

Table II. Breast cancer age in groups investigated

Group <sup>a</sup>	Number of mice with cancer	Cancer age (days) Range	Mean $\pm$ S.E.
Control (a, m, or b)	33	440-731	611 $\pm$ 13
Pituitary	25	334-648	497 $\pm$ 24
(P, P + m, or P + b)			
1 $\times$ 2-3 P			
Pituitary and Methylcholanthrene	19	181-271	227 $\pm$ 5

<sup>a</sup> a = no tissue inserted; m = muscle; b = brain surface; P = pituitary, one ectopic implantation of 2-3 glands; 1 mg of 3-methylcholanthrene/0.2 cm<sup>3</sup> olive oil/20 g body weight; oral intubation, 1/week for six weeks.

implants significantly reduced cancer incidence ( $X^2 = 9.64$ ;  $P = 0.002$ ). It seems important that this effect of hypothalamic tissue was not reproduced by other brain tissue<sup>5,6</sup>.

The mean tumor age of the methylcholanthrene treated mice given hypophyses and pieces of brain surface is compared in Table II with the tumor ages of pituitary and control animals from earlier experiments in this laboratory done under similar conditions on the same inbred stock. With the qualifying restriction that these data are from experiments set up at different times, it can be suggested that the additional administration of 3-methylcholanthrene to D<sub>8</sub> mice bearing 3 isografted pituitaries reduces

the cancer age of the latter to less than one-half the value expected in the absence of carcinogen treatment.

One can thus study in D<sub>8</sub> mice, i.e. in one and the same experimental animal model, interactions in breast cancer development between genetic and/or endocrine factors, the Bittner mammary tumor agent and a chemical carcinogen. One can also explore in the same model hypothalamus effects counteracting mammary carcinogenesis. Moreover, in work based upon overt breast cancer as the endpoint under study, the methylcholanthrene-treated D<sub>8</sub> mouse with ectopic pituitary isografts and the Bittner agent allows for a much shortened period of bioassay, since tumor age is but one-half of that recorded in the absence of the chemical carcinogen.

**Zusammenfassung.** Die Brustkrebsentwicklung bei intakten Mäusen des DBA<sub>8</sub>-Inzuchttamms, welchen Hypophysen implantiert wurden, zeigt durch die perorale Verabreichung von 3-Methylcholanthren eine signifikante Beschleunigung. Entsprechend früheren Ergebnissen an einem anderen Krebsmodell<sup>5</sup> hemmt auch in der Methylcholanthren-behandelten DBA-Maus der Zusatz von Hypothalamusgewebe die carcinogene Wirkung der implantierten Hypophyse.

E. HAUS and F. HALBERG

Department of Pathology, University of Minnesota, Medical School, Minneapolis (Minnesota U.S.A.), March 19, 1962.

## PRO EXPERIMENTIS

### Nouveau principe de stimulation électrique: L'excitation ambipolaire par courant alternatif, sinusoïdal pur, de fréquence moyenne

L'impulsion stimulatrice d'une durée totale inférieure à une milliseconde est produite par un courant alternatif sinusoïdal de 20 000 périodes, dont l'amplitude est modulée, à partir de zéro, selon une enveloppe progressive-ment croissante et décroissante (Figure 1). Cette impulsion est appliquée à un nerf myélinisé (sciatic de grenouille, pneumogastrique de lapin) par deux électrodes de même efficacité stimulatrice et distantes de 15 à 20 mm, à la cadence d'environ 1/sec. Le courant d'action est dérivé à une distance de conduction d'environ 20 mm, de l'extrémité du nerf, entre deux électrodes écartées de 10 mm. L'artefact du stimulus est réduit à l'aide d'un pont de compensation résistances-capacités.

La stimulation supraliminaire déclenche à la fois deux courants d'action (Figure 2) dont la différence de temps latent est égale, à moins d'un dixième de milliseconde près, à celle qu'on obtient au moyen de stimuli ordinaires appliqués dans les deux sens aux mêmes électrodes stimulatrices. Cette différence de temps latent correspond dans les deux cas au temps que prend l'influx nerveux pour parcourir le trajet entre les deux électrodes stimulatrices.

Au fur et à mesure qu'on augmente l'intensité du stimulus, la riposte partant de l'électrode se trouvant plus proche de la dérivation l'emporte sur celle provenant de l'électrode plus éloignée, de sorte que cette dernière riposte s'efface totalement par un stimulus maximum. Le courant d'action ainsi obtenu (Figure 3a) atteint la valeur maxima de celui déclenché à partir de la même électrode par un

stimulus cathodique d'intensité maxima ou supra-maxima (Figure 3b). En stimulant un nerf au milieu de sa longueur et en dérivant les courants d'action des deux extrémités, on obtient par un stimulus d'intensité maxima ou supra-maxima les deux courants d'action de valeur maxima qui prennent leur départ de part et d'autre des électrodes stimulatrices.

Ces résultats permettent de conclure qu'une impulsion stimulatrice composée d'une fréquence «porteuse» de l'ordre de 20 000 périodes, modulée de la manière décrite plus haut et dont l'intensité est maxima, excite toutes les fibres nerveuses aux deux pôles et que, de ce fait, la stimulation doit être considérée comme exempte de polarité, voire *ambipolaire*.

Ces résultats ne s'obtiennent qu'à condition d'employer un courant sinusoïdal pur, exempt de distorsion harmonique. Toute atteinte à la symétrie de la sinusoïde par rapport à la ligne de zéro, en particulier l'harmonique du second ordre déphasé de 90°, introduit une composante de polarité, due sans doute à un effet de rectification dans le circuit d'excitation (comparable à l'effet Fleischl). Cette polarité se manifeste par un abaissement considérable du seuil à l'une des deux électrodes et une élévation à l'autre, phénomène qui s'inverse lorsqu'on intervertit les connexions des électrodes stimulatrices. Ce dernier procédé sert d'ailleurs de test pour prouver l'absence de composante de polarité, à savoir la symétrie du courant alternatif modulé.

Le principe de l'excitation ambipolaire permet de réaliser une stimulation transversale du nerf sans composantes longitudinales. L'emploi d'un courant sinusoïdal pur dont l'artefact est facilement compensable, sert à enregistrer dans ces conditions, le courant d'action à l'endroit de son origine.

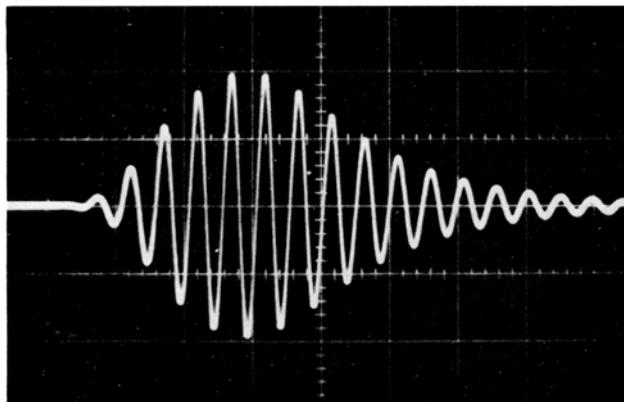


Fig. 1. Impulsion stimulatrice enregistrée à l'oscillographe cathodique. Tension prélevée des électrodes de stimulation pendant le passage du courant dans le nerf. Unité d'abscisse: 0,1 msec. Unité d'ordonnée: 2,0 V.

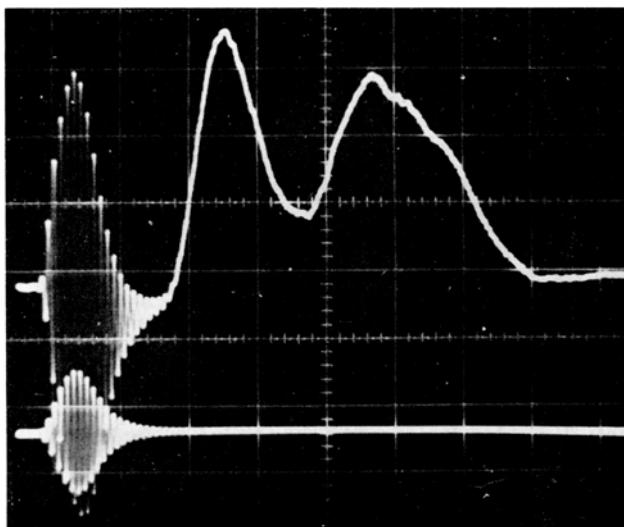


Fig. 2. Excitation ambipolaire. L'intensité du stimulus est supraliminaire d'environ 10%. Les électrodes stimulatrices sont écartées de 18 mm, de sorte que la distance de conduction est de 19 mm pour l'électrode plus proche, et de 37 mm pour l'électrode plus éloignée de l'électrode de dérivation. Tracé supérieur: Courant d'action monophasique. Unité d'ordonnée: 0,5 mV. Tracé inférieur: Tension entre les électrodes stimulatrices, selon Figure 1. Unité d'ordonnée: 10 V. Unité d'abscisse commune: 0,5 msec. Nerf sciatic de grenouille. Un seul passage est enregistré.

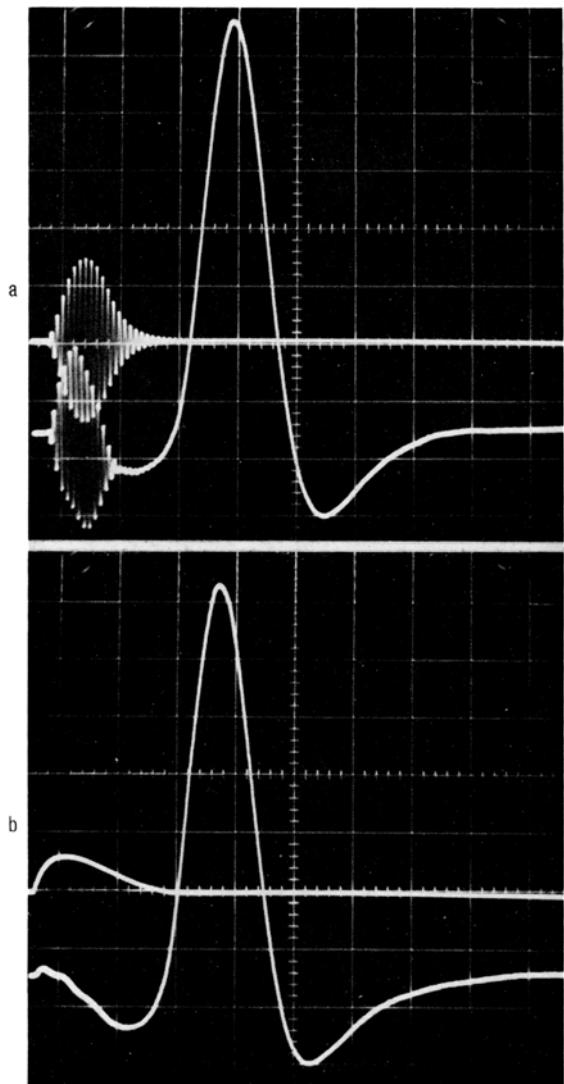


Fig. 3. Stimulation d'intensité supramaxima de la préparation de la Figure 2. Courants d'action maximums, triphasiques, enregistrés aux tracés inférieurs. Unité d'ordonnée: 2,0 mV. En (a), le stimulus est celui de la Figure 2, enregistré au tracé supérieur. Unité d'ordonnée: 20 V. En (b), le stimulus est une impulsion de courant continu enregistrée au tracé supérieur et dont la cathode est l'électrode plus proche de la dérivation. Unité d'ordonnée: 1,0 V. Unité d'abscisse commune: 0,5 msec. Mesuré à partir du début du stimulus le temps latent est sensiblement le même pour les deux modes de stimulation.

**Summary.** Impulses of amplitude-modulated middle-frequency current (20 000 c.p.s.) stimulate nerve simultaneously at both poles. No polarity effect is observed, because no rectification occurs in the stimulation circuit if pure sine-wave middle-frequency current is employed. This principle is demonstrated by using bipolar longitudinal stimulation that, above threshold, elicits action currents, with latency difference corresponding to the distance between the stimulating electrodes. With supramaximum strength, maximum action currents are obtained at either pole, as is the case with ordinary cathodal stimuli of supramaximum strength applied to one pole or the other. Middle-frequency stimulation, therefore, has to

be regarded as *ambipolar*, i.e. does not depend on polarity. With second harmonic distortion, however, rectification occurs in the stimulation circuit and contamination by direct-current component ensues. Middle-frequency stimulation can be applied across nerve, since the excitatory effect does not apparently depend on longitudinal current flow. This method allows the action current to be recorded at the site of stimulation with minimum stimulus artefact.

O. A. M. Wyss

Physiologisches Institut der Universität Zürich (Suisse), le 30 mars 1962.