

above differences have not been determined, these data further document the influence that methodological procedures may have on experimental data.

Zusammenfassung. Nachweis, dass diverse konventionelle Methoden der Blutgewinnung (Herzpunktion, Dekapitieren, Punktion der Jugularvene) zu unterschiedlichen

absoluten Werten von Serum Corticosteron, anorganischem Phosphat und 5-Hydroxytryptamin führen, wobei auch eine unterschiedliche Hämolyse resultierte.

J. D. DUNN and L. E. SCHEVING¹⁵

Department of Anatomy, Louisiana State University Medical Center, 1542 Tulane Avenue, New Orleans (Louisiana) and University of Arkansas School of Medicine, Little Rock (Arkansas, USA), 9 June 1971.

¹⁵ The technical assistance of LAUREL MARSHALL, PAUL MILLET and STANLEY TSAI is gratefully acknowledged.

The Effect of Pentagastrin on the A₁-Cells of the Pancreatic Islets in Guinea-Pigs¹

In all mammals the pancreatic islets are composed of 3 types of granulated cells, the A₁-cells, the A₂-cells and the B-cells. While it is generally agreed that the B-cells produce insulin² and the A₂-cells glucagon³, the function of the A₁-cells is still unknown. It has been suggested, however, that the A₁-cells are connected with the gastrin production^{4,5}. Recently LOMSKÝ, LANGR and VORTEL⁶ have demonstrated, using immunochemical technique, that in man and some other species the A₁-cells show specific affinity for gastrin antibodies. In an earlier study, there was no evidence that gastrin injections had any effect on the A₁-cells in guinea-pigs⁷. These observations are here re-evaluated, since synthetic gastrin is now available, as well as its terminal peptide, which has been used in the present study.

Methods. 10 male guinea-pigs were injected s.c. with pentagastrin¹ every 3rd h for 5 days with a dosage of 4 µg each time for the first 4 days and then 6.5 µg. The substance was dissolved in saline. The animals were killed 1–2 h after the last injection by a blow on the head, followed by bleeding. Pieces of pancreas were immediately immersed in Zenker-formol, dehydrated and embedded in paraffin. The 7 µm thick sections of pancreas were silver-impregnated by a modified Davenport method⁸. The islets of Langerhans were photographed and the sections subsequently restained with Gomori's chrome-hematoxylin ponceau fuchsin⁹. In the pancreas from each animal, the areas of the largest optical cross-section of 24 A₁, 24 A₂ and 24 B-cells were calculated after measuring the largest nuclear diameter, and that at right angles to the latter, by means of an ocular screw micrometer at a magnification of

×1875 (cf. HELLMAN and HELLERSTRÖM¹⁰). The nuclei were collected from at least 5 islets in each animal. Only nuclei with their centres within the sections were measured.

The adrenal glands were weighed after 24 h of immersion in 10% formol. The blood glucose levels were determined by the glucose oxidase method¹¹.

Results. Total body weight showed no meaningful differences between the pentagastrin-treated guinea-pigs and the control animals (Table I). The mean value for the adrenal weights of the treated animals was significantly higher ($P < 0.05$) than the corresponding value for the controls (Table I). As can be seen in the same Table, the blood sugar values were about the same in the 2 groups.

Table II. Nuclear size (arbitrary units) of the islet cells in the 2 groups of guinea-pigs

	A ₁ -cells	A ₂ -cells	B-cells
Pentagastrin treated guinea-pigs	0.48 ± 0.007	0.60 ± 0.010	0.52 ± 0.009
Controls	0.51 ± 0.009	0.62 ± 0.010	0.53 ± 0.009
	$t = 2.46$	$t = 1.10$	$t = 0.30$
	df = 18	df = 18	df = 18
	$P < 0.05$	$P > 0.05$	$P > 0.05$

Mean values ± S.E.M.

Table I. Body weight, before the first and after the last injection, adrenal weight and serum glucose level

	Body weight (g)		Adrenal weight	Blood glucose
	Before	Afterwards	(mg)	(mg/100 ml)
Pentagastrin treated guinea-pigs	232 ± 8	263 ± 9	40 ± 1	89 ± 4
Controls	221 ± 6	243 ± 8	35 ± 1.5	86 ± 10
	$t = 1.09$	$t = 1.66$	$t = 2.70$	$t = 0.27$
	df = 18	df = 18	df = 18	df = 18
	$P > 0.05$	$P > 0.05$	$P < 0.05$	$P > 0.05$

Mean value ± S.E.M.

¹ The work was supported by grants from the Swedish Medical Research Council No. B70-2297-03. The pentagastrin (Peptavlon) was kindly supplied by Imperial Chemical Industries (ICI).

² P. E. LACY and J. R. WILLIAMSSON, *Diabetes* 11, 101 (1962).

³ R. H. UNGER, A. M. EISENTRAUT, S. E. BROLIN and G. LUNDQVIST, *Experientia Med. Int. Congr. Ser.* 140, 98 (1967).

⁴ C. CAVALLERO and E. SOLCIA, *Rev. int. Hépat.* 15, 517 (1965).

⁵ J.-P. THIÉRY and J.-P. BADER, *Annls Endocr.* 27, 625 (1966).

⁶ R. LOMSKÝ, R. F. LANGR and V. VORTEL, *Nature, Lond.* 223, 618 (1969).

⁷ B. PETERSSON, *Acta path. microbiol. scand.* 72, 553 (1968).

⁸ C. HELLERSTRÖM and B. HELLMAN, *Acta endocr., Copenh.* 35, 518 (1960).

⁹ S. A. BENCOSME, *Am. med. Ass. Arch. Path.* 53, 87 (1952).

¹⁰ B. HELLMAN and C. HELLERSTRÖM, *Acta path. microbiol. scand.* 53, 87 (1952).

¹¹ M. HJELM and C. DE VERDIER, *Scand. J. clin. Lab. Invest.* 15, 415 (1963).

With the caryometric method used, no significant differences could be revealed in nuclear size for the A₂- and B-cells between the treated animals and the controls. The nuclear size of the A₁-cells for the pentagastrin-treated animals was 0.48 ± 0.007 , as against 0.51 ± 0.009 for the controls. These values differed significantly (Table II).

Discussion. Injections of pentagastrin into guinea-pigs resulted in a decrease in the size of the A₁-cell nuclei. This may reflect a decreased function of these cells and is of great interest, since exogenous administration of a hormone results in the suppression of the endogenous secretion of that particular hormone¹². Furthermore, pentagastrin is known to have a physiological action similar to that of gastrin^{13,14}. The results therefore support the view^{6,15} that gastrin or a related substance is produced in the A₁-cells. Any indication of this is valuable, since the direct determination of gastrin in the A₁-cells is not possible at present.

Previous studies have indicated a relationship between the function of the A₁-cells and the glucose metabolism. Thus, in diabetic animals, signs of increased A₁-cell function have been observed^{16,17,18}. From the studies of LERNMARK et al., it is apparent that gastrin has effects on the insulin release in vitro. These authors also discuss the possibility that gastrin may have a physiological mechanism in the local regulation of the B-cell function.

Zusammenfassung. Meerschweinchen wurden für 5 Tage mit Pentagastrin injiziert und die Kerngrößen in den Pankreas-Inseln mit Karyometrie bestimmt. Die Kerne der A₁-Zellen nahmen in den behandelten Tieren am Anfang ab und schienen kleiner als in den Kontrollen. In den A₂- und B-Zellen wurden keine Veränderungen nach Pentagastrin notiert. Die Resultate stützen die Auffassung, dass Gastrin in den A₁-Zellen produziert wird.

B. PETERSSON

University of Uppsala, Histological Department,
V. Ågatan 26A, S-752 20 Uppsala (Sweden),
23 August 1971.

- ¹² C. HELLERSTRÖM and B. HELLMAN, *Acta endocr.*, Copenh. 41, 116 (1962).
¹³ H. J. TRACY and R. A. GREGORY, *Nature*, Lond 204, 935 (1964).
¹⁴ J. J. MISIEWICZ, D. J. HOLDSTOCK and S. L. WALLER, *Gut* 8, 463 (1967).
¹⁵ M. H. GREIDER and J. E. MCGUIGAN, *Diabetes* 20, 389 (1971).
¹⁶ C. HELLERSTRÖM, *Acta Soc. Med. upsal.* 68, 1 (1963).
¹⁷ B. PETERSSON, C. HELLERSTRÖM and R. GUNNARSSON, *Horm. Metab. Res.* 2, 313 (1970).
¹⁸ Å. LERNMARK, B. HELLMAN and G. COORE, *J. Endocrin.* 43, 371 (1969).

Beobachtungen zum Kopulationspfropf des Mäuseweibchens

Bei der Maus und der Ratte bildet sich nach dem Deckakt in der Vagina ein Pfropf, bestehend aus dem Ejakulat und dem erhärteten Sekret der Samenblasen und einer koagulierenden Drüse des Männchens. Dieser Kopulationspfropf bleibt mehrere (bis 24) Stunden in der Vagina, erweicht dann und fällt heraus. Seine Feststellung bildet die übliche Methode zur Konstatierung und Datierung der erfolgten Begattung. Nach LONG und EVANS¹ besteht bei der Ratte die Funktion des Pfropfes offenbar darin, das Ejakulat am Zurückfliessen zu hindern und dem Uterus zuzuführen (die Spermien finden sich am vorderen Pol des Pfropfes massiert) sowie durch Reizung der Cervix die Wirkung des corpus luteum zu prolongieren und dadurch die Ovo-Implantation vor dem Eintritt der folgenden Ovulation zu ermöglichen. Die Reizung der Cervix kann auch ohne Begattung im frühen Oestrus mechanisch oder elektrisch durchgeführt und dadurch Pseudogravidität erzeugt werden. Eine chemische Wirkung übt der Pfropf nicht aus (LONG und EVANS¹, BALL²). Auch eine histologisch nachweisbare Wirkung auf das Epithel der Vagina und des Uterus konnten wir bei der Maus nicht feststellen.

Da LONG und EVANS¹ ihre sehr genauen Beobachtungen nicht experimentell nachgeprüft haben, versuchten wir, bei der Maus die Wirkungsweise des Pfropfes zu un-

Tabelle II.

	Zahl der Weibchen	Trächtig	CHI ²
a) Pfropf aus der Vagina entfernt	136	88 (64%)	0,64 n.s.
b) Pfropf aus der Cervix entfernt	44	32 (73%)	

tersuchen, indem wir ihn bei einem Teil der Weibchen mit einer Pinzette herausgezogen und die Zahl der nach dem Deckakt trächtig gewordenen Weibchen mit der der unbehandelten Tiere verglichen haben. Die Versuche wurden mit Mäusen des Stammes NMRI durchgeführt, die unter den üblichen, guten Bedingungen gehalten wurden (Tabelle I).

Die Versuche wurden unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt. Der Vergleich der einander entsprechenden Gruppen ergibt folgende Resultate.

1. Wenn der Pfropf aus der äusseren Öffnung der Vagina herausgezogen wird, ist er schon erweicht und leicht zu entfernen. Steckt er noch in der Cervix, in deren Mündungen er mit zwei spitz ausgezogenen Fortsätzen hineinragt, so muss er mit einiger Gewalt herausgezogen werden. Es liesse sich denken, dass er in diesem Falle seine Wirkung noch nicht ausgeübt hat (Tabelle II).

Der Pfropf hat also seine Wirkung schon nach kurzer Zeit ausgeübt. Auch die mechanische Stimulierung der Cervix ist nach wenigen Sekunden wirksam.

Gelingt es, das noch flüssige Ejakulat aus der Vagina zu entfernen, so ist das Verhältnis das folgende:

Zahl der Weibchen	Trächtig
44	5 (12,5%)

Tabelle I.

	Zahl der Weibchen	Trächtig	CHI ²
a) Pfropf entfernt	220	125 (57%)	4,67
b) Pfropf nicht entfernt	260	174 (67%)	
		schwach gesichert	