

SEJTBIOLOGIAI SZEMLELETÜNK FEJLŐDÉSE — A HIPOFÍZIS KUTATÁSÁBAN*

GYÉVAI ANGÉLA, a biológiai tudományok doktora
és RAPPAY GYÖRGY, az orvostudományok doktora

Közlésre érkezett: 1982. XI. 11.

Miközben a *Harris*-féle portális ér — transzmitter hipotézis (1955) nyomán egyre több, a hormonválasztás szabályozását érintő — részben még ma is helytálló —, feltáró munka jelent meg, a sejtbiológia az endokrin szervek szintjén szinte egy helyben topogott. Ez a visszafogottság legfőképp annak volt köszönhető, hogy a korabeli sejtbiológiai eljárások még nem érték el a korszerű neuroendokrinológia által megkívánt színvonalat. A hipofízis különféle sejttypusairól például az első elfogadható elektronmikroszkópos felvételek csak 1954-ben készültek (*Farquhar* és *Rinehart* 1954), vagy a mellékvesekéreg sejtjeinek mitokondriumait és liposzómáit 1958-ban azonosították (*Belt* 1958), a neuroszekréciós neuronok elektronmikroszkópos feltárása még későbbi időre esik (vö.: *Bargmann* 1966). A hipofízis mellső lebeny parenchymális sejtjeinek „klasszikus”, *Severinghaus*-i (1937), nomenklatúráját, amely különös módon még ma is átszövi a kórbonctani diagnosztikát, csak 1965-ben vizsgálták felül (*van Oordt* 1965). A valódi funkcionális citológiai sejtazonosításra pedig csak akkor került sor, amikor a hormonkutatás immunológiai módszerekkel párosulva megnyitotta az utat az immuncitokémiai festési eljárások tudatos alkalmazása előtt (*Nakane* 1970).

Ebből a tömör összefoglalásból is kitűnik, hogy az endokrin sejtbiológia virágkorának kezdete a hatvanas évekre tehető, amikor különös előnyt szerzett a fejlődésben a máig legdinamikusabb sejtbiológiai metodológia: a sejt- és szövettenyésztés. Kiderült ugyanis, hogy a legtöbb endokrin szerv sejtjei nemcsak életben tarthatók, hanem differenciáltságuknak megfelelő fajlagos működésre is képesek mesterséges környezetben. A hormonkémiai eljárások egyidejű fejlődése pedig lehetővé tette a mesterséges környezetben életben tartott sejtek termékeinek — különféle hormonoknak — a mennyiségi meghatározását. Stark Ervin akadémikus vezetésével a hatvanas évek elejétől kezdve vizsgáltuk különféle endokrin szervek sejtjeinek morfológiáját, működését, mindkettő befolyásolhatóságát, lényegében sejtbiológiáját. Érdeklődésünk középpontjában leginkább a hipofízis mellső lebenyének kortikotróp sejtjei álltak.

* Stark Ervin akadémikus 60. születésnapja tiszteletére írt tanulmány.

Kutatásaink kezdeti szakaszában biztató eredményeket értünk el, annak ellenére, hogy a kortikotropok valódi természetéről szinte nem volt elfogadható információ az irodalomban. Elsőként sikerült bizonyítanunk (Stark és mtsai 1965a), hogy a második trimeszterből származó emberi magzati mellékvese tenyészetek saját hipofízisükkel együtt tenyésztve hosszú időn keresztül jelentős mennyiségű, a fajra jellemző, kéreghormont termelnek. Kimutattuk azt is, hogy a két magzati szerv sejtjei önmagukban is életképesek és tenyésztésben hosszú ideig fenntarthatók. A magzati mellékvese sejtek felnőttből származó adrenokortikotrop hormon (ACTH) hatására kortikoid termeléssel válaszolnak és a hipofízis sejtek *in vitro* környezetben ACTH-t vagy ACTH hatású anyagot adnak le a tápfolyadékba; spontán ACTH elválasztásukhoz hipotalamusz faktor nem szükséges. A korabeli felfogás szerint a magzati szervek sejtjeinek *in vitro* környezetben való fenntarthatósága nem volt meglepő, ismervén a magzati sejtek inherens növekedési kapacitását. Az azonban nem volt triviális megállapításunk, hogy az embrionális endokrin szervek tenyésztésben differenciálódásuk mértékének megfelelően hormontermelésre is képesek.

A tiszta formában vagy szintetikus előállított hipofízis hormonok felhasználásával termelt specifikus antitestek és a radioimmunoassay (RIA) megjelenése megtermékenyítő hatással volt az emberi magzati hipofízis tenyészetek egyéb hormontermelésének vizsgálatában is. Gailani és mtsai (1970) különféle korcsoportba tartozó emberi magzati hipofízis tenyészetek növekedési hormon (GH) termelését vizsgálták a tenyésztési idő függvényében. Megállapították, hogy a tenyészetek spontán GH termelése a tenyészidő előrehaladásával párhuzamosan csökken. Mi magunk (Rappay és mtsai 1974; Fazekas és mtsai 1976) hasonló megfigyelést tettünk, amikor a második trimeszterből származó emberi magzatok hipofíziseinek tenyészetekben vizsgáltuk a GH szekrécióját. A hormontermelő képesség csökkenése azért volt meglepő számunkra, mert elektronmikroszkópos vizsgálataink szerint szekréciós szemcsékben gazdag sejtek még két hónapnál idősebb tenyészetekben is megtalálhatók. Rothbard és mtsai (1973) abortumokból származó tenyésztett és nem tenyésztett hipofízisben mérték egyéb hormonok (gonadotrop hormonok [LH és FSH], thyreotrop hormon [TSH]) kibocsátását és szintén arra a következtetésre jutottak, hogy azok mennyisége a tenyésztési idő hosszúságának arányában fokozatosan csökken. Siler-Khodr és mtsai (1974) valamennyi hipofízis hormon RIA-mérésére kiterjedő tanulmányában a magzati hipofízis ACTH termelését is megmérte, igazolva azt, hogy az általunk már 1965-ben bioassay-vel kimutatott ACTH RIA-val is meghatározható. Tamura és mtsai (1973), Goodyear és mtsai (1977) igazolva az emberi magzati hipofízis tenyészetek hormontermelő képességét, azt is kimutatták, hogy szintetikus releasing hormonok (somatostatin, LH—RH és TRH) iránt a parenchyma sejtek érzékenyek.

A legutóbbi időben a magzati endokrinszervekből készült tenyészetek ismét renezánszukat élik. Ennek az a magyarázata, hogy az endokrinológusok, sejtbiológusok után az embriológusok is felfedezték a tenyészetekben rejlő lehetőségeket az emberi endokrin-rendszerek differenciálódásának tanulmányozására. Az emberi magzati hipofízisben az első immunreaktív kortikotropok a terhesség 7. hetében jelennek meg (saját, nem közölt adat, és *Dubois és mtsai* 1973). Számuk ekkor még kevés, immunreaktivitásuk gyenge. Az immunpozitív sejtek száma a terhességi idő előrehaladtával fokozatosan nő, az immunreaktivitás intenzitása fokozódik, ami az ACTH termelés növekedésére mutat. Ki is mutattuk (*Gyévai* 1980; *Gyévai és mtsai* 1981), hogy a 6–7 hetes magzatok hipofízis tenyészeinek tápfolyadékában immunreaktív ACTH mutatható ki, amelynek mennyisége a tenyészetek korával párhuzamos lassú növekedést mutat. Lényegesen nagyobb mérvű az ACTH alapszekrécioja 10–13 hetes magzatok hipofízisének tenyszeiben. Az a tény hogy a tenyészetek tápfolyadékában már akkor kimutatható az ACTH, mihelyt a hipofízisben az első immunreaktív sejtek megjelennek, arra mutat, hogy a spontán ACTH szekrécio sejtszinten végbemenő folyamat, amely specifikus szabályozó hormonokat nem igényel. Ezt alátámasztja az a tény is, hogy az első trimeszterből származó magzatok hipofízis tenyszeiben kortikoliberin (CRF) tartalmú hipotalamusz kivonat hatására a sejtek ACTH kibocsátása fokozódik, azaz az ACTH-t termelő sejtek saját tróphormonjuk iránti érzékenysége tenyészetben már akkor kimutatható, amikor ez a specifikus jel *in vivo* még nem hathatott. Különösen lényeges ez a körülmény a 6–7 hetes magzatokból származó tenyészetekre nézve. Az ilyen sejtek *in vivo* még biztosan nem kerültek kapcsolatba specifikus releasing hormonjukkal, hiszen ebben a magzati korban agyi struktúrákban CRF nem mutatható ki (*Gyévai és mtsai* 1982). Valószínű tehát, hogy a magzati hipofízis parenchyma sejtjeinek öndifferenciálódása nemcsak a sejtek finomszerkezetében és hormontermelésében bekövetkező változásokat foglalja magába, hanem a sejtek specifikus receptorainak kialakulására is vonatkozik.

Jóllehet a magzati hipofízis tenyészetek ACTH alapszekrécioja a tenyésztés időtartamával arányban csökken, nem változik a CRF-fel való stimulálhatóságuk és a stimulusra adott maximális hormonválasz időtartama sem. Ebből az a következtetés vonható, hogy *a*) a differenciálódott ACTH sejtek saját tróphormonjuk iránti érzékenységüket tenyészetben, a specifikus inger távollétében is, megőrzik, valamint *b*) a stimulus utáni hormonválasz ideje nem függ a tenyészetben eltöltött időtől és nem tér el lényegesen az *in vivo* maximális hormonválasz idejétől. Mindebből arra lehet gondolni, hogy a stimulált hormontermelésben szerepet játszó sejtteni folyamatok nem változnak meg az *in vitro* rendszerben.

Gordon Sato és munkacsoportja (*Hayashi és mtsai* 1978) közölte, hogy a tenyészetekben használt kémiaiilag definiált tápfolyadékok kiegészítésére

szolgáló szérum jelentősége főleg abban rejlik, hogy a szérum olyan biológiailag aktív anyagokat, közöttük hormonokat tartalmaz, amelyek a tenyésztett sejtek adaptációját és szaporodását biztosítják. A munkacsoport bebizonyította, hogy egy-egy sejt vonal növekedése szérummentes tápfolyadékban is fenntartható, ha a tápfolyadékot különféle hormonokkal és növekedési faktorokkal egészítik ki. Nincsen jelenleg adatunk arról, hogy a hipofízis sejtek túlélését szérummentes tápfolyadékban milyen hormonok biztosíthatnák. A mellékvese kéreghormonoknak tulajdonított visszajelentő szerep alapján azonban feltételezhető volt, hogy ezeknek a hormonoknak fontos szerepe lehet a hipofízis sejtek *in vitro* adaptációjában is. Elektronmikroszkóposan ki is mutattuk, hogy már az 50 ng/ml dexamethason folyamatos jelenléte javította a hipofízis sejtek *in vitro* adaptációját. Ugyanakkor változott a stimulált ACTH elválasztás is. A kis dózisban tartósan adott szintetikus kortikoid megnövelte az alap ACTH szintet, nagy dózisban adott dexamethason pedig az alapszekréció érintetlenül hagyása mellett gátolta a stimulált ACTH elválasztást. Ez a megfigyelés és egyéb leletek (Mains és Eipper 1981) arra engednek következtetni, hogy a spontán és a stimulált hormonszekréció mechanizmusa különbözhet egymástól.

Visszatekintve, elgondolkoztató, hogy a hatvanas években az embrionális endokrin szervek sejtjeinek *in vitro* adaptációjában elért sikerek alig adtak nagyobb ösztönzést a felnőttből származó minták egyidejű kutatására. Kezdeti lépések (Stark és mtsai 1965b; Fleischer és Rawls 1970) után igazi lendületet Vale és mtsai (1972) funkcionális adatai és Rappay és mtsai (1973) finomszerkezeti leíró munkái adtak, amikor is kiderült, hogy a felnőttből származó hipofízis mellső lebeny sejtek citológiai integritásukat megtartják és hormontermelésük fennmarad, meghatározott ideig, tenyésztési körülmények között is. Lényegében tehát nincsen különbség a magzati és a felnőtt korból származó parenchymális sejtek tenyészthetőségében és fenntartásában. A glikolízis, a pentóz-foszfát ciklus és a citrát kör működését jellemző és a hormontermelésben szerepet játszó egyes lizoszomális enzimek aktivitásának a tenyésztési időtartammal összefüggő változásaiból azonban arra lehetett következtetni (Rappay és mtsai 1979), hogy lényegesen megváltozik a sejtek anyagcseréje: a tenyésztési körülmények az anaerob glikolízis túlsúlyát eredményezik.

A hetvenes évek technikai színvonala már lehetővé tette a felnőtt patkány hipofíziséből származó monolayer tenyészetek kortikotrop sejtjeinek immunelektronmikroszkópos azonosítását (Bácsy és mtsai 1976). Kiderült, hogy az ACTH-t termelő sejtek hosszú tenyésztési periódus után is megőrzik az intakt hipofízisben megismert citológiai jellegzetességeiket. Sőt, immunológiai módszerek (citokémia és RIA) felhasználásával a kortikotropok növekedési dinamikájának feltárása is sikerrel járt (Rappay 1980). Megállapítottuk, hogy a kortikotropok kezdeti számcsökkenés után a tenyésztés első hetének végére ugyanolyan számban vannak jelen, mint az intakt hipofízisben. Az

ACTH extra- és intracelluláris koncentrációjának egyidejű méréséből bebizonyosodott, hogy a kortikotrópok száma összhangban van a tápfolyadékban mért ACTH kocentrációjával. A kvantitatív adatok összevetéséből pedig becsülni tudjuk egyetlen kortikotróp immunreaktív ACTH tartalmát, amely mintegy egynegyed pikogrammot tesz ki normális patkányból származó nyugalmi állapotú tenyészetekben.

A felnőtt állatból indított hipofízis monolayerek kortikotrópjai nemcsak spontán ACTH kibocsátására képesek, hanem fajlagos ingerekre válaszkészek, az embrionális anyagokhoz hasonlóan. A sejteknek ezt a tulajdonságát felhasználva, *Takeba* és *mtsai* (1975) nyomán kidolgoztunk egy érzékeny mikromódszert (*Kárteszi* és *mtsai* 1978), amely különféle forrásból származó CRF aktivitás (*Kárteszi* és *mtsai* 1981; *Makara* és *mtsai* 1981; *Makara* és *mtsai* 1982) meghatározása mellett többféle hipofízis hormon termelődésének szabályozáskutatásában is nagy haszonnal járt (*Antoni* és *mtsai* 1981; *Rappay* és *mtsai* 1981). Ami az ACTH elválasztás serkentését illeti, kiderült, hogy CRF tartalmú nyél-eminencia mediána (SME) kivonat hatására a tenyésztett sejtek ACTH elválasztása dózistól függő, a bioassay érzékenysége 0,06 SME ekvivalens, ami lehetővé teszi egyetlen SME preparátum CRF tartalmának több hígításban való pontos mérését. Még érzékenyebben reagálnak a tenyésztett kortikotrópok a legújabban előállított szintetikus CRF (*Vale* és *mtsai* 1981) adására is.

A kortikotrópok sejtbiológiájának mélyrehatóbb elemzését elősegítette az a technika, amely a potenciálisan osztódó, S-fázisban levő, immunreaktív sejtek azonosítására alkalmas (*Rappay* és *mtsai* 1977). Triciált timidinnel *in vivo* jelölt állatok hipofízis elülső lebenyében előfordulnak immunreaktív, DNS előanyagot sejtmagjukba beépíteni képes kortikotrópok (*Nakane* és *mtsai* 1977). Az ilyen állatok hipofíziséből indított sejttenyészetekben még nyolc nap tenyésztési idő után is megtalálhatók a kettősen jelölt ACTH-t termelő sejtek. Kísérletesen befolyásolt állatokban, pl. mellékvese eltávolítás után egy-két héttel növekszik a kortikotrópok részaránya a hipofízis elülső lebenyében (*Rappay* és *Makara* 1981). Négy vagy nyolc nappal a kiültetés után megmarad a kortikotrópok számbeli fölénye a mellékveseirtott állatok hipofíziséből indított sejttenyészetekben. A sejtek intracelluláris ACTH tartalma többszörösére növekszik az álműtött kontrollokéhoz viszonyítva a tápfolyadék ACTH szintje pedig aránytalanul nagyobb. A mellékvese eltávolítást követő hipofizeális kortikotróp számarány növekedés foka a hormontermelő kapacitás lényegesen nagyobb mértékével összevetve ellene szól annak a *Rodbard* (1973) által képviselt kvantális hipotézisnek, amely szerint az endokrin sejtek minden vagy semmi alapon működnek: hipofunkció esetén kevesebb sejt, hiperfunkció esetén az összes sejt működik az adott szervben, maximális mértékű hormontermeléssel. A mi adataink arra mutatnak, hogy tartós hiperfunkció esetén a sejtszám növekedés mellett a sejtek szekréciós kapacitás is megnőhet.

Anélkül, hogy teljességre törekedtünk volna, felvázoltuk a kortikotrópok sejtbiológiai vizsgálatára vonatkozó eddigi eredményeink lényegét. Szűkre szabott mondanivalónkból remélhetően kiviláglik, hogy a sejtbiológiai vizsgálmódszerek tudatosan ötvözött sokasága lényeges információk forrása. Különösen érvényes ez a hipofízis sejtek biológiájára és működésére, amelyet egyaránt befolyásolnak hipotalamikusan hipofizeotróp hormonok, transzmitterek és perifériás hormonok. Minthogy a hipofízis az aggyal a portális erek révén szoros összeköttetésben van, a hipofízis hormon szekréciójának sebessége dinamikusan változik és változtatható különféle kísérleti körülmények között. Gyakran nehéz vagy lehetetlen megállapítani, hogy az *in vivo* észlelt válaszok a hipofízisre gyakorolt direkt hatásoknak köszönhetőek-e vagy extrahipofizeális mechanizmusok közvetítésével valósulnak meg. A hipofizeotróp anyagoknak sejtenyészeten való tanulmányozása lehetőséget nyújt a válaszoknak az indirekt hatásoktól való elkülönítésében. E területen a tenyésztési rendszerek, amelyek technikailag egyszerűek, érzékenyek, pontosak, reprodukálhatóak és valóságok, nagy szolgálatot tettek és tesznek a jövőben is.

Összefoglalás

A szerzők áttekintést nyújtanak azokról a kutatási eredményeikről, amelyekben az egyik legdinamikusabb sejtbiológiai eljárást, a sejt- és szövetenyészést, használták fel a magzati és a felnőtt hipofízis kortikotróp sejtjeinek jellemzésére. A hatvanas évek elején eredeti megállapításuk volt, hogy egyes embrionális endokrin szervek tenyészetben differenciálódásuk mértéke szerint hormontermelésre képesek: a kortikotrópok ACTH-t, a mellékvese kéreg sejtjei pedig kortikoidokat képesek leadni a tápfolyadékba. A korai fejlődés folyamán a hipofízisben az első immunreaktív kortikotrópok megjelenésével egy időben hormonleadás is történik. Ehhez a fejlődés későbbi szakaszában megjelenő specifikus szabályozó hormonra (CRF) nincsen szükség. A sejtek öndifferenciálódása nemcsak a finomszerkezetükben és a hormontermelésükben bekövetkező változásokat foglalja magába, hanem specifikus receptoraik kialakulására is vonatkozik.

Lényegében nincsen különbség az embrionális és a felnőtt hipofízisből származó kortikotrópok tenyészthetőségében. A felnőttből származó sejtek tenyészetben nemcsak fenntarthatók, hanem megtartják specifikus jelek iránti érzékenységüket is. Osztódóképességük is bizonyítható. Találhatók olyan kísérleti körülmények, amelyekben a kortikotrópok — miközben citológiai integritásukat megtartják — nagyobb mértékű hormontermelésre képesek, mint a nem befolyásolt sejtek. Ebből azt a következtetést vonták le, hogy tartós hiperfunkció esetén a kortikotrópok működése nem követi a Rodbard által feltételezett „minden vagy semmi” elvet.

IRODALOM

- Antoni, F. A., Makara, G. B. és Rappay, Gy.: *Journal of Endocrinology* **91**, 415 (1981).
- Bargmann, W.: *International Review of Cytology* **19**, 183 (1966).
- Bácsy, E., Tougard, C., Tixier-Vidal, A., Marton, J. és Stark, E.: *Histochemistry* **50**, 161 (1976).
- Belt, W. D.: *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology* **4**, 337 (1958).
- Dobois, P., Vargeues-Regaourau, H. és Dubois, M. P.: *Zeitschrift für Zellforschung* **145**, 131 (1973).
- Farquhar, M. G. és Rinehart, J. F.: *Endocrinology* **54**, 516 (1954).
- Fazekas I., Rappay Gy., Bukulya B., Stark E. és Gács G.: *Biológia*, **29**, 19 (1976).
- Fleischer, N. és Rawls, W. E.: *American Journal of Physiology* **219**, 445 (1970).
- Gailani, S. D., Nussbaum, A., McDougall, W. J. és McLimans, W. F.: *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **134**, 27 (1970).
- Goodyer, C. G., Hall, C. S. T. G., Guyda, H., Robert, F. és Giroud, C. J. P.: *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **45**, 73 (1977).
- Gyévai, A.: *Acta Biologica Academiae Scientiarum Hungaricae* **31**, 107 (1980).
- Gyévai, A., Stark, E., Bukulya, B. és Ács, Zs.: *Advances in Physiological Sciences*, Vol. 14, *Endocrinology, Neuroendocrinology, Neuropeptides II*, Eds.: Stark, E., Makara, G. B., Halász, B., Rappay, Gy.: Pergamon Press—Akadémiai Kiadó Budapest, 95 (1981).
- Harris, G. W.: *Neural control of the pituitary gland*. Arnold, London (1955).
- Hayashi, I., Larner, J. és Sato, G.: *In Vitro* **14**, 23 (1978).
- Kárteszi M., Stark E., Makara G. B., Fazekas I. és Rappay Gy.: *Orvostudomány* **29**, 123 (1978).
- Kárteszi, M., Stark, E., Rappay, Gy., László, F. A. és Makara, G. B.: *American Journal of Physiology* **240** (Endocrinology and Metabolism 3), E689 (1981).
- Mains, R. E. és Eipper, B. A.: *Journal of Cell Biology* **89**, 21 (1981).
- Makara, G. B., Kárteszi, M., Kiss, J. Z., Palkovits, M., Rappay, Gy. és Stark, E.: *Neuropeptides* **2**, 287 (1982).
- Makara, G. B., Stark, E., Kárteszi, M., Palkovits, M. és Rappay, Gy.: *American Journal of Physiology* **240** (Endocrinology and Metabolism 3), E441 (1981).
- Nakane, P. K.: *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* **18**, 9 (1970).
- Nakane, P. K., Sétáló, G. és Mazurkiewicz, J. E.: *Annals of the New York Academy of Sciences* **297**, 201 (1977).
- van Oordt, P. G. W. J.: *General and Comparative Endocrinology* **5**, 131 (1965).
- Rappay, Gy.: *Acta Histochemica, Supplementum* **22**, 253 (1980).
- Rappay, Gy., Bácsy, E. és Fazekas, I.: *Histochemistry* **53**, 345 (1977).
- Rappay, Gy., Fazekas, I., Bukulya, B., Gyévai, A. és Stark, E.: *Acta Anatomica* **89**, 572 (1974).
- Rappay, Gy., Gyévai, A., Kondics, L. és Stark, E.: *In Vitro* **8**, 301 (1973).
- Rappay, Gy., Komolov, I. S., Fazekas, I., Bácsy, E., Gudoshnikov, V. I. és Fedotov, V. P.: *Acta Biologica Academiae Scientiarum Hungaricae* **32**, 137 (1981).
- Rappay, Gy. és Makara, G. B.: *Histochemistry* **73**, 131 (1981).
- Rappay, Gy., Nagy, I., Makara, G. B., Bácsy, E., Fazekas, I., Kárteszi, M. és Kurcz, M.: *In Vitro* **15**, 751 (1979).
- Rodbard, D.: In: *Receptors for Reproductive Hormones*. Ed.: O'Malley, B. W. Plenum Publ. Co., New York, 342 (1973).
- Rothbard, R. L., Sorrentino, S. és Schach, D. S.: *Texas Report on Biology and Medicine* **31**, 594 (1973).
- Severinghaus, A. E.: *Physiological Reviews* **17**, 556 (1937).
- Siler-Khodr, T. M., Morgenstern, L. L. és Greenwood, F. C.: *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **39**, 891 (1974).
- Stark, E., Gyévai, A., Szalay, K. és Ács, Zs.: *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* **43**, 1 (1965a).
- Stark, E., Gyévai, A., Szalay, K. és Pósalaky, Z.: *Journal of Endocrinology* **31**, 291 (1965b).
- Takabe, K., Yasuda, N. és Greer, M. A.: *Endocrinology* **97**, 1248 (1975).
- Tamura, T., Minaguchi, H. és Sakamoto, S.: *Endocrinologica Japonica* **20**, 545 (1973).
- Vale, W., Grant, G., Amoss, M., Blackwell, R. és Guillemain, R.: *Endocrinology* **91**, 562 (1972).
- Vale, W., Spiess, J., Rivier, C. és Rivier, J.: *Science* **213**, 1394 (1981).