

Effect of the Mammary Tumor Agent
on Species other than the Mouse

The effectiveness of the mammary tumor agent in different strains of laboratory mice has been reviewed by ANDERVONT¹. This same author showed that the agent is active in the wild house mouse², while feeding of extracts of virus-induced mammary tumors to deer mice failed to produce tumors (cit. in ¹). Recently, virus-like particles similar to those found in the milk of C₃H mice harbouring the agent³ were demonstrated in human milk as well. GROSS, GESSLER, and McCARTY⁴ were able to establish some correlation between the presence of these particles in human milk and the occurrence of breast cancers in the family history. The aim of the present study was to investigate the species specificity of the mammary tumor agent.

Twenty-five female C₃H₁ mice (originating from ova of the milk agent carrying C₃H mice transplanted into C₅₇ females), twelve female *Peromyscus maniculatus*, twenty-one female SHERMAN albino rats, twenty-five Syrian golden hamsters, twelve female English smooth hair guinea pigs, and four female New Zealand white rabbits were injected intraperitoneally at the age of three to four weeks with 0.1 ml of a 10% suspension of pooled spontaneous mammary tumors of C₃H mice. The tumors were homogenized, diluted with Tyrode solution, and centrifuged at 1000 Rpm. The supernatant fluid was stored in the deep freezer for about two weeks. All these operations were carried out aseptically. The mice were kept in breeding units of five females and one male each of the same strain. Rat breeding units consisted of three females and one male, the males being rotated between the units weekly. *Peromyscus maniculatus* were kept in cages with one female and one male. Female hamsters occupied single cages into which males were introduced for one week after each pregnancy until the next pregnancy occurred. Rabbits occupied individual hutches and were mated after each pregnancy. Guinea pig breeding units were composed of two females to one male. All animals were kept in air conditioned quarters at 21°C. The rabbits and guinea pigs were maintained on Rockland guinea pig pellets; all other species on Rockland complete rat food *ad libitum*. Water, timothy hay bedding, and (twice weekly) mixed green vegetables were given *ad libitum* to all species. The mice and *Peromysci* received, in addition, cow's milk twice weekly.

From the third litter of each generation, inbred units were set up for further observation. The fourth litter of the rats was removed and newborn C₃H₁ mice were placed in the nests. The offspring of these fosternursed mice were inbred as above.

The Table sets forth occurrence of mammary tumors in the females within the observation period. Animals which died before the age of nine months without tumors are not included in this table. Because of a laboratory accident, all *Peromysci* died after the eighteenth month.

The milk factor agent did not affect any other species but the C₃H₁ mice. The agent seems not to appear in the milk of rats which were previously injected with the

Species	No. of females observed	Maximal observation period months	No. of mammary tumors	Mean tumor age months
C ₃ H ₁ mice	23	24	16	10.2
F ₁	25	19	18	12.1
F ₂	22	14	15	9.9
F ₃	24	9	8	9
<i>Peromyscus maniculatus</i> . .	12	18	0	—
F ₁	14	13	0	—
F ₂	11	8	0	—
SHERMAN rats	21	24	0	—
F ₁	19	19	0	—
F ₂	23	13	0	—
F ₃	24	8	0	—
C ₃ H ₁ mice fostered on SHERMAN rats	12	18	0	—
F ₁	13	13	1	12
F ₂	15	8	0	—
Syrian golden hamsters . .	20	24	0	—
F ₁	24	20	0	—
F ₂	18	16	0	—
F ₃	21	14	0	—
English smooth hair guinea pigs	10	24	0	—
F ₁	11	13	0	—
New Zealand white rabbits .	4	24	0	—
F ₁	4	11	0	—

agent, since C₃H₁ mice fostered on these rats did not develop tumors.

C. M. AMBRUS and J. W. E. HARRISSON

Department of Pharmacology and Biochemistry, Philadelphia College of Pharmacy and Science, Philadelphia, Pa., October 5, 1952.

Zusammenfassung

Virushaltiger Extrakt von Brustdrüsentumoren der Maus wurde jungen Kaninchen, Meerschweinchen, Goldhamstern, Ratten, Tieren der Species *Peromyscus* und «C₃H₁»-Mäusen injiziert.

(Der C₃H₁-Stamm wurde von Ova-C₃H-Mäusen erhalten, die in Weibchen des C₅₇-Stammes transplantiert worden waren. Diese sind zwar frei von dem tumorbildenden Virus; sie sind aber für dieses empfänglich.) Nur in «C₃H₁»-Mäusen gab es Brustdrüsentumoren. «C₃H₁»-Mäuse, die an mit Virus infizierten Ratten gesäugt worden waren, blieben frei von diesen Geschwülsten. Das Virus scheint demnach im Rattenorganismus zerstört zu werden.

Action antiinflammatoire comparée de
l'A.C.T.H., de la cortisone et du salicylate
de soude

L'action antiinflammatoire de l'A.C.T.H. et de la cortisone a été mise en évidence par de nombreux au-

¹ H. B. ANDERVONT, in: *A Symposium on Mammary Tumors in Mice*, Publ. Am Assoc. Adv. Sci. 22, 123 (1945).
² H. B. ANDERVONT, Fed. Proc. 10, 349 (1951).
³ S. GRAFF, D. H. MOORE, W. M. STANLEY, H. T. RANDALL, and C. D. HAAGENSEN, Cancer 2, 755 (1949). — R. D. PESSEY, L. DMOCHOWSKI, R. REED, and W. T. ASTBURY, Biochim. Biophys. Acta 4, 391 (1950).
⁴ L. GROSS, A. E. GESSLER, and K. S. McCARTY, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 75, 270 (1950).

teurs tant chez l'animal que chez l'homme¹. Les techniques utilisées sont très variées. Les plus connues sont basées sur l'inhibition des réactions oedémateuse et cellulaire d'origine infectieuse, toxique ou allergique. Les salicylés sont doués de propriétés antiphlogistiques analogues. On sait qu'ils stimulent l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien². Leur action antiinflammatoire est-elle toujours liée à la libération des hormones surrénaliennes ou peut-elle également dépendre d'une action directe des salicylés eux-mêmes ?

Technique. Chez le lapin, nous avons choisi comme agent d'irritation chimique l'application de chloroforme sur l'épiderme selon la technique d'AMBROSE et DE EDS³. Les lapins d'un poids moyen de 2 kg reçoivent, par voie intraveineuse, 1 cm³/kg d'une solution de *Chicago blue* à 2 %. Cinq minutes plus tard, on applique sur la paroi de l'abdomen fraîchement rasée un tampon de gaze de 4 cm² environ imbibé de chloroforme. Il est maintenu au contact de l'épiderme pendant 30 secondes. On note le délai d'apparition des premières traces de colorant au niveau de la peau irritée.

Nous avons injecté par ailleurs, par voie intradermique, une solution d'histamine (0,2 cm³ à 0,01 %). Le délai d'apparition de la coloration au niveau de la papule a été noté.

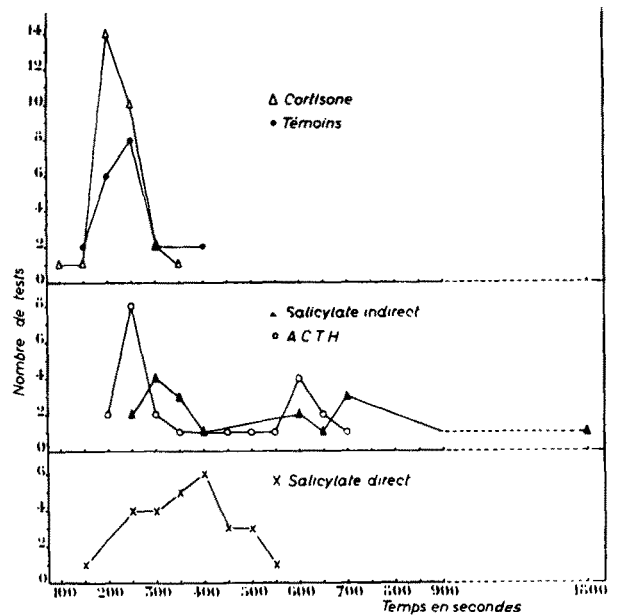
Les deux tests ont été pratiqués chez des animaux témoins et chez des lapins ayant reçu les drogues suivantes: salicylate de soude intrapéritonéal (500 mg/kg, 3 h avant le test), salicylate de soude intraveineux (100 mg/kg immédiatement avant), A.C.T.H. intrapéritonéal (2,5 mg/kg 3 h avant), cortisone intrapéritonéale (5 mg/kg soit 8 h avant, soit quotidiennement pendant les 3 ou les 8 jours précédant l'expérience), phénergan (12,5 mg/kg en intraveineux et la même dose intramusculaire, ¼ d'heure avant).

Résultats. – A. Le délai d'apparition du bleu au niveau de la zone irritée par le chloroforme est illustré par le graphique.

Nous y avons figuré en abscisse le temps, de 50 en 50 s, et en ordonnée le nombre de tests positifs correspondants

pour chacune des drogues utilisées. On a de la sorte la fréquence moyenne d'apparition du colorant.

On observe que 1° les valeurs témoins sont comparables à celles des animaux traités par cortisone; 2° Chez les animaux injectés de salicylate de soude par voie intraveineuse (action directe de la drogue) le délai d'apparition est modérément prolongé; 3° Chez les animaux traités par A.C.T.H. ou par salicylate de soude injecté par voie intrapéritonéale, les valeurs relevées se divisent en deux groupes: valeurs voisines de la normale d'une part, valeurs fortement prolongées d'autre part.



Le traitement statistique des chiffres fournit les valeurs moyennes données par le tableau.

B. L'apparition du bleu au niveau de la papule d'histamine est différée par rapport aux témoins chez les animaux ayant reçu du salicylate, de l'A.C.T.H. et du Phénergan et, à un moindre degré, chez ceux soumis à l'action de la cortisone.

Discussion. a) Le mécanisme d'action du test d'AMBROSE et DE EDS n'est pas encore élucidé. Nous croyons que l'histamine éventuellement libérée par le chloroforme ne joue qu'un rôle secondaire dans son déterminisme. En effet, le phénergan actif sur l'épreuve à l'histamine n'inhibe pas l'apparition du bleu dans le test au chloroforme. En outre celui-ci n'est pas supprimé par l'infiltration préalable à l'aide d'un antihistaminique (phénergan ou néo-antergan: 0,25 cm³ à 1 %) de la zone cutanée que l'on va soumettre à l'action de l'agent ir-

¹ H. SELYE, *Stress*, Acta Inc. Montreal, Canada, 1951; 1st Annual Report on Stress, Acta Inc. Montreal, Canada, 1951. – Symposium sur l'influence de l'hypophyse et de la corticosurrénale sur les réactions biologiques. Zurich, 20 septembre au 2 octobre 1951 (Benno Schwabe & Cie, Bâle). Symposium on the suprarenal cortex. Bristol, 31 mars au 4 avril 1952 (sous presse).

² B. JACOT, P. DUCOMMUN, P. S. TIMEROS et H. SELYE, *J. Physiol.* 43, 621 (1951). – E. KELEMEN, M. MAJOROS, J. IVANYI et K. KOVACS, *Exper.* 6, 435 (1950). – M. PELLOJA, *Lancet* 262, 233 (1952). – J. ROSKAM, R. VIVARIO, H. VAN CAUWENBERGE, C. HEUSGHEM, H. BETZ, *Bull. Acad. roy. Méd. Belgique* 16, 561 (1951). – H. VAN CAUWENBERGE et H. BETZ, *Lancet* 262, 1083 (1952). – H. VAN CAUWENBERGE, *Ann. Endocrin.* (sous presse).

³ A. AMBROSE et F. DE EDS, *J. exp. Pharmacol. and Therap.* 90, 359 (1947).

Drogues utilisées	Test au chloroforme			Test à l'histamine		
	Nombre d'essais	Délai (s)	σ	Nombre d'essais	Délai (s)	σ
Témoin	19	276	55	9	431	158
Cortisone	30	259	44	12	832	—
Phénergan	8	324	39	4	2297	—
Salicylate par voie intraveineuse .	27	397	45	8	1611	—
A.C.T.H. 1 ^{er} groupe	13	300	53	8	3056	—
2 ^e groupe	10	611	67			
Salicylate par voie { 1 ^{er} groupe .	9	323	35	4	3592	
intrapéritonéale { 2 ^d groupe .	9	858	468			

ritant. Il n'existe d'ailleurs pas de parallélisme rigoureux entre l'inhibition des tests au chloroforme et à l'histamine.

b) L'action inhibitrice de l'A.C.T.H. et celle du salicylate de soude, tous deux injectés dans le péritoine, sont comparables tant sur le test à l'histamine que sur celui d'AMBROSE et DE EDS.

La cortisone par contre, complètement inactive sur ce dernier test, influence faiblement l'épreuve à l'histamine sans que l'on puisse incriminer un déficit de résorption du compound E. Une explication peut être actuellement cherchée dans les observations de KROHN sur les greffes cutanées ainsi que dans les effets cliniques dissociés de l'A.C.T.H. et de la cortisone: l'A.C.T.H., comme aussi le salicylate, provoquerait une libération de stéroïdes surrénaliens autres que la seule cortisone.

Le salicylate de soude injecté par voie intraveineuse possède un pouvoir antiinflammatoire précoce que l'on peut rattacher à une action directe de la drogue. Toutefois, cet effet précoce est en général inférieur à l'action retardée. En effet, si certains animaux ne réagissent pas à l'administration d'A.C.T.H. ni à l'injection intrapéritonéale de salicylate de soude, chez d'autres, au contraire, l'inhibition de l'épreuve d'AMBROSE et DE EDS est très marquée. Ces faits peuvent s'interpréter à nouveau par une action «A.C.T.H. producing» des salicylés.

Conclusions et résumé. L'action inflammatoire cutanée du chloroforme est inhibée électivement par l'A.C.T.H. et le salicylate de soude. Celui-ci intervient à la faveur d'un mécanisme double: activité directe et stimulation du cortex surrénalien. La cortisone et le phénergan sont sans action sur le test étudié.

H. VAN CAUWENBERGE et J. LECOMTE

Institut de clinique et de pathologie médicales et Fonds national belge de la Recherche scientifique, Liège, le 20 juillet 1952.

Summary

The inflammatory reaction of the skin produced by chloroform is inhibited by A.C.T.H. and sodium salicylate.

Sodium salicylate exerts this effect by an immediate action as well as through adreno-cortical stimulation.

Cortisone and Phenergan have no effect on the reaction studied by the authors.

Die Trennung der Blutmassen mit verschiedenem Sauerstoffgehalt im Froschherzen *

In neueren Lehr- und Handbüchern wird oft die Ansicht vertreten, dass im Froschherzen das sauerstoffreiche Blut nur funktionell vom sauerstoffarmen getrennt werde. Die Ursache dieser wenig überzeugenden Anschauung mag auf falsche anatomische Vorstellungen früherer Autoren zurückzuführen sein. Man glaubte nämlich, dass das Cavum aorticum des Bulbus arteriosus auf der rechten Seite und das Cavum pulmocutaneum auf der linken Seite des Ventrikels entspringe. Das Cavum aorticum befindet sich in einiger Entfernung vom Herzen — gerade dort, wo es am leichtesten zu beobachten ist —, tatsächlich auf der rechten Seite des Bulbus. Diese Lage ist aber nur durch die Torsion sämtlicher Kanäle des Bulbus arteriosus bedingt. Das Cavum pulmocutaneum hat, im Gegensatz zu den Auffassungen SABATIER¹ und GAUPPS², eine eigene Verbindung mit dem Ventrikel (Abb. 1).

Die Beobachtungen von OZORIO DE ALMEIDA³, NOBLE⁴ und ACOLAT⁵ zwingen uns zur Annahme, dass das Cavum pulmocutaneum nur sauerstoffarmes, das Cavum aorticum hingegen zu Beginn der Systole sauerstoffarmes, gegen Ende der Systole aber sauerstoffreiches Blut empfängt. Wegen des Entspringens des Cavum aorticum auf der linken Seite (also auf der Seite des Atriums mit sauerstoffreichem Blut) ist diese Blutverteilung plausibel ohne so komplizierte Vorstellungen wie GAUPPS Hypothese der bewegenden Spiralfalte (Abb. 2).

Wird das Cavum pulmocutaneum immer nur von sauerstoffarmem Blut, das Cavum aorticum aber während der Systole zuerst von sauerstoffarmem dann von sauerstoffreichem Blut durchflossen, so lässt sich daraus schliessen, dass die Lunge von weniger Blut durchströmt wird als der grosse Kreislauf. Die anatomische Struktur ermöglicht also eine Entlastung des kleinen Kreislaufes, was unter Umständen wünschenswert sein kann. Es wäre ganz unbegründet, die vollkommene Trennung des

* Aus dem Nachlass des Autors der Redaktion zugestellt.

¹ M. ACOLAT, C. r. Acad. Sci. Paris 192, 767 (1931).

² E. GAUPP, *Anatomie des Frosches*, Bd. II und III (Vieweg, Braunschweig 1899 und 1904).

³ E. H. HAZELHOFF, Vakblad voor Biologen, April 1943.

⁴ G. K. NOBLE, J. Morphol. Physiol. 40, 341 (1925).

⁵ M. OZORIO DE ALMEIDA, C. r. Soc. Biol. Paris 89, 1019 (1923).

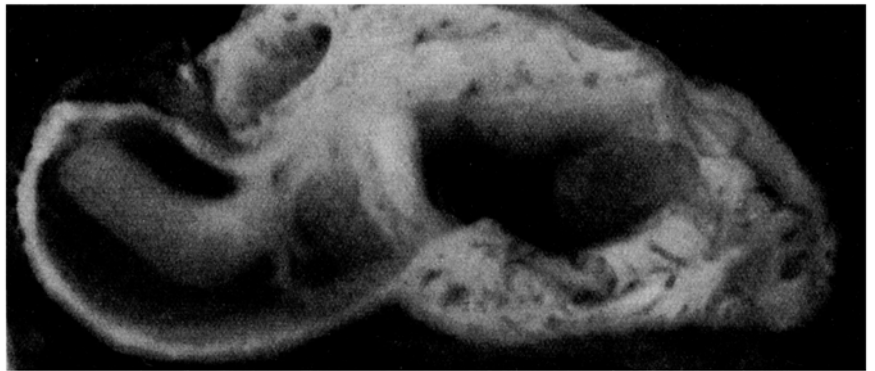
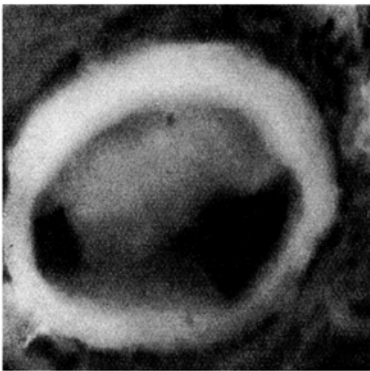


Abb. 1. Man blickt von kaudal in das durch Querschnitt eröffnete Herz eines auf dem Rücken liegenden Frosches. Der Schnitt wurde durch den Ventrikel, unmittelbar kaudal vom Ursprung des Bulbus arteriosus angelegt. Die noch unbeschädigte Spiralfalte ist ventral (in der Abbildung oben) mit der Bulbuswand verwachsen und dorsal frei. Im Bilde rechts ist die Öffnung des Cavum aorticum, links die Öffnung des Cavum pulmocutaneum zu sehen.