

Dehydrogenases in Diethylstilbestrol-Induced Kidney Tumors of the Syrian Hamster

An incidental observation of the distribution of some oxidative enzymes in estrogen-induced kidney tumors of the Syrian hamster is reported here.

In an experiment designed to induce pituitary tumors, Diethylstilbestrol pellets (20 mg) were implanted s.c. in a group of male Syrian hamsters at intervals of 2 months, and the animals sacrificed at the end of 8 months. At autopsy bilateral kidney tumors were noticed in 2 animals. One kidney from each animal was processed for histological study and the other frozen on dry ice. Serial sections from the frozen kidney were cut in a cryostat (-15°C) at a thickness of 8μ and were incubated in the appropriate media for demonstrating the following oxidative enzymes: succinate, glucose-6-phosphate, β -hydroxybutyrate and isocitrate dehydrogenases, using Nitro Blue Tetrazolium (Nitro BT) as the hydrogen acceptor. Nicotinamide adenine diphosphate (NADP or TPN) was the coenzyme for glucose-6-phosphate and isocitrate dehydrogenases and nicotinamide adenine dinucleotide (NAD or DPN) for β -hydroxybutyrate dehydrogenase.

On histological examination a benign tubular adenoma was found to have replaced parts of the kidneys (Figure 1).

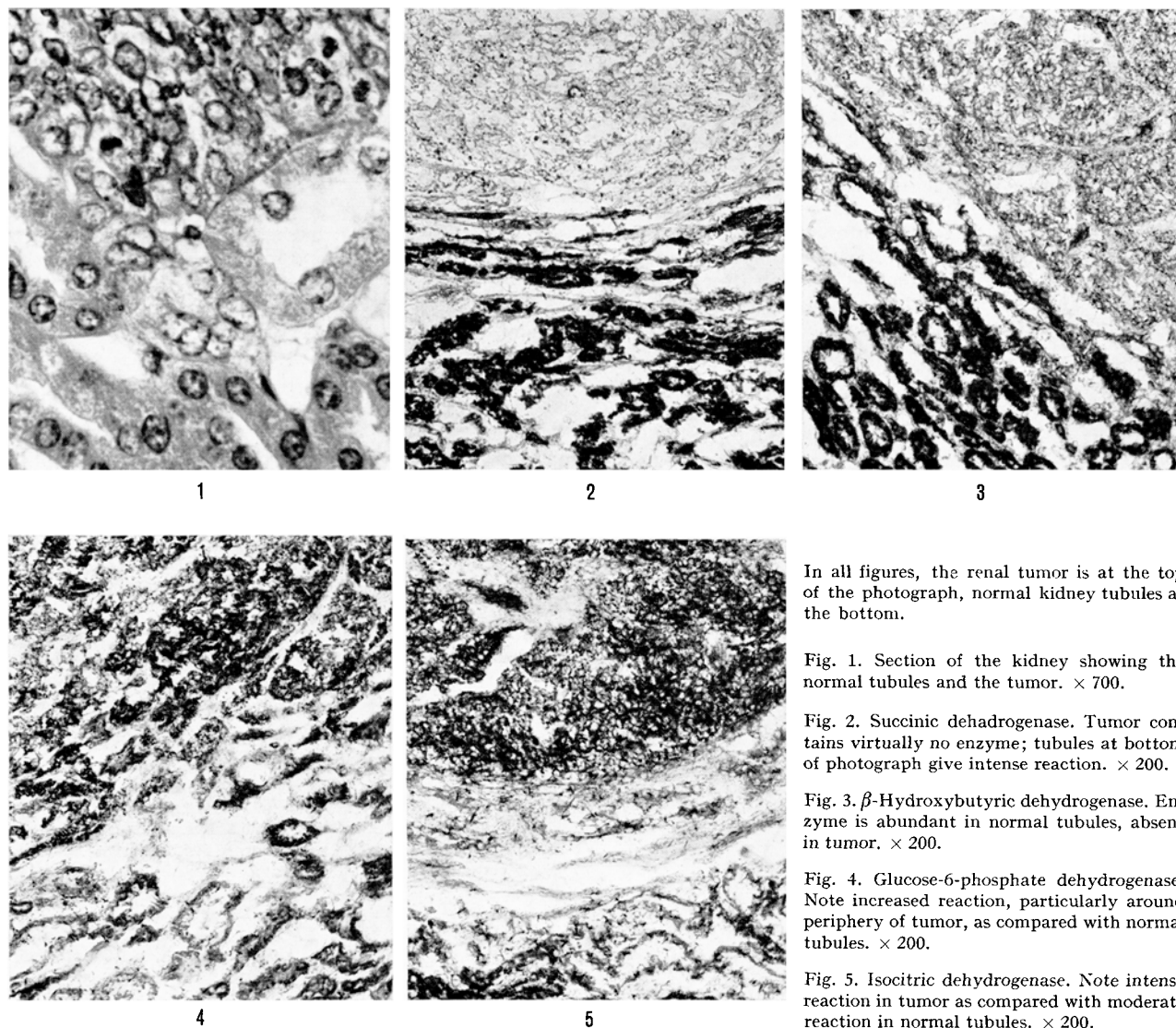
Staining for all the 4 enzymes in the normal kidney was more intense in the cortex than in the medulla. The staining for succinate and β -hydroxybutyrate dehydrogenases, however, was more intense in the normal tissue and conspicuous by its absence in the tumor cells (Figures 2 and 3). Staining for glucose-6-phosphate and isocitrate dehydrogenases was more intense in the cytoplasm of neoplastic cells than in normal cells (Figures 4 and 5).

KIRKMAN¹ and BLOOM et al.² have reported that kidney tumors in male hamsters are readily induced with estrogens. These tumors arise through the action of a hormone on an organ not ordinarily considered part of the endocrine system, and are estrogen-dependent.

A reduction or diminution of succinic dehydrogenase activity in spontaneous and induced neoplasms has been observed by many workers both by biochemical and

¹ H. KIRKMAN, Natn. Cancer Inst. Monogr. No. 1, (1959).

² H. J. G. BLOOM, C. E. DUKES and B. C. V. MITCHELY, Br. J. Cancer 17, 611 (1964).



In all figures, the renal tumor is at the top of the photograph, normal kidney tubules at the bottom.

Fig. 1. Section of the kidney showing the normal tubules and the tumor. $\times 700$.

Fig. 2. Succinic dehydrogenase. Tumor contains virtually no enzyme; tubules at bottom of photograph give intense reaction. $\times 200$.

Fig. 3. β -Hydroxybutyric dehydrogenase. Enzyme is abundant in normal tubules, absent in tumor. $\times 200$.

Fig. 4. Glucose-6-phosphate dehydrogenase. Note increased reaction, particularly around periphery of tumor, as compared with normal tubules. $\times 200$.

Fig. 5. Isocitric dehydrogenase. Note intense reaction in tumor as compared with moderate reaction in normal tubules. $\times 200$.

histochemical studies. Varying levels of β -hydroxybutyrate dehydrogenase in tumors have been observed^{3,4}. In human tumors studied by MELNICK⁴, no increase in isocitrate dehydrogenase has been found. Either this enzyme is hormone-responsive in hamsters as suggested by HOLLANDER et al.⁵ or it may be a source of reduced NADP. An increased glucose-6-phosphate dehydrogenase activity appears to be characteristic of both hyperplastic and neoplastic human mammary tissues⁶. This suggests that more glucose is metabolised by the hexose monophosphate pathway in the neoplastic tissues, or that glucose-6-phosphate dehydrogenase may be a hormone responsive enzyme⁷.

Zusammenfassung. Vier oxidative Enzyme wurden in Schnitten von Diäthylstilbestrol-induzierten Nierentumoren in Syrischen Hamstern nachgewiesen. Die Aktivitäten der Bernsteinsäure- und β -Hydroxybuttersäure-Dehydrogenasen waren schwächer im Tumor als in der

normalen Niere, diejenigen der Glucose-6-Phosphat- und Isocitronensäure-Dehydrogenasen dagegen stärker.

A. S. KRISHNA MURTHY and AGNES B. RUSSFIELD

The Children's Cancer Research Foundation and the Department of Pathology, Harvard Medical School at the Children's Hospital, Boston (Massachusetts 02115, USA), 24 July 1967.

³ A. C. AISENBERG, *The Glycolysis and Respiration of Tumors* (Academic Press, Inc., New York 1961).

⁴ P. J. MELNICK, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 125, 689 (1965).

⁵ V. P. HOLLANDER, D. E. SMITH and T. E. ADAMSON, *Cancer* 12, 135 (1959).

⁶ R. B. COHEN, *Cancer* 17, 1067 (1964).

⁷ This investigation was supported by grants No. CA-06142 and No. C-6516 from The National Cancer Institute, US Public Health Service, and grant No. FR-05219 from the USPHS Division of Research Facilities and Resources.

Elektronenmikroskopisch-cytochemische Untersuchungen an der Kernmembran von *Streptotheca thamesis*

Die schon lange bekannte Kernmembran¹ hat in den letzten Jahren als Ort und Regulationsorganell des nucleocytoplasmatischen Stoffaustauschs für viele cytologische Probleme an Bedeutung gewonnen. Zahlreiche Arbeiten berichten über Bau und Funktion des «nuclear envelope» und seiner erst durch die Elektronenmikroskopie entdeckten Kernporen (zusammenfassende Literatur bei²). Trotzdem lässt sich heute ein geschlossenes Bild, vor allem über die Funktion dieser Strukturen, noch nicht gewinnen.

Über die Kernmembran der Diatomee *Streptotheca thamesis* wurden an Hand von Ultradünnschnitten und vorhergehender enzymatischer Behandlung der ganzen Zellen die folgenden Resultate gewonnen.

Eine gute elektronenmikroskopische Darstellung der Kernmembran ist in hohem Masse von der Art der gewählten Fixierung abhängig. KMnO_4 – ein auch heute noch viel gebrauchtes Fixationsmittel besonders bei pflanzlichen Objekten – ist auch in geringen Konzentrationen und in Kombination mit anderen Fixierungsmitteln völlig ungeeignet. OsO_4 allein führt zu einer unbefriedigenden Strukturhaltung. Die besten Resultate liefert eine Doppelfixierung mit 2% Glutardialdehyd, gefolgt von 1% OsO_4 . Nach dieser Methode erscheint die Kernhülle als deutlich bilamelläre Begrenzung des Zellkerns (Figur 1). Die Kontinuität der beiden Lamellen wird durch zahlreiche Kernporen unterbrochen. Die ungefähre Zahl der Poren liegt bei 6000–7000 pro Kern; das entspricht annähernd 3% der Kernoberfläche. In Kerntangentialschnitten erweisen sich die Poren als runde bis schwach ovale Strukturen mit einem mittleren Durchmesser von 800 Å. Der Porenannulus besteht aus diffusum Material und einer grösseren Zahl von 190 Å Granula³. Auf Tangentialschnitten durch Porenannuli sieht man, dass diese Granula nicht symmetrisch, sondern anscheinend regellos verteilt sind. Konsequenterweise lässt auch ein Querschnitt durch eine Pore keine bevorzugten Symmetrien im Bau des Porenannulus erkennen, und auch eine Analyse nach der MARKHAMschen Rotationsmethode⁴ führte wiederum zu dem Ergebnis, dass in den

Kernporen von *Streptotheca* keine übergeordneten Struktursymmetrien vorliegen. Gegenteilige Befunde sind bekannt bei *Rana*⁵ und *Allium*⁶. Für beide Objekte wurde

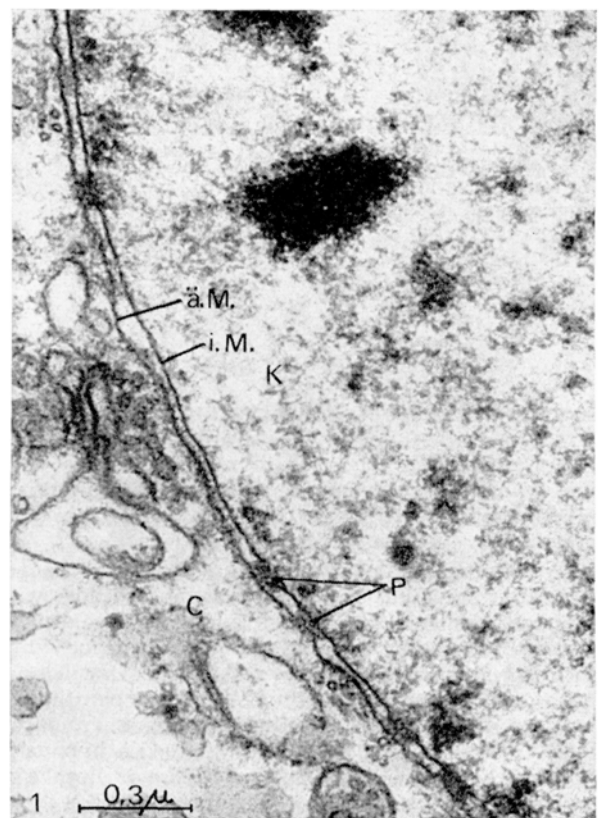


Fig. 1. Intakte Kernmembran ($\times 50000$).