

the name *enterogastrone* for this secretory depressant.

This paper deals with a highly purified extract from the hog's intestine. The preparation process was mainly that recommended by GRAY, BRADLY, and IVY¹. Also cf. GREENGARD, HANDS, GROSSMAN, and IVY¹, GREENGARD, ATKINSON, GROSSMAN, and IVY³, and WINBERG⁴.

Methods. The biological effect of the extracts was tested on dogs with vagotomized gastric pouches according to HEIDENHAIN. As a stimulus histamine dihydrochloride was injected intravenously at a slow constant rate. For technique see ÖBRINK⁵. The enterogastrone preparation was injected intravenously in a massive dose, and the decrease of the gastric fluid was noted.

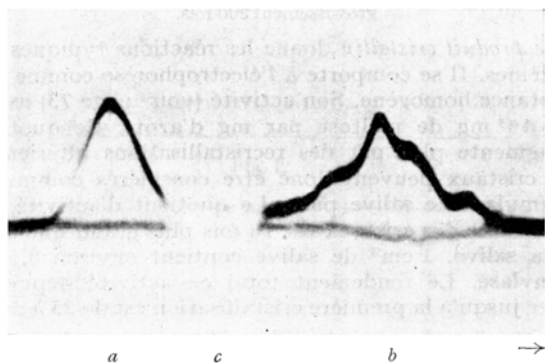
For the electrophoretic analysis the enterogastrone preparations were dissolved in citrate buffer (p_H 2.06 and 3.04), acetate buffer (p_H 4.00 and 5.44) and phosphate buffer (p_H 6.02, 6.43, and 7.42) to the final concentration of 2%. It was found most convenient not to dialyze the solution against the pure buffer system (vide infra: the discussion).

The ionic strength of the buffer systems was 0.1.

The solutions were placed in a Tiselius electrophoretic apparatus (TISELIUS⁶) supplied with the Philpot-Svensson optical system (PHILPOT, 1938, and SVENSSON, 1939 and 1946)⁷.

The technical data were: temperature (outside) $+0.7^\circ\text{C}$, the voltage gradient about 6 V/cm, the electric current 20 mA, and observational time about 2 hours.

Result. At p_H 4.00 one boundary was found to have no mobility (Figure, *a*) and four others to move towards the cathode (Figure, *b*). On the anode side no rising boundary was observed.



Exposure of the negative limb at p_H 4.00 (rising side). The cathode is in the direction of the arrow. (The white field *c* between the boundaries *a* and *b* depends upon the central glass plate separating the two electrophoretic cells.)

The rising side was cut off between the boundaries *a* and *b* and tested on the dogs. An enterogastrone effect was found in the cell with the boundary *a*, while the components in *b* were ineffective. Similar results were obtained at all the different p_H s.

The boundaries *b* had changed their mobility direction towards the anode at p_H 7.42 and never did have any biological effect on the gastric secretion.

In order not to work with too small concentrations of the components *b*, the boundaries were allowed to reach the top of the cell and even pass it. Thus the cell was considered to contain a sufficient amount of an effective component, if present.

The separation on the descending side was never satisfactory and any tests from this limb could not be performed with a significant result.

Discussion. It seems that the secretory depressing factor in extracts from the intestinal mucosa had no or at least a very slight electrophoretic mobility between p_H 2.06 and 7.42, and the components showing mobility seemed to be ineffective in respect to the histamine-induced gastric secretion.

This result was contrary to expectation because of the experiments of HARRIS, GRAY, and IVY¹, in which the secretory depressing factor was destroyed by proteolysis. The result here described does not accord with the conception that enterogastrone might be a protein-like substance, nor does the observation described by WINBERG² that enterogastrone is easily dialysable through a thin cellophane membrane. Experiments have also shown that its effectiveness survives a heating of 100°C for 90 minutes (WINBERG)³.

Any quantitative analysis of the effective component in the extract cannot be made from the electrophoretic results, as the boundary to which it probably may belong is to some extent considered to depend on the falsely resting δ -boundary (TISELIUS)⁴. K. J. ÖBRINK

Institute of Physiology and Institute of Medical Chemistry, University of Uppsala, Sweden, September 3, 1947.

Zusammenfassung

1. Es wird ein Extrakt von Schweinedarm (Enterogastron), der die durch Histamin erzeugte Magensekretion herabsetzt, elektrophoretisch untersucht.

2. Die aktive Enterogastronfraktion scheint keine elektrophoretische Beweglichkeit zu besitzen.

3. Enterogastron ist wahrscheinlich keine proteinähnliche Substanz.

4. Die Resultate werden besprochen und zu früheren Untersuchungen über die Chemie des Enterogastrons in Beziehung gesetzt.

¹ S. C. HARRIS, J. S. GRAY, and A. C. IVY, *Fed. Proc.* 1, 37 (1942).

² H. WINBERG, *Acta Chem. Scand.* In press.

³ H. WINBERG, personal communication.

⁴ A. TISELIUS, *Biochem. J.* 31, 1464 (1937).

L'action du chlorure de lithium et du sulfocyanure de sodium sur la viscosité de la nucléohistone et des extraits d'embryons d'Amphibiens

Dans une note récente, RANZI et ses collaborateurs ont étudié les effets du chlorure de lithium et du sulfocyanure de sodium sur la viscosité d'extraits d'embryons d'Amphibiens préparés suivant la méthode de LAWRENCE, NEEDHAM *et al.*¹ au KCl moléculaire. Ils ont constaté que la viscosité de ces extraits est augmentée par l'addition de LiCl, tandis que NaSCN a une action opposée; ce serait sur une globuline que ces sels agiraient. Mais

¹ A. S. C. LAWRENCE, M. MIAL, J. NEEDHAM et S. G. SHEN, *J. gen. Physiol.* 27, 233 (1944).

¹ J. S. GRAY, W. B. BRADLY, and A. C. IVY, *Am. J. Physiol.* 118, 463 (1937).

² H. GREENGARD, A. P. HANDS, M. I. GROSSMAN, and A. C. IVY, *Fed. Proc.* 2, 17 (1943).

³ H. GREENGARD, A. J. ATKINSON, M. I. GROSSMAN, and A. C. IVY, *Gastroenterology* 7, 625 (1946).

⁴ H. WINBERG, *Acta chem. Scand.* In press. – The preparations have been made by Dr. WINBERG in the Central Laboratory at A. B. Astra, Södertälje, Sweden.

⁵ K. J. ÖBRINK, *Acta physiol. Scand.* 12, 213 (1946).

⁶ A. TISELIUS, *Trans. Farad. Soc.* 33, 524 (1937).

⁷ J. S. L. PHILPOT, *Nature* 141, 283 (1938). – H. SVENSSON, *Koll. Z.* 87, 181 (1939); *Arkiv Kem. Min. Geol.* 22A, No. 10 (1946).

MIRSKY et POLLISTER¹ ont démontré que lorsqu'on traite des tissus animaux par des solutions moléculaires de NaCl ou de KCl, on obtient surtout de la thymonucléohistone; en outre, BRACHET et JEENER² ont montré que la viscosité de ces extraits est due, en ligne principale, à cette nucléohistone d'origine nucléaire. Dans ces conditions, on pouvait se demander si les sels étudiés par RANZI *et al.*³ n'agiraient pas plutôt sur la nucléohistone que sur une globuline issue du vitellus.

Des mesures de viscosité ont été effectuées à l'aide d'un viscosimètre à cylindre tournant de Couette, qui présente l'avantage d'avoir des gradients de vitesse de faibles valeurs et constants.

1° Nous avons préparé de la nucléohistone purifiée à partir d'érythrocytes de poule et nous l'avons redissoute dans du liquide d'Edsall.

Solution témoin: La solution initiale de protéine est diluée par un volume d'Edsall contenant 0,28 mol. de KCl au litre. La solution témoin contient donc 0,14 mol. de KCl au litre.

Solution LiCl: La solution initiale de protéine est diluée par un volume d'Edsall contenant 0,28 mol. de LiCl au litre. Cette solution contient donc 0,14 mol. de LiCl au litre.

Solution NaSCN: La solution initiale de protéine est diluée par un volume d'Edsall contenant 0,28 mol. de NaSCN au litre. Cette solution contient donc 0,14 mol. de NaSCN au litre.

De la sorte, nous préparons trois solutions de protéine isoioniques que nous pouvons strictement comparer.

Tableau I

Effets de LiCl et de NaSCN sur la viscosité de la nucléohistone

Tours/min	KCl	LiCl	NaSCN
5	3,10	3,80	3,00
10	2,00	2,20	1,90
25	1,72	2,00	1,70
50	1,66	1,90	1,60
100	1,66	1,80	1,60

On voit que l'effet de structure habituel aux solutions de molécules asymétriques se manifeste: la viscosité diminue lorsque le gradient de vitesse augmente; en outre, comme dans les expériences de RANZI *et al.*, LiCl augmente la viscosité de la solution tandis que NaSCN la diminue.

2° Lorsqu'on projette des noyaux d'érythrocytes de poule dans une solution de NaCl ou de KCl moléculaire, on observe la formation immédiate d'un gel fortement élastique (solution rigide). On peut apprécier cette rigidité au moyen d'un pendule de torsion et l'exprimer par un module $T/T' - 1$, T représentant la période d'oscillation dans l'air et T' la période dans la solution à étudier (JEENER⁴ et ERRERA⁵).

Nous avons observé que le sulfocyanure de sodium augmente la rigidité de la solution de la nucléohistone, tandis que LiCl la diminue.

Ces mêmes solutions, après que la rigidité a été brisée mécaniquement et irréversiblement par passage à tra-

vers un orifice étroit, donnent des solutions visqueuses sur lesquelles nous avons vérifié que LiCl augmente la viscosité et que NaSCN la diminue.

Tableau II
Rigidité

Solution	$T/T' - 1$
KCl	0,84
LiCl	0,50
NaSCN	1,10

3° Nous avons alors comparé deux stades du développement embryonnaire chez l'Axolotl: l'œuf insegmenté, qui ne contient que des traces de nucléohistone, et le têtard éclos, qui en renferme en abondance. Les œufs dégangés et les têtards étaient broyés finement dans du KCl 1 M et centrifugés à grande vitesse (12000 t/m) pour éliminer les graisses et le pigment. Lors du broyage, les têtards donnent une solution rigide, ce qui n'est pas le cas pour les œufs; pareille différence avait déjà été observée auparavant par BRACHET et CHANTRENNE¹.

Tableau III

Effets de LiCl et de NaSCN sur la viscosité de l'extrait

Tours/min	KCl	LiCl	NaSCN
0,5	14,00	16,00	12,00
5,0	2,80	3,00	2,60
10,0	2,00	2,10	1,80
25,0	1,70	1,80	1,60
50,0	1,55	1,60	1,45
100,0	1,20	1,25	1,17

a) *Extrait de têtards.* Nous avons observé, comme dans le cas de la nucléohistone, un effet de structure et un accroissement de la viscosité par LiCl et une diminution par NaSCN.

b) *Extrait d'œufs.* Nous n'avons plus observé dans ce cas d'effet de structure; en outre, ni LiCl ni NaSCN n'ont manifesté d'action sur la viscosité de ces extraits. La viscosité ne dépend plus du flux et elle est, pour le témoin, de 1,111; en présence de LiCl ou de NaSCN, elle est très légèrement inférieure (1,085).

Comme on le voit, ces résultats cadrent bien avec l'idée que le lithium et le sulfocyanure agissent sur la viscosité de la nucléohistone: en effet, ces ions ne manifestent d'effets que dans le cas des têtards, riches en noyaux et ils demeurent sans effet dans celui des œufs insegmentés.

Cette manière de voir a trouvé un appui complémentaire dans le fait que des dosages de la teneur en acide thymonucléique par la méthode de SCHNEIDER nous ont montré que les extraits d'embryons d'Amphibiens par KCl 1 M contiennent des quantités appréciables de cet acide dès le stade gastrula; la teneur en acide thymonucléique de ces extraits augmente naturellement à mesure que le développement progresse.

Enfin, nous avons eu recours à une méthode indirecte pour nous assurer de ce que la viscosité de structure des extraits préparés à partir des têtards est bien due à la présence d'acide thymonucléique polymérisé: si on traite

¹ A. MIRSKY et A. W. POLLISTER, Biol. Symp. 10, 247 (1943).

² J. BRACHET et R. JEENER, Biochim. et biophys. Acta 1, 13 (1947).

³ S. RANZI, R. AROSIO, R. CITTERIO, P. MENOTTI et F. SEMENZA, Exper. 2, 315 (1946).

⁴ R. JEENER, C. R. Soc. biol. 138, 1050 (1944); 140, 667 et 689 (1946).

⁵ M. ERRERA, Bull. Soc. Chim. biol. 28, 472 (1946).

¹ J. BRACHET et H. CHANTRENNE, Acta biol. Belg. 2, 451 (1942).

ces extraits par la thymonucléodépolymérase du pancréas, l'effet de structure disparaît rapidement et complètement; ni LiCl ni NaSCN n'ont encore d'action sur la viscosité dans ces conditions.

Il semble donc bien que l'action du lithium et du sulfocyanure découverte par RANZI¹ et ses collaborateurs porte en lieu principal sur un constituant nucléaire, la nucléohistone; comme ces ions ne semblent pas provoquer d'anomalies visibles du noyau et des chromosomes, il paraît peu vraisemblable que ces modifications de la viscosité de la nucléohistone soient à l'origine des troubles de la morphogénèse que ces substances suscitent.

P. REBUFFAT et J. BRACHET

Laboratoire de morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université libre de Bruxelles, le 4 octobre, 1947.

Summary

(1) LiCl increases the viscosity and decreases the rigidity of nucleohistone; NaSCN has opposite effects.

(2) The effects of LiCl and NaSCN on the viscosity of amphibian embryo extracts, as observed by RANZI and his coworkers, seem to be due to the action of these salts on nucleohistone.

¹ S. RANZI, R. AROSIO, R. CITTERIO, P. MENOTTI et F. SEMENZA, Exper. 2, 315 (1946).

Die Verteilung der Na- und Cl-Ionen zwischen Blutserum einerseits, Pleurapunktat, Ascites und Liquor cerebrospinalis andererseits

Es ist ein seit langem diskutiertes Problem der Pathologie, ob die Verteilung der Na- und Cl-Ionen zwischen Blutserum und gewissen Körperflüssigkeiten eine dem Donnan-Gleichgewicht entsprechende Gesetzmäßigkeit aufweist, d. h. ob die Körperflüssigkeiten in ihrer Ionenzusammensetzung dem eiweißfreien Serumultrafiltrat entsprechen oder eine davon unabhängige Zusammensetzung haben. Nach PETERS¹ sollen die Flüssigkeitsansammlungen der serösen Höhlen dem Ultrafiltrat genau entsprechen, wogegen der Liquor und Humor aqueus zwar dem Ultrafiltrat sehr nahestehen, jedoch manche Verschiedenheiten aufweisen. So z. B. ist der Gehalt an Glukose, Karbamid und Kreatinin im Liquor entschieden niedriger als im Serum, was schwer mit dem Charakter eines einfachen Ultrafiltrates in Einklang zu bringen ist. PETERS¹ betont auf Grund zahlreicher Beobachtungen den höheren Cl'- und niedrigeren Na'-Gehalt des Liquors, wobei er bemerkt, daß die Diskrepanz größer ist als im Falle der Pleura- bzw. Bauchpunktate.

Wir untersuchten 13 Bauchpunktate, 7 Pleurapunktate und 19 Liquoren auf ihren Gehalt an Na', Cl' und Eiweiß, bestimmten den Albumin/Globulin-Quotienten und ebenso die entsprechenden Daten zur selben Zeit auch im Serum des gleichen Patienten. Der Na'- und Cl'-Gehalt ist in maeq. pro Liter Wasser berechnet, auch wurde der Eiweißgehalt der Lösungen in Betracht genommen und abgerechnet. Cl' wurde nach RUSZNYÁK, Na' nach BÁLINT und KABDEBÓ², Eiweiß nach CLEGHORN und JENDRASSIK³ bestimmt.

¹ J. P. PETERS, Body Water. Ed. Bailliere, Tindall & Cox London 1935.

² P. BÁLINT und H. KABDEBÓ, Exper. 3 (im Druck).

³ R. A. CLEGHORN und L. JENDRASSIK, Biochem. Z. 274, 189 (1934).

	1 Cl _s /Cl _f	2 Na _f /Na _s	3 r _{sf}
Ascites	1,00±0,03 (0,96—1,03) k ₁₋₃ = 1,2	0,96±0,04 (0,90—1,01) k ₂₋₃ = 0	0,96±0,01 (0,94—0,98)
Pleura- punktat	0,97±0,03 (0,91—1,01) k ₁₋₃ = 0	0,99±0,05 (0,95—1,11) k ₂₋₃ = 0,4	0,97±0,01 (0,95—0,98)
Liquor	0,91±0,04 (0,83—1,06) k ₁₋₃ = 0,3	0,95±0,04 (0,83—1,02) k ₂₋₃ = 0,8	0,92±0,01 (0,90—0,95)

In der Tabelle geben wir die Mittelwerte der Ionenverhältnisse wieder, wobei nach dem gewöhnlichen Gebrauch Cl_{Serum}/Cl_{Außenflüssigkeit} bzw. Na_{Außenflüssigkeit}/Na_{Serum} berechnet wurde. Nach dem Mittelwert befindet sich der mittlere Fehler, in Klammern die Minimal- und Maximalwerte.

Die Bedeutung der Zahl r_{sf} ist folgende: auf Grund der VAN SLYKESchen Formel¹ kann die Verhältniszahl Cl_{Serum}/Cl_{Flüssigkeit} aus dem Cl'-Gehalt des Serums und aus dem Eiweißgehalt des Serums und der Außenflüssigkeit berechnet werden. Gesetzt also, daß die Verteilung der Cl- und Na-Ionen dem Donnan-Gleichgewicht entspricht, muß die berechnete und die tatsächlich gefundene Verhältniszahl identisch sein. Kolonne 3 der Tabelle enthält die Mittelwerte der berechneten Verhältniszahlen, wobei k₁₋₃ bzw. k₂₋₃ die signifikante Differenz der gefundenen und berechneten Mittelwerte bedeutet. Letzterer Wert ist in allen Fällen kleiner als 1, 2, also ist die Identität der beiden Werte höchst wahrscheinlich.

Bloß in einem einzigen Falle ist die Diskrepanz zwischen berechneten und gefundenen Werten entschieden größer, als es den Fehlergrenzen der angewandten Methoden entspräche; es handelt sich um einen Fall von Leberzirrhose bei einer 72jährigen Patientin, welche die Klinik vierwöchentlich wegen Punktion einer großen Bauchwasseransammlung aufsuchte. Durch Punktion wurden ihr vierwöchentlich bis zu 20 l Ascites entnommen und unsere Analysen wurden bei derselben Patientin dreimal wiederholt. Die berechneten Verhältniszahlen waren 0,94, 0,93 und 0,94, die für Cl' gefundenen 0,87, 0,70 und 0,73 und die für Na gefundenen 1,10, 1,23 und 0,99. Dies bedeutet, daß das Bauchwasser in diesem Falle viel mehr Cl' und viel weniger Na' enthält, als gemäß dem Donnan-Gleichgewicht zu erwarten wäre.

Zusammenfassung. Es wurden 13 Bauchpunktate, 7 Pleurapunktate und 19 Liquoren auf ihren Gehalt an Na', Cl', Eiweiß und Albumin/Globulin-Quotient, untersucht und zur selben Zeit dieselben Daten im Serum des gleichen Patienten bestimmt. Die gefundene Verteilung der Cl'- und Na'-Ionen im Serum und Außenflüssigkeit stimmt vollkommen mit der aus der VAN SLYKESchen Formel auf Grund des DONNANSchen Ionengleichgewichtes berechneten überein, und zwar nicht nur im Falle der Pleura- und Bauchpunktate, sondern auch für den Liquor cerebrospinalis. Es erübrigt sich also jede Folgerung, welche aus dem Cl'- bzw. Na'-Gehalt der genannten Flüssigkeiten irgendwelche diagnostische Schlüsse zu ziehen wünscht, da

¹ D. D. VAN SLYKE, H. WU und H. D. McCLEAN, J. biol. Chem. 56, 765 (1923).