

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/37577> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Jansen, Steffy

Title: Pituitary hormone secretion in familial longevity : The Switchbox Study

Issue Date: 2016-02-03

Nederlandse samenvatting

INTRODUCTIE

Door de vooruitgang in de medische wetenschap is er een afname van kindersterfte en een afname van sterfte op middelbare leeftijd ten gevolge van hart- en vaatziekten. Hierdoor zijn er wereldwijd grote demografische veranderingen die worden gekenmerkt door een toename in de levensverwachting alsmede in het aandeel van ouderen(1). Hierdoor is het van belang om genetische, omgevings-gerelateerde en biologische mechanismen te bestuderen die ervoor kunnen zorgen dat mensen gezond en actief blijven tot in de tachtig, negentig of zelfs daarboven(2). Wij kunnen van deze gezonde ouderen leren hoe de levensverwachting in goede gezondheid verlengd kan worden.

Leiden Langleven studie

Een voorbeeld van een studie die de genetische, omgevings-gerelateerde en biologische mechanismen bestudeert is de Leiden Langleven studie (LLS)(2). Deze studie onderzoekt waardoor mensen gezond kunnen blijven tot op hoge leeftijd. In de LLS zijn tussen 2002 en 2006 421 Nederlandse families geïncludeerd. Van deze families moesten tenminste twee broers en/of zussen van een generatie in leven zijn, die minimaal 89 jaar oud in geval van mannen en 91 jaar in geval van vrouwen waren. De gezondheidsstatus maakte hierbij niet uit. Eerdere studies hebben aangetoond dat nakomelingen van deze negentig of honderdjarigen zelf ook een grotere kans hebben om langlevend te worden, hetgeen pleit voor een familiale component van menselijke langlevendheid(3). Om factoren die mogelijk gerelateerd zijn aan langlevendheid te vinden, werd aan de nakomelingen van deze langlevende broers en zussen gevraagd om ook aan de studie deel te nemen, tezamen met hun partners, die dienden als controlegroep. Deze nakomelingen en hun partners delen vaak al voor langere tijd hun leven en hebben daarom een vergelijkbare leefstijl, socio-economische status en achtergrond.

Switchbox studie

Het werk beschreven in dit proefschrift is uitgevoerd in het kader van het Europese project Switchbox, dat gecoördineerd wordt door Professor Barbara Demeneix van het 'Centre National de la Recherche Scientifique Paris, France'. In Switchbox hebben zes partners van vijf verschillende Europese landen de gezamenlijke hypothese getoetst dat gezondheid tot op hoge leeftijd behouden kan worden door een betere homeostase. Al in 1865 definieerde de Franse fysioloog Claude Bernard homeostase als de mogelijkheid van het lichaam om zich dynamisch aan te passen aan invloeden van buitenaf, zodat de condities in het lichaam binnen bepaalde grenzen blijven. Er zijn twee belangrijke systemen die zorgen voor het behoud van homeostase: ten eerste het centrale zenuwstelsel dat informatie doorgeeft door middel van elektrische signalen via neuronen en ten tweede hormonen die informatie doorgeven via chemische

signalen en receptoren. Dit proefschrift richt zich met name op de hypothalamus-hypofysaire-schildklier-as (schildklier-as) en de hypothalamus-hypofysaire-bijnier-as (bijnier-as).

Hormonen en langlevendheid

De schildklier-as speelt een belangrijke rol gedurende het hele leven en stuurt belangrijke processen in het lichaam aan zoals weefselontwikkeling en -vernieuwing, energiemetabolisme. Daarbij is bekend dat in modelorganismen de schildklierhormoonwaarden de snelheid van verouderen beïnvloeden(4). Er is een negatief verband gevonden tussen het schildklierhormoon thyroxine (T4) en de maximale leeftijd van kleine zoogdieren waaronder de cavia, naakte molrat en Damara molrat(5). In verschillende muizensoorten werd er een associaties gevonden tussen een laag T4 op jonge leeftijd en een stabiel T4 gedurende het leven en het hebben van een langer leven(4). Maar ook bij mensen zijn er associaties gevonden tussen schildklierhormonen en langlevendheid. Zo is er bijvoorbeeld binnen de LLS gevonden dat negentigjarigen uit de families met de laagste sterfte over het algemeen de hoogste waardes van het schildklierstimulerend hormoon hadden en de laagste waardes van de schildklierhormonen(6). In een andere studie bij honderdjarige Askenazische Joden en hun nakomelingen is gevonden dat zij ook hogere schildklierstimulerende hormoonwaardes hadden in vergelijking met een controlegroep(7).

De bijnier-as is van belang voor overleving en speelt een belangrijke rol bij allostase (stabiliteit door verandering). Hierdoor is het lichaam in staat om op fysiologische maar ook psychologische stressoren te reageren. Dagelijks staan wij bloot aan chronische en acute (vecht- of vluchtreactie) stress, waardoor er schade aan de stress-reactieve fysiologische systemen van ons lichaam kan ontstaan. Voorbeelden van deze systemen zijn het hart-en vaatstelsel en de glucose regulerende systemen. Schade hieraan kan op langere termijn negatieve gevolgen hebben voor onze gezondheid. Veranderingen in de bijnier-as worden geassocieerd met hoge bloeddruk, cognitieve stoornissen en andere negatieve metabole veranderingen. In een speciale soort rat (Brown Norway rat)(8) is gevonden dat een sneller herstel van de bijnier-as na een stressor is geassocieerd met een langer leven, terwijl een ander type rat (Wistar Kyoto rat), die sterker reageert op een stressor, een kortere levensduur heeft(9).

Hoofdbevindingen

In dit proefschrift is er gekeken naar de schildklier-as en de bijnier-as in familiäre langlevendheid door aspecten van deze assen te vergelijken tussen nakomelingen van langlevende families en een controlegroep. De 'functie' van de schildklier- en bijnier-as is onderzocht door het meten van een aantal hormonen. Daarnaast zijn de fysiologische processen (zoals hartslag en stofwisseling) die door deze hormonen gereguleerd worden, onder verschillende omstandigheden onderzocht.

Het doel van dit proefschrift was drieledig. In het eerste deel is de studieopzet van de Switchbox Leiden studie omschreven tezamen met de dataverzameling en de 24-uursbloedafnamemethode. In het tweede deel is de hypothalamus-hypofysaire-schildklier-as en in het derde deel is de hypothalamus-hypofysaire-bijnier-as in relatie met familiale langlevendheid onderzocht.

De hypothalamus-hypofysaire-schildklier-as en familiale langlevendheid

Hoewel er in eerdere onderzoeken aanwijzingen zijn gevonden voor veranderingen in de schildklier-as in relatie met familiale langlevendheid, waren de onderliggende mechanismen en de fysiologische effecten hiervan onbekend. In hoofdstuk 4 is gevonden dat familiale langlevendheid gekenmerkt wordt door een hogere secretie van het schildklierstimulerende hormoon (TSH). Echter, schildklierhormoonwaarden en de stofwisseling in rust waren niet verschillend. Er zijn vier mechanismen onderzocht die mogelijk kunnen bijdragen aan een verhoogde TSH secretie (figuur 1). Een van de onderliggende mechanismen is een verminderde bioactiviteit van TSH in de nakomelingen van langlevende families. Er is geen verschil in TSH bioactiviteit tussen beide groepen gevonden (figuur 1A). Een ander mogelijk mechanisme is een verminderde gevoeligheid van de thyrotrofe cellen in de hypofyse voor de negatieve regulatie van de schildklierhormonen. Deze hypothese is minder aannemelijk, omdat dan de schildklierhormoonwaarden juist hoger zouden moeten zijn. Daarbij was de regulariteit van de TSH secretie vergelijkbaar in beide groepen (figuur 1B). Dit betekent dat er een intacte schildklierhormoongemedieerde feedback is op de TRH en TSH secretie(10). Een andere mogelijke verklaring voor de verhoogde TSH secretie is een toegenomen schildklierhormoonverbruik in de perifere weefsels. Echter, deze hypothese was ook niet aannemelijk omdat de T3/reverseT3(rT3)-ratio, welke gecorreleerd is aan deiodinase 1 activiteit in de lever(11), vergelijkbaar was in beide groepen (figuur 1C). De meest waarschijnlijke oorzaak voor de verhoogde TSH-secretie is een verminderde gevoeligheid van de schildklier voor TSH. Figuur 1D geeft de verhouding weer tussen de totale secretie van fT4 over 24 uur en TSH. Deze is significant lager bij nakomelingen van langlevende families in vergelijking met hun partners. Dit wil zeggen dat er meer TSH nodig is voor dezelfde hoeveelheid fT4 over 24 uur. In hoofdstuk 5 werd de toegenomen TSH-secretie in meer detail bestudeerd. In dit hoofdstuk hebben we de secretie bestudeerd. Dit omvat korte terugkerende cycli (ultradiane secretie) en de secretie over 24 uur (circadiaanse ritme). Er werden geen verschillen gevonden tussen de nakomelingen van langlevende families en hun partners in het ultradiane of het circadiaanse ritme. Wel werd er gevonden dat de verhoogde totale TSH-secretie over 24 uur werd veroorzaakt door de basale (niet-pulsatieve) TSH-secretie. De secretie van TSH staat onder invloed van verschillende hormonen waarvan thyrotropin-releasing hormoon (TRH) het meest bekend is.

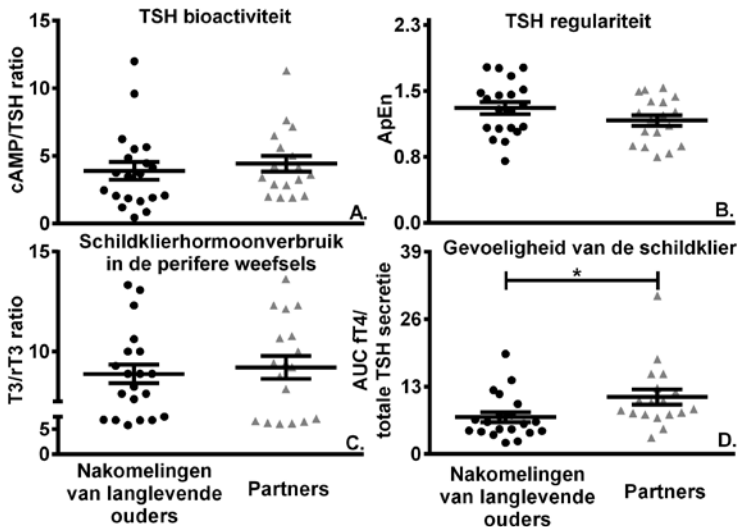


Figure 1 Vier mechanismen die mogelijk kunnen bijdragen aan een verhoogde TSH-secretie.

De zwarte bolletjes vertegenwoordigen 20 nakomelingen van langlevende families en de grijze driehoekjes zijn 18 partners. De zwarte lijn is het gemiddelde met de standaard fout van het gemiddelde van **A.** de TSH bioactiviteit, **B.** de TSH regulariteit, **C.** het schildklierhormoonverbruik in de perifere weefsels, **D.** de gevoeligheid van de schildklier.

TSH-secretie staat echter ook onder invloed van somatostatine, glucocorticoïden en dopamine, maar veranderingen in somatostatine en glucocorticoïden als onderliggend mechanisme voor verhoogde TSH-secretie zijn onwaarschijnlijk. Dit omdat er geen verschillen zijn gevonden in leptinewaarden, lichaamsgewicht, ACTH en cortisolwaarden tussen nakomelingen van langlevende families en hun partners (hoofdstuk 7).

Samenvattend resteren er drie mogelijke onderliggende mechanismen die kunnen zorgen voor een verhoogde TSH-secretie. Ten eerste zou een verminderde gevoeligheid van de schildklier voor TSH een verklaring kunnen zijn. Hierdoor is er meer TSH nodig om dezelfde hoeveelheid schildklierhormoon te krijgen. Ten tweede zou er centraal minder dopamine kunnen zijn. Ten slotte zou er sprake kunnen zijn van een combinatie van beide. Een van de hypothesen is dat de nakomelingen vanaf hun geboorte centraal minder dopamine hebben, waardoor TSH minder onderdrukt wordt en de TSH secretie hoger is. De verminderde gevoeligheid van de schildklier voor TSH zou hierop een reactie kunnen zijn om de schildklierhormoonwaarden binnen hun grenzen te houden en zo een normaal energie metabolisme te waarborgen

waardoor homeostase behouden blijft. Deze hypothese zullen we in de toekomst moeten testen om meer zekerheid te verkrijgen.

Er zijn verschillende verouderingstheorieën die het energie metabolisme aan het verouderingsproces relateren. Een voorbeeld daarvan is de 'rate of living theory' waarin een positieve correlatie wordt beschreven tussen de levensverwachting en de snelheid van de stofwisseling in rust bij verschillende diersoorten. Een ander voorbeeld, de 'free radical theory of ageing', stelt dat bijproducten van het zuurstof-metabolisme mogelijk ten grondslag liggen aan de negatieve correlatie tussen levensverwachting en de snelheid van de stofwisseling in rust. In hoofdstuk 4 en 5 werden geen verschillen in circulerende waarden van de schildklierhormonen (fT3, fT4, T3) gevonden tussen de nakomelingen van langlevende families en hun partners. In hoofdstuk 4 werden ook geen verschillen gevonden tussen deze groepen in energiemetabolisme in rust of in de centrale lichaamstemperatuur. Dit betekent dat verschillen in het energiemetabolisme hoogstwaarschijnlijk geen onderliggend mechanisme zijn voor gezond ouder worden. Echter, de schildklier-as is naast het energiemetabolisme ook betrokken bij groei en ontwikkeling. Gedurende het leven vervangt het lichaam beschadigde en oude volgroeide cellen voortdurend tijdens de normale weefselhomeostase en in reactie op stress of ten gevolge van schade. In de 'stem cell theory of ageing' wordt de afname van deze regenererende capaciteit van het weefsel als eigenschap van veroudering gezien. Dit proces is afhankelijk van de differentiatie van zichzelf hernieuwende weefsel-specifieke stamcellen. Recent is ontdekt dat er bij mensen sprake was van TSH-receptorexpressie op mesenchymale stamcellen. Daarbij is gevonden dat TSH kan zorgen voor gen-expressie van mediators die betrokken zijn bij differentiatie, ontwikkeling, behoud en zichzelf hernieuwende capaciteit van stamcellen. Als TSH een rol speelt in deze processen van (mesenchymale) stamcellen, kan een hypothese zijn dat een hoog TSH voorkomt dat er een tekort is aan weefsel-specifieke stamcellen en daarmee de weefselvernieuwing kan vertragen. Behalve mesenchymale stamcellen, wordt de TSH-receptor ook tot expressie gebracht op botcellen, bruin vetweefsel, skeletspieren en de hersenen. Wij denken dat pleiotrope effecten van de schildklier-as deze langlevende families beschermen door effecten van TSH op andere weefsels dan de schildklier en dat dit een belangrijke rol speelt in het behoud van gezondheid tot op hoge leeftijd.

De hypofysaire-bijnieras en familiale langlevendheid

In hoofdstuk 6 wordt een studie beschreven waarbij speekselcortisolmonsters zijn afgenomen bij 330 nakomelingen van langlevende families en hun partners. Deze monsters zijn in de ochtend door de deelnemers zelf in hun eigen thuissituatie afgenomen met behulp van een wattenstaafje. Met behulp van deze methode is de cortisol concentratie in de ochtend en in de avond gemeten. Verder is ook de terugkoppeling van de bijnier-as onderzocht door deelnemers voor het slapen gaan

0.5 mg dexamethason te laten innemen gevolgd door een nieuwe meting de volgende morgen. Er is gevonden dat de nakomelingen in vergelijking met hun partners in de ochtend in nuchtere conditie een lagere plasma cortisol concentratie hadden en lagere cortisolwaarden in de avond, maar we vonden geen verschillen in de gevoeligheid van de bijnier-as. Om dit in meer detail te bestuderen hebben we in hoofdstuk 7 gedurende 24 uur bij 38 deelnemers elke 10 minuten zowel cortisol als ACTH gemeten. Dit omdat alleen cortisol geen goede weerspiegeling is van de HPA-as functie. Met behulp van deconvolutie analyse zijn deze 24-uurs profielen in meer detail bestudeerd. Er werden geen significante verschillen gevonden tussen nakomelingen van langlevende families en hun partners in 24-uursconcentratie van ACTH en cortisol, al waren er wel enkele geslachtsafhankelijke verschillen. Verder waren er geen grote verschillen in de terugkoppeling en aansturing van ACTH en cortisol en de endogene ACTH-cortisol dosis-response curves. De resultaten gevonden in hoofdstuk 6 en hoofdstuk 7 lijken elkaar tegen te spreken. Een mogelijke verklaring voor de verschillen tussen de studies kan gezocht worden in verschillen in de in- en exclusiecriteria. Mogelijk hebben de strenge in- en exclusiecriteria die gebruikt zijn voor de 24-uursbloedafnamestudie geresulteerd in inclusie van zeer gezonde nakomelingen en partners. Een andere mogelijkheid is het verschil in studiesetting. In de studie beschreven in hoofdstuk 6 waren de deelnemers thuis, terwijl de deelnemers in de studie van hoofdstuk 7 in het LUMC verbleven. Een andere mogelijkheid is het verschil in materiaal en meetmethode. In hoofdstuk 6 werd cortisol in speeksel gemeten. Dit komt het meest overeen met vrij cortisol. In hoofdstuk 7 is echter serum cortisol gemeten wat meer overeenkomt met het totale cortisol. In rust is 70% van het cortisol gebonden aan corticosteroid bindend globuline (CB) en 20% is gebonden aan albumine en slechts 10% van het cortisol bevindt zich in vrije toestand(12). Het is mogelijk dat de verhouding tussen gebonden en vrij cortisol verschillend is tussen de groepen. Daarbij komt nog dat de groepsgrootte van de 24-uursstudie veel kleiner was dan die van de speekselcortisolstudie. Als gevolg hiervan is het dus mogelijk dat wij alleen grote verschillen konden vinden in de 24-uursstudie, zoals de 60% hogere TSH-secretie die we vonden in de nakomelingen-groep in hoofdstuk 4 en hoofdstuk 5.

Het is onwaarschijnlijk dat familiale langlevendheid wordt gekenmerkt door grote veranderingen in de bijnier-as activiteit in rust, al zijn er wel kleine geslachtsafhankelijke verschillen gevonden tussen de groepen. Omdat de verschillen in rust zo klein waren zijn de deelnemers in de studie beschreven in hoofdstuk 8 onderworpen aan de 'Trier Social Stress Test (TSST) om acute sociale stress te onderzoeken. De TSST is een gevalideerde stresstest om de stressreactie te onderzoeken van jong tot oud(13). In vergelijking met mannelijke controles hadden de mannelijke nakomelingen van langlevende families mogelijk een iets lagere fysiologische response op een psychologische stressor. Daarnaast waren de nakomelingen meer ontspannen in

aanloop naar het onderzoek toe. Echter, gedurende het stressonderzoek scoorden beide groepen gelijk ten aanzien van de subjectieve stresswaarneming. Cortisol heeft effect op 2 type receptoren welke beiden een andere functie hebben tijdens stress. De mineralocorticoid receptor (MR) is belangrijk voor de taxatie van een nieuwe situatie en belangrijk voor het begin van de stressreactie. De glucocorticoid receptor (GR) is alleen geactiveerd bij grote hoeveelheden corticosteroiden en is van belang bij het beëindigen van de stressreactie(14). Veranderingen in de MR kunnen leiden tot een positieve benadering van een stressor(15). Daarbij is bekend dat met verouderen de expressie van de MR receptor lager is wat zorgt voor meer secretie van ACTH. Wij vonden in hoofdstuk 7, dat vrouwelijke nakomelingen van langlevende families een niet significante trend hadden voor een hogere gemiddelde ACTH concentratie in vergelijking met vrouwelijke controles. In mannelijke nakomelingen van langlevende families vonden we een significant hogere basale ACTH secretie in vergelijking met mannelijke controles. Deze bevindingen zijn vergelijkbaar met de 'Brown Norway Rat', welke ook langlevend is. Deze rat wordt gekenmerkt door onveranderde corticosteron waarden met een versterkte ACTH secretie en een sneller herstel na stress(16, 17). Op basis van TSST bevindingen was er nog een verklaring voor de verschillen in hoofdstuk 6 en 7. In hoofdstuk 6, waar de deelnemers in de thuisituatie hun speekselmonsters zelf moesten afnemen is het mogelijk dat de partners zich meer zorgen maakten over de procedure dan de nakomelingen. In de studie in hoofdstuk 7 waren ze al in het ziekenhuis en waren ze gewend aan de nieuwe situatie.

We kunnen concluderen dat nakomelingen van langlevende families een iets lagere speekselcortisolwaarde hebben in de thuisituatie. Daarbij maken deze nakomelingen zich waarschijnlijk minder zorgen voorafgaand aan een stresssituatie en reageren ze met een lagere cortisolpiek wanneer ze daadwerkelijk met stress geconfronteerd worden. Mensen worden gedurende hun gehele leven herhaaldelijk bloot gesteld aan sociale stressoren (werk, privé, studie). Hierbij maken nakomelingen van langlevende families zich mogelijk minder zorgen voorafgaand aan dergelijke gebeurtenissen, waardoor ze een lager startpunt hebben van de fysiologische response op stress. Daarnaast hebben ze ook een lagere piek wanneer zij daadwerkelijk met stress geconfronteerd worden. Tezamen zorgt dit mogelijk voor minder schade door stress gedurende het leven.

Toekomstperspectieven

In dit proefschrift is gekeken naar homeostatische mechanismen en in het bijzonder de hypothalame-hypofysaire-schildklier en de bijnier-as. Er zijn verschillende inzichten verworven over gezond ouder worden. Allereerst is er gevonden dat nakomelingen van langlevende families een 60% hogere TSH-secretie hadden zonder veranderingen in de schildklierhormonen. Daarbij waren er geen verschillen in het energiemetabo-

lisme (stofwisseling in rust en centrale lichaamstemperatuur). Ten tweede hadden de nakomelingen een iets lager vrij speekselcortisol in de ochtend en avond. Echter, in rust zijn geen grote verschillen waargenomen in de regulatie van ACTH en cortisol over 24 uur. Echter, na stress hadden de nakomelingen van langlevende families een iets lagere cortisoloutput en maakten ze zich minder zorgen voorafgaand aan een stressvolle situatie. Deze resultaten laten zien dat er subtiele verschillen aanwezig zijn in de HPA-as tussen de groepen en ze onderschrijven het belang van de rol van experimenten die het lichaam 'uitdagen' om zo subtiele verschillen te vergroten.

Vervolgstudies moeten erop gericht zijn de mechanismen die mogelijk ten grondslag liggen aan de verhoogde TSH-secretie en lagere cortisoloutput gedurende stressexperimenten verder te ontrafelen. Een onderliggend mechanisme dat beide bevindingen mogelijk kan verklaren is een lager dopamine bij de nakomelingen. Toekomstige experimenten kunnen gericht zijn op het bestuderen van de dopamine release in relatie met familiale langlevendheid. Door prolactine te meten kan iets gezegd worden over de hoeveelheid dopamine, omdat prolactine hoofdzakelijk door dopamine wordt gereguleerd. Ook zullen toekomstige studies zich moeten richten op het stimuleren van de schildklier met recombinant TSH (thyrogen). Hiermee wordt de gevoeligheid van de schildklier voor TSH getest en kan de hypothese getoetst worden dat een verminderde gevoeligheid voor TSH ten grondslag ligt aan de verhoogde TSH-secretie. Daarnaast is het belangrijk om mogelijke extra-thyroidale effecten van TSH te bestuderen omdat dit kan resulteren in therapeutische opties. Verder zou het interessant zijn om te bestuderen welke mechanismen ten grondslag liggen aan de vragen waarom de nakomelingen van langlevende families zich minder druk maken voorafgaand aan een stressvolle situatie en waardoor ze een lagere cortisoloutput hebben gedurende een stressexperiment. Deze vragen zijn van belang voor onze hectische 24-uursmaatschappij.

REFERENTIES

1. **Abbott A.** Ageing: growing old gracefully. *Nature*. 2004;428(6979):116-8.
2. **Schoenmaker M, de Craen AJ, de Meijer PH, Beekman M, Blauw GJ, Slagboom PE, and Westendorp RG.** Evidence of genetic enrichment for exceptional survival using a family approach: the Leiden Longevity Study. *Eur J Hum Genet*. 2006;14(1):79-84.
3. **Westendorp RG, van Heemst D, Rozing MP, Frolich M, Mooijaart SP, Blauw GJ, Beekman M, Heijmans BT, de Craen AJ, Slagboom PE, and Leiden Longevity Study G.** Nonagenarian siblings and their offspring display lower risk of mortality and morbidity than sporadic nonagenarians: The Leiden Longevity Study. *J Am Geriatr Soc*. 2009;57(9):1634-7.
4. **Bowers J, Terrien J, Clerget-Froidevaux MS, Gothie JD, Rozing MP, Westendorp RG, van Heemst D, and Demeneix BA.** Thyroid hormone signaling and homeostasis during aging. *Endocr Rev*. 2013;34(4):556-89.
5. **Buffenstein R, and Pinto M.** Endocrine function in naturally long-living small mammals. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;299(1):101-11.
6. **Rozing MP, Houwing-Duistermaat JJ, Slagboom PE, Beekman M, Frolich M, de Craen AJ, Westendorp RG, and van Heemst D.** Familial longevity is associated with decreased thyroid function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(11):4979-84.
7. **Atzmon G, Barzilai N, Surks MI, and Gabriely I.** Genetic predisposition to elevated serum thyrotropin is associated with exceptional longevity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(12):4768-75.
8. **Mos J, and Hollander CF.** Analysis of survival data on aging rat cohorts: pitfalls and some practical considerations. *Mech Ageing Dev*. 1987;38(1):89-105.
9. **Tizabi Y, Aguilera G, and Gilad GM.** Age-related reduction in pituitary corticotropin-releasing hormone receptors in two rat strains. *Neurobiol Aging*. 1992;13(2):227-30.
10. **Roelfsema F, and Veldhuis JD.** Thyrotropin secretion patterns in health and disease. *Endocr Rev*. 2013;34(5):619-57.
11. **Peeters RP, Wouters PJ, van Toor H, Kaptein E, Visser TJ, and Van den Berghe G.** Serum 3,3',5'-triiodothyronine (rT3) and 3,5,3'-triiodothyronine/rT3 are prognostic markers in critically ill patients and are associated with postmortem tissue deiodinase activities. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(8):4559-65.
12. **Brien TG.** Human corticosteroid binding globulin. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1981;14(2):193-212.
13. **Kudielka BM, Buske-Kirschbaum A, Hellhammer DH, and Kirschbaum C.** HPA axis responses to laboratory psychosocial stress in healthy elderly adults, younger adults, and children: impact of age and gender. *Psychoneuroendocrinology*. 2004;29(1):83-98.
14. **de Kloet ER, Joels M, and Holsboer F.** Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6(6):463-75.
15. **Klok MD, Giltay EJ, Van der Does AJ, Geleijnse JM, Antypa N, Penninx BW, de Geus EJ, Willemsen G, Boomsma DI, van Leeuwen N, Zitman FG, de Kloet ER, and DeRijk RH.** A common and functional mineralocorticoid receptor haplotype enhances optimism and protects against depression in females. *Transl Psychiatry*. 2011;1(e62).
16. **Marissal-Arvy N, Lombes M, Petterson J, Moisan MP, and Mormede P.** Gain of function mutation in the mineralocorticoid receptor of the Brown Norway rat. *J Biol Chem*. 2004;279(38):39232-9.
17. **van Eekelen JA, Rots NY, Sutanto W, and de Kloet ER.** The effect of aging on stress responsiveness and central corticosteroid receptors in the brown Norway rat. *Neurobiol Aging*. 1992;13(1):159-70.

