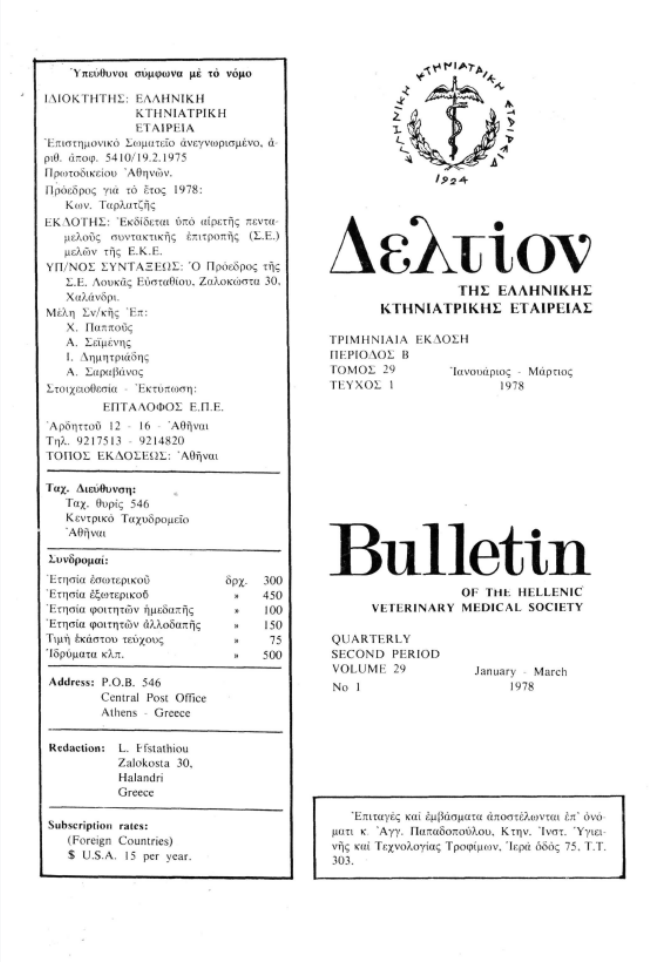
ePublishing

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ
NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

**Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**

Vol 29, No 1 (1978)



Υπεύθυνοι σύμφωνα με τὸ νόμο

ΙΔΙΟΚΤΗΤΗΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
Ἐπιστημονικὸ Σωματεῖο ἀνεγνωρισμένο, ἀριθ. ἀποφ. 5410/19.2.1975 Πρωτοδικείου Ἀθηνῶν.
Πρόεδρος γιὰ τὸ ἔτος 1978: Κων. Ταρλατζῆς
ΕΚΔΟΤΗΣ: Ἐκδίδεται ὑπὸ αἱρετῆς πενταμελοῦς συντακτικῆς ἐπιτροπῆς (Σ.Ε.) μελῶν τῆς Ε.Κ.Ε.
ΥΠ/ΝΟΣ ΣΥΝΤΑΞΕΩΣ: Ὁ Πρόεδρος τῆς Σ.Ε. Λουκᾶς Εὐσταθίου, Ζαλοκώστα 30, Χαλάνδρι.
Μέλη Συν/κῆς Ἐπ:
Χ. Παπποῦς
Α. Σᾶμένης
Ι. Δημητριάδης
Α. Σαρεβάνος
Στοιχειοθεσία - Ἐκτύπωση: ΕΠΤΑΛΟΦΟΣ Ε.Π.Ε.
Ἀρδηττοῦ 12 - 16 - Ἀθῆναι
Τηλ. 9217513 - 9214820
ΤΟΠΟΣ ΕΚΔΟΣΕΩΣ: Ἀθῆναι

Ταχ. Διεύθυνση:
Ταχ. θυρίς 546
Κεντρικὸ Ταχυδρομεῖο
Ἀθῆναι

Συνδρομαί:

| | | |
|---|---|---|
| Ἐτησία ἐσωτερικοῦ | δρχ. | 300 |
| Ἐτησία ἐξωτερικοῦ | » | 450 |
| Ἐτησία φοιτητῶν ἡμεδαπῆς | » | 100 |
| Ἐτησία φοιτητῶν ἀλλοδαπῆς | » | 150 |
| Τιμὴ ἑκάστου τεύχους | » | 75 |
| Ἰδρύματα κλπ. | » | 500 |

Address: P.O.B. 546
Central Post Office
Athens - Greece

Redaction: L. Efstathiou
Zalokosta 30,
Halandri
Greece

Subscription rates:
(Foreign Countries)
$ U.S.A. 15 per year.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ 1924

Δελτίον
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ
ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β
ΤΟΜΟΣ 29 Ἰανουάριος - Μάρτιος
ΤΕΥΧΟΣ 1 1978

Bulletin
OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY

QUARTERLY
SECOND PERIOD
VOLUME 29 January - March
No 1 1978

Ἐπιταγὲς καὶ ἐμβάσματα ἀποστέλλονται ἐπ' ὀνόματι κ. Ἀγγ. Παπαδοπούλου, Κτην. Ἰνστ. Ὑγιεινῆς καὶ Τεχνολογίας Τροφίμων, Ἱερὰ ὁδὸς 75, Τ.Τ. 303.

# Culture in vitro of human pituitary gland adenoma and study on the production of growth hormore

*Ε. ΣΤΟΦΟΡΟΣ, Μ. ΜΠΑΤΡΙΝΟΣ, Σ. ΠΙΤΟΥΛΗΣ, Ι. ΜΕΝΕΓΑΤΟΣ, Μ. ΜΑΣΤΡΟΓΙΑΝΝΗ, Α. ΖΩΛΟΥ, Ι. ΑΞΙΩΤΗΣ*

doi: 10.12681/jhvms.21330

Copyright © 2019, Ε. ΣΤΟΦΟΡΟΣ, Μ. ΜΠΑΤΡΙΝΟΣ, Σ. ΠΙΤΟΥΛΗΣ, Ι. ΜΕΝΕΓΑΤΟΣ, Μ. ΜΑΣΤΡΟΓΙΑΝΝΗ, Α. ΖΩΛΟΥ, Ι. ΑΞΙΩΤΗΣ

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

**To cite this article:**

ΣΤΟΦΟΡΟΣ Ε., ΜΠΑΤΡΙΝΟΣ Μ., ΠΙΤΟΥΛΗΣ Σ., ΜΕΝΕΓΑΤΟΣ Ι., ΜΑΣΤΡΟΓΙΑΝΝΗ Μ., ΖΩΛΟΥ Α., & ΑΞΙΩΤΗΣ Ι. (2019). Culture in vitro of human pituitary gland adenoma and study on the production of growth hormore. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *29*(1), 19–24. https://doi.org/10.12681/jhvms.21330

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 23/01/2026 20:46:42

ΔΕΛΤΙΟΝ ΤΗΣ ΕΛΛ. ΚΤΗΝ. ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ, 1978, Τ. 29, τ. 1

# ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΑΔΕΝΩΜΑΤΟΣ ΥΠΟΦΥΣΕΩΣ ΑΝΘΡΩΠΟΥ IN VITRO ΚΑΙ ΜΕΛΕΤΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

Ὑπὸ

ΣΤΟΦΟΡΟΥ Ε.*, ΜΠΑΤΡΙΝΟΥ Μ.*,** ΠΙΤΟΥΛΗ Σ.*,** ΜΕΝΕΓΑΤΟΥ Ι.*, ΜΑΣΤΡΟΓΙΑΝΝΗ Μ.*,** ΖΩΛΟΥ Α.*, ΑΞΙΩΤΗ, Ι.***

# CULTURE IN VITRO OF HUMAN PITUITARY GLAND ADENOMA AND STUDY ON THE PRODUCTION OF GROWTH HORMONE

By

STOFOROS E., BATRINOS M., PITOULIS S., MENEGATOS I., MASTROYIANNI M. ZOLOS A., AXIOTIS I.

SUMMARY

**The Authors present the result of a case of culture in vitro of Human Pituitary gland adenoma by the application of the organ and monolayer tissue culture. It is also presented that the above mentioned cells is possible to product growth hormone continiously up to a certain quantity (units).**

Ἐπειδὴ φρονοῦμεν ὅτι ἡ αὐξητικὴ ὁρμόνη θὰ διαδραματίση ἕναν ἀπὸ τοὺς βασικοὺς παράγοντας τῆς μελλοντικῆς Ζωοτεχνίας καὶ ἐπειδὴ εἶναι δύσκολος ἡ ἀπομόνωσις, ἡ τιτλοποίησις, ἡ μέτρησις καὶ ἡ συνεχὴς παραγωγή της, προέβημεν εἰς τὴν καλλιέργειαν IN VITRO ἀδενώματος ὑποφύσεως ἀνθρώπου (Hwang κ.ἄ. 1971).

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

**Τεμάχια ἀδενώματος:** Ταῦτα προήρχοντο ἐξ ἀδενώματος ὑποφύσεως ἀνθρώπου ἀφαιρεθέντος διὰ θεραπευτικοὺς σκοποὺς ἐξ ἀσθενοῦς εἰς τὸ Νοσοκομεῖον Ἁγ. Σάββας Ἀθηνῶν. Ἡ ἀσθενὴς παρουσίαζεν ὅλα τὰ χαρακτηριστικὰ γνωρίσματα τῆς μεγαλακρίας, ἡ δὲ νόσος εἶχε διαπιστωθεῖ καὶ ἐργαστηριακῶς.

---

* Ἐργαστήριον Ἀνατομίας καὶ Φυσιολογίας τῶν Ἀγροτικῶν Ζώων τῆς Ἀνωτάτης Γεωπονικῆς Σχολῆς Ἀθηνῶν.
Department of Anatomy and Physiology of Domestic Animals. Agriculture College of Athens.

** Ἐργαστήριον Πειραματικῆς Φαρμακολογίας τῆς Ἰατρικῆς Σχ. Ἀθηνῶν.
Experimental Pharmacology Laboratory. Medical School of Athens.

*** Ἐργαστήριον Ἰῶν τοῦ Ἰνσ. Λοιμωδῶν Νόσων τοῦ Ὑπ. Γεωργίας.
Veterinary Institute of Infectious and Parasitic Deseases. Virus Lab. Athens.

Ἐκ τῶν προεγχειρητικῶν μετρήσεων κατεδείχθη ὅτι ἡ αὐξητικὴ ὁρμόνη εὑρίσκετο εἰς ἐπίπεδα ἀδενώματος, ἐνῶ αἱ ὑπόλοιποι εἶχον τιμὰς φυσιολογικὰς ἢ ἠλαττωμένας.

Ἅμα τῇ ἀφαιρέσει τοῦ ἀδενώματος τὰ τεμάχια τούτου ἐτέθησαν ἐντὸς θρεπτικοῦ ὑλικοῦ Hank's (ρ.Η. 7,4) μετ' ἀντιβιοτικῶν ἄνευ ὁροῦ καὶ πάραυτα προσεκομίσθησαν εἰς τὸ Ἐργαστήριον Ἰῶν.

Τὰ τεμάχια μετὰ ἀπὸ ἐπανειλημμένας πλύσεις διὰ Hank's ἐτεμαχίσθησαν εἰς μικρότερα τοιαῦτα μήκους 1mm περίπου. Ὡρισμένα ἐξ αὐτῶν ἐτέθησαν αὐτούσια εἰς τριβλία Petri ὑπὸ ἐπώασιν εἰς κλίβανον μετ' ἀτμοσφαίρας $CO_2$ (10%). Ὡς ὑλικὸν ἀναπτύξεως ἐχρησιμοποιήθη τὸ Μ.Ε.Μ. μετὰ 10% ὁροῦ ἐμβρύου μόσχου. Ἡ ποσότης τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἦτο ἐλαχίστη, ἦτο δὲ τοιαύτη ὥστε νὰ μὴν καλύπτη παντελῶς τὰ τεμάχια, ἐπειδὴ δὲ - λόγῳ τῆς θερμοκρασίας τοῦ κλιβάνου - ἡ ποσότης αὕτη τοῦ ὑλικοῦ ἐξατμίζετο, προσετίθεντο ἀνὰ τρίωρον ὀλίγαι σταγόνες θρεπτικοῦ ὑλικοῦ, ἵνα τὰ τεμάχια διαβρέχονται συνεχῶς.

Τὰ ὑπόλοιπα τεμάχια ἐκαλλιεργήθησαν κατὰ τὴν μέθοδον τῶν (Dulbecco καὶ Vogt 1954) τροποποιηθείσης ὑπὸ τοῦ (Youngner 1954) εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα καὶ ἐτέθησαν εἰς φιάλας Kolle τοποθετηθείσας εἰς κλίβανον 37°C ἄνευ ἀτμοσφαίρας $CO_2$.

Ὡς θρεπτικὸν ὑλικὸν ἀναπτύξεως διὰ τὰ οὕτω παρασκευασθέντα κύτταρα ἐχρησιμοποιήθη τὸ ΜΕΜ (ὡς ἀνωτέρω) μετὰ 10% ὁροῦ μόσχου.

Δι' αὐτοῦ τοῦ τρόπου παρεσκευάσθησαν δύο τύποι κυτταροκαλλιεργειῶν ἤτοι τῶν τεμαχιδίων (Α) καὶ τῆς μονοκυτταρικῆς στιβάδος (Β).

Ἅπασαι αἱ ἀνωτέρω κυτταροκαλλιέργειαι παρηκολουθοῦντο μικροσκοπικῶς καθ' ἑκάστην.

Τὰ τεμαχίδια διετηρήθησαν περίπου ἐπὶ 15 ἡμέρας, ἀνὰ 4ήμερον τοὺς ἐγένετο ἀλλαγὴ τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ καὶ προσετίθετο νέον τοιοῦτον, τὸ ὁποῖον ὅμως ἐκάλυπτε πλέον παντελῶς τὰ τεμάχια. Ὡς κριτήριον ἀλλαγῆς τοῦ θρεπτικοῦ ὑλικοῦ ἦτο ἡ ἀλλαγὴ τοῦ ρ.Η. τοῦ ὑλικοῦ.

Κατὰ τὴν μικροσκοπικὴν ἐξέτασιν τούτων - ἥτις ἐγένετο δὶς τὴν ἡμέραν - παρετηρήθη ἔντονος πολλαπλασιασμός, πέριξ δὲ τῶν τεμαχιδίων ἀπὸ τὴν πρώτην ἡμέραν ἤρχισεν ἀναπτυσσόμενος ὁ ἱστὸς στηρίξεως ὑπὸ μορφὴν μεδούσης κατὰ δὲ τὴν δευτέραν ἡμέραν εἶχεν πλήρως καλυφθῇ ἡ ἐπιφάνεια τοῦ τριβλίου.

Τὰ κύτταρα ἐνεφάνιζον ἀτρακτοειδῆ μορφήν.

Μετὰ 15θήμερον παρακολούθησιν τῶν ἀνωτέρω κυττάρων, προέβημεν εἰς τὴν θρυψίνισιν τούτων, κατόπιν δὲ ἐπανειλημμένων πλύσεων των διὰ Hank's (ρ.Η 7,4) καὶ φυγοκεντρήσεως των ἐτέθησαν εἰς φιάλας Brockway εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα.

Μετὰ 5θήμερον ἐκάλυψαν πλήρως τὴν ἐπιφάνειαν τῶν φιαλῶν. Ἐν συνεχείᾳ τοὺς ἐγένοντο 2 εἰσέτι δίοδοι, ὡς θρεπτικὸν δὲ ὑλικὸν δι' ὅλας τὰς διόδους ἐχρησιμοποιήθη τὸ ΜΕΜ* μετὰ 10% ὁροῦ ἐμβρύου μόσχου.

Ὡς πρὸς τὰ κύτταρα τοῦ ἀδενώματος ἅτινα εἶχον ληφθῇ ἀπαρχῆς εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα, ἐγένοντο καὶ εἰς αὐτὰ 4 δίοδοι.

Κατὰ τὴν μικροσκοπικὴν ἐξέτασιν ἁπασῶν τῶν φιαλῶν τῶν περιεχουσῶν τὰ κύτταρα εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα, διεπιστώσαμεν τὴν ὕπαρξιν - πάντοτε μικροσκοπικῶς - τριῶν εἰδῶν κυττάρων διαφερόντων μεταξύ των. Γενικῶς τὰ κύτταρα ἦσαν στρογγυλὰ καὶ διαυγῆ. Ὡς πρὸς τὴν διαθλαστικότητα παρετηρήθη ὅτι ὡρισμένα ἐξ αὐτῶν ἦσαν φωτεινότερα τῶν ἄλλων, ἐπίσης παρετηρήθη ὅτι τὸ μέγεθος καὶ ἡ μορφὴ τῶν κυττάρων ἦτο διάφορος τῶν ἄλλων.

Ἅπασαι αἱ κυτταροκαλλιέργειαι διετηρήθησαν ζῶσαι ἐπὶ 33 ἡμέρας. Μετὰ ταῦτα καὶ κατὰ τὴν ἀπόπειραν 5ης διόδου ὑπέστησαν ἐργαστηριακὴν μόλυνσιν καὶ κατεστράφησαν.

Κατὰ τὴν περίοδον καθ' ἣν τὰ κύτταρα ἦσαν ζῶντα εἰς τὰς φιάλας, ὡρισμέναι ἐξ αὐτῶν ἐνωφθαλμίσθησαν δι' ἐκλυτικῶν παραγόντων ὑποθαλάμου ἐπίμυος. Οἱ ἐκλυτικοὶ οὗτοι παράγοντες (πεπτίδια) ἐλήφθησαν ὡς κατωτέρω:

Δοκιμαστικῶς καὶ ἐπειδὴ ἐστερούμεθα σωματοστατίνης ἐχρησιμοιήσαμεν ἐκχυλίσματα ὑποθαλαμικῶν περιοχῶν ἐπιμυῶν ἄρτι ἀποκεφαλισθέντων. Ταῦτα ἐτοποθετήθησαν εἰς ὁμογενοποιητικὸν σωλῆνα περιέχοντα HCL 2N. Οἱ ὑποθάλαμοι ἀφοῦ ὁμογενοποιήθησαν πλήρως ἐφυγοκεντρήθησαν ἐπὶ 20' εἰς τὰς 3.000 στροφὰς ἀνὰ λεπτόν. Ἐν συνεχείᾳ ἐλήφθη τὸ ὑπερκείμενον τὸ ὁποῖον ἐξουδετερώθη εἰς ρ.Η. 7,2, ἐξ αὐτοῦ ἐνωφθαλμίσθησαν ὡρισμέναι φιάλαι κυτταροκαλ-

---

* Minimum Eagle medium.

λιεργειῶν ὑποφύσεως καὶ διὰ ποσότητας 0,5 ml/ἀνὰ φιάλην. Καὶ ὄντος ἀπεδείχθη μείωσις παραγωγῆς τῆς αὐξητικῆς ὁρμόνης (3ον δεῖγμα).

Εἰς τακτὰ διαστήματα ἐλαμβάνετο ποσότης (2 ml) ἐξ ἑκάστης φιάλης ἐκ τοῦ ὑπερκειμένου ὑλικοῦ τῶν κυτταροκαλλιεργειῶν. Τὸ ὑλικὸ τοῦτο ἐτίθετο πάραυτα εἰς τοὺς -30°C καὶ ἀφοῦ συνεκεντρώθησαν ὅλα τὰ ὑλικὰ ἐξ ὅλων τῶν δειγματοληψιῶν ἐγένετο ἡ ἀνίχνευσις καὶ αἱ μετρήσεις τῆς αὐξητικῆς ὁρμόνης ὡς κατωτέρω.

Ἡ αὐξητικὴ ὁρμόνη ἐμετρήθη διὰ ραδιοανοσολογικῆς μεθόδου ἡ ὁποία χρησιμοποιεῖ σεσημασμένην δι' I - 125 ἀνθρώπειον αὐξητικὴν ὁρμόνην, εἰδικὸν ἀντίσωμα ἀντανθρωπείου αὐξητικῆς ὁρμόνης (HGH) καὶ δεύτερον ἀντίσωμα παρασκευασθὲν εἰς πρόβατον.

Ἡ Ἰωδίωσις τῆς αὐξητικῆς ὁρμόνης ἐγένετο διὰ τῆς μεθόδου τῆς Chloramin T, (Hunter - Greenwood 1964). Ἡ ἰωδιωθεῖσα ὁρμόνη καθαρίζεται χρωματογραφικῶς ἐπὶ στήλης Sephadex G 75.

Ὁ ραδιοανοσολογικὸς προσδιορισμὸς ἐγένετο ἐντὸς σωλήνων ἐκ πολυστερενίου εἰς τοὺς ὁποίους προσετέθησαν κατὰ σειρὰν 100ml ὑπερκειμένου ὑγροῦ τῶν καλλιεργειῶν ἀραιωθέντος διὰ ρυθμιστικοῦ διαλύματος 1:10, ἢ σειρᾶς ἀραιώσεως προτύπου HGH 100 ml ἀντισώματος εἰς ἀραίωσιν 1:120.000 καὶ 200ml ρυθμιστικοῦ διαλύματος μετ' ἀνάδευσιν καὶ ἐπώασιν ἐπὶ 6ωρον εἰς θερμοκρασίαν δωματίου, προστίθεται ποσότης σεσημασμένης ὁρμόνης (0,015 μ. $Cij^{125}$ 100 ml.).

Τὸ δεύτερον ἀντίσωμα, ὁρὸς προβάτου ἀντι-σφαιρίνης κονίκλου παρεσκευάσθη εἰς τὸ κτηνοτροφεῖον τῆς Α.Γ.Σ.Α. ὑπὸ τοῦ Ἐργαστηρίου Ἀνατομίας καὶ Φυσιολογίας τῶν Ἀγροτικῶν Ζώων τῆς ἀνωτέρω Σχολῆς τῇ συνεργασίᾳ τοῦ Ἐργαστηρίου Πειραματικῆς Φαρμακολογίας τῆς Ἰατρικῆς Σχολῆς τοῦ Πανεπιστημίου Ἀθηνῶν.

Ἐπακολουθεῖ ἐπώασις ἐπὶ 21 ὥρας εἰς θερμοκρασίαν δωματίου ὁπότε προστίθεται τὸ δεύτερον ἀντίσωμα παρουσία 1% ὁροῦ κονίκλου. Μετὰ ἐπώασιν 24 ὡρῶν εἰς θερμοκρασίαν δωματίου ἀποχωρίζεται διὰ φυγοκεντρήσεως ἡ συνδεδεμένη ἐπὶ τοῦ ἀντισώματος ραδιενεργὸς ὁρμόνη ἀπὸ τῆς ἐλευθέρας καὶ μετρᾶται ἡ ἀκτινοβολία των εἰς μετρητὴν γ ἀκτινοβολίας (Weel - type).

Τὸ εἰδικὸν ἀντί - HGH καὶ ἡ πρὸς ἰωδίωσιν HGH ἐχορηγήθησαν παρὰ τοῦ NIH (National Inst. of Health) ἡ δὲ πρότυπος ὁρμόνη παρὰ τοῦ MRC (Medical Research Council) τῆς Μ. Βρεττανίας.

Ἐγένοντο ἓξ (6) δειγματοληψίαι, τὰ δείγματα ἐλήφθησαν τὴν 3ην ἡμέραν καὶ τὴν 5ην ἡμέραν τῆς πρώτης διόδου τῶν κυττάρων, ἐνῶ τὰ ὑπόλοιπα δείγματα ἐλήφθησαν ἐκ μιᾶς ἑκάστης διόδου πλὴν τῆς 4ης κατὰ τὴν ὁποίαν δίοδον ἐλήφθησαν δύο δείγματα εἰς διάστημα 24 ὡρῶν.

Τὰ δείγματα ἐλαμβάνοντο μόνον ὅταν ὑπῆρχεν πλῆρες ταπήτιον εἰς τὰς φιάλας.

Κατὰ τὴν δευτέραν κυτταρικὴν δίοδον καὶ 24 ὥρας πρὸ τῆς λήψεως τοῦ τρίτου δείγματος ἐνωφθαλμίσθησαν αὗται διὰ τῶν ἐκλυτικῶν παραγόντων τοῦ ὑποθαλάμου ὡς ἀναφέρεται ἀνωτέρω.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αἱ τιμαὶ τῆς αὐξητικῆς ὁρμόνης αἵτινες εὑρέθησαν εἰς τὸ ὑπερκείμενον ὑλικὸν τῶν δύο τύπων κυτταροκαλλιεργειῶν εἶναι αἱ κάτωθι:

1ον Ὑλικὸν κυττάρων προερχομένον ἐκ τεμαχίων (Α).

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1ης διόδου | 1ον δεῖγμα | 23 | $\mu Ucm^3$ |
| 1ης διόδου | 2ον δεῖγμα | 19,5 | $\mu Ucm^3$ |
| 2ας διόδου | 3ον δεῖγμα | 11,5 | $\mu Ucm^3$ |
| 3ης διόδου | 4ον δεῖγμα | 18 | $\mu Ucm^3$ |
| 4ης διόδου | 5ον δεῖγμα | 24 | $\mu Ucm^3$ |
| 4ης διόδου | 6ον δεῖγμα | 21 | $\mu Ucm^3$ |

2ον Ὑλικὸν κυττάρων τεθέντων ἀπ' ἀρχῆς εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα.

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1ης διόδου | 1ον δεῖγμα | 20 | $\mu Ucm^3$ |
| 1ης διόδου | 2ον δεῖγμα | 18 | $\mu Ucm^3$ |
| 2ας διόδου | 3ον δεῖγμα | 16,5 | $\mu Ucm^3$ |
| 3ης διόδου | 4ον δεῖγμα | 25 | $\mu Ucm^3$ |
| 4ης διόδου | 5ον δεῖγμα | 25 | $\mu Ucm^3$ |
| 4ης διόδου | 6ον δεῖγμα | 8,8 | $\mu Ucm^3$ |

(Τὰ κύτταρα κατὰ τὴν ἡμέραν λήψεως τοῦ 6ου δείγματος ἦσαν μεμολυσμένα). Ἐγένετο ἐπίσης μέτρησις διὰ τυχὸν ὕπαρξιν αὐξητικῆς ὁρμόνης εἰς τὸ χρησιμοποιηθὲν εἰς τὰς κυτταροκαλλιεργείας θρεπτικὸν ὑλικόν, δεδομένου ὅτι τὸ ἀνωτέρω ὑλικὸν περιεῖχεν ὁρὸν μόσχου. Κατ' αὐτήν, διεπιστώθη ὅτι ἡ τιμὴ ἦτο μικροτέρα τοῦ 0.2 $\mu U/cm^3$.

## ΣΥΖΗΤΗΣΙΣ

Ἐκ τῶν ἀνωτέρω ἐκτεθέντων προέκυψεν ὅτι εἶναι δυνατὴ ἡ καλλιέργεια ἀδενώματος ὑποφύσεως ἀνθρώπου in vitro τόσον διὰ τῆς παρασκευῆς κυτταροκαλλιεργειῶν εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα, ὅσον καὶ διὰ τῆς μεθόδου τῶν τεμαχιδίων εἰς ἀτμοσφαίραν (κλιβάνου) $CO_2$.

Κατὰ τὸν χρόνον τῆς καλλιεργείας, διεπιστώθη ὅτι τὰ κύτταρα τοῦ ἀδενώματος δὲν ἀπόλλυνται τὴν ὁρμονοεκκριτικήν των ἰδιότητα. Ἐπίσης παρετηρήσαμεν ὅτι τὰ κύτταρα μετὰ τὴν δευτέραν δίοδον καὶ ἐντὸς 24 - 36 ὡρῶν δύνανται νὰ σχηματίζουν πλῆρες ταπήτιον ὅπερ ἀποδεικνύει, ἀφ' ἑνὸς μὲν τὸν ἔντονον πολλαπλασιασμὸν τῶν κυττάρων καὶ ἀφ' ἑτέρου ὅτι ταῦτα ἔχουσι τὴν δυνατότητα νὰ προσκολλῶνται εἰς τὸν πυθμένα τῶν φιαλῶν.

Παρ' ὅλον ὅτι ἀνεύρομεν μικροσκοπικῶς τρεῖς κατηγορίας κυττάρων εἰς τὰς ἱστοκαλλιεργείας, (ἀπὸ ἀπόψεως μεγέθους καὶ μορφολογίας), ἐν τούτοις δὲν ἀνεζητήσαμεν ἐὰν παράγουν τὰ κύτταρα ταῦτα ἄλλας ὁρμόνας. Καὶ τοῦτο διότι κατὰ τὴν ἐξαγωγὴν τοῦ ἀδενώματος ἐκ τῆς ἀσθενοῦς ὡρισμένα τεμάχια, ἐκτὸς ἐκείνων τὰ ὁποῖα ἐχρησιμοποιήθησαν ὑφ' ἡμῶν διὰ τὰς ἱστοκαλλιεργείας, ἐπωάσθησαν εἰς κλίβανον ἐπὶ 4ωρον εἰς Ringer (p.H. 7,6) καὶ εἰς τοὺς 37°C καὶ εἰς ἀτμοσφαίραν περιέχουσαν 95% O καὶ 5% $CO^2$.

Κατὰ τὰς γενομένας μετρήσεις μετὰ τὴν ἀνωτέρω ἐπώασιν τῶν τεμαχιδίων διεπιστώθη ὅτι τὰ κύτταρα τοῦ ἀδενώματος παρήγαγον μόνον αὐξητικὴν ὁρμόνην (Labhart 1974).

Αἱ ἀναζητηθεῖσαι ὁρμόναι FSH, LH, προλακτίνη καὶ TSH εἶχον τιμὰς κάτωθεν τῶν ὁρίων μετρήσεως διὰ τοῦ ραδιοανοσοβιολογικοῦ προσδιορισμοῦ (FSH, LH καὶ προλακτίνη εἶχον τιμὰς < 0,15 m.i.κ /ml, ἐνῶ διὰ τὴν TSH εὑρέθη τιμὴ < 0,15 μ.ι.κ./ml).

Ἐπίσης ἀποδεικνύεται - ἐκ τῶν ἡμετέρων εὑρημάτων - ὅτι ἡ παραγωγὴ τῆς αὐξητικῆς ὁρμόνης ὑπὸ κυττάρων ἀδενώματος ὑποφύσεως ἀνθρώπου - τε-

θέντα ἐν προκειμένῳ εἰς καλλιέργειαν in vitro - εἶναι αὐτόνομος καὶ δὲν ἐπηρεάζεται ὡς ἐπεσημάνθη καὶ in vivo (Lawrwence κ.ἄ. 1971. Cassano κ.ἄ. 1977) ὑπὸ τοῦ ὑποθαλάμου.

Αἱ χρησιμοποιηθεῖσαι κυτταροκαλλιέργειαι αἵτινες ἐνοφθαλμίσθησαν δι' ὑποθαλαμικῶν ἐκχυλισμάτων ἐπιμυῶν, ἐμείωσαν (3ον δεῖγμα) τὴν παραγωγὴν τῆς αὐξητικῆς ὁρμόνης καὶ δὴ μόνον εἰς αὐτὴν τὴν δίοδον. Εἶτα ἡ παραγωγὴ αὐξητικῆς ὁρμόνης ὑπὸ τῶν κυτταροκαλλιεργειῶν τῶν ἄλλων διόδων ἐπανῆλθεν περίπου εἰς τὰ ἀρχικὰ ἐπίπεδα.

Ἡ ἑρμηνεία τοῦ ἀνωτέρω φαινομένου δὲν εἶναι δυνατὴ συνεπείᾳ τοῦ μὴ καθορισμοῦ τῶν χρησιμοποιηθέντων ὑποθαλαμικῶν παραγόντων.

Ἐπίσης κατεδείχθη ὅτι αἱ τιμαὶ τῆς αὐξητικῆς ὁρμόνης δὲν παρουσίασαν σημαντικὰς διακυμάνσεις, ὅπερ ἀποδεικνύει ὅτι τὰ κύτταρα ταῦτα ἔχουν ὡρισμένην ἱκανότητα κορεσμοῦ.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Κατεδείχθη ὅτι:

1ον) Εἶναι δυνατὴ ἡ καλλιέργεια ἀδενώματος ὑποφύσεως ἀνθρώπου παράγοντος αὐξητικὴν ὁρμόνην in vitro καὶ ὅτι τὰ κύτταρα τούτου διατηροῦν τὴν λειτουργικήν των ἱκανότητα ὡς πρὸς τὴν παραγωγὴν αὐξητικῆς ὁρμόνης τουλάχιστον ἐπὶ 33 ἡμέρας (τόσον διήρκεσεν ἡ παρατήρησίς μας).

2ον) Ὅτι ταῦτα λειτουργοῦν ἀνεξάρτητα ἀπὸ τὴν ἐπίδρασιν τοῦ ἐκλυτικοῦ ὑποθαλαμικοῦ παράγοντος.

3ον) Ὅτι αἱ τιμαὶ τῆς αὐξητικῆς ὁρμόνης τῆς παραχθείσης εἰς κυτταροκαλλιεργείας, δὲν παρουσιάζουν σημαντικὰς διαφορὰς ἀπὸ δίοδον εἰς δίοδον.

4ον) Ὅτι τὰ κύτταρα ταῦτα ἔχουν μίαν ὡρισμένην ἱκανότητα παραγωγῆς (κορεσμοῦ).

5ον) Ὅτι ἐκ τῶν ἀποτελεσμάτων παρέχεται ἡ δυνατότης παραγωγῆς αὐξητικῆς ὁρμόνης μὲ μηδαμινὸν κόστος.

## ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ

Ἀναφέρονται τὰ ἀποτελέσματα καλλιεργείας in vitro ἀδενώματος ὑποφύσεως ἀνθρώπου τόσον διὰ τῆς μεθόδου τῶν τεμαχίων ὅσον καὶ διὰ τῆς μεθόδου εἰς μονοκυτταρικὴν στιβάδα.

Ὡσαύτως ἀναφέρονται ὅτι τὰ ἀνωτέρω κύτταρα δύνανται νὰ παράγουν συνεχῶς αὐξητικὴν ὁρμόνην καὶ ὅτι παρουσιάζουν ἱκανότητα κορεσμοῦ.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Cassano, C,. Andreani, D,. (1977): Trattato Italiano di Endocrinologia.
2. Dulbecco, R,. Vogt, M,.J : Exp Med. (1954), 99,167.
3. Hunter, W,M. Greenwood, F.C, : (1964) Biochem. J. 91.43.
4. Hwang, P,. Friesen, H. Hardy, J. Wilasky, D. (1971) Biosynthesis of

Human growth Hormone and prolactin by normal pituitary glands and pituitary adenomas, J. Endocr. 33.1.
5. Labhart, A,: (1974) Clinical Endocrinology. Therapy and Practice V. The adenohypophysis.
6. Lawrence. Pinsky, S.M., Goldfine, I.D. (1971). Conventional radiation. Therapy in acromegaly A. review and zeassessment. Arch. Inter. Med. 128.369.
7. Youngner, J,S,: (1954) Proc. Exp. Biol. and Med. 85.202.

**ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΑΙ**

Θερμῶς εὐχαριστοῦμεν τὸν Διευθυντὴν τῆς Νευροχειρουργικῆς Κλινικῆς τοῦ Νοσοκομείου Ἁγ. Σάββας Ἀθηνῶν Καθηγητὴν κ. Ι. Ταπτάν, διὰ τὴν παραχώρησιν εἰς ἡμᾶς τοῦ ἀφαιρεθέντος ἀδενώματος.