

Urea and creatinin clearances were calculated according to the formula UV/P . We are aware that there was much discussion about the value of the endogeneous creatinin clearance determinations, but considering the use of BARRET and ADDIS¹ modifications for the determination of the serum creatinin and KAPLAN and SMITH's² report about the identity of creatinin and inulin clearances in the rabbit, we thought the procedure sufficient for determining rough changes in the GFR values. With the more usual exogeneous infusion technics it would have been impossible to extend the duration of one period to 24 hours.

We found that in all cases where we succeeded in sustaining the elevated serum sodium values above 170 maeq. for a period of at least 18 hours an azotemia developed. This effect was reversible, as, when giving water *ad libitum*, we sometimes succeeded in restoring the normal chemical composition of the serum. There was much difference between the animals in their reaction to the enormous quantities of NaCl injected. Some of them excreted the injected quantity in the form of 1,6 osmolar urine. In these cases there was no hypersalemia and no azotemia. In other cases we gave less salt, and nevertheless the hypersalemia and consequent azotemia developed.

In the table we are giving the data of one control (fasting and thirsting rabbit, with no salt given) and three typical experiments. Comparison of the data with the control reveals that the three sera have an increased sodium content and a marked azotemia. The endogeneous creatinin clearances do not show significant changes (compared with the control period of each animal), and so there is no sign of a retention azotemia. The N production, i.e. N excreted + N retained, calculated in mg/day/kg, is not higher than in cases with excessive protein catabolism without azotemia. Comparing the ratio urea clearance/GFR, a significant drop can be seen, the reabsorption of urea being 67, 79, and 70% respectively of the filtered quantity. The drop in urea clearance is well known in connection with decreased urine flow, but in our cases the rate of diuresis was fairly large throughout the experiment.

The histological examination of the kidney (Prof. G. Romhányi) revealed a fatty infiltration in the stroma of the loop of Henle and on the basal membrane of the collecting ducts as well. The nuclei in the ascending loop of Henle are pyknotic. Cortex and glomeruli were perfectly normal.

According to FISHBERG³ "it has not been demonstrated that structural changes in the kidney cause impairment of tubular reabsorption while glomerular filtration is unimpaired". By giving large quantities of hypertonic NaCl solution subcutaneously to fasting and thirsting rabbits we succeeded in developing an enduring hypersalemic condition, always connected with azotemia. GFR (measured by endogeneous creatinin clearance) remained unaltered and the ratio urea clearance/GFR decreased. Thus the greater part of the filtered urea was reabsorbed through the damaged tubular wall, which seems to have lost its capacity to withstand the enhanced urea reabsorption (or rediffusion). As the quantity of the filtered urea and N production of the body remained normal, the azotemia was exclusively due to tubular re-

absorption. The histological picture of the kidney is an additional proof of the exclusivity of tubular damage.

P. BALINT, L. HARSING, M. LENNER, and I. RUSZNYÁK

First Medical Clinic of the University of Budapest, October 1, 1948.

Zusammenfassung

Durch subkutane Verabreichung großer Mengen einer hypertonischen Kochsalzlösung an hungernde und durstende Kaninchen gelang es uns, einen hypersalämischen Dauerzustand mit anschließender Azotämie hervorzurufen. Die Bestimmung der glomerulären Filtration ergab normale Werte, das Verhältnis Harnstoff-Clearance/Kreatinin-Clearance sank jedoch erheblich. Dies kann nur so gedeutet werden, daß von der normalen Menge filtrierten Harnstoffes ein pathologisch hoher Prozentsatz resorbiert wird. Es gelang also, eine Azotämie ausschließlich tubulären Ursprungs hervorzurufen. Das histologische Bild der Niere mit ausschließlich tubulären Veränderungen bekräftigt obige Annahme.

PRO LABORATORIO

Einige Verbesserungen in der Haltung und Aufzucht von *Xenopus laevis*

Die Grundlinien der Zucht von *Xenopus* sind schon seit einigen Jahren bekannt und auch in der Literatur zugänglich¹. Trotzdem bereitet die Gewinnung regelmäßiger und gut entwicklungsfähiger Laichablagen in manchen Instituten Schwierigkeiten. Dem Wunsche verschiedener Kollegen entsprechend teilen wir unsere Erfahrungen mit, wobei wir hauptsächlich die von uns erprobten Verbesserungen (*), die u.W. noch nicht bekannt sind, anführen. In den übrigen Einzelheiten entspricht unsere Zuchtmethode weitgehend der von GASCHÉ² und OCHSÉ³, erfordert jedoch viel weniger Arbeit.

1. *Adulte Tiere*. Die numerierten erwachsenen Tiere (vgl. OCHSÉ, 1948) werden, ♀ und ♂ getrennt, in großen Aquarien gehalten, im * Sommer womöglich im Freien in gutbelichteten, aber nicht direkt besonnten Zuchttrögen (Hebung der Fortpflanzungsleistungen und des Gesundheitszustandes). Adulte Spornfrösche ertragen größere Temperaturschwankungen ohne Schaden, doch sollte die Wassertemperatur nicht unter 10–12° sinken. Das Optimum liegt bei etwa 23°.

2. *Gewinnung des Laiches*. Die Spornfrösche sind im Sommer (Mai–August) gegenüber der Hormonbehandlung empfindlicher (sogar spontanes Laichen wurde im Freien beobachtet), während sie vom November bis Februar nur auf stärkere Hormondosen reagieren (siehe unten). Zur Behandlung wird gonadotropes Chorionhormon aus Schwangerenharn (Präparat der Ciba) verwendet (200 IE/mg). Der Extrakt wird in Frosch-Ringer-Lösung gelöst (Konzentration: 5–6 mg auf 2 cm³ im Sommer, 8 mg auf 2 cm³ im Winter) und in den Rückensack injiziert (Abb. bei OCHSÉ, 1948). Die Dosis richtet sich nach Jahreszeit und Zustand des Tieres. Bei den ♂, oft auch bei den ♀, hat sich eine * Vorbehandlung sehr gut bewährt.

Behandlung der ♂: * Vorbehandlung: Innert 4–7 Tagen 1–2 Injektionen mit 0,6 cm³. Im Winter ist meist die stärkere Behandlung nötig. Im übrigen muß man

¹ E. BARRETT and T. ADDIS, J. Clin. Invest. 26, 875 (1947).

² B. I. KAPLAN and H. W. SMITH, Amer. J. Physiol. 113, 354 (1935).

³ A. M. FISHBERG, Hypertension and Nephritis (Lea and Febiger, Philadelphia, 1947), p. 32.

¹ Eine Zusammenstellung der über *Xenopus* erschienenen Arbeiten findet sich in: H. ZWARENSTEIN, N. SAPEIKA, and H. A. SHAPIRO, *Xenopus laevis*, a bibliography (The African Bookman, Cape Town, 1946).

² P. GASCHÉ, Rev. suisse de Zool. 50, 262 (1943).

³ W. OCHSÉ, Gynaccologia 126 (Fasc. 2), 57 (1948).

sich nach dem Zustand des Tieres richten. Die erste Reaktion auf die Injektion äußert sich meist durch Erbrechen von Mageninhalt und Häutung. Die Kopulationsbereitschaft erkennt man beim ♂ an der Schwärzung der Vorderpfoten, an Umklammerungsbewegungen und Quaken unter Wasser. Vor der Kopulation sind noch weitere 0,6 cm³ zu injizieren.

Behandlung der ♀. * Vorspritzen ist meist nur im Winter nötig; es geschieht 4–7 Tage vor der Kopulation mit 0,3–0,5 cm³ oder, wenn die Kopulationsbereitschaft (erkennbar an den leicht geröteten Analpapillen) etwas weiter fortgeschritten ist, nur mit 0,1–0,3 cm³ 1–2 Tage vor der Paarung. Unmittelbar vor dieser erhält das ♀ eine Spritze von 0,5–0,6 cm³, wenn es vorbehandelt ist, sonst etwa 0,7 cm³.

Zur Paarung sollte man nur ♀ mit ausladenden, prallen Flanken verwenden. Die größte und oft nicht beachtete Schwierigkeit der Behandlung besteht darin, ♀ und ♂ zur gleichen Zeit kopulationsreif zu machen.

So ist es notwendig, die Partner während der Vorbehandlung in Einzelgefäßen zu halten, um eine vorzeitige Kopulation mit ungenügender Spermaabgabe zu verhindern. Die Weibchen werden von uns nur alle 4–6 Monate zur Eiablage veranlaßt.

3. **Eier.** Bei richtig abgestimmter Hormonbehandlung und Schutz vor Störungen bei der Kopulation sind oft mehr als 90 % der abgelegten Eier befruchtet; der Durchschnitt bewegt sich zwischen 70 und 80 %, liegt also wesentlich höher als bei OCHSÉ.

Nach beendeter Eiablage (etwa nach einem Tag) müssen die Adulten entfernt und das durch sie verunreinigte Wasser vorsichtig (Temperaturschwankungen und Schädigung durch mechanische Einwirkung vermeiden!) gewechselt werden. Der Laich ist evtl. auf mehrere Aquarien zu verteilen und darf nicht in dicken Ballen zusammenliegen. Leere, faulende Eihüllen und unbefruchtete Eier sind zu entfernen, denn *starke Fäulnis* (auch des Futters) *schädigt die jungen Larven* nachhaltig (siehe auch OCHSÉ, 1948).

4. **Larven.** Sobald die Larven frei umherschwimmen und zu fressen beginnen, werden sie gegen * *chlorhaltiges Leitungswasser stark empfindlich*. Eine Chlorkonzentration von 1:20 000 000 wirkt noch tödlich, bei 1:50 000 000 ist die Entwicklung normal. Die Aquarien sind daher nicht mit frischem chlorhaltigen Leitungswasser zu beschicken, sondern mit Wasser, das einige Tage in offenen Behältern gestanden war. Mit der Fütterung wird begonnen, wenn die Kaulquappen frei umherschwimmen und regelmäßig schnappen. Gefüttert wird täglich mit Brennesselpulver (GASCHE, 1943), so daß das Wasser gleichmäßig trüb ist.

* **Zubereitung des Futters.** Brennesselpulver wird durch ein feines Weißmehlsieb gesiebt. Nur der feine Anteil wird mit heißem Wasser aufgeschwemmt und abfiltriert. Das grünlichgelbe Filtrat, das Kahmhautbildung und Fäulnis fördert, wird weggeschüttet. Der Filtrierrückstand wird erneut mit lauem Wasser aufgeschwemmt und als Futter verwendet. Bakterien- und Pilzentwicklung werden so auf ein Minimum reduziert.

Die Aquarien sollen wöchentlich einmal (nach OCHSÉ, 1948, öfter) gereinigt werden. * Hierbei werden die Larven sorgfältig durch ein in ein Aquarium getauchtes Sieb oder Netz gegossen, das den Unrat durchläßt, die Larven jedoch zurückhält, und dann in ein vorbereitetes reines Aquarium gebracht.

G. ANDRES, A. BRETSCHER,
F. E. LEHMANN und D. ROTH

Zoologisches Institut der Universität Bern, Abteilung für Zoophysiology, den 9. September 1948.

Summary

In order to obtain a high percentage of fertilized eggs and to reduce losses of larvae to a minimum several not yet generally known improvements of raising methods are given in our note. A double treatment of males and females during a few days with gonadotropic chorion-hormone is especially in winter time successful and results in high numbers of fertilized eggs.

A Histochemical Method for the Demonstration of Fat Peroxides¹

It has been shown that certain symptoms in chicks (exudative diathesis, brown coloration of the adipose tissue, and encephalomalacia) and in rats (yellow-brown coloration of the adipose tissue, and depigmentation of the incisors) depend upon the feeding of vitamin E deficient diets containing highly unsaturated fatty acids². Formation of peroxides preceded and, in some instances paralleled the brown coloration, in the adipose tissue of these animals^{3,4}. The pigment responsible for the coloration of the adipose tissue was found to consist of at least 2 fractions: one of them is fat soluble, while the other, which occurs in larger amounts, is not extracted by lipid solvents. A preliminary chemical characterization of the latter pigment showed it to agree with the description of "Ceroid", the pigment found in various tissues in experimental liver cirrhosis in rats^{3,5}.

Histologically, the gross pigment (non-fat-soluble fraction) in the adipose tissue was found to be represented by an acid-fast pigment in the fat cells at different stages of development. Furthermore, the histopathological changes that occur in the adipose and other tissues have been studied to a certain extent⁶.

In several of the works reviewed above^{7,8,9} it has been suggested that the mentioned symptoms found in chicks and rats could be due to an abnormal oxidation of the highly unsaturated fatty acids, in absence of the antioxidant effect of vitamin E in the tissues. It was also suggested that such a peroxidation could cause the changes which lead to the development of the acid-fast pigment in the adipose tissue. The finding of a considerable formation of peroxides in the tissues affected^{7,10} supported these suggestions. However, in order to further the study of the relationship between the peroxidation and the development of the above-mentioned symptoms, it has been proved fundamental to develop a method for the histological demonstration of peroxides. Such a method should prove also important for the understanding of the

¹ A preliminary report of this paper was presented at the 6th Scandinavian Physiological Congress, Acta Physiol. Scand. 16, suppl. 53, 29 (1948).

² H. DAM, J. Nutrition 27, 193 (1944); 28, 297 (1944). – H. GRANADOS and H. DAM, Science 101, 250 (1945); Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 59, 295 (1945).

³ H. DAM and H. GRANADOS, Acta Physiol. Scand. 10, 162 (1945).

⁴ H. DAM and H. GRANADOS, Science 102, 327 (1945).

⁵ P. GYORGY and H. GOLDBLATT, J. Exp. Med. 75, 355 (1942). – K. M. ENDICOTT and R. D. LILLIE, Amer. J. Pathol. 20, 149 (1944).

⁶ H. DAM and K. E. MASON, Fed. Proc. 4, 153 (1945). – K. E. MASON, H. DAM, and H. GRANADOS, Anat. Rec. 94, 265 (1946). – H. GRANADOS, K. E. MASON, and H. DAM, Acta Pathol. et Microbiol. Scand. 24, 86 (1947).

⁷ H. DAM, J. Nutrition 28, 297 (1944).

⁸ H. DAM and H. GRANADOS, Acta Physiol. Scand. 10, 162 (1945).

⁹ K. E. MASON, H. DAM, and H. GRANADOS, Anat. Rec. 94, 265 (1946).

¹⁰ H. DAM and H. GRANADOS, Science 102, 327 (1945).