot alkalmazzuk. Az

anti-androszt-5-én-3 β ,17 β -diol antiszérum megfelelően nagy affinitással köti mind a 3 α -, mind pedig a 3 β -diolt, a specifikitást ebben az esetben a kromatográfiás elválasztás biztosítja. A radioimmunoassay-k kivitelezése az Egészségügyi Világszervezetnek (World Health Organisationnek, WHO-nak) a szteroid radioimmunoassay-re vonatkozó ajánlásai szerint történt [184-187].

A szteroidhormonok szöveti koncentrációi a radioimmunoassay-kben mért mennyiségekből a kinyerés hatásfokát figyelembe véve számíthatók ki. Mivel a biológiai anyagokból végzett izolálás hatásfoka az egyes mintánként többé-kevésbé eltérő, ezért az ingadozó hatásfokú extrahálási, tisztítási lépésekben bekövetkező veszteségeket a belső standardok mennyiségének követésével mérjük. Annak érdekében, hogy a visszanyerés hatásfokát pontosabban mérhessük, a korábbi módszereknél [111, 113, 118, 153, 155] több radioaktív belső standardot használunk fel. A mintához adott mennyiségüket úgy választjuk meg, hogy aktivitásuk összemérhető, mérésük azonosan pontos legyen a radioimmunoassay minták nyomjelzőjének radioaktivitásával. Mivel a standardok megegyeznek a radioimmunoassay-k nyomjelző vegyületeivel, ezért radioaktivitásukat radioimmunoassay-k kiértékelésénél korrekcióba vesszük. Belső standardok alkalmazásával kiküszöbölhetők, a hasonló mennyiségi mérések helyességének elemzésekor feltétlenül elvégzendő – általában addíciós módszerű – ellenőrzések. Módszerünk ily módon általánosítható, azt bármely típusú

szövetmintánál, gyakorlatilag tetszőleges szteroid-hormonok koncentrációjának meghatározására fel lehet használni [188-190].

2. Anyagok, vegyszerek

Jelzetlen, identikus szteroidok:

dehidroepiandroszteron (3 β -hidroxiandroszt-5-én-17-on),
androszt-5-én-3 β ,17 β -diol,
androszt-4-én-3,17-dion,
tesztoszteron (17 β -hidroxiandroszt-4-én-3-on),
5 α -dihidrotesztoszteron (17 β -hidroxi-5 α -androsztán-3-on),
a Makor Chemical Limited terméke;
5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol,
5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol,
a Sigmatól származik.

Tríciált belső standard és radioimmunoassay nyomjelző szteroidok, specifikus aktivitásuk (S.A.), beszerzési forrásuk:

[1,2-³H(n)]dehidroepiandroszteron ([³H]DHA),

S.A.= 55,3 Ci/mmol (New England Nuclear);

[1,2-³H(n)]androszt-4-én-3,17-dion ([³H]4-én-dion),

S.A.= 55,3 Ci/mmol (New England Nuclear);

[1 β ,2 β -³H(n)]tesztoszteron ([³H]Teszt),

S.A.=50,4 Ci/mmol (New England Nuclear);

5 α -dihidro[1 α ,2 α -³H(n)]tesztoszteron ([³H]DHT)

S.A.=60 Ci/mmol (Amersham);



5 α -[1 α ,2 α -³H(n)]androsztán-3 α ,17 β -diol ([³H]3 α -diol),

S.A.=41 Ci/mmol (Amersham);

5 α -[1 α ,2 α -³H(n)]androsztán-3 β ,17 β -diol ([³H]3 β -diol),

S.A.=44 Ci/mmol (Amersham)

[1,2-³H(n)]androszt-5-én-3 β ,17 β -diolt ([³H]5-én-diolt) a fenti [³H]DHA nátrium-[tetrahidro-borát]-os redukciójával állítottunk elő [167], S.A.=51,5 Ci/mmol.

Nagynyomású folyadékkromatográfiás oszlop: 250 mm x 4 mm-es, BST SI-100-S 5 C18 töltetű oszlop (Bioszeparációs Rt).

Nagynyomású folyadékkromatográfiás eluens: kétszer desztillált vízből 0,01 molos (1,20 g/l-es) nátrium-dihidrogén-foszfát-puffert készítünk, 0,45 μ m-es Millipore szűrőlapon szűrjük, majd a megfelelő térfogat arányban (55 valamint 65 tf% metanolkoncentrációban) kromatográfiás tisztaságú metanollal (Merck) elegyítjük. Az oldott gázoktól ultrahanggal mentesítjük. Az oszlop regenerálásához használt diklórmétán és izo-propanol ugyancsak kromatográfiás tisztaságú, Carlo-Erba gyártmányú oldószerek.

0,1 molos foszfát puffer (pH=7,2-7,4) radioimmunoassay-hez: nátrium-dihidrogén-foszfát 4,65 g/l, dinátrium-hidrogén-foszfát 8,70 g/l, nátrium-klorid 9,00 g/l, nátrium-azid 1,00 g/l, zselatin 1,00 g/l koncentrációjú desztillált vizes oldata.

Aktívszén-szuszpenzió radioimmunoassay-hez: 1,00 g/l dextránt (Dextran T70, $M_r \approx 70000$; Pharmacia) tartalmazó radioimmunossay puffer közegben aktívszénből (Norit A,

4-7 μm ; Serva) 30 perces keveréssel 10,0 g/l-es szuszpenziót készítünk.

Szcintillációs koktél: 2/3 rész 4 g/l PPO-t (2,5-difenil-oxazolt) (Reanal) és 50 mg/l POPOP-ot (1,4-bisz[2,5(-fenil-oxazolil)]-benzolt) (Reanal) tartalmazó toluolból, valamint 1/3 rész Triton X-100-ból (polietilénglikol-4-terc-oktilfenil-éter-ből) (Reanal) készül.

Az extraktumok tisztítását Amprep C₁₈ minioszlopon (Amersham), szűrését regenerált cellulóz anyagú, 0,2 μm pórusméretű Sartorius szűrőlapon végezzük, a felhasznált egyéb vegyszerek, oldószerek (Reanal) a.l.t. minőségűek.

3. Szteroidhormonok kinyerése szövetmintákból

Szövetminták nyérése, előkészítése

Az androgén szteroidhormon tartalom szempontjából normálisnak tekinthető emberi prosztataszövetet egészségesen elhalt – a halál oka baleset vagy egyéb erőszakos behatás során bekövetkező sérülés – 30-60 éves férfiak holttestéből gyűjtöttük. A halál beállta és a boncolás között eltelt idő nem haladta meg az 50 órát. Kórosan elváltozott, benignus hiperpláziás emberi prosztataszövetet a betegség terápiája során alkalmazott prostatectomia (a túlzottan nagyra nőtt prosztatát eltávolító műtét) során nyertük. A műtétet megelőző gyógyszeres kezelés a hormonanyagcserét nem befolyásolta,

a beavatkozást általános érzéstelenítésben, altatásban végezték el. (Az emberi szövetminták gyűjtését, az azokon végzett méréseket a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Etikai Bizottsága előzetesen jóváhagyta.)

Állatkísérleteinket kifejlett, 4-5 hónapos, 350-450 g tömegű, Wistar törzsű hím patkányokkal végeztük. A prosztatát éteres altatásban, a hasfal megnyitása után távolítottuk el. A vérmintákat az állatok dekapitálása (lefejezése) után, azok nyaki aortájából gyűjtöttük össze. (Kísérleteinket a Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Állatvédő Tudományetikai Bizottságának bejelentettük.)

A műtét vagy boncolás során nyert emberi, illetve patkány prosztatát állandó 0 °C-os hűtés közben a felesleges részeitől, kötőszövetes burkától megtisztítjuk, a bomlási és metabolikus folyamatok teljes megfékezése érdekében felhasználásig -70 °C-on tároljuk. A patkány prosztata tömege 0,25-0,5 g, ezért az elegendő szövetmennyiség eléréséhez csoportonként öt-öt állat prosztatáját egyesítjük. Feldolgozás során a szövetet, ugyancsak hűtés mellett felaprítjuk, a szövetvagdalékokat összekeverjük, és abból 0,50-1,00 g-t mérünk ki a radioaktív belső standardokat bepárolva tartalmazó üvegcsövekbe.

A vérminták alakos részeit alvadás után centrifugálással (500-1000 g) elválasztjuk, s az így nyert vérszérumokat ugyancsak -70°C-on tároljuk. Az egy csoporthoz tartozó öt-öt patkány szérumainak azonos

térfogatú részleteit egyesítjük, majd e közös mintákból 4,00 ml-t mérünk a radioaktív belső standardot tartalmazó csövekbe.

Extrakció

Az extrahálószer etilacetát első 3,0 ml-es részletét – az enzimreakciók blokkolása végett – a kimérés után azonnal a szövetmintákhoz adjuk. Az emberi eredetű szövetmintákat az etilacetátos közegben késes homogenizátorral (Ultra-Turrax) 1 percig tovább aprítjuk, míg ezt a lépést a patkány prosztatánál, annak szinte folyékony állaga miatt, elhagyjuk. A 3,0 ml-es etilacetát részletekkel, jeges-vizes hűtés közben, ultrahangos keveréssel (amplitudó: 20-22 μm) 3 percig végzett extrahálást a szteroidok maradéktalan kivonására négyszer ismételjük, majd a rövid centrifugálást követően leszívott extraktumokat nitrogénatmoszférában bepároljuk.

Szérumminták 4,00 ml-es részleteit extraháljuk – a fenti körülmények között – azonos térfogatú etilacetát részletekkel. A képződő stabil emulzió megbontására a mintákat szárazjég-metanol hűtőkeverékben, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on kifagyasztjuk, majd egy óra állás után lassan kiolvasztjuk. A kondenzálódó szérumcseppecskék ülepedését egyhe centrifugálással (100-200 g) gyorsítjuk meg.

Előtisztítás

Az extraktumot 500 mg-os C_{18} -szilikagél töltetű, egyszerhasználatos minioszlopon tisztítjuk meg a kromatográfiás elválasztást zavaró lipid- és fehérjeszennyezőktől. Az adszorbenst 3,0 ml-3,0 ml metanol és desztillált víz lassú átfolyatásával kondicionáljuk, majd 2x1,5 ml 30 tf%-os metanolban oldva felvisszük a tisztítandó extraktumot. A vízben oldódó zavaró komponenseket 5,0 ml desztillált vízzel lemossuk, ezután az oszlopra kötődött szteroidokat 2,5 ml 90 tf%-os metanollal oldjuk le. Az elutumot nitrogénatmoszférában bepároljuk, 525 μ l 55 tf% metanolkoncentrációjú HPLC-eluensben feloldjuk, majd 0,2 μ m-es szűrőlapon szűrjük.

4. Androgén C_{19} -szteroidok elválasztása, izolálása nagynyomású folyadékkromatográfiával

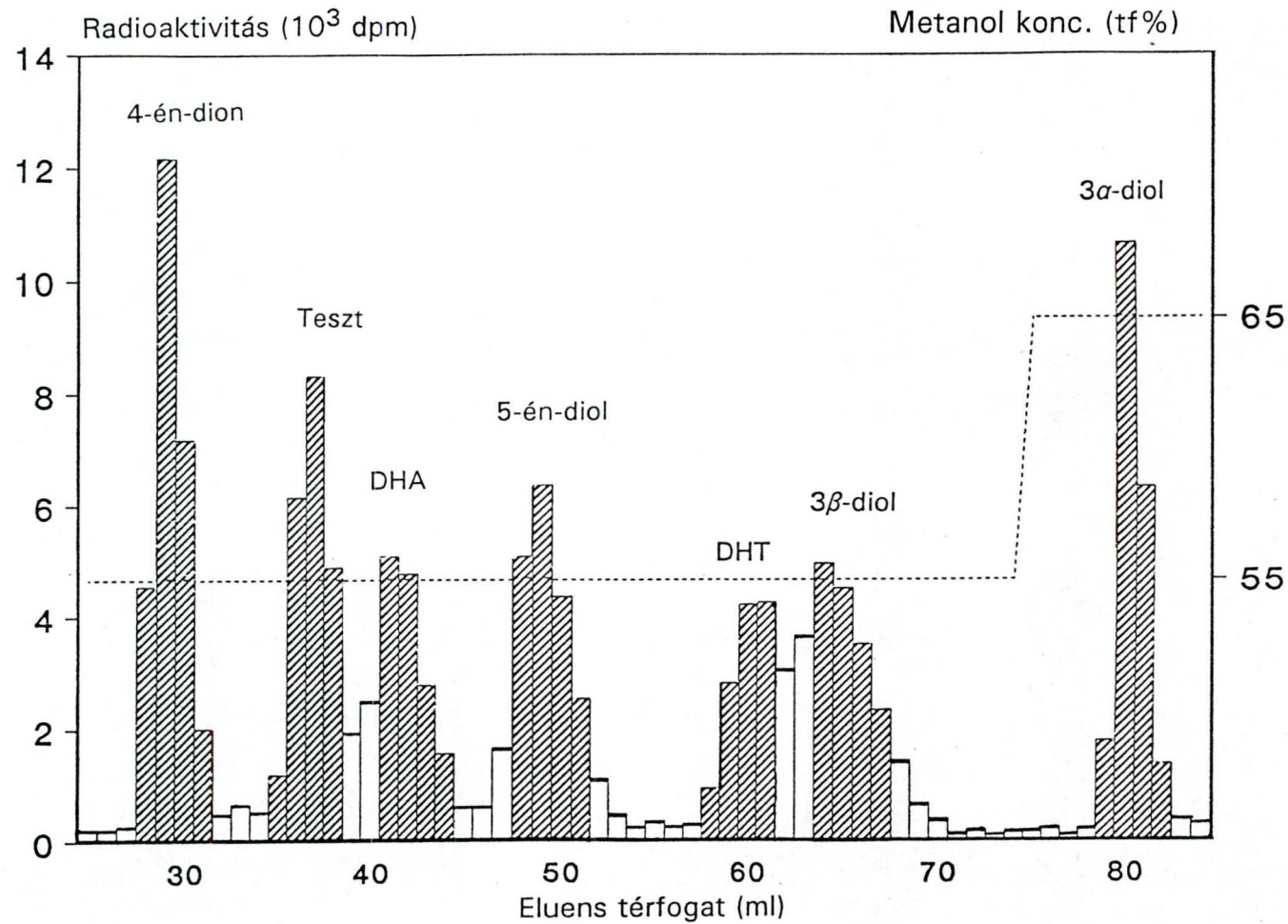
A prosztatata- és vérérszérummintákból kivont szteroidok nagynyomású folyadékkromatográfiáját (HPLC-jét) Knauer 64 típusú pumpával végezzük. A C_{18} -szilikagél töltetű oszlop hossza 250 mm, belső átmérője 4 mm, a töltet részecskeátmérője 5 μ m. Optimális elúciót – vagyis a legkevésbé szétváló szteroidok (az 5α -dihidrotesztoszteron és a 5α -androsztán- 3β , 17β -diol) még megfelelő elkülönítését – a legrövidebb futtatási idő mellett, egylépcsős gradienssel, a 0-75. ml-ig 55 tf%, 76-95. ml-ig 65 tf% metanolkoncentrációjú 0,01 M-os

nátrium-dihidrogén-foszfát-puffer oldószerrel érjük el. A kromatografálást termosztálás nélkül, szobahőmérsékleten, 21-23 MPa nyomáson végezzük. Az eluens áramlási sebessége 1,0 ml/perc, az injektált minta térfogata 400 μ l. A leoldódó szteroidokat tartalmazó eluensből automata mintaváltóval 1,0 ml-es frakciókat gyűjtünk, amelyek 0,1 ml-es részleteinek radioaktivitása alapján mindegyik szteroidra meghatározzuk a négy, legtöbb anyagot tartalmazó frakciót, és ezeket (2. ábra) egyesítjük, majd a metanoltartalmú eluens teljes bepárlásával radio-immunoassay mérésre előkészítjük.

A szteroidok leoldódási csúcsait, retenciós térfogatait az egyes vegyületek egyedi kromatografálásával határoztuk meg, majd azonosítottuk azokat a belső standardként alkalmazott szteroidelegy radiokromatogramján (2. ábra). A szteroidok leoldódási sorrendje és elúciós térfogatai: androszt-4-én-3,17-dion (4-én-dion) 30-35. ml, tesztoszteron (Teszt) 38-42. ml, dehidroepiandroszteron (DHA) 42-48. ml, androszt-5-én-3 β ,17 β -diol (5-én-diol) 50-57. ml, 5 α -dihidrotesztoszteron (DHT) 60-68. ml, 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol (3 β -diol) 67-74. ml, 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol (3 α -diol) 82-86. ml. A szétválás általában megfelelő, jelentősebb átfedés csak a 5 α -dihidrotesztoszteron és az 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol csúcsok között mutatkozott. Az oszlopra injektált és a leoldott szteroidok radioaktivitásából minden szteroidra külön-külön meghatároztuk a kromatográfiás módszerünk hatásfokát.

2. ábra

Androgén szteroidok izolálása nagynyomású folyadékkromatográfiával, triciált belső standardok radioaktivitásának detektálásával.
Oszlop: BST SI-100-S C18 5 μm (250 x 4 mm), eluens metanol-0,01 M NaH_2PO_4 -puffer, áramlási sebesség 1 ml/perc, injektált térfogat 400 μl , szedett frakciók térfogata 1 ml.



Mivel visszanyert anyagként csak a kérdéses szteroidot megközelítőleg tisztán tartalmazó frakciókat vettük figyelembe, így a visszanyerés hatásfoka általában 80 % körüli, kivéve az – egymást átfedő csúcsokban leoldó – 5α -dihirotesztoszteront és 5α -androsztán- 3β , 17β -diolt, melyek visszanyerése ezért csak 50 és 60 % közötti. A visszanyerési százalékok ingadozása az egyes futtatások között mintegy 5 %-os, míg a retenciós térfogatok – adott körülmények közötti – reprodukálhatósága $\pm 1-2$ ml.

Szteroidokat nem tartalmazó eluens mintaként történő injektálásával és kromatografálásával ellenőriztük a további elúciók során megjelenő álcsúcsok esetleges fellépését. A szedett frakciók egyikének radioaktivitása sem haladta meg az alapvonalként elfogadható 100 dpm-t (ami kevesebb, mint az eredetileg felvitt radioaktív anyagok 2 ezreléke), bizonyítva, hogy nagy szteroid-tartalmú minták futtatása utáni kromatogramokon a magas alapvonal, illetve álcsúcsok megjelenése [191] gyakorlatilag kizárt.

5. Szövetmintából izolált androgén C_{19} -szteroidok mennyiségének mérése radioimmunoassay-vel, radioaktív belső standard korrekció

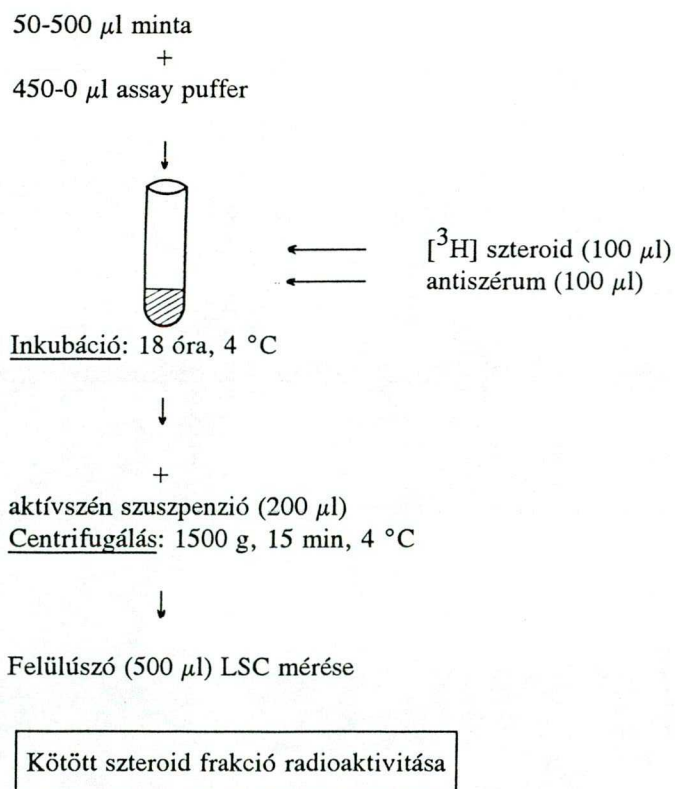
Radioimmunoassay-k

A radioimmunoassay-eket 0,1 molos foszfát puffer (pH=7,2-7,4) közegben, csövenként 700 μ l végtérfogatban

végezzük. (A HPLC eluensből származó, a szárazra párolt szteroidmintákban lévő nátrium-dihidrogén-foszfátot a feloldáskor a puffer összetételében figyelembe vesszük.) Nyomjelzőként tríciummal két helyen jelzett szteroidokat (fajlagos aktivitásuk 40-60 mCi/mmol) alkalmazunk (1. táblázat). Az immunológiai kötést egyszeri, 4 °C-on történő 18 órás inkubációban hozzuk létre. A szteroidok szabad frakcióját aktívszenes adszorpcióval távolítjuk el (200 μ l, dextránnal fedett aktívszén szuszpenzió alkalmazásával), majd mérjük a kötött frakció radioaktivitását (3. ábra). Az eredményeket számítógépes

3. ábra

Szteroidhormon radioimmunoassay menete



radioimmunoassay kiértékelő programmal, a kalibrációs görbe egyes dózisainak, illetve az ismeretlen minták kötési gátlási százalécai alapján számítjuk ki. A módszerek mérési tartománya csövenkénti 10-500 vagy 750 pg közé esik (1. táblázat).

Az antiszérumok előállításának és felhasználásának jellemzőit a 1. táblázat, míg a mért hétféle szteroidnak az egyes radioimmunoassay-kben mutatott keresztreakcióit a 2. táblázat tartalmazza. E keresztreakciók általában elhanyagolhatók, az 1-2 %-ot nem haladják meg. Kivételt a fentiek alól a tesztoszteron és a 5α -dihidrotesztoszteron, valamint a diolok (androszt-5-én- 3β , 17β -diol, 5α -androsztán- 3α , 17β -diol, 5α -androsztán- 3β , 17β -diol) meghatározásához használt antiszérumok, illetve radioimmunoassay-k képeznek. Az igen hasonló molekulaszervezet, valamint a közös (a diolok méréséhez használt anti-androszt-5-én- 3β , 17β -diol) antiszérum okozta aspecifitás a teljes mérés szelektivitását nem zavarja, mivel a kérdéses szteroidok a HPLC során tökéletesen elválaszthatók. Számos más, az élő szervezetekben előforduló szteroidhormonra vonatkozó – itt nem részletezett – keresztreakciók igen kis mértékűek, esetleges zavaró hatása a kromatográfiával teljes biztonsággal kiküszöbölhetők.

1. táblázat
Androgén szteroidok mérésére használt radioimmunoassay-k fontosabb jellemzői

Mért szteroid	DHA	5-én-diol	4-én-dion	Teszt	DHT	3 α -diol	3 β -diol
Antiszérum							
immunogén	DHA-7-CMO-BSA	5-én-diol-7-CMO-BSA	4-én-dion-3-CMO-BSA	Teszt-3-CMO-BSA	DHT-7-CMO-BSA	5-én-diol-7-CMO-BSA	5-én-diol-7-CMO-BSA
állat	kecske	kecske	nyúl	nyúl	nyúl	kecske	kecske
végigítés	1:140 000	1:154 000	1:70 000	1:49 000	1:63 000	1:77 000	1:77 000
Jelzett szteroid és fajlagos aktivitása (Ci/mmol)	[1,2- ³ H(n)]DHA	[1,2- ³ H(n)]5-én-diol	[1,2- ³ H(n)]4-én-dion	[1 β ,2 β - ³ H(n)]Teszt	[1 α ,2 α - ³ H(n)]DHT	[1 α ,2 α - ³ H(n)]3 α -diol	[1 α ,2 α - ³ H(n)]3 β -diol
	51,5	51,5	55,3	50,4	60	41	44
Kalibrációs görbe dózistartománya (pg/cső)	0-750	0-750	0-750	0-750	0-750	0-500	0-750
Kimutatási határ (pg/cső)	10	15	10	5	5	15	15

2. táblázat

Antiszerumok keresztreakciói a mért androgén szteroidokkal.

Szteroid	Antiszerumok keresztreakciói %-ban						
	anti-DHA	anti-4-én-dion	anti-5-én-diol	anti-Teszt	anti-DHT	anti-5-én-diol (3 α -diol RIA-ban)	anti-5-én-diol (3 β -diol RIA-ban)
DHA	100	1,1	9,0	<0,1	<0,1	3,6	15
4-én-dion	0,1	100	1,0	1,0	0,1	2,3	2,8
5-én-diol	2,7	<0,1	100	1,0	1,2	108	443
Teszt	0,1	0,6	16	100	103	63	15
DHT	0,2	0,2	15	47	100	127	74
3 α -diol	0,3	<0,1	13	3,2	1,9	100	39
3 β -diol	1,9	<0,1	43	10	3,7	67	100

Tríciált belső standardok alkalmazása endogén szteroidok mennyiségi mérésére

A kromatográfiásan elválasztott szteroidok feloldása után, a megfelelő RIA alikvótok kimérése mellett, azokkal azonos térfogatokat viszünk közvetlenül radioaktivitás-mérésre. Az itt kapott, illetve a szövetmintákra kiinduláskor bemért aktivitás aránya a kérdéses szteroid visszanyerési százalékát adja meg. A radioimmunoassay-t a szokásos módon végezzük, módosítást csak az eredmények kiszámítása során végzünk. A csak az ismeretlen mintákban jelen lévő, változó mennyiségű radioaktív belső standard miatt az e mintákba, valamint a kalibrációs görbébe vitt teljes aktivitás (total, T) értéke különböző. Az ismeretlen minták dózisainak helyes kiszámításához ezért a mintákra egyedileg érvényes total értékeket használunk (3. táblázat). A belső standard radioaktivitását (RA_{std}) – illetve annak a 900 μ l-es össztérfogatból a mérésre vitt 500 μ l-re eső részét, tehát 5/9-ét – a total (T) értékéhez adjuk.

$$T' = T + \frac{5}{9} RA_{std}$$

A valódi kötés gátlási százalékot ($B\%$ -t) e korrigált totállal (T' -vel) számítjuk ki, és az ismeretlen dózist, e gátlási százalék alapján kapjuk a kalibrációs görbéről. (A RA_{ria} radioimmunoassay minta radioaktivitása).

$$B\% = 100\% \cdot RA_{ria}/T'$$

A kiszámított dózis, az endogén szteroidok mellett, tartalmazza a radioaktív belső standarddal bevitt (a specifikus aktivitás alapján számítva, csövenként mintegy 10-15 pg) anyag mennyiségét, valamint a mérési eljárásoknál szokásos, anyag jelenléte nélkül mérhető "háttér" értékét. E két utóbbi, az eredményeket torzító hatást a szövetet nem, de triciált belső standardot tartalmazó, úgynevezett "vak" mintára mért értékekkel korrigáljuk: sorozatonként két-három vak minta a szokásos feldolgozási, elválasztási, mérési módszereken megy keresztül, és az arra mért szteroidmennyiséget levonjuk az ismeretlen mintákra mért értékekből. Számolási módszerünk helyességét a tesztoszteron kalibrációs görbéjén ellenőriztük (3. táblázat).

Radioaktivitás-mérés

Az eljárásunk során belső standardként és radioimmunoassay nyomjelzőként felhasznált lágy β -sugárzó tríciummal ($E_{\max}=18,3$ keV) jelzett vegyületek radioaktivitását folyadékszintillációs (LSC) módszerrel mérjük. A HPLC-frakciórészletekhez, radioimmunoassay mintákhoz adott 10 ml, toluol alapú szintillációs koktél primer szintillátorként 2,5-difenil-oxazolt (PPO-t), a kibocsátott fotonok hullámhosszát eltoló szekunder szintillátorként ("shifterként") 1,4-bisz[2,5(-fenil

3. táblázat

Radioaktív belső standard alkalmazásának ellenőrzése tesztoszteron radioimmunoassay kalibrációs görbéjén.

elméleti dózis(pg)	kalibrációs görbe			kalibrációs görbe belső standarddal (RA _{std} =10350 dpm)			
	RA _{ria} (dpm)	B%	számított dózis(pg)	RA _{ria} (dpm)	B%	számított dózis(pg)	számított dózis-vak(pg)
0	4939	92,8	0,0	8601	77,3	33,5	-0,4
15,6	4533	87,0	21,4	7663	68,9	47,1	13,2
31,3	4232	78,7	31,3	6479	58,2	67,2	33,3
62,5	3253	60,5	62,5	5245	47,1	96,4	62,5
125	2154	39,7	123	3792	34,1	155	121
250	1256	23,8	257	2448	22,0	277	243
500	749	13,9	500	1353	12,2	598	564
----- vak (csak belső stand.)	-----	-----	-----	8576	77,1	33,9	0
bevitt teljes aktivitás (total, T)	T=5378	100%	-----	T'=11125	100%	-----	-----

-oxazolil)]-benzolt (POPOP-t) tartalmaz. A minták víztartalmát Triton X-100-zal emulgeáljuk. A Packard Tri-Carb 2200CA típusú folyadékszintillációs spektrométeren végzett mérések hatásfoka 35 % körüli. Az abszolút radioaktivitás meghatározásához szükséges kvencskorrekciót külső standard minta (^{123}Ba) csatornahányadosa alapján végezzük.

6. Eredmények megadása, a módszer jellemzői

A teljes minta szteroidtartalmát a radioimmunoassay-kben kapott, pg/csőben kifejezett adatokból az egyes szteroidok visszanyerési százalékainak, valamint a minták tömegének vagy térfogatának (szöveteknél megközelítőleg 1 g, illetve szérumok esetén 4 ml) ismeretében számítjuk ki. Az eredményeket az általánosan elfogadott ng mértékegységben, 1 g nedves szövetre, illetve 1 ml szérumra vonatkoztatva adjuk meg.

A radioaktív standardokkal mért visszanyerés a különböző típusú minták között nem változott lényegesen. Az egyes szteroidokra általában 50-70 % közötti volt, míg a kromatográfia során csak nagyobb veszteséggel elválasztható 5α -dihidrotesztoszteron és 5α -androsztán- $3\beta,17\beta$ -diol esetén 35-50 % között ingadozott. Módszerünk kimutatási határát a vak minták szórásának kétszereséből, a szövetminták koncentrációhoz hasonlóan számítottuk ki. A legkisebb kimutatható koncentrációk a dehidro-

epiandroszteron és androszt-4-én-3,17-dion esetén 0,1 ng/g és 0,025 ng/ml, a tesztoszteron és 5 α -dihidrotesztoszteronnál 0,08 ng/g és 0,02 ng/ml, androszt-5-én-3 β ,17 β -diol és 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diolra 0,15 ng/g és 0,04 ng/ml, míg a 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol esetén 0,25 ng/g és 0,06 ng/ml.

Az egyes szövet, illetve szérumminták szteroidtartalmát általában két párhuzamos mérés középértékéből határoztuk meg. Az egyes mintákra mért koncentrációk reprodukálhatóságát a szórással (standard error, S.E.), és az abból számítható variációs koefficienssel (C.V.) adtuk meg. A variációs koefficienssek %-os értéke (C.V. %) a nagyobb, pontosabban mérhető koncentrációtartományban patkányminták esetén 5-10 %, míg a kevésbé reprodukálhatóan homogenizálható emberi szövetmintáknál 10-15 %. A kimutatási határ közelében a fentieknél általában mintegy 10 C.V. %-kal nagyobb variációs koefficienssek adódtak. Az egészséges és a benignus hiperpláziás emberi prosztataszövetek szteroidtartalmát a középértékkel és annak szórásával (standard deviáció, S.D.) adtuk meg, valamint Student-féle kétmintás t-próba, és Wilcoxon-Mann-Whitney-féle (U-teszt) szignifikancia vizsgálattal hasonlítottuk össze. Az eltérés mértékét a két csoport azonosságának, a nullhipotézisnek valószínűségét kifejező p és Z értékekkel jellemeztük. A számításokat a Statgraphics számítógépes programmal végeztük el.

PATKÁNY PROSZTATA ANDROGÉNHÁZTARTÁSÁNAK VIZSGÁLATA KASZTRÁLÁST KÖVETŐEN

1. Irodalmi előzmények a patkány szteroidanyagcseréjéről, vérszérum és prosztataszöveti androgénkoncentrációiról.

Ismeretes, hogy a patkányok szteroidhormon-anyagcseréje némileg eltér az emberétől, ennek ellenére a prosztataszövet androgénháztartásának vizsgálatára – mint más élettani kísérletekre is – általánosan elfogadott kísérleti állatok. A legfontosabb – nemcsak kvantitatív eltérés – hogy a patkánynak (de más könnyen tenyészthető rágcsálóknak is, például a tengerimalacnak, egérnek stb.) a mellékvesekérgében az, emberben központi preandrogén szteroidhormon, a dehidroepiandroszteron gyakorlatilag nem képződik [87, 160, 192]. A patkányoknak ezért az sem a vérében [88, 158, 160] sem pedig prosztatájában [88] nem fordul elő jelentős koncentrációban. A dehidroepiandroszteron képződését követő folyamatok – köztük a prosztatában lezajló metabolizmusa (1. ábra) – mindkét fajban gyakorlatilag megegyeznek, amelynek a patkányokba kívülről bevitt dehidroepiandroszteron átalakulása, közvetett androgénhatása [87, 88, 193] a bizonyítéka.

A perifériás célszervekben képződő, és ott az androgén hatást hordozó 5α -dihidrotesztoszteron anyagcseréje lényegesen közelebbi az emberihez. A prosztata 5α -reduktáz működésének pH-optimuma – utalva a kötőhelyek

szerkezeti különbözőségére – eltérő [194], de inhibitorokkal történő gátolhatósága az emberéhez hasonló [195-200]. Az 5α -dihidrotesztoszteronnak mindkét fajban közel azonos hatása van az egyedfejlődésre, ezen belül a prosztata kialakulására, növekedésére [12, 88, 160, 199, 201-205].

4. táblázat

Táblázat a kifejlett patkányok vérérszérum vagy plazma (se) és prosztataszövet (pr) androgén szteroidtartalmának szakirodalmi adatairól

Közlemény Szerző, megjelenés éve Mérési módszer	Minta	Patkány vérérszérum és prosztataszövet szteroidtartalma (ng/ml és ng/g nedves szövet)					
		DHA	5-én-diol	4-én-dion	Teszt	DHT	3 α -diol 3 β -diol
Bartsch és mtsai, 1980 LC-RIA, [157]	se				2,8	0,1	0,3
	pr				0,8	11,6	0,7
Corpéhot és mtsai, 1981 LC-RIA, [155]	se				3,2	0,4	0,5 0,16
	pr				2,7	10,5	0,9 0,6
Labrie és mtsai, 1989 LC-RIA, [88]	se	0,05	0,1	0,08	2,0	0,06	0,6
	pr			<0,05	0,5	4,2	
Belanger és mtsai, 1989 LC-RIA, [160]	se	0,2		0,3	3,4	0,08	
	pr					4,2	

Az életkor előrehaladtával azonban nem következik be az 5α -reduktáz aktivitásának emelkedése, a patkányok prosztataszövetének 5α -dihidrotesztoszteron-tartalmának növekedése, s valószínűleg éppen ezért prosztatamirigyük hiperpláziás elváltozása sem alakul ki [203]. (A benignus prosztata hiperplázia az emberen kívül csak a kutyaiban és az oroszlánban általános elváltozás [3, 14, 103].)

A fenti különbségek ellenére az utóbbi években számos mérést végeztek a patkányok szteroidmetabolizmusát vizsgálva, azok vérszéruma és prosztataszövege androgéntartalmának meghatározására (4. táblázat). Ezen adatok a várakozásnak megfelelően a tesztoszteron nagyobb vérszérum, illetve plazmabeli előfordulását (2,0-3,4 ng/ml), és az 5α -dihidrotesztoszteron jelentős prosztataszövetbeni koncentrációját (4-12 ng/g nedves szövet) mutatták. (E felszaporodás különösen jelentős, ha az egyes izomszövetek 0,15-0,62 ng/g-os koncentrációjához viszonyítjuk [14].)

A patkány prosztata androgénanyagcseréjére vonatkozó megfigyelések sorából hiányoztak azok az adatok, amelyek az androgénmegvonás rövid távú hatását vizsgálták a prosztatamirigy szteroidháztartására, illetve az azt hűen jellemző szöveti szteroidtartalomra, különös tekintettel a prosztata működését elsődlegesen befolyásoló 5α -dihidrotesztoszteron-koncentrációra. A több hetes kezelés után mért adatok jellemzőek ugyan a beavatkozás krónikus hatását tekintve, azonban a prosztatamirigy méretében, tömegében időközben bekövetkező csökkenés [160], a szteroidok szöveti koncentrációjának összehasonlító értékelését megnehezíti, a metabolizmusban bekövetkező változásokat elfedi.

2. Intakt és kasztrált patkányok vérszérum, valamint prosztataszöveti androgénkoncentrációi.

Saját kísérleteinkben kifejlett, hím (Wistar) patkányok prosztatájában mértük meg az annak működése szempontjából jelentős androgének (1. ábra) a dehidroepi-androszteron, az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol, az androszt-4-én-3,17-dion, tesztoszteron, 5 α -dihidrotesztoszteron, 5 α -androsztán-3 α ,17 β -diol, 5 α -androsztán-3 β ,17 β -diol koncentrációját a legegyszerűbb radikális androgénmegvonást, a kasztrálást követően. A herék eltávolításának az egész szervezet hormonháztartására gyakorolt hatását a fenti androgének szérumszintjeinek mérésével ellenőriztük. A kasztrálás után eltelt maximális idő, a prosztataszövetben bekövetkező morfológiai változásokat elkerülendő, 48 óra volt. A változások időbeni függését vizsgálva, a kasztrálás utáni 8., 12. és 24. órában is végeztünk méréseket. (A eredményeket 5-5 állatból álló csoportok egyesített szövet- és szérummintájából, két párhuzamos méréssel határoztuk meg, és a középértékkel, valamint annak szórásával (S.E.) adtuk meg.

Eredményeink szerint a kísérletbe fogott kifejlett, intakt hím patkányok szteroid szérumszintjei, valamint prosztataszöveti koncentrációik megegyeztek az irodalmi adatok alapján várhatókkal (4. táblázat). A szérumban (5. táblázat) a legfőbb, a legnagyobb koncentrációban előforduló androgén – az emberhez hasonlóan – a tesztoszteron, $2,75 \pm 0,04$ ng/ml-es koncentrációja többszörösen

5. táblázat

A kasztráció hatása a patkány vérérum 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

6. táblázat

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

magasabbnak mutatkozott a sorban utána következő 5α -androsztán- 3α , 17β -diol, illetve 5α -androsztán- 3β , 17β -diol metabolitok $0,32\pm0,03$ ng/g-os, valamint $0,21\pm0,04$ ng/g-os koncentrációjától. A perifériás szövetekben hatékony androgén, a 5α -dihidrotesztoszteron a vérben kicsiny, $0,06$ ng/ml-es szinttel van jelen. Ugyancsak a várakozásnak megfelelően adódott a dehidroepiandroszteron és az androszt-4-én- $3,17$ -dion elenyésző, $0,04$ és $0,08$ ng/ml-es koncentrációja, jelezve, hogy e két hormon a patkányok szteroid- és androgénszintézisében – az embertől eltérően – nem játszik szerepet.

A prosztataszövetben a cirkuláló androgén tesztoszteron és a perifériákon ható 5α -dihidrotesztoszteron mennyiségi viszonyai, az igen aktív 5α -reduktáznak tulajdoníthatóan megfordulnak (6. táblázat). Míg a tesztoszteron elenyésző, $0,18\pm0,01$ ng/g-os koncentrációban van jelen, addig az 5α -dihidrotesztoszteroné $16,25\pm0,15$ ng/g. Megjegyzendő, hogy ezen 5α -dihidrotesztoszteron-koncentráció mintegy 1,5-2,5-szerese az általában közölt irodalmi adatoknak, következményeképpen annak, hogy az 5α -dihidrotesztoszteron nagyobb mennyiségét a visszanyerések egyedi követésével pontosabban lehetett meghatározni. Az 5α -telített metabolitok, az 5α -androsztán- 3α , 17β -diol, illetve az 5α -androsztán- 3β , 17β -diol viszonylag nagy, $0,98\pm0,35$ és $1,26\pm0,13$ ng/g-os prosztatán belüli koncentrációja is a jelentős mennyiségben előforduló és perkurzoroknak tekinthető 5α -dihidrotesztoszteron átalakulásának

következménye. Az intraprosztatikus androgénszintézis prekursorai, az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol, az androszt-4-én-3,17-dion a szérumhoz hasonlóan kicsiny mennyiségben fordul elő, a dehidroepiandroszteron koncentrációja a prosztataszövetben is elenyésző.

Kasztrálás után – a fő androgénforrás, a here kiiktatásával – a kiürülés, a természetes metabolizmus, következtében csökken a szervezet androgénszintje. Saját méréseink szerint is, a szérumban és a prosztatában egyaránt kisebb lett az androgén szteroidhormonok és perkurzoraik szintje. Rohamos a szérum tesztoszteron eliminálódása, amelynek koncentrációja a kasztrálás utáni 8. órában, az eredeti 2,75 ng/ml-es értéknek már csak mintegy 1,5 %-a, 0,04 ng/ml. Mivel a patkányvérben a tesztoszteron gyakorlatilag szabad formában – csak a gyengén kötő albuminhoz kötve – van jelen [206-208], ezért e koncentrációcsökkenés valószínűleg gyorsabb, mint az emberben, amelyben a specifikusan és erősen kötő, úgynevezett sex hormone binding globulin a tesztoszteront nagy mennyiségben raktározza. Hasonlóan, ám a kisebb kiindulási szérum koncentrációk következtében, arányában is lassabban csökkent a többi androgén koncentrációja, de a kasztárálás után 16-20 órával azok is elérik – az általában a kimutatási határok alatti – állandó maradékkoncentrációjukat.

A prosztataszövetben a tesztoszteronszintnek a széruméhoz hasonló zuhanása, a kisebb kezdeti koncentráció miatt nem következhetett be, bár a változás így is



jelentős: a 0,18 ng/g-ról a 8. órára a kimutatási határ (0,08 ng/g) alá csökken a prosztata tesztoszterontartalma. A herék eltávolítása megszünteti a tesztoszteronnak, az 5α -reduktáz szubsztrátumának utánpótlását, így a nagy változás a jelentős 5α -dihidrotesztoszteron-tartalom csökkenésében volt kimutatható: az intakt állatok prosztatájának 16,25 ng/g-os 5α -dihidrotesztoszteron tartalma 8 óra alatt 18 %-ára, $2,88 \pm 0,02$ ng/g-ra, 16 óra alatt 6 %-ára, $0,96 \pm 0,18$ ng/g-ra csökkent. Az 5α -dihidrotesztoszteron e rövid idő alatt is teljes kiürülése ellentétes az emberével, mivel abban a mellékvesekéreg eredetű szteroidhormonok (főleg a dehidroepiandroszteron) is biztosíthatják az androgén prekursorok utánpótlását, s így a prosztataszövetben kasztrálás után is megmarad az eredeti 5α -dihidrotesztoszteron-mennyiség mintegy 50 %-a [19, 22, 209, 210]. 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 tesztoszteronprekursorok 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.

Várákozásnak megfelelően a rövid kísérleti időtartam alatt a patkányok prosztata mirigyének tömege (6. táblázat) nem változott, igazolva, hogy a kasztrálás következtében módosult androgénháztartás, az eltelt 48 óra alatt morfológiai változásokat nem okozott.

3. Következtetések

Intakt és kasztrált patkányok szérumban és prosztata-szövetében meghatározott szteroidhormon-koncentrációk alátámasztották, hogy a prosztata mirigy 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 ad a mirigy várható méretváltozásáról. A többi androgén szteroidhormonok (dehidroepiandroszteron, az androszt-5-én- 3β , 17β -diol, androszt-4-én-3, 17 -dion, 5α -androsztán- 3α , 17β -diol és 5α -androsztán- 3β , 17β -diol) mennyisége, és ennek következtében szerepe elhanyagolhatónak mutatkozott. A sebészi úton kasztrált patkányokban megállapított szérumban és prosztataszöveti szteroidkoncentrációk viszonyítási alapot adnak a más módszerekkel előidézett androgénmegvonás hatásosságának tanulmányozásához.

ANDROGÉN SZTEROIDOK VIZSGÁLATA EGÉSZSÉGES ÉS BENIGNUS HIPERPLÁZIÁS EMBERI PROSZTATÁKBAN

1. Emberi prosztataszövetek androgén szteroidtartalmának irodalmi adatai

A prosztata benignus hiperpláziája és kóros szteroid metabolizmusa összefüggésének felismerése óta (lásd Bevezetés) számos kutatócsoport vizsgálta a szteroid-hormonok prosztataszövetbeni koncentrációit, és az azokban a megváltozott sebességű enzimreakciók következtében beálló eltéréseket. Elsőként 1970-ben Siiteri és Wilson [102] határozták meg az emberi prosztata androszt-4-én-3,17-dion, tesztoszteron és 5α -dihidrotesztoszteron tartalmát. A jelentős technikai felkészültséget igénylő kettős izotópjelzéssel, egészséges és benignus hiperpláziás szövetekben meghatározott hormonkoncentrációk a 5α -dihidrotesztoszteronnál mutattak eltérést. Az emelkedett 5α -reduktáz aktivitásnak megfelelően a hiperpláziás szövetben több, átlagosan 6,0 ng/g, míg az egészségesben kevesebb, 1,3 ng/g nedves szövet 5α -dihidrotesztoszteront találtak. A későbbi kutatások is, jóllehet mérési módszerük kromatográfiás és radioimmunoassay eljárások kombinációján alapultak, hasonló eredményeket hoztak (7. táblázat): az egészséges és a hiperpláziás prosztataszövet átlagos 5α -dihidrotesztoszteron-tartalmára Geller [112] 2,1 ng/g

és 5,6 ng/g, Meikle [113] 1,3 ng/g és 4,0 ng/g, Hammond [114] 1,3 ng/g és 5,3 ng/g, Krieg [110] 1,6 ng/g és 4,5 ng/g kapott.

A többi androgén közül az 5α -dihidrotesztoszteron közvetlen prekursorának, a tesztoszteronnak a koncentrációja általában elhanyagolhatónak bizonyult, különbséget az egészséges és a hiperpláziás szövetben – az 5α -dihidrotesztoszteronnal ellentétben – nem mutatott [102, 111, 114, 116,]. Az androszt-4-én-3,17-dion ugyancsak rendkívül kis, 0,1-0,9 ng/g-os koncentrációban volt kimutatható az emberi prosztataszövetben, változását a hiperpláziás szövetben sem Siiteri és Wilson [102], sem pedig Hammod [114] nem tudta kimutatni. Hasonlóképpen nem tér el a kétféle szövettípus androszt-5-én- 3β ,17 β -diol-tartalma, amely Voigt mérése szerint 3-4 ng/g [41].

A telített diolokból, a 5α -dihidrotesztoszteron fő metabolitjaiból Geller és munkatársai a 3α - és 3β -hidroxi izomerek együttes mennyiségét határozták meg, s összhangban a benignus hiperpláziás szövet csökkent 3α - és 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz aktivitásával – valamint Bruchovsky és munkatársai megfigyelésével [99], amely szerint az enzimrendszer a hiperpláziás szövetben nagyobb 5α -dihidrotesztoszteron-tartalomtól is csak kevesebbet alakít át – az egészséges prosztatában nagyobb (10,2 ng/g-os), míg a kóros szövetben kisebb (2,3 ng/g-os) telített diol koncentrációt mutattak ki.

7. táblázat
Összefoglaló táblázat az egészséges (NORM) és benignus hiperpláziás (BPH-s) emberi prosztataszövet androgén szteroidtartalmának szakirodalmi adatairól

Közlemény Szerző, megjelenés éve, Mérési módszer	Prostataszövet típusa	Emberi prostataszövetek szteroidtartalmának középértéke és szórása, S.E. (ng/g nedves szövet)						
		DHA	5-én-diol	4-én-dion	Teszt	DHT	3 α -diol	3 β -diol
Siiteri és Wilson, 1970, [102] Kettős izotóphígítás	NORM BPH			$0,9 \pm 0,4$ $0,4 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,3$ $0,9 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,5$ * $6,0 \pm 1,0$		
Geller és mtsai, 1976, [112] TLC-RIA	NORM BPH					$2,1 \pm 0,3$ * $5,6 \pm 0,9$	összes telített diol	$10,2 \pm 2,4$ $2,3 \pm 0,4$
Krieg és mtsai, 1977, [110] TLC-RIA	NORM BPH				$0,23 \pm 0,04$	$4,4 \pm 0,4$		
Meikle és mtsai, 1978, [113] PLC-RIA	NORM BPH					$1,3 \pm 0,6$ * $4,0 \pm 1,9$	$2,5 \pm 0,6$ $0,7 \pm 0,3$	
Hammond, 1978, [114] LC-RIA	NORM BPH			$0,13 \pm 0,03$ $0,14 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,04$ $0,26 \pm 0,05$	$1,2 \pm 0,2$ * $5,3 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,5$ $1,4 \pm 0,1$	
Geller és mtsai, 1983, [115] TLC-RIA	NORM BPH					$2,2$ $5,0$		
Krieg és mtsai, 1979, [116] LC-RIA	NORM BPH				$0,2 \pm 0,1$ $0,3 \pm 0,1$	$1,6 \pm 1,0$ * $4,5 \pm 1,4$	$1,7 \pm 0,3$ $0,6 \pm 0,7$	
Walsh és mtsai, 1983, [111] HPLC-RIA	NORM BPH	}(azonos prosztatából)			$1,2 \pm 0,3$ $1,8 \pm 0,6$	$5,1 \pm 0,4$ $5,0 \pm 0,4$		
Bartsch és mtsai, 1982, [211] LC-RIA	NORM BPH					$4,9 \pm 0,8$	$1,3 \pm 0,2$	
Bartsch és mtsai, 1986, [212] LC-RIA	NORM BPH	$30 \pm 2,7$ * $20 \pm 2,9$	$3,9 \pm 1,6$ $2,9 \pm 0,6$					$2,9 \pm 0,8$ $2,1 \pm 0,3$
Voight és Bartsch, 1986, [41] RIA, @	NORM (autopsziás) NORM (szervdonorból) BPH (műtéti)					$1,6 \pm 0,4$ $4,2 \pm 0,6$ $5,1 \pm 0,8$		
Moneti és mtsai, 1986, [120] GC-MS	NORM BPH				$0,71 \pm 0,14$	$4,5 \pm 0,5$	$0,34 \pm 0,08$	$0,14 \pm 0,11$
De Jong és mtsai, 1992, [131] LC-RIA	NORM BPH				$1,4 \pm 0,6$	$5,9 \pm 0,9$		

*: Szignifikáns változás az egészséges szövet szteroidtartalmához képest.

@: A DNS-tömegre vonatkoztatott eredeti adatokból, az egészséges és BPH-s prostataszövet (átlagos, 1,7 és 2,5 ng/g nedves szövet) DNS-tartalmával [211] átszámítva.

Ugyanezt a változást mutatja a szelektíven meghatározott androsztán- 3α , 17β -diol is, mivel a hiperpláziás szövetben csak harmadakkora koncentrációban (0,6-0,7 ng/g) fordul elő, mint az egészségesben (1,7-2,5 ng/g) [113, 114, 116].

Az androgén szteroidhormonoknak a prosztatata kóros elváltozásával járó koncentrációváltozásai diagnosztikai felhasználásra is alkalmasak. 2 ng/g-os 5α -dihidrotesztoszteron-tartalom felett a prosztaták nagy valószínűséggel benignus hiperpláziásnak, esetleg karcinomásnak bizonyultak [40, 112, 115, 143, 213, 214]. A diagnózis, illetve a prognózis (a betegség várható kimenetele) nagyobb biztonsággal volt megállapítható, ha a besorolás alapja nem az egyes – a benignus hiperplázia, esetleg a karcinoma során változó – szteroidkoncentrációk, hanem azok hányadosa volt. Hammond megfigyelései szerint [114] a telített diolok és az 5α -dihidrotesztoszteron koncentrációinak hányadosa egészséges prosztataszövetben 3,6, benignus hiperpláziásban 0,3, míg karcinomásban 8,3 körüli érték, mutatva a kétféle pathológiai elváltozás, valamint a 3α - és 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz aktivitásának eltérő kapcsolatát. E felismerések gyakorlati alkalmazhatóságához Albert és munkatársai e szteroidhormon-koncentrációk, illetve arányok meghatározását biopsziával nyerhető, igen kis (50 mg körüli) mennyiségű szövetmintákból is megoldották [165].

A prosztataszöveti 5α -dihidrotesztoszteron ugyancsak plauzibilisnek és szenzibilisnek mutatkozott az 5α -reduktázt gátló antiandrogének hatásának vizsgálatakor. Benignus prosztata hiperpláziás betegek egy hetes finaszterid kezelése jelentősen, mintegy 92 %-kal csökkentette a szövet 5α -dihidrotesztoszteron koncentrációját [142].

A fenti tanulmányok közül különösen értékes adatokat tartalmaz Hammondnak az az 1978-as közleménye [114], amelyben a számos androgénen kívül még a progeszteron (pregn-4-én-3,20-dion) és a 17α -hidroxiprogészteron (17α -hidroxipregn-4-én-3,20-dion) prosztataszövetbeni koncentrációja is szerepel, sőt e mérésekből a szteroidhormonok életkor szerinti változása is megismerhető. Ugyancsak lényeges megállapítása, hogy az egészséges prosztata különböző szelvényeinek szteroidtartalmában – Siiteri és Wilson eredményeivel [102] részben ellentmondóan – nincs lényeges különbség. Külön említésre méltó, hogy Moneti és munkatársai [120, 122] gázkromatográfia-tömegspektrometeres mérési módszerükkel megerősítették a hiperpláziás prosztataszövet androgén tartalmára általában radioimmunoassay-kel kapott eredményeket.

A emberi prosztataszövet szteroidtartalmának meghatározását szolgáló kutatások mindvégig kérdéses pontja maradt az autopsziával, tehát boncolás során nyert egészséges, valamint műtéti eredetű hiperpláziás szövetek szteroidkoncentrációinak összehasonlíthatósága. A benignus hiperpláziás prosztaták gyakorinak számító

műtéti eltávolításával ellentétben, egészséges prosztatákat nem, vagy csak kivételes esetekben (húgyhólyag karcinóma műtéti kezelése) távolítanak el az emberi szervezetből. Ezek a szövetminták kizárólag holttestekből, például baleset következtében elhunyt férfiak boncolása során gyűjthetők. Számos kutató ezért ellenőrizte, és változatlannak találta a prosztataszövet szteroidtartalmát a halál beállta és a boncolás között eltelt idő alatt, a holttestek tárolási feltételeit imitáló körülmények mellett. Albert és munkacsoportja egészen a halált követő 35. óráig mért azonos androgénkoncentrációkat a már lebomlásnak induló szövetekben [215], ezért azokat összehasonlíthatónak fogadta el az élő szervezetből műtéti úton kivett szövetek androgéntartalmával. Malinin megfigyelései szerint még a prosztata szteroidkonvertáló enzimejei is megőrizték eredeti aktivitásukat a halál utáni 15. óráig [216]. Ellentétes álláspontot képviselnek, így a műtéti és a boncolással nyert szövetekben kapott eredményeket összehasonlíthatatlannak tartják Walsh és munkatársai [111], akiknek mérései az 5α -dihidrotesztoszteron szöveti koncentrációjának halál utáni fokozatos csökkenését jelezték. Vizsgálataikat ezért az azonos prosztatából származó egészséges, és hiperpláziás szövetrészleteken végezték, amelyekben (az 7. táblázat szerinti) közel egyenlő 5α -dihidrotesztoszteron-tartalmat mutattak ki. Voight és Bartsch [41] szervdonorokból kivett egészséges prosztatamintákban talált a hiperpláziás szövetekét

megközelítő 5α -dihidrotesztoszteron-koncentrációt. A szövetminták eredete a szteroidkoncentrációk egzakt méréséhez ebben az esetben megfelelő, a kapott adatok kiértékelését azonban kérdésessé teszi a – szerzők egy korábbi közleményében [211] megadott – átlagos DNS koncentrációk (egészséges prosztataszövetre 1,7 ng/g nedves szövet, benignus hiperpláziás prosztataszövetre 2,5 ng/g nedves szövet) megbízhatósága, vonatkoztatási alapként való alkalmazhatósága.

2. A szteroidtartalom változásának meghatározása emberi prosztataszövetben a halál beállta és a boncolás között.

A benignus hiperpláziás prosztaták gyakran számító műtéti eltávolításával ellentétben, egészséges prosztatákat nem távolítanak el a szervezetből. Módszerünk mintegy egy grammos szövetmintaigénye – valamint az orvosetikai szabályok – miatt ez utóbbi esetben a biopsziás mintavételt sem alkalmazhattuk. Egészségesnek számító, tehát a kóros szövetekhez képest viszonyítási alapot jelentő szövetmintákat így kizárólag holttestekből, egészségesen – tehát például baleset következtében – elhunyt férfiakkól gyűjthettük.

Eldöntendő, hogy az általunk vizsgált, holttestekből származó, a halál beálltát követően 25-50 órával kiboncolt, valamint az élő szervezetből kiműtött prosztaták szteroidtartalma összehasonlítható-e, megfigyeltük egy-egy szövetmintában e koncentrációk

időbeni változásait. A 30 évesen elhunyt Zs. A. egészséges prosztatáját a halál beállta után 25 órával gyűjtöttük, majd ennek 5-7 g-os részét – imitálva a többi szövet bomlásának feltételeit – levegőtől elzártan, 4°C-on, további 25 óráig tartottuk. A benignus hiperpláziás prosztaták közül Z. A. 67 éves beteg közvetlenül a műtét után begyűjtött mintáját "kezeltük" hasonlóan, tehát annak egy-egy részletét 25, illetve 50 óráig tartottuk levegőtől elzártan 4°C-on. (A mintákat a procedura után feldolgozásig a szokásos módon, -70°C-ra lehűtve tároltuk.)

A 8. táblázatban összefoglalt, 2-5 párhuzamos mérés középértékét és szórását bemutató mérési eredmények szerint a szövetek természetes lebomlási feltételeit imitáló 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. A hiperpláziás szövet dehidroepiandroszteron-tartalmának, és mindkét szövettípus androszt-5-én-3 β ,17 β -diol koncentrációjának 25 óránkénti megkétszereződését mutattuk ki.

8. táblázat

Autopsziával nyert egészséges, és műtéti eredetű benignus hiperpláziás (BPH-s) emberi prosztata szövet-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.)

Prosztata szövet- 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

Kisebb mértékű növekedést tapasztalhattunk az androszt-4-én-3,17-dion (25 óra alatt 0,55 ng/g-ról 1,1 ng/g-ra) és az 5α -dihidrotesztoszteron (50 óra alatt 7,8 ng/g-ról 15 ng/g-ra) 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 szöveti koncentrációi a minták tárolása, lebomlása során gyakorlatilag teljesen változatlanak bizonyultak.

A fenti eredmények alapján nyilvánvaló, hogy a mintagyűjtési idő alatt az intraprosztatikus androgénmetabolizmus kiindulási szteroidjai a dehidroepi-androszteron és az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol felszaporodnak a prosztataszövetben, így koncentrációik csak azonos eredetű, műtétilag nyert szövetmintákon vizsgálathatók. A további androgének, az androszt-4-én-3,17-dion, a tesztoszteron, a 5α -dihidrotesztoszteron, az 5α -androsztán-3 α ,17 β -diol, valamint az 5α -androsztán-3 β ,17 β -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. Egészséges és benignus hiperpláziás emberi prosztatamintákban mért androgén szteroidkoncentrációk és megbeszélésük.

Az emberi prosztaták szteroidkoncentrációinak vizsgálata során 5 egészséges (autopsziából származó) és 8 benignus hiperpláziás (műtéti eredetű) prostata androgén-tartalmát határoztuk meg. A két csoporton belül az egyes androgének koncentrációi homogénnek bizonyultak. Tendenciózus változást sem a donor életkorával, sem – autopsziás minták esetén – halál bekövekezte után eltelt idővel nem mutattak (9. és 10. táblázat), ezért az egyedi koncentrációk középértékeit (és a középérték szórását, standard deviációját) is kiszámítottuk. A hullából származó szövetminták dehidroepiandroszteron és androszt-5-én-3 β ,17 β -diol-tartalma a mintagyűjtés alatt változhatott, azért az egészséges prosztatákra jellemző adatként nem volt elfogadható, így azok a végső kiértékelésből (4. ábra) is kimaradtak.

Mérési eredményeink mind az egészséges, mind a hiperpláziás prosztaták szteroidtartalmát illetően hasonlóan mutatkoztak az irodalomban korábban közölt adatokkal (7. táblázat). Kivételt a dehidroepiandroszteron és az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol adatai jelentettek, mivel azoknak a megbízható, hiperpláziás mintákban mért koncentrációi kisebbnek mutatkoztak a korábban egyedül csak Bartsch és munkatársai által meghatározottaknál [212]. Ennek lehetséges oka a Bartschék által

9. 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

10. táblázat

Benignus prosztata hiperpláziás egyének műtétrel 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							



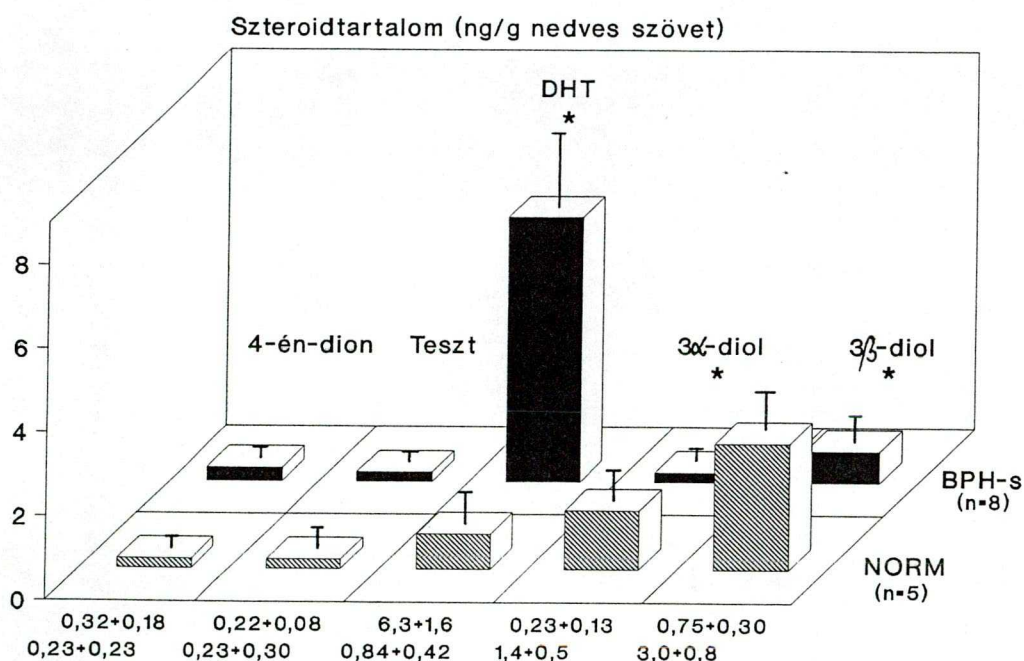
felhasznált antiszérum nem kielégítő specifitása – kromatográfiás elválasztás nélkül az androszt-5-én-3 β ,17 β -diollal együtt más diolokat is mértek – illetve a dehidroepiandroszteronnak a lebomlási folyamatok során, általunk is tapasztalt felszaporodása volt.

A prosztatán belüli szteroidmetabolizmus kiindulási vegyületének, a dehidroepiandroszteronnak átlagos mennyiségét a hiperpláziás szövetben $2,6 \pm 1,1$ ng/g nedves szövetnek találtuk. Bár a prosztata növekedésére közvetlenül nincs hatással, viszonylag nagy mennyisége lehetséges prekursor szerepének fontosságát hangsúlyozza. Mellékvesekéregből származó folyamatos utánpótlása, majd a prosztatában végbemenő átalakulása okozhatja, hogy a fő androgénforrás here eltávolítása után sem csökken a prosztata 5 α -dihidrotesztoszteron- tartalma az eredeti szint 50 %-a alá [19, 22, 209, 210]. Az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol a hiperpláziás, míg az androszt-4-én-3,17-dion mindkét prosztatatípusban kis koncentrációban volt kimutatható, így jelentőségük az androgénhatás szempontjából valószínűleg elhanyagolható. Egyes vélemények szerint azonban az androszt-5-én-3 β ,17 β -diol ösztrogén-szerű hatásánál fogva érzékenyíteni képes az androgén-receptorokat [3, 14, 41, 91, 212, 217-226], ezért koncentrációja és annak tényleges változása továbbra is kutatások tárgyát kell hogy képezze.

Mint ismeretes, mind a normál, mind pedig a hiperpláziás szövetben nagy aktivitással jelen levő 5 α -reduktáz katalizálja a prosztata androgén

4. ábra

Androgén szteroidhormonok koncentrációi boncolás során nyert egészséges (NORM), és műtéti úton kivett benignus hiperpláziás (BPH-s) emberi prosztataszövet-mintákban. (középérték $\pm$ szórás, S.D.; * szignifikáns különbség $Z < 0,005$, $p < 5 \cdot 10^{-5}$ -vel)



metabolizmusának központi lépését, a tesztoszteron $\rightarrow$ $\rightarrow$ 5α -dihidrotesztoszteron átalakulását. A hiperpláziás prosztataszövetek bizonyítottan nagyobb 5α -reduktáz aktivitásának következtében azok 5α -dihidrotesztoszteron-tartalmát ($6,3 \pm 1,6$ ng/g) szignifikánsan, mintegy hétszer nagyobbak is találtuk, mint az egészséges prosztataszövetekét ($0,84 \pm 0,42$ ng/g). E különbség a prekursor tesztoszteron szöveti koncentrációjában nem

mutatkozott meg, mivel a vér által nagy mennyiségben szállított utánpótlása a – mindkét szövettípusban 0,23 ng/g körüli – egyensúlyi szöveti koncentrációit a fokozott metabolizmustól függetlenül alakítja ki.

A gyors képződés mellett ugyancsak az 5 α -dihidrotesztoszteron koncentrációjának emelkedését idézi elő, annak gátolt metabolizmusa. E gátlás egyik összetevője a hiperpláziás prosztaták nagyobb androgénreceptor-tartalma [116, 227, 228], amely az egészséges szövetnél több 5 α -dihidrotesztoszteront képes megkötni, s így kivonni azt az anyagcsere folyamatokból. Nagyobb hatású ennél a prosztatán belüli metabolizáló enzimek, a 3 α - és a 3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz jelentősen csökkent aktivitása. E két enzim által egyensúlyi reakcióban előállított telített diolok, az 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 szemléletesen 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 annak csak mintegy tized-huszadrésze, 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; tehát annak ellenére, hogy a 3α - és 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz aktivitása hiperpláziás szövetben jelentősen csökkent, a kétféle enzimreakció sebességének aránya állandó maradt.

4. Következtetések

Egészséges és benignus hiperpláziás emberi prosztaták szövetmintái androgén szteroidtartalmának meghatározásával megerősítettük – az emelkedett 5α -reduktáz, és a csökkent 3α - és 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz aktivitásból következő – 5α -dihidrotesztoszteron-felszaporodást. Kimutattuk, hogy a hiperpláziás szövetben jelentős gátlást szenvedő 3α - és 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenázok aktivitásának aránya nem változik, produktum vegyületeik (5α -androsztán- 3α , 17β -diol, 5α -androsztán- 3β , 17β -diol) az egészséges és a kóros prosztatákban is azonos arányban fordulnak elő. A többi androgének közül az androszt-4-én-3, 17 -dion és a tesztoszteron egészséges és hiperpláziás szövetben mért koncentrációi azonosnak és igen csekélynek bizonyultak. A dehidroepiandroszteron és az androszt-5-én- 3β , 17β -diol esetén e koncentrációk – a szövetminták eltérő eredete miatt – összehasonlíthatatlanok voltak.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az idősödő férfiak népbetegségének számító benignus prosztata hiperplázia egyik fő oka az androgénhatású szteroidhormonok prosztatán belüli anyagcseréjének kóros megváltozása, a leghatásosabb androgén, az 5α -dihidrotesztoszteronnak a prosztata szövetbeni felszaporodása. A szteroidhormonok prosztatán belüli metabolizmusának, növekedésben játszott szerepének részleteit kiderítendő, emberi és patkány prosztataszövetek, valamint patkány vérszérum szteroidtartalmát vizsgáltuk. Az e célra kifejlesztett módszer az extrakció, az oszlopkromatográfiás előtisztítás és a nagynyomású folyadékkromatográfiás elválasztás következtében az egyes szteroidokra teljesen specifikusnak, valamint a radioimmunoassay mérés miatt igen érzékenynek bizonyult. Az eljárás reprodukálhatóságát triciált belső standardok segítségével biztosítottuk.

Patkánykísérletben a kasztrálással előidézett androgénmegvonás a szérumtesztoszteron-szint rohamos csökkenését okozta, amelyet a prosztatában – az ott a tesztoszteronból képződő – 5α -dihidrotesztoszteronnak a lassabb, de ugyancsak teljes kiürülése követte. A többi, mind a szérumban, mind pedig a prosztataszövetben kis koncentrációban jelen lévő androgén szteroidhormonok is eliminálódtak. A kísérlet 48 órás időtartama alatt a prosztatamirigy tömege változatlan maradt.

Egészséges és benignus hiperpláziás emberi prosztataszövet-mintákon végzett méréseinkkel igazoltuk, hogy a hiperpláziás szövetben emelkedik a fokozott sejtproliferációt indukáló 5α -dihidrotesztoszteron koncentráció. Kimutattuk, hogy hiperpláziában az 5α -dihidrotesztoszteront metabolizáló 3α - és 3β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz enzimek aktivitása arányosan csökken. Produktumaik, az 5α -androsztán- $3\alpha,17\beta$ -diol és a 5α -androsztán- $3\beta,17\beta$ -diol szignifikánsan kisebb koncentrációban, de az egészségesével azonos arányban vannak jelen a hiperpláziás szövetben. Az androszt-4-én- $3,17$ -dion és a tesztoszteron kétféle prosztataszövetben mért koncentrációi azonosak és igen csekélyek. A dehidroepiandroszteron és az androszt-5-én- $3\beta,17\beta$ -diol tartalmak az autopsziás, illetve műtéti eredetű, egészséges és hiperpláziás szövetmintákban összehasonlíthatatlannak bizonyultak.

Patkánykísérleteink eredményei összehasonlítási alapot adnak más androgénmegvonási módszerek hatásának vizsgálatához, míg az emberi prosztataszövetben mért szteroidhormon-koncentrációk a hiperpláziában megváltozott androgén-metabolizmus egyes részleteit derítették fel. A prosztataszövet androgéntartalmának meghatározására kifejlesztett módszerünk általános, más szövetek szteroidhormon-koncentrációinak mérésére is alkalmazható.

JELÖLÉSEK ÉS RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

BPH	–	benignus prosztata hiperplázia (jóindulatú prosztata megnagyobbodás)
BSA	–	marha szérum albumin (bovine serum albumin)
B%	–	kötés gátlási százalék
CMO	–	karboximetil-oxim
C.V.%	–	variációs együttható %-ban
DHA	–	dehidroepiandroszteron (3 β -hidroxian-droszt-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
DNS	–	dezoxiribonukleinsav
E _{max}	–	β -sugárzás maximális energiája
4-én-dion	–	androszt-4-én-3,17-dion
5-én-diol	–	androszt-5-én-3 β ,17 β -diol
GC	–	gázkromatográfia
HPLC	–	nagynyomású folyadékkromatográfia
3 α -HSD	–	3 α -hidroxiszteroid-dehidrogenáz
3 β -HSD	–	3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz
17 β -HSD	–	17 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz
Δ^5 -3 β -HSD	–	3 β -hidroxiszteroid-dehidrogenáz/ Δ^5 -4- -izomeráz
LC	–	folyadékkromatográfia
mRNS	–	hírvivő(messenger)-ribonukleinsav
MS	–	tömegspektrometria
NAD	–	nikotinamid-adenin-dinukleotid
NAD(P)	–	nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NORM	–	egészséges, normális
p	–	két mintacsoport azonosságának (nullhipotézis) valószínűsége Student-féle kétmintás t-próbával
PLC	–	közepesnyomású folyadékkromatográfia

POPOP	–	1,4-bisz[2,5(-fenil-oxazolil)]-benzol
PPO	–	2,5-difenil-oxazol
ppt	–	egy billiomod (10^{-12}) résznyi (parts per trillion)
pr	–	prosztata
5 α -R	–	5 α -reduktáz
RIA	–	radioimmunoassay
RA _{ria}	–	radioimmunoassay minta radioaktivitása
RA _{std}	–	belső standard radioaktivitása
S.A.	–	fajlagos (specifikus) aktivitás
S.D.	–	standard deviáció
S.E.	–	standard hiba (error), szórás
se	–	vérserum vagy plazma
T	–	teljes (total) bevitt radioaktivitás
T'	–	belső standarddal korrigált teljes bevitt (total) radioaktivitás
Teszt	–	tesztoszteron (17 β -hidroxiandroszt-4-én-3-on)
TLC	–	vékonyrétegkromatográfia
WHO	–	Egészségügyi Világszervezet (World Health Organisation)
Z	–	a két mintacsoport azonosságának (nullhipotézis) valószínűsége Wilcoxon-Mann-Whitney-féle U-próbával

IRODALOM

1. Az értekezés témájából megjelent publikációk

Szécsi M., Tóth I., Faredin I.: Szöveti szteroid-konvertáló enzimek vizsgálata kettősjelöléssel ($^{14}\text{C}/^3\text{H}$). Magyar Kémikusok Egyesülete Csongrád Megyei Ifjú Kémikusok Köre Kémiai Előadó Napok, XIII. Tudományos Szimpóziuma Szeged, 1990. okt. 30. - nov. 1. ELőadásvázlatok p. 34. (abstr.)

Szécsi M., Tóth I., Faredin I.: $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ kettős jelölés alkalmazása szteroidok identifikálására Izotóptechnika, Diagnosztika 33, 249-258. 1990.

Szécsi M., Tóth I., Faredin I.: Prosztataszövet szteroidtartalmának meghatározása HPLC-RIA módszerrel. Magyar Élettani Társaság LVI. Vándorgyűlése Szeged, 1991. aug. 27-30. Előadás és Poszter Kivonatok p. 204. (P86) (abstr.)

Szécsi M., Tóth I., Faredin I.: Determination of androgen steroids in prostatic tissue. Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság 41. Nagygyűlése Szombathely, 1991. szept. 26-28. Laboratóriumi Diagnosztika 18(3), F-3-10, 1991. (abstr.)

Szécsi M., Tóth I., Faredin I.: Radioaktív androgén szteroidok és prekursoraik elválasztása nagynyomású folyadékkromatográfiával. Izotóptechnika, Diagnosztika 34, 111-114. 1991.

Szécsi M., Tóth I., Faredin I.: Patkány prosztata szteroidtartalmának változása kasztrálás után. Magyar Endokrinológiai és Anyagcsere Társaság XIV. Kongresszusa Szombathely, 1992. aug. 24-26. Kivonatok P-IV-6 (abstr.)

Szécsi M., Tóth I., Faredin I.: Comparative study of methods for investigation of the androgen metabolism. Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság 42. Nagygyűlése Veszprém, 1992. szept. 24-26. Laboratóriumi Diagnosztika 19(3), P9-41, 1992. (abstr.)

Szécsi M., Tóth I., Rengei B., Scultéty S., Faredin I.: Androgenic steroids in normal and hyperplastic tissue samples from human prostates. 5th Symposium on the Analysis of Steroids Szombathely, 1993. May 3-5. Abstract P-40.

Tóth I., Tuba Z., Horváth J., Scultéty S., **Szécsi M.,** Faredin I.: Inhibition of human testicular and dermal Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in vitro. 5th Symposium on the Analysis of Steroids Szombathely, 1993. May 3-5. Abstract P-42.

Szécsi M., Tóth I., Faredin I.: Az emberi prosztataszövet androgén szteroidtartalmának változása benignus hiperpláziában. MTA Szteroidkémiai Munkabizottság Ülése Szeged, 1993. szept. 28.

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. (in press)

Tóth I., Tuba Z., Horváth J., Scultéty S., **Szécsi M.,** Faredin I.: Inhibition of human testicular and dermal Δ^5 -3 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in vitro. In: Advances in Steroid Analysis '93 (Eds: S. Görög, E. Heftmann) Akadémiai Kiadó, Budapest, 1993. (in press)

2. Irodalomjegyzék

1. Swyer G. J. M.: Postnatal growth changes in human prostate. *J. Anat. (London)* **78** (1944) 130.
2. McNeal J. E.: Anatomy of the prostate and morphogenesis of BPH. *Prog. Clin. Biol. Res.* **145** (1984) 27.
3. Wilson J. D.: The pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Am. J. Med.* **68** (1980) 745.
4. Walsh P. C.: Human benign prostatic hyperplasia: Etiological considerations. *Prog. Clin. Biol. Res.* **145** (1984) 1.
5. Meikle W. A.: The endocrinology of the prostate and benign prostatic hyperplasia. In *Endocrinology* (Edited by J. L. De Groot), W. B. Saunders Company, Philadelphia, Vol. 3. (1989) pp. 2152-2160.
6. Bruchovsky N., Wilson J. D.: The conversion of testosterone to 5α -androstan- 17β -ol-3-one by rat prostate in vivo and in vitro. *J. Biol. Chem.* **243** (1968) 2012.
7. Bruchovsky N., Wilson J. D.: The intranuclear binding of testosterone and 5α -androstan- 17β -ol-3-one by rat prostate. *J. Biol. Chem.* **243** (1968) 5953.
8. Gorski J., Toft D., Shyamala G., Smith D., Notides A.: Hormone receptors: studies on the interaction of estrogen with uterus. *Recent Prog. Horm. Res.* **24** (1968) 45.
9. Anderson K. M., Liao S.: Selective retention of dihydrotestosterone by prostatic nuclei. *Nature* **219** (1968) 277.
10. Pegg A. E., Williams-Ashman H. G.: Effects of androgens on incorporation of labeled amino acids into proteins by prostate mitochondria. *Endocrinology* **82** (1968) 603.
11. Davies P., Griffiths K.: Stimulation of ribonucleic acid polymerase activity in vitro by prostate steroid-protein receptor complexes. *Biochem. J.* **136** (1973) 611.
12. Bruchovsky N., Lesser B., Van Doorn E., Craven S.: Hormonal effects on cell proliferation in rat prostate. *Vitam. Horm.* **33** (1975) 61.
13. Jensen E. V., Greene G. L., Closs L. E., De Sombre E. R., Nadji M.: Receptors reconsidered: a 20-year perspective. *Recent Prog. Horm. Res.* **38** (1982) 1.
14. Mooradian A. D., Morley J. E., Korenman S. G.: Biological actions of androgens. *Endocr. Rev.* **8** (1987) 1.

15. Horton R.: Testicular steroid secretions, metabolism, and mode of action. In *Endocrinology* (Edited by J. L. De Groot), W. B. Saunders Company, Philadelphia, Vol. 3. (1989) pp. 2146.
16. IUPAC and IUB Enzyme Nomenclature, Elsevier, Amsterdam, (1973).
17. Fransworth W. E., Brown J. R.: Metabolism of testosterone by the human prostate. *J. Am. Med. Ass.* **183** (1963) 140.
18. Fransworth W. E., Brown J. R.: Testosterone metabolism in the prostate. In *Biology of the Prostate and Related Tissues*. Monographs. (Edited by E. P. Vollmer) National Cancer Institute, Bethesda, Vol. **12**. (1963) pp. 323-329.
19. Pike A., Peeling W. B., Harper M. E., Pierrepont C. G., Griffiths K.: Testosterone metabolism in vivo by human prostatic tissue. *Biochem. J.* **120** (1970) 443.
20. Frederiksen D. W., Wilson J. D.: Partial characterization of the nuclear reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate: 4-3-ketosteroid 5 α -oxidoreductase of rat prostate. *J. Biol. Chem.* **246** (1971) 2584.
21. Becker H., Kaufmann J., Klosterhalfen H., Voigt K. D.: In vivo uptake and metabolism of ³H-testosterone and ³H-5 α -dihydrotestosterone by human benign prostatic hypertrophy. *Acta Endocr., Copenh.* **71** (1972) 589.
22. Harper M. E., Pike A., Peeling W. B., Griffiths K.: Steroids of adrenal origin metabolized by human prostatic tissue both in vivo and in vitro. *J. Endocr.* **60** (1974) 117.
23. Morfin R. F., Stefano S. D., Bercovici J. P., Floch H. H.: Comparison of testosterone, 5 α -dihydrotestosterone and 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol metabolism in human normal and hyperplastic prostates. *J. Steroid Biochem.* **9** (1978) 245.
24. Habib F. K., Beynon L., Chisholm G. D., Busuttil A.: The distribution of 5 α -reductase and 3 α (β)-hydroxysteroid dehydrogenase activities in the hyperplastic human prostate gland. *Steroids* **41** (1983) 3049.
25. Houston B., Chisholm G. D., Habib F. K.: Evidence that human prostatic 5 α -reductase is located exclusively in the nucleus. *FEBS Lett.* **185** (1985) 231.
26. Rennie P. S., Bruchovsky N., McLoughlin M. G. et al.: Kinetic analysis of 5 α -reductase isoenzymes in benign prostatic hyperplasia (BPH). *J. Steroid Biochem.* **19** (1986) 169.

27. Faredin I., Tóth I., Oszlány J., Scultéty S.: In vitro study of rat prostate 5 α -reductase activity and its inhibition. *Intern. Urol. and Nephrol.* **24** (1992) 145.
28. Mauvais-Jarvis P., Guillemant S., Corvol P., Floch H. H., Bardou L.: Metabolism of radioactive 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol. *Steroids* **16** (1970) 173.
29. Hobkirk R.: *Steroid Biochemistry*. CRC Press, Boca Raton, Vol. **1**. (1979).
30. Griffiths K., Eaton C. L., Harper M. E., Peeling B., Davies P.: Steroid hormones and the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Eur. Urol.* **20** (1991) 68.
31. Morfin R., Floch H.: 7 α -hydroxylation du 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol dans la prostate humaine normale et hyperplasique. *C.R. acad. Sci. Paris* **285** (1977) 897.
32. Morfin R.F., Di Stefano S., Charles J.-F., Floch H. H.: Precursors for 6 β and 7 α -hydroxylations of 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol by human normal and hyperplastic prostates. *Biochimie* **59** (1977) 637.
33. Ofner P., Vena R. L., Morfin R. F.: Acetylation and hydroxylation of 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol by prostate epididymis. *Steroids* **24** (1974) 261.
34. Ofner P., Vena R. L., Leav I., Hamilton D. W.: Metabolism of C₁₉-radiosteroids by explants of canine prostate and epididymis with disposition as hydroxylated products: a possible mechanism of androgen inactivation. *J. Steroid Biochem.* **11** (1979) 1367.
35. Morfin R. F., Di Stefano S., Bardou L. G., Floch H. H.: Biosynthesis of [1,2-³H]-5 α -androstane-3 β ,7 α ,17 β -triol. *Biochimie* **59** (1977) 649.
36. Horst H.-J., Dennis M., Kaufmann J., Voigt K.-D.: In vivo uptake of [³H]-5 α -androstane-3 α ,17 β -diol and of [³H]-5 α -androstane-3 β ,17 β -diol by human prostatic hypertrophy. *Acta Endocr., Copenh.* **79** (1975) 394.
37. Malathi K., Gurpide E.: Metabolism of 5 α -dihydrotestosterone in human benign hyperplastic prostate. *J. Steroid Biochem.* **8** (1977) 141.
38. Isaacs J. T., McDermott I.R., Coffey D. S.: Characterization of two new enzymatic activities of the rat ventral prostate: 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol 6 α -hydroxylase and 5 α -androstane-3 β ,17 β -diol 7 α -hydroxylase. *Steroids* **33** (1979) 675.
39. Isaacs J. T., McDermott I.R., Coffey D. S.: The identification and characterization of a new C₁₉O₃ steroid metabolite in the rat ventral prostate: 5 α -androstane-3 β ,6 α ,17 β -triol. *Steroids* **33** (1979) 639.

40. Morfin R. F., Di Stefano S., Charles J.-F., Floch H. H.: 5α -androstane- $3\beta,17\beta$ -diol and 5α -androstane- $-3\beta,7\alpha,17\beta$ -triol in the human hyperplastic prostate. *J. Steroid Biochem.* **12** (1980) 529.
41. Voigt K.-D., Bartsch W.: Intratissular androgens in benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer. *J. Steroid Biochem.* **25** (1986) 749.
42. Tunn S., Claus S., Schulze H., Braun B.-E., Krieg M.: 5α -androstane- $3\beta,17\beta$ -diol hydroxylating enzymes in stroma and epithelium of human benign prostatic hyperplasia (BPH). *J. Steroid Biochem.* **28** (1987) 257.
43. Edwards L.: History of nonsurgical treatment. In *Benign Prostatic Hypertrophy* (Edited by F. Hinman). Springer, New York (1983) pp. 30-34.
44. Moore R. A.: Benign hypertrophy of the prostate. A morphological study. *J. Urol.* **50** (1943) 680.
45. Moore R. A.: Benign hypertrophy and carcinoma of the prostate: Occurrence and experimental production in animals. *Surgery* **16** (1944) 152.
46. Franks L. M.: Benign prostatic hyperplasia of the prostate. *Ann. R. Coll. Surg.* **14** (1950) 92.
47. Harbitz T. B., Haugen O. A.: Histology of the prostate in elderly men. *Acta Pathol Microbiol. Immunol. Scand.* **80** (1985) 756.
48. Isaacs J. T.: Epidemiology and natural history of benign prostatic hyperplasia. In *Prostate et alpha-bloquants*. Excerpta Medica, Amsterdam (1988) pp. 1-10.
49. Carter H. B., Coffey D. S.: The prostate: an increasing medical problem. *The Prostate.* **16** (1990) 39.
50. Davies P., Eaton C. L.: Regulation of prostate growth. *J. Endocrinol.* **131** (1991) 5.
51. Stege R., Carlström K.: Testicular and adrenocortical function in healthy men and in men with benign prostatic hyperplasia. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **42** (1992) 357.
52. Armenian H. K., Lilienfeld, A. M., Diamond E. L., Bross I. D. J.: Relation between benign prostatic hyperplasia and cancer of the prostate. *Lancet* **2** (1974) 115.
53. Greenwald P., Kirmss V., Polan A. K., Dick V. S.: Cancer of the prostate among men with benign prostatic hypertrophy. *JNCI* **53** (1974) 335.

54. Heuson J.-C., Coune A.: Hormone-responsive tumors In Endocrinology and Metabolism (Edited by Ph. Feling, J. D. Baxter, A. E. Broadus, L. A. Frohman) McGraw-Hill Book Company (2nd edition), New York, USA (1987) pp. 1753-1762.
55. Bosch R. J.: Pathogenesis of benign prostatic hyperplasia. *Euro. Urol.* **20** (1991) 27.
56. Haenzel W., Kurihara M.: Studies of Japanese migrants. 1. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. *J. Natl. Cancer Inst.* **40** (1968), 43.
57. Skeet R. G.: Epidemiology of urogenital tumours. In Epidemiology of Urogenital Tumours. (Edited by D.I. Williams, G. D. Chisholm). Scientific Foundations of Urology, William Heinemann Medical Books, London, Vol. II. (1976), pp. 199-211.
58. Miller G. J.: Diagnosis of stage A prostate cancer in the People's Republic of China. In A Multidisciplinary Analysis of Controversies in the Management of Prostate Cancer. (Edited by D. S. Coffey, M. I. Resnick, F. A. Dorr et al.). Plenum Press, New York, (1988) pp. 17-24.
59. Ekman P.: BPH epidemiology and risk factors. *Prostate Suppl* **2** (1989) p. 23.
60. Reischauer F.: Zur Entstehung der Prostata Hyperplasie. *Zentbl. Chir.* **52** (1925) 517.
61. Franks L. M., Riddle P. M., Carbonell A. W., Gey G. O.: A comparative study of the ultrastructure and the lack of growth capacity of adult human prostate epithelium mechanically separated from its stroma. *J. Path.* **100** (1970) 113.
62. Cunha G. R.: Epithelial-stromal interaction in development of the urogenital sinus. *Int. Rev. Cytol.* **47** (1977) 137.
63. McNeal J. E.: Origin and evaluation of benign prostatic enlargement. *Invest. Urol.* **15** (1978) 340.
64. Cunha G. R., Lung B.: The importance of stroma in morphogenesis and functional activity of urogenital epithelium. *In Vitro* **15** (1979) 50.
65. Puah C. M., Ghanadian R.: Correlative studies between endogenous steroids and stromal-epithelial composition in human benign hypertrophied prostate. *Br. J. Cancer* **44** (1981) 308.
66. Cunha G. R., Chung L. W. K., Shannon J. M., Taguchi O., Fujii H.: Hormone-induced morphogenesis and growth: role of mesenchymal-epithelial interactions. *Recent Prog. Horm. Res.* **39** (1983) 559.

67. Cunha G. R., Donjacour A. A., Cooke P. S., Mee S., Bigsby R. M., Higgins S. J., Sugimura Y.: The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr. Rev.* **8** (1987) 338.
68. Chung L. W., Zhau H. E., Ro J. Y.: Morphologic and biochemical alterations in rat prostatic tumours induced by fetal urogenital sinus mesenchyme. *The Prostate* **17** (1990) 165.
69. Maehama S., Li D., Nanri H., Leykam J. F., Deuel T. F.: Purification and characterization of prostate-derived growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **83** (1986) 8162.
70. König J. J., Romijn J. C., Schroder F. C.: Prostatic epithelium inhibiting factor (PEIF): organ specificity and production fibroblasts. *Urological Research* **15** (1987) 145.
71. Harper G. P., Barde Y. A., Burnstock G., Carstairs F. R., Dennison M. E., Suda K., Vernon C. A.: Guinea pig prostate is a rich source of nerve growth factor. *Nature* **279** (1979) 160.
72. Crabb J. W., Armes L. G., Carr S.A., Johnson C. M., Roberts G. D., Bordoli R. S., McKeehan W. L.: Complete primary structure of prostatropin, a prostate epithelial cell growth factor. *Biochemistry* **25** (1986) 4988.
73. Story M. T., Sasse J., Jacobs S. C., Lawson R. K.: Prostatic growth factor purification and structural relationship to basic fibroblast growth factor. *Biochemistry* **26** (1987) 3843.
74. Fekete M., Redding T. W., Comaru-Schally A. M., Pontes J. E., Connelly R. W., Srkalovic G., Schally A. V.: Receptors for luteinizing hormone releasing hormone, somatostatin, prolactin and epidermal growth factor in rat and human prostate cancers and in benign prostate hyperplasia. *The Prostate* **14** (1989) 191.
75. Lawson R. K.: Growth factor and benign prostatic hyperplasia. *World J. Urol.* **6** (1989) 190.
76. Mawhinney M.: The extracellular matrix and cellular proliferation in the etiology of benign prostatic hyperplasia: In *Prostatic Hyperplasia*. (Edited by R. Ackermann, F. H. Schröder) W. de Gruyter, Berlin (1989) pp. 55-62.
77. Fiorelli G., De Bellis A., Longo A., Giannini S., Natali A., Constantini A., Vannelli G. B., Serio M.: Insulin-like growth factor-I receptors in human hyperplastic prostate tissue: characterization, tissue localization and their modulation by chronic treatment with a gonadotropin-releasing hormone analog. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **72** (1991) 740.

78. White J. W.: The results of double castration in hypertrophy of the prostate. *Ann. Surg.* **22** (1895) 1.
79. Cabot A. T.: The question of castration for enlarged prostate. *Ann. Surg.* **24** (1896) 266.
80. Huggins C., Stevens R. A.: The effect of castration on benign hypertrophy of the prostate in man. *J. Urol.* **43** (1940) 705.
81. Wendel E. F., Brannen G. E., Putong P. B., Grayhack J. T.: The effect of orchidectomy and estrogens on benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.* **108** (1972) 116.
82. Deming C. L., Wolf J. S.: The anatomical origin of benign prostatic enlargement. *J. Urol.* **42** (1939) 566.
83. Imperato-McGinley J., Guerrero L., Gautier T., Peterson R. E.: Steroid 5 α -reductase deficiency in men: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science* **186** (1974) 1213.
84. Walsh P. C., Harrod M. J., Goldstein J. L. et al.: Familial incontinent male pseudohermaphroditism, type 2. *N. Engl. J. Med.* **291** (1974) 944.
85. Peterson R. E., Imperato-McGinley J., Gautier T., Sturla E.: Male pseudohermaphroditism due to steroid 5 α -reductase deficiency. *Am. J. Med.* **62** (1977) 170.
86. Imperato-McGinley J., Peterson R. E., Gautier T. et al.: Hormonal evaluation of a large kindred with complete androgen insensitivity: Evidence of a secondary 5 α -reductase deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **54** (1982) 931.
87. Labrie C., Belanger A., Labrie F.: Androgenic activity of dehydroepiandrosterone and androstenedione in the rat ventral prostate. *Endocrinology* **123** (1988) 1412.
88. Labrie C., Simard J., Zhao H. F., Belanger A., Pelletier G., Labrie F.: Stimulation of androgen-dependent gene expression by the adrenal precursors dehydroepiandrosterone and androstenedione in the rat ventral prostate. *Endocrinology* **124** (1989) 2745.
89. Zuckerman S., Groome J. R.: The aetiology of benign enlargement of the prostate in the dog. *J. Pathol. Bacteriol.* **44** (1937) 113.
90. Ewing L., Brown B.: Formation and the secretion of 5 α -androstane-17 β -ol-3-one, 5 α -androstane-3 α ,17 β -diol and 5 α -androstane-3 α ,17 β -diol by the perfused rabbit testis epididymis. *Endocrinology* **96** (1975) 479.

91. Jacobi H., Moore R. J., Wilson J. D.: Studies on the mechanism of 3α -androstanediol-induced growth of the dog prostate. *Endocrinology* **102** (1978) 1748.
92. Moore R. J., Gazak J. M., Quebbeman J. F., Wilson J. D.: Cocentration of dihydrotestosterone and 3α -androstanediol in naturally occurring and androgen-induced prostatic hyperplasia in the dog. *J. Clin. Invest.* **64** (1979) 1003.
93. DeKlerk D. P., Coffey D. S., Ewing L. L. et al.: Comparison of spontaneous experimentally induced canine prostatic hyperplasia. *J. Clin. Invest.* **164** (1979) 842.
94. Walsh P. C., Wilson J. D.: The induction of prostatic hypertrophy in the dog with androstanediol. *J. Clin. Invest.* **57** (1976) 1093.
95. Moore R. J., Gazak J. M., Wilson J. D.: Regulation of cytoplasmic dihydrotestosterone binding in dog prostate. *J. Clin. Invest.* **63** (1979) 351.
96. Trachtenberg J., Hicks L. L., Walsh P. C.: Androgen- and estrogen-receptor content in spontaneous and experimentally induced canine hyperplasia. *J. Clin. Invest.* **65** (1980) 1051.
97. Tunn U. W., Schuring B., Senge T., Neumann F. Schweikert H. U., Rohr H. P.: Morphometric analysis of prostates in castrated dogs after treatment with androstanediol, estradiol and cyproterone acetate. *Invest. Urol.* **18** (1980) 289.
98. Aumuller G. Funke P. J., Hahn A., Hoffbauer G., Tunn U. Neumann F.: Phenotypic modulation of the canine prostate after long term treatment with androgens and estrogens. *Prostate* **3** (1982) 361.
99. Bruchovsky N., Lieskovsky G.: Increased ratio of 5α -reductase: $3\alpha(\beta)$ -hydroxysteroid dehydrogenase activities in the hyperplastic human prostate. *J. Endocrinol.* **80** (1979) 289.
100. Bartsch W., Becker H., Pinkenburg F. A., Krierg M.: Hormone blood levels and their inter-relationships in normal men with benign prostatic hyperplasia. *Acta Endocrinol.* **90** (1979) 727.
101. Horton R., Hsieh P., Barberia J. et al.: Altered blood androgens in elderly men with prostate hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **41** (1975) 793.
102. Siiteri P. K., Wilson J. D.: Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. I. The formation and content of dihydrotestosterone in hypertrophic prostate of man. *J. Clin. Invest.* **49** (1970) 1737.

103. Gloyna R. E., Siiteri P. K., Wilson J. D.: Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. II. The formation and content of dihydrotestosterone in the hypertrophic canine prostate and the effect of dihydrotestosterone on prostate growth in the dog. *J. Clin. Invest.* **49** (1970) 1746.
104. Jacobi G. H., Wilson J. D.: Formation of 5α -androstane- $3\alpha,17\beta$ -diol by normal and hypertrophic human prostate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **44** (1977) 107.
105. Mahoudeau J. A., Delassalle A., Bricaire H.: Secretion of dihydrotestosterone by human prostate in benign prostatic hypertrophy. *Acta Endocrinologica* **77** (1974) 401.
106. Ishimaru T., Pages L., Horton R.: Altered metabolism of androgens in elderly men with benign prostatic hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **45** (1977) 695.
107. Fransworth W. F., Brown J. R.: Androgen of the human prostate. *Endocr. Res. Commun.* **3** (1976) 105.
108. Hudson R. W., Moffitt P. M., Owens W. A.: Studies of the nuclear 5α -reductase of human prostatic tissue: comparison of enzyme activities in hyperplastic, malignant, and normal tissues. *Can. J. Biochem. cell Biol.* **61** (1983) 750.
109. Giorgi E. P., Stewart J. C., Grant J. K., Scott R.: Androgen dynamics in vitro in the normal and hyperplastic human prostate gland. *Biochem. J.* **123** (1971) 41.
110. Krieg M., Bartsch W., Herzer S., Becker H., Voigt K. D.: Quantification of androgen binding, androgen tissue levels, and sex hormone-binding globulin in prostate, muscle and plasma of patients with benign prostatic hypertrophy. *Acta Endocrinologica* **86** (1977) 200.
111. Walsh P. C., Hutchins G. M., Ewing L. L.: Tissue content of dihydrotestosterone in human prostatic hyperplasia is not supranormal. *J. Clin. Invest.* **72** (1983) 1772.
112. Geller J., Albert J., Lopez D., Geller S., Niwayama G.: Comparison of androgen metabolites in benign prostatic hypertrophy (BPH) and normal prostate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **43** (1976) 686.
113. Meikle A. W., Stringham J. D., Olsen D. C.: Subnormal tissue 3α -androstanediol and androsterone in prostatic hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **47** (1978) 909.

114. Hammond G. L.: Endogenous steroid levels in the human prostate from birth to old age: A comparison of normal and diseased tissues. *J. Endocrinol.* **78** (1978) 7.
115. Geller J., Albert J., Loza D.: Steroid levels in cancer of the prostate-markers of tumour differentiation and adequacy of anti-androgen therapy. *J. Steroid Biochem.* **11** (1979) 631.
116. Krieg M., Bartsch W., Janssen W., Voigt K.-D.: A comparative study of binding, metabolism, and endogenous levels of androgens in normal, hyperplastic and carcinomatous human prostate. *J. Steroid Biochem.* **11** (1979) 615.
117. Verdonck L., De Slypere J. P., Sayed M. A., Van Sande M., Van Camp K., Vermeulen A.: Subcellular distribution of androgens in hyperplastic human prostate. *J. Steroid Biochem.* **11** (1979) 607.
118. Habib F. K., Lee I. R., Stitch S. R., Smith P. H.: Androgen levels in the plasma and prostatic tissues of patients with benign prostatic hypertrophy and carcinoma of the prostate. *J. Endocrinol.* **71** (1976) 99.
119. Habib F. K.: Zinc in the steroid endocrinology of the human prostate. *J. Steroid Biochem.* **9** (1978) 403.
120. Moneti G., Constantini A., Guarna A., Salerno R., Pazzagli M., Natali A., Goti A., Serio M.: Measurement of testosterone and its 5 α -reduced metabolites in human prostatic tissue using isotope dilution mass spectrometry. *J. Steroid Biochem.* **25** (1986) 765.
121. Petrangeli E., Sciarra F., Di Silverio F., Toscano V., Lubrano C., Conti C., Concolino G.: Effects of two different medical treatments on dihydrotestosterone content and androgen receptors in human benign prostatic hyperplasia. *J. Steroid Biochem.* **30** (1988) 395.
122. Forti G., Salerno R., Moneti G., Zoppi S., Fiorelli G., Marinoni T., Natali A., Constantini A., Serio M., Martini L., Motta M.: Three-month treatment with a long-acting gonadotropin-releasing hormone agonist of patients with benign prostatic hyperplasia: effects on tissue androgen concentration, 5 α -reductase activity and androgen receptor content. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **68** (1989) 461.
123. Ghanadian R., Puah C. M.: Relationships between oestradiol-17 β , testosterone, dihydrotestosterone and 5 α -androstane-3 α ,17 β -diol in human benign hypertrophy and carcinoma of the prostate. *J. Endocrinol.* **88** (1981) 255.



124. Scott W. W., Wade J. C.: Medical treatment of benign nodular prostatic hyperplasia with cyproterone acetate. *J. Urol.* **101** (1969) 81.
125. Fishman J., Geller J.: The effects of the anti-androgen cyproterone acetate and oestradiol production and metabolism in man. *Steroids* **16** (1970) 531.
126. Neumann F., Töpert M.: Pharmacology of antiandrogens. *J. Steroid Biochem.* **25** (1986) 885.
127. Julesz J., Tóth I., Faredin I.: A follow-up study of cyproterone acetate and steroid hormone levels during the treatment of hyperandrogenism. In *Advances in Steroid Analysis '87*. (Edited by Görög S.) Akadémiai Kiadó, Budapest, (1988) pp. 439.
128. Moguilewsky M., Bouton M. M.: How to study of the biological activities of antiandrogens can be oriented towards the clinic. *J. Steroid Biochem.* **31** (1988) 699.
129. Sciarra F., Toscano V., Concolino G., Di Silverio F.: Antiandrogens: Clinical application. *J. Steroid Biochem.* **37** (1990) 349.
130. Bosch R. J., Griffiths D. J., Blom J. M. H. et al: Treatment of benign prostatic hyperplasia by androgen deprivation: Effects on prostate size and urodynamic parameters. *J. Urol.* **141** (1989) 68.
131. De Jong F. H., Reuvers P. J., Bolt-De Vries J., Mulder E., Blom J. H. M., Schroeder F. H.: Androgens and androgen-receptors in prostate tissue from patients with benign prostatitis hyperplasia: effect of cyproterone acetate. *J. Steroid Biochem.* **42** (1992) 49.
132. Tóth I., Tuba Z., Horváth J., Scultéty S., Szécsi M., Faredin I.: Inhibition of human testicular and dermal Δ^5 - 3β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in vitro. In *Advances in Steroid Analysis '93*. (Edited by Görög S.) Akadémiai Kiadó, Budapest, (In press).
133. Stone N. N.: Flutamide in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Urology* **XXXIV** (October) (1989) 64.
134. Geller J., Albert J.: Effects of castration compared with total androgen blockade on tissue dihydrotestosterone (DHT) concentration in benign prostatic hyperplasia (BPH). *Urol. Res.* **15** (1987) 151.
135. Geller J., Nelson C. G., Albert J., Pratt C.: Effect of megestrol acetate on uroflow rates in patients with benign prostatic hypertrophy: a double blind study. *Urology* **14** (1979) 467.

136. Liu J., Geller J., Albert J., Kirshner M.: Acute effects of testicular and adrenal cortical blockade on protein synthesis and dihydrotestosterone content of human prostate tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **61** (1985) 129.
137. Geller J., Liu J., Albert J., Fay W., Berry C. C.: Effect of antiandrogen and/or antiestrogen blockade on human prostate epithelial and stromal cell protein synthesis. *J. Steroid Biochem.* **25** (1986) 759.
138. Geller J., Roberts T., Newman H. et al: Treatment of benign prostatic hypertrophy with hydroxy progesteronecaproate: The effect on clinical symptoms, morphology and endocrine function. *JAMA* **193** (1965) 121.
139. Gingell J. C., Miller I. N., Roberts J. B.: A clinical trial of gestronol hexanoate (SH582) in benign prostatic hypertrophy. *Proc. R. Soc. Med.* **65** (1972) 130.
140. Brooks M. E., Braf Z. F.: Effect of 17 α -hydroxy progesterone 17-n-caproate on urine flow. *Urology* **17** (1981) 488.
141. Rasmusson G. H.: Biochemistry and pharmacology of 5 α -reductase inhibitors. In *Pharmacology and Clinical Uses of Inhibitors of Hormone Secretion and Action* (Edited by B. S. A. Furr, A. E. Wakeling). Bailliere Tindall, London (1987) pp. 308.
142. McConnell J. D., Wilson J. D., George F. W., Geller J., Walsh P. C., Ewing L. L., Isaacs J., Stoner E.: An inhibitor of 5 α -reductase, MK-906, suppresses prostatic dihydrotestosterone in men with BPH. *J. Urol.* **141** (1989) Abstr. 280.
143. Stoner E.: The clinical development of a 5 α -reductase inhibitor, finasteride. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **37** (1990) 375.
144. Rhodes L., Primka R. L., Berman C., Vergult G., Gabriel M., Pierre-Malloe M., Gibelin B.: Comparison of finasteride (Proscar), a 5 α -reductase inhibitor, and various commercial plant extracts in in vitro and in vivo 5 α -reductase inhibition. *The Prostate* **22** (1993) 43.
145. Faredin I., Tóth I., Oszlánczy J., Scultéty S.: Az emberi prosztatata 5 α -reduktáz gátlása. *Magyar Urológia.* **3** (1991) 289.
146. Rasmusson G. H., Reynolds G. F., Steinberg N. G., Walton E., Patel G. F., Liang T., Cascieri M. A., Cheung A. H., Brooks J. R., Berman C.: Azasteroids: Structure-activity relationships for inhibition of 5 α -reduc-tase and of androgen receptor binding. *J. Med. Chem.* **29** (1986) 2298.

147. Campault G. et al: A double-blind trial of an extract of the plant *Serenoa repens* in benign prostatic hyperplasia. *Br. J. clin. Pharmac.* **18** (1984) 461.
148. Hagenlocher M., Romalo G., Schweikert H. U.: Spezifische Hemmung der 5α -Reduktase durch einen neuen Extrakt aus *Sabal serrulata*. *Akt. Urol.* **24** (1993) 146.
149. Ghanadian R., Lewis J. G., Chisholm G. D., O'Donoghue E. P. N.: Serum dihydrotestosterone in patients with benign prostatic hypertrophy. *Br. J. Urol.* **49** (1977) 541.
150. Vermeulen A., DeSy W.: Androgens in patients with benign prostatic hyperplasia before and after prostatectomy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **43** (1976) 1250.
151. Sjövall J., Axelson M.: New approaches to the isolation, identification and the quantitation of steroids in biological materials. *Vitam. Horm.* **39** (1982) 31.
152. Schöneshöfer M., Dulce H. J.: Comparison of different high-performance liquid chromatographic systems for the purification of adrenal and gonadal steroids prior to immunoassay. *J. Chromatogr.* **164** (1979) 17.
153. Schöneshöfer M., Fenner A., Dulce H. J.: Assessment of eleven adrenal steroids from single serum sample by combination of automatic high-performance liquid chromatography and radioimmunoassay (HPLC-RIA). *J. Steroid Biochem.* **14** (1981) 377.
154. Schwartz F. L., Mawhinney M. G.: Quantification of endogenous testosterone and dihydrotestosterone and their possible intracellular determinants in various tissues of the male guinea pig. *J. Steroid Biochem.* **8** (1977) 805.
155. Corpéchet C., Baulieu E.-E., Robel P.: Testosterone, dihydrotestosterone and androstane diols in plasma, testes and prostates of rats during development. *Acta Endocrinologica* **96** (1981) 127.
156. Capp M. W., Simonian M. H.: Separation of the major adrenal steroids by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.* **147** (1985) 374.
157. Bartsch W., Krieg M., Voigt K. D.: Quantification of endogenous testosterone, 5α -dihydrotestosterone and 5α -androstane- $3\alpha,17\beta$ diol in subcellular fractions of the prostate, bulbocavernosus/levator ani muscle, skeletal muscle and heart muscle of the rat. *J. Steroid Biochem.* **13** (1980) 259.

158. Bélanger B., Couture J., Caron S., Bodou Ph., Fiet J., Bélanger A.: Production and secretion of C-19 steroids by rat and guinea pig adrenals. *Steroids* **55** (1990) 360.
159. Bélanger A., Caron S., Picard V.: Simultaneous radioimmunoassay of progestins, androgens and estrogens in rat testis. *J. Steroid Biochem.* **13** (1980) 185.
160. Belanger B., Belanger A., Labrie F., Dupont A., Cusan L., Monfette G.: Comparison of residual C₁₉ steroids in plasma and prostatic tissue of human, rat and guinea pig after castration: unique importance of extratesticular androgens in men. *J. Steroid. Biochem.* **32** (1989) 695.
161. Belanger A., Couture J., Caron S., Roy R.: Determination of nonconjugated steroid levels in plasma and prostate after separation on C-18 columns. *Ann. New York Acad. Sci.* **595** (1990) 251.
162. Batra S., Bengtsson L. P.: A highly efficient procedure for the extraction of progesterone from uterus and its compatibility with subsequent radioimmunoassay. *J. Steroid Biochem.* **7** (1976) 599.
163. Ruokonen A., Vihko R.: Steroid metabolism in testis tissue: concentrations of unconjugated and sulfated neutral steroids in boar testis. *J. Steroid Biochem.* **5** (1974) 33.
164. Ruokonen A., Laatikainen T., Laitinen E. A., Vihko R.: Free and sulfate-conjugated neutral steroids in human testis tissue. *Biochemistry* **11** (1972) 1411.
165. Albert J., Geller J., Stoeltzing W., Loza D.: An improved method for extraction and determination of prostate concentration of endogenous androgens. *J. Steroid Biochem.* **9** (1978) 717.
166. Ofner P., Nadeau M. R., Vena R. L., Leav I.: Metabolism of estradiol and estrone and ventral prostate of untreated and sex hormone-implanted rats. *Steroids* **57** (1992) 50.
167. Julesz M., Faredin I., Tóth I.: *Steroids in Human Skin*, Akadémiai Kiadó, Budapest (1971).
168. Bush I. E.: *The chromatography of steroids* (International Series of Monographs on Pure and Applied Biology). Pergamon Press Ltd., Oxford, Great Britain (1961).
169. Touchstone J. C.: *CRC Handbook of Chromatography: Steroids*, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA (1986).
170. Tóth I. szóbeli közlése.

171. Satyaswaroop P. G., Lopez de la Osa E., Gurpide E.: High pressure liquid chromatography separation of C₁₈ and C₁₉ steroids. *Steroids* **30** (1977) 140.
172. Heftmann E., Hunter I. R.: High-pressure liquid chromatography of steroids. *J. Chromatogr.* **165** (1979) 283.
173. O'hare M. J., Nice, E. C., Maegee-Brown R., Bullman H.: High-pressure liquid chromatography of steroids secreted by human adrenal and testis cells in monolayer culture. *J. Chromatogr.* **125** (1976) 357.
174. Snyder L. R., Kirkland J. J.: *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, Wiley and Sons, New York (1974).
175. Nice, E. C., O'hare M. J.: Selective effects of reversed-phase column packing in high-performance liquid chromatography of steroids. *J. Chromatogr.* **166** (1978) 263.
176. Szepesi G.: Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) és gyógyszeranalitikai alkalmazása. *A gyógyszerészeti tudomány aktuális kérdései* **1** (1987) 7.
177. Molnár I.: Herstellung und Behandlung von HPLC-Säulen unter Routinebedingungen. *Chromatographia* **12** (1979) 371.
178. Runser D. J.: *Maintaining and Troubleshooting HPLC systems*. Wiley and Sons, New York (1982).
179. Yalow R. S., Berson S.A.: Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. *J. Clin. Invest.* **39** (1960) 1157
180. Ekins R. P.: The estimation of thyroxide in human plasma by an electrophoretic technique. *Clin. Chim. Acta* **5** (1960) 453.
181. Shelley D. S., Brown L. P., Besch P. K.: Radioimmunoassay. *Clin. Chem.* **19** (1973) 146.
182. Szabó A., Morvay J.: *Analitikai módszerek a klinikai kémiában (A kémia újabb eredményei 57.)* Akadémiai Kiadó, Budapest (1984).
183. László F. A., Janáky T.: *Radioimmunoassay*, Medicina Könyvkiadó, Budapest (1986).
184. Sufi S. B., Donaldson A., Jeffcoate S. L.: *WHO matched reagent programme method manual*. (1991).
185. Faredin I., Tóth I., Janáky T.: Progeszteron radioimmunoassay emberi szérumból kromatográfia nélkül. *Kísérlet. Orvostud.* **38** (1986) 3.
186. Faredin I., Tóth I., Husz S.: Androgén anyagcserezavar okozta bőrbetegségek tanulmányozása saját fejlesztésű RIA-val. *Laboratóriumi Diagnosztika* **16** (1989) 11.

187. Tóth I., Faredin I.: Szimultán radioimmunoassay androgének és progesztogének meghatározására emberi szérumból. Magyar Élettani Társaság LIII. Vándorgyűlése (1988).
188. Patkány here szteroidhormon-koncentrációi. Publikálatlan eredmények
189. T. E. petefészek daganatának szteroidhormon-koncentrációi. Publikálatlan eredmények
190. T. L. hasnyálmirigy daganatának szteroidhormon-koncentrációi. Publikálatlan eredmények
191. Fishman A. J., Kastin A. J., Graf M. V.: HPLC shadowing artifacts in peptide characterization monitored by RIA. *Peptides* **5** (1984) 1007.
192. Cutler G. B., Glen M., Bush M., Hodgen G. D., Graham C. E., Loriaux D. L.: Adrenarche: a survey of rodents, domestic animals and primates. *Endocrinology* **103** (1978) 2112.
193. Müntzing J.: The androgenic action of adrenal inplanc in the ventral prostate of adult, castrated and oestrogen-treated rats. *Acta Pharmacol. Toxicol.* **3** (1971) 203.
194. Liao S., Liang T., Fang S., Castaneda E., Shao T. C.: Steroid structure and androgenic activity. Specificities involved in the receptor binding and nuclear retention of various androgens. *J. Biol. Chem.* **248** (1973) 6154.
195. Liang T., Heiss E. C., Cheung A. H., Reynolds G. F., Rasmusson G. H.: 4-Azasteroidal 5 α -reductase inhibitors without affinity for the androgen receptor. *J. Biol. Chem.* **259** (1984) 734.
196. Brokks J. R., Baptista E. M., Berman C., Ham E. A., Hichens M., Johnston D. B. R., Primka R. L., Rasmusson G. H., Reynolds G. F., Schmitt S. M., Arth G. E.: Response of rat ventral prostate to a new an novel 5 α -reductase inhibitor. *Endocrinology* **109** (1981) 830.
197. Liang T., Cascieri M. A., Cheung A. H., Reynolds G. F., Rasmusson G. H.: Species differences in prostatic steroid 5 α -reductases of rat, dog and human. *Endocrinology* **117** (1985) 571.
198. Motta M., Zoppi S., Brodie A. M., Martini L.: Effect of 1,4,6-androstatriene-3,17-dione (ATD), 4-hydroxy-4-androstene-3,17-dione (4-OH-A) and 4-acetoxy-4-androstene-3,17-dione (4-Ac-A) on the 5 α -reduction of androgens in the rat prostate. *J. Steroid Biochem.* **25** (1986) 593.

199. Clark R. L., Antonello J. M., Grossman S. J., Wise D. L., Anderson C., Bagdon V. J., Prahalada S., MacDonald J. S., Robertson R. T.: External genitalia abnormalities in male rats exposed in utero to finasteride, a 5 α -reductase inhibitor. *Teratology* **42** (1990) 91.
200. Blohm T. R., Laughlin M. E., Benson H. D., Jonhston J. O., Wright C. L., Schatzman G. L., Weintraub P. M.: Pharmacological induction of 5 α -reductase deficiency in the rat: separation of testosterone mediated and 5 α -dihydrotestosterone-mediated effects. *Endocrinology* **119** (1986) 959.
201. Baulieu E. E., Lasnitzki I., Robel P.: Testosterone, prostate gland and hormone action. *Biochem. Biophys. Res. Commun* **32** (1968) 575.
202. Wilson J. D., Gloyna R. E.: The intranuclear metabolism of testosterone in the accessory organs of reproduction. *Recent Prog. Horm. Res.* **26** (1970) 309.
203. Motta M., Zoppi S., Martini L.: In vitro metabolism of testosterone in the rat prostate: influence of aging. *J. Steroid Biochem.* **25** (1986) 897.
204. Bhasin S., Sikka S., Fielder T., Sod-Moriah U., Levine H. B., Swerdloff R. S., Rajfer J.: Hormonal effects of ketoconazole in vivo in the male rat: mechanism of action. *Endocrinology* **118** (1986) 1229.
205. Neri R., Florance K., Koziol P., Van Cleave S.: A biological profile of nonsteroidal antiandrogen, SCH 13521 (4'-nitro-3'-trifluoromethylisobutyr-anilide). *Endocrinology* **91** (1972) 427.
206. Corvol P., Bardin C. W.: Species distribution of testosterone-binding globulin. *Biol. Reprod.* **8** (1973) 277.
207. Tenniswood M., Abrahams P., Winterton V., Bird C. E., Clark A. F.: Binding of testosterone, 5 α -dihydrotestosterone and 5 α -androstane-(3 α - and 3 β -),17-diols to serum proteins in the rat. *J. Steroid Biochem.* **16** (1982) 617.
208. Pardridge W. M.: Transport of protein-bound hormones into tissues in vivo. *Endocr. Rev.* **2** (1981) 103.
209. Moghissi E., Ablan F., Horton R.: Origin of plasma androstanediol glucuronide in men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **59** (1984) 417.
210. Bélanger A., Brochu M., Cliche J.: Levels of plasma glucuronides in intact and castrated men with prostatic cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **62** (1986) 812.

211. Bartsch W., Krieg M., Becker H., Mohrmann J., Voigt K. D.: Endogenous androgen levels in epithelium and stroma of human benign prostatic hyperplasia and normal prostate. *Acta Endocrinol. Copenh.* **100** (1982) 634.
212. Bartsch W., Kozak I., Gorenflos P., Becker H., Voigt K.-D.: Concentrations of 3 β -hydroxy androgens in epithelium and stroma of benign hyperplastic and normal human prostate. *The Prostate* **8** (1986) 3.
213. Geller J., De La Vega D., Albert J. B., Nachtsheim D. A.: Tissue dihydrotestosterone levels and clinical response to hormonal therapy in patients with advanced prostate cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **58** (1984) 36.
214. Miller W. R., O'Neil J. S.: The significance of steroid metabolism in human cancer. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* **37** (1990) 317.
215. Albert J., Geller J., Geller S., Lopez D.: Prostate concentrations of endogenous androgens by radioimmunoassay. *J. Steroid Biochem.* **7** (1976) 301.
216. Malinin T. I.: Collection of postmortem prostate tissue under sterile conditions. *Cancer Chemoth. Rep.* **59** (1975) 91.
217. Farnsworth W. E.: A direct effects of estrogen on prostatic metabolism of testosterone. *Invest. Urol.* **6** (1969) 423.
218. Groom M., Harper M. E., Fahmy A. R., Pierrepit C. B., Griffiths K.: The effect of estrogen on the prostatic metabolism of testosterone in tissue culture. *Biochem. J.* **122** (1971) 125.
219. Lee D. K. H., Bird C. E., Clark A. F.: In vitro effect of estrogens on rat prostatic 5 α -reduction of testosterone. *Steroids* **22** (1973) 677.
220. Adams J., Garcia M., Rochefort H.: Estrogenic effect of physiological concentrations of 5-androstene-3 β ,17 β -diol and its metabolism in MCF7 human breast cancer cells. *Cancer Res.* **41** (1981) 4720.
221. Belis J. A., Adlstein L. B., Tarry W. F.: Influence of estradiol on accessory reproductive organs in the castrated male rat. *J. Androl.* **4** (1983) 144.
222. Krieg M., Bartsch W., Thomsen M., Voigt K. D.: Androgens and estrogens: their interaction with stroma and epithelium of human benign prostatic hyperplasia and normal prostate. *J. Steroid Biochem.* **19** (1983) 155.

223. Bartsch W., Kozak I., Gorenflos P., Voigt K. D.: Concentrations of 3α -hydroxy-androgens in epithelium and stroma of benign hyperplastic and normal human prostate. *Prostate* **8** (1986) 3.
224. Markiewicz L., Gurpide E.: C_{19} adrenal steroid enhance prostaglandin $F_{2\alpha}$ output by human endometrium in vitro. *Am. J. Obstet. Gynec.* **159** (1988) 500.
225. Stege R., Carlström K.: Testicular and adrenocortical function in healthy men and in men with benign prostatic hyperplasia. *J. Steroid Biochem.* **42** (1992) 357.
226. Mäkelä S., Santti R., Martikainen P., Nienstedt W., Paranko J.: The influences of steroidal and nonsteroidal estrogens on the 5α -reduction of testosterone by the ventral prostate of the rat. *J. Steroid Biochem.* **35** (1990) 249.
227. Barrack E. R., Bujnovszky P., Walsh P. C.: Subcellular distribution of androgen receptors in human normal, benign hyperplastic, and malignant prostatic tissues: characterization of nuclear salt-resistant receptors. *Cancer Res* **43** (1983) 1107.
228. Grimaldo J. I., Meikle A. W.: Increased levels of nuclear androgen receptors in hyperplastic prostate of aging men. *J. Steroid Biochem.* **21** (1984) 147.

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.

Hálás vagyok Dr. Schneider Gyula egyetemi tanárnak (József Attila Tudományegyetem Szerves Kémiai Tanszék), hogy témavezetőként segítette felkészülésemet.

Köszönöm Dr. Scultéty Sándor egyetemi tanárnak (Urológiai Tanszék) és Rengei Béla intézeti főmunkatársnak (Igazságügyi Orvostani Intézet) a szövetminták gyűjtéséhez nyújtott segítségüket.

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.

Külön köszönet illeti a "Magyar Tudományért" Alapítványt a kutatásaimhoz nyújtott hathatós anyagi támogatásáért.