

mit dem Zeitrafferfilm nach 24stündiger Einwirkung von Adrenalin auf Fibroblastenkulturen festgehalten. Auch unsere Beobachtung war leider bereits zu Ende gewesen, als es zur Teilung der entstandenen Zellen gekommen ist. FALKE und RICHTER<sup>3</sup> hatten jedoch Gelegenheit, den Teilungsablauf einer dreikernigen Zelle in 3 normale Zellen mit dem Film festzuhalten. In jüngster Zeit haben OFTEBRO und WOLF<sup>4</sup> eine ganze Reihe von solchen Fällen analysiert und den verlängerten Mitoseablauf beschrieben. Diese ernsthaften Störungen der mitotischen Teilung scheinen daher für das weitere Zelleben nicht von so grosser Bedeutung zu sein, wie es auf den ersten Blick erscheint. Es wäre sehr interessant, die Chromosomenzahl dieser Zellen festzustellen. Leider ist dies weder in unserer Beobachtung noch in den zitierten Arbeiten gelungen.

*Summary.* The author describes the origin of 2 daughter cells of HeLa cellular line: one double nuclear and the

other single nuclear cell. Both cells originated by the mitotic division of the single nuclear mother cell without any artificial treatment. The observation is documented by the series of partial photographs of the time-lapse cine-film.

V. PŮŽA

*Institut für allgemeine Biologie der Medizinischen Fakultät der Karlsuniversität, Hradec Králové (Tschechoslowakei), 11. März 1968.*

<sup>3</sup> D. FALKE und I. E. RICHTER, Naturwissenschaften 46, 487 (1961).

<sup>4</sup> R. OFTEBRO und I. WOLF, Expl Cell Res. 48, 39 (1967).

## L'aorte de l'embryon de poulet: histogénèse, cultures organotypiques, stimulations expérimentales<sup>1</sup>

Dans 2 notes précédentes publiées dans cette revue<sup>2,3</sup>, nous avons communiqué les résultats d'études portant sur quelques artères de type musculaire et de type élastique, d'embryon de poulet explantées *in vitro*.

Les premières recherches nous ont démontré que les 2 types d'artères se comportent différemment lors de l'explantation, et que la réponse qu'elles donnent à certaines stimulations (présence de 1 ou 2 corps étrangers dans la lumière) est également différente. Ces résultats nous ont incité à poursuivre l'étude des vaisseaux sanguins de l'embryon de poulet sur une artère qui, par sa structure, n'est pas comme les autres: l'aorte en effet est de type élastique dans sa moitié crâniale, de type musculaire dans la partie caudale.

On a suivi les étapes morphogénétiques du vaisseau sur une vingtaine d'embryons, dont l'âge varie entre 45 h et 21 jours, et sur 3 poussins de 3, 10 et 30 jours. Le prélèvement de l'aorte par dissection, chez les embryons plus jeunes de 10 jours, n'est pas aisné et on risque souvent d'abîmer la paroi; jusqu'à cet âge, l'aorte a été étudiée sur des embryons entiers coupés en séries. A partir du 12<sup>e</sup> jour, on a prélevé l'aorte des embryons et on l'a divisée ensuite en 3-4 fragments, pour chacun desquels on a fait des coupes microscopiques à différents niveaux. En opérant de la sorte, même l'aorte des embryons plus âgés a été observée sur des coupes sériées sur toute sa longueur. Les coupes ont été colorées avec les méthodes histologiques habituelles et avec les techniques pour la mise en évidence du collagène et du matériel élastique.

Le microscope nous a montré les faits suivants: chez des embryons de 2-3 jours, la paroi aortique est formée seulement par une lame endothéliale. Dès le 4<sup>e</sup> jour, le tissu mésenchymatique environnant se condense autour de l'endothélium, un peu plus tôt et un peu plus abondamment, il s'organise au niveau de la moitié caudale du vaisseau. Le mésenchyme péri-endothélial augmente parallèlement au développement de l'embryon et, vers le 7<sup>e</sup> jour déjà, les 2 parties de l'aorte présentent une morphologie quelque peu différente qui va s'accentuer par la suite: les éléments mésenchymatiques de la moitié caudale se différencient et acquièrent peu à peu les caractères d'éléments musculaires; dans la moitié crâniale, la différenciation musculaire est plus tardive. Des fibres élastiques minces apparaissent dans l'aorte vers le 8<sup>e</sup> jour; elles augmentent d'une manière importante au niveau de

la toute première partie de la paroi, sensiblement moins dans les segments thoracique et abdominal. Au 12<sup>e</sup> jour, la morphologie définitive est acquise et elle se maintiendra jusqu'à l'élosion et aussi après la naissance. Dans la moitié crâniale, un nombre considérable de lames élastiques occupent l'épaisseur de la media; entre elles se trouvent de nombreuses cellules conjonctives d'aspect juvénile, une substance fondamentale acqueuse peu colorable, quelques fibrilles collagénées. En descendant vers le segment caudal, la structure se modifie; le changement de la morphologie est graduel et peut être localisé topographiquement environ au point de départ de l'artère mésentérique. Au-dessous de celle-ci, l'épaisseur de la paroi se réduit de la moitié environ, les fibres élastiques sont beaucoup moins nombreuses, plus minces, plus rares. L'aspect de la media est à mi-chemin entre celui d'une artère élastique et d'une artère musculaire; il est superposable à celui de la media des artères musculaires de l'homme en âge avancé (matériel élastique assez abondant caractérisant la sénescence physiologique). Après le 12<sup>e</sup> jour, la morphologie ne varie plus; seule la quantité des différents composants morphologiques de la paroi augmente: la moitié crâniale se caractérise surtout par une lumière relativement étroite et une paroi très épaisse; la moitié caudale est marquée par une lumière relativement grande, une paroi mince et peu consistante comportant un nombre assez important d'éléments musculaires et quelques fibres élastiques épaisses.

D'après les données morphologiques sus-décrivées, il ressort que l'aorte de l'embryon du poulet et aussi du poussin n'a ni entièrement la morphologie, ni évidemment la fonction d'un véritable «canal élastique», tel qu'il existe habituellement tout le long de l'aorte chez les autres vertébrés; la fonction de canal élastique est remplie, chez le poulet, seulement par la toute première portion du vaisseau.

Le segment crânial élastique et la portion caudale musculaire de l'aorte ont été explantés *in vitro* séparément.

<sup>1</sup> Ces recherches ont été faites grâce à un subside du Fonds National Suisse de la Recherche scientifique et de la Fondation E. Barell de la Maison Hoffmann-La Roche SA, Bâle.

<sup>2</sup> G. CONTI, B. CAPPELLI et J. P. MUSY, Experientia 24, 591 (1968).

<sup>3</sup> G. CONTI, B. CAPPELLI et J. P. MUSY, Experientia 24, 710 (1968).

ment. Les artères ont été prélevées chez des embryons d'âge différent, du 6<sup>e</sup> au 20<sup>e</sup> jour d'incubation; les explants ont été cultivés sur le milieu standard de WOLFF pour des périodes variables de 2 à 7 jours. Dans un certain nombre de cultures, on a intercalé, entre le milieu et les explants, la membrane vitelline; on voulait voir si la présence de cette membrane favorisait la survie des explants (WOLFF)<sup>4</sup>. Dans d'autres expériences enfin, on a testé la réponse des segments aortiques élastique et musculaire vis-à-vis d'une stimulation représentée par la présence d'un ou 2 crins de Florence, dans la lumière du vaisseau. Les résultats des expériences sont les suivants:

(a) La présence de la membrane vitelline n'apporte aucune amélioration à la survie des vaisseaux *in vitro*.

(b) Les fragments aortiques explantés jusqu'à l'âge de 10 jours ne survivent pas: très souvent la lumière disparaît et est occupée par une nodosité fibreuse. Lorsqu'elle persiste, les éléments mésenchymatiques péri-endothéliaux disparaissent graduellement et la paroi du vaisseau reste formée seulement par une lame endothéliale.

(c) Jusqu'au 10<sup>e</sup> jour d'incubation, le comportement *in vitro* des segments crânial et caudal est le même. Ce n'est qu'à partir du 12<sup>e</sup> jour, juste au moment où les 2 parties aortiques se différencient selon une morphologie différente, que leur comportement en culture est aussi différent. En effet:

(d) la partie crâniale de l'aorte, élastique, montre une capacité majeure de résistance: on observe des phénomènes de dédifférenciation, mais presque jamais de signes de dégénérescence. La morphologie élastique, présente au moment de l'explantation, se maintient, et le matériel élastique augmente en quantité *in vitro*.

(e) La moitié caudale, de type musculaire, vit beaucoup moins bien *in vitro*: elle présente souvent des signes de dégénérescence trouble ou lipidique; les éléments musculaires se dédifférencient d'abord, disparaissent ensuite; la paroi artérielle est frappée par la fibrose et, au bout de quelques jours de culture, elle est formée uniquement par un tissu conjonctif dense, pauvre en cellules.

(f) La présence d'un seul crin dans la lumière des vaisseaux ne provoque pas de réponse particulière de la part de la paroi aortique.

(g) La présence de 2 crins représente par contre un stimulus, auquel la paroi aortique répond d'une manière

differentiée dans ses moitiés crâniale et caudale. Au niveau du segment caudal, la lumière se dédouble presque constamment et la division est réalisée par une lame conjonctive revêtue sur les 2 faces par des cellules endothéliales. Au niveau de la partie crâniale élastique, on observe parfois des tentatives de dédoublement (prolifération de l'endothélium), mais qui n'aboutissent presque jamais à la formation d'une véritable travée de division.

Les résultats de ces expériences confirment les données déjà constatées au niveau d'autres artères. Le point le plus intéressant nous paraît le suivant: le comportement particulier et différent que présentent *in vitro* les artères de type élastique (vaisseaux de la base du cœur) et les artères de type musculaire (artère carotide) se retrouve avec les mêmes caractéristiques au niveau d'une seule artère - l'aorte - dont la partie crâniale est de type élastique et le segment caudal de type musculaire. Il semble donc que les premiers résultats déjà publiés ont une valeur générale; les expériences et les résultats sur l'aorte, ici rapportés, peuvent être considérés comme la contre-épreuve expérimentale des données déjà acquises.

*Summary.* The authors studied the structure of the aortic wall of chick embryos during embryonal development and after hatching up to the age of 1 month. The typical morphology appears on about the seventh day of incubation; it is established on the twelfth day and it does not change afterwards, there is only an increase in the relative quantities of its morphological components. The aorta is of muscular type in its caudal half, while its cranial half is elastic. The cultures of the elastic cranial half and of the muscular caudal half gave the same results already obtained from the explantation *in vitro* of elastic arteries (anonyma and pulmonary arteries) and of muscular arteries (carotid).

G. CONTI et B. CAPPELLI

*Institut d'Histologie et d'Embryologie générale de l'Université de Fribourg (Suisse),  
27 mars 1968.*

<sup>4</sup> E. WOLFF, Devl Biol. 3, 767 (1961).

## Histochemical Demonstration of Primary Catecholamines in Pacinian Corpuscles of the Cat

The role which the mediators carry out in the transmission of nerve impulses in the sensory nerve endings, is still obscure. Histochemical demonstration of both acetylcholinesterase (ACHE) and butyrylcholinesterase (BCHE) in encapsulated receptors<sup>1-3</sup>, does not give definite evidence concerning the appropriate mediate function of acetylcholine (ACH). In fact, ACH increases the amplitude of the receptor potential<sup>4,5</sup>, but the latter does not change after treatment with large doses of ACHE and hexamethonium<sup>4</sup>. According to HURLEY and KOELLE<sup>6</sup> cholinesterase (CHE) also does not play any mediating role in the sensory receptors.

On the other hand, the amplitude of the receptor potential, recorded from Pacinian corpuscle, soaked in a solution containing adrenaline, increases<sup>7</sup>. Recently<sup>8,9</sup>, a vasodepressor effect of dopamine was established. The latter causes augmentation of the blood flow in the dog and in man in the superio-mesenteric and coeliac vessels.

Primary catecholamines, e.g. dopamine and noradrenaline easily condense with formaldehyde in both tissues and model protein layers yielding strongly fluorescent 3,4-dihydroisoquinolines. We used this reaction for histochemical demonstration of biogenic monoamines accord-

<sup>1</sup> H. N. CHOUCHKOV, C. r. Acad. bulg. Sci. 21, 4 (1968).

<sup>2</sup> H. HURLEY and H. MESCON, Br. J. Derm. 68, 290 (1956).

<sup>3</sup> T. R. SHANHAVEERAPPA and G. H. BOURNE, Am. J. Anat. 118, 461 (1966).

<sup>4</sup> J. A. B. GRAY and J. DIAMOND, Br. Med. Bull. 13, 185 (1957).

<sup>5</sup> A. P. SCOUBY, Acta physiol. scand. 24, 174 (1951).

<sup>6</sup> H. HURLEY and G. B. KOELLE, J. invest. Derm. 31, 243 (1958).

<sup>7</sup> W. A. LOEWENSTEIN and A. ALTAMARINO-ORREGO, Nature 178, 1292 (1956).

<sup>8</sup> J. N. EBEL, J. Pharmac. 145, 64 (1964).

<sup>9</sup> R. H. McDONALD, L. I. GOLDBERG, J. L. McNAY and E. P. TUTTLE, J. clin. Invest. 43, 1116 (1964).