

Respiration and PAH accumulation within kidney slices of animals with cloudy swelling

Type of treatment	None	<i>S. typhi murium</i> toxin	<i>Staphylococcus</i> toxin (24 h)	<i>Staphylococcus</i> toxin (96 h)	<i>Staphylococcus</i> toxin (120 h)	DNP	Thyroxine
No. of experiments	18	7	9	4	4	6	7
Nitrogen (mg/g) . . .	27.1 ± 1.20	28.6 ± 0.50	28.2 ± 1.00	31.3 ± 1.40	28.4 ± 0.80	27.3 ± 0.20	27.7 ± 0.80
QO ₂	1.06 ± 0.11	1.33 ± 0.07	1.34 ± 0.14	1.34 ± 0.04	1.23 ± 0.10	1.37 ± 0.08	1.51 ± 0.11
QO ₂ acetate	1.41 ± 0.11	1.63 ± 0.22	1.64 ± 0.14	1.49 ± 0.16	1.62 ± 0.10	1.62 ± 0.18	1.68 ± 0.30
Stimulation % by acetate	33.0 ± 12.0	22.5 ± 17.7	22.3 ± 7.70	11.2 ± 9.30	31.7 ± 1.50	18.2 ± 7.6	11.2 ± 13.0
S/M	5.40 ± 0.63	4.67 ± 1.03	4.79 ± 1.10	4.23 ± 0.75	3.66 ± 1.0	3.33 ± 0.45	3.59 ± 1.09
S/M acetate	6.70 ± 0.80	4.82 ± 0.99	5.43 ± 1.24	5.04 ± 0.76	4.37 ± 1.11	3.24 ± 0.46	4.24 ± 1.35
Stimulation % by acetate	24.0 ± 9.4	3.20 ± 3.00	13.3 ± 11.4	19.1 ± 6.00	19.4 ± 4.60	-2.7 ± 0.50	18.1 ± 12.1
Q	5.21 ± 0.69	3.53 ± 0.88	3.61 ± 0.85	3.13 ± 0.55	3.55 ± 0.12	2.41 ± 0.20	2.40 ± 0.72
Q acetate	4.86 ± 0.80	3.05 ± 0.98	3.52 ± 0.75	3.99 ± 0.40	3.79 ± 0.15	1.98 ± 0.16	2.64 ± 1.07

gen was not significantly increased, while it increased remarkably in all other cases studied. Acetate stimulated in all cases the O₂ uptake. Percent stimulation by acetate was not significantly modified in rats treated with the toxins of *S. typhi murium* or of *S. pyogenes aureus* (after 24 and after 120 h), but was consistently decreased in those treated either with DNP or with thyroxine, or also injected with the *Staphylococcus* toxin 96 h before.

The S/M ratio, either in the absence or in the presence of acetate, was not significantly decreased in rats treated with *S. typhi murium* toxin and also in those injected 24 h before with the *Staphylococcus* toxin. It was, however, strongly decreased after all other types of treatments used. Stimulation of the accumulation of PAH produced by acetate was consistently decreased in rats treated with the toxin of *S. typhi murium* and in those injected with *Staphylococcus* toxin 24 h before; it was abolished in those treated with DNP, but remained practically unmodified in the other cases.

The values of the quotient S/M: QO₂(Q) were strongly decreased in all groups of rats, either in the presence or in the absence of acetate. The extent of the decrease was particularly high in rats treated with DNP and in those injected with thyroxine.

The histological feature of the kidney of all groups studied was that of cloudy swelling. The rats treated with the *Staphylococcus* toxin sometimes also showed glomerular damage. This consisted of hypernucleosis, dilatation of the glomerular capillaries, and oedema. These alterations were particularly severe in the animals treated 96 h before with the toxin, but were generally decreased 120 h after the injection. Small foci of tubular necrosis were sometimes seen.

These results show that treatments which produce a decrease in the efficiency of oxidative phosphorylation, as well as cloudy swelling in the kidney, produce also a decrease of PAH accumulation within the kidney cortex slices.

The fact that the Q ratios are strongly decreased in all treated groups shows that the increase of the oxidative rate is without effect with respect to PAH accumulation. These facts agree with the hypothesis that the accumula-

tion of PAH within the kidney slices probably depends upon the functioning of oxidative phosphorylation.

B. FIDA, G. C. BIAGGINI,
and M. U. DIANZANI

Institute of General Pathology of the University of Genoa (Italy), November 26, 1958.

Riassunto

L'incorporazione dell'acido *p*-aminoippurico nelle sezioni di rene di ratto è diminuita nel rigonfiamento torbido provocato dal trattamento parenterale con tossina stafilococcica, con dinitrofenolo o con tiroxina. Tutti questi trattamenti provocano anche dissociazione delle fosforilazioni dalle ossidazioni.

Nebennierenfunktion und Veränderungen der Leber nach Röntgenbestrahlung

Nach Ganzbestrahlung diverser Säugetiere wurden Störungen verschiedener Leberfunktionen, Leberschädigung in Form der fettigen Degeneration und Gewichtszunahme des gesamten Leberfettes beobachtet¹⁻³. Nach ELLINGER¹, BETZ² und BACQ⁴ werden diese Veränderungen durch die Dysfunktion des Hypophyse-Nebennieren-Systems bewirkt, als Folge der Belastung des Organismus durch Röntgenstrahlen. Adrenalektomie² wie auch Verabreichung von Desoxycorticosteron¹ wirken hemmend auf diese Erscheinungen. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich eingehender mit diesem Problem.

In unseren Versuchen wurden weisse Mäuse beiderlei Geschlechts aus dem H-Stamm verwendet. Sie wurden mit Larsen-Diät und Trinkwasser *ad libitum* gefüttert; in

¹ F. ELLINGER, Proc. Soc. exp. Biol. Med. N. Y. 64, 31 (1947).

² E. H. BETZ, Contribution à l'étude du syndrome endocrinien provoqué par l'irradiation totale de l'organisme (Paris 1955).

³ M. SKALKA (in Vorbereitung).

⁴ Z. M. BACQ und P. ALEXANDER, Fundamentals of Radiobiology (London 1955).

Tabelle I

Leberfettgehalt bei bestrahlten Mäusen (Weibchen),
Operation vor der Bestrahlung

Unbestrahlte Kontrolltiere	$3,1 \pm 0,57$ (8)*
Bestrahlte Tiere mit 2 Nebennieren . . .	$7,2 \pm 1,71$ (12)
Bestrahlte Tiere mit 1 Nebenniere . . .	$8,7 \pm 1,23$ (12)
Bestrahlte Tiere mit $\frac{1}{2}$ Nebenniere . . .	$7,6 \pm 1,22$ (10)
Bestrahlte Tiere ohne Nebennieren . . .	$3,8 \pm 1,45$ (10)

Tabelle IV

Leberfettgehalt bei bestrahlten Mäusen (Männchen),
mit Desoxycorticosteronacetat behandelt

	Ohne Behandlung	Mit Behandlung
Unbestrahlte Tiere . . .	$3,7 \pm 0,60$ (6)	$3,6 \pm 0,84$ (6)
Bestrahlte Tiere . . .	$7,6 \pm 2,12$ (10)	$7,2 \pm 2,06$ (10)

den Versuchen mit Adrenalektomie wurde das Trinkwasser durch eine physiologische Lösung ersetzt. Die folgenden Operationen wurden in leichter Äthernarkose durchgeführt: Entfernung beider Nebennieren, Entfernung einer (linken) Nebenniere, Entfernung einer ganzen und einer halben Nebenniere (die eine Hälfte der linken Nebenniere blieb übrig) und endlich eine Kontrolloperation ohne Nebennierenentfernung. Die operierten Tiere wurden innerhalb von 2–4 h nach der Operation bestrahlten. In einem anderen Versuch wurden beide Nebennieren im Abstand von 1,4 und 7 Tagen nach der Bestrahlung entfernt, parallel wurden Kontrolloperationen durchgeführt. Bestrahlungsbedingungen: 180 kV; 1 mm Al, 0,5 mm Cu; 60 r/min; Gesamtdosis 620 r, mit Mekapion gemessen. In einigen Versuchen wurde Desoxycorticosteronacetat in der Menge von 0,25 mg per Maus und Tag oder Cortisonacetat in der Menge von 0,25 mg und 0,5 mg per Maus und Tag verabreicht. Die Leber solcher Tiere, die zwischen dem 7.–10. Tag nach Bestrahlung eingingen, oder die am 10. Tag getötet worden sind, wurde auf ihrem Fettgehalt geprüft. Die Gesamtfette wurden durch Alkohol-Äther-Mischung (3:1) wiederholt extrahiert, durch Chloroform reextrahiert und nach Verbrennung in bekannter Menge von Bichromat-Schwefelsäurelösung nach KIBRICK⁵ durch iodometrische Titration bestimmt. Der Fettgehalt der Leber wurde in Prozenten des frischen Lebergewichtes angegeben.

⁵ A. C. KIBRICK und S. J. SKUPP, Arch. Biochem. Biophys. 44, 134 (1953).

Die Resultate unserer Versuche sind in Tabellenform wiedergegeben.

Der erste Versuch (Tab. I) zeigt, dass die Adrenalektomie die Leber, wie schon früher festgestellt wurde, vor der Entstehung der Fettinfiltration schützt. Dagegen ist die eine Hälfte der Nebenniere völlig ausreichend, um den Verlauf dieser Reaktion zu ermöglichen.

Die Resultate des zweiten Versuches zeigen (Tab. II), dass auch die erst nach der Bestrahlung durchgeföhrte Adrenalektomie die Vermehrung von Leberfetten hemmt. Nur bei Mäusen, die am 7. Tage adrenalektomiert wurden, sieht man eine mässige Zunahme der Leberfette, welche wahrscheinlich schon vor dem 7. Tage stattgefunden hat.

Aus den weiteren Versuchen (Tab. III) geht hervor, dass die Verabreichung kleiner Mengen von Cortison imstande ist, die Fähigkeit adrenalektomierter Tier zur Vermehrung von Leberfetten zu erneuern. Die benutzten Mengen verursachen dagegen sowohl bei unbestrahlten Tieren wie auch bei bestrahlten Mäusen mit beiden Nebennieren keine Veränderungen im Fettgehalt der Leber.

Nach dem letzten Versuch können wir den histologischen Befund von ELLINGER¹, wonach die Verabreichung von Desoxycorticosteron die Fettinfiltration der Leber nach der Bestrahlung vermindert, nicht bestätigen. Wir finden nämlich in unserem Versuch keinen Unterschied im Fettgehalt der Leber zwischen den beiden Versuchsgruppen (Tab. IV).

* In allen Tabellen sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen und Anzahl der Tiere (in Klammern) angegeben.

Tabelle II

Leberfettgehalt bei bestrahlten Mäusen (Männchen), Adrenalektomie nach der Bestrahlung

	Durchführung der Operation		
	1. Tag	4. Tag	7. Tag
Unbestrahlte Kontrolltiere			
Bestrahlte Kontrolltiere	$7,7 \pm 1,39$ (5)	$3,9 \pm 0,60$ (8)	$8,6 \pm 2,05$ (5)
Bestrahlte adrenalektomierte Tiere	$4,4 \pm 1,82$ (10)	$4,2 \pm 1,69$ (13)	$5,0 \pm 1,50$ (15)

Tabelle III

Leberfettgehalt bei bestrahlten Mäusen (I Männchen, II Weibchen), mit Cortison behandelt

		Behandlung mit Cortisonacetat		
		ohne	0,25 mg/Tag	0,5 mg/Tag
I	Unbestrahlte Kontrolltiere	$4,1 \pm 0,75$ (7)	$4,1 \pm 0,29$ (8)	$4,3 \pm 0,43$ (8)
	Bestrahlte Kontrolltiere	$8,3 \pm 2,90$ (7)	$7,7 \pm 2,29$ (8)	$8,1 \pm 2,66$ (7)
	Unbestrahlte adrenalektomierte Tiere	$3,9 \pm 0,26$ (8)	$4,7 \pm 1,18$ (8)	$4,3 \pm 0,69$ (8)
	Bestrahlte adrenalektomierte Tiere	$4,2 \pm 1,27$ (8)	$5,8 \pm 1,92$ (8)	$8,8 \pm 2,49$ (7)
II	Unbestrahlte Kontrolltiere	$3,3 \pm 0,70$ (7)	$3,2 \pm 0,36$ (7)	$3,5 \pm 0,83$ (7)
	Bestrahlte Kontrolltiere	$7,1 \pm 1,90$ (7)	$8,0 \pm 1,45$ (7)	$6,6 \pm 1,77$ (7)
	Unbestrahlte adrenalektomierte Tiere	$3,0 \pm 0,55$ (8)	$3,1 \pm 0,35$ (7)	$3,1 \pm 0,73$ (9)
	Bestrahlte adrenalektomierte Tiere	$3,4 \pm 0,76$ (8)	$7,2 \pm 1,16$ (8)	$8,3 \pm 1,82$ (8)

Die Versuchsresultate führen uns zu folgenden Schlussfolgerungen: Zur Entstehung der Fettinfiltration der Leber nach Bestrahlung ist das Vorhandensein von wenigstens einem kleinen Teil der Nebennierenrinde notwendig, was schon früher mit Rücksicht auf die Wirkung von verschiedenen Noxen⁶ festgestellt wurde. Zugabe von Cortison kann die Nebennierenrindenaktivität ersetzen, wie dies auch bei der Fettinfiltration der Leber durch Alkoholvergiftung der Fall ist⁷.

Wir kommen deshalb zur Ansicht, dass die Nebennierenrinde mit ihren Hormonen im Fall der Fettinfiltration nach Bestrahlung nur die Rolle eines Vermittlers spielt, welche metabolische Wege zur Fettvermehrung in der Leber aus anderen Gründen ermöglicht. Nach unseren Versuchen ist es nicht möglich, die Verfettung der Leber als Folge der Störung der Nebennierenrindenfunktion durch Bestrahlung aufzufassen.

M. SKALKA

Biophysikalisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Brno, 14. Oktober 1958.

Summary

The presence of adrenals is necessary for the genesis of the fatty liver damage in the second week after the total-body X-irradiation. Cortison in moderate daily doses is capable of replacing this function of the adrenals in adrenalectomized mice.

⁶ E. M. MACKAY und H. O. CARNE, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 38, 131 (1938). — F. VERZÁR und L. LASZT, Biochem. Z. 288, 356 (1936).

⁷ S. MALLOW und J. L. BLOCH, Amer. J. Physiol. 164, 29 (1956).

Die Infektiosität des Ribonukleinsäureanteils von Maul- und Klauenseuche-Virus

Nachdem es im Jahre 1956 GIERER und SCHRAMM^{1,2} sowie 1957 FRAENKEL-CONRAD, SINGER und WILLIAMS³ gelungen war, das Virus der Tabakmosaikkrankheit in infektiöse Ribonukleinsäure (RNS) und einen apathogenen Proteinanteil zu trennen, ist in kurzer Aufeinanderfolge auch über die Gewinnung von infektiösen RNS aus verschiedenen tierpathogenen Viren berichtet worden^{4,5}.

So haben BROWN, SELLERS und STEWART DOREEN⁶ vor kurzem aus dem Maul- und Klauenseuche-Virus (MKS) RNS-Präparate erhalten können, die sich für die säugende Maus und für Kulturen von Schweinenieren-Zellen als infektiös erwiesen.

Ganz analoge Versuche sind von uns unternommen worden, nachdem es sich gezeigt hatte, dass für die Aufteilung in RNS-Anteil und Protein von verhältnismässig wenig gereinigten Viren ausgegangen werden kann^{4,5}.

Als Ausgangsmaterial für die Gewinnung infektiöser RNS aus MKS-Virus benützten wir Zungenaphthen von künstlich mit MKS-Virus infizierten Rindern. Zur Infektion der Rinder waren die Stämme Spanien II (0-Typ),

Eystrup (A-Typ) und Tölz (C-Typ) verwendet worden. Es kamen sowohl frisch gewonnene Zungenaphthen als auch solche, die während 9 Monaten bei -40° aufbewahrt worden waren, zur Verwendung. Die Virus enthaltenden Zungenepithelien wurden mechanisch fein zerkleinert und hierauf mit 0,02 M Phosphat-Puffer (pH 7,5–7,6) im Verhältnis 1:4 aufgenommen, anschliessend 30 min bei 8000 T/min zentrifugiert. Die so gewonnene Virussuspension wurde mit dem gleichen Volumen Chloroform durch kräftiges mechanisches Rühren homogenisiert, anschliessend zentrifugiert, abdekantiert und die überstehende Lösung während 24 h bei $+4^{\circ}$ aufbewahrt.

Die Gewinnung infektiöser RNS aus dieser Virussuspension geschah sodann mit der Phenolmethode nach GIERER und SCHRAMM^{1,2}.

Der RNS-Anteil aller 3 Virustypen (0, A und C) erwies sich sowohl auf Rind wie auf Meerschweinchen als infektiös. Das in diesen Tieren gebildete Virus liess sich in Passagen weiterzüchten und zeigte jedesmal typenspezifisch an (Komplementbindungsreaktion).

Der absolute Beweis des Fehlens von restlichen Viruspartikeln in unseren RNS-Präparaten konnte noch nicht erbracht werden. (In jedem Versuch wurden 3–5 Phenolextraktionen und anschliessend 4–5 Ätherextraktionen ausgeführt.)

Immerhin deuten folgende Prüfungen auf das Fehlen von komplettem Virus in unseren infektiösen RNS-Lösungen hin:

1. Nach Behandlung mit Ribonuklease in einer Konzentration von 10–20 µg pro ml verliert der RNS-Anteil vollständig seine Infektiosität (Kontaktzeit 15 min bei $+4^{\circ}$). Eine Viruskontrollsuspension, die sogar auf 10^{-4} verdünnt worden war, behielt unter gleichen Bedingungen ihre Infektiosität vollständig bei.

2. Erwärmung während 30 min auf 37° vernichtet die Aktivität der RNS. Eine Viruskontrollsuspension (Verdünnung 10^{-4}) zeigte unter gleichen Bedingungen keine Einbusse der Infektiosität.

3. Die RNS-Lösungen verlieren ihre Wirksamkeit sehr rasch. Eine Lösung erwies sich nach 4 Tagen bei -4° nicht mehr als infektiös. Eine weitere RNS-Lösung zeigte schon nach 48 h bei $+4^{\circ}$ keine Wirksamkeit mehr. Nach 24 h bei $+4^{\circ}$ erwies sich ein RNS-Präparat noch als infektiös, jedoch in erheblich reduziertem Massen. Suspensionen von komplettem Virus der MKS bleiben auch in starken Verdünnungen bei obigen Temperaturen und in gleichen Zeiträumen noch stark infektiös.

V. SPÜHLER

Eidg. Veterinäramt, Bern, und Eidg. Vakzine-Institut, Basel, 29. Dezember 1958.

Summary

Using the phenol method described by GIERER and SCHRAMM, preparations of infective ribonucleic acid were prepared from tongue tissues of cattle infected with the virus of foot-and-mouth disease.

Induction of Lactation in Precancerous Hyperplastic Alveolar Nodules in the Mammary Gland of C3H/He Crgl Mice

The hyperplastic alveolar nodule in the mammary gland of the C3H/He Crgl mouse is a precancerous lesion that is morphologically indistinguishable from a normal

¹ A. GIERER und G. SCHRAMM, Nature 177, 702 (1956).

² A. GIERER und G. SCHRAMM, Z. Naturforsch. 11b, 138 (1956).

³ H. FRAENKEL-CONRAD, B. SINGER und R. C. WILLIAMS, Biochim. biophys. Acta 25, 87 (1957).

⁴ J. S. COLTER, *Progr. med. Virol.*, vol. 1 (Karger, Basel/New York 1958), p. 1–35.

⁵ E. WECKER und W. SCHÄFER, Z. Naturforsch. 12b, 415 (1957).

⁶ F. BROWN, R. F. SELLERS, and DOREEN L. STEWART, Nature 182, 535 (1958).