

Keringő mikroRNS-ek vizsgálata jó- és rosszindulatú mellékvese daganatokban

Doktori tézisek

Dr. Decmann Ábel

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Igaz Péter DSc, egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Nagy Bálint, DSc, egyetemi tanár

Dr. Wiener Zoltán, PhD, egyetemi docens

Komplex vizsga bizottság elnöke:

Dr. Horváth Csaba, DSc, egyetemi tanár

Komplex vizsga bizottság tagjai:

Dr. Hubina Erika, PhD, főorvos

Dr. Beke Artúr, PhD, egyetemi adjunktus

Budapest

2019

1. Bevezetés

A mellékvesekéreg daganatai az esetek nagy részében véletlenszerűen, incidentalomaként kerülnek felfedezésre. A jóindulatú mellékvesekéreg-adenoma (ACA) a mellékvese incidentalomák kb. 55%-áért felel. Második leggyakoribb jóindulatú tumor a mellékvese myelolipoma (AML), míg a rosszindulatú mellékvesekéreg-carcinoma (ACC) prevalenciája 0,7-2 eset évente egymillió populációban, melynek prognózisa rossz. Fontos a jóindulatú tumorok elkülönítése a rosszindulatúaktól. Erre a klinikai gyakorlatban képző eljárásokat használunk (CT, MRI), ám az esetek kis részében elkülönítésük komoly differenciál diagnosztikai kihívást jelent. ACA és ACC elkülönítésére az eddigi legjobbnak tartott biomarker a keringő *hsa-miR-483-5p*, ám a mellékvese myelolipoma elkülönítésére jelenleg nincs a klinikumban alkalmazható megbízható biomarker.

A primer aldosteronizmust okozó két fő kórkép a bilaterális adrenális hyperplasia (BAH) és az egyoldali aldosteron-termelő adenoma (APA). Az APA terápiája az érintett mellékvese sebészi eltávolítása, míg a BAH kezelése mineralocorticoid-antagonista gyógyszerekkel valósul meg. A kezelésükből adódó különbség miatt döntő fontosságú elkülönítésük. Erre a klinikai gyakorlatban szelektív mellékvesevéna-katéterezést (AVS) használunk, mely egy invazív és nagy gyakorlatot igénylő beavatkozás. A mikroRNS-ek vizsgálata az utóbbi években egyre elterjedtebb lett, különösen is a betegségek patogenezisében játszott szerepük miatt. Emellett

szövetspecifitásuknak köszönhetően ígéretes biomarkerek lehetnek a jövőben. Számos betegségben és daganatban is leírták már eltérő expressziójukat. A mikroRNS-ek szövetekben, illetve a legkülönbözőbb testfolyadékokban is megtalálhatók. Vérben található keringő, illetve vizeletből nyerhető miRNS-ek vizsgálata minimális és non-invazív biomarkerek felfedezését teszi lehetővé.

2. Célkitűzések

Disszertációm alapjául szolgáló kutatásaim céljai a következők voltak:

- a) A mellékvese myelolipoma, mellékvesekéreg-carcinoma és a mellékvesekéreg-adenoma miRNS expressziós mintázatának meghatározása és összehasonlítása szöveti és plazmamintákból. A mellékvese myelolipomára jellemző, a mellékvesekéreg-ráktól azt elkülöníteni képes szöveti, illetve minimálisan invazív biomarker keresése és azonosítása.
- b) A mellékvesekéreg-rákos betegek plazma és vizelet mintájában a *miR-483-5p* szintjének meghatározása és korrelációjának vizsgálata annak felderítésére, hogy a vizelet *miR-483-5p* alkalmazható-e mint a mellékvesekéreg-carcinoma non-invazív biomarkere.

- c) A primer aldosteronismust okozó két leggyakoribb betegség, az aldoszteron-termelő adenoma és a bilaterális adrenális hyperplasia miRNS expressziós mintázatának meghatározása plazma mintákból a két betegség elkülönítését lehetővé tevő biomarkerek azonosítása céljából.

3. Módszerek

3.1. miRNS profilozás mellékvese myelolipomában, mellékvesekéreg-carcinomában és mellékvesekéreg-adenomában

3.1.1. Felhasznált minták

Első munkámban ACC, ACA és AML betegek szöveti és plazmamintáit vizsgáltam. A vizsgálatba 71 beteg formalinban fixált paraffinba ágyazott (FFPE) mintáit vontam be. Ebből a felderítő kohorszba összesen 30 minta került be (10 ACA, 10 ACC és 10 AML), továbbá 41 független minta (15 AML, 14 ACA, 12 ACC) került a validációs kohorszba. 33 független betegtől (11 mindegyik csoportból) preoperatív EDTA-antikoagulált plazmamintátis gyűjtöttünk szövettanilag igazolt betegektől.

3.1.2. A minták feldolgozása és miRNS izolálása szövetből és plazmából

A szöveti mintákból teljes/totál RNS-t a RecoverAll Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE (Thermo Fisher Scientific) segítségével izoláltam. Az EDTA-antikoagulált plazmamintákból miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen) segítségével nyertük ki a totál RNS-t. Az izolálás a gyári protokollok szerint valósult meg. A plazmaminták izolálásakor az acid-fenol/kloroform adása előtt 5 μ l 5 nM/L *syn-cel-miR-39*-et adtunk normalizálási célból.

3.1.3. Szöveti miRNS expressziós profilozás újgenerációs szekvenálás segítségével

A totál RNS-ből kiindulva cDNS könyvtárat készítettünk a QIAseq miRNA Library Kit (Qiagen) felhasználásával. Szekvenáláshoz a könyvtárat a MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina) előírásai szerint készítettem elő. Újgenerációs szekvenálást az Illumina MiSeq készüléken végeztünk. A FASTQ fájlokat az elsődleges adatelemzésben a Qiagen online szofverét használva dolgoztam fel. A másodlagos elemzés során, DESeq2 normalizálás után találtunk szignifikánsan eltérő miRNS-eket a különböző daganatokban.

3.1.4. A szekvenálás során szignifikánsan eltérő kifejeződésű miRNS-ek validálása

Az RNS reverz transzkripciója mind szöveti, mind plazmamintáknál a TaqMan microRNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific) és egyedi TaqMan miRNS assay-k segítségével valósult meg. A

felhasznált miRNS assay-k a következők voltak: *hsa-miR-451a*, *hsa-miR-486-5p*, *hsa-miR-363-3p*, *hsa-miR-150-5p*, *hsa-miR-184*, *hsa-miR-483-5p*, *hsa-miR-483-3p*, *hsa-miR-183-3p*. Belső kontrollnak szöveti minták esetén az *RNU48*-at, míg plazmaminták esetén a *cel-miR-39*-et választottuk. Kvantitatív valós idejű PCR-vizsgálatot a TaqMan Fast Universal PCR Master Mix (2x) (Thermo Fisher Scientific) használatával egy Quantstudio 7 Flex Real-Time PCR System készüléken végeztük.

3.1.5. Statisztikai elemzés

Statisztikai power analízist számoltunk (Tempest Technologies). A valós idejű PCR adatokat GraphPad Prism 7.00 program segítségével dolgoztuk fel. Az egyes daganatcsoportok közötti differenciálást a Shapiro-Wilks normalitási teszt alapján egyutas ANOVA vagy Kruskal-Wallis teszt végeztük el. Azoknál a miRNS-elnél, melyek potenciálisan biomarkerként szóba jöttek, Receiver Operating Characteristic (ROC) analízist végeztünk.

3.1.6. Útvonalelemzés

A miRNS-ek lehetséges célmolekuláit vizsgáltuk a Diana mirPath v.3 használatával.

3.2. A *hsa-miR-483-5p* expressziójának összehasonlítása ACC és ACA betegek plazma és vizeletmintáiban

3.2.1. Felhasznált minták

Összesen 46 beteg mintája került feldolgozásra. 23 ACC és 23 ACA betegről gyűjtöttünk EDTA-antikoagulált plazmamintát és random vizeletmintát. Az ACC minták szövettanilag igazolt esetektől származtak. A nem operált adenomák diagnózisa képzőképző eredményeken és a betegek követésén alapult.

3.2.2. A minták feldolgozása, RNS izolálás

Minden mintából totál RNS-et izoláltunk a miRNeasy Serum/Plasma Kit segítségével. Normalizálási célból *syn-cel-miR-39*-et használtunk.

3.2.3. A *miR-483-5p* expresszió mérése valós idejű PCR-rel

Az RNS-ek reverz transzkripciója, majd kvantitatív valós idejű PCR vizsgálata a **3.1.4.** fejezetben leírtakkal megegyezik. A *hsa-miR-483-5p* szintjét vizsgáltuk, belső kontrollként a *cel-miR-39*-et használtuk.

3.2.4. Statisztikai elemzés

A miRNS expresszió vizelet sűrűségéhez való igazítása céljából a relatív miRNS expresszió ($2^{-\Delta\text{CT}}$) értékeket a kreatinin szintjére normalizáltuk. ACA és ACC csoportok közötti elkülönítésre Student-féle t-tesztet vagy Mann-Whitney-tesztet alkalmaztunk a Shapiro-Wilks normalizációs teszt alapján. Spearman

korrelációs tesztet használtunk a plazma és vizelet *miR-483-5p* korrelációjának vizsgálatára. ROC-analízist végeztünk a *miR-483-5p* diagnosztikus hatékonyságának megbecslésére.

3.3. Keringő miRNS profilozás primer aldosteronismusban

3.3.1. Felhasznált minták

123 beteg EDTA-antikoagulált plazmamintáját dolgoztuk fel. Összesen 61 APA és 62 BAH mintát vizsgáltunk. A primer aldosteronismus diagnózisát az aktuálisan érvényes iránymutatásnak megfelelően alkalmaztuk. APA és BAH diagnózisok ACTH stimulációs vagy stimuláció nélküli AVS vizsgálaton alapultak. APA minták műtét előtt kerültek levételre. Az APA és BAH elkülönítésére a lateralizációs indexet (LI) használtuk.

3.3.2. A minták feldolgozása

Teljes RNS-t izoláltunk a plazmamintákból a 3.2.2. fejezetben leírtaknak megfelelően.

3.3.3. miRNS expresszió profilozás plazmamintákból újgenerációs szekvenálással

Összesen 30 minta került (16 APA és 14 BAH) NGS vizsgálatra. A könyvtárkészítés és a szekvenálás minden esetben a gyártók előírásai szerint történtek. A mérések leírása megegyezik a 3.1.3. fejezetben leírtakkal.

3.3.4. Egyedi miRNS-ek validálása

Az NGS során az APA és BAH minták között szignifikáns különbséget mutató miRNS-ek valós idejű PCR validálásra kerültek egy 93 független mintából álló kohorszon. A szekvenálás során kiválasztott miRNS-ek a következők voltak: *hsa-miR-30e-5p*, *hsa-miR-223-3p*, *hsa-miR-30d-5p* és a *hsa-miR-7-5p* voltak. Kontrollként a *cel-miR-39*-et használtuk. A PCR validálás a gyártó előírásait figyelembe véve és követve valósultak meg hasonlóan a **3.1.4.** fejezetben leírtakkal.

3.3.5. Statisztikai elemzés

Statisztikai power analízist számoltunk power és mintaszám kalkulátorral (HyLown Consulting LLC). Valós idejű PCR adatokat GraphPad Prism 7.00 program segítségével dolgoztuk fel. Többcentrumos vizsgálat lévén, az eltérő centrumokból érkező, de azonos minták között összehasonlító vizsgálatokat végeztünk annak érdekében, hogy az esetleges különbségeket felfedjük. E célból egyutas ANOVA vagy Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztunk a Shapiro-Wilks normalitási teszt alapján. Annak érdekében, hogy az eredményeinket ne befolyásolja az eltérő centrumokhoz köthető eltérés, a $-dCt$ értékeket standard score segítségével standardizáltuk (z-score vagy z-érték: $z = \frac{x-\mu}{\sigma}$, ahol μ és σ az adott centrumhoz tartozó értékek átlaga és szórása). Az APA és BAH minták közötti elkülönítésre t-tesztet vagy Mann-Whitney-tesztet alkalmaztunk a Shapiro-Wilks normalitási teszt

eredménye alapján. ROC-analízist is végeztünk, a minták diagnosztikai alkalmazhatóságának vizsgálata céljából.

4. Eredmények

4.1. miRNS profilozás mellékvese myelolipomában, mellékvesekéreg-carcinomában és mellékvesekéreg-adenomában

4.1.1. Szöveti miRNS expressziós profilozás újgenerációs szekvenálás segítségével

A 30 mintán elvégzett újgenerációs szekvenálás során összesen 256 szignifikánsan eltérően expresszálódó miRNS-t találtunk. A myelolipomában a másik két daganathoz képest legnagyobb különbséget mutató a *hsa-miR-451a*, *hsa-miR-486-5p*, *hsa-miR-363-3p* és a *hsa-miR-150-5p* miRNS-eket jelöltük ki validálásra. Mellékvesekéreg-carcinomában a másik két daganattól leginkább eltérő kifejeződést a *hsa-miR-483-3p*, *hsa-miR-184*, *hsa-miR-483-5p* és a *hsa-miR-183-5p* miRNS-ek mutatták.

4.1.2. A szekvenálás során szignifikánsan eltérő kifejeződésű miRNS-ek validálása

Az NGS során szignifikáns eltérést mutató miRNS validálása sikeresnek bizonyult a szöveti mintákon. Az NGS során kiválasztott miRNS-ek szignifikánsan magasabb expresszióját tudtuk kimutatni AML-ben a

másik két daganathoz képest valós idejű PCR-rel is. A *hsa-miR-451a*, *hsa-miR-486-5p* és a *hsa-miR-150-5p* szignifikáns felülexpresszióját figyeltük meg AML-ben ACA és ACC-hez képest. Az ACC-t a másik két daganattal összehasonlító validálás részben erősítette csak meg a szekvenáláskor kapott eredményeket. Szignifikáns felülexpressziót figyeltünk meg a *hsa-miR-184*, a *hsa-miR-483-5p* és a *hsa-miR-183-3p* esetében ACA mintákhoz képest, de AML mintákhoz képest nem kaptunk megerősítő eredményt.

4.1.3. miRNS expresszió vizsgálata plazmamintában

AML mintákban a *hsa-miR-451a* és a *hsa-miR-363-3p* miRNS-ek mutattak szignifikáns felülexpressziót a másik két daganathoz képest. A *hsa-miR-486-5p* és a *hsa-miR-150-5p* szignifikáns felülexpressziót AML-ben csak ACC mintákhoz képest mutatott, ACA mintákhoz képest nem. A *hsa-miR-483-3p* és *hsa-miR-483-5p* miRNS-ek szignifikánsan magasabb szintje volt megfigyelhető ACC-ben ACA mintákhoz képest.

4.1.4. A miRNS-ek diagnosztikus hatékonyságának vizsgálata

A *hsa-miR-451a* és a *hsa-miR-483-3p* keringő miRNS-ek vizsgálata mutatta a legnagyobb görbe alatti területet. Ha AML-t ACC mintáktól különítettük el, a szenzitivitás 90,91%, a specificitás pedig 81,82% volt, ha a cut-off érték 3,994 volt. ACA mintáktól való elkülönítés esetén a

szenzitivitás és a specificitás is egyaránt 81,82% volt, ha 3,676-ot vettük cut-off értéknek.

4.1.5. Útvonal-elemzés

A myelolipomában felülexpresszáldott négy miRNS olyan mRNS-eket céloznak, melyek a zsírsavszintézisben, zsírsavlebontásban, illetve a zsírsavmetabolizmusban szerepelnek.

4.2. A *hsa-miR-483-5p* expressziójának összehasonlítása ACC és ACA betegek plazma és vizeletmintáiban

4.2.1. *hsa-miR-483-5p* expresszió analízis valós idejű PCR-rel plazma és vizeletmintákon

A plazmamintákat vizsgálva, a keringő *hsa-miR-483-5p* szignifikánsan magasabb szintjét találtuk ACC mintákban ACA mintákhoz képest, ami a korábbi eredményeknek megfelel. Vizeletmintákban nem találtunk szignifikáns különbséget ACC és ACA minták között a *hsa-miR-483-5p* expresszióban.

A keringő és vizelet *hsa-miR-483-5p* szintek között nem figyeltünk meg korrelációt. A *hsa-miR-483-5p* szintje és a betegek egyes laborparaméterei között sem találtunk szignifikáns összefüggést.

4.2.2. A plazma *hsa-miR-483-5p* diagnosztikus hatékonysága

Carcinoma és adenoma minták elkülönítésekor az AUC 0,88 volt, illetve 12,05-ös cut-off érték mellett a specificitás 78,3%, a szenzitivitás 87% volt.

4.3. miRNS profilozás primer aldosteronismusban

4.3.1. miRNS expresszió profilozás plazmamintákból NGS-sel

A 30 mintán elvégzett újgenerációs szekvenálás során összesen 50 szignifikánsan eltérően expresszáló miRNS-t találtunk. Az elsődleges adatelemzés során a legnagyobb különbséget mutatták APA és BAH között a következő miRNS-ek: *hsa-miR-30e-5p*, *hsa-miR-223-3p*, *hsa-miR-30d-5p* és a *hsa-miR-7-5p*.

4.3.2. A kiválasztott miRNS-ek valós idejű PCR validálása

A szekvenálás során kiválasztott négy miRNS-t 93 mintából álló független validációs kohorszon vizsgáltuk RT-qPCR segítségével. A különböző centrumokból származó, de azonos minták között szignifikáns különbséget tudtunk kimutatni. A BAH magasabb expressziója APA csoportokhoz viszonyítva a legtöbb esetben látható volt. A szekvenálás során kiválasztott négy szignifikánsan eltérő expressziójú miRNS-ből három validálása sikeres volt. BAH mintákban a *hsa-miR-30e-5p* ($p=0,04$), a *hsa-miR-30d-5p* ($p=0,02$) és a *hsa-miR-7-5p*

($p=0,016$) mutatott szignifikáns felülexpressziót APA mintákhoz viszonyítva. A mintacsoportok szórásai között különbséget figyeltünk meg: a BAH minták miRNS expresszió szintjét relatív homogenitást mutatnak az APA heterogénebb megjelenéséhez képest.

4.3.3. A keringő miRNS-ek diagnosztikus hatékonysága

A *hsa-miR-7-5p* 0,64-es görbe alatti területet (AUC) mutatott és 61,7%, illetve 58,7%-os specificitás és szenzitivitás értékeket, ha a cut-off 0,13 volt. A *hsa-miR-30d-5p* hasonlóképpen 0,64-es AUC-t mutatott és a szenzitivitás és specificitás értékek is megegyeztek (58,7% és 61,7%), ha a cut-off 0,05 volt. A *hsa-miR-30e-5p* valamivel gyengébb AUC értéket mutatott (0,61), szenzitivitás és specificitás értékek ugyanúgy 58,7% és 61,7% volt, ha a cut-off érték 0,06 volt.

5. Következtetések

- 1.1. A mellékvesekéreg-carcinoma, mellékvesekéreg adenoma és a mellékvese myelolipoma szöveti miRNS expressziója szignifikáns mértékben különbözik egymástól. Ezt újgenerációs szekvenálással és RT-qPCR segítségével bizonyítottuk.
- 1.2. Keringő miRNS-ek vizsgálatakor mellékvesekéreg-carcinomában a *hsa-miR-483-3p*

és a *hsa-miR-483-5p* szignifikáns felülexpresszióját mutattuk ki mellékvesekéreg-adenomához képest. Mellékvese myelolipomában a *hsa-miR-451a* és a *hsa-miR-363-3p* szignifikáns felülexpresszióját találtuk a másik két daganathoz képest.

- 1.3. A *hsa-miR-483-5p* szignifikáns felülexpressziója mellékvesekéreg-carcinomában csak mellékvesekéreg-adenomához képest volt kimutatható, myelolipomához képest nem. E miRNS-t eddig a mellékvesekéreg-carcinoma legjobb biomarkerének tartják, azonban e megfigyelés klinikai alkalmazhatóságát korlátozhatja.
- 1.4. A *hsa-miR-451a* szignifikáns felülexpressziót mutatott myelolipomában a másik két daganathoz képest. Meggyőző szenzitivitás és specificitás értékeket elérvén további vizsgálatok után a klinikai gyakorlatba is bevezethető lehet e miRNS, mint a mellékvese myelolipoma minimálisan invazív biomarkere.
- 2.1. Vizsgálatunkban megerősítettük a keringő *hsa-miR-483-5p* szignifikánsan magasabb kifejeződését mellékvesekéreg-carcinomában mellékvesekéreg-adenomához képest.
- 2.2. A vizeletben a *hsa-miR-483-5p* kimutatható, azonban a mellékvesekéreg-carcinoma és mellékvesekéreg-adenoma betegek vizeletmintáiban expressziójában nem tudtunk szignifikáns különbséget kimutatni. Így

megállapítható, hogy e betegségek elkülönítésére a vizelet *hsa-miR-483-5p*, mint non-invazív biomarker nem alkalmas.

- 3.1. A keringő *hsa-miR-7-5p*, a *hsa-miR-30d-5p* és a *hsa-miR-30e-5p* szignifikánsan magasabb szintjét tudtuk kimutatni bilaterális adrenális hyperplasiában aldoszteron-termelő adenomához képest mind újgenerációs szekvenálással, mind RT-qPCR-rel. A nem kielégítően magas szenzitivitás és specificitás értékek következtében e miRNS-ek jelen tudásunk szerint nem tűnnek használhatónak a klinikai gyakorlatban.
- 3.2. A miRNS expresszió bilaterális adrenális hyperplasiában homogénebb képet nyújtott, mint aldoszteron-termelő adenomában, mely az irodalom alapján is egy genetikailag heterogénebb betegség. Eredményeink is alátámasztani látszanak azt a feltételezést, hogy e két primer aldosteronismust okozó betegség egy ugyanazon spektrum két különböző súlyosságú és megjelenésű betegségét jelentik.

6. Az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények jegyzéke

1. Decmann A, Perge P, Tóth M, Igaz P. (2018) Adrenal myelolipoma: a comprehensive review. *Endocrine* 59 (1) pp. 7-15.
Impakt faktor 2018: 3,296
2. Decmann A, Perge P, Nyíró G, Darvasi O, Likó I, Borka K, Micsik T, Tóth Z, Bancos I, Pezzani R, Iacobone M, Patocs A, Igaz P. (2018) MicroRNA expression profiling in adrenal myelolipoma. *J Clin Endocrinol Metab* 103: 3522-3530.
Impakt faktor 2018: 5,605
3. Decmann A, Bancos I, Khanna A, Thomas MA, Turai P, Perge P, Pintér JZ, Tóth M, Patócs A, Igaz P. (2019) Comparison of plasma and urinary microRNA-483-5p for the diagnosis of adrenocortical malignancy. *J Biotechnol* 297: 49-53.
Impakt faktor 2018: 3.163

7. Az értekezéshez közvetlenül nem kapcsolódó publikációk jegyzéke

1. Perge P, Decmann A, Igaz P, (2015). A neuroendokrin daganatok kezelése szomatosztatinanalógokkal. *Magyar Belorvosi Archívum* 68 (6) pp. 317-322.
2. Perge P, Butz H, Pezzani R, Bancos I, Nagy Z, Pálóczi K, Nyíró G, Decmann A, Pap E, Luconi M, Mannelli M, Buzas EI, Tóth M, Boscaro M, Patócs A, Igaz P. (2017) Evaluation and diagnostic potential of circulating extracellular vesicle-associated microRNAs in adrenocortical tumors, *Scientific Reports* 7 (1) p. 5474
Impakt faktor 2017: 4,122
3. Perge P, Nagy Z, Decmann A, Igaz I, Igaz P. (2017) Potential relevance of microRNAs in inter-species epigenetic communication, and implications for disease pathogenesis. *RNA Biology* 14 (4) pp. 391-401.
Impakt faktor 2017: 5,216
4. Decmann A, Perge P, Nagy Z, Butz H, Patócs A, Igaz P. (2017) Keringő mikroRNS-ek az endokrin daganatok diagnosztikájában. *Orvosi Hetilap* 158 (13) pp. 483-491.
Impakt faktor 2017: 0,322

5. Nagy Z, Decmann A, Perge P, Igaz P. (2018) A mikroRNS-ek patogenetikai és diagnosztikai szerepe mellékvesekéreg-carcinomában. *Orvosi Hetilap* 159: (7) pp. 245-251.

Impakt faktor 2018: 0,564

6. Perge P, Decmann A, Pezzani R, Bancos I, Fassina A, Luconi M, Canu L, Tóth M, Boscaro M, Patócs A, Igaz P. (2018) Analysis of circulating extracellular vesicle-associated microRNAs in cortisol-producing adrenocortical tumors. *Endocrine* 59 (2) pp. 280-287.

Impakt faktor 2018: 3,296

8. Köszönetnyilvánítás

Nagy köszönettel tartozom **Prof. Dr. Igaz Péternek**, a Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika igazgatójának, témavezetőmnek, hogy kutatócsoportjába fogadott és számomra kimagasló példát nyújtva irányította az eddigi munkámat.

Köszönöm **Dr. Patócs Attila** egyetemi docens úrnak, hogy az Endokrin Genetika Laborban számomra helyet biztosított, és hogy szakmai kérdéseimre mindig a lényegyet látva és hatalmas szakmai tudással válaszolt.

Köszönöm továbbá az Endokrin Genetika Labor, illetve a Szteroid és Izotóp Laboratórium minden dolgozójának mindig segítőkész hozzáállását. Különösképpen is **Dr. Perge Pálnak, Dr. Nyíró Gábornak, Fülöpné Németh Kingának, Dr. Kövesdi Annamáriának, Dr. Nagy Zoltánnak, Dr. Sarkadi Baláznak és Dr. Sumánszki Csabának**. A Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinikai Endokrin Osztályának minden dolgozójának segítségéért is hálás vagyok, különösen is **Prof. Dr. Tóth Miklósnak és Tóth Zsuzsannának**.

Hálás vagyok a **Jóistennek**, a **családomnak** és **páromnak**, hogy szeretetükkel és támogatásukkal elősegítették azt, hogy ez a munka elkészüljön.