

## Some Species-Specific Tumours in Fishes

Recently we have observed three species-specific tumours in fishes, viz. a chromophobe adenoma of the pituitary gland in *Mollienisia velifera*, an ocular melanoma in *Anoptichthys jordani* and a melanoma of the skin in the hybrid of *Lebistes reticulatus* and *Mollienisia sphenops*.

The chromophobe adenoma of the pituitary gland in *Mollienisia*, which occurred in six individuals of a litter of 84, was composed of chromophobe cells, which had an alveolar or strand-like arrangement. The nuclei were oval, spherical or more or less polymorphous. Owing to the enlargement of the pituitary gland, the chiasma opticum was invariably somewhat displaced in the cranial direction, which prevented it from being possibly damaged. As the tumour-bearing animals had the appearance of complete intersexes with the male colour pattern and the female shape of the body, i.e. external properties, which are undoubtedly regulated endocrinically, these cases support RUSSELD's<sup>1</sup> hypothesis, according to which the chromophobe cells can, under certain stimuli, become either acidophilic or basophilic.

The ocular melanoma in *Anoptichthys*, occurring in five individuals belonging to the same litter, consisted of unilateral, dark-coloured, irregular masses at the location of the eye and was built up of a fine connective tissue stroma, melanoblasts, melanocytes, melanophores and melanophages (i.e. large melanin-laden macrophages). Extracellular as well as intracellular melanin granules were present. As transition stages were present between tumour cells devoid of melanin pigment and tumour cells with an abundance of melanin pigment, the melanin granules are formed secondarily.

The eyes of *Anoptichthys* are formed embryonally and are present after hatching as small movable organs<sup>2</sup>. It appears that during growth the eyes are overlapped by skin folds and tend to sink into the depth of the orbital cavities. In this process the lens and the pupillar opening may disappear and degeneration is to be observed in the retina. The eyes of *Anoptichthys* are consequently organs which are predestined to involute. In our five cases this involution was evidently accompanied by such disturbances that the pigment cells of the retina began to proliferate with development of the melanoma as the ultimate result. The melanoma of this almost pigment-free fish may have to be compared with the cutaneous melanoma, which frequently occurs especially at the tail or perineal organs of old grey horses.

The melanoma of the skin in the hybrid *Lebistes* × *Mollienisia* occurred in six cases of a litter of 14 fishes and was present as nodular, lobulated masses in the skin of the head, the trunk and the tail base, covered by a thickened epidermis. The tumour was built up of melanocytes, melanophores, melanophages and a fine connective tissue stroma. Also in this case intracellular as well as extracellular melanin pigment was present in the tumour tissue, the latter being very strongly concentrated in the surroundings of the blood vessels. One tumour was found to contain a large nodule in which a cyst was present. These melanomas were produced by a growth of melanocytes, which transform into micromelanocytes in contradistinction with the melanomas of the *Platyepoecilus* × *Xiphophorus* hybrids, which are formed after a transformation of melanocytes into macromelanophores. In general

the melanomas correspond satisfactorily with the melanoma described by GHADIALI and GORDON<sup>3</sup> in the *Lebistes* × *Mollienisia* hybrid.

A. STOLK

Histological Laboratory, Free University, Amsterdam, March 28, 1958.

### Zusammenfassung

Beschreibung von drei artspezifischen Geschwülsten in Fischen: chromophobes Adenoma der Hypophyse in *Mollienisia velifera*, Melanoma der Augen in *Anoptichthys jordani* und Melanoma der Haut in Hybriden von *Lebistes reticulatus* und *Mollienisia sphenops*.

<sup>3</sup> F. N. GHADIALI and M. GORDON, Cancer Research 17, 597 (1957).

## Kalium-Austausch zwischen Plasma und Erythrozyten beim Karzinom

Es ist wiederholt beobachtet worden, dass die roten Blutkörperchen im krebserkrankten Organismus eine verkürzte Lebensdauer aufweisen<sup>1</sup>. Aus diesen und anderen Arbeiten geht hervor, dass diese Lebensdauerverkürzung zum Teil einem im Plasma vorhandenen Faktor zuzuschreiben ist.

Zweck der vorliegenden Untersuchung war die Feststellung, ob rote Blutkörperchen aus krebserkrankten Organismen ihre Kalium-, Natrium- und Phosphationen mit denen des Plasmas mit normaler Geschwindigkeit austauschen oder nicht. Zu diesem Zwecke inkubierten wir a) Karzinomerythrozyten in Karzinomplasma, b) Karzinomerythrozyten in Kontrollplasma, c) Kontrollerythrozyten in Kontrollplasma und d) Kontrollerythrozyten in Karzinomplasma.

**Experimentelles.** Männlichen weissen Mäusen wurden  $2-6 \times 10^6$  Zellen von Ehrlich- bzw. Ehrlich-Landschütz-Aszitestumoren in physiologischer NaCl-Lösung intramuskulär ins rechte Hinterbein injiziert. Die durchschnittliche Überlebensdauer der Tiere betrug nach der Tumoreninjektion 35–40 Tage. Nach verschiedenen Zeitabständen wurden Gruppen von 10 bis 15 Karzinom- und Kontrolltieren durch Punktion des retrookulären Sinus, mit Heparin als Antikoagulantium, in Nembutal-Narkose entblutet. Der niedrigere Hämatokrit des Blutes der Krebstiere wurde durch Plasmaentnahme dem des Kontrollblutes angeglichen. Vor Beginn des Experimentes wurde das Blut im Wasserbad bei 37°C 15 bis 20 min vorgewärmt. Danach wurde eine isotonische, mit K<sup>42</sup> markierte KCl-Lösung (5 µg/mgK) dem Blute in solcher Menge zugesetzt, dass der Kaliumgehalt von 1 ml Blut um 66 γ (1,6 m equ. K/l) erhöht wurde. Nach sofortiger Vermischung wurde das Blut 15 min bei 37°C im Wasserbad in Luftatmosphäre langsam geschüttelt. Nach Beendigung der Inkubation wurden die Proben sofort in Eiswasser gekühlt und Doppelproben zur Bestimmung der Vollblutaktivität entnommen. Die verbleibende Inkubationsmischung wurde bei 3°C zentrifugiert und die Erythrozyten dreimal mit eiskalter physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und Doppelproben zur Messung der Radioaktivität entnommen. Die Proben wurden gewogen, mit destilliertem Wasser auf 10 ml aufgefüllt, gut vermischt und in einem Flüssigkeits-Szintillationszähler gemessen. Jedes Experiment wurde im Duplikat durchgeführt.

<sup>1</sup> J. F. ROSS, C. L. CROCKET und C. P. EMERSON, J. clin. Invest. 30, 668 (1951). – G. A. HYMAN und J. L. HARVEY, Blood 9, 911 (1954); Amer. J. Med. 19, 350 (1955). – A. MILLER, R. B. CHODOS, C. P. EMERSON und J. E. ROSS, J. clin. Invest. 35, 1248 (1956). – G. DAL SANTO, Acta obstet. gynec. scand. 36, 150 (1957).

<sup>1</sup> A. B. RUSSELD, Endocrine system: adenohipophysis, in R. C. MELLORS, Ed., Analytical Pathology (Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York 1957), p. 293.

<sup>2</sup> O. KUHN und J. KÄHLING, Exper. 10, 385 (1954).

**Resultate.** Wie Abbildung 1 zeigt, weisen die mit Ehrlich-Aszitestumor injizierten Mäuse bereits 16 Tage nach der Injektion, verglichen mit den Kontrolltieren, einen deutlich höheren Kaliumumsatz in ihren roten Blutkörperchen auf. Nach 24 Tagen beträgt der Unterschied fast das Dreifache des Normalen (Abb. 1).

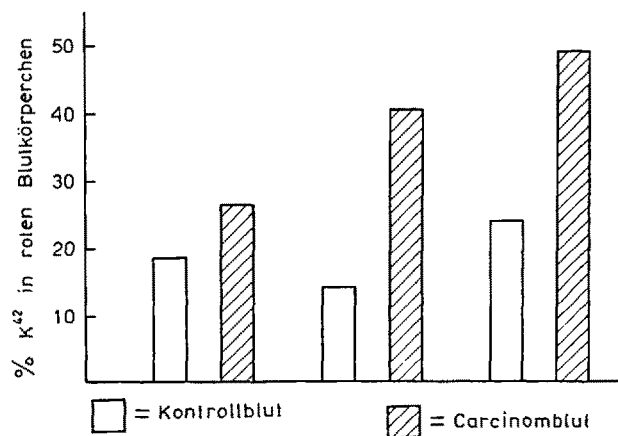


Abb. 1. Verteilung des  $K^{42}$  zwischen Erythrozyten und Plasma nach 15 min Inkubation bei  $37^{\circ}\text{C}$ .

Links: Ehrlich-Aszitestumor 16 Tage alt. Mitte: Ehrlich-Aszitestumor 24 Tage alt. Rechts: Ehrlich-Landschütz-Aszitestumor 7 Tage alt.

Beim Ehrlich-Landschütz-Aszitestumor ist der Kaliumumsatz der roten Blutkörperchen bereits 7 Tage nach der Tumorenjektion gegenüber dem Normalen verdoppelt (Abb. 1). Gleichgeartete Versuche mit  $P^{32}$ -Orthophosphat und  $Na^{24}$  ergaben negative Resultate.

Die Blutzuckerwerte waren bei Kontroll- und Karzinomtieren gleich hoch. Erhöhung der Plasma-Glukosekonzentration von 130 mg% auf 350 mg% hat keinen nennenswerten Einfluss auf den Unterschied zwischen Karzinom- und Kontrollblut. Der Kaliumumsatz im Kontrollblut erhöht sich geringfügig.

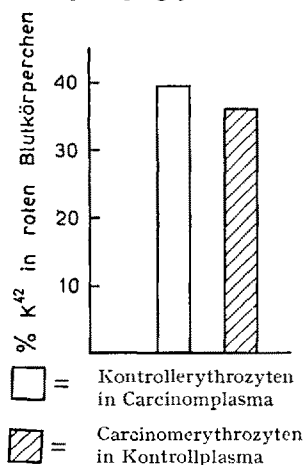


Abb. 2.—Verteilung des  $K^{42}$  zwischen Erythrozyten und Plasma nach 15 min Inkubation bei  $37^{\circ}\text{C}$ . Ehrlich-Aszitestumor 18 Tage alt.

Suspendiert man Karzinomerythrozyten in Kontrollplasma, so bleibt ihr Kaliumumsatz ebenso hoch wie in ihrem Eigenplasma. Nach Einbringen von Kontrollerythrozyten in Karzinomplasma zeigen diese jedoch einen erhöhten Kaliumaustausch (Abb. 2). Die roten Blutkörperchen waren vor Beginn des Experimentes 20 min bei  $37^{\circ}\text{C}$  in Kontakt mit dem Fremdplasma.

Flammenphotometrische Bestimmung des Kaliumgehaltes ergab 86,1 m equ. K/l in den Kontrollerythro-

zyten und 97,6 m equ. K/l in den Karzinomerythrozyten (8,2 m equ. K/l Kontroll-, 10,6 m equ. K/l Karzinom-Plasma).

Die Plasma-Kaliumkonzentrationen (um 10 m equ. K/l) wurden in unsern Versuchen durch den Zusatz der radioaktiven KCl-Lösung nur geringfügig erhöht (1,6 m equ. K/l). Die Untersuchungen wurden somit in einem Inkubationszeit- und Konzentrationsbereich durchgeführt, in dem nach den Ergebnissen verschiedener Autoren<sup>2</sup> der Kaliumaustausch weitgehend konzentrationsunabhängig ist.

Wir fanden den Kaliumumsatz der Erythrozyten einer an einem Carcinoma corporis uteri und einer an einem Carcinoma colli uteri Stadium III leidenden Patientin nicht grösser als bei Gesunden.

**Diskussion.** Rote Blutkörperchen von Mäusen, denen Aszitestumor intramuskulär injiziert wurde, in ihrem eigenen Plasma inkubiert, tauschen in der Zeiteinheit mehr Kalium aus als Kontrollerythrozyten. Der Unterschied wächst mit der Grösse des Karzinoms.

Die Erhöhung der Umsatzgeschwindigkeit des Kaliums ist stärker ausgeprägt beim Ehrlich-Landschütz-Aszitestumor.

Karzinomerythrozyten verbleiben auch im Kontrollplasma auf ihrem hohen Umsatzniveau. Daraus folgt, dass die Veränderung, die die roten Blutkörperchen im Krebsorganismus erleiden, irreversibel ist. Inwieweit ausserdem beim Karzinom eine abnorme Erythrozytenpopulation vorhanden ist, ist bisher ungeklärt<sup>3</sup>.

Dass auch ein im Plasma vorhandener Faktor ausreicht, um eine Änderung des Kaliumumsatzes hervorzurufen, geht daraus hervor, dass Kontrollerythrozyten schon nach 20 min Berührung mit Karzinomplasma einen erhöhten Kaliumumsatz zeigen.

Da ein Zusammenhang zwischen dem Eindringen von Kalium und Glukose in die Erythrozyten besteht<sup>4</sup>, untersuchten wir, ob eine Erhöhung der Glukosekonzentration des Plasmas auf über das Doppelte die Austauschgeschwindigkeit des Kaliums in den Erythrozyten zu beeinflussen vermag. Wir konnten keinen Unterschied feststellen. Es ist bekannt, dass die Erythrozyten des Karzinomblutes eine erhöhte Glykolyse aufweisen<sup>5</sup>.

D. LOCKNER\*

*Institut für Organische Chemie und Biochemie, Universität Stockholm, 2. April 1958.*

### Summary

The erythrocytes of mice inoculated with Ehrlich-ascites-tumor growing in the solid form interchange their potassium ions with those of the plasma at a more rapid rate than the erythrocytes of controls. This difference is also observed when the erythrocytes of tumor mice are incubated in normal plasma.

When normal erythrocytes are incubated in plasma of tumor mice, an accelerated potassium interchange is also observed.

<sup>2</sup> E. J. HARRIS, *Transport and Accumulation in Biological Systems* (Butterworth scientific Publications, London 1956), p. 87. – J. M. GLYNN, *J. Physiol.* 134, 278 (1956).

<sup>3</sup> G. v. EHRENSTEIN, *Acta physiol. scand.* (im Druck).

<sup>4</sup> E. J. HARRIS, *Transport and Accumulation in Biological Systems* (Butterworth scientific Publications, London 1956), p. 87.

<sup>5</sup> J. E. ULTMANN, G. A. HYMAN, J. L. HARVEY und A. R. DENTE, *Blood* 12, 1114 (1957).

\* Der Dank des Verfassers gilt Herrn Prof. G. v. HEVESY für sein förderndes Interesse und der Riksföreningen mot cancer für die Unterstützung dieser Untersuchungen.