

DE LEVENSCYCLUS VAN DE ZALM IN RELATIE TOT ENKELE NEURO-ENDOCRIENE
ZIEKTEN BIJ DE MENS.

REDE

uitgesproken bij de openbare aanvaarding
van het ambt van gewoon hoogleraar in de
inwendige geneeskunde, in het bijzonder de
klinische en experimentele neuro-endocrinologie
aan de Erasmus Universiteit te Rotterdam op

woensdag 3 februari 1982

door

S.W.J. Lamberts

Mijnheer de Rector Magnificus,

Dames en Heren,

De zalm in Noord West Canada wordt hoog in de bergen geboren in kleine rustige stroompjes en poelen van bergbeken (1). De jonge zalmen zoeken na enige tijd een weg stroomafwaarts naar het zoute water van de Stille Oceaan en zwemmen daar jaren rond, waarbij ze zich over duizenden kilometers verspreiden. Na een groei- en rijpingsperiode van vier tot vijf jaar kunnen deze vissen 25 à 30 kg wegen. Dan beginnen ze, gedreven door een seizoensgebonden biologische tijdklok, aan de lange weg terug naar hun geboortewateren om kuit te schieten en daarna te sterven.

De zalmen verschijnen vanuit zee aan de monding van de rivier waarin ze geboren zijn met een tijdsverschil van vaak minder dan 30 minuten. Dan begint een tocht met ongelooflijk snelle en intensieve veranderingen in het lichaam en in het endocriene systeem, die zijn weerga in de natuur nauwelijks kent.

Wanneer de vis het zoute oceaانwater verlaat en via een brak overgangsgedeelte in het zoete water van zijn geboorterivier binnenzwemt, worden zowel de prolactine-producerende cellen van de hypofyse, als de aldosteron-producerende cellen van de bijnier snel groter en secerner deze hormonen, die ervoor zorgen dat het lichaam zich aanpast aan het veranderende milieu. Prolactine en aldosteron zorgen ervoor dat de water- en zout-concentraties in het bloed van deze dieren ongewijzigd blijven in het zoete omgevingswater, o.a. door het ondoordringbaar maken van de kieuwen en door te voorkomen dat er overmatig zout uit het lichaam stroomt (2). Verwijdering van de hypofyse of toediening van het geneesmiddel bromocriptine tijdens de overgang van zout naar zoet water leiden beide tot onderdrukking van de hoge prolactine-concentratie in het bloed en daardoor tot zoutverlies en de dood van de vis.

De zalmen beginnen vervolgens aan de lange weg stroomopwaarts waarbij ze zich met een enorme krachtsinspanning voortbewegen langs de vele door de natuur en de mens geschapen hindernissen. Tijdens deze tocht waarbij geen voedsel meer opgenomen wordt, treedt een snel progressieve veroudering op, waardoor de jonge, krachtige, zilverwitte vis uiteindelijk op de paaigronden aankomt als een uitgeputte, donker gepigmenteerde vis met haakvormige verkrommingen van beenderen en kaak. In deze fase is de bijnierschors nog verder in omvang toegenomen en worden hoge concentraties glucocorticoïed hormoon in het bloed gevonden. Aan het einde van de tocht worden naast huidpigmentaties en ontkalking van het bot bij vele vissen ook te hoge bloedsuiker en cholesterol concentraties, hoge bloeddruk en allerlei degeneratieve veranderingen passend bij versnelde arteriosclerose en diabetische veranderingen in de nieren gevonden. De overeenkomst van deze verschijnselen met die welke men bij sommige patienten met te hoge bijnierschorsactiviteit kan vinden, heeft enkele onderzoekers er toe gebracht om hier van een Cushing syndroom van de vis te spreken (3).

Eindelijk aangekomen in de poel of het stroompje waar de vis geboren is, schiet de vrouwelijke zalm kuit en worden de eieren bevrucht door een mannetje. Daarna gaat het snel slechter. Uitgebreide schimmels groeien op de huid van de zalm die nu het volle spectrum van de ernstige ziekteverschijnselen van het syndroom van Cushing bij de mens heeft ontwikkeld en na nog enkele dagen doelloos rondgezwommen te hebben, sterft de vis aan de gevolgen van suikerziekte of een hartinfarct.

Dit voorbeeld van de levensloop van de zalm laat zien hoe door neuroendocriene regulatie-mechanismen via hypersecretie van o.a. prolactine, aldosteron en corticosteroiden een aanpassing kan worden geregeld tot in het extreme waarbij het organisme van een verblijf in zout naar zoet water kan overschakelen, en lange tijd zonder voeding enorme inspanningen

kan doen om de voortplanting veilig te stellen. Dit gaat echter niet ongestraft en de vis moet dit met de dood bekopen door de secundaire gevolgen van deze hormonale veranderingen.

Neuroendocrinologie is de wetenschap waarbij het mechanisme en de regulatie worden bestudeerd van de wijze waarop zenuwcellen in de hersenen informatie omzetten in hormonale signalen, welke resulteren in de aanpassing van het lichaam aan deze signalen. Deze omzetting van "zenuw" of neuronale informatie in "chemische" of endocriene geschiedt door zogenaamde neurosecretoire zenuwcellen welke in staat zijn hormonen te maken en uit te scheiden. Deze neurosecretoire zenuwcellen zijn gelegen in een kleine ingewikkelde verzameling kernen aan de basis van de hersenen, de hypothalamus. Deze is door middel van een steel verbonden met de hypofyse, een orgaan dat een tiental hormonen in de algemene bloedcirculatie kan afgeven als antwoord op stimulerende of remmende hormonen uit de hypothalamus. De hypofysaire hormonen reguleren o.a. de reactie op stress, de voortplanting, de eetlust en de voedselopname, de stofwisseling, de bloeddruk en de water- en zouthuishouding.

De normale hypofyse van de mens weegt ongeveer 500 mg en heeft een maximale lengte van 12-14 mm. De hypofyse ligt ingebed in een putje in de schedelbasis, het Turkse zadel of de sella turcica. Postmortaal onderzoek heeft laten zien dat er in tussen de 8 en 23% van de verondersteld normale hypofysen van de mens kleine, goedaardige gezwelletjes gevonden worden (microadenomen, welke per definitie kleiner dan 10 mm in doorsnede zijn). Burrow en medewerkers (4) vonden recent zelfs microadenomen bij 27% van 120 patienten bij wie tijdens het leven geen klinische tekenen van een hypofysaire ziekte waren gemeld. Bijna de helft van deze adenomen bleken prolactine te synthetiseren en waarschijnlijk ook te secretieren. Uit deze bevindingen moet men concluderen dat één op de acht mensen

sterft met een prolactine-producerend hypofyse-adenoom.

Wat is prolactine voor een hormoon, waarvoor dient het bij de mens? Prolactine speelt een belangrijke rol bij de groei en ontwikkeling van het borstklierweefsel en bij de regulatie van de zogsecretie in het kraambed. Bij hoge plasma prolactine concentraties buiten het kraambed kan er ook melk uit de tepels van man of vrouw komen en dit wordt dan galactorrhoe genoemd. Bij lagere dieren speelt prolactine ook een rol bij het handhaven van het corpus luteum en de regulatie van de water- en zouthuishouding en van het moederlijk gedrag. Het is nog onzeker of prolactine ook dergelijke functies heeft bij de mens. Er is echter wel meer bekend over de gevolgen van te hoge prolactine concentraties in het bloed. Tussen 15 en 30% van de vrouwen met menstruatiestoornissen en ongewenste kinderloosheid heeft dit op basis van hyperprolactinaemie. Verder wordt bij 10% van de mannen met impotentie een te hoog plasma prolactine gevonden. Hoewel röntgenologisch vaak niet aantoonbaar, moeten we aannemen dat het merendeel van deze patienten een prolactine-producerend microadenoom van de hypofyse heeft.

Overwegingen omtrent de mogelijke oorzaak van deze goedaardige gezwellen kunnen het beste gegeven worden tegen de achtergrond van de regulatie van de normale prolactine-secretie. In tegenstelling tot de meeste andere hypofysevoorkwabshormonen werkt prolactine niet op één enkel doelwitorgaan dat reageert met de secretie van een hormoon dat de feedback regulatie verzorgt. Het door de hypofyse uitgescheiden prolactine oefent zelf via de hypothalamus een negatief feed-back effect op de eigen secretie uit. De prolactine secretie staat onder een tonisch remmende invloed van een hypothalamische factor welke zo goed als zeker dopamine is (5). Hoewel er waarschijnlijk één of meerdere hypothalamische factoren zijn welke de prolactine secretie kortdurend kunnen stimuleren, lijkt de belangrijkste stimulerende regulerende factor in feite de con-

centratie aan oestrogenen in het bloed te zijn. De hoogte van het plasma prolactine is dan ook het eindresultaat van de interrelatie tussen de negatief remmende invloed van dopamine en de stimulerende invloed van oestradiol. Daarop voortredenerend worden als belangrijkste factoren bij het ontstaan van prolactine-producerende hypofysetumoren genoemd een tekort aan dopamine uit de hypothalamus of chronische blootstelling aan een overmaat van oestrogenen. Van belang lijkt hier de waarneming dat ongeveer driekwart van een grote groep vrouwen met histologisch bewezen prolactine-producerende hypofyse adenomen de eerste klachten van menstruatiestoornissen en/of galactorrhoe ontwikkelden onmiddellijk na het stoppen van het gebruik van oestrogenen bevattende orale anticonceptiva (de pil) (6).

Paralleel aan de ontdekking van het bestaan van het hormoon prolactine bij de mens in 1970 en de herkenning van de door hyperprolactinaemie veroorzaakte menstruatiestoornissen en ongewenste kinderloosheid, had Flückiger het belang van de klassieke experimenten van Zeilmaker (7) over het remmend effect van sommige ergot alkaloiden op de prolactine secretie bij de rat herkend en een semisynthetisch ergot alkaloid bereid dat een sterk op dopamine gelijkende werking had zonder de nadelen en bijwerkingen van de natuurlijke ergot alkaloiden (8). Deze krachtige en langwerkende dopamine agonist, het bromocriptine, bleek hoge concentraties prolactine in het plasma te doen dalen en bij chronisch gebruik in de meeste gevallen te normaliseren. Na normalisatie van het plasma prolactine herstelde de menstruele cyclus en de normale ovulatie meestal binnen enkele weken en werden deze patientes die vaak vele jaren ongewenst kinderloos waren geweest, zwanger. De enorme stap voorwaarts van deze coincidentie van het herkennen van een nieuw hormoon, een daaraan gerelateerd ziektebeeld en de gelijktijdige introductie van een effectieve medicamenteuze behandeling wordt verder geïllustreerd door het

feit dat er bij de eerste 1400 in West-Europa geboren kinderen van tijdens bromocriptine behandeling zwanger geworden moeders géén verhoogd voorkomen van meerlingzwangerschappen is waargenomen en geen hoger aantal aangeboren afwijkingen bleken voor te komen.

Echter, er leek een schaduwzijde aan deze op het eerste gezicht zo eenvoudige en succesvolle behandeling. Bij de onbehandelde vrouw met een prolactinoom, hyperprolactinaemie en afwezige menstruaties, functioneren de eierstokken op een laag niveau, zodat de hypofysetumor niet is blootgesteld aan het stimulerend effect van oestrogenen. Door ingrijpen in het natuurlijke beloop van deze tumoren door een met bromocriptine opgewekte zwangerschap, worden deze tumoren nu blootgesteld aan grote hoeveelheden oestrogenen uit de placenta. Tijdens elke zwangerschap neemt de omvang van de normale hypofyse met 20 à 30% toe door groei van de prolactine-producerende cellen. Het bleek nu, dat sommige hypofyseadenomen tijdens de zwangerschap ook plotseling in omvang toenemen onder invloed van deze hoge concentraties oestrogenen en druk beginnen uit te oefenen op omliggende weefsels, zoals de vlak erboven verlopende gezichtszenuwen. Bij 14% van de röntgenologisch aantoonbare hypofysetumoren traden tijdens een met bromocriptine opgewekte zwangerschap complicaties door toename in de omvang van de tumor op (9-11). Gelukkig is de laatste jaren gebleken dat op dat moment opnieuw dankbaar gebruik gemaakt kan worden van een tweede periode van behandeling met bromocriptine. Naast een remmend effect op de secretie van prolactine, wordt tijdens behandeling met bromocriptine namelijk ook de aanmaak van het hormoon geremd. Hierdoor krijgen de hormoonproducerende cellen van deze tumoren een veel geringere omvang, waardoor de tumor schrompelt. Van deze eigenschap kon ook dankbaar gebruik worden gemaakt tijdens de genoemde complicaties in de zwangerschap (12), terwijl er opnieuw geen nadelige effecten van bromocriptine behandeling op de ongeboren foetus werden waargenomen.

Het natuurlijke beloop van het prolactinoom bij de mens is zeer wisselend (13). Waar het een tijdens het leven nooit opgemerkte toevalsbevinding kan zijn bij het postmortale onderzoek bij ongeveer 12% van de mensen, lijkt dat blootstelling aan oestrogenen in de vorm van een zwangerschap of gebruik van de pil een reeds in aanleg aanwezig prolactinoom kan activeren zodat klachten van menstruatiestoornissen, galactorrhoe en ongewenste kinderloosheid dan tot het stellen van de diagnose leiden. Langdurige behandeling met bromocriptine kan de klachten doen verdwijnen en de tumorgroei stoppen of zelfs een tijdelijk schrompelend effect op de tumor bewerkstelligen. Na het staken van de bromocriptine behandeling echter, valt de remming van de aanmaak en secretie van prolactine weg en neemt de tumor binnen dagen tot weken dezelfde grootte in als vóór de start van de behandeling (14).

Een veel angstwekkender presentatie van de prolactine-producerende hypofysetumor is die van het zogenaamde invasieve adenoom. Deze tumoren groeien snel en agressief dóór de omgevende weefsels heen. Hoewel ze zich gedragen als carcinomen worden invasieve adenomen niet als zodanig benoemd, omdat ze niet metastaseren. Naast de bekende gevolgen van hyperprolactinaemie (zoals galactorrhoe en afwezige menstruaties of impotentie) hebben deze patienten klachten door de uitval van de secretie van andere hypofysaire hormonen en door druk op de omgevende weefsels (gezichtsveldverlies tot blindheid toe, hoofdpijn, epilepsie en liquorcirculatiestoornissen). Het is bij dit type patienten soms mogelijk om met behandeling met bromocriptine een gunstig schrompelend effect op de tumorgrootte te verkrijgen maar het merendeel van deze patienten komt voor chirurgische behandeling in aanmerking. Door het introduceren van nieuwe chirurgische technieken, waarbij de hypofyse via een tunnel door de neus benaderd wordt, kunnen bij dit type patienten meestal grote delen van deze tumor verwijderd worden, waarna uitwendige hypofyse-bestra-

ling een eventuele aangroei in de toekomst voorkomt. Het is vooral aan deze transsfenoidale operatietechniek, in Rotterdam al zeer vroeg door De Lange geïntroduceerd, te danken dat de mortaliteit onder deze groep patiënten met invasieve hypofysetumoren vrijwel nihil is geworden.

Toch is het een nauwelijks te verteren zaak dat de ene categorie patiënten met prolactine-producerende hypofysetumoren zo vlot en succesvol medicamenteus kan worden behandeld, terwijl de groep patiënten met invasieve tumoren langdurig ernstige klachten en een hoge morbiditeit heeft, en het eindresultaat wat betreft de kwaliteit van het leven vaak teleurstellend is. Zoekend naar een nieuwe ingang in de medicamenteuze behandeling van dit type snelgroeiende invasieve prolactine-producerende hypofysetumoren stelde de groep van Peillon vast, dat er op de meeste prolactine-producerende hypofysetumoren van de mens receptoren voor oestrogenen aanwezig zijn (15). Hoe sneller groeiend en hoe agressiever de tumor zich gedraagt, hoe groter het aantal oestrogenereceptoren. Wij hebben, aanvankelijk dierexperimenteel, de consequenties van deze waarneming onderzocht bij ratten met transplanteerbare prolactine-producerende hypofysetumoren. Deze tumoren welke hoge aantallen oestrogenereceptoren bezitten, groeien zeer snel en gelijken in dit opzicht op de invasieve tumoren bij de mens. Enkele jaren geleden kwam voor de behandeling van vrouwen met uitzaaiingen van oestrogenereceptor positieve borstkanker een nieuw geneesmiddel ter beschikking, dat door blokkering van deze receptoren een verdere uitgroei van het kankergezwell (tijdelijk) remt. Dit zogenaamde anti-oestrogeen, tamoxifen, bleek de groei van de door ons onderzochte experimentele prolactine-producerende hypofysetumor bij de rat tot stilstand te kunnen brengen in doseringen welke vergelijkbaar zijn met die bij de mens aanbevolen (16). Vervolgens konden wij aantonen dat behandeling van patiënten met zeer snel groeiende invasieve prolactinomen met tamoxifen leidde tot een remming van de prolactine-

secretie, terwijl het remmend effect van bromocriptine werd versterkt (17). Hoewel nog niet geheel zeker, lijkt deze combinatie-therapie een remmend effect op de tumorgroei van enkele van onze patiënten te hebben, maar de behandelingstijd is nog te kort om met zekerheid een uitspraak te kunnen doen over de waarde van een gecombineerde behandeling van tamoxifen en bromocriptine boven die met bromocriptine alleen.

Een geheel nieuwe, en nog slechts dierexperimenteel onderzochte benadering is die, waarbij gebruik gemaakt wordt van de behandeling van prolactine-producerende tumordragende ratten met het catecholöestrogeen 2-hydroxy-oestron. Deze normaal in de hypofyse en de hypothalamus gevormde metaboliet van oestradiol, heeft ook een anti-oestrogene werking en heeft een remmend effect op de tumorgroei welke vergelijkbaar is met dat van tamoxifen (18).

Met behulp van het model van de transplanteerbare prolactine-producerende tumor bij de rat kunnen ook meer algemene principes uit de oncologie worden bestudeerd. Deze tumoren hebben, zoals gezegd, veel oestrogenereceptoren en de groei van de tumor is ook afhankelijk van de aanwezigheid van oestrogenen. Verwijdering van de eierstokken leidt tot stoppen van de groei van de tumor.

Reeds in 1971 isoleerden kort na elkaar Schally en Guillemin uit de hypothalami van honderdduizenden slachtdieren een nieuw peptide, bestaande uit 10 aminozuren, het LH-releasing hormoon, het LHRH. Dit peptide stimuleert en reguleert de afgifte van de zogenaamde gonadotrope hormonen uit de hypofyse, welke op hun beurt de activiteit van de eierstokken en testikels reguleren bij de voortplantingsfuncties. Door kleine wijzigingen in de structuurformule van dit LHRH werden lang en krachtiger werkende analoga gevormd, welke een paradoxaal remmend effect bleken te hebben op de hormonale activiteit van de eierstokken en testikels. Toediening van hoge doseringen van zo'n LHRH-analagon resulteert

dan ook in onderdrukking van de hormoonsecretie uit deze organen en daardoor ook van de ovulatie en de spermatogenese.

Toediening van één van deze LHRH-analoga aan ratten met een transplanteerbare prolactine-producerende hypofysetumor resulteerde in remming van de tumorgroei in een mate welke overeenkwam met de effecten van chirurgische verwijdering van de eierstokken (16). Deze "chemische" castratie met een LHRH-analagon heeft in de kliniek potentieel grote waarde bij de behandeling van patiënten met uitzaaiingen van kanker van de borstklier of van de prostaat. Het is dan ook te verwachten dat chirurgische castratie van patiënten met deze aandoeningen binnenkort tot het verleden zal behoren. Echter ook andere aandoeningen zoals hypersecretie van sommige mannelijke hormonen uit de eierstokken, welke overmatige haargroei bij de vrouw veroorzaken zullen mogelijk met deze nieuwe hypothalamische hormoon-analoga kunnen worden behandeld. Wij toonden recent aan dat de secretie van het mannelijk geslachtshormoon testosteron door gekweekte cellen van een eierstok tumor van een patiënte met zeer ernstige vermannelijking fraai kon worden geremd met behulp van een LHRH-analagon (19).

De meest ingrijpende toepassing van deze LHRH-analoga lijkt echter te liggen op het gebied van de voortplanting. Dagelijkse intranasale toediening van een LHRH-analagon door opsnuiven van de stof in vloeibare vorm leidde in voorlopige studies tot een betrouwbare onderdrukking van de ovulatie bij een grote groep vrouwen (20). Twee toedieningen van een LHRH-analagon na een onbeschermd coitus hadden een vergelijkbaar beschermend effect tegen zwangerschap als de zogenaamde morning-after pil (21). In een tijd waarin de oestrogenen-bevattende anticonceptie-pil steeds meer in een kwade reuk komt te staan door de vele bijwerkingen op lange termijn, lijkt zich een aantrekkelijk alternatief aan te dienen, dat theoretisch veiliger is. De dagelijkse snuif

of de morning-after snuif van een LHRH-analagon om anticonceptie te bewerkstelligen is ook aantrekkelijk, omdat de neus als reukorgaan een belangrijke rol speelt bij de normale sexualiteit.

Ik wil nog enkele andere voor de toekomst potentieel belangrijke toepassingen van de studie van de prolactine-secretie met u bespreken, namelijk: 1. de regulatie van de prolactine-secretie bij vrouwen met borstkanker, 2. de rol van de studie van de prolactine-secretie bij het ontwikkelen van nieuwe behandelingswijzen in de psychiatrie.

Ad 1. Borstkanker is de meest frequent voorkomende kwaadaardige aandoening bij de Nederlandse vrouw. De ontwikkeling en het functioneren van borstklierweefsel is in normale omstandigheden sterk afhankelijk van hormonen. Bij de muis en de rat is prolactine een essentiële en stimulerende factor bij het kwaadaardig worden van borstklierweefsel. Hyperprolactinaemie, door welke oorzaak ook, leidt vrijwel steeds tot het ontstaan van borstkanker bij deze dieren. Het is dan ook niet verwonderlijk dat men zich heeft afgevraagd in hoeverre prolactine ook bij de mens een rol zou kunnen spelen bij het ontstaan van borstkanker. De Nederlandse onderzoeker Kwa toonde reeds in 1974 aan dat er bij vele leden van families met een hoge frequentie van voorkomen van borstkanker een licht verhoogde plasma prolactine concentratie werd gevonden (22). De gemiddelde waarde van het plasma prolactine in zo'n groep op familie-anamnese geselecteerde patiënten was echter niet hoger dan bij een controle groep. Door de ontwikkeling van een eigen zeer gevoelig antiserum voor de radioimmunologische bepaling van prolactine en door de precisie van de bepaling binnen de normale waarden sterk op te voeren door elk monster in vijf verdunningen te bepalen, slaagde Kwa er in om aan te tonen dat een groep dochters van vrouwen

met borstkanker een duidelijk hoger plasma prolactine hadden dan controle personen (23). Deze verschillen waren het duidelijkst 's avonds om zeven uur in de luteale fase van de menstruele cyclus. De consequenties van dit buitengewoon fraaie onderzoek zijn nog niet getrokken. In een land als Nederland waar de migratie beperkt is en men patienten met betrekkelijk gemak langdurig kan vervolgen, zou een prospectief onderzoek naar het beloop van patienten met deze verhoogde avondpiek van het plasma prolactine en langdurige behandeling van een gedeelte van deze patientengroep met lage doseringen bromocriptine van onschatbare waarde kunnen zijn voor het verkrijgen van meer begrip over de ontstaanswijze van borstkanker bij de mens.

Ad 2. De rol van de studie van de prolactine-secretie bij het ontwikkelen van nieuwe behandelingswijzen in de psychiatrie.

Het nut van de studie van de prolactine-secretie bij psychiatrische patienten vóór en tijdens medicamenteuze therapie, is de veronderstelling dat de hoogte van het plasma prolactine een afspiegeling is van de activiteit van het dopaminergische systeem in de hersenen. Hoewel het, zoals hiervoor betoogd, zeer waarschijnlijk is dat de secretie van prolactine door de hypofysevoorkwab onder een direct remmende invloed van hypothalaam dopamine staat, impliceert dit niet vanzelfsprekend dat andere dopaminergische systemen in hogere hersendelen (zoals het nigro-striatale, het limbische en het mesocorticale systeem) zich geheel overeenkomstig gedragen. Toch zijn er wel een aantal argumenten voor de veronderstelling dat het volgen van de hoogte van de plasma prolactine concentratie tijdens behandeling als een soort "venster", belangrijke informatie geeft over de activiteit van deze hersendelen. Toediening van oplopende doseringen antipsychotische geneesmiddelen zoals de dopamine-receptor blokkerende stof haloperidol, leidt na 2 tot 4 uur tot maximale stimulering van de prolactine-secretie. Tijdens chronische toediening

lijkt er meestal een relatie tussen het antipsychotische effect en de hoogte van het plasma prolactine (24). Bij schizofrene patienten kon men tijdens chronische behandeling met antipsychotische geneesmiddelen (neuroleptica) op basis van het beloop van het plasma prolactine zowel het optreden van ongewenste bijwerkingen in het bewegingssysteem (tardieve dyskinesie), als ook de kans op het optreden van een nieuwe psychose na het stoppen van de behandeling voorspellen (25).

De meest dankbare toepassing van de studie van de prolactine-secretie op dit gebied, echter, is bij het uittesten van nieuwe antipsychotische geneesmiddelen, waar in het algemeen een zeer fraaie correlatie werd gevonden tussen de sterkte van de antipsychotische werking bij de mens en de graad van stimulatie van de prolactine-secretie (26). Studie van de effecten op de prolactine-secretie van de rat in vivo en in vitro lijkt ook informatie te kunnen verschaffen over het werkingsmechanisme van nieuwe klassen van antipsychotische stoffen. De ongetwijfeld meest opwindende en meest fundamentele ontdekking welke de laatste jaren in Nederland in het medisch wetenschappelijk onderzoek is gedaan, is het door de Wied en van Ree in Utrecht verrichte onderzoek dat resulteerde in de hypothese dat sommige normaal voorkomende afbraakproducten van het endogene morfine, het β -endorfine in de hersenen kunnen functioneren als een soort "endogeen" neurolepticum (27). Behandeling van nieuwe patienten met schizofrenie, vooral die met een paranoide psychose, met het brokstuk zonder opiaat-activiteit DT γ E (Des-Tyrosine- γ -Endorphine) en vooral met het nog vele malen sterkere DE γ E (Des-Enkephaline- γ -Endorphine) resulteerde bij een aantal patienten in een verbluffende en langaanhoudende verbetering van het ziektebeeld. Hoewel DT γ E en DE γ E zich in een aantal farmacologische opstellingen gedroegen als klassieke neuroleptica zoals haloperidol, leek de studie van de prolactine-secretie bij de rat ook hier informatie

over het werkingsmechanisme te kunnen geven. Voorbehandeling van normale ratten met DEyE maakte de prolactine secretie veel gevoeliger voor het remmende effect van de dopamine-agonist apomorfine (28). Dit suggereert dat DEyE mogelijk werkt via een presynaptische activatie van het dopaminergische systeem (29). Endogene en exogene neuroleptica lijken dus beide te functioneren via effecten op dopaminergische neuronen, maar via verschillende mechanismen.

De ziekte van Cushing is het ziektebeeld dat veroorzaakt wordt door overproductie van cortisol uit de bijnierschors doordat het hypofysaire ACTH het systeem overmatig stimuleert. Langdurige blootstelling van het lichaam aan hoge concentraties cortisol in het bloed heeft desastreuze gevolgen. Afgezien van een hoge spierafbraak met spierzwakte en botafbraak met osteoporose en rugpijnen, staan op de voorgrond psychische veranderingen resulterend in wisselende beelden variërend van depressie tot geïrriteerdheid, rusteloosheid en concentratiezwakte. Daarnaast ontstaan hoge bloeddruk, toegenomen thrombose-neiging, suikerziekte en verhoogde infectie-kansen. Ongeveer de helft van onze patiënten had in de tijd vóór dat de diagnose werd gesteld een echtscheiding doorgemaakt. Zonder behandeling sterft 50% van de patiënten binnen vijf jaar. Zeven procent van onze patiënten overleed vóórdat een adequate behandeling was ingesteld aan een geslaagde zelfmoordpoging, een hartinfarct, een hersenbloeding of een massale longembolie.

Al vanaf het moment dat deze ziekte in de dertiger jaren door Harvey Cushing als een entiteit herkend werd, is er veel onderzoek gedaan naar de oorzaak. Lang bleef het onduidelijk of we met een primair in de hypothalamus of in de hypofyse gelegen afwijking te maken hebben. Daardoor werden veel patiënten symptomatisch behandeld met een één- of dubbelzijdige bijnierextirpatie en/of bestraling van de hypofyse-hypothalamus-

streek. Het is de laatste jaren echter steeds duidelijker geworden dat vrijwel alle patiënten met de ziekte van Cushing kleine ACTH-secrenerende microadenomen van de hypofyse hebben, welke röntgenologisch meestal niet te herkennen zijn en dat deze microadenomen bij transsfenoidale operatie selectief vaak compleet verwijderd kunnen worden (30). Hierop verdwijnt bij veel patiënten het ziektebeeld, terwijl de hypothalamische en hypofysaire regulatie van de ACTH-secretie normaliseert. Deze gunstige resultaten leken ook bij de Rotterdamse patiënten op te treden. De Lange en Singh slaagden erin om bij alle 15 achtereenvolgende patiënten met de ziekte van Cushing in de overigens röntgenologisch meestal normale sella turcica in het door bloedingen vertroebelde operatieveld tumorweefsel te herkennen en meestal selectief te verwijderen. De ervaringen bij één van onze eerste patientes, echter, stemde tot nadenken. Tijdens operatie werd een fraai rond macroscopisch duidelijk te herkennen basofiel microadenoompje van 2 bij 3 mm gevonden, dat nogal stevig aan het omgevende "normale" weefsel vastzat. In dit omgevende weefsel dat door een wigexcisie werd verwijderd, bleek een flink stuk normale hypofyse achterkwab en een stukje normale voorkwab aanwezig. Echter, precies op de grens tussen beide kwabben werden een aantal kleine basofiele microadenomen en hyperplastische celhaarden gevonden. De operatie was weinig succesvol wat betreft het effect op de cortisol-secretie, het plasma ACTH-gehalte en het klinische beeld, en we moesten dan ook concluderen dat er bij deze patiente sprake was van multipole adenomateuze ACTH-producerende haarden, welke gelegen waren op de plaats waar men de hypofyse middenkwab zou verwachten (31).

In de voorliggende jaren hadden we gevonden dat ongeveer 40% van de patiënten met de ziekte van Cushing reageert op de toediening van de dopamine-agonist bromocriptine met een daling van de ACTH- en cortisol-secretie (32). Smelik en Tilders hadden in een reeks zeer fraaie stu-

dies in Amsterdam aangetoond, dat bij de rat de ACTH- en β -endorfine-secretie door de hypofyse middenkwab onder een tonisch remmende invloed staan van dopamine dat direct via zenuwvezels uit de hypothalamus naar de hypofyse middenkwab wordt vervoerd (33, 34). Voortbordurend op dit concept verrichtte de neuropatholoog Stefanko speciale zenuwkleuringen op het adenoomweefsel van bovengenoemde patiënte met multipole tumoren en hij vond zowel in de Bodian- als in de Grimelius-kleuring een fraai beeld van zenuwvezels die leken te eindigen op en rondom de adenoomcellen. Een verder onderzoek met deze zenuwweefsel-kleuringen op het bij transsfenoidale operatie verwijderde tumorweefsel van 15 achtereenvolgende patiënten met de ziekte van Cushing liet zien dat er in negen van deze adenomen geen sprake was van zenuwweefsel in het tumorweefsel, maar dat er wel zenuwvezels aanwezig waren in de tumoren van de zes andere patiënten. Bij nadere inspectie waren er bij drie van deze laatste groep van zes patiënten aanwijzingen voor een lokalisatie van het tumorweefsel in de hypofyse middenkwab. Het effect van de chirurgische verwijdering van tumorweefsel op het ziektebeeld en op de cortisol-secretie was zeer verschillend tussen beide groepen. Acht van de negen patiënten zonder zenuwweefsel in de tumor toonden een normalisatie van het klinische beeld en de cortisol-secretie na de operatie, terwijl dit slechts bij één van de zes patiënten uit de groep met middenkwabstumoren het geval was. Nadere analyse van de regulatie van de hormoonsecretie bij deze patiënten liet zien dat alleen de patiënten met de veronderstelde middenkwabstumoren reageerden met een daling van het plasma ACTH- en cortisolgehalte op bromocriptine, terwijl er bovendien bij drie van deze zes patiënten een verhoogd plasma prolactine-gehalte en/of galactorrhoe aanwezig waren.

Deze bevindingen brachten ons tot de theorie dat de ziekte van Cushing in feite een heteroog ziektebeeld is, waarbij de meeste pa-

tienten een microadenoom van de hypofyse voorkwab hebben dat bij operatie betrekkelijk eenvoudig kan worden verwijderd. Erna treedt een compleet herstel van het ziektebeeld en normalisatie van de regulatie van de ACTH-secretie op, hetgeen suggereert dat we hier mogelijk met een primair in de hypofyse gelegen oorzaak van de ziekte van Cushing te doen hebben. Ongeveer 40% van de patiënten lijkt echter (multipole) tumor-tjes of hyperplasieën te hebben, uitgaande van de hypofyse middenkwab. Hier is een "selectieve" transsfenoidale operatie veel minder succesvol. De ACTH-secretie is rembaar met de dopamine-agonist bromocriptine. Een primair hypothalamische oorzaak van dit ziektebeeld resulterend in een te lage dopaminergische activiteit wordt gesuggereerd door de multipole soms duidelijk hyperplastische ACTH-producerende cellen in de hypofyse middenkwab en door de hyperprolactinaemie bij sommige van deze patiënten (35). Zoals zo vaak in de geneeskunde was de hier door ons gedane observatie achteraf niet nieuw. Harvey Cushing had bij de door hem beschreven patiënten microadenomen in de hypofyse gevonden bij 6 van zijn 8 patiënten. Bij de sectie van één van deze patiënten, een 31-jarige man, merkte Cushing op: "the autopsy revealed a scarcely enlarged pituitary body. The pathologist emphatically denied the presence of a growth. Histologically, however, a small basophil adenoma was discovered, which had almost entirely replaced the posterior lobe" (36). Cushing schreef later (37): "The excessive invasion of the pars nervosa by the basophilic adenoma strongly suggests a dual source of the symptom-complex of "pituitary basophilism" as partly anterior hypophyseal and partly posterior hypophyseal. Re-examination of sections of the pituitary glands from the known victims of this disorder obtained from various sources suggested that especially in this case the tumor is an actual adenoma of the pars intermedia".

De ziekte van Cushing is een zeldzame ziekte bij de mens. Indien niet snel en afdoende behandeld, is de mortaliteit en morbiditeit bij dit type patienten hoog. Elke nieuwe verklaring voor de sterk wisselende resultaten van de tot nu toe toegepaste behandelingswijzen lijkt dus welkom. Van meer elementair belang echter lijkt de waarneming dat ook bij de mens kennelijk een hormoonsecernerende hypofysemiddenkwab bestaat, waarin zich zelfs tumoren kunnen vormen!

Swaab's groep in het Herseninstituut in Amsterdam heeft laten zien dat er bij de mens in twee fasen van het leven een duidelijk herkenbare hypofysemiddenkwab aanwezig is (38), nl.: tijdens het foetale leven, vooral vlak voor de geboorte en bij de normale zwangere vrouw. Eén van de door de middenkwab gesecernerde peptiden, het α -MSH zou een regulerende rol bij de foetale ontwikkeling spelen, maar waarschijnlijk wordt er vooral ook veel β -endorphine uit de middenkwab gesecerneerd. β -Endorphine, het endogeen morfine zou als "pijnstillers" een rol kunnen spelen bij het voor moeder en kind mogelijk maken om tijdens de uitdrijving de enorm pijnlijke passage van het kind door de bekkenuitgang verdraagbaar te maken. Toediening (intraspinaal) van synthetisch β -endorphi aan een aantal vrouwen vlak voor de bevalling resulteerde in langdurige pijnloosheid, terwijl de vrouwen met volkomen normale baarmoedercontracties actief konden meepersen tijdens het geboorteproces. De pasgeborenen hadden een normale ademhaling en er waren geen tekenen van nadelige bijwerkingen van de toediening van β -endorphine aan de moeder (39). Synthese van β -endorphine of van langwerkende analoga zal dus kunnen leiden tot een pijnloze bevalling zonder nadelige bijwerkingen voor moeder en kind.

Maar ook bij andere fysiologische processen zullen hypofysemiddenkwabspeptiden waarschijnlijk een rol blijken te spelen. Men kan denken aan de sterk vetmobiliserende effecten van het voorloper molecuul

β -lipotropine, de eetlustregulerende effecten van deze peptiden en de stimulerende eigenschappen van deze door een dopaminergisch remmende tonus gereguleerde hormonen op de aldosteron-secretie en de bloeddruk. Waarschijnlijk zal blijken dat een belangrijk deel van de hormonen uit de hypofysemiddenkwab wordt afgevoerd naar de hersenen. Bij behandeling van ratten met dopamine-receptor blokkerende stoffen als haloperidol, zagen wij een sterke toename van de hoeveelheid hormonen in de middenkwab, en het is goed mogelijk dat een gedeelte van de antipsychotische effecten van deze geneesmiddelen ook via dit effect worden bewerkstelligd.

Dames en heren, er is kennelijk een overeenkomst en een waarschijnlijke samenhang tussen de dopaminergische remmende besturing vanuit de hypothalamus van de prolactine-secretie door de hypofysevoorkwab en de secretie van hormonen als β -endorphine en ACTH door de middenkwab die op hun beurt de bijnierschors kunnen activeren tot de secretie van cortisol en aldosteron. U zag dat bij de zalm de prolactine-, aldosteron- en cortisol-secretie min of meer parallel werden geactiveerd met vele gunstige effecten ten aanzien van de acute aanpassing aan het veranderende milieu, maar op den duur ten koste van het leven door de vroegtijdige veroudering. Toekomstige studies bij de mens zullen mogelijk in verschillende levensfasen nog meer vergelijkbare parallele dopaminergische ontremmingen van de secretie van deze hormonen laten zien, welke een rol spelen bij de voortplanting, de reactie op stress, de regulatie van voedselopname en het ouder worden.

Ik liet u in deze openbare les iets zien van wat de snel evoluerende klinische en experimentele neuroendocrinologie anno 1982 te bieden heeft. Naast studies over het ontstaan van betrekkelijk zeldzame ziektebeelden als de ziekte van Cushing, wilde ik u tonen dat er een groot aantal nieuwe verworvenheden zijn, die medisch en maatschappelijk gezien

in de komende jaren in een veel breder verband ingrijpende veranderingen in ons dagelijks leven en de geneeskunde van alledag zullen brengen. Toepassingen van LHRH-analoga als anticonceptivum, maar misschien ook bij overmatige haargroei bij de vrouw en bij de behandeling van sommige kankerpatienten, nieuwe hormonale producten voor een pijnloze bevalling, een nadere analyse van de rol van prolactine in de sexuele activiteit, vooral van de oudere mens, de rol van een overmatige secretie van prolactine bij ongewenste kinderloosheid en de mechanismen van de antipsychotische werking van een aantal natuurlijk voorkomende peptiden die het aantal opnamedagen in onze psychiatrische ziekenhuizen waarschijnlijk belangrijk zullen kunnen terugdringen, maar vooral ook lijken te wijzen op biochemische defecten bij het ontstaan van schizofrenie, zij zullen alle het dagelijks beeld van de tachtiger jaren veranderen.

Ik heb u ook willen laten zien, dat deze toepassingen van de klinische en experimentele neuroendocrinologie dwars door de gehele geneeskunde heenlopen van de oncologie, neurologie, neurochirurgie en psychiatrie tot de urologie, gynaecologie, verloskunde en de huisartsgeneeskunde. Klinische neuroendocrinologie is dan ook zeker niet voorbehouden aan de internist, maar is alleen vruchtbaar om te bedrijven in samenwerking met de genoemde klinische disciplines. Dwarsverbanden, in de vorm van werkgroepen, zoals die in de biologische psychiatrie zullen hier zeer nuttig zijn.

Ik wil op deze dag drie mensen die centraal hebben gestaan in de aanloop tot mijn benoeming bedanken. In de eerste plaats Joke, mijn vrouw, die me steeds met grote opgewektheid en positieve instelling heeft gesteund en me ten koste van haar eigen ontplooiing (te)veel ruimte heeft gelaten. Vervolgens Jan Birkenhäger, mijn opleider, pro-

motor en vriend, met wie ik nog vele jaren hoop samen te werken en tenslotte Bob MacLeod, die er in Charlottesville in slaagde om mij begrip bij te brengen voor de experimentele neuroendocrinologie en die mij nog steeds elke zomer vol enthousiasme voor "nascholing" in zijn laboratorium ontvangt. Daarnaast wil ik bedanken al diegenen, met wie ik in de loop der jaren heb mogen samenwerken, met nadruk op de analisten, de biochemici, de secretaressen en de verpleegsters en mijn collegae van de afdeling Inwendige Geneeskundige III.

1. Lee A 1981 Atlantic Salmon. The "leaper" struggles to survive. National Geographic 106: 600-615
2. Ensor DM, Ball JN 1972 Prolactin and osmoregulation in fishes. Fed Proc 31: 1615-1623
3. Wexler BC 1976 Comparative aspects of hypoadrenocorticism and aging. In: Hypothalamus, pituitary and aging. AV Everitt, JA Burgess, editors. Charles C Thomas, Springfield 333-361
4. Burrow GN, Wortzman G, Rewcastle NB, Holgate RC, Kovacs K 1981 Microadenomas of the pituitary and abnormal sellar tomograms in an unselected autopsy series. N Engl J Med 304: 156-158
5. MacLeod RM 1976 Regulation of prolactin secretion. In: Frontiers in Neuroendocrinology. L Martini, WF Ganong, editors. Raven Press, New York 4: 169-194
6. Sherman BM, Schlechte J, Halmi NS, Chapler FK, Harris CE, Duello TM, van Gilder J, Granner DK 1980 Pathogenesis of prolactin-secreting pituitary adenomas. Lancet I: 1019-1021
7. Zeilmaker GH, Carlsen RA 1962 Experimental studies on the effect of ergocornine methanesulfonate on the lutetrophic function of the rat pituitary gland. Acta Endocrinol 41: 321-335
8. Flückiger E, del Pozo E 1978 Influence on the endocrine system. In: Ergot alkaloids and related compounds. Handbook of Experimental Pharmacology. B Berde, HO Schild, editors. Springer Verlag, Heidelberg 615-690
9. Lamberts SWJ, Seldenrath HJ, Kwa HG, Birkenhäger JC 1979 Transient bitemporal hemianopsia during pregnancy after treatment of galactorrhea-amenorrhea syndrome with bromocriptine. J Clin Endocr Metab 44: 180-184
10. Lamberts SWJ, Klijn JGM, de Lange SA, Singh R, Stefanko SZ, Birkenhäger JC 1979 The incidence of complications during pregnancy after treatment of hyperprolactinemia with bromocriptine in patients with radiologically evident pituitary tumors. Fertility and Sterility 31: 614-619

11. Gemzell C, Wang CF 1979 Outcome of pregnancy in women with pituitary adenomas. Fertility and Sterility 31: 363-372
12. Bergh T, Niliius SJ, Wide L 1978 Clinical course and outcome of pregnancies in amenorrhoeic women with hyperprolactinaemia and pituitary tumours. Brit Med J 1: 875-880
13. Kelleet J, Friesen HG 1979 Bromocriptine and pituitary disorders. Ann Int Med 90: 980-982
14. Thorner MO, Perryman RL, Rogol AD, Conway BP, MacLeod RM, Login JS, Morris JL 1981 Rapid changes of prolactinoma volume after withdrawal and reinstitution of bromocriptine. J Clin Endocr Metab 53: 480-483
15. Pichon M-F, Bresson D, Peillon F, Milgram E 1980 Estrogen receptors in human pituitary adenomas. J Clin Endocr Metab 51: 897-902
16. Lamberts SWJ, Uitterlinden P, Zuiderwijk JM, Bons EG, de Jong FH 1981 Effects of a LHRH analog and tamoxifen on the growth of an estrogen-induced prolactin-secreting rat pituitary tumor and its influence on pituitary gonadotropins. Endocrinology 108: 1878-1884
17. Lamberts SWJ, Verleun T, Oosterom R 1982 The effect of tamoxifen administration on prolactin release by invasive prolactin-secreting pituitary adenomas. Neuroendocrinology in druk.
18. Lamberts SWJ, Nagy I, Uitterlinden P, MacLeod RM 1982 The effect of catecholestrogens on the growth of prolactin-secreting pituitary tumors and normal prolactin synthesis in the rat. Endocrinology, in druk.
19. Lamberts SWJ, Timmers JM, Oosterom R, Verleun T, Rommerts FG, de Jong FH 1982 Testosterone secretion by cultured arrhenoblastoma cells: suppression by a LHRH-agonist. J Clin Endocr Metab, in druk.

20. Bergquist C, Nillius SJ, Wide L 1979 Intranasal gonadotropin-releasing hormone agonist as a contraceptive agent. *Lancet* 2: 215-216
21. Casper RF, Yen SSC 1979 Induction of luteolysis in the human with a long-acting analog of luteinizing hormone-releasing factor. *Science* 205: 408-410
22. Kwa HG, de Jong-Bakker M, Engelsman E, Cleton F 1974 Plasma prolactin in human breast cancer. *Lancet* 1: 433-436
23. Kwa HG, Cleton F, de Jong-Bakker M, Bulbrook RD, Hayward JL, Wang DY/1976 Plasma prolactin and its relationship to risk factors in human breast cancer. *Int J Cancer* 17: 441-447
24. Langer G, Sachar EJ, Halpern FS 1977 The prolactin response to neuroleptic-drugs, a test of dopaminergic blockade: neuroendocrine studies in normal men. *J Clin Endocr Metab* 45: 996-1002
25. Brown WA, Laughren T 1981 Low serum prolactin and early response following neuroleptic withdrawal. *Am J Psych* 138: 237-239
26. Langer G, Sachar EJ, Gruen PH, Halpern FS 1977 Human prolactin responses to neuroleptic drugs correlate with antischizophrenic potency. *Nature* 266: 639-640
27. de Wied D, Kovacs GL, Bohus B, van Ree JM, Greven HM 1978 Neuroleptic activity of the neuropeptide β -LPH₆₂₋₇₇ ((Des-Tyr¹)- γ -endorphin; DT γ E). *Eur J Pharm* 49: 427-437
28. Lamberts SWJ, de Quijada M, van Ree JM, de Wied D 1982 Non-opiate β -endorphin fragments and dopamine. The effect of γ -type endorphins on prolactin secretion in rats. *Aangeboden voor publicatie*.
29. van Ree JM, Innemee H, Louwerens JW, Kahn RS, de Wied D 1982 Non-opiate β -endorphin fragments and dopamine. The neuroleptic-like γ -endorphin fragments interfere with behavioral effects elicited by low doses of apomorphine. *Aangeboden voor publicatie*.

30. Tyrrell JB, Brooks RM, Fitzgerald PA, Cofoid PB, Forsham PH, Wilson CB 1978 Cushing's disease. Selective trans-sphenoidal resection of pituitary microadenomas. *N Engl J Med* 298: 753-758
31. Lamberts SWJ, Stefanko SZ, de Lange SA, Fermin H, van der Vijver JCM, Weber RFA, de Jong FH 1980 Failure of clinical remission after transsphenoidal removal of a microadenoma in a patient with Cushing's disease: multiple hyperplastic and adenomatous cell nests in surrounding pituitary tissue. *J Clin Endocr Metab* 50: 793-795
32. Lamberts SWJ, Klijn JGM, de Quijada M, Timmermans HAT, Uitterlinden P, de Jong FH, Birkenhäger JC 1980 The mechanism of the suppressive action of bromocriptine on ACTH secretion in patients with Cushing's disease and Nelson's syndrome. *J Clin Endocr Metab* 51: 307-311
33. Tilders FJH, Smelik PG 1978 Effect of hypothalamic lesions and drugs interfering with dopaminergic transmission on pituitary MSH content of rats. *Neuroendocrinology* 25: 275-290
34. Smelik PG, Tilders FJH 1979 Differential control of anterior lobe and intermediate lobe corticotropin secretion in rat. In: Interaction within the brain-pituitary-adrenocortical system. MT Jones, B Gillham, MF Dallman, S. Chattopadhyay, editors. Academic Press, London 29-41
35. Lamberts SWJ, de Lange SA, Stefanko SZ 1982 ACTH-secreting pituitary adenomas originate from the anterior or the intermediate lobe in Cushing's disease. Differences in the regulation of hormone secretion and consequences for surgical therapy. *J Clin Endocr Metab*, in druk.
36. Cushing H 1932 The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations. (Pituitary basophilism) *Bull Johns Hopkins Hosp* 50: 137-195

37. Cushing H 1934 Hyperactivation of the neurohypophysis as the pathological basis of eclampsia and other hypertensive states. Am J Path 10: 145-153
38. Visser M, Swaab DF 1977 α -MSH in the human pituitary. Front Hormone Res 4: 42-45
39. Oyama T, Matsuki A, Taneichi T, Ling N, Guillemin R 1980 β -Endorphin in obstetric analgesia. Am J Obstet Gynecol 137: 613-616