

6. Verheijen FM, Sprong M, Jacobs J, Donker TH, Amelink GJ, Thijssen JHH, Blankenstein MA. Progesterone receptor isoform expression in human meningiomas. *Eur J Cancer* 2001; 37: 1488-1495.
7. Verheijen FM, Donker TH, Sprong M, Jacobs J, Sales Viera C, Blaauw G., Thijssen JHH, Blankenstein MA. Progesterone receptor, Bcl-2 and Bax expression in meningioma and breast cancer cytosol. *J Neuro-oncol* 2002; 56: 35-41.
8. Verheijen FM. Progesterone receptors in human meningiomas. *Academisch Proefschrift Universiteit Utrecht*, 2001.
9. Fewings PE, Battersby RD, Timperley WR. Long-term follow up of progesterone receptor status in benign meningioma: a prognostic indicator of recurrence? *J Neurosurg* 2000; 92: 401-405.
10. Strik HM, Strobelt I, Pietsch-Breitfeld B, Iglesias-Rozas JR, Will B, Meyermann R. The impact of progesterone receptor expression on relapse in the long-term clinical course of 93 benign meningiomas. *In Vivo* 2002; 6: 265-270.
11. Das A, Tan WL, Teo J, Smith DR. Overexpression of mdm2 and p53 and association with progesterone receptor expression in benign meningiomas. *Neuropathol* 2002; 22: 194-199.
12. Gursan N, Gundogdu C, Albayrak A, Kabalar ME. Immunohistochemical detection of progesterone receptors and the correlation with Ki-67 labeling indices in paraffin-embedded sections of meningiomas. *Int J Neurosci* 2002; 112: 463-470.

*Ned Tijdschr Klin Chem* 2003; 28: 185-187

## Steroiden en gezelschapsdieren

H.C.A. RIJNBERK\*

In het begin van de jaren zestig van de vorige eeuw ontstonden de eerste contacten tussen de destijds zo genoemde Kliniek voor Kleine Huisdieren van de Faculteit der Diergeneeskunde en de Afdeling Endocrinologie van de Faculteit der Geneeskunde. Die contacten kwamen vooral voort uit de behoefte aan endocriene diagnostiek bij gezelschapsdieren. Het begon met de diagnostiek voor schildklieraandoeningen. Wij zagen bij honden schildkliervergrotingen, maar hadden geen inzicht in de functionele betekenis daarvan. Bovendien werden honden behandeld met thyroxine, maar of die dieren ook werkelijk hypothyreoïdie hadden was niet duidelijk. De Afdeling Endocrinologie van de medische faculteit, geleid door de latere hoogleraar F. Schwarz, en in het bijzonder het daarbinnen vigerende schildklierlaboratorium onder leiding van de latere hoogleraar P.J. der Kinderen, hebben ons met raad en daad ter zijde gestaan bij de start van de schildklierdiagnostiek *in vivo* met <sup>131</sup>I. De beide medische endocrinologen en hun medewerkers hebben steeds grote belangstelling getoond voor de ziektekundige problemen bij dieren. Deze interesse is voor ons een sterke stimulans geweest bij de ontrafeling van ziektebeelden. Een deel van deze gezamenlijke bevindingen is in een groot overzicht gepubliceerd, samen met onderzoekers van het Angell Memorial Animal Hospital in Boston (1).

### Hyperfunctie van de bijnierschors

Zo ging het ook even later bij onze contacten met de latere hoogleraar J.H.H. Thijssen, toen het nieuwe

hoofd van het steroïdlaboratorium van de Afdeling Endocrinologie van de medische faculteit. Kort nadat de schildklierdiagnostiek op gang was gekomen, zagen we in onze kliniek een hond die we verdachten van het syndroom van Cushing. We klopten aan bij het nieuw gestarte steroïdlaboratorium en daar betraden we een voor ons totaal nieuwe wereld van uiterst moderne steroïddiagnostiek. Bovendien bleken zowel het nieuwe hoofd, de nu afscheid nemende Jos Thijssen, als ook zijn medewerkers zeer bereid om na te gaan of de voor de mens geïntroduceerde diagnostiek ook bij de hond toegepast zou kunnen worden.

We startten een onderzoek naar de bijnierschorsfunctie van de gezonde hond. Met de toen juist ingevoerde fluorimetrische methode (2), konden in hondenplasma fraai de concentraties aan 11 $\beta$ -hydroxycorticosteroiden (11 $\beta$ -OHCS, cortisol en corticosteron) worden gemeten. Niet bij elke gezonde hond werd een duidelijk dagritme van de plasmaconcentraties van 11 $\beta$ -OHCS gevonden, zodat meting van de dagvariatie niet kon bijdragen aan de diagnostiek van hyperadrenocorticisme (syndroom van Cushing) (3). Ook werd duidelijk dat bepaling van 17-ketosteroiden in 24-uurs urine geen goede maat was voor de bijnierschorsfunctie. Meting van 17-hydroxycorticosteroiden (17-OHCS) in 24-uurs urine daarentegen bleek wel een zeer goede afspiegeling van de cortisolproductie te zijn. Met een in het Utrechtse laboratorium voor endocrinologie gemodificeerde methode werd ook een indruk gekregen van de productiesnelheid van cortisol (3, 4). Bepalingen van 17-OHCS in 24-uurs-urine en van basale waarden van 11 $\beta$ -OHCS in plasma maakten het mogelijk om hyperadrenocorticisme als ziektebeeld bij de hond af te bakenen. Bovendien kon met

---

\*Emeritus hoogleraar Geneeskunde van Gezelschapsdieren, R.U. Utrecht

een dexamethason-suppressietest en metingen van 17-OHCS en 11 $\beta$ -OHCS in veel gevallen onderscheid gemaakt worden tussen hypofyse-afhankelijk hyperadrenocorticisme en hyperadrenocorticisme door een bijnierschors tumor (5). Deze nadere karakterisering van het ziektebeeld liet toe dat een begin werd gemaakt met gerichte therapeutische maatregelen. In 1970 verhuisde de Universiteitskliniek voor Kleine Huisdieren van de Alexander Numankade naar de nieuwbouw in de Uithof. De ruimtelijke en personele mogelijkheden werden beduidend groter. De 17-OHCS-bepaling in urine werd eerst nog in eigen beheer verricht en later vervangen door de bepaling van cortisol met een radioimmunoassay. Ook de bepaling van de 11 $\beta$ -OHCS in plasma werd vervangen door de bepaling van cortisol. Voor deze cortisolbepalingen is aanvankelijk steeds gebruik gemaakt van een door Thijssen en medewerkers ontwikkeld antilichaam (6). Ditzelfde antilichaam bewijst ons tot op de dag van vandaag belangrijke diensten, en dan vooral voor de bepaling van de corticoïd/creatinine-ratio in urine ten behoeve van de diagnostiek van hyperadrenocorticisme bij hond en kat (7, 8).

### **Progesteron-geïnduceerde groeihormoonovermaat**

Het endocriene onderzoek bij gezelschapsdieren kreeg in 1984 een nieuwe impuls met de komst van de biochemicus J.A. Mol als hoofd van het biochemisch laboratorium. Het onderzoek werd geconcentreerd rond het thema regulatoire peptiden, met een geleidelijke ontwikkeling naar de pathobiologie van oncogenese. Hierbij is de aandacht onder meer gericht op progesteron-geïnduceerde groeihormoonovermaat bij de hond en kon worden vastgesteld dat dit groeihormoon (GH) uit de melkklier afkomstig is (9, 10). Waarschijnlijk induceren progestagenen de mammaire GH-productie via een directe interactie van de geactiveerde progesteronreceptor met de promotor van het GH-gen (11).

Ook in de melkklier van de vrouw wordt het GH-gen tot expressie gebracht (12). Er komen steeds meer aanwijzingen dat de lokale productie van GH en insulineachtige groeifactoren (IGF's) en hun bindings-eiwitten niet alleen een rol spelen bij de weefselontwikkeling ten behoeve van de lactatie, maar ook de proliferatie van mammatumoren bij mens en dier kunnen bevorderen (13, 14). Tegen deze achtergrond is er alle reden voor onderzoek bij vrouwen ter beantwoording van vragen als bijvoorbeeld: (1) bereikt mammaire GH ook bij vrouwen de systemische circulatie, (2) wordt de mammaire GH-expressie bevorderd door progesteron/progestagenen, en (3) wat is de rol van mammaire GH-productie bij het ontstaan van borstkanker.

### **Aberrante expressie van receptoren**

Ging het bij het zojuist geschetste onderzoek vooral over de effecten van steroïden, er bleef ook belangstelling voor steroïdproductie, zoals bijvoorbeeld door bijnierschors tumoren. Bij een onderzoek naar de effecten van de toediening van de suprahypofysaire stimuli "corticotrophin-releasing hormone" (CRH) en arginine-vasopressine (AVP) lieten alle onderzochte

honden met een bijnierschors tumor een sterke cortisolresponse zien op toediening van AVP. Dit bleek een direct effect te zijn, zonder tussenkomst van het bijnierschorsstimulerende hormoon ACTH uit de hypofyse (15). Intussen is duidelijk geworden dat de productie van cortisol en andere steroïden door sommige tumoren en hyperplasieën van de bijnierschors vooral wordt gestuurd door "aberrante/ectopische" membraanreceptoren voor bijvoorbeeld "gastric inhibitory polypeptide" (GIP) en vasopressine (16).

Met deze aberrante receptoren komen we dan tevens bij de meest recente samenwerking tussen de Hoofdafdeling Geneeskunde van Gezelschapsdieren en het laboratorium van de Afdeling Endocrinologie van het Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMCU). Nu gaat het om de expressie van receptoren voor luteïniserend hormoon (LH) op de hyperfunctionerende bijnierschors van (gecastreerde) fretten. Het beeld komt niet voort uit een hypersecretie van cortisol, maar is het gevolg van een ACTH-onafhankelijke overproductie van adrenale geslachtssteroïden (17). De verschijnselen treden aanvankelijk alleen op in het voortplantingsseizoen en worden later permanent gezien: symmetrische kaalheid, vulvazwelling bij vrouwelijke fretten na ovariëctomie en terugkeer van de geslachtsdrift bij gecastreerde mannelijke fretten. Bij functiestudies met metingen van plasmaconcentraties van androsteendion en 17 $\beta$ -hydroxyprogesteron werd LH-afhankelijke hypersecretie van deze steroïden aangetoond. In de hyperplastische en tumoreuze bijnieren is met een antilichaam tegen de LH-receptor duidelijke positieve aankleuring gevonden (18).

### **Tot Slot**

In deze terugblik heb ik met klinische voorbeelden proberen aan te geven hoe belangrijk de Afdeling Endocrinologie van het UMCU, en vooral ook het laboratorium onder leiding van de nu afscheid nemende Prof.dr. J.H.H. Thijssen, is geweest bij de start en de verdere ontwikkeling van de klinische endocrinologie bij gezelschapsdieren. De samenwerking was zeer waardevol en voltrok zich altijd in een uiterst plezierige sfeer. Veel dank daarvoor.

### **Literatuur**

1. Leav I, Schiller AL, Rijnberk A, Legg MA, Kinderen PJ der. Adenomas and carcinomas of the canine and feline thyroid. *Am J Path* 1976; 83: 61-122.
2. Mattingly D. A simple fluorimetric method for the estimation of free 11-hydroxocorticoids in human plasma. *J Clin Path* 1962; 15: 374-379.
3. Thijssen JHH, Waard F de, Wiersinga A. Cortisol production rates in Africans. *Lancet* 1967; i: 814-816.
4. Rijnberk A, Kinderen PJ der, Thijssen JHH. Spontaneous hyperadrenocorticism in the dog. *J Endocr* 1968; 41: 397-406.
5. Thijssen JHH, Berg JHM van den, Adlercreutz H, Gijzen AHJ, Jong FH de, Meijer JC, Moolenaar AJ. The determination of cortisol in human plasma: evaluation and comparison of seven assays. *Clin Chim Acta* 1980; 100: 39-46.
6. Stolp R, Rijnberk A, Meijer JC, Croughs RJM. Urinary corticoids in the diagnosis of canine hyperadrenocorticism. *Res Vet Sci* 1983; 34: 141-144.

7. Goossens MMC, Meyer HP, Voorhout G, Sprang EPM. Urinary excretion of glucocorticoids in the diagnosis of hyperadrenocorticism in cats. *Domest Anim Endocrinol* 1995; 12: 355-362.
8. Selman PJ, Mol JA, Rutteman GR, Rijnberk A. Progestin-induced growth hormone excess in the dog originates in the mammary gland. *Endocrinology* 1994; 134: 287-292.
9. Mol JA, Garderen E van, Selman PJ, Wolfswinkel J, Rijnberk A, Rutteman GR. Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats. *J Clin Invest* 1995; 95: 2028-2034.
10. Mol JA, Henzen-Logmans SC, Hageman P, Misdorp W, Blankenstein MA, Rijnberk A. Expression of the gene encoding growth hormone in the human mammary gland. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3094-3096.
11. Mol JA, Garderen E van, Rutteman GR, Rijnberk A. New insights in the molecular mechanism of progestin-induced proliferation of mammary epithelium: Induction of the local biosynthesis of growth hormone (GH) in the mammary gland of dogs, cats and humans. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1996; 57: 67-71.
12. Garderen E van, Schalken JA. Morphogenic and tumorigenic potentials of the mammary growth hormone/growth hormone receptor system. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 197: 153-165.
13. Raccurt M, Lobie PE, Moudilou E, Garcia-Caballero T, Frappart L, Morel G, Mertani HC. High stromal and epithelial human GH gene expression is associated with proliferative disorders of the mammary gland. *J Endocr* 2002; 175: 307-318.
14. Rijnberk A, Kooistra HS, Mol JA. Endocrine diseases in dogs and cats: similarities and differences with endocrine diseases in humans. *Growth Horm IGF Res* 2003; in press.
15. Wijk PA van, Rijnberk A, Croughs RJM, Wolfswinkel J, Selman PJ, Mol JA. Responsiveness to corticotrophin-releasing hormone and vasopressin in canine Cushing's syndrome. *Eur J Endocrinol* 1994; 130: 410-416.
16. Lacroix A, N'Diaye N, Tremblay J, Hamet P. Ectopic and abnormal hormone receptors in adrenal Cushing's syndrome. *Endocr Rev* 2001; 22: 75-110.
17. Schoemaker NJ, Mol JA, Lumeij JT, Rijnberk A. Plasma concentrations of adrenocorticotrophic hormone and  $\gamma$ -melanocyte-stimulating hormone in ferrets (*Mustela putorius furo*) with hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res* 2002; 63: 1395-1399.
18. Schoemaker NJ, Teerds KJ, Mol JA, Lumeij JT, Thijssen JHH, Rijnberk A. The role of luteinizing hormone in the pathogenesis of hyperadrenocorticism in neutered ferrets. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 197: 117-125.

*Ned Tijdschr Klin Chem* 2003; 28: 187-188

## Steroïden in de sport

D. de BOER\*

Sport en steroïden zijn onverbrekelijk met elkaar verbonden. Terwijl in de oudheid de consumptie van teelballen de atleet tot betere sportprestaties moest leiden, neemt de moderne atleet steroïde-bevattende voedingssupplementen. De teelballen spelen overigens nog steeds rol in de sport, omdat de consumptie ervan bepaalde positieve resultaten bij een dopingcontrole zou verklaren.

Omdat het gebruik van anabole androgene steroïden in de moderne sport sinds jaar en dag verboden is, wordt het gebruik tegenwoordig als een overtreding van de sportreglementen beschouwd (1). Door middel van een dopinganalyse wordt op een dergelijk misbruik gecontroleerd. Als het gaat om lichaamsvreemde steroïden, is het aantonen van het misbruik relatief eenvoudig. Aan de hand van een urinemonster wordt van het steroïde zelf en/of een karakteristiek metaboliet een massaspectrum opgenomen, dat als ondubbelzinnig bewijs wordt beschouwd voor het gebruik van het betreffende steroïde. Het urinemonster wordt zodoende positief verklaard en de atleet wordt daarmee in staat van beschuldiging gesteld.

Bij lichaamseigen steroïden is het aantonen van het misbruik veel lastiger, omdat met de gangbare massa-

spectrometrische technieken geen onderscheid gemaakt kan worden tussen zelf aangemaakte en toegevoerde lichaamseigen steroïden. Andere indicators moeten aangesproken worden om te kunnen bewijzen, dat er sprake is van misbruik (2). Dopingcontroleurs hebben bijvoorbeeld eind jaren tachtig in dat verband voor de detectie van testosteron (T) het tweelingbroertje "epitestosteron" (E) van stal gehaald en de inmiddels beruchte T/E-verhouding ingevoerd. Ontdekt in de jaren zestig door de endocrinologen, had epitestosteron reeds een geschiedenis achter zich liggen. Omdat epitestosteron geen diagnostische waarde had en schijnbaar ook geen biologische functie, was het door diezelfde endocrinologen even snel in de jaren zeventig van het toneel geschoven. De endocrinologische wereld heeft de tweede jeugd van epitestosteron in de dopinganalyse zeer kritisch gevolgd, wat zeker ook geleid heeft tot bijstellingen van het dopingbeleid t.a.v. de T/E-verhouding (3). Als aangename bijkomstigheid is het onderzoek naar epitestosteron weer opgepakt (4) en is ook o.a. de oorsprong van epitestosteron uitgebreid bestudeerd (5, 6). Naast de T/E-verhouding zijn inmiddels diverse andere endocrinologische parameters en testen aangevoerd als aanvullend bewijs van testosteronmisbruik. Ondanks deze ontwikkeling is gebleken dat de T/E-verhouding op zich sterker in zijn schoenen staat dan menigeen had gedacht.

---

\**Instituto do Desporto, Laboratório de Análises de Doping e Bioquímica, Lissabon, Portugal*