

# HEEN EN WEER

Een zwerftocht langs hormonen en hun werking



Rede EUR

1994

004

F.H. de Jong

199

red

05

MEDISCHE BIBLIOTHEEK EUR



019600 0025 2498

~~Langs Rede 254~~  
Rede Eub 1994: 004

instituut Maatschappelijke Gezondheidszorg  
Erasmus Universiteit Rotterdam  
Postbus 1738, 3000 DR ROTTERDAM

## HEEN EN WEER

**Een zwerftocht langs hormonen en hun werking**

Rede uitgesproken bij de aanvaarding van  
het ambt van bijzonder hoogleraar in de  
klinisch-experimentele endocrinologie  
aan de Erasmus Universiteit Rotterdam  
op 2 juni 1994 door

F.H. de Jong

Medische Bibliotheek  
E.U.R.

*Mijnheer de rector magnificus, dames en heren,*

U bent uitgenodigd voor een zwerftocht langs hormonen en hun werking. Een zwerftocht, een reis met onbekende bestemming als metafoor voor wetenschappelijk onderzoek, maar ook als uitdrukking van de intrinsieke onzekerheid waarin wij leven. Niets staat vast, we vertrekken zonder te weten waar we uit zullen komen. Toch is het mogelijk ons te wapenen tegen algehele stuurloosheid door gebruik te maken van beschrijvingen van eerdere reizigers. Als reisbeschrijving voor deze tocht zou ik het boek "De hormonen" willen voorstellen (1). Het is geschreven door de latere hoogleraar Tausk, die in 1941, toen het boek verscheen, privaatdocent in de Endocrinologie was aan de Rijksuniversiteit te Utrecht en wetenschappelijk directeur van Organon te Oss. Na twee inleidende hoofdstukken over de geschiedenis van de endocrinologie en de taak der hormonen in het lichaam, behandelt het derde en laatste algemene hoofdstuk de algemene methodiek van het hormonenonderzoek.

Dit hoofdstuk begint met de intrigerende vraag: "Hoe vangt men een hormoon"? Om direct daarna te antwoorden: "De jacht naar een hormoon begint wanneer het bestaan daarvan vermoed wordt. Dit vermoeden kan op twee manieren ontstaan: in het algemeen is een stoornis in een organisme het uitgangspunt van het onderzoek. Wanneer een dergelijke stoornis spontaan is ontstaan, dan is een goed waarnemend en scherp denkend arts nodig, die achter de ziekteverschijnselen als het ware het hormoon ziet. De stoornis kan er echter ook één zijn, die door een experimentator opzettelijk wordt teweeggebracht door een orgaan te verwijderen, of juist een orgaan te transplanteren, om op deze manier effecten van te weinig of te veel van het hormoon te kunnen bestuderen".

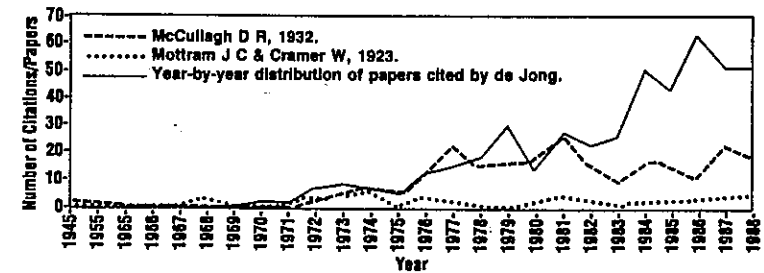
Op deze ene bladzijde van zijn boek, dat meer dan 50 jaar geleden verscheen, noemt Tausk clinicus en experimentator, de polen van het vakgebied van mijn leerstoel, de klinisch-experimentele endocrinologie. Het is voor mij, als niet-clinicus, een uitdaging deze positie op een ogenschijnlijk breukvlak in te nemen. In de komende 40 minuten wil ik met u bespreken hoe uit combinatie van gegevens uit klinische en experimentele endocrinologie nieuwe gezichtspunten naar voren kunnen komen. Ik zal dit in eerste instantie doen aan de hand van een voorbeeld uit de

experimentele reproductieve endocrinologie. Het zal u niet verbazen als blijkt, dat dit voorbeeld inhibine, activine en hun receptoren betreft. Omdat ook een vak, dat zijn geschiedenis niet kent, geen toekomst heeft, wil ik met u de ontwikkeling van het inhibine-concept bespreken, die vol mooie momenten is, maar ook diepe droefenis kent. Daarna volgt een voorbeeld vanuit de kliniek, waarin gestoorde hormoonwerking een hoofdrol speelt.

## HEEN: Het inhibine-concept

### Opkomst en neergang

Maar laten wij onze zwerftocht beginnen. Ik neem u mee terug in de tijd, we gaan naar 1923. In dit jaar is de inflatie in Duitsland op zijn hoogtepunt, viert in Nederland koningin Wilhelmina haar 25-jarig regeringsjubileum en overlijdt in de Verenigde Staten president Harding. Ook publiceren twee Amerikaanse onderzoekers, Mottram en Cramer, dat zij na bestraling van de testikels van ratten waarnemen dat zich in het hersenaanhangsel (de hypofyse) van deze dieren veranderingen voordoen (2). Door de bestraling wordt niet de hele testis, maar slechts een deel ervan uitgeschakeld: de sneldelende cellen van de zaadcelvormingsreeks in de buisjes worden dodelijk getroffen, de rest van het orgaan blijft echter relatief intact. Als gevolg van de bestraling zagen Mottram en Cramer dat in de hypofyses van de bestraalde dieren veel grotere cellen aanwezig waren dan in de hypofyses van de controle dieren. De eenvoudigste hypothese om dit resultaat te verklaren is dat die cellen, die verantwoordelijk zijn voor de vorming van het hormoon, dat onder normale omstandigheden de uitgroei van de hypofysecellen onderdrukt, door de bestraling zijn uitgeschakeld. Deze onderzoekers schrijven inderdaad: "Men zou het bestaan van een interne secretie van het kiemcelepitheel kunnen postuleren en de verandering in de voorkwab van de hypofyse kunnen uitleggen als veroorzaakt door de afwezigheid van dit hypothetische hormoon". Bijna 10 jaar later, in 1932, wordt in het gerenommeerde tijdschrift *Science* een artikel geschreven door een andere Amerikaan, McCullagh (3). Hij kondigt aan dat hij elders zal publiceren dat hij fijn gemalen stierentestes in twee fracties kan verdelen door een simpele extractie met benzeen. De benzeen-oplosbare fractie, ingespoten bij gecastreerde ratten, veroorzaakt groei van de mannelijke accessoire geslachtsorganen, de zaadblazen en prostaat. Het water-oplosbare



Figuur 1. Aantallen citaties per jaar naar de publicaties van Mottram en Cramer (2) en McCullagh (3). Bovendien is de verdeling van aanhalingen in twee overzichtartikelen van de Jong (8,9) weergegeven. Deze grafiek is overgenomen uit referentie (7).

deel van het extract voorkomt de vorming van vergrote cellen in het hersenaanhangsel. McCullagh noemt het werkzame bestanddeel in deze laatste fractie "inhibine". Tot 1940 publiceert hij nog twee artikelen over dit onderwerp (4,5). In één daarvan bestudeert hij het effect van het inhibine op de voortplantingscyclus van de vrouwelijke rat en concludeert hij dat dagelijkse injecties met inhibine een verstoring van de cyclus teweegbrengen (5). Dit opent de deur naar onderzoek over productie en effecten van inhibine in vrouwelijke dieren.

Deze mogelijkheden worden dan echter niet verder uitgediept. Erger nog: het inhibine concept verdwijnt. Experimenten blijken niet reproduceerbaar, onderzoekers worden belachelijk gemaakt, en in 1948 wordt zelfs opgemerkt dat "de zaadcellen het veel te druk hebben met hun eigen differentiatie om nog maar tijd te hebben om aan hormonen en hormoonproductie te kunnen denken" (6). Dit betekent voorlopig de dood voor het inhibine-concept, zoals ook blijkt uit de gegevens bijeengebracht door de uitgever van *Current Contents*, Eugene Garfield (7). In figuur 1 ziet u aantallen citaties naar de publicaties van Mottram en Cramer en van McCullagh gedurende een reeks van jaren. Tussen 1945 en 1972 worden deze publicaties nauwelijks aangehaald, en als dat al gebeurt, is het vaak in afwijzende zin. Dit lijkt het einde van de zwerftocht; we zijn er niet in geslaagd welk doel dan ook te bereiken. Totdat uit een geheel andere hoek, de klinische endocrinologie,

door het beschikbaar komen van nieuw gereedschap, een nieuwe, sterke impuls wordt gegeven om verder te gaan.

### Nieuwe impulsen

In het begin van de jaren zeventig wordt door een aantal groepen van onderzoekers min of meer gelijktijdig en onafhankelijk van elkaar opgemerkt dat bij mannen met stoornissen in de spermatogenese of zaadvorming vaak een verhoogde bloedspiegel wordt gevonden van een hormoon dat uit de hypofyse komt, en dat follikel-stimulerend hormoon of FSH heet (10-12). We weten nu dat FSH komt uit de cellen, die "vergroot gevonden werden" door Mottram en Cramer; het is dus logisch te veronderstellen dat deze verhoging van de FSH-spiegels toegeschreven moet worden aan een gebrek aan inhibine. Opmerkelijk hierbij is dat in deze periode, maar ook in de jaren daarna, de oorspronkelijke publikatie van Mottram en Cramer niet wordt aangehaald, maar die van McCullagh, die nota bene geen experimentele gegevens bevatte, zeer regelmatig (Figuur 1).

Zoals gezegd, verschijnen publikaties over dit onderwerp in de periode 1970-1975, en wel als gevolg van een vernieuwing van de methodes voor het meten van FSH in bloed. Hieruit blijkt hoe belangrijk vernieuwing van technieken kan zijn voor de ontwikkeling van concepten. Deze vernieuwing kwam voort uit de ontdekking, dat het immuunsysteem in staat is antilichamen te maken tegen verschillende hormonen; de opkomst van de met behulp van deze antilichamen ontwikkelde immunologische hormoonbepalingen heeft het mogelijk gemaakt de tijd en inspanning noodzakelijk voor deze bepalingen aanzienlijk te bekorten. Daar waar "toen ik begon" een analiste een week lang heel hard moest werken om 16 hormoonbepalingen te verrichten, zijn er nu automaten die in een tempo van 1 in een minuut hun uitslagen weten uit te spugen. Dit maakt het mogelijk grote hoeveelheden - vaak veel meer dan nodig - gegevens te verzamelen, en levert soms ook verrassende informatie. Maar dit terzijde.

De discussie over inhibine wordt dus weer opgenomen; groepen in Australië, Engeland en België beginnen weer onderzoek te doen over inhibine. Merkwaardig genoeg niet in Amerika, de Amerikanen hadden kennelijk het inhibine-trauma uit de veertiger jaren nog niet verwerkt. Deze onderzoekers proberen inhibine te zuiveren en te karakteriseren, waarbij als uitgangsmateriaal testiculaire vochten worden gebruikt. In 1974 laten Setchell en Jacks (13) zien dat injectie van zo'n testiculaire vocht inderdaad

een specifieke verlaging van FSH-spiegels in gecastreerd ratten kan bewerkstelligen; het had 51 jaar geduurd tussen de geboorte van het concept en het bewijs van het bestaan van het hormoon.

Negentienhonderdvierenzeventig is ook het jaar, waarin ik mijn proefschrift verdedig. De titel van dit proefschrift bevat een ogenschijnlijke contradictie: het heet "Testicular oestradiol-17 $\beta$ " en beschrijft de productie van het vrouwelijk hormoon oestradiol in de mannelijke teelbal. Een van de onderliggende gedachten van dit onderzoek was dat oestradiol mogelijk een specifieke rol zou kunnen spelen in de suppressie van FSH; wij slaagden er echter in deze hypothese te ontzenuwen. De inhibine-hypothese lijkt een goed alternatief, en ik besluit dus tijdens het jaar dat ik in Schotland door zal brengen aan dit hormoon te gaan werken. Het natuurlijk veel te simpele werkplan is het hormoon uit gemalen testikels te zuiveren en aan te tonen dat het belangrijk is. In Edinburgh aangekomen blijkt echter dat wat betreft eiwitzuivering binnen de Reproductive Biology Unit van de Medical Research Council minder werk gedaan wordt dan in Rotterdam. Ik besluit daarom een ander aspect van dit raadselachtige hormoon aan te pakken: zijn plaats van herkomst. Ook dat was in de jaren daarvoor een zaak van heftig debat geweest, bijna ieder celtypen in de testis was beschuldigd van de productie van inhibine. De rat is als proefdier aanwezig, er zijn goede histologische faciliteiten en het blijkt mogelijk ratte-FSH te meten na het importeren van de antilichamen die eerder in Rotterdam door Jan Uilenbroek en Rein Welschen waren gemaakt (14). Daarom wordt een begin gemaakt met het kwantificeren van cellen in de testis, en deze hoeveelheden te relateren aan FSH spiegels in het bloed. Hieruit komt een aanwijzing over de bron van het inhibine: de Sertoli cel in de testis, die langs de buitenkant van de zaadvormende buisjes ligt en de spermatogenese ondersteunt (15). En zoals iedere jonge, overenthousiaste onderzoeker praat ik over deze ontdekking met iedereen die even niets tegen mij zegt. Waaronder één van de Schotse gynaecologen, David Baird, de man die als standaardgrap zijn lege - overigens heel grote - hand liet zien, en beweerde dat hij daar inhibine in had. Zijn opmerking, bij een "pint of bitter" in de pub op vrijdagavond, geeft dan een beslissende wending aan het inhibine-onderzoek: hij merkt op dat als de Sertoli cel dan al inhibine maakt, de granulosa cel in de eierstok dat zeker ook zou moeten doen. En dat dus het vocht in de eiblazen van eierstokken - als inhibine al zou bestaan - grote hoeveelheden inhibine zou moeten bevatten.

Dit brengt ons bij een volgend punt op onze zwerftocht: het ovarium of

eierstok. Een orgaan dat onderhevig is aan cyclische veranderingen, waarin eiblazen of follikels kunnen groeien, om daarna een eisprong door te maken. Het vocht uit de follikels van runderovaria kan de maandag daarop verzameld worden, onmiddellijk gevolgd door inspuiten in ratten. Meten van FSH in het bloed van deze dieren laat een specifieke daling van de spiegels van dit hormoon zien, die erg lijkt op die, gevonden door Setchell en Jacks.

### **Inhibine bestaat**

Deze in 1976 gepubliceerde vondst (16) leidt in 1985 tot de zuivering en karakterisering van inhibine uit follikelvocht van koe en varken door Australische (17), Japanse (18) en Amerikaanse (19) onderzoekers en tot de ontrafeling van de genetische code, die de volgorde van de aminozuren in het inhibine aangeeft (20). Hierbij wordt duidelijk dat inhibine een eiwit is, dat bestaat uit twee eiwitketens, die, zoals gebruikelijk,  $\alpha$  en  $\beta$  genoemd werden. De ketens blijken covalent gebonden te zijn; na reductie van de zwavelbruggen verdwijnt de biologische activiteit. Het jaar daarna, in 1986, wordt ontdekt dat inhibine in follikelvocht wordt vergezeld van een broertje; het activine (21,22), dat opgebouwd is uit een combinatie van twee inhibine  $\beta$ -subunits. De werking van activine is tegengesteld aan die van inhibine: waar inhibine de hypofysaire afgifte van FSH afremt, stimuleert activine de afgifte van FSH. Maar ook in andere systemen hebben inhibine en activine tegengestelde werkingen: in de testis kan bijvoorbeeld inhibine de activiteit van testosteron-producerende cellen stimuleren, terwijl activine hem remt (23) en in cellijnen, geïsoleerd uit het bloedvormende systeem, kan activine de productie van het zuurstof transporterende eiwit hemoglobine stimuleren, terwijl inhibine remt (24). Deze Yin-Yang relatie tussen inhibine en activine wordt aardig in beeld gebracht in het op grond van Röntgen-diffractie verkregen beeld van de structuur van transforming growth factor  $\beta$ , een neefje van inhibine en activine (25). De twee subunits liggen als twee over elkaar heen gedraaide naar elkaar toegekeerde handpalmen tegenover elkaar, en zijn verbonden door een zwavel-brug.

### **De werking van inhibine**

De tegenstelling tussen de effecten van inhibine en activine brengt ons op de werking van hormonen. Klassiek is de gedachte, dat een hormoon gemaakt wordt in een endocrien orgaan, daarna de klier verlaat, via de

bloedstroom zijn doelwitorgaan of -organen bereikt en dan zijn werking uitoefent. In deze termen is inhibine een klassiek hormoon, dat in testes en ovaria gemaakt wordt, na een zwerftocht door het lichaam aankomt bij de hypofyse, en daar de productie van FSH afzet. Dit is te controleren door het soort experiment, dat Tausk beschreef (1): haal testes of ovaria operatief weg, en zie dat FSH spiegels stijgen. Of, subtieler, geef een vrouwelijke rat een injectie met een antilichaam dat aan het inhibine bindt, zodat de werking van inhibine wordt geblokkeerd. Ook hier wordt een stijging van het FSH gevonden, gevolgd door een toename van het aantal follikels in de ovaria (26). Deze waarnemingen vallen binnen de dogmata van de klassieke endocrinologie. Maar nu: de zoëven genoemde effecten van inhibine op testosteron-producerende cellen in de testis (23). Hier heeft een korte-baan communicatie plaats tussen cellen die direct in elkaars omgeving zijn gesitueerd. Bestuderen van de significantie van deze zogenoemde paracrine effecten wordt bemoeilijkt doordat beide celtypen zo dicht aaneenliggen, dat het niet mogelijk is hier experimenteel een vinger tussen te krijgen. Nog moeilijker wordt het, wanneer het hormoon niet een naastgelegen cel beïnvloedt, maar als een soort selfkicker terugschoot naar de cel die het produceerde. We spreken hier van autocrinologie. Er zijn nu b.v. uit het werk van Johan de Winter aanwijzingen dat activine geproduceerd wordt door de Sertoli cel in de testis en de productie van inhibine door Sertoli cellen kan beïnvloeden (27). Deze conclusie berust natuurlijk op experimenten met geïsoleerde cellen, die in kleine plastic schaaltes groeien, en waaraan zeer zuiver hormoon werd toegevoegd. Dit neemt niet weg, dat deze cellen doorgaan met hun eigen programma; Sertoli cellen in schaaltes blijven activine produceren, hetgeen de effecten van extra toegevoegd activine kan versluieren. Daarom lijkt een andere techniek, die van genetische manipulatie waarbij de productie van gedefinieerde eiwitten specifiek op nul gezet kan worden door verwijdering van de benodigde genetische informatie, een belangrijke bijdrage aan ons begrip over lokale werkingen van hormonen te kunnen geven. Ik zeg niet geheel per ongeluk "lijkt", omdat dergelijke experimenten kunnen leiden tot volslagen onverwachte resultaten.

Zo wordt in muizen met een zogenaamde knock out van de  $\alpha$ -subunit van inhibine enkele weken na geboorte ongebreidelde groei van Sertoli cellen in de testes of granulosa cellen in de ovaria waargenomen, tengevolge waarvan de dieren overlijden (28). Na verwijdering van testes of ovaria blijken tumoren van de bijnieren op te treden, hetgeen suggereert dat de  $\alpha$ -

subunit van inhibine ook in dit orgaan een belangrijke autocriene rol zou kunnen spelen. Aan de andere kant blijkt dat knock out van de  $\beta$ -subunit eigenlijk geen problemen oplevert, behalve dan dat moeders niet in staat zijn hun jongen te zogen, waardoor deze ondervoed sterven (29). En dat, terwijl aan activine een aantal belangrijke effecten tijdens de embryonale differentiatie wordt toebedeeld (30). Een mogelijke oplossing voor dit probleem is dat er niet één  $\beta$ -subunit is, maar twee,  $\beta A$  en  $\beta B$ , die erg op elkaar lijken. Men kan zich nu voorstellen, dat wanneer één van de  $\beta$ -subunits wegvalt, de ander zijn functies overneemt. Hoe deze "overneming" in detail in zijn werk gaat is nog onduidelijk, autocriene of paracriene regelsystemen zouden een rol kunnen spelen. Deze redundantie binnen regelsystemen roept op tot voorzichtigheid m.b.t. de interpretatie van de resultaten van knock out experimenten, die worden verricht in het kader van de vraag "Hoe vangt men een effect" als tegenstelling tot Tausks startvraag "Hoe vangt men een hormoon" (zie: 31,32).

Maar laten wij terug komen op de vraag: hoe werkt een hormoon. Volgens de bestaande dogmata werkt een hormoon door interactie met een receptor, een eiwit dat in staat is het hormoon te herkennen en met het hormoon een interactie aan te gaan die experimenteel gezien kan worden als binding. "Corpora non agunt, nisi fixata" zei Ehrlich al in 1900, hetgeen zoveel wil zeggen als "Niets werkt, tenzij het vast zit". Dit betekent, dat behalve uitschakelen van een hormoon ook het uitschakelen van de receptor tot de mogelijkheden behoort om de werking van een hormoon te bestuderen. Maar ook hier lijkt zich een probleem voor te doen: er zijn simpele hormonen, waarvoor slechts één receptor bekend is, maar van de hormonen met een lokale werking wordt duidelijk dat er vaak ook meer receptoren zijn; zo zijn voor activine twee verschillende receptor-systemen bekend, die samen in dezelfde cel kunnen voorkomen. Over de regulatie van de productie en activiteit van deze receptoren is nog niets bekend; dit lijkt een uiterst aantrekkelijk terrein voor verdere studie.

### **Inhibine in de kliniek**

Tot nu toe hebben wij bijna uitsluitend experimentele aspecten van de endocrinologie besproken, met uitzondering van een klein intermezzo, waarin een aantal klinische waarnemingen het aannemelijk maakte dat er toch zoiets als inhibine zou bestaan. Een zinvolle vraag lijkt nu of deze vruchtbaar gebleken hypothese bij toetsing ook houdbaar blijkt. Tot

verrassing van velen blijkt dit niet het geval; bij mannen met hoog FSH en gestoorde spermatogenese worden even hoge spiegels van immunoreactief inhibine gevonden als bij mannen met normale spermatogenese en normaal FSH (33). Een verklaring voor deze discrepantie tussen theorie en praktijk is nog niet gevonden. Men zou kunnen denken aan een fout in de bepalingsmethodiek voor inhibine, waardoor ook losse  $\alpha$ -subunits worden meegemetten, die geen biologische activiteit bezitten. Een meer gewaagde theorie is, dat we hier te maken hebben met een defect van de inhibine receptor in de hypofyse. In aanwezigheid van normale inhibine concentraties in het bloed wordt immers een vergrote hoeveelheid FSH geproduceerd. Het samengaan van dit verschijnsel met gestoorde spermatogenese zou dan verklaard moeten worden via de veronderstelling, dat deze defecte inhibine receptor ook in spermatogene cellen voorkomt. Wanneer dit waar zou zijn, zou inhibine dus de spermatogenese moeten stimuleren. Jammer genoeg publiceerden Federica van Dissel uit Utrecht en Arijan Grootenhuys uit onze groep in 1989 dat inhibine een directe remmende werking op de ontwikkeling van zaadcellen kan uitoefenen (34), terwijl gegevens van een Amerikaanse groep laten zien, dat activine de spermatogenese kan stimuleren (35). Dit betekent niet, dat een verdere karakterisering van de inhibine receptor niet de moeite waard zou zijn; dit is onderzoek van tot voor kort John Wesseling en nu John Martens in onze groep. Dit alles impliceert dat de relevantie van de inhibine-bepaling bij de man niet echt duidelijk is, vooral ook omdat tumoren van de cellen die circulerend inhibine produceren, de Sertoli cellen, bij de man uiterst zeldzaam zijn. Bij honden met Sertoli cel tumoren is het echter eenvoudig in het bloed sterk verhoogde spiegels van inhibine aan te tonen (36). Granulosa celltumoren bij vrouwen komen vaker voor dan Sertoli celltumoren bij mannen; hier is bepalen van inhibinespiegels in bloed uiterst zinvol voor de diagnostiek en het vervolgen van resultaten van therapie (37,38). In de frequenter voorkomende kiemcelltumoren van de humane testis tenslotte komen ook inhibine subunits en activine receptoren tot expressie, zoals blijkt uit zeer recent werk van Ron van Schaik in samenwerking met Wolter Oosterhuis en Leendert Looijenga van de Daniel den Hoed Kliniek en Jannie van den Eijnden van het Hubrecht Laboratorium in Utrecht. De betekenis van deze waarneming is nog niet duidelijk.

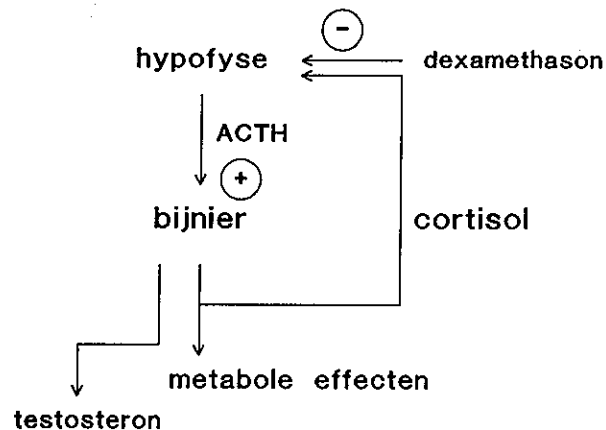
Tot zover de berichtgeving over een zaak die experimenteel begon, en na heel veel werk vanuit verschillende subdisciplines een zij het ook kleine klinische toepassing heeft gevonden. Nog steeds zoek ik naar die ene

patiënt, waarin iets fout is gegaan met de produktie van inhibine of de inhibine-receptor als voorbeeld van een totale of partiële knock out; tot nu toe echter tevergeefs.

## .....EN WEER: Cortisol receptor resistentie

### Het klinisch beeld

Ik wil u nu meenemen naar een ander spoor en met u dit spoor terug volgen: u vanaf de waarnemingen bij de patiënt meenemen terug naar het



*Figuur 2. Schematische weergave van de regulatie van het hypofyse-bijniersysteem. + en - geven stimulatie resp. remming aan.*

laboratorium, en bespreken hoe deze gang van zaken kan leiden tot een dieper inzicht in endocriene processen en daardoor mogelijk tot effectiever therapie.

In 1976 werd vanuit de afdeling Endocrinologie van het Utrechts Academisch Ziekenhuis door Vingerhoeds, Thijssen en Schwartz een man beschreven, die leed aan ernstige hypertensie (39). Nu zijn er nogal wat redenen, waarom iemand een hoge bloeddruk zou kunnen hebben, maar bij deze patiënt bleef na uitsluiten van andere oorzaken één logische verklaring

over: er was iets mis met het eiwit in de cel, dat het hormoon cortisol bindt en daarna belangrijk is voor het doorgeven van het cortisol signaal: de cortisol receptor. Hier zou dus sprake kunnen zijn van een partiële knock out. Maar misschien is het goed eerst iets over dit hormoon, het cortisol te vertellen, voordat we op de details ingaan. Cortisol is wat de structuur betreft geen eiwit, maar een steroid. In het lichaam wordt het via een vijftal enzymatisch gekatalyseerde omzettingen uit cholesterol gesynthetiseerd in een orgaan, dat bij de nier in de buurt ligt, en bijnier heet (Figuur 2). De produktie van cortisol wordt strak gereguleerd door de hypofyse, die behalve follikel-stimulerend hormoon onder andere ook het bijnierstimulerend hormoon ACTH produceert. De produktie van ACTH wordt geremd door cortisol, zodat in dit systeem geen ontsporingen zouden kunnen ontstaan. Cortisol wordt op één plaats in het lichaam gesynthetiseerd (de bijnier), maar heeft effecten op een veelheid van processen, die direct verband houden met het instandhouden van het lichaam in moeilijke situaties. Cortisol wordt onder stress in grote hoeveelheden gemaakt en geeft aanleiding tot de produktie van energiesubstraten, ten koste van de voorraden eiwit en vet in het lichaam. De effecten van cortisol komen tot stand via twee receptoren, die verschillende processen besturen: de glucocorticoid-receptor met effecten op suiker, of, zoals zoëven genoemd, energiesubstraat en de mineralocorticoid-receptor, die de uitscheiding van zouten in de nier reguleert. Onder normale omstandigheden kan cortisol de mineralocorticoid-receptor in de nier niet bereiken, doordat het voor die tijd door een heel actief enzym in de nier wordt omgezet naar een niet-actief afbraakproduct, het cortison. Onder deze omstandigheden wordt de mineralocorticoid-receptor bezet door een ander bijnierhormoon, het aldosteron.

Wat gebeurt er nu wanneer de glucocorticoid-receptor niet goed functioneert? De hypofyse ziet te weinig cortisol, en gaat meer ACTH maken, waardoor de bijnier meer cortisol produceert. Dit gaat zolang door, tot de hypofyse een cortisolspiegel ziet die hij als normaal ervaart; en wanneer er in alle cellen van het lichaam eenzelfde afwijking in de glucocorticoid-receptor aanwezig is zullen al deze cellen bij de heersende, hoge cortisolspiegel normaal kunnen functioneren. Een uitstekend systeem, ware het niet dat de sterk verhoogde cortisolspiegels het nier enzym kunnen overspoelen. Op deze manier kan cortisol de mineralocorticoid-receptor bereiken, met hypertensie als gevolg.

Deze Utrechtse waarneming, gevolgd door onderzoek bij het National



Institute of Health in de Verenigde Staten, waaruit bleek dat deze patiënt inderdaad een afwijkende cortisol-receptor had (40), verdween in de literatuur. Wat ons betreft totdat één van de dermatologen in het Dijkzigtziekenhuis een patiënte met overmatige haargroei onderzocht. Dergelijke overmatige haargroei wordt veroorzaakt door een teveel van het mannelijk hormoon, testosteron. Eén van de redenen waardoor een vrouw te hoge testosteronspiegels kan hebben is door een overmatige productie van dit hormoon in de bijnier, waar zich bijvoorbeeld een tumor kan bevinden, die teveel testosteron, maar ook teveel cortisol maakt. De aanwezigheid van een dergelijke tumor kan worden uitgesloten door de patiënt 1 mg van het synthetische glucocorticoid dexamethason te geven en de volgende morgen, als het ACTH nog onderdrukt is door het dexamethason, de hoeveelheid cortisol in het bloed te meten. Is er een tumor, dan zal deze tumor op een ACTH-onafhankelijke, autonome manier cortisol maken; onderdrukken van het ACTH onderdrukt het cortisol dus niet. Is er geen tumor, dan wordt het cortisol wel onderdrukt. Dit is een simpele test om overproductie van cortisol - ook wel het syndroom van Cushing genoemd - uit te sluiten. Het cortisol van de patiënte die wij bespreken was na het slikken van 1 mg dexamethason 580 nmol/l, en niet, zoals dat bij "normalen" het geval is, onder de 140 nmol/l (39). Conclusie: deze waarneming sluit het syndroom van Cushing niet uit; de patiënte werd dus doorverwezen naar de afdeling Inwendige Geneeskunde III, waar in de loop der jaren een grote expertise is ontstaan over diagnose en behandeling van deze ziekte. De behandelend internist, Lamberts, herhaalde de dexamethason test met identiek resultaat. En omdat de patiënte er niet naar uitzag dat zij leed aan het syndroom van Cushing, werd nog een derde test uitgevoerd. Weer werd een te hoge cortisol spiegel gevonden. Omdat een dergelijke stijfhoofdigheid van het laboratorium - het afgeven van uitslagen die niet overeenkomen met het klinisch beeld - natuurlijk niet getolereerd kan worden, ontstond al snel een uitgebreide discussie tussen Lamberts en mijzelf. Hierin werd besloten dat de enige mogelijkheid om zowel clinicus als laboratorium in zijn waarde te laten bestond uit het bewijzen dat hier sprake was van cortisol-ongevoeligheid ofwel een defecte cortisol receptor. Familie-onderzoek liet zien dat ook de vader en de twee jongere broers van de patiënte een met dexamethason slechts partieel te onderdrukken cortisolspiegel vertoonden (41). Bij hen werden geen symptomen waargenomen, omdat bij mannen de toegenomen productie van testosteron door de bijnier in het niet valt bij de hoeveelheid, die in de testes gemaakt

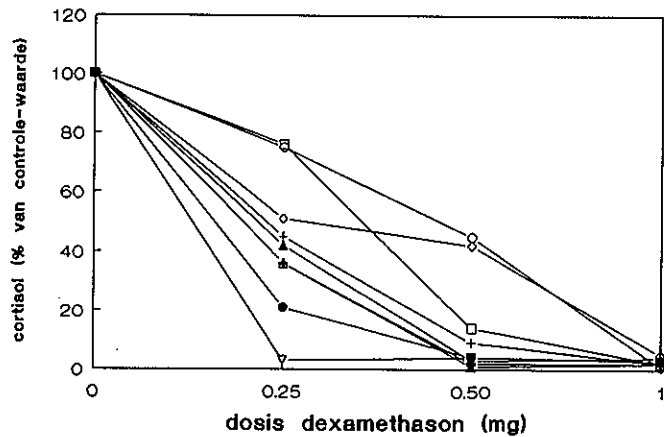
wordt. De patiënte bleek uitstekend te behandelen met relatief hoge doses dexamethason; suppressie van het ACTH leidde tot vermindering van de testosteron productie in de bijnieren en daardoor tot verminderde baardgroei.

Sinds 1986 zijn door onze groep, die zich verder uitbreidde met Jan Willem Koper, Nannette Huizenga en zeer recent Pieter de Lange, nog 8 andere families met familiale cortisol resistentie gevonden (42). Het klinisch beeld bleek uiterst wisselend en varieerde tussen afwezigheid van symptomen tot een onbehandelbare, levensbedreigende hypertensie.

#### **Verlaagde en verhoogde gevoeligheid voor cortisol**

Dit grote aantal patiënten met een variabel ziektebeeld bracht ons ertoe in samenwerking met de vakgroep Epidemiologie (Ronald Stolk, Rick Grobbee, en ook Huib Pols) onderzoek te gaan doen naar het voorkomen van cortisolresistentie bij als normaal beschouwde individuen. De infrastructuur van het Rotterdam Ouderen Onderzoek ERGO maakte het betrekkelijk eenvoudig iets meer dan 200 ouderen uit Ommoord over te halen een bloedmonster te doneren, 's avonds 1 mg dexamethason te eten en de volgende morgen weer een bloedmonster te laten afnemen. Zeventien van de 216 personen hadden een cortisolspiegel, die hoger was dan de nu arbitrair gestelde grens van 50 nmol/l na het innemen van het dexamethason; van deze 17 bleken na het toepassen van een moleculair-biologische techniek om de receptorstructuur te karakteriseren, 10 een abnormale receptor te hebben, terwijl 4 een afwijkende binding van cortisol aan de receptor vertoonden (43).

Nog interessanter werd het, toen bleek dat 3 van de 10 normale controles in vitro een verhoogde binding van cortisol aan de receptor vertoonden, die echter niet samenviel met een verhoogde gevoeligheid voor dexamethason in vivo. Deze 3 "overgevoeligen" hadden allen dezelfde afwijking van de receptor, die, nadat de totale groep van 216 individuen bekeken was, ook in nog 10 anderen werd aangetroffen. Ook in deze totale groep van 13 werd in vivo in de dexamethason suppressietest geen verhoogde cortisol gevoeligheid aangetroffen. Dit kan twee dingen betekenen: deze "afwijking" is geen afwijking maar een variant zonder biologische betekenis, of we hebben met 1 mg dexamethason te grof geschoten. Dit betekent dat we voornemens zijn dezelfde gekarakteriseerde populatie te onderwerpen aan een test met een lagere dosis dexamethason. Dat dit inderdaad tot verras-



*Figuur 3. Resultaten van de bepaling van cortisol in het plasma van 9 normale proefpersonen na het innemen van verschillende doses dexamethason.*

sende conclusies zou kunnen leiden blijkt uit resultaten van een "quick" maar niet "dirty" experiment, waarbij 9 mensen op het laboratorium met wekelijkse tussenpozen geen, 0.25, 0.50 of 1 mg dexamethason slikten. De cortisol-suppressiecurven gaven voor ieder een eigen lijn (Figuur 3). Bij één persoon werd al met 0.25 mg dexamethason maximale suppressie van cortisol bereikt, en bij 4 anderen met 0.5 mg. Met 1 mg waren alle resultaten beneden de 50 nmol/l. Hieruit trekken wij de voorlopige conclusie, dat de dexamethason-gevoeligheid van verschillende mensen zeer grote individuele verschillen kan vertonen.

Dit suggereert dat behandeling met glucocorticoiden, zoals gebruikt wordt bij asthma en bij autoimmuunziekten zoals rheuma, op individuele basis dient te worden voorgeschreven, en niet, zoals tot nu toe, in voor iedereen gelijke doses. Dit verschil in gevoeligheid is mogelijk de verklaring voor de verschillende mate, waarin bijwerkingen van glucocorticoid behandeling optreden.

## HEEN EN WEER: klinisch-experimentele endocrinologie

Tot nu toe heb ik mij weten te beperken tot het bespreken van twee voorbeelden: het inhibine-activine-FSH systeem en een onderdeel van de regulatie van de hypofyse-bijnier as. Het zal u duidelijk zijn, dat de zwerftocht langs een bijna ongelimiteerd aantal hormonen en hun werking zou kunnen worden voortgezet; onderzoek in samenspraak met de afdelingen Urologie, Gynaecologie en Kindergeneeskunde zou nog minstens twee oraties kunnen vullen. Maar laten wij teruggaan naar onze reisgids, het boek van Tausk (1). Nadat de verschillende endocriene organen in detail zijn beschreven, is het onderwerp en ook de titel van het laatste hoofdstuk: "Het endocriene systeem als een geheel". Pas in dit hoofdstuk wordt gesproken over de wisselwerking tussen de verschillende endocriene klieren, die wat ons betreft toch het wezen van de endocrinologie betekent. De toenmalige wetenschappelijk directeur van Organon te Oss besluit, kennelijk niet gehinderd door commerciële belangen: "Dat de kennis van al deze (en talloze andere) feiten veel artsen huiverig heeft gemaakt voor de praktische toepassing van hormoonpreparaten is begrijpelijk. Immers, de gegevens met betrekking tot hormonen, die door laboratoria en klinieken over de gehele wereld dagelijks worden geproduceerd, zijn voor niemand meer volledig te overzien. Juist de consciëntieuze arts, die zich bewust is van zijn onvermogen al deze feiten in zich op te nemen, zal zich soms afvragen, of hij niet beter doet de behandeling met hormonen na te laten dan door haar toepassing de kans te lopen het hormonale evenwicht te verstoren en de patiënt schade toe te brengen". Om daarna te eindigen met "Ook (de hormonen) veroveren door de groeiende ervaring van klinieken en specialisten dagelijks meer plaatsen in de rij der praktisch bruikbare en zelfs in die der onmisbare geneesmiddelen". Zoals u ziet kan ook Tausk zich niet onttrekken aan een argumentatie, die als "heen en weer" gezien kan worden.

Ik heb geprobeerd u duidelijk te maken dat het mogelijk is een beweging te maken vanuit het experiment - de bestraalde ratten van Mottram & Cramer - naar de kliniek: de toepassing in vrouwen met ovariumcarcinoom. Daarna zijn we van de patiënt met de cortisol ongevoeligheid weer in het laboratorium teruggekeerd, en via zorgvuldige waarneming hebben we mogelijk het klinisch verschijnsel van de grote verschillen in cortisol gevoeligheid tussen als "normaal" beschouwde mensen kunnen verklaren. Betekent dit nu, dat experimenteel-endocrinologen heen en weer moeten

gaan rennen naar de kliniek, en de klinisch-endocrinologen ter hoogte van het cafetaria met hen in botsing komen op weg naar het laboratorium? Ik denk dat een te grote nadruk op verbondenheid van het laboratorium met de kliniek een korte baan wedstrijd kan veroorzaken, waarbij niet binnen enkele jaren toepasbare zaken het onderspit kunnen delven in de strijd tegen de mode van de dag en de acute problemen van de patiëntenzorg. Aan de andere kant legt Tausks klacht over de onoverzienbaarheid van het terrein beperkingen op aan de mogelijkheid van de clinicus zich ook in een experimentele omgeving te bewegen. Dit betekent dus een pleidooi voor gescheiden plaatsen voor fundamenteel en klinisch onderzoek in de endocrinologie. In het spanningsveld tussen deze twee bevindt zich de klinisch-experimentele endocrinologie met een service taak naar beide kanten. Het zal duidelijk zijn, dat het alleen mogelijk is zinvol in een dergelijke gespleten situatie bezig zijn op basis van eigen grensverleggend onderzoek; dit noodzaakt tot voortdurend aanscherpen van concepten en technieken. Aan de andere kant is het wezen van een service taak de bereidheid tot het zich laten beïnvloeden door diegenen, die om service vragen; in deze situaties zal meer van een volgen dan van het opleggen van eigen ideeën sprake zijn. Aan deze tussenpositie zijn frustraties niet vreemd: interspecies verschillen zijn aan de orde van de dag, aardige hypothesen verbleken wanneer zij tegen het licht worden gehouden. Voortdurend wakker blijven is noodzakelijk op deze zwerftocht, waarop wat een vriendelijke heuvel leek een vuilnisbelt blijkt waarin voor de doorgraver toch een schat verborgen is.

*Mijnheer de rector, dames en heren,*

Tot zover onze zwerftocht. Graag maak ik van deze gelegenheid gebruik nog enkele woorden van dank uit te spreken.

*Dames en heren leden van het College van Bestuur van deze Universiteit, van de Universiteitsraad en van Bestuur en Raad van de Faculteit der Geneeskunde en Gezondheidswetenschappen.* Ik dank u voor het feit, dat u de instelling van de bijzondere leerstoel in de klinisch-experimentele endocrinologie hebt willen bevorderen en voor het vertrouwen dat u in mij blijkt te hebben.

*Dames en heren leden van het bestuur van de Vereniging Trustfonds Erasmus Universiteit Rotterdam.* U dank ik voor uw bereidheid de bijzondere leerstoel

instituut Maatschappelijke Gezondheidszorg  
Erasmus Universiteit Rotterdam  
te vestigen en mij als bijzonder hoogleraar te benoemen.  
Postbus 1738, 3000 DR ROTTERDAM

*Zeergeleerde van der Molen, beste Henk.* Het is niet mogelijk voor een persoon het totale veld te overzien. Dat moet de reden zijn geweest waarom jij, toen je vanuit het laboratorium van de vrouwenkliniek in Utrecht naar Rotterdam kwam om de afdeling Biochemie II op te zetten, mij vroeg op te willen treden als intermediair tussen de chemische en de klinische endocrinologie. Voorwaarde hierbij was, dat de klinische monsters buiten de afdeling Biochemie zouden blijven. Dat is redelijk gelukt de afgelopen periode. Ik dank je nogmaals voor de vrijgevege en ruimhartige steun die ik in die tijd van je kreeg.

*Hooggeleerde Lamberts, beste Steven.* Wat mij betreft verpersoonlijk jij de goed waarnemende en scherp denkende arts waar Tausk op doelde. Het met jou heen en weer praten over patiënten en experimenten vormde voor mij altijd een bron van inspiratie. Zonder jouw overtuigingskracht zou ik nu niet hier staan te oren; ik ben je zeer erkentelijk.

*Dames en heren medewerkers van de Vakgroep Endocrinologie en Voortplanting en het Instituut en de Afdeling Inwendige Geneeskunde III, maar vooral Inhiberia boven en het steroidlab beneden.* Ik moet u wel mijn verontschuldiging aanbieden voor het feit dat ik permanent door het gebouwencomplex Hoboken zwerf. Dat betekent enerzijds dat ik nooit ben te vinden, en anderzijds dat u problemen altijd zelf moet oplossen. Dat u ondanks deze problemen nog steeds met mij wilt samenwerken, is een reden voor vreugde en dankbaarheid.

En dan al die andere mensen binnen en buiten het Medisch Cluster Rotterdam met wie ik samengewerkt heb en nog samenwerk. Het is mij al heel lang duidelijk, dat twee of drie meer weten dan een of twee. Dat is de reden dat ik nog steeds met mijn hersenspinsels naar anderen loop, in de hoop ook iets van andermans hersenspinsels op te kunnen steken.

*Dames en heren studenten.* Endocrinologie is een geestverruimend vak, doordat het via uitzicht op andere disciplines een integrerende functie heeft. Zoals u eerder in dit verhaal heeft kunnen horen, zijn er voldoende stukken terra incognita om een eigen zwerftocht in uit te zetten. De absolute top is natuurlijk het oplossen van het vraagstuk van de intrinsieke onvolkomenheid

van het hele concept. Ik hoop aan uw zwerfen te kunnen bijdragen.

En dat geldt ook voor mijn eigen kinderen, Maartje en Doede, ondanks het feit dat zij aan een andere universiteit een andere vak leren. Dat wij elkaar vaak tegemoet mogen zwerfen. Dat brengt mij bij het einde van iedere zwerftocht: Arjane. Maar om haar te bedanken zijn er gelukkig andere gelegenheden dan deze oratie.

Tenslotte nog dit. U heeft zich ongetwijfeld afgevraagd: dat heen en weer, zit daar in wijder perspectief wel vooruitgang in? Mijn antwoord daarop, als inwoner van een dorp aan de rivier, luidt als volgt. Heen en weer, dat betekent continu tegen de stroom invaren, botsingen met passanten voorkomen en mogelijkheden voor anderen scheppen om aan de overkant verder te gaan.

Ik heb gezegd.

## Referenties

1. Tausk M (1941) De hormonen. Utrecht: Erven J. Bijleveld.
2. Mottram JC; Cramer W (1923) On the general effects of exposure to radium on metabolism and tumour growth in the rat and the special effects on testis and pituitary. *Quart. J. exp. Physiol.* 13, 209-229.
3. McCullagh DR (1932) Dual endocrine activity of the testes. *Science*, 76, 19-20.
4. McCullagh DR; Walsh EL (1934) Further studies concerning testicular function. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 31, 678-680.
5. McCullagh DR; Schneider I (1940) The effect of a non-androgenic testis extract on the estrous cycle in rats. *Endocrinology* 27, 899-902.
6. Heller CG; Nelson WO (1948) The testis-pituitary relationship in man. *Recent Prog. Horm. Res.* 3, 229-255.
7. Garfield E (1990) More delayed recognition. 2. From inhibin to scanning electron microscopy. *Curr. Contents* 9, 3-9.
8. de Jong FH (1987) Inhibin: its nature, site of production and function. *Oxford Rev. Reprod. Biol.* 9, 1-53.
9. de Jong FH (1988) Inhibin. *Physiol. Rev.* 68, 555-607.
10. Franchimont P; Millet D; Vendrely E; Letawe J; Legros JJ; Netter A (1972) Relationship between spermatogenesis and serum gonadotropin levels in azoospermia and oligospermia. *J. clin. Endocr. Metab.* 34, 1003-1008.
11. de Kretser DM; Burger HG; Hudson B (1974) The relationship between germinal cells and serum FSH levels in males with infertility. *J. clin. Endocr. Metab.* 38, 787-793.
12. van Thiel DH; Sherins RJ; Myers GH; De Vita VT (1972) Evidence for a specific seminiferous tubular factor affecting follicle stimulating hormone secretion in man. *J. clin. Invest.* 51, 1009-1019.
13. Setchell BP; Jacks F (1974) Inhibin-like activity in rete testis fluid. *J. Endocr.* 62, 675-676.

14. Welschen R; Osman P; Dullaart J; de Greef WJ; Uilenbroek JThJ; de Jong FH (1975) Levels of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, oestradiol-17 $\beta$  and progesterone, and follicular growth in the pseudopregnant rat. *J. Endocr.* 64, 37-47.
15. de Jong FH; Sharpe RM (1977) Gonadotrophins, testosterone and spermatogenesis in neonatally irradiated male rats: evidence for a role of the Sertoli cell in follicle-stimulating hormone feedback. *J. Endocr.* 75, 209-219.
16. de Jong FH; Sharpe RM (1976) Evidence for inhibin-like activity in bovine follicular fluid. *Nature* 263, 71-72.
17. Robertson DM; Foulds LM; Leversha L; Morgan FJ; Hearn MTW; Burger HG; Wettenhall REH; de Kretser DM (1985) Isolation of inhibin from bovine follicular fluid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 126, 220-226.
18. Miyamoto K; Hasegawa Y; Fukuda M; Nomura M; Igarashi M; Kangawa K; Matsuo H (1985) Isolation of porcine follicular fluid inhibin of 32K daltons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 129, 96-403.
19. Ling N; Ying SY; Ueno N; Esch F; Denoroy L; Guillemin R (1985) Isolation of a 32,000 kDa protein with inhibin activity from porcine follicular fluid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82, 7217-7221.
20. Mason AJ; Hayflick JS; Ling N; Esch F; Ueno N; Ying SY; Guillemin R; Niall H; Seeburg PH (1985) Complementary DNA sequences of ovarian follicular fluid inhibin show precursor structure and homology with transforming growth factor- $\beta$ . *Nature* 318, 659-663.
21. Vale W; Rivier C; Vaughan J; McClintock R; Corrigan A; Woo W; Karr D; Spiess J (1986) Purification and characterization of an FSH releasing protein from porcine ovarian follicular fluid. *Nature* 321, 776-779.
22. Ling N; Ying SY; Ueno N; Shimasaki S; Esch F; Hotta M; Guillemin R (1986) Pituitary FSH is released by a heterodimer of the  $\beta$ -subunits from the two forms of inhibin. *Nature* 321, 779-782.
23. Hsueh AJW; Dahl KD; Vaughan J; Tucker E; Rivier J; Bardin CW; Vale W (1987) Heterodimers and homodimers of inhibin subunits have different paracrine action in the modulation of luteinizing hormone-stimulated androgen biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84, 5082-5086.
24. Yu J; Shao LE; Lemas V; Yu AL; Vaughan J; Rivier J; Vale W (1987) Importance of FSH-releasing protein and inhibin in erythrodifferentiation. *Nature* 330, 765-757.
25. Daopin S; Piez KA; Ogawa Y; Davies DR (1992) Crystal structure of transforming growth factor  $\beta$ -2: an unusual fold for the superfamily. *Science* 257, 369-373.
26. Sander HJ; Kramer P; van Leeuwen ECM; van Cappellen WA; Meijs-Roelofs HMA; de Jong FH (1991) Ovulation rate, follicle population and FSH levels in cyclic rats after administration of an inhibin-neutralizing antiserum. *J. Endocr.* 130, 297-303.
27. de Winter JP; Vanderstichele HMJ; Verhoeven G; Timmerman MA; Wesseling JG; de Jong FH (1994) Peritubular myoid cells from immature rat testes secrete activin-A and express activin receptor type II in vitro. *Endocrinology* 135, 759-767.
28. Matzuk MM; Finegold MJ; Su JG; Hsueh AJW; Bradley A (1992) Alpha-inhibin is a tumour-suppressor gene with gonadal specificity in mice. *Nature* 360, 313-319.
29. Vassalli A; Matzuk MM; Gardner HA; Lee KF; Jaenisch R (1994) Activin/inhibin  $\beta$ B subunit gene disruption leads to defects in eyelid development and female reproduction. *Genes Dev.* 8, 414-427.
30. van den Eijnden-van Raaij AJM; Feijen A; Lawson KA; Mummery CL (1992) Differential expression of inhibin subunits and follistatin, but not of activin receptor type II, during early murine embryonic development. *Dev. Biol.* 154, 356-365.
31. Metcalf D (1993) Hematopoietic regulators: Redundancy or subtlety? *Blood*, 82, 3515-3523.
32. Strohmman R (1994) Epigenesis: The missing beat in biotechnology. *Bio/Technology* 12, 156-164.
33. de Kretser DM; McLachlan RI; Robertson DM; Burger HG (1989) Serum inhibin levels in normal men and men with testicular disorders. *J. Endocr.* 120, 517-523.
34. van Dissel-Emiliani FMF; Grootenhuis AJ; de Jong FH; de Rooij DG (1989) Inhibin reduces spermatogonial numbers in testes of adult mice and Chinese hamsters. *Endocrinology* 125, 1898-1903.
35. Mather JP; Attie KM; Woodruff TK; Rice GC; Phillips DM (1990) Activin stimulates spermatogonial proliferation in germ-Sertoli cell cocultures from immature rat testis. *Endocrinology* 127, 3206-3214.

36. Grootenhuis AJ; van Sluijs FJ; Klaij IA; Steenbergen J; Timmerman MA; Bevers MM; Dieleman SJ; de Jong FH (1990) Inhibin, gonadotrophins and sex steroids in dogs with Sertoli cell tumours. *J. Endocr.* 127, 235-242.
37. Lappöhn RE; Burger HG; Bouma J; Bangah M; Krans M; de Bruijn HWA (1989) Inhibin as a marker for granulosa-cell tumors. *N. Engl. J. Med.* 321, 790-793.
38. Sluijmer AV; Heineman MJ; Evers JLH; de Jong FH (1993) Peripheral vein, ovarian vein and ovarian tissue levels of inhibin in a postmenopausal patient with a granulosa cell tumor. *Acta endocr.* 129, 311-314.
39. Vingerhoeds ACM; Thijssen JHH; Schwartz F (1976) Spontaneous hypercortisolism without Cushing's Syndrome. *J. clin. Endocr. Metab.* 43, 1128-1135.
40. Chrousos GP; Vingerhoeds ACM; Brandon D; Eil C; Pugeat M; de Vroede M; Loriaux DL; Lipset MB (1982) Primary cortisol resistance in men: a glucocorticoid receptor-mediated disease. *J. clin. Invest.* 69, 1261-1269.
41. Lamberts SWJ; Poldermans D; Zweens M; de Jong FH (1986) Familial cortisol resistance: differential diagnostic and therapeutic aspects. *J. clin. Endocr. Metab.* 63, 1328-1333.
42. Lamberts SWJ; Koper JW; Biemond P; den Holder FH; de Jong FH (1992) Cortisol receptor resistance. The variability of its clinical presentation and response to treatment. *J. clin. Endocr. Metab.* 74, 313-321.
43. Koper JW; Stolk RP; Molijn GJ; Huizenga NTM; van Uffelen CJC; Pols HAP; Grobbee DE; Karl M; de Jong FH; Brinkmann AO; Lamberts SWJ (1993) Clinical, biochemical, and genetic abnormalities associated with the glucocorticoid receptor in a normal elderly population. Ter publikatie aangeboden.