

**SZTEROID-PROFIL VIZSGÁLATOK ENDOKRIN ÉS
IDEGRENDSZERI KÓRKÉPEKBEN**

PhD értekezés tézisei

Vargáné Bíró Ildikó

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Programvezető: Dr. Gőcze Péter Miklós

Témavezetők: Dr. Gőcze Péter Miklós, Dr. Kilar Ferenc

Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

2013

BEVEZETÉS

Közel 60 évvel ezelőtt, 1950-ben ítelték oda a Nobel-díjat három amerikai kutatónak (P. S. Hench, E. C. Kendall, és T. Reichstein) a mellékvesekéreg hormonok alapvető biológiai hatásainak felfedezéséért. Azóta a szteroidok az orvosi gyakorlat alapvető vizsgálati és terápiás eszközeivé váltak.

Számos kísérletes és klinikai adat szól amellett, hogy az élettani és patológiás szteroid metabolizmusban bekövetkező változások fontos szerepet játszanak egyes megbetegedések létrejöttében. Ezért a szteroid hormonok minőségi és mennyiségi meghatározása kulcsfontosságú az orvosi diagnosztikában és a különböző betegségek kórlelettanának felderítésében, valamint segítséget nyújthat a terápiájukban is.

Napjainkban leggyakrabban a szteroidok, illetve szteroid metabolitok mérésére immunszéket vagy kromatográfias módszereket alkalmaznak. A szérumból, plazmából, nyálból és vizeletből történő egyedi szteroid mérések (általában immunszék) gyorsan és könnyen kivitelezhetőek, többnyire automatizálhatóak. Hátrányuk, hogy csak a mintavétel pillanatában a keringésben lévő szteroidokról nyújtanak tájékoztatást, így a hormonok szekréciónak napi ritmusáról nem adnak információt.

Az általunk használt vizeletszteroid-profil vizsgálat lehetőséget nyújt több szteroid csoport egyidejű mérésére. A módszer segítségével a mirigyekben termelt és a perifériás szteroidokról, illetve szteroid metabolizmusról kaphatunk információkat. Kiküszöbölve az egyes szteroidok termelésére jellemző napszakos (*cirkadián*) ritmust, a 24 órán át gyűjtött vizeletből történő mérés átfogó képet nyújt a napi szteroid anyagcseréről, a szteroidok metabolikus útjairól és a szintézisben résztvevő enzimek működéséről is. További előnye, hogy a mintavétel stressz és fájdalommentes, ami különösen fontos szempont lehet a stresszel kapcsolatos vizsgálatoknál.

Több endokrin megbetegedés differenciál diagnosztikájában és kutatásában kiemelkedő szerepe van a vizeletszteroid-profil módszernek. Magyarországon egyedül a PTE ÁOK Bioanalitikai Intézetében végezhető vizeletszteroid-profil vizsgálat, a módszerrel dolgozó laboratóriumokat összefogó nemzetközi szervezet tagjaként.

Kutatásaink során különböző endokrin és pszichiátriai megbetegedések szteroid hátterét tanulmányoztuk. Ezen betegségek patofiziológiája nem teljesen felderített, és kapcsolatos a szteroid metabolizmus módosulásával.

CÉLKITŰZÉSEK

Napjainkban egyre többet találkozhatunk evészavaros, illetve különböző meddőségi betegségekkel, amelyek összetett endokrin háttérrel rendelkeznek. Ezeknek a kórképeknek a patofiziológiája még nem teljesen ismert, de kapcsolatba hozhatóak a szteroidok metabolizmusának megváltozásával is. Az irodalmi adatok e betegségek hormonális háttérével kapcsolatban ellentmondásosak és hiányosak, ezért célunk volt ezen területek endokrinológiai ismereteinek bővítése. Tanulmányozni kívántuk azt is, hogy létezik-e a betegcsoportjainkra jellemző egyedi vizeletszteroid-profil, illetve azt, hogy az észlelt változások értelmezhetőek-e a diagnosztika, illetve a terápia szintjén.

1. Célunk volt a szteroid metabolizmus változásainak megismerése evészavaros betegségben szenvedő nőknél
2. Vizsgálni kívántuk a kontrollált petefészek stimuláción átesett alacsony válaszkészségű betegek vizeletszteroid-profilját
3. *In vitro* fertilizációs (IVF) kezelésen átesett nők 3 hét alatti szteroid metabolizmus változását kívántuk tanulmányozni az embriótranszfer után
4. Célunk volt sikeres és sikertelen embriótranszferen átesett nők petesejtleszívás napján vett, valamint 3 héttel az embriótranszfer után vett vizeletmintáinak szteroid-profil összehasonlítása
5. Kezelt endometriózisos, IVF kezelésen átesett nők vizeletszteroid-metabolit szintjeit kívántuk összehasonlítani endokrin problémával nem rendelkező, IVF kezelésen átesett nők vizeletszteroid-metabolit szintjeivel

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

1. BETEGANYAG

Munkánk során 24 órán át gyűjtött vizelet-mintákkal dolgoztunk. A betegcsoportokat a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Klinikáinak betegei közül választottuk ki, szigorú kritériumoknak megfelelően, a klinika orvosainak segítségével.

A tanulmányban azon személyek vehettek részt, akik hozzájárultak a kutatásban való részvételhez, nem szenvedtek egyéb súlyos egészségkárosító ill. endokrin betegségben és a mintagyűjtést pontosan végezték.

Kontroll csoportként a legtöbb esetben a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika illetve a Bioanalitikai Intézet azonos nemű és hasonló korosztályú egészséges dolgozóinak közreműködését kértük.

2. VIZELETSZTEROID-PRPFIL MEGHATÁROZÁS

A gázkromatográf-tömegspektrometriai méréseket több munkafolyamatból álló mintaelőkészítés előzte meg, melynek lépései: szteroidok kivonása a vizeletből, konjugátumként ürülő metabolitok felszabadítása enzimatis hidrolízissel, származékképzés, melynek során a hőbomlást és az illékonyt befolyásoló poláris csoportok (hidroxil és keto csoportok) átalakítása történik, ill. az alkalmazott származékképző reagensek feleslegének eltávolítása géloszloppal történő tisztítás során.

Az analízis során a származékképzett szteroid metabolitokat gázkromatográfiás módszerrel, apoláris állófázist tartalmazó kapilláris oszlopon választottuk el. Detektorként tömegspektrométert alkalmaztunk. A detektálás szelektív ionkövetéssel történt. A szteroidokat a származékaik retenciós ideje, valamint az egyes származékképzett szteroidok célionjának és minősítő ionjainak egymáshoz viszonyított aránya alapján azonosítottuk. A mennyiségi meghatározás belső standard módszerrel történt.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Öt endokrin, ill. idegrendszeri, a szteroid metabolizmust érintő kórképben elemeztük a betegek 24 órás vizeletszteroid-profiljait. A betegek mintáiban mért metabolitok 24 órás mennyiségét a minta eloszlásának megfelelő statisztikai próbákkal hasonlítottuk össze hasonló korú kontrollok szteroid értékeivel.

1. Neuroendokrin tanulmányok sokat foglalkoznak a kortizol metabolizmus váltoásaival evészavarok betegségeiben. Az irodalom beszámol normál és megnövekedett plazma-kortizol szintről is. Az emelkedett kortizol szint következménye lehet a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely hiperaktivitásának. A kortizol szint megemelkedésének, ill. a változás hiányának oka még nem tisztázott. Az általunk vizsgált evészavaros betegek szabad kortizol szintje, ill. az össz kortizol metabolit értékei nem tértek el szignifikánsan a kontrolloktól. Azonban öt betegnél a össz kortizol metabolit szint magas volt, szignifikánsan eltért a kontroll értékektől, ez megegyezik más kutatók plazma kortizol szintre vonatkozó eredményeivel. Az eltérő eredmények okainak felderítéséhez további vizsgálatok elvégzése szükséges.

Az allo-tetrahydrokortikoszteron (aTHB) stressz marker megemelkedett szintje a fiatal evészavarban szenvedő nőkben annak a jele lehet, hogy a testalkatuk miatti állandó elégedetlenségből származóan folytonos stresszben élnek.

A dehidroepiandrosteron (DHEA) és dehidroepiandrosteron-szulfát (DHEAS) szerepét már vizsgálták különböző betegségeiben: mellrákban, osteoporózisban, depresszióban, stb. A mi eredményeink megegyeznek mások eredményeivel, miszerint a csökkent DHEA szintnek szerepe van az evészavaros betegségeiben. Ez a tapasztalat felveti a betegségek kezelésében való hasznosítás lehetőségét.

2. Az *in vitro* fertilizáció (IVF) és más asszisztált reprodukciós technikák sikeressége nagymértékben függ attól, hogy sikerül-e optimalizálni a petefészek stimulációs protokollokat, amelyek jó minőségű petesejtekhez és embriókhoz vezethetnek. Az alacsony válaszkészségű betegekre alacsony petesejt termelés, kevés transzferre alkalmas embrió jellemző. Az alacsony válaszkészség oka még nem teljesen ismert. Néhány esetben összefüggést találtak az előrehaladott reprodukciós kor (40 év feletti életkor) és az alacsony válaszkészség között. Más tényezők, mint előrehaladott endometriózis, vagy korábbi petefészek műtét is vezethetnek alacsony válaszkészséghez.

Néhány tanulmány megváltozott petefészek szteroid termelést talált ezeknél a betegeknél a follikuláris szteroid hormon szinteket vizsgálva gonadotropin releasing hormon (GnRH) agonista hiperstimuláció után. Hasonlóan a granulóza-luteális sejtek szerepében is eltéréseket találtak GnRH agonista és antagonistá kezelés után is. Igazolták, hogy az ösztradiol szintje a follikuláris folyadékban csökkent az alacsony válaszkészségű betegeknél, és ezeknek a betegeknek granulóza sejtjei szignifikánsan kevesebb progeszteront termelnek, mint a normál válaszkészségű betegeknél. Ez megegyezik a mi eredményeinkkel, de mi csak egy progeszteron eredetű metabolitnál ($\Delta 5$ -PD) találtunk szignifikáns csökkenést ennél a betegcsoportnál. Egy másik progeszteron metabolit, a pregnándiol (PD) szintjénél is csökkenést tapasztaltunk, de ez az eltérés nem volt szignifikáns. A többi progeszteron eredetű metabolitnál nem találtunk szignifikáns különbséget a két csoport között. Emellett a vizeletben szignifikánsan alacsonyabb DHEA szintet mutattunk ki az alacsony válaszkészségű betegeknél. Más androgén metabolitokat, illetve a kortikoidokat tekintve nem találtunk különbséget a két csoport között. A mellékvese kéreg az egyik fő forrása a gyenge androgén szteroidoknak (DHEA, DHEAS), amelyek részben átalakulnak sokkal hatásosabb androszténdionná és tesztoszteronná a periférián. Az általunk tapasztalt szignifikánsan csökkent DHEA szint rámutat a tesztoszteron, androszténdion és DHEA szerepére alacsony válaszkészség esetén. Emellett néhány tanulmány szignifikánsan alacsonyabb tesztoszteron szintet mutatott ki alacsony válaszkészségű betegek follikuláris folyadékában. Mások azt találták, hogy a DHEA növeli a petefészek stimulációra adott választ.

A fenti eredmények alapján feltételezhetjük, hogy a petefészek granulóza sejtjeinek szteroid termelése előnytelenül megváltozott az alacsony válaszkészségű betegeknél.

Fontos hangsúlyozni, hogy a tanulmányunk során a vizeletszteroid metabolitok koncentrációját határoztuk meg, és nem végeztünk *in vitro* kísérleteket azért, hogy meghatározzuk, a két csoport különbözik-e a granulóza sejtek funkciójában gonadotropin stimuláció után.

3. Sikeres embriótranszfer (terhes betegek)

Az implantáció és korai terhesség körüli hormonális események nagyon összetettek, és még nem teljesen ismertek. Azt tapasztaltuk, hogy az androszteron (An), etiokolanon (Et), pregnándiol (PD), tetrahidro-11-dehidrokortikoszteron (THA) és tetrahidrokortikoszteron (THB) szintek szignifikánsan növekedtek a petesejtleszívás napi értékekhez képest 3 héttel az embriótranszfer után. Az An és Et androgén metabolitok, a PD progeszteron származék, a THA és THB pedig kortikoszteronok.

Az androgének magas koncentrációjának több oka is lehet: a petefészkek vagy mellékvese fokozott termelése, növekedett perifériás aromataz aktivitás, vagy a csökkent clearance-e. A szignifikánsan növekedett An és Et szint sikeres embriótranszfer után érdekes felfedezés. Egyesek szerint az emelkedett androgén koncentráció lehet az egyik legfontosabb faktora a vetülésnek, ami ellentmond a mi eredményeinkkel. Néhány tanulmány rámutatott, hogy összefüggés lehet a magas tesztoszteron koncentráció, az abnormális endometrium fejlődés, és a vetélések között.

A PD a progeszteron metabolitja. A progeszteront főként a sárgatest termeli a terhesség 5-6. hetéig, majd a 12. héttől a placenta lesz a bioszintézis fő színhelye. A legvalószínűbb oka a tartósan magas progeszteron szintnek az, hogy a stimuláció hatására több luteinizált folliculus érik be. Az első trimeszter során magas progeszteron koncentráció a jellemző. Csapó és mtsai humán kísérletekben igazolták a progeszteron jelentőségét az első trimeszterben. Azt tapasztalták, hogy a sárgatest eltávolítása a terhesség 7. hete előtt vetüléshez vezet. Másik kísérletüknél úgy találták, hogy a terhesség a sárgatest eltávolításakor progeszteron beadásával fenntartható. A progeszteron elősegíti a méhizomzat ellazulását és lokális vazodilatációját azáltal, hogy indukálja a nitrogén monoxid szintézisét a deciduában.

A hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely működése a terhesség alatt megváltozik. A növekedett THA és THB szintek rámutatnak a kortikoszteronok szerepére a korai terhesség valamint az embrionális fejlődés alatt. Korábbi tanulmányok szerint a plazma kortikoszteron koncentráció a terhesség előrehaladtával növekszik.

Sikertelen embriótranszfer (nem terhes betegek)

Méréseink során azt találtuk, hogy sikertelen embriótranszfer esetén a tetrahydrokortizon (THE), tetrahydrokortizol (THF), allo-tetrahydrokortizol (aTHF) és α -kortolon (α -CL) szintek szignifikánsan csökkentek 3 héttel az embriótranszfer után a petesejtleszívás napi értékekhez képest. A THE és α -CL kortizon metabolitok, míg a THF, aTHF kortizol metabolitok.

A kortizol befolyásolja a luteális fázisban a progeszteron termelődését. Néhány tanulmány már korábban rámutatott arra, hogy az implantáció időszakában termelődő kortizol gátolja a progeszteron termelődését. A petefészken a kortikotropin-releasing faktor receptorok felfedezése is alátámasztja, hogy a stressznek down-regulációs hatása van a szteroidogenezisre. Mások szerint a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese tengely hormonjai képesek az ivarmirigyek funkcióját elnyomni azáltal, hogy gátolják a GnRH kibocsátást.

4. A terhesség korai szakaszában összetett hormonális folyamatok játszódnak le, melyek még nem teljesen ismertek. Azt tapasztaltuk, hogy 3 héttel az embriótranszfer után a terhes nőkben a pregnándiol (PD) és a pregnántriol (PT) mennyisége szignifikánsan magasabb, míg a tetrahydrokortizol (THF) mennyisége szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a nem terhes nőkben. A PD és PT progeszteronból származik, míg a THF kortizol metabolit.

Az endokrin- és az immunrendszer kölcsönösen hatnak egymásra a terhesség fenntartása során. A deciduában szexuáliszteroidok hatására megnövekszik a száma egy limfocita sejttípusnak, az uNK (uterine natural killer) sejteknek a korai terhesség során. Ezeknek a sejteknek a szerepe a terhességben még nem tisztázott. Néhány kutató szerint elősegítik a placenta növekedését és gondoskodnak a immunmodulációról az anyai-magzati határfelületen. Az uNK sejtek hormonális szabályozás alatt állnak, a progeszteron, az ösztrogén és a prolaktin révén.

A terhes csoportnál tapasztalt szignifikánsan alacsonyabb THF szint a terhességhez való anyai alkalmazkodás jele. A nem terhesek csoportjánál a magas THF szint felveti az esetleges vetélés lehetőségét. A növekedett kortizol szint csökkenti a progeszteron termelést az implantáció körüli időszakban.

Az egereknél bizonyos immunfolyamatok elősegítik a Th1/Th2 citokin arány eltolódását, ami összefüggésben lehet az alacsony progeszteron szinttel és a korai spontán vetéléssel. Nyulakból származó sejt kultúrákon végzett kísérletekkel kimutatták, hogy a glükokortikoidok a trophoblast sejtek degenerációját és idő előtti öregedését okozhatják.

5. Az endometriózissal kezelt betegek és a kontrolok petesejtleszívás napján vett vizeletéből meghatározott szteroid-metabolit értékeket összehasonlítva azt találtuk, hogy sem az androgén, sem a progeszteron, sem a kortikoid metabolitok szintjében nem mutatható ki számottevő eltérés.

Follikuláris folyadék vizsgálatokor megfigyeltek emelkedett progeszteron szintet IVF stimuláción átesett betegeknél. Ezeknél a betegeknél a follikuláris progeszteron szint a betegség súlyosságával korrelált, míg a tesztoszteron szint a betegség súlyosságával csökkent.

A mi eredményeink nem tükrözik ezt, a kérdés tisztázásához további vizsgálatok szükségesek.

ÖSSZEFOGLALÁS

Dolgozatomban a vizeletbe ürülő szteroid metabolitok kimutatásának gázkromatográfiás szteroid-profil módszerével foglalkoztam.

Az endokrinológia, nőgyógyászat, gyermekgyógyászat, bőrgyógyászat és belgyógyászat területén is széles körben alkalmazható a módszer, mivel a jellegzetes szteroid-profillal bíró mellékvese, vagy ivarmirigy eredetű betegségeknel a profilok jelentős diagnosztikai értékűek.

A vizsgált pszichiátriai és nőgyógyászati betegségeknek, állapotoknak komplex endokrin háttere van, kórélettanukban a szteroid hormonoknak összetett, részben ismert szerepe van. Vizsgálataink során több esetben találtunk eltéréseket a szteroid profilban az általunk összehasonlított azonos nemű és hasonló korcsoportú betegcsoportok, illetve betegcsoportok és kontrollok közt.

Főbb eredményeink:

1. Megállapítottuk, hogy a csökkent dehidroepiandroszteron szintnek szerepe van az evészavaros betegségekben, ezért a terápiás használhatóság lehetőségét is felvetettük. Emellett a megemelkedett allo-tetrahidrokortikoszteron szinttel felhívtuk a figyelmet arra, hogy ezek a nők állandó stresszben élnek a testsúlyuk miatti folyamatos elégedetlenségéből származóan.
2. Rámutattunk, hogy az alacsony válaszkészségű betegek granulóza sejtjeinek szteroid termelése előnytelenül megváltozott, ezért szignifikánsan kevesebb progeszteron termelődik. A betegeknél általunk tapasztalt szignifikánsan alacsonyabb dehidroepiandroszteron szint utal a tesztoszteron, androszténdion és dehidroepiandroszteron szerepére alacsony válaszkészség esetén. Az alacsony dehidroepiandroszteron szint miatt felvetettük a komponens terápiás alkalmazásának lehetőségét is.

3. Sikeres embriótranszferű betegek emelkedett pregnándiol szintje a progeszteron kulcsfontosságú szerepére mutat rá az első trimeszter ideje alatt. Ráirányítottuk a figyelmet a megváltozott tetrahydro-11-dehydrokortikoszteron és tetrahydrokortikoszteron szinttel a kortikoszteronok szerepére a korai terhesség, valamint az embrionális fejlődés alatt. A szignifikánsan emelkedett androszteron és etiolanolon szint látszólag ellent mond azzal, hogy több tanulmány szerint az emelkedett androgén szint az egyik legfontosabb faktora lehet a vetélésnek. Ennek tisztázására további vizsgálatok szükségesek.

Sikertelen embriótranszferű betegeknel az emelkedett kortizon és kortizol metabolit szintekkel a stressz szteroidogenezisre gyakorolt down-regulációs hatását igazoltuk, valamint azt, hogy az implantáció időszakában túlzott kortizol termelés gátolja a progeszteron termelődését, ami a terhesség fenntartásában kulcsfontosságú lehet.

4. A sikeres és sikertelen embriótranszferű betegek összehasonlításánál a terhes nőknél szignifikánsan magasabb pregnándiol és pregnántriol szintet, valamint szignifikánsan alacsonyabb tetrahydrokortizol szintet igazoltunk. A terhes csoportnál tapasztalt alacsonyabb tetrahydrokortizol szint a terhességhez való anyai alkalmazkodás jele.
5. A kezelt endometriózisos betegek vizeletszteroid-metabolitjainál nem találtunk eltérést a többi beteghez viszonyítva. Irodalmi adatok szerint a follikuláris folyadékban magasabb progeszteron, valamint néhány adat szerint alacsonyabb tesztoszteron szint figyelhető meg. A kérdés tisztázásához további vizsgálatok szükségesek.

Különböző betegségnél eltérő tünetekkel járhat az egyes metabolitok szintjében tapasztalt hasonló változás. Ez alapján a szteroid profil módszer alkalmas a változások kimutatására, viszont az egyes komponensek szerepének tanulmányozásához és pontosításához további szövet-specifikus vizsgálatok szükségesek.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK

JEGYZÉKE

Cikkek:

Poór V, **Bíró I**, Bufa A, Gáti Á, Fenyvesi I, Juricskay S, Tényi T, Urinary steroids in young women with eating disorders, *Journal of Biochem and Biophys* 2004; 61:199-205. (IF 1,218)

Poór V, Bufa A, **Bíró I**, Telegdy E, Tényi T, Gáti Á, Osváth P, Wilhelm F, Juricskay S, Urinary steroid measurements in some endocrine and psychiatric diseases, *Current Medical Chemistry* 2005; 12:1339-1342. (IF 4,382)

Bíró I, Bufa A, Poór V, Wilhelm F, Mánfai Z, Jeges S, Gócze M.P, Kilár F, Urinary steroid profiles of patients three weeks after *in vitro* fertilization, *STUDIA UNIVERSITATIS BABES-BOLYAI CHEMIA* 2011, 56: 39-47. (IF: 0,231*)

Bíró I, Bufa A, Wilhelm F, Mánfai Z, Kilár F, Gócze M.P, Urinary steroid profiling of early pregnancy after *in vitro* fertilization, *Acta Obstet Gynecol Scand* 2012, 91:(5) 625-629 (IF 1,860*)

Bíró I, Bufa A, Jeges S, Wilhelm F, Kilár F, Gócze M. P, Urinary steroid profiles of patients with poor and normal response to controlled ovarian stimulation before *in vitro* fertilization, közlésre beküldve az *International Journal of Gynecology and Obstetrics folyóirathoz* (Manuscript number: IJG-D-13-00106)

Posztterek:

Bíró I, Poór V, Bufa A, Juricskay S, Gáti Á, Fenyvesi I, Urinary steroids in young women with eating disorders, 7th International Symposium on Instrumental Analysis, Pécs, September 21-24, 2003

Poór V, Juricskay S, Bufa A, **Bíró I**, Telegdy E, Tényi T, Gáti Á, Osváth P, Wilhelm F, Urinary steroid measurements in some endocrine and psychiatric diseases, Advances in Chromatography and Electrophoresis-Conferentia Chemometria, Budapest, 2003

Bíró I, Bufa A, Wilhelm F, Mánfai Z, Gőcze PM, Kilar F, Urinary steroid profiling of early pregnancy after in vitro fertilization, 8th Balaton Symposium On High-Performance Separation Methods and 15th International Symposium on Separation Sciences, Siófok, September 2-4, 2009

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

Cikkek:

Poór V, Bufa A, **Bíró I**, Wilhelm F, Juricskay S, Examination of sex steroids in the urines of postmenopausal women with osteoporosis, *Chromatographia* 2004; 60:S165-S168. (IF 1,145)

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

Bufa A, **Bíró I**, Poór V, Molnár G, Kovács KA, Felinger A, Jeges S, Kilár F, Gőcze PM, Altered urinary profiles of endogenous steroids in postmenopausal women with adenocarcinoma endometrii, *Gynecological Endocrinology* 2010; 26(1):10-15. (IF 1,359)

Ivanova V, Stefova M, Vojnoski B, Stafilov T, **Bíró I**, Bufa A, Felinger A, Kilár F, Volatile composition of Macedonian and Hungarian 1 wines assessed by GC-MS, *FOOD AND BIOPROCESS TECHNOLOGY* In press: pp. 1-5. (2011) (IF 3,703)

Ivanova V, Stefova M, Stafilov T, Vojnoski B, **Bíró I**, Bufa A, Kilár F, Validation of a Method for Analysis of Aroma Compounds in Red Wine using Liquid-Liquid Extraction and GC-MS, *FOOD ANALYTICAL METHODS* 5:(6) pp. 1427-1434. (2012) (IF 1,943)

Posztterek:

Bufa A, **Bíró I**, Poór V, Wilhelm F, Juricskay S, Examination of sex steroids in the urines of postmenopausal women with osteoporosis, *Balaton Symposium'03 on High-Performance Separation Methods*, Siófok, September 3-5, 2003

Bufa A, **Bíró I**, Wilhelm F, Poór V, Kilar F, Gócze P, Vizelet szteroid profil vizsgálatok jelentősége a posztmenopauzában, Magyar Menopauza Társaság VI. Országos Kongresszusa, Siófok, Június 9-11, 2005

Bufa A, **Bíró I**, Bálint A, Gócze P, Kilar F, Endogenous urinary steroids in postmenopausal women with ovarian cancer, 7th Balaton Symposium On High-Performance Separation Methods In Memoriam Szabolcs Nyiredy, Siófok, September 5-7, 2007

Bufa A, **Bíró I**, Molnár G, Kilar F, Gócze P, Altered urinary profiles of endogenous steroids in patients with uterine leiomyomas and adenocarcinoma endometrii, 7th Balaton Symposium On High-Performance Separation Methods In Memoriam Szabolcs Nyiredy, Siófok, September 5-7, 2007

Ivanova, V., Kilar F., **Biro, I.**, Bufa, A., Kostadinovik, S., Felinger, A., Vojnoski, B., Stefova, M., Mukaetov, D., Stafilov, T., Aroma Profile of Macedonian and Hungarian wines Assessed by GC-MS, 8th Balaton Symposium on High Performance Separation Methods and 15th International Symposium on Separation Sciences, Siofok, Hungary, 2009.