Molekuláris biológiai módszerek alkalmazása a hormonális szabályozó rendszer működésének kutatásában

Doktori tézisek

dr. Gergics Péter
Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Programvezető: Prof. Dr. Rácz Károly, egyetemi tanár, MTA doktora
Témavezető: Prof. Dr. Rácz Károly, egyetemi tanár, MTA doktora

Hivatalos bírálók:
Dr. Erhardt Éva, egytemi adjunktus, Ph.D.
Dr. Sebestyén Anna, tudományos főmunkatárs, Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke:Prof. Dr. Gerendai Ida, egyetemi tanár, MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai:Dr. Garami Miklós egyetemi docens, Ph.D.
Dr. Kovács László Gábor főorvos, Ph.D.

Budapest
2009

I. BEVEZETÉS

A hormonális szabályozó rendszer működésének, illetve e rendszert érintő kóros állapotok hátterében álló eltérések megismeréséhez alkalmazott molekuláris biológiai módszerek széles tárházából a megfelelő módszer kiválasztása alapvető fontossággal bír a klinikai jelentőségű genetikai eltérések pontos és gyors kimutatásához.

Az endokrin szabályozásban kiemelt jelentőségű hypothalamus-hypophysis-mellékvesekéreg tengely anyagcsere és egyéb hatásaiért felelős kortizol iránti érzékenység kialakításában a glükokortikoid receptor (*GR*) genetikai variánsainak (gén-polimorfizmusok) is szerepet tulajdonítanak. E polimorfizmusokkal összefüggő csökkent vagy fokozott glükokortikoid érzékenység betegségekre vagy kóros állapotokra hajlamosító tényező lehet, ezért érdekesnek és indokoltnak tűnik a klinikai paraméterekkel való kapcsolat tanulmányozása. A kaukázusi népességben nagy allél-gyakorisággal előforduló *GR* gén Bcl I polimorfizmusának kimutatására többféle módszert fejlesztettek ki, ám ezek nagy költség-, eszköz- és/vagy munkaigénye azonban megnehezíti a népesség-szintű vizsgálatokra való alkalmazást.

Az endokrin rendszer zavarával járó számos monogénesen öröklődő betegségben a háttérben álló génhibák szűrésének, ill. azonosításának hatékonyságát az alkalmazott módszerek alapvetően befolyásolják. A leggyakoribb vizsgálómódszer, az adott gén bázis-sorrendjének meghatározása használt DNS-szekvenálás nem alkalmas a gén nagy deléciójának vagy kópia-szám változásának kimutatására. Erre példa az autoszomális domináns öröklődésű von Hippel-Lindau szindrómával összefüggő *VHL* gén, melynek mutációin kívül a gén teljes vagy részleges deléciója is betegség-okozó gén-hibaként szerepelhet. A *VHL* gén örökletes hibáinak a látszólag sporadikus phaeochromocytomák (LSP) pathogenesisében is szerepe lehet, bár LSP betegek körében különböző földrajzi területeken végzett vizsgálatok a gén-hibák gyakoriságáról eltérő adatokat közöltek.

II. CÉLKITŰZÉSEK

Munkámban az alábbi két feladatcsoport megvalósítását tűztem ki célul:

1. Az endokrin szabályozásban kiemelt jelentőségű hypothalamus-hypophysis-mellékvesekéreg tengely anyagcsere és egyéb hatásaiért felelős kortizol iránti érzékenységet

ismerten befolyásoló *GR* gén Bcl I polimorfizmusának kimutatására hagyományosan alkalmazott módszerek költséges eszközöket (valós idejű PCR), vagy jelentős idő- és költség-ráfordítást igényelnek (Southern-féle hibridizáció, restrikciós emésztés). A Southern-féle hibridizáció esetében sugárvédelmi körülmények is szükségesek. Ezért munkámban célul tűztem ki a *GR* gén Bcl I polimorfizmusának kimutatására a rendelkezésre álló módszereknél egyszerűbb, idő- és költségkímélő új allél-specifikus PCR módszer kidolgozását. Feladatomnak tartottam, hogy az általam tervezett oligonukleotid próbákkal kivitelezett új módszerrel és a Bcl I polimorfizmus kimutatására korábban alkalmazott két hagyományos módszerrel nyert eredményeket nagyszámú DNS mintán összehasonlítsam, és ezzel bizonyítsam a módszer gyakorlati alkalmazhatóságát. Végül célul tűztem ki nagyszámú egészséges egyéntől származó DNS mintán a Bcl I polimorfizmus gyakoriságának hazai népességben való meghatározását.

2. Célul tűztem ki, hogy a Semmelweis Egyetem ÁOK II. sz. Belgyógyászati Klinikán 1998-2008 között vizsgált VHL-szindrómában és vérrokon családtagjaikban, illetve LSP-ban szenvedő betegekben azonosítsam a betegség-okozó csirasejtes *VHL* génhibákat. A von Hippel-Lindau szindróma

hátterében a *VHL* gén mutációin kívül a gén nagy szakaszát érintő deléciók is állhatnak, ezért olyan esetekben, amikor a *VHL* gén direkt szekvenálása nem igazolt mutációt a gén nagy szakaszát érintő deléciók vizsgálatára kvantitatív valós-idejű PCR és multiplex ligációs próba amplifikáció (MLPA) módszereket is alkalmaztam. A különböző *VHL* génhibák detektálására alkalmazott módszerekkel olyan szűrőprogramot kívántam kidolgozni, amely alkalmas az érintett betegekben, ill. vérrokon családtagokban a betegség-okozó genetikai eltéréseknek a szokásosnál hatékonyabb kimutatására. A genetikai vizsgálatokkal nyert eredményekre alapozva feladatul tűztem ki a hazai von Hippel-Lindau szindrómás betegekben észlelt *VHL* gén eltéréseinek összevetését a nemzetközi irodalomban közölt adatokkal. Az elemzés során választ kerestem arra a kérdésre, hogy a vizsgált hazai betegekben talált eltérések között észlelhető-e ”founder” mutációnak megfelelő jelenség, melyet néhány más európai régióban korábban megfigyeltek.

III. BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

A *GR* gén Bcl I polimorfizmusának kimutatása

Az új allél-specifikus PCR módszer kidolgozásakor 247 egészséges magyar felnőtt DNS mintáját használtam fel. Közöttük 60 férfi és 187 nő volt, átlagos életkoruk 54,5±30,5 év, illetve 55±33 év volt. Perifériás vér fehérvérsejtjeiből standard reagens-csomag felhasználásával genomiális DNS-t izoláltam. Az egyes allélokra specifikus ún. belső ”reverse”, illetve ”forward” próbákat, valamint nem specifikus ún. külső próbákat terveztem Primer Premiere szoftvercsomag felhasználásával. Az optimalizált PCR során keletkező fragmentumokat 2%-os agaróz gélelektroforézissel választottam szét, etídium-bromid felhasználásával ultraibolya fényben láthatóvá tettem, majd DNS markerlétra mellett olvastam le azok méretét. A módszer validálására 50 random módon kiválasztott egyén mintájában a hagyományos restrikciós emésztéssel (New England Biolabs, Bcl I enzim) és az arany standardnak számító direkt DNS-szekvenálással (LI-COR 4000L infravörös DNS-szekvenáló automata) is meghatároztam a Bcl I polimorfizmust.

Annak vizsgálatára, hogy a 247 egyénnél tapasztalt genotípus, illetve allélfrekvencia eloszlás követi-e a várható populációs eloszlást, azaz megfelel-e a Hardy-Weinberg ekvilibriumnak khi-négyzet–próbát alkalmaztam SPSS for Windows 12.0.1 szoftvercsomag felhasználásával.

VHL-szindrómában, illetve LSP-ban szenvedő egyének

Hét VHL-szindrómában szenvedő család összesen 35 tagjának, valamint 37, egymással rokoni kapcsolatban nem álló, szövettanilag igazolt egyoldali LSP-ban szenvedő egyén klinikai adatait és genomiális DNS-mintáját dolgoztam fel, akik 1998-2008 között jelentek meg a Semmelweis Egyetem II. számú Belgyógyászati Klinikáján. A betegek kivizsgálása magában foglalta az anamnézis felvételét, a fizikális vizsgálatot, hasi ultrahang, komputertomográfia (CT), agyi, illetve gerinc mágneses rezonancia tomográfia (MR), 131-meta-jodobenzilguanidin (MIBG)-szcintigráfiát és szemészeti vizsgálatot, valamint laboratóriumi vizsgálatokat (rutin biokémia, illetve 24 órás gyűjtött vizeletből katecholamin metabolit meghatározás). Minden vizsgált egyén genetikai tanácsadásban részesült és előzetes belegyezés alapján történt a genetikai vizsgálat elvégzése is. Az indexbetegek családtagjainak szűrővizsgálatait is elvégeztük.

VHL-szindrómában szenvedő egyének

Az indexbetegekben, illetve génhibát hordozó családtagokban észlelt klinikai tünetek alapján a családokat a nemzetközi ajánlásoknak megfelelő VHL altípusokba soroltuk. A betegek

követése során új VHL-asszociált tumorok nem alakultak ki, így reklasszifikációra egyetlen család esetében sem volt szükség.

LSP-ban szenvedő egyének

A LSP-ban szenvedők között 17 férfi és 20 nő volt, átlagos életkoruk 40,6±15,4 év és 37,7±14,4 év volt (tartomány 12-67 év és 19-63 év). A vizsgálatból kizártuk azokat a betegeket, akik kétoldali phaeochromocytomában vagy ismert familiáris szindrómában (VHL, multiplex endokrin neoplasia 2. típusa, neurofibromatosis 1. típusa, familiáris paraganglioma szindróma) szenvedtek. Egyéb VHL-szindrómához kapcsolódó tumorok jelenlétét is vizsgáltuk, de ezek a vizsgálatok negatív eredménnyel zárultak.

A *VHL* gén molekuláris biológiai vizsgálata

Perifériás vérből standard reagens-csomag felhasználásával genomiális DNS-t izoláltam. Primer 3 szoftverrel tervezett primerek felhasználásával, optimalizált PCR során az egyes exonokat a splice régiójukkal együtt sokszoroztam fel, majd tisztítási eljárást követően direkt DNS szekvenálást végeztem (Applied Biosystems 310 Genetic Analyzer). Azokban az esetben, amelyekben direkt szekvenálással nem sikerült

mutációt azonosítani, két módszert alkalmaztam a *VHL* gén nagy deléciójának vizsgálatára: SYBRGreen kémián alapuló új valós idejű PCR módszert (Power SYBRGreen PCR Master Mix; Applied Biosystems 7500 Fast Real Time PCR) és referencia módszerként multiplex ligációs próba analízist (MLPA) (SALSA MLPA kit; Applied Biosystems 310 Genetic Analyzer). Az MLPA vizsgálat kiértékeléséhez Peak Scanner és MS-Excel szoftvereket használtam fel. A nagy géndeléciót - módszertől függően, a gyártók ajánlása alapján - 60, illetve 55% alatti eredmény esetén állapítottam meg.

IV. EREDMÉNYEK

1. A *GR* gén Bcl I polimorfizmusának vizsgálatára alkalmazott új allélspecifikus PCR módszer során egy lépésben keletkezik belső kontroll fragmentum, valamint a Bcl I polimorfizmus hátterében álló SNP-től függően a vad, mutáns, vagy ezek együttes előfordulására jellemző fragmentumok. A random módon kiválasztott 50 különböző DNS mintában az új allél-specifikus PCR módszer, a restrikciós enzim emésztés és a direkt szekvenálás azonos eredményt adott. A vizsgált 247 egyén közül 100 homozigóta vad, 124 heterozigóta és 23 homozigóta mutáns genotípusúnak bizonyult, így a mutáns

allél gyakoriságát (q=0,344) 34,4%-nak találtam. A Hardy-Weinberg-ekvilibrium alapján a mért és a számított genotípus eloszlást khi-négyzet–próbával összehasonlítva a próba értéke 0,8122 (<5,9915, df=2, alfa=0,05 mellett), tehát a számított és mért értékek közötti különbség nem volt szignifikáns. A mért genotípus eloszlás megfelelt Hardy-Weinberg-ekvilibrium alapján várt populációs eloszlásnak, valamint a kaukázusi populációban várható 28,9 – 55 % közötti, átlagosan 36,2 %-os gyakoriságnak.

2. VHL-szindrómás családokban és LPS-ben szenvedő betegekben a *VHL* gén vizsgálatával foglalkozó hazai összefoglaló tanulmányt korábban még nem végeztek. Munkámban a Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinikáján 10 év alatt vizsgált 7 VHL-szindrómás családban 7 különböző betegség-okozó VHL gén eltérést mutattam ki, míg a vizsgált 37 LSP beteg közül 3 betegben (8,1%) találtam betegség-okozó *VHL* gén mutációt. A *VHL* gén vizsgálata során klinikailag VHL-szindrómában szenvedő családok közül 5 a VHL 1 típusba, míg 2 a VHL 2. típusba volt sorolható. Az általam kimutatott összesen 10 betegség-okozó génhiba közül direkt DNS-szekvenálással egy nonsense mutáció (R161X), 6 missense mutáció (L158V, R167Q, S80I, L63P, Y156C és R167G), 1 kis deléció (354_355delCT), továbbá az új valós-

idejú PCR és MLPA módszerekkel 2 nagy géndeléciót (2. illetve 3. exonok) mutattam ki. Ezeken kívül egy VHL családban benignusnak tartott *VHL* génvariánst is észleltem (P25L). A valós idejű PCR módszer kivitelezésekor az olvadási hőmérséklet analízis során egyetlen egy határozott csúcs jelent meg, mely a reakció magas specificitását szemlélteti. A hazai betegekben kimutatott genetikai eltérések a *VHL* génben elszórtan helyezkedtek el, nem ismétlődtek a családok között és nem tömörülnek mutációs hot spot(ok)-ba. A gén-hibák típusának és a klinikai fenotípus elemzésével megállapítottam, hogy a ”nonsense” mutáció, ill. 2 bp kis deléció vagy nagy deléció miatt csonkolt VHL fehérjét eredményező génhibák csak a VHL-szindróma 1-es típusába sorolható családokban fordultak elő, míg a ”missense” mutációk döntően, de nem kizárólag a VHL-szindróma 2B és 2C típusában voltak jelen. A hazai betegekben tapasztalt mutációs spektrum nem különbözött lényegesen a nyugati, japán, vagy kínai populációkban közölt eltérésektől. Az egyik legnagyobb beteganyagot feldolgozó tanulmányban 6 mutációs hot spot-ot azonosítottak, melyek közül kettő (R161X és R167Q) saját betegeinkben is fellelhető volt.

Vizsgálataim során 37 egyoldali LSP-ban szenvedő beteg közül 3 esetben (8,1%) találtam csírasejtes *VHL* gén

mutációt. Mindhárom betegben különböző mutációt mutattam ki (L63P, Y156C és R167G), melynek alapján az ”alapító hatás” lehetősége elvethető volt. Ezeket a mutációkat VHL-szindrómás betegekben már korábban betegség-okozó mutációként írták le.

V. KÖVETKEZTETÉSEK

1. Az endokrin szabályozásban kiemelt jelentőségű hypothalamus-hypophysis-mellékvesekéreg tengely anyagcsere és egyéb hatásaiért felelős kortizol iránti érzékenységet ismerten befolyásoló *GR* gén Bcl I polimorfizmusának kimutatására a korábban rendelkezésre álló módszereknél egyszerűbb új allél-specifikus PCR módszert dolgoztam ki. Az általam kifejlesztett új allél-specifikus PCR módszerrel nyert eredményeket nagyszámú DNS mintán két korábbi módszerrel ellenőriztem (restrikciós enzim emésztés és direkt DNS szevenálás) és minden esetben azonos eredményeket kaptam. A korábbi módszerekkel azonos pontosság mellett az új módszer előnye a gyors kivitelezhetőség, a viszonylag alacsony költség- és munkaigény. Az új módszer alkalmazásához nem szükségesek robosztus eszközök vagy sugárvédelmi körülmények. Megállapítottam, hogy hazai egészséges

egyénekben a polimorf allél gyakorisága 34,4%, ami hasonló a kaukázusi populációban korábban közölt gyakorisághoz.

2. A Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar II. sz. Belgyógyászati Klinikán 1998-2008 között vizsgált 7 VHL szindrómás család 35 tagjában és 37 látszólag sporadikus egyoldali phaeochromocytomában szenvedő betegnél hazánkban elsőként végeztem átfogó jellegű vizsgálatot a betegség-okozó *VHL* gén eltérések azonosítására. A pontmutációk és kis géndeléciók kimutatására alkalmas direkt DNS szekvenáláson kívül a *VHL* gén nagy szakaszát érintő deléciók vizsgálatára kvantitatív valós-idejű PCR és MLPA módszereket vezettem be. E módszerek együttes alkalmazásával kidolgozott szűrőprogram alkalmasnak bizonyult az érintett betegekben, ill. vérrokon családtagokban a betegség-okozó genetikai eltéréseknek a szokásosnál hatékonyabb kimutatására. A módszer hatékonyságát bizonyítja, hogy a vizsgált 7 VHL-szindrómás családban mindegyikében kimutattam a betegség-okozó *VHL* génhibát, továbbá a 37 látszólag sporadikus egyoldali phaeochromocytomában szenvedő beteg közül 3 betegben találtam betegség-okozó *VHL* gén mutációt. Az általam kimutatott összesen 10 betegség-okozó génhiba közül egy nonsense mutáció (R161X), 6 missense mutáció (L158V,

R167Q, S80I, L63P, Y156C és R167G), egy kis deléció (354_355delCT) és 2 nagy géndeléció volt. Ezek a genetikai eltérések a *VHL* génben elszórtan helyezkedtek el, nem ismétlődtek a családok között és nem tömörülnek mutációs hot spot(ok)-ba. A gén-hibák típusának és a klinikai fenotípus elemzésével megállapítottam, hogy a nonsense mutáció, ill. 2 bp kis deléció vagy nagy deléció miatt csonkolt VHL fehérjét eredményező génhibák csak a VHL-szindróma 1-es típusába sorolható családokban fordultak elő, míg a missense mutációk döntően, de nem kizárólag a VHL-szindróma 2B és 2C típusában voltak jelen. A hazai betegekben tapasztalt mutációs spektrum nem különbözött lényegesen a nyugati, japán, vagy kínai populációkban közölt eltérésektől. A nemzetközi *VHL* gén mutációs adatbázisok tanulmányozásával megállapítottam, hogy egy kivételével (354_355delCT) mind a 10 általam igazolt betegség-okozó génhibát már korábban ismertették a nemzetközi irodalomban. Eredményeim alapján a *VHL* gén vizsgálat VHL-szindrómás betegeken és vérrokon családtagjain kívül LSP esetén is javasolható.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ KAPCSOLÓDÓ SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

1. Gergics P, Patocs A, Majnik J, Balogh K, Szappanos A, Toth M, Racz K: Detection of the Bcl I polymorphism of the glucocorticoid receptor gene by single-tube allele-specific polymerase chain reaction
   Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 2006; 4-5: 161-166
   IF: 2,825
2. Gergics P, Patocs A, Toth M, Igaz P, Szucs N, Liko I, Fazakas F, Szabo I, Kovacs B, Glaz E, Racz K: Germline VHL gene mutations in Hungarian families with von Hippel-Lindau disease and patients with apparently sporadic unilateral pheochromocytomas
   European Journal of Endocrinology 2009; 3: 495-502
   IF (2008): 3,791
3. Gergics P, Tőke J, Szilágyi Á, Szappanos Á, Kender Z, Barta G, Tóth M, Igaz P, Rácz K, Patócs A: A nagy géndeléciók kimutatásának módszerei és alkalmazásuk egyes örökletes betegségekben
   Orvosi Hetilap 2009;

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁHOZ SZOROSAN NEM KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

1. Adler I, Barsi P, Czirjak S, Varga I, Gergics P, Jakab C, Racz K: Rapid re-enlargement of a macroprolactinoma after initial shrinkage in a young woman treated with bromocriptine
   Gynecological Endocrinology 2005; 6: 317-321
   IF: 0,852
2. Balogh K, Hunyady L, Patócs A, Valkusz Z, Bertalan R, Gergics P, Majnik J, Tőke J, Tóth M, Szücs N, Gláz E, Fűtő L, Horányi J, Rácz K, Tulassay Z: Az 1-es tipusú multiplex endokrin neoplasia klinikai tünetei, diagnózisa és kezelése. A genetikai vizsgálatok hazai tapasztalatai
   Orvosi Hetilap 2005; 43: 2191-2197
3. Patocs A, Liko I, Varga I, Gergics P, Boros A, Futo L, Kun I, Bertalan R, Toth S, Pazmany T, Toth M, Szucs N, Horanyi J, Glaz E, Racz K: Novel mutation of the CYP17 gene in two unrelated patients with combined 17alpha-hydroxylase/17,20-lyase deficiency: demonstration of absent enzyme activity by expressing the mutant CYP17 gene and by three-dimensional modeling
   Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 2005; 3: 257-265
   IF: 2,866
4. Gergics P, Czirják S, Mondok Á, Tóth M, Varga I, Rácz K, Tulassay Z: Vízszerű orrfolyás vagy nasalis agyvízcsorgás? Acromegaliát okozó hypophysisdaganat tanulságos esete
   Magyar Belorvosi Archívum 2006; Supplementum 2: 139-143

5. Majnik J, Patócs A, Balogh K, Luczay A, Török D, Szabó V, Borgulya G, Gergics P, Szappanos A, Bertalan R, Belema B, Tőke J, Sereg M, Nagy ZZ, Sólyom J, Tóth M, Gláz E, Rácz K, Németh J, Fekete G, Tulassay Z: A glükokortikoidreceptor gén szekvenciavariánsai és jelentőségük a glükokortikoidok iránti érzekenység meghatározásában
Orvosi Hetilap 2006; 44: 2107-2115
6. Majnik J, Patocs A, Balogh K, Toth M, Gergics P, Szappanos A, Mondok A, Borgulya G, Panczel P, Prohaszka Z, Racz K: Overrepresentation of the N363S variant of the glucocorticoid receptor gene in patients with bilateral adrenal incidentalomas
Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2006; 7: 2796-2799
IF: 5,799
7. Patocs A, Klein I, Szilvasi A, Gergics P, Toth M, Valkusz Z, Forizs E, Igaz P, Al-Farhat Y, Tordai A, Varadi A, Racz K, Esik O: Genotype-phenotype correlations in Hungarian patients with hereditary medullary thyroid cancer
Wiener klinische Wochenschrift 2006; 13-14: 417-421
IF: 0,804
8. Balogh K, Hunyady L, Patocs A, Gergics P, Valkusz Z, Toth M, Racz K: MEN1 gene mutations in Hungarian patients with multiple endocrine neoplasia type 1
Clinical Endocrinology 2007; 5: 727-734
IF: 3,370
9. Reismann P, Varga I, Patócs A, Gergics P, Tóth M, Szücs N, Gláz E, Rácz K, Tulassay Z: A hormonvizsgálatok fejlődésének 50 éve, nemzetközi visszatekintés és hazai tapasztalatok
Magyar Belorvosi Archívum 2007; 5: 403-411
10. Toke J, Czirjak G, Patocs A, Enyedi B, Gergics P,

Csakvary V, Enyedi P, Toth M: Neonatal severe hyperparathyroidism associated with a novel de novo heterozygous R551K inactivating mutation and a heterozygous A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor gene
Clinical Endocrinology 2007; 3: 385-392
IF: 3,370

11. Tóth M, Tőke J, Horányi J, Stenczer B, Patócs A, Balogh K, Jakab Z, Szücs N, Gergics P, Varga I, Rácz K, Tulassay Z: A sporadikus és familiaris hyperparathyreosis klinikai és laboratóriumi jellemzői
Magyar Belorvosi Archívum 2007; Supplementum 2: 154-159
12. Tőke J, Tóth M, Patócs A, Bertalan R, Gergics P, Stenczer B, Speer G, Lakatos P, Rácz K, Tulassay Z: A kálcium-szenzor gén mutációvizsgálatának hazai tapasztalatai
Magyar Belorvosi Archívum 2007; 5: 451-454
13. Patocs A, Gergics P, Balogh K, Toth M, Fazakas F, Liko I, Racz K: Ser80Ile mutation and a concurrent Pro25Leu variant of the VHL gene in an extended Hungarian von Hippel-Lindau family
BMC Medical Genetics 2008; 29; DOI10.1186/1471-2350-9-29
IF: 2,762
14. Sallai A, Hosszu E, Gergics P, Racz K, Fekete G: Orolabial signs are important clues for diagnosis of the rare endocrine syndrome MEN 2B. Presentation of two unrelated cases: European Journal of Pediatrics 2008; 4: 441-446
IF: 1,277
15. Sallai Á, Igaz P, Patócs A, Gergics P, Rácz K, Fekete G: Profilaktikus thyreoidectomia gyermekkorban
Gyermekgyógyászat 2008; 2: 48-52

16. Pregun I, Gergics P, Dabasi G, Igaz P, Racz K, Tulassay Z: Serum chromogranin A reflects regression of metastatic carcinoid during prolonged octreotide treatment
European Journal of Gastroenterology & Hepatology 2009; 4: 476-477
IF (2008): 2,080
17. Szoke D, Molnar B, Solymosi N, Racz K, Gergics P, Blasko B, Vasarhelyi B, Vannay A, Mandy Y, Klausz G, Gyulai Z, Galamb O, Spisak S, Hutkai B, Somogyi A, Berta K, Szabo A, Tulassay T, Tulassay Z: Polymorphisms of the ApoE, HSD3B1, IL-1beta and p53 genes are associated with the development of early uremic complications in diabetic patients: results of a DNA resequencing array study
International Journal of Molecular Medicine 2009; 2: 217-227
IF (2008): 1,880
18. Toke J, Patocs A, Balogh K, Gergics P, Stenczer B, Racz K, Toth M: Parathyroid hormone-dependent hypercalcemia
Wiener klinische Wochenschrift 2009; 7-8: 236-245
IF (2008): 0,857
19. Tőke J, Patócs A, Gergics P, Bertalan R, Tóth M, Rácz K, Tulassay Z: Az extracelluláris kálciumkoncentráció érzékelése egészséges és kóros állapotokban
Orvosi Hetilap 2009; 17: 781-790