

ment. Les artères ont été prélevées chez des embryons d'âge différent, du 6^e au 20^e 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)⁴. 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^e jour d'incubation, le comportement in vitro des segments crânial et caudal est le même. Ce n'est qu'à partir du 12^e 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

différente 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.*

⁴ 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 receptors¹⁻³, does not give definite evidence concerning the appropriate mediate function of acetylcholine (ACH). In fact, ACH increases the amplitude of the receptor potential^{4,5}, but the latter does not change after treatment with large doses of ACHE and hexamethonium⁴. According to HURLEY and KOELLE⁶ 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, increases⁷. Recently^{8,9}, 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-

¹ H. N. CHOCHKOV, C. r. Acad. bulg. Sci. 21, 4 (1968).

² H. HURLEY and H. MESCON, *Br. J. Derm.* 68, 290 (1956).

³ T. R. SHANTHAVERAPPA and G. H. BOURNE, *Am. J. Anat.* 178, 461 (1966).

⁴ J. A. B. GRAY and J. DIAMOND, *Br. Med. Bull.* 13, 185 (1957).

⁵ A. P. SCUBY, *Acta physiol. scand.* 24, 174 (1951).

⁶ H. HURLEY and G. B. KOELLE, *J. invest. Derm.* 31, 243 (1958).

⁷ W. A. LOEWENSTEIN and A. ALTAMARINO-ORREGO, *Nature* 178, 1292 (1956).

⁸ J. N. EBLE, *J. Pharmac.* 145, 64 (1964).

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

ing to the method of FALCK and HILLARP¹⁰⁻¹² in order to establish whether there are primary catecholamines in the sensory nerve endings of the cat.

Materials and methods. Vater-Pacini corpuscles are densely packed around the cat mesenteric vessels. Following chloralhydrate (10%) anaesthesia of adult male cats, the abdominal cavity was opened and small pieces of the mesentery were isolated. They were immediately placed on dry ice at -20°C and put in a cryostat. Cryostat sections $20\ \mu$ thick were cut. They were freeze-dried in a cryostat (the freeze-drying tube was put in a cryostat to avoid a possible diffusion of the fluorescent product) for 6 h. Then the sections were immediately transferred to a reaction vessel containing paraformaldehyde, and the container was put in a thermostat at 80°C for 1 h. After paraformaldehyde treatment the sections were mounted in Entelan (Merc). Microscopic analysis was carried out under Reichert-Zetopan with suitable accessories for fluorescent microscopy.

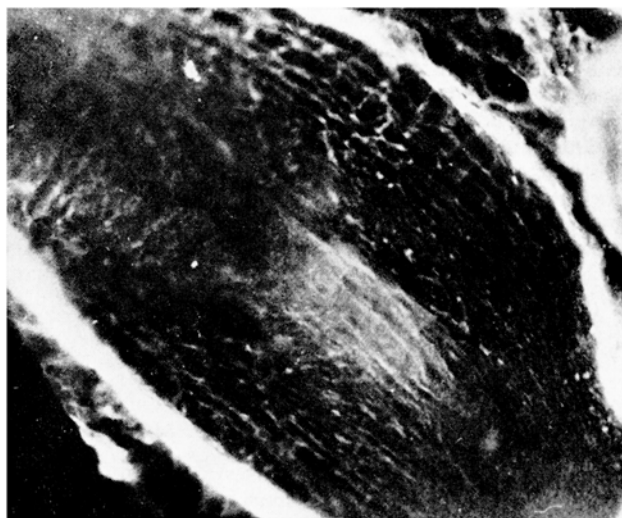


Fig. 1. Longitudinal section of Vater-Pacini corpuscle. The axon and its ending are almost devoid of fluorescence intensity. The inner core shows a moderate intensity. $\times 100$.



Fig. 2. A transversal section of Vater-Pacini corpuscle. The outer core (lamellae) shows fluorescence intensity. $\times 1000$.

Results and discussion. The Vater-Pacini corpuscles give a positive green fluorescent intensity. The latter is lighter than the intensity of the blood vessels in the mesentery of the cat. The fluorescent product is irregularly distributed in the different structural elements of the corpuscles. The nerve fibres of variable length terminate in the opposite pole of the corpuscles with single (more seldom multiple) terminal enlargement of the axoplasm-terminal nerve ending. The axon and its terminals are almost devoid of the fluorescent product. There is a zone around the nerve fibre and its endings which coincides in localization with the so-called inner core of Vater-Pacini corpuscles. The latter is characterized by moderate fluorescence intensity which is irregularly distributed, becoming more scarce towards the periphery of the zone. Concentric lamellae which build up the remaining structure of the encapsulated nerve endings are located around the inner core. These possess slighter fluorescence than inner core which is also irregularly distributed. It is localized predominately in the pericaryon of the cells, belonging to the lamellae and is more faint in the lamellae. The capsule of the corpuscles shows the strongest fluorescent activity.

These results indicate that the encapsulated Vater-Pacini corpuscles contain primary catecholamines, e.g. dopamine and noradrenaline. They are more marked in the inner core of the receptors, slighter in the outer core and very faint or lacking in the axon and its endings. The fluorescence reaction manifests different intensity within the limits of the structural elements of the corpuscles.

If we accept the conception¹³ that the Pacinian corpuscles carry out the function of blood flow regulators in mesenteric vessels, then the vasodepressor effect of the dopamine inoculated^{8,9} could be explained with the quantitative change of the normal content of dopamine in these receptors.

On the other hand, it could be supposed that the observed primary catecholamines carry out the function of mediators in Pacinian corpuscles, but we must bear in mind that the character of the mediator is not well determined. From this point of view the simultaneous presence of CHE¹⁻³ and primary catecholamines could be explained by the hypothesis of BURN and RAND¹⁴ according to which ACH released from the cholinergic fibres causes by itself liberation of noradrenaline. The latter acts as a mediator in the nerve impulse transmission. The results of the present investigation suggest that, in the peripheral nervous system, receptors exist which have primary catecholamines and which differ qualitatively from the hitherto known sympathomimetic α - and β -receptors.

Résumé. En utilisant la méthode de fluorescence de Falck, on constate que les corpuscules de Vater-Pacini montrent la fluorescence caractéristique des catécholamines primaires. L'intensité de la fluorescence est plus marquée dans le corps central des corpuscules nerveuses, moins dans les lamelles et absente dans la fibre nerveuse.

H. N. CHOUCHEV

Department of Anatomy, Higher Medical School,
Sofia 31 (Bulgaria), 8 February 1968.

¹⁰ H. CORRODI and N. A. HILLARP, *Helv. chim. Acta* **46**, 2425 (1963).

¹¹ H. CORRODI and N.-A. HILLARP, *Helv. chim. Acta* **47**, 911 (1964).

¹² B. FALCK and CH. OWMAN, *Acta Univ. lund.* **11**, 1 (1965).

¹³ V. V. PORTUGALOV, *Histophysiology of Nerve Endings* (Moscow 1955), in russ.

¹⁴ J. H. BURN and M. J. RAND, *Nature* **184**, 163 (1959).