

recte biosynthese van steroïden, het vaststellen van de juiste diagnose alleen mogelijk is door vaststellen van de mutatie die verantwoordelijk is voor de afwijking. Onder deze omstandigheden leidt meten van de steroïdconcentraties alleen dus niet tot het kennen van het onderliggend defect.

#### Literatuur

1. Boehmer ALM, Brinkmann AO, Sandkuijl LA, Halley DJJ, Niermeijer MF, Andersson S, et al. 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase-3 deficiency: diagnosis, phenotypic variability, population genetics, and worldwide distribution of ancient and de novo mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4713-4721.
2. Boehmer ALM, Nijman RJ, Lammers BAS, Coninck SJF de, Hemel JO van, Themmen APN, et al. Etiological studies of severe or familial hypospadias. *J Urol* 2001; 165: 1246-1254.
3. Akker ELT van den, Koper JW, Boehmer ALM, Themmen APN, Verhoef-Post M, Timmerman MA, et al. Differential inhibition of 17 $\alpha$ -hydroxylase and 17,20-lyase activities by three novel missense CYP17 mutations identified in patients with P450c17 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5714-5721.
4. Sinnecker GH, Hiort O, Nitsche EM, Holterhus PM, Kruse K. Functional assessment and clinical classification of androgen sensitivity in patients with mutations of the androgen receptor gene. German Collaborative Intersex Study Group. *Eur J Pediatr* 1997; 156: 7-14.
5. Geller DH, Auchus RJ, Miller WL. P450c17 mutations R347H and R358Q selectively disrupt 17,20-lyase activity by disrupting interactions with P450 oxidoreductase and cytochrome b5. *Mol Endocrinol* 1999; 13: 167-175.
6. Imai T, Yanase T, Waterman MR, Simpson ER, Pratt JJ. Canadian Mennonites and individuals residing in the Friesland region of The Netherlands share the same molecular basis of 17  $\alpha$ -hydroxylase deficiency. *Hum Genet* 1992; 89: 95-96.
7. Andersson S, Moghrabi N. Physiology and molecular genetics of 17  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenases. *Steroids* 1997; 62: 143-147.
8. Imperato-McGinley J, Peterson RE, Gautier T, Sturla E. Androgens and the evolution of male-gender identity among male pseudohermaphrodites with 5 $\alpha$ -reductase deficiency. *N Engl J Med* 1979; 300: 1233-1237.
9. Themmen APN, Martens JW, Brunner HG. Activating and inactivating mutations in LH receptors. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 145: 137-142.

*Ned Tijdschr Klin Chem* 2003; 28: 179-182

## Neurosteroiden

E. R. de KLOET\*

Jos Thijssen is een kenner van de hormoonhuishouding. Zo is hij bekend in de wereld van sport en doping, in de psychiatrie en uiteraard in de endocrinologie. Zo heb ik Jos ook leren kennen. Eerst in 1966 tijdens mijn training als student bij Organon. Jos ontmoette ik destijds bij mijn maandelijkse bezoeken aan het AZU-laboratorium van professor Marius Tausk, de directeur van Organon en hoogleraar Endocrinologie, die verantwoordelijk voor mijn stage was (zie Lequin en Thijssen, 2000). Vervolgens leerden wij elkaar beter kennen als jonge onderzoekers bij de FUNGO-werkgemeenschap Bijnierfunctie en tenslotte als collega's in de diverse geledingen van de Utrechtse faculteit geneeskunde en als medeorganisator van het VIIIth International Congress on Hormonal Steroids. Jos Thijssen is een leerling van Marius Tausk, een geleerde die van grote betekenis was voor de Nederlandse endocrinologie. Om deze reden is in Leiden de Marius Tausk Wisselleerstoel ingesteld, waarvoor jaarlijks een gerenommeerde endocrinoloog genomineerd wordt.

Intussen ontwikkelde zich de neuro-endocrinologie van stress, een gebied waarin mijn onderzoek sinds 1968 bij Organon onder leiding van Johan van der Vies en David de Wied begon. Mijn taak als promovendus was het *target* vast te stellen van corticosteroidwerking in de hersenen. Dat begon met een simpel experiment en niemand kon vermoeden dat bij het afscheid van Jos Thijssen ruim dertig jaar onderzoek samengevat kon worden. Dat onderzoek heeft als centrale vraag hoe deze corticosteroidwerking in de hersenen tot stand komt en wat de betekenis is voor aanpassing aan stress bij gezondheid en ziekte. En nu is het dan zo ver dat een antagonist van corticosteroidwerking een potent antidepressivum blijkt te zijn voor een subgroep van depressieve patiënten (Belanoff et al., 2002). De corticosteroid antagonisten zijn al na enkele dagen werkzaam. In feite gaat het hier over de eerste psychiatrische aandoening die op geleide van pathofysiologie een nieuw medicijn opleverde. Hoe dat in zijn werk is gegaan volgt nu.

### Corticosteroidfysiologie

Corticosteroiden betreffen het mineralocorticoid hormoon aldosteron, dat de Na/K-balans bewaakt en de glucocorticoidhormonen corticosteron (knaagdier en

\*Sectie Medische Farmacologie, LACDR/LUMC, Universiteit Leiden

mens) en cortisol (alleen bij mens), die energieopslag en -leverantie regelen, en essentieel zijn voor de stressreactie. De steroïden werden eind dertiger jaren door o.a. Reichstein, de latere Nobellaureaat, en Marius Tausk ontdekt in bijnierschorsextracten. Hans Selye vond vervolgens dat glucocorticoïd- en mineralocorticoïdhormonen een tegengestelde werking hebben, zoals bleek uit respectievelijk hun o.a. anti-inflammatoir en pro-inflammatoir effect. Cortisol en corticosteron worden hier aangeduid met CORT.

In Selye's overtuiging *bevorderen* de glucocorticoïden de stressreactie, maar dat verklaarde niet het anti-inflammatoir effect. Het alternatief dat ontstekingsremming wel zou kunnen verklaren was volgens Tausk (1953) en Munck (1984) dat glucocorticoïden de primaire stressreactie *beteugelen* waardoor voorkomen wordt dat deze essentiële reactie ongecontroleerd te ver doorschiet en zelf schadelijk wordt voor het organisme. Tegenwoordig denkt men dat glucocorticoïden zowel *permissief* kunnen werken, in bijvoorbeeld energiemetabolisme, als *regulerend* in de reactie op stressoren. Daarnaast werken deze stresshormonen *strategisch* in het vastleggen van informatie en het aanleggen van energievoorraden voor het geval dat de stressor in de toekomst weer eens toeslaat. De moleculaire basis voor deze verschillende, en soms tegengestelde, werkingen ligt in een tweetal receptor-systemen voor de corticosteroïden, de mineralocorticoïd- (MR) en de glucocorticoïdreceptor (GR).

### Fysiologie van stress

Stress is gedefinieerd als de verstoring van homeostase -dit is het evenwicht in levensprocessen- door fysieke of psychologische prikkels (stressoren) van allerlei aard, reëel, dreigend of ingebeeld. De stressrespons is het spectrum van fysiologische en gedragsreacties dat ons in staat stelt stress te hanteren en homeostase te herstellen. Tegenwoordig noemt men herstel van homeostase ook wel *allostase*, en "*allostatic load*" de prijs die het lichaam hiervoor moet betalen. Dat stress het lichaam kan beschadigen en de kans op ziekten vergroot, is sinds de dagen van Walter Cannon en Hans Selye al bijna een eeuw bekend. Ziekten zoals depressie, angststoornissen en het meer recent onderkende posttraumatisch stress-syndroom zijn markante voorbeelden van een verstoorde stressregulatie.

Stresshormonen coördineren de lichaams- en hersenfuncties in relatie tot andere individuen en de omgeving. Uit kennis van het humane genoom is gebleken dat stresshormonen zijn georganiseerd in twee "antiparallel" georganiseerde systemen. Dit betreft enerzijds het *stress-systeem*, het door corticotropin-releasing hormoon (CRH-1) receptoren gedreven sympathisch zenuwstelsel en de hypothalamus-hypofyse-bijnieras leidend tot afgifte van CORT. De *fight-flight-fright* reacties zijn hiervan kenmerkend. De eerder genoemde MR hoort ook bij dit spectrum van primaire stressreacties: via MR is CORT bepalend voor de drempel en/of de gevoeligheid waarmee het stresssysteem op stressoren reageert. Anderzijds, het *aanpassingssysteem*, het recent ontdekte stresscopin-

CRH-2-receptorsysteem dat parasymphatische activiteit en aanpassing organiseert. Via GR beëindigt CORT verhoogde activiteit van de primaire stressreacties en brengt herstel en aanpassing tot stand.

In balans zijn stress- en aanpassingssystemen essentieel voor gezondheid. Indices voor het "setpoint" (concentraties aan CORT, adrenaline, CRH-1 en -2, MR en GR) van het evenwicht in beide systemen kunnen tevens als markers voor "allostatic load" en dus van kwetsbaarheid voor stressgerelateerde ziekte beschouwd worden. Uit deze summiere samenvatting moge duidelijk worden dat de natuurlijk voorkomende glucocorticoïden cortisol en corticosteron aanpassing aan stressoren regelen.

### Corticosteroidreceptoren MR en GR

#### *Detectie van receptoren*

CORT dringt de hersenen binnen en dat is goed te volgen door tracerhoeveelheden van het radioactief gemerkte hormoon in te spuiten. Op verschillende tijdstippen wordt dan het dier geofferd en de hersenen worden in dunne plakken gesneden en tegen een fotografische emulsie gelegd. De autoradiografie liet zien dat radioactief CORT in de neuronen van de hippocampus vastgehouden wordt. Dat was geheel tegen de verwachting in omdat vermoed werd dat het hormoon zou accumuleren in de CRH-neuronen van de hypothalamische paraventriculaire nucleus; dit zijn de neuronen die de sympathische en neuro-endocriene reactie op stress organiseren. In mijn eerste experiment gebruikte ik radioactief gemerkt dexamethason, een potent synthetisch glucocorticoïd, met de bedoeling nog beter de receptoren in kaart te brengen. Echter dexamethason werd nauwelijks in de hersenen opgenomen maar wel in de hypofysevoorkwab, waar de synthese en afgifte van ACTH geblokkeerd wordt. Waarom dat verschil? Dat was een raadsel. Een drietal waarnemingen hebben de reden voor dat verschil in dexamethason- en corticosteronopname opgehelderd.

#### *Twee corticosteroidreceptortypen*

Tussen 1985 en 1987 werden de mineralocorticoïd- (MR) en glucocorticoïdreceptoren (GR) gekloneerd, en daarmee was de weg open voor de detectie van receptoreiwit en mRNA met immunocytochemie en in situ hybridisatie, respectievelijk. Het bleek dat de GR in elke hersencel voorkomt met hoogste concentratie in CRH-neuronen en in de hippocampus. De MR kwam met name voor in de neuronen van het limbische systeem. Maar hoe zat het nu met dat traceronderzoek? Welnu, uit ons tracerwerk bleek corticosteron dezelfde sites te labelen als aldosteron. Dat waren dus de mineralocorticoïdreceptoren (MR) in de hippocampus, die met een tien maal hogere affiniteit corticosteron konden binden dan de GR. Confocale microscopie van immunochemisch met twee verschillende fluorochromen gemerkte MR en GR toonde colocalisatie van beide receptortypen aan in neuronen van de hippocampus, zichtbaar als clusters in specifieke nucleaire gebieden.

### *Aldosteron-selectieve en niet selectieve MRs*

Als CORT dan zo sterk aan de MR bindt, is de MR dan eigenlijk niet een variant van de GR? Waarom heeft de nier dan geen last van excessieve Na-retentie omdat bij rat en mens respectievelijk CORT, in een 100- tot 1000-maal hogere concentratie circuleren dan aldosteron? De oplossing voor dit raadsel is dat in de nier een enzym, het  $11\beta$ -OH-dehydrogenase type 2, is gelokaliseerd dat CORT afbreekt tot de inactieve 11-dehydrometaboliet. Dat enzym is te remmen met glycerhetinezuur, de stof die drop naar meer doet smaken. De hippocampus bevat dat type-2-oxydase niet, maar wel het type 1, dat als reductase bioactief corticosteron en cortisol genereert van een inactieve precursor. De hippocampus-MR ziet dus door hoge affiniteit een overvloed aan ligand, en is dus ook overwegend bezet met corticosteron en cortisol. De activiteit van MR lijkt de snelheidsbeperkende stap, en niet de beschikbaarheid van de ligand.

### *Multidrug resistance P glycoprotein (mdr Pgp)*

Bovenstaande waarnemingen verklaren niet waarom de tracer dexamethason de GR in de hersenen niet goed kon labelen, terwijl dat wel bijzonder goed ging voor de hypofysaire GR. De verklaring kwam eind jaren negentig. Mdr Pgp in de bloed-hersenbarrière bleek circulerend dexamethason na binnendringen in de endotheelcellen direct weer uit de hersenen te exporteren. Dat werd aangetoond in experimenten met Pgp-knockoutmuizen. Wanneer deze mutanten tracerhoeveelheden dexamethason toegediend kregen bleek het synthetisch glucocorticoïd nu wel in staat aan de GRs in de hersenen te binden. Pgp en het redoxenzym  $11\beta$ -OH-dehydrogenase blijken bepalend voor toegang van het steroïd tot de receptor.

### **Functionele implicaties van corticosteroidreceptor-differentiatie**

CORT werkt dus via receptoren die de transcriptie van genen beïnvloeden. De twee typen receptoren, MR en GR, komen in grote hoeveelheden voor in dezelfde neuronen van o.a. de hippocampus, een hersenstructuur met een belangrijke functie in leer- en geheugenprocessen. De MR bindt CORT zeer sterk en is zelfs bij de dagelijkse dalwaarden van cortisol grotendeels bezet. MR regelt de expressie van genen betrokken bij stabilisatie van neuronale netwerken. Deze werking ligt ten grondslag aan interpretatie van informatie en de keuze van de meest geschikte gedragsstrategie om verstoring van homeostase zo veel mogelijk te voorkomen. De klassieke GR (die zeer sterk dexamethason kan binden) komt pas in actie bij hoge concentraties CORT gedurende de dagelijkse piek en na stress. De GR activeert genen gericht op beperking van de primaire stressreactie en mobilisatie van energie nodig voor herstel van homeostase. GR onderdrukt de door excitatoire stimuli tijdelijk verhoogde excitabiliteit in neuronale circuits, die ten grondslag liggen aan opslag van nieuwe informatie, en aan het wissen van niet meer relevante informatie. GR is dus essentieel voor leer- en geheugenprocessen. De functies van MR en GR zijn te testen door gebruik te maken van receptorspecifieke antagonist

en via specifieke mutanten. Bijvoorbeeld toediening van MR-antagonisten (o.a. spironolacton) versterkt de neuro-endocriene stressreactie na plaatsing in een nieuwe omgeving en interfereert met de uitvoering van een persistente gedragsstrategie in *coping* (het omgaan) met stress. GR-antagonisten verhinderen opslag van informatie. Een puntmutatie in de GR die dimerisatie en binding aan DNA voorkomt, verhindert glucocorticoïd-effecten op neuronale excitabiliteit en geheugen.

### **Pathofysiologie**

De laatste jaren is de literatuur verrijkt met veel publicaties over de acuut schadelijke werking van stress en glucocorticoïden voor de integriteit van de hersenen en cognitie. Bij nadere analyse gaat het veelal om experimenten waarin eerder sprake is van toxische effecten gezien de gebruikte extreme condities. Ook worden veelal experimentele situaties gebruikt die *out of context* zijn en derhalve een schijnbare stoornis te zien geven, maar in feite is door het organisme een andere, meer opportune respons gekozen. Immers stress en CORT zijn essentieel voor aanpassing, herstel, gezondheid en overleving.

Echter een ander verhaal is dat chronische verandering in CORT-concentraties, die bewerkstelligd wordt door chronische stress, angst, agressie, kan leiden tot stoornis in cognitieve processen met abnormale perceptie en verwerking van de informatie. De ontstane verstoring in specifieke neurale afferenten naar de hypothalamus-hypofyse-bijnieras reflecteert een positieve feedbackwerking van CORT en een lokaal veranderde MR/GR-balans. Chronische behandeling met tricyclische antidepressiva leidt tot een geleidelijke correctie van MR/GR-balans met normalisatie van CORT-feedback en psychische toestand. Vermoedelijk grijpt de succesvolle behandeling met anti-glucocorticoïden rechtstreeks aan op de oorzaak van depressie, dus herstel van ontregelde MR/GR-balans en een directe verbetering in cognitie.

### **Conclusie**

De balans in MR- en GR-werkingen is van kritische betekenis voor de handhaving van de cellulaire homeostase en integriteit. MR beperkt de verstoringen in homeostase, die door GR hersteld worden. Als MR/GR uit balans raakt kan neuro-endocriene regulatie en aanpassing worden ontregeld. Nadat een zekere drempel is overschreden, kan uiteindelijk de kwetsbaarheid voor stressgerelateerde aandoeningen zoals depressie worden verhoogd in genetisch gepredisponerde individuen.

### **Perspectieven**

Op een drietal gebieden is de komende jaren voortgang te verwachten.

*Regulatie van transcriptie.* De werking van MR en GR wordt celspecifiek en receptorspecifiek gereguleerd door andere transcriptiefactoren (e.g. NF $\kappa$ B), en door corepressoren (NCoR en SMRT) en coactivatoren (SRC's) die een belangrijke rol spelen bij receptoractivatie en transcriptieregulatie. Vraag: hoe bepalen deze factoren de MR/GR-balans?

*Genexpressiepatronen.* Met SAGE en GeneChips zijn MR- en GR-responsieve netwerken van genen geïdentificeerd die neuronale plasticiteit in een diermodel voor depressie kunnen reguleren. Vragen: Hoe kan *remodelling* van synaptische contacten, celdood en neurogenese de pathogenese en het herstel van depressie bepalen? Zijn de nieuwe genen van belang voor 'target discovery' en validatie?

*Diermodellen.* In meer holistische benadering worden tegenwoordig gedragstaken geanalyseerd die simultaan emotionele en cognitieve processen betreffen, gecombineerd met elektrofysiologie. Vraag: hoe kunnen cognitieve processen leiden tot emotionele stoornissen die kenmerkend zijn voor depressie? Dit is van belang daar de snelwerkende GR-antagonisten met name via modulatie van een cognitieve input lijken te werken in plaats van op circuits betrokken bij emotie, zoals de traditionele langzaamwerkende mono-aminerge antidepressiva schijnen te doen.

### Dankbetuiging

Dit werk kwam mede tot stand door financiële steun van NWO, EU, de Nederlandse Hartstichting en de ISAO het afgelopen decennium, en door jarenlang enthousiasme van de medewerkers van de Leidse sectie Medische Farmacologie in samenwerking met de Amsterdamse afdeling Neurobiologie.

Ned Tijdschr Klin Chem 2003; 28: 182-185

## Steroiden en meningeomen

M.A. BLANKENSTEIN\*

Eind 1984 werden meningeomen aan het onderzoeksrepertoire van het Endocrinologisch Laboratorium van het AZU toegevoegd. Kort daarvoor was op deze intracraniale tumoren de aandacht van de endocrinologie gevestigd, omdat ze kenmerken van hormoonafhankelijke tumoren vertoonden. Zo komen ze beduidend vaker bij vrouwen voor dan bij mannen, verergeren de symptomen reversibel in perioden van relatieve progesteronovermaat zoals tijdens zwangerschap en in de 2<sup>e</sup> helft van de menstruele cyclus en was er associatie beschreven tussen het voorkomen van meningeomen en mammacarcinoom. Bovendien bleken meningeomen rijk aan progesteronreceptoren (PR) te zijn (1). Gezien de reeds bij Jos Thijssen bestaande grote belangstelling voor alles wat met pro-

### Literatuur

1. Belanoff JK, Rothschild AJ, Cassidy F, DeBattista C, Baulieu EE, Schatzberg, AA. Rapid reversal of psychotic major depression using C-1073 (Mifepristone). *Biol Psychiatry* 2002; 52: 386-392.
2. Datson NA, Perk J van der, Kloet ER de, Vreugdenhil E. Identification of corticosteroid responsive genes in rat hippocampus using serial analysis of gene expression. *Eur J Neuroscience* 2001; 14: 675-689.
3. Kloet ER de, Oitzl MS, Vreugdenhil E, Joëls M. Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocrine Reviews* 1998; 19: 269-301.
4. Kloet ER de, Oitzl MS, Joëls M. Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends Neurosci* 1999; 22: 422-426.
5. Joëls M. Corticosteroid actions in the hippocampus. *J Neuroendocrinology* 2001; 13: 657-669.
6. Lequin RM, Thijssen JHH. Marius Tausk (1902-1990), influential endocrinologist and producer of medicines: a retrospect to mark the centenary of his birth. *Ned Tijdschr Geneesk* 2002; 146: 327-330.
7. Meijer OC. Coregulator proteins and corticosteroid action in the brain. *J Neuroendocrinol* 2002; 14: 499-505.
8. Meijer OC, Lange ECM de, Breimer DD, Boer AG de, Workel JO, Kloet ER de. Penetration of dexamethasone into brain glucocorticoid targets is enhanced in mdr1A P-glycoprotein knockout mice. *Endocrinol* 1998; 139: 1789-1793.
9. Oitzl MS, Reichardt H, Joëls M, Kloet ER de. Point mutation in the mouse glucocorticoid receptor preventing DNA binding impairs spatial memory. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 12790.

gestagenen van doen had en vooral met de relatie steroiden en kanker, is het niet verwonderlijk dat het onderzoek aan deze tumoren kon worden voortgezet toen ik naar Utrecht kwam. Het onderzoek heeft zich vervolgens redelijk rechtlijnig ontwikkeld en in de pas met de technologische ontwikkelingen.

### Integriteit van de progesteronreceptor (PR) in meningeomen

Aanvankelijk hebben we veel aandacht moeten geven aan de "erkenning" van het progesteronbindend eiwit als receptor omdat er in de literatuur nogal wat bedenkingen waren geuit. Vooral de bevinding dat meningeomen veel PR, maar geen oestrogenreceptor (ER) bevatten, moest het ontgelden. Algemeen was immers bekend dat PR door oestrogenen via de ER werden geïnduceerd. Helaas konden we niet aan alle eisen, die er bestonden voor de toekenning van het predikaat "receptor" aan een bindend eiwit, voldoen. Hoewel in ons laboratorium zowel als elders aange- toond werd dat meningeomen een eiwit bevatten dat

\**Klinische Chemie, Acad.Ziekenhuis der Vrije Universiteit, Amsterdam.*

In samenwerking met: S.G.A. Koehorst, F.M. Verheijen, G.H. Donker, H.M. Jacobs en M. Sprong. U.M.C. Utrecht.