

Responses of Isolated Blood Vessels to Acetylcholine, Epinephrine, Norepinephrine, and Histamine¹

There is still a question as to the mechanism of the dilation of the coronary arteries by norepinephrine and epinephrine (GREGG²; SMITH, SYVERTON, and COXE³; HILTON and EICHHOLTZ⁴; BLAINE⁵). In an attempt to elucidate this mechanism an in vitro vessel technique was employed which previous studies (CARRIER et al.^{6,7}) have shown to be a sensitive indicator of vascular reactivity. The present paper is a report of these studies.

Methods. A total of 180 artery segments, 1 cm in length and 0.5 mm in diameter, were taken from the descending branches of the left coronary artery of the dog, from the dog's mesentery just adjacent to the intestine or spleen, and from the surface of skeletal muscles in the leg. The segments were cannulated by a No. 20 blunted and buffed syringe needle in situ, tied securely and removed from dogs anesthetized with 30 mg/kg sodium pentobarbital and given 5 mg/kg heparin intravenously. Upon removal the vessels were placed in whole, heparinized, oxygenated blood until used. The vessels were used within 30 min to 1 h of their removal from the animal.

The experiments consisted of perfusing the vessels under constant pressure (90 mm Hg) with either oxygenated whole dog's blood or oxygenated Tyrode's solution for 30 min followed by a perfusion of the test substance (in either blood or Tyrode's solution) for 5 min. Details of the method have been previously described (CARRIER et al.^{6,7}). Flow was measured continuously by means of a drop counter and resistance calculated for the vessels by

the relationship: $\text{resistance} = \frac{\text{pressure (mm Hg)}}{\text{flow (drops/min)}}$.

Change in resistance occurring during the 5 min perfusion with the test substance was used as a measure of the vessel's vasoconstriction or dilation in response to the test substance.

When a vessel is perfused by this method it relaxes for the first 15 or 20 min. At the end of this time it maintains a constant flow. However, at this point the vessel is still not fully dilated and can be used to assess qualitative vasoactive properties of substances.

To better evaluate the responses of the coronary arteries, mesenteric and femoral artery segments were also tested under the same conditions. Test substances used were epinephrine hydrochloride, norepinephrine bi-

tartrate, histamine acid phosphate and acetylcholine chloride. All concentrations given are in g/ml final concentration in the perfusate. Neostigmine bromide (10⁻⁶ g/ml) was added to all solutions containing acetylcholine.

Results and discussion. The responses obtained in these experiments to acetylcholine, epinephrine, norepinephrine and histamine are summarized in the Table. Responses are expressed as % change in resistance. Each substance was tested in Tyrode's solution and whole blood. There were quantitative differences in responses to the various substances when the perfusate was changed from blood to Tyrode's solution. There were also differences in response in the three different artery segments when they were subjected to the test substances. Acetylcholine caused a constriction in all three of the vessel types; however, the catechol amines caused a slight but significant dilation in the coronary vessels while causing a constriction in the other two. The results obtained with histamine were extremely variable and in many cases irreversible (DODD and DANIEL⁸). In over fifty various vessel segments no response at all was obtained with this substance.

These results are in agreement with those reported by others (SMITH, SYVERTON, and COXE³) for isolated vessel systems. The constriction in response to acetylcholine, though in partial agreement with the reports of others for in vitro systems (SMITH, SYVERTON, and COXE³; JELLIFFE⁹), is not the same as that obtained in vivo (vaso-depressor). This can possibly be explained on the relatively high concentration maintained in the perfusion system.

The catechol amines in these experiments caused responses similar to those reported by others for in vitro

¹ This work was completed in the Department of Physiology, University of Mississippi Medical Center, Jackson (Mississippi USA).
² D. E. GREGG, 'Aortic and Coronary Flow' in *Visceral Circulation* (Ed.: G. E. W. WOLSTENHOLME; Little Brown Co., Boston 1953), p. 139.
³ D. J. SMITH, J. T. SYVERTON, and J. W. COXE, *Circulation* 4, 890 (1951).
⁴ R. HILTON and F. EICHHOLTZ, *J. Physiol., Lond.* 59, 431 (1925).
⁵ R. M. BLAINE, *Circulation Res.* 6, 644 (1958).
⁶ O. CARRIER JR., J. R. WALKER, and A. C. GUYTON, *Am. J. Physiol.* 206, 961 (1964).
⁷ O. CARRIER JR., M. K. COWSERT, J. C. HANCOCK, and A. C. GUYTON, *Am. J. Physiol.* 207, 169 (1964).
⁸ W. A. DODD and E. E. DANIEL, *Circulation Res.* 8, 446 (1960).
⁹ R. W. JELLIFFE, *J. Pharmacol. exp. Therap.* 135, 349 (1962).

Percent change in resistance of isolated vessels in response to acetylcholine, epinephrine, norepinephrine and histamine

Vessels	10 ⁻⁵ in blood	10 ⁻⁸ in Tyrode's solution	10 ⁻⁵ in blood	10 ⁻⁸ in Tyrode's solution
	Epinephrine		Norepinephrine	
Femoral	+ 88.5 ± 4.8 (9)	+ 100.0 ± 12.6 (0)	+ 80.0 ± 7.0 (4)	+ 98.0 ± 31.0 (8)
Coronary	NR	- 10.0 ± 2.8 (3)	NR	- 6.0 ± 1.2 (6)
Mesenteric	+ 21.0 ± 4.6 (3)	+ 100.0 ± 22.0 (4)	+ 56.0 ± 8.3 (2)	+ 100.0 ± 25.0 (7)
	Acetylcholine		Histamine	
Femoral	+ 71.0 ± 12.0 (17)	+ 32.0 ± 10.0 (8)	- 13.0 ± 1.0 (2)	- 23.0 ± 5.4 (13)
Coronary	+ 10.0 ± 8.8 (6)	+ 9.0 ± 3.1 (9)	+ 100.0 ± 56.0 (4)	+ 2.0 ± 3.4 (21)
Mesenteric	+ 100.0 ± 30.1 (5)	+ 17.0 ± 5.3 (6)	- 5.0 ± 1.4 (2)	- 16.0 ± 8.2 (23)

* g/cm³ final concentration in perfusate. In brackets, number of vessels. -, decreased resistance to flow. +, increased resistance to flow. ±, values are standard error of the means.

systems (SMITH, SYVERTON, and COXE³; SMITH and COXE¹⁰; DODD and DANIEL⁸) and with those obtained in vivo, that is, a vasoconstriction in the femoral and mesenteric vessels and a vasodilatation in the coronary vessels. However, these experiments give evidence that the coronary vessels are dilated by a direct action of the two amines rather than by an indirect metabolic action as BLAINE⁵ concluded. The variability of the responses to histamine cannot be explained on the basis of the present evidence.

These results, when compared to those obtained previously (CARRIER et al.^{6,7}) with oxygen-lack and pH changes, show that the blood vessels in the various areas of the body respond to vital metabolic agents such as oxygen and hydrogen ions in much the same manner.

However, each is capable of displaying its own individual response to other exogenous stimuli.

Zusammenfassung. Acetylcholin verursachte in den Coronar-, Femoral- und Mesenterialarterien, Catecholamine in den Femoral- und Mesenterialgefäßen Konstriktionen, in den Coronargefäßen hingegen Dilatation.

O. CARRIER JR.

*Department of Pharmacology, University of Mississippi Medical Center, Jackson (Mississippi USA),
March 8, 1965.*

¹⁰ D. J. SMITH and J. W. COXE, *Am. J. Physiol.* 167, 732 (1951).

Zur Frage der Neubildung von Primordialfollikeln aus dem Keimepithel während der Geschlechtsreife im menschlichen Ovar

In den Lehr- und Handbüchern der Embryologie und Anatomie¹ wird übereinstimmend angegeben, dass die Bildung der Oogonien beim Menschen mit der Geburt oder spätestens zu Beginn des dritten Lebensjahres abgeschlossen ist. Eine spätere Neubildung von Oogonien aus dem Keimepithel des Ovariums soll nicht vorkommen. Dieser Lehrmeinung stehen die Ansichten verschiedener Autoren^{2,3} entgegen. Diese Forscher lassen entweder die Möglichkeit einer späteren Neubildung offen² oder bezeichnen diese Neubildung als die alleinige Quelle der während der Reproduktionsperiode zur Reife gelangenden, befruchtungsfähigen Eizellen³.

Bei experimentellen Untersuchungen, bei welchen die Wirkung von Östrogenen auf das Ovarium an verschiedenen Säugern geprüft wurde, konnte festgestellt werden, dass die durchschnittliche Zahl von Primordialfollikeln in den Ovarien der behandelten Tiere grösser ist als in denjenigen von gleichaltrigen nicht behandelten Kontrolltieren^{4,5}. Die histologische Untersuchung der Ovarien von Tieren, die mit Östrogenen behandelt worden waren, führte zum Schluss, dass eine Neubildung von Oogonien aus dem Keimepithel erfolgen müsse⁴. Auch bei juvenilen, nicht geschlechtsreifen weiblichen Ratten konnte die Vermehrung der Primordialfollikel unter der Einwirkung von Östrogenen gezeigt werden, wobei mit einer viel geringeren Hormondosierung der gleiche Effekt wie beim geschlechtsreifen Tier erzielt wurde⁵.

Unter der Einwirkung der Progestagene, welche in den Progestagen-Östrogen-Kombinationspräparaten enthalten sind, wird die gonadotrope Hormonproduktion der Hypophyse gehemmt^{6,7}. Damit liegt in bezug auf die Gonadotropinsekretion der Hypophyse ein Zustand vor, der mit dem einer juvenilen Hypophyse vergleichbar ist. Da in diesen Präparaten auch Östrogene vorhanden sind, dürfen wir erwarten, dass das Keimepithel wie beim juvenilen Ovar neue Oogonien bilden wird. Auf Grund dieser Überlegungen haben wir das Keimepithel der uns zur Verfügung stehenden Probenexzisionen von menschlichen Ovarien geschlechtsreifer Frauen, die mit solchen Progestagen-Östrogen-Kombinationen behandelt worden waren, eingehend mikroskopisch-anatomisch untersucht.

Untersuchungsmaterial. Für unsere Untersuchungen standen uns Probenexzisionen von insgesamt 10 Frauen im Alter von 18 bis 42 Jahren zur Verfügung. In verdankenswerter Weise erhielten wir von Herrn Dr. H. ERB⁷ (Geburtshilflich-gynäkologische Abteilung des Kantonsospitals Liestal fünf Exzysate (O 1–5) und weitere fünf (F1–5) von Frau Dr. M. MALL⁸ (Frauenspital, Basel). Das Material wurde sofort nach der Entnahme, die jeweils zwischen dem 21. bis 25. Zyklustag erfolgte, in CARNOYScher Flüssigkeit fixiert und in der für die Herstellung histologischer Präparate üblichen Weise in Paraffin eingebettet. Von den Blöcken wurden lückenlose Serien von 7µ Schnittdicke hergestellt. Die Schnitte wurden alternierend nach folgenden Methoden gefärbt: Azan, Silberimprägnation nach GÖMÖRI zur Darstellung der argyrophilen Fasern, PAS-Reaktion, Methylgrün-Pyronin und Glykogenreaktion nach BAUER.

Befunde. In allen untersuchten Ovarien finden sich stellenweise im Keimepithel Proliferationsherde, in denen das

¹ W. NAGEL, in K. VON BARDELEBEN, *Handbuch der Anatomie des Menschen* (Gustav Fischer, Jena 1896), Vol. 7/II/1. – W. WALDEYER, in O. HERTWIG, *Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere* (Gustav Fischer, Jena 1906), Vol. 1/1. – E. WITSCHI, *Development of Vertebrates* (W. B. Saunders Company, Philadelphia, London 1956). – D. STARCK, *Embryologie. Ein Lehrbuch auf allgemein biologischer Grundlage* (Georg Thieme, Stuttgart 1955). – M. WATZKA, in VON MÖLLENDORFF, *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen* (Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1957), Ergänzung zu Vol. VII/1.

² V. VON EBNER, in A. KOELLIKER, *Handbuch der Gewebelehre des Menschen* (Wilhelm Engelmann, Leipzig 1902), 6. umgearbeitete Aufl., Vol. 3.

³ H. M. EVANS und O. SWEZY, *Mem. Univ. Calif.* 9, 119 (1931).

⁴ W. BURKL, G. KELLER, H. LINDNER und K. SPRINGER, *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* 61, 37 (1955).

⁵ J. C. DE WIT, *Acta endocr., Copenh.* 12, 123 (1953). – S. CROESBUTH, F. J. A. PAESI und S. E. DE JONGH, *Acta endocr., Copenh.* 32, 399 (1959).

⁶ J. A. LORRAINE und E. T. BELL, *Lancet* 1963 ii, 902.

⁷ H. ERB und K. S. LUDWIG, *Exper.* 21, 159 (1965).

⁸ M. MALL-HAEFELI, K. S. LUDWIG, M. KELLER und S. CLOEREN, *Gynaecologia*, im Druck.