

Egyes endokrin paraméterek immunanalitikai módszerrel mért értékeinek klinikai validitását befolyásoló preanalitikai tényezők

Doktori tézisek

Dr. Lócsei Zoltán

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Konzulensek: **Dr. Rácz Károly**, egyetemi tanár, az MTA doktora,

Dr. Toldy Erzsébet, egyetemi docens, PhD

Szigorlati bizottság elnöke: **Dr. Lakatos Péter**, egyetemi tanár, az MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai: **Dr. Vásárhelyi Barna**, egyetemi tanár, az MTA doktora,

Dr. Alföldi Sándor, főorvos, PhD.

Budapest

2013

I. Bevezetés

Az endokrin betegek kivizsgálásában alapvető fontosságúak a laboratóriumi vizsgálatok. A klinikai endokrinológiai gyakorlat sikere nagymértékben függ a pontos laboratóriumi mérési eredményektől, mivel a hormonszintekben bekövetkező kicsiny változások a betegség felismerésében és a kezelés hatásának lemerésében sokkal specifikusabbak és szenzitívebbek, mint az anamnézis vagy a fizikálisan is tapasztalható jelek. Ugyanakkor egy laboratóriumi lelet, amennyire fontos, annyira félrevezető is lehet, ha téves adatot nyújt, aminek birtokában azután helytelen döntéseket hozhatunk.

Az immunoassay jellegzetességei (antitest keresztreakciók, specificitás, méréstechnikával összefüggő szenzitivitási értékek, mátrix effektus) miatt a leleten közölt adat néha téves következtetést engedhet meg, tényleg terelheti a diagnosztikát, a terápia nyomon követését. Az eredmény több esetben nemcsak a meghatározni kívánt molekula szintjét, hanem annak szérumkörnyezetét is tükrözi. Különösen fontos e tényezők ismerete, amikor az eredmények a beteget terhelő és drága további vizsgálatok elvégzéséről döntenek, értékük meghatározhatja a beteg további sorsát.

A fenti gondolatokból kiindulva jelen disszertáció hat endokrin markert [thyreoglobulin (Tg), thyreoglobulin ellenes antitest (TgAb), plazma renin aktivitás (PRA), kvantitatív renin (REN), aldoszteron (ALD)/renin hányadosok (ARR: ALD/PRA és ALD/REN)] vizsgált, azzal a szándékkal, hogy növelje a differenciált pajzsmirigy karcinómák (DTC) és a priméraldoszteronizmus laboratóriumi diagnosztikájának megbízhatóságát.

1.1 A **pajzsmirigyrákos beteg** egész életén át gondozásra szorul, a recidíva, metasztázis időben történő felismerése alapvető a beteg további sorsát illetően. Amíg a diagnosztizálásakor a vérből kimutatható Tg szinteknek nincs jelentősége, addig a nyomon követésben alapvető a szerepe. Teljestyreoidectomiát és I-131 ablatív terápiát követően az emelkedett Tg szint a recidívát korán képes jelezni, ha az alkalmazott módszer érzékenysége lehetővé teszi a nagyon alacsony szintek biztonságos mérését. A szakmai ajánlások egybehangzóak abban, hogy a DTC-ben szenvedő betegek gondozásában a Tg szintek ismerete nélkülözhetetlen. Ugyanakkor a Tg meghatározásához alkalmazott immunanalitikai módszer több ponton kétségessé teszi az eredmények megbízhatóságát. A Tg mérés irracionális, ha nem ismerjük a TgAb szinteket. Jelenleg a DTC-s beteg gondozása során, ha TSH stimulációban 1 ng/ml-nél kisebb Tg szintet mérünk, a beteget komplett remisszióban

lévőnek tekintjük, és nem végzünk egész test scintigráfiát vagy ultrahangon kívül más képalkotást a nyomon követésben. Ugyanakkor emelkedő Tg érték akár a daganat kimutatása nélkül is indikálhat újabb I-131 terápiát. A beteg számára alapvetően fontos, Tg mérésre alapozott döntések és a mérés pontosságát fent részletezett módon zavaró tényezők szükségessé teszik a Tg mérés megbízhatóságának további kutatását, amelyet disszertációm egyik feladatának tartottam.

1.2 1954-ben Conn írta le először a mellékvese adenóma okozta ALD túltermelés következményeit. A hipertóniából, hypokalaemiából és metabolikus alkalózisból álló klinikai tünet együttest **Conn-szindrómának** nevezzük (PA). Az utóbbi években végzett felmérések szerint az összes hipertóniás beteg 5-13%-ában a PA tehető felelőssé a vérnyomás emelkedéséért. 2003-as statisztikai adatok szerint Magyarországon 1000 lakosból 211 volt hipertóniás, így ma Magyarországon több mint 210 000 hiperaldoszteronizmusban szenvedő beteggel kell számolnunk, a gyakorlatban azonban ennek csak töredékét diagnosztizáljuk. A PA felismerésének fontosságát nem csak gyakorisága magyarázza, hanem az is, hogy a PA-ban szenvedő betegek kardiovaszkuláris mortalitása magasabb az azonos korú, nemű és ugyanolyan mértékű vérnyomás-emelkedéssel rendelkező betegekhez képest. Ezen kívül fontos azt is hangsúlyozni, hogy a hagyományos hipertóniakezeléstől eltérő terápia szükséges PA-ban. Az irányelvek a PA szűrésére az ARR meghatározását javasolják első lépésben. Kevésbé vizsgált terület napjainkig a női hormonkészítmények hatása az ALD és renin szintre, holott a gyakorlatban nem ritkán találkozunk olyan hipertóniában szenvedő nőbeteggel, aki hosszantartóan orális antikoncipienst (OAC) szed. A renin meghatározás nagyon szigorú mintavételi és preanalitikai körülményeket igényel. Hagományos módon a renin mérése a PRA meghatározással (RIA) történik. Az utóbbi években azonban széles körben elérhetővé vált a REN meghatározása is. Az ARR pontos meghatározása rendkívül fontos eszköz a PA okozta hipertónia felderítésében. Viszont megbízható diagnosztikus értéket csakis a preanalitikai körülmények pontos definiálása, a klinikai állapot, illetve gyógyszerelés mérlegelése és a módszer-specifikus ARR cutoff értékek ismeretében várhatunk. Mindezek hiányában a beteget terhelő és drága, további fölösleges vizsgálatokat indikálhatunk (tévesen magas ARR), vagy éppen ellenkezőleg a PA felismerését az elvégzett vizsgálat

késlelteti (tévesen alacsony ARR). Az ezt befolyásoló tényezők vizsgálata képezte másik alapvető feladatát a disszertációnak.

II. Célkitűzések

II.1. A Tg és TgAb meghatározásokat befolyásoló egyes in vitro és in vivo preanalitikai körülmények vizsgálata.

- Annak vizsgálata, hogy a betegtől vett szérum minták tárolási körülményei (hűtés, a mérésig eltelt idő), milyen mértékben befolyásolják a mérés pontosságát, megbízhatóságát.
- A Tg meghatározás TgAb érzékenységének vizsgálata in vitro körülmények között, elsősorban alacsonyabb, korábban klinikailag nem jelentősnek tekintett antitest titer esetén. Lehet-e jelentősége az alacsonyabb TgAb titernek a Tg mérésre DTC-ben szenvedő betegek gondozása során?

II.2. A primer aldosteronizmus diagnosztikájában alapvető markerek vizsgálata

- Az ALD és PRA, illetve a REN mért, valamint az ARR számított értékeit befolyásoló preanalitikai körülmények vizsgálata.
- Milyen módon befolyásolják a két különböző renin meghatározást a vérminták kezelési, tárolási módozatai? (a mintavételi protokoll pontos betartása, hűtési körülmények, a mérésig eltelt idő).
- A fenti molekulák mérési megbízhatóságának elemzése a rutin járóbeteg ellátási gyakorlatban kivitelezhető mintavételi és mintaszállítási körülmények között (eltérő szállítási és tárolás idők, hőmérsékleti viszonyok). Ezek figyelembevételével miként változik az ARR értéke?
- A kétféle módszerrel mért ARR klinikai validitásának vizsgálata a belgyógyászati gyakorlatban előforduló hipertóniás betegek körében:

- hipertóniás, gyógyszert még nem szedő, valamint béta blokkolót, ACE gátlót, kalcium csatorna gátló gyógyszert szedő hipertóniás betegek esetében,
- incidentálisan talált mellékvese adenómás betegekben,

egészséges, normális vérnyomású önkéntesek eredményeiből az ARR-ek döntéshozatali határértékeinek meghatározása, összevetése a nemzetközi és a hazai szakmai irányelvekben meghatározott értékekkel.

- Eltérő gesztagén tartalmú orális antikoncpciensek (OAC) hatásának vizsgálataa mért ALD és renin szintekre.
 - Az eltérő farmakológiai hatású gesztagén tartalmú (gestodene: GTD, desogesztrel: DSG, drospironone: DRSP)OAC-k miként hatnak a mért ALD és PRA valamint REN szintekre?
 - Mennyire változtatják meg az eltérő mennyiségű dietilösztradiolt és különböző gesztagén komponenset tartalmazó OAC-k az ARR-t a kontrollként szolgáló, gyógyszert nem szedő egészséges nők értékeihez képest?
 - Miként változnak a döntéshozatali határértékek a nem hipertóniás OAC szedő, és az azt nem alkalmazó reprodukzív életkorú nőket összehasonlítva.

III. Anyag és módszer

III.1. Vizsgált személyek és szérum-minták a preanalitikai tanulmányok kivitelezéséhez.

In vitrovizsgálataim során összesen 161 egyéni illetve poolozott vérmintát (Tg-TgAb: 135; PRA-REN: 36) használtam a vizsgálni kívánt preanalitikai körülmények elemzéséhez, amelynek során összesen 399 mintán 954 mérés eredményét elemeztem. A PRA-REN vizsgálatokhoz összesen 149 egészséges önkéntes, a kontroll csoportokat alkotta. A 112 pontosan definiált betegségben szenvedő páciens (Tg-TgAb 27, PRA-REN 85) elemzett mintáinak a száma a kontrollal együtt 466 volt, amelyekből az

összes vizsgált paraméter méréseinek száma 1143 laboratóriumi meghatározást jelentett.

III.1.1. A Tg és a TgAb molekulák stabilitásának és a módszerek funkcionális szenzitivitásának vizsgálata.

Stabilitási vizsgálatok: tíz mintát használtam a rövid távú tárolási vizsgálatban, míg 7 mintát a hosszabb távú tárolási vizsgálatban. Mindkét vizsgálatban az analitek újramérésének időpontjait a 0. órától számítva, úgy választottuk meg, hogy minél jobban szimuláljuk a laboratórium rutin munkamenetét.

Funkcionális szenzitivitás meghatározása: Erre a célra az analitikai szenzitivitás és a döntéshozatali alacsony cut-off érték közelébe eső Tg és TgAb tartalmú szérumokat vizsgáltam. A Tg módszer esetében 7 változó Tg koncentrációjú (minimum 0,24 maximum 14,4 ng/ml) mintát használtam, amelyek TgAb szintje 20 IU/ml-nél kisebb volt. Az elektrokemilumineszcensimmunoassay (ECLIA, Roche) TgAb módszerhez 8 változó TgAb titerű (minimum 16 maximum 150 IU/ml) szérum pool-t alkalmaztam. A kemiluminometrikus TgAb módszer (CLMA, Abbott) funkcionális szenzitivitását 7 eltérő TgAb szintű (minimum: 0,36; maximum: 1,06 IU/ml) mintában határoztuk meg.

III.1.2. TgAb szintek befolyása a mért Tg szintekre in vitro és in vivo

III.1.2.1 In vitro vizsgálatok: In vitro TgAb manipulációs vizsgálatot három év alatt két alkalommal, több mérési sorozatban végeztünk. Az első sorozatban csak egyféle TgAb módszer kalibrálásához használt humán Tg elleni TgAb preparátumot (Roche), míg a második sorozathoz már kétféle TgAb módszert (ECLIA, Roche; CLMA, Abbott) és háromféle TgAb kalibrátor készítményt [birka (Roche) és két humán (Roche és Abbott)] alkalmaztunk az in vitro manipulációhoz. Különböző Tg tartalmú szérum pool-ból nyert mintákhoz TgAb kalibrátort adtunk növekvő mennyiségben úgy, hogy megközelítsük, illetve túlhaladjuk az antitest pozitivitást jelző, döntéshozatali (<115 IU/ml) TgAb értéket. Tanulmányoztunk további 28 olyan szérum poolt, amelyek TgAb szintje egyik módszerrel sem volt detektálható, illetve nem érte el a TgAb módszerek funkcionális szenzitivitását.

III.1.2.2. Az in vitro eredmények adaptálása a klinikai esetek Tg szintjeire: 27 DTC-sztyreoidectomián és I-131 ablation átesett beteg [22 nő és 5 férfi, átlagéletkoruk 47 ± 13 év, a követési idő medián értéke 2,5 (0,5-8,0) év], gondozása során nyert összesen 134 szérum minta Tg és TgAb szintjét elemeztem. Azonos betegtől a gondozás során nyert minták száma 2 és 6 között volt. Az összes mintában megmértük a Tg és TgAb szinteket. Ezekből és a Tg és TgAb szintek között in vitro tapasztalt összefüggés alapján számított Tg szinteket kalkuláltam, feltéve, ha a beteg mintájában a TgAb szint biztonságosan detektálható (24 IU/ml felett) volt.

III.1.3. Mintavételi és tárolási körülmények hatása a PRA és REN szintekre.

III.1.3.1. A mintavételi körülmények hatásának vizsgálata: 26 egészséges önkéntestől történt mintavétel, amely legalább 2 órás fennlélet követően reggel 8 és 10 h között, ülő testhelyzetben történt. Ennek során összesen 86 olyan mintát nyertünk, amelyek preanalitikai körülményeit pontosan rögzítettük, egészen a plazma mélyhűtőbe helyezéséig. Az azonos preanalitikai eljárással kezelt minták 6 csoportot alkottak.

III.1.3.2. Hosszabb, fagyasztásos tárolás hatásának vizsgálata: 10 egészséges önkéntestől történt mintavétel. A mintákat pontosan a gyártó által megadott PRA ill. REN protokollnak megfelelően kezeltük. Centrifugálás után a friss plazmából mért értékeket tekintettük a kiindulási (0. óra) szintnek. A mintákból nyert plazmát ezt követően 3 további részre osztva plasztik csőben tároltuk 2, 5 ill. 7 hétig -20 C° -on.

III.1.4. A PRA és a REN értékekből számított ARR-ek összehasonlítása.

III.1.4.1. Belgyógyászati betegektől származó minták: 134 egyéntől történt mintavétel. (80 nő, 54 férfi, életkoruk $46,1 \pm 15,5$ év). Közülük 49 normális vérnyomású önkéntes szolgált kontrollként. 26 betegnek incidentálisan felismert mellékvese adenómája volt, közülük 19 volt hipertóniás, akik közül 5 esetben találtunk primérhyperaldoszteronizmusnak (PA) megfelelő hormonértékeket. 59 beteg hipertóniás volt, közülük 34 még nem kezelt, 25 kezelt. Az utóbbiak közül 9 angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gátló vagy angiotenzin

receptor blokkoló (ARB) kezelésben részesült, 9 beteg béta blokkolót, 7beteg dihidropiridin típusú Ca-antagonista készítményt szedett.

III.1.4.2. Eltérő gesztagén tartalmú orális antikonciptensek (OAC) hatása az ALD, renin és ARR szintekre

86 egészséges, önkéntes, normotóniás, normális K szintű nőnél (életkoruk $27,3 \pm 7,5$ év) történt mintavétel. Közülük 63 szedett különböző gesztagén hatóanyagú (25 GTD, 22 DSG, 6 DRSP) OAC-t hosszabb ideje ($2,8 \pm 2,3$ év). A tabletták mindegyike kismennyiségű etinilösztadiolt (0,02-0,035 mg) is tartalmazott.

IV. Eredmények

IV.1. A Tg és a Tgab stabilitásának és a módszer funkcionális szenzitivitásának vizsgálata különböző preanalitikai körülmények között

IV.1.1. Rövidtávú tárolás is már szignifikánsan befolyásolta a mért Tg értékeket. Míg a minta 4-8 órás szobahőmérsékleten történt tárolása csak kis mértékben (5-7%) változtatott, addig a 4-10 °C-on történt tárolás során a Tg immunreaktivitás fokozatosan nőtt, a 24 órás tárolás után az eltérés meghaladta a módszer variációs koefficiens (CV=8%) értékét, míg 48 óra tárolás során elérte a 23%-ot.

IV.1.2. Hosszú távú tárolás során -17-20 °C-on mind a Tg, mind a Tgab értékek szignifikánsan (Tg: $p < 0,0001$, Tgab: $p < 0,01$) csökkentek. Az interassay CV%-ot meghaladó szignifikáns csökkenés a Tg esetében a 3. héten, míg a Tgab esetében már a 2. héten bekövetkezett.

IV.1.3. Tgab szintek befolyása a mért Tg szintekre in vitro és in vivo: A Tg visszanyerési százalék (Tg%) és a Tgab szintek között szignifikáns, de gyenge ($r = -0,38$) negatív korreláció állt fenn. A Tgab és a mért Tg szintek közötti lineáris regressziós analízis során negatív számmal jellemezhető meredekségű (-1,76) és erős determinációs együtthatójú ($R^2 = 0,74$) összefüggés bizonyítható. A változókra erős korrelációs koefficiensű ($r = 0,97$; $p < 0,001$) hatványfüggvény illeszthető. Ez lehetőséget kínál az alkalmazott módszerekre vonatkozó matematikai összefüggés

kidolgozására: amennyiben ismerjük egy adott minta Tg és TgAb szintjét, akkor ebből számítható az antitest okozta Tg szint csökkenés. A humán antitest, ugyanolyan TgAbszint növekedés mellett szignifikánsan kisebb Tg veszteséget okozott, mint a birka antitest.

IV.1.4. DTC-ben szenvedő betegek mintáinak elemzése az in vitro vizsgálati eredmények figyelembe vételével. DTC-ben szenvedő betegek 134 mintáját TgAb szintjük alapján csoportosítva a betegek 79%-ában (N=106) mérhető, de nem emelkedett (24-115 IU/ml) TgAb szintet találtam. Szignifikánsan ($p < 0,02$) magasabb TgAb szint igazolódott a nem kimutatható Tg szintű betegek szérumában a detektálható Tg-t tartalmazó mintákhoz képest. Az in vitro vizsgálatban megállapított regressziós egyenes egyenletét alkalmazva 65 betegszérum esetében tudtam a mért Tg és TgAb szintekből Tg értékeket kalkulálni, így szignifikánsan nagyobb értékeket kaptam.

IV.2. A priméraldoszteronizmushiomarkereinek vizsgálata.

IV.2.1. Mintavételi és tárolási körülmények hatása a mért PRA és a REN szintekre:A minták 2 órán át szobahőmérsékleten tárolása után, úgy a PRA, mind a REN értéke szignifikánsan ($p < 0,001$) csökkent, míg mindkettő változatlan maradt, ha a mintákat 0-5 °C között tároltuk ugyanilyen ideig. A REN érték szignifikánsan magasabbnak bizonyult, ha a mintákat hűtött csövekbe vettük és 30 percen belül 0-5 °C között tároltuk, a szobahőmérsékleten tartott mintákhoz képest. A -20°C-on történt tárolás során a PRA 2 hét múlva 9,4±2,4%-al csökkent. A statisztikailag szignifikáns ($p < 0,05$) csökkenés azonban klinikailag nem tekinthető relevánsnak, tekintetbe véve a módszernek a csökkenés mértékénél nagyobb intra-assay CV értékét. Sokkal jelentősebben csökkent a PRA az 5. hétre(15,2±4.7%; $p < 0,02$), majd még jelentősebben (31.9±4.7%; $p < 0,01$) a 7. héten a kezdő héthez képest. Ezzel ellentétben a REN változása ugyanezekben az időtartamokban vizsgálva nem volt szignifikáns, mindvégig 5% alatt maradt.

IV.2.2. Két renin módszerrel nyert ARR-ek összehasonlítása. A PA diagnosztikához a döntéshozatali határértéket 97,5-es percentilisével a PRA-val képzett hányados esetében 30 ng/dl/ng/ml/h, míg az ALD/REN esetében 3 ng/dl/ng/l határoztam meg.

IV.2.3. A két renin módszer közötti korreláció.A PRA ($1,2\pm 1,4$ ng/ml/h) és a REN ($12,1\pm 11,0$ ng/ml) szint között szignifikáns, erősen pozitív korrelációt ($r=0,84$) tapasztaltam a teljes mintaszámot ($n=134$) tekintve. A korreláció azonban az $1,5$ ng/ml/h értéknél alacsonyabb tartományban ($n=103$, PRA: $0,63\pm 0,41$ ng/ml/ h, REN: $8,1\pm 4,9$ ng/ml) már jóval gyengébb ($r=0,59$), bár hasonlóan szignifikáns ($p<0,001$) volt.

IV.2.4. A két módszerrel nyert klinikai tapasztalatok

IV.2.4.1. Kezeletlen betegek:Az antihypertenzív szerrel nem kezelt csoportok összehasonlítása során a medián teszt csak az ALD esetében mutatott ki szignifikáns különbséget ($p<0,01$). Ugyanakkor a rang transzformációt követő ANOVA teszttel vizsgálva, csupán a REN esetében nem kaptunk szignifikáns eltérést a különböző csoportok között. A PA csoport esetében (részben a vártak megfelelően), mindkét módon képzett hányadosok a legmagasabbak voltak és szignifikánsan eltértek minden más csoporttól. A nem hypertóniás mellékvesekéreg adenomás csoport ALD értékei szignifikánsan alacsonyabbak voltak az egészséges kontroll illetve a hypertóniás csoport értékeihez képest.

IV.2.4.2 Kezelt betegek: a medián teszt a PRA ($p<0,001$) és a REN ($p<0,05$) esetében is szignifikáns volt, míg a rang transzformációt követő ANOVA során csupán az ALD szintekben állt fenn szignifikáns különbség. A legjelentősebb eltérést a PRA és a ALD/PRA esetében tapasztaltuk ($p<0,01$). A PA csoportban mért ALD/REN hányados a nem kezelt hypertóniás, valamint az ACE/ARB és Ca-antagonista terápiában részesülő betegekhez képest volt szignifikánsan magasabb.

Ha a kontroll és a nem kezelt hypertóniás csoportot összehasonlítottuk a kezelt hypertóniásokkal, akkor csak az ALD/PRA esetében találtunk csupán szignifikáns eltérést. A béta blokkoló kezelésben részesülők körében az ALD/PRA értékek szignifikánsan ($p<0,01$) magasabbak a kontroll, a nem kezelt, az ACE/ARB vagy Ca-antagonistával kezelt csoporthoz képest, míg az ALD/REN esetében ilyen eltérést csupán a Caantagonista csoportban tapasztaltunk ($p<0,001$). Ugyancsak az ALD/REN esetében a Ca-antagonistával kezelt csoport értéke szignifikánsan ($p<0,01$) eltért a kontroll csoporttól.

IV.2.5. Eltérő gesztagén tartalmú OAC hatása az ALD, PRA, REN és ARR szintekre.A PRA, REN és ALD értékek szignifikánsan magasabbnak

bizonyultak a DRSP csoportban a DSG, GTD és a kontroll csoporthoz képest [PRA: 3,1 (1,5 3,7) vs. 1,4 (1,1 2,0); 1,2 (0,8 2,2); 1,3 (0,7 1,6) ng/ml/h, REN: 25,2 (9,7 30,3) vs. 8,3 (6,8 12,3) ; 8,0 (4,8 10,5); 12,2 (7,5 21,7) ng/ml, ALD: 43,7 (28,0 61,6) vs 11,5 (7,2 16,6); 13,4 (7,7 22,1); 10,0 (4,4 14,7) ng/dl].

A DRSP csoport ALD/PRA hányadosa szignifikánsan ($p < 0,01$) a legmagasabb volt [15,4 (11,6 22,6) ng/dl/ng/ml/h] és szignifikánsan eltért akontroll és a DSG, GTD csoporttól is. A DSG és GTD ALD/PRA hányadosai nem tértek el szignifikánsan a kontrolltól. Az ALD/REN hányados is szignifikánsan a legmagasabb a DRSP (2,0 (1,5 2,6) csoportban volt, de a kontrollhoz képest [1,1 (0,4 1,5)] szignifikánsan ($p < 0,01$) magasabb értékek igazolódtak a GTD [1,6 (1,2 2,4) ng/dl/ng/ml] csoportban is.

V. Következtetések, új megállapítások

V.1.1. A Tg és a TgAb molekulák stabilitásának és mérésük funkcionális szenzitivitásának vizsgálata különböző preanalitikai körülmények között.

- ✓ Mindkét meghatározásra a mintákat csupán 24-28 óránál rövidebb ideig helyes tárolni 4-10 C°-on.
- ✓ Mindkét esetben a mintákat csupán 2-3 hétig helyes fagyasztva tárolni -17-20 C°-on akkor is, ha a laboratórium gazdaságossági érdekei ritkább mérést indokolnának.
- ✓ Tg mérésre eltett minták hosszabb távú fagyasztva tárolása különösen akkor kerülendő, ha alacsony értékekre számítunk (mint pl. gondozott DTC-s betegek legtöbbségében).

V.1.2. TgAb szintek befolyása a mért Tg szintekre in vitro és in vivo

- ✓ Már kis mennyiségű, a normális tartományba eső titerű TgAb is jelentősen befolyásolja a Tg mérést, akár nem detektálhatóvá téve az egyébként valójában mérhető mennyiségben jelenlevő Tg-t.

- ✓ A TgAb-titer növekedésével bekövetkező mért Tg érték változás matematikai módon modellezhető, leírható.
- ✓ A DTC-s betegek gondozása során a kis mennyiségben jelenlevő TgAb-t is figyelembe kell venni, ilyen esetben a nem detektálható Tg szint nem jelenti bizonyossággal a beteg alacsony kockázatát.
- ✓ A matematikai modell alapján számítással korrigált Tg érték használata egyes esetekben hasznos segítséget nyújthat a DTC-s betegek követésekor.

V.2.1. Mintavételi és tárolási körülmények hatása a PRA és REN szintekre.

- ✓ Mintavétel után a PRA és REN meghatározás esetében szobahőmérsékleten való akár csak 2 órás tárolás már a mért értékek csökkenését okozza ellentétben a hűtve 0-5 C°-on tárolással. Így az utóbbi ajánlható, ekkor a vérvétel helyén centrifuga nem szükséges, amennyiben a minta két óra alatt a laboratóriumba jutatható. Ha 30 percen belül a plazma szeparálása biztosítható, a tárolás lehetséges szobahőn.
- ✓ A fagyasztva tárolt mintákat 2 hetes intervallumokban szükséges a PRA mérésre felhasználni, a tárolásból adódó hibásan alacsonyabb érték elkerülése érdekében. Ahol az alacsonyabb esetszámból adódóan a kéthetenként történő mérés gazdaságtalan, ott a REN mérésre való áttérés megfontolandó.

V.2.2. Két módszerrel mért ARR értékek összehasonlítása

- ✓ A renin meghatározásra használt két módszer (PRA és REN) között jó korreláció igazolható, azonban a korreláció a diagnosztikai szempontból fontosabb alacsonyabb értékek esetén gyengébb.

- ✓ Az antihypertenzív gyógyszerek hatását vizsgálva a béta-blokkoló csoportban észlelhető a legkifejezettebb eltérés, míg a dihidropiridinCa csatornaantagonista szerek hatása nem volt jelentős. Úgy tűnik, utóbbi szerek a beteg biztonsága érdekében adhatóak a vizsgálat diagnosztikai pontosságának korlátozása nélkül mindkét módszer esetében.
- ✓ Saját laboratóriumra érvényes határértéket meghatározva az ALD/PRA hányados esetében az irodalmi adattal egyező értéket nyertünk, míg a határérték az ALD/REN esetében az irodalmi adatnál kissé alacsonyabb volt.

V.2.3. Eltérő gesztagén tartalmú OAC hatása az ALD, PRA, REN és ARR szintekre.

- ✓ OAC szedés befolyásolja a mért ALD, REN és PRA értékeket, ill. hányadosokat, mégpedig a gesztagén komponensből függő mértékben.
- ✓ A mért értékek emelkedése a DRSP csoportban a legkifejezettebb.
- ✓ DSD és GTD tartalmú OAC szedők esetében a PRA meghatározás előnyösebb a REN vizsgálathoz képest.
- ✓ Célszerű lenne OAC szedőkre érvényes hányados döntéshozatali határértékek kidolgozása, figyelembe véve azok gesztagén komponensét.

VI. Az értekezés témájához kapcsolódó publikációk jegyzéke

VI.1. Az értekezéssel kapcsolatos saját inextenso közlemények

	Lőcsei Z, Toldy E, Szabolcs I, Rácz K, Kovács G L. (2009): The effect of sample storage on the reliability of thyroglobulin and thyroglobulin antibody measurements Clin Biochem. 42: 225-228 IF: 2,019
	Locei Z, Rácz K, Patocs A, Kovacs G L., Toldy E. (2009): Influence of sampling and storage conditions on plasma renin activity and plasma renin concentration. Clinica Chimica Acta 402 203-205 IF: 2,535
	Lőcsei Z, Horváth D, Rácz K, Szabolcs I, Kovács GL, Toldy E. (2012): Progesterin-dependent effect of

	oralcontraceptivesonplasmaaldosterone/renin ratio.Clin.Biochem. 45:(16-17):1516-18 IF: 2,076
	Lócsei Z , Szabolcs I, Rácz K, Kovács GL, Horváth D, Toldy E: (2012):SerumthyroglobulinantibodylevelswithinornearthereferencerangemayinterferewiththyroglobulinmeasurementBiochemMed (Zagreb). 22:365-70. IF: 1,343
	Toldy E, Lócsei Z , Kovács L G.(2010) A betegektől az analitikáig: az endokrin betegségek felismerését megtévesztő preanalitikai hibákról. <i>Egészség-Akadémia</i> 1: 187-203
	Lócsei Z , Horváth D, Rácz K, Toldy E. (2011) Szérumtíreoglobulin és títroglobulin-antitest együttes meghatározásának jelentősége a differenciált pajzsmirigy-karcinómás betegek gondozása során. <i>Orv. Hetilap</i> . 152: 743-752
	Horváth D, Lócsei Z , Csizmadia Zs, Toldy E, Szabolcs I, Rácz K. (2012): A renin-aldoszteron rendszer vizsgálata két módszerrel különböző klinikai állapotokban. <i>Orv Hetilap</i> 153: 1701-1710

VI.2. Az értekezéssel kapcsolatos könyvfejezetek:

1.	Kovács L.G, Toldy E, Lócsei Z . (2001) Általános módszertan. Az endokrin betegségek diagnosztikájában használatos laboratóriumi módszerek In: A klinikai endokrinológia és anyagcsere betegségek kézikönyve. Szerk: Leövey András. Medicina Budapest 51-62.
2.	Toldy E, Kovács G L, Lócsei Z . (2001): A leggyakrabban alkalmazott laboratóriumi módszerek ismertetése és értékelése. Az endokrin betegségek diagnosztikájában használatos laboratóriumi módszerek In: A klinikai endokrinológia és anyagcsere betegségek kézikönyve. Szerk.: Leövey András. Medicina, Budapest 63-94.
3.	Kovács L G, Toldy E, Lócsei Z , Mezösi E. (2008) Endokrinológiai laboratóriumi vizsgálatok In: Gyakorlati laboratóriumi medicina. Szerk.: Debreczeni L. és Kovács L. G. Budapest, <i>LiteraturaMedica</i> 397- 424.
4.	Lócsei Z . Toldy E, Kovács L G. (2008) Laboratóriumi esettanulmányok In: Gyakorlati laboratóriumi medicina. Szerk.: Debreczeni L. és Kovács L. G. Budapest, <i>LiteraturaMedica</i> 525-528
5.	Toldy E, Lócsei Z . (2011) Endokrin és anyagcsere-vizsgálatok laboratóriumi leleteinek értékelése. In: Az endokrin és anyagcsere betegségek gyakorlati kézikönyve. ed: LeöveyA., Nagy V. E., ParaghGy. Rácz K. Medicina, Budapest 50-56.

VI.3. Az értekezéssel kapcsolatos nyomtatásban megjelent citálható előadás-kivonatok

1.	Lócsei Z , Toldy E, Méhes M, Kovács L G. (2006) A títroglobulin- és títroglobulin antitest szintek együttes mérésének jelentősége a differenciált pajzsmirigy carcinómás betegek gondozása során <i>Magy Belorv Arch</i> 6. 59 Suppl 1: 50.
2.	Toldy E, Lócsei Z , Papp Z, Kovács l G. (2006) Hol van a títroglobulinantitest-szintek referenciahátára a differenciált pajzsmirigy carcinómás betegekben? <i>Magy BelorvArch</i> . 59 Suppl.1: 69.p
3.	Lócsei Z . Toldy E, Papp Zs, Kovács L G. (2006) A títroglobulin és títroglobulinantitest-szintek együttes mérésének jelentősége a differenciált pajzsmirigy-carcinómás betegek gondozásában <i>Magy BelorvArch</i> Suppl.4: 86.
4.	Toldy E, Papp Zs, Lócsei Z , Kovács L G. (2006) A thyreoglobulin és thyreoglobulin antitest-szintek együttes mérésének jelentősége a differenciált pajzsmirigy-carcinómás betegek gondozásában <i>KlinKisérLlabMed</i> 32. Suppl. 39
5.	Toldy E. Lócsei Z , Szabolcs I, Kovács GL. (2007) Fromsamplingtoanalytics: experience and diagnosticconsequenceswithsomethyroidmarkers. <i>EndocrineAbstracts</i> . 14: 331.
6.	Lócsei Z , Toldy E, Szabolcs I, Kovács LG.(2007) Thyroglobulinantibodiesinthenormalrangedecreasethediagnosticsaccuracy of thyroglobulininthecare of patientswithdifferentiatedthyroidcancer. <i>EndocrineAbstracts</i> .14 : 141.

7.	Toldy E, Lőcsei Z , Szabolcs I. Kovacs LG.(2007) Assay-dependentinterference of normalthyroglobulinlevelswiththyroglobulinmeasurement. ClinChem and LabMedSpecsuppl T 379.
8.	Toldy E, Lőcsei Z Krkos K. Rác K. (2008) A primer aldoszteronismus szűrési módszere: a mintavételtől a laboratóriumi analízisig Magyar BelorvArch 3: 265.
9.	Toldy E., Lőcsei Z ,CatomioCs, Krkos K. Rác K. Kovács L G. (2008) A mintavételtől a primer aldoszteronismus szűrésének kezdetéig. Klinikai és Kis. Lab. Med. 33, 40.
10.	Kovacs LG. Horvath D, Nagy R Lőcsei Z , Toldy E. (2009) Comparison of plasmareninactivitywithquantitativerenin: druginterferenciesClinChem and LabMed 47: S 239
11.	Lőcsei Z . Horváth D Nagy R. Toldy E. Rác K. (2010) Helyettesíthető-e a plazma renin aktivitás az aktiv renin mérésével? Magyar BelorvArch . 63: 219
12.	Lőcsei Z , Toldy E, Horvath D, Nagy R. Racz K. Szabolcs I, Kovacs LG.(2010) Comparison of plasmaaldosteron/signalactivity and aldosterone/activesignal ratio indifferentclinicalconditionsEndocrineAbstracts 22: P61
13.	Horváth D., Lőcsei Z , Nagy R, Toldy E, Rác K, Kovács LG. (2010) Canwereplacealdosterone/plasmareninactivity ratio withaldosterone/activerenin ratio. Laboratóriumi Medicina 35: P15 177

VII. Az értekezéssel kapcsolatban nem álló inextenso közlemények:

1.	Lőcsei Z ,Dely M, Puppia, Práger P(1980) Extracelluláris ionok elvonásának hatása béka musculusrectusabdominisredox rendszerrel befolyásolt acetilcholinkontractiojára. KísérletesOrvostudomány 32: 500-506 p,
2.	Döbrönte Z, Bodnár M, Lőcsei Z ,Brittig F, Varga L, István L.(1989) Intrahepaticuscholostasis tünetével jelentkező Philadelphia chromosomanegativchronicmyseloidleukaemia. Orvosi Hetilap 130 :2315-2318
3.	Varga L, Lőcsei Z .(1988) Hyperprolactinaemia a belgyógyászati gyakorlatban. MedicusUniversalis21 :15-17.
4.	Döbrönte Z, Lakatos F, Brittig F, Lőcsei Z , Bokor N, StöckertA, Varga L.(1989) Van-e klinikai relevanciája a Campylobacterpyloriinfektionak? Orvosi Hetilap 130: 2563-2568
5.	Döbrönte Z, Lakatos F, Brittig F, Lőcsei Z . (1990) Hat die Campylobacter-HelicobacterpyloriInfektioneineKlinischeRelevanz? Gastroenterol J. 50: 32- 37.
6.	Varga L, Lőcsei Z , Döbrönte Z, Lakatos F, Brózik M, Meréty K. (1992) Helicobacterpylori allergia. Orvosi Hetilap 133: 359-362.
7.	Toldy E, Lőcsei Z , Héber S, Gundy K, Varga L, Kovács L.G: (1993) Új stratégia a pajzsmirigyfunkció diagnosztikájában. Orvosi Hetilap 134 1571-76
8.	Lőcsei Z , Toldy E, Varga L, Kovács L G: (1994) A TSH ultrasensitivassay alkalmazásának klinikai jelentősége. Orvosi Hetilap 135 2477-2481
9.	Varga L, Baranyai M, Lőcsei Z Toldy E, Brittig F: (1994). Hepatitis B és C virus marker vizsgálatok alkohol okozta májbetegségben. Orvosi Hetilap 135 1691-93
10.	Toldy E, Lőcsei Z , Kalmár I, Varga L. Kovács L. G: (1996). A pajzsmirigy elleni autoantitestek diagnosztikus értéke. Orv.Hetilap 137.2075-2080
11.	Lőcsei Z , Toldy E, Varga L. Kovács L G: (1996) A pajzsmirigyfunkció vizsgálata májcirrhosisos betegekben. Magyar. Belorv. Arch 49 193-198.
12.	Zipprich B, Kobe E, Döbrönte Z, Lőcsei Z , Brücke M, Schröder S, Schentke K, LautenschlagerCh, Nilius R. (1996) A prophylacticussclerotisatio szerepe az oesophagusvaricositas kezelésében. Orv. Hetilap. 137: 339-342.
13.	Fehér János, Lengyel Gabriella, Dalmi László, Dávid Károly, Gervain Judit, Gógl Árpád, Horváth Gábor, Lonovics János, Lőcsei Zoltán , Oszvár Zoltán, Pár Alajos, Schneider

	Ferenc, Tolvaj Gyula, Tulassay Zsolt, Weisz Gábor. (1996) Az interferon-alpha2b kezelés krónikus C hepatitisben Orv. Hetil.137: 1179-1185.
14.	Toldy E, Riba M. Lőcsei Z. Varga L. Kovács LG: (1998) Szükséges-e a szabad trijódthyronin meghatározása? KlinésKis. Lab. Med. <u>25</u> 78-87.
15.	Puskás T, Lőcsei Z. (1999) Többszörösen recidiváló pajzsmirigy cysta kezelése tartós drenázssal. Magyar Radiológia . 73:167-169..
16.	Varga L. Szabó J. Lőcsei Z. Kalmár I. Kevei P. Lakatos F: (1999)A spontán bakteriális peritonitis diagnosztikájában és kezelésben szerzett tapasztalataink. Magy. Belorv. Arch. . 52 446-449.
17.	Toldy E, Lőcsei Z. Petky Á, Móricz A, Kneffel P. Varga L. Kovács L.G: (1999): A pajzsmirigy funkció vizsgálata egészséges nők különböző reprodukciós állapotaiban. Magy. Belorv. Arch. <u>52</u> 458-465.
18.	Kovács L.G, Toldy E. Lőcsei Z.: (2000): Az endokrin laboratóriumi lelet értékelése: <i>Lege ArtisMedicinae</i> 10 (2) 114-124
19.	Kovács L.G., Toldy E, Lőcsei Z. Soroncz M. Kovács L: (2001) Az immunoassay csapdái <i>Klin. KísérlLab.Med.</i> <u>28,</u> 11-15
20.	Puskás T, Lőcsei Z. (2001) A pajzsmirigy cystákpercutansclerotisatioja Orv. Hetil. 142: . 1503-1505
21.	Lőcsei Z. (2002) Mit mondok a betegemnek, ha kiderül, hogy hypothyreosisa van? <i>Orvostovábbképző Szemle</i> <u>9:</u> 19-20.
22.	Toldy E., Lőcsei Z. Szabolcs I, Kneffel P. Góth M. Szőke D. Kovács L G: (2003). A macroprolactinaemia és hyperprolactinaemia differenciál diagnosztikája. <i>Orv. Hetilap.</i> <u>144,</u> 2121-2127.
23.	Toldy, Locsei Z, I Szabolcs, MI Goth, P Kneffel, D Szoke and GL Kovacs: (2003). Macroprolactinemia: theconsequences of a laboratorypitfall <i>Endocrine,</i> <u>22</u> 267-73 IF 1,608
24.	Toldy E, Lőcsei Z, Rigó E, Kneffel P, Szabolcs I, Kovács G L. (2004). Comparativeanalyticalevaluation of thyroidhormonelevels inpregnancy and inwomentakingoralcontraptives: a studyfrom an iodinedeficientarea. <i>Gynecol. Endocrinol.</i> 2004. <u>18</u> 219-226 IF 0,87.
25.	Lőcsei Z. Kommentár / a tesztoszteronhiány diagnózisa és kezelése című cikkhez/ (2004) <i>Orvostovábbképző Szemle.</i> <u>11</u> 46-47.
26.	Lőcsei Z, Rigó E, Kovács LG, Toldy E, Kneffel P, Szabolcs I: (2004) Pajzsmirigy hormon szintek vizsgálata terhesekben és anticoncipienst szedő nőkben <i>MOTESZ Magazin,</i> 3-4, suppl 3-5.
27.	Toldy E, Lőcsei Z, Soroncz M, Kovács L G: (2004)A pajzsmirigy hormon meghatározások protein interferenciája: egy invívó konzekvenciával járó in vitro tanulmány. <i>MOTESZ Magazin,</i> 3-4, suppl 3-5.
28.	E TOLDY, Z LOCSEI, I SZABOLCS, A BEZZEGH and GL KOVACS: (2005) Protein interferenceinthyroidassays: an in vitro studywithin vivo consequences <i>ClinChimActa,</i> <u>352</u> 93-104 IF 1,633
29.	Toldy E, Lőcsei Z, Kovács L G. ((2008) A tesztoszteron szintek mérése és ellenőrzése: törekvések a biológiailag aktív frakció meghatározására <i>Magy. BelorvArch.</i> 3: 159-165.
30.	Toldy E, Lőcsei Z. (2008) A hypothyreosis laboratóriumi vizsgálatának algoritmus <i>Metabolizmus</i> <u>6</u> 268-276
31.	Horváth D, Nagy R, Lőcsei Z, Szabolcs I, Rác K, Kovács LG, Toldy E. (2008) Hol van a biológiailag aktív prolactin szint referencia tartományának a felső határértéke? <i>KlinKísérlLabMed</i> <u>33:</u> 17-24
32.	Toldy E, Nagy R, Horváth D, Nagy L, Lőcsei Z. (2009) A kardialistroponinok analitikai jellemzői, klinikai jelentőségük. <i>KlinKísérlLabMed</i> <u>34:</u> 27-35.
33.	Nagy R, Horváth D, Lőcsei Z, Nagy L, Soroncz M, Toldy E. (2009) Négy kardialistroponin módszer összehasonlítása a klinikailag releváns tartományban. <i>KlinKísérlLabMed</i> <u>34:</u> 20-26.
34.	Csákváry V, Puskás T, Bódecz T, Lőcsei Z, OroszlánGy, Kovács LG, Toldy E. (2009)

	Serdülőkcsontanyagcseremarkereinek vizsgálata a nyugat-dunántúli régióban. Orv. Hetilap <u>150</u> : 1963-1971.
35.	Tóth Cs, Tahin B, Garzuly F, Schneider F, Lőcsei Z , Prugberger E. (2009) Pegilált interferon-alfa-2a- és ribavirin-kezeléshez társuló pulmonálissarcoidosis. Medicina Thoracalis <u>62</u> : 332-336.
36.	Toldy E, Horváth D, Lőcsei Z . (2010) A pajzsmirigy működés megítélése terhességben Magyar BelorvArch. <u>63</u> : 155-162.
37.	Lőcsei Z , Toldy E. (2010) Endokrin obesitás. Metabolizmus <u>8</u> : 179-183.
38.	Tóth G, Juhos E, Tártsy Cs, Ovári L, Kneffel P, Lőcsei Z , Toldy E. (2010) A pajzsmirigy működése molaterhességben két eset bemutatása kapcsán. Magyar BelorvArch <u>63</u> : 453-457.
39.	Konrády. A. Bencsik Zs. Lőcsei Z . Bénik T: Differenciált pajzsmirigyrákos betegek sorsa az elsődleges kezelés után.. Orv. Hetilap 2011 <u>152</u> 1731-1738
40.	Virág É, Horváth D, Lőcsei Z , Kovács L, Jáger R, Varga B, Kovács LG, Toldy E: D vitamin ellátottság felmérése Vas megye egészséges véréadó körében Orv Hetilap 2012. 153 1629-1637
41.	Salamon A, Toldy E., Nagy L. Lőcsei Z . Felnőttkori csontvelőből származó mesenchymalis őssejtek szerepe a reparatív folyamatokban. Orv. Hetilap 2012 153 1807-1815

VII.2. Az értekezéssel kapcsolatban nem álló, citálható előadás-kivonatok száma 112