

We have now been able to isolate this sodium retaining factor in crystalline form from the urine of two patients with congestive heart failure. It proved to be identical again with aldosterone.

One of the patients studied, Mrs. L. B., 50 years of age, suffered from chronic congestive heart failure with heavy edema, ascites and hydrothorax. Therapy included bed rest, digitalis, and low sodium diet. No steroids or corticotrophins were given. The total pool of urine originating from collection over a period of 15 days consisted in 6.42 l and contained a total of 9.6 mEq. of sodium and 265 mEq. of potassium. The other patient, Mr. C. G., 53 years of age, suffered from rheumatic heart disease and congestive cardiac failure. He showed mild icterus secondary to congestion of the liver and probably to pulmonary infarction. He was treated with bed rest, digitalis, and low sodium diet, but the cardiac failure did not respond to this treatment. Urine was collected over 6 days. The total volume was 4.44 l, containing a total of 8.9 mEq. of sodium and 162 mEq. of potassium.

Each of these urine pools was acidified to pH 1 and extracted promptly with chloroform as described earlier<sup>3,4</sup>. These extracts (A) were set aside, and the urine was allowed to stand for 24 h at pH 1, and extracted again. In all subsequent work the second extracts (B) only were used. On paper chromatography in the system propylene glycol/toluene for 6 days, the zone around cortisone was cut out and eluted with 95% ethanol. Paper-chromatographic analysis<sup>1</sup> of a sample of this biologically active eluate (12.5 mg) in Bush's system C and in formamide/chloroform using UV.-absorption, reductive capacity (bluetetrazolium) and soda fluorescence as indicators pointed to the presence of a total amount of about 2.5 mg of aldosterone. The whole eluate was chromatographed preparatively therefore on 7 paper sheets (Whatman No. 1, washed) in Bush's system C and the UV.-absorbing band corresponding to aldosterone eluted in the usual manner. It yielded 2.8 mg of an amorphous residue which crystallized from ether-aceton-water upon inoculation with aldosterone.

The crystals (1.25 mg) showed the same melting point as authentic aldosterone (110°/163°C) and gave no melting point depression in mixture with the latter. For final identification the IR.-spectra<sup>5</sup> (in CHCl<sub>3</sub>-solution) were compared and proved to be identical.

In these two cases the mean output of aldosterone was at least as high as 130 µg/24 h.

Now that the identity of the sodium retaining factor from urine with aldosterone is established unequivocally in 3 cases, there is no doubt that the substance with the same chromatographic and biological properties demonstrated in other urines consists also of aldosterone.

J. A. LUETSCHER, Jr., R. NEHER,  
and A. WETTSTEIN

Stanford University School of Medicine, San Francisco, California; Research Laboratories of CIBA Limited, Basle, Switzerland, November 1<sup>st</sup>, 1955.

### Zusammenfassung

Der Natrium-retinierende Faktor aus dem Urin zweier Patienten mit Stauungs-Herzfehlern wurde in kristallisierter Form isoliert und mit Aldosteron identifiziert.

<sup>5</sup> Our thanks are due to Dr. A. GANZ, Basle, for these determinations.

### Effets de l'irradiation sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs dérivés acidodissolubles chez le rat

On a montré que les radiations ionisantes diminuent la quantité d'acides nucléiques dans les tissus. Ce phénomène est très marqué dans le cas de l'acide désoxyribonucléique (ADN) tandis que dans celui de l'acide ribonucléique (ARN), il est beaucoup moins prononcé; on a même observé parfois une augmentation de la synthèse de cet acide après irradiation (HEVESY<sup>1</sup>, HOLMES<sup>2</sup>, ABRAMS<sup>3</sup>, KELLY<sup>4</sup>). Les recherches de KANAZIR<sup>5</sup> sur les effets des radiations ultraviolettes sur les bactéries ont démontré que la synthèse de l'ADN est bloquée pendant un certain temps et qu'à la suite de ce blocage, il se produit une accumulation de substances acidodissolubles, qui sont probablement des précurseurs de cet acide. Nous avons voulu rechercher si l'action des radiations X provoque le même effet dans la rate du rat.

Nous avons travaillé sur des rats mâles de 95–110 g avec une dose de 1500 r. L'irradiation a été faite avec un appareil de Roentgen-thérapie profonde: 220 kV, 12 mA, 0,5 Cu (90 r/min). Nous avons irradié deux animaux à la fois dans une boîte de bois perforée. 2 1/2 h et 24 h après l'irradiation, nous avons sacrifié les animaux par décapitation; après avoir laissé le sang s'écouler, nous avons prélevé la rate immédiatement et nous l'avons lavée avec une solution physiologique refroidie. Nous avons ensuite lavé la rate découpée en petits morceaux à l'alcool, puis deux fois à l'alcool-éther (3:1) pendant 20 min. Le tissu a ensuite été séché sous vide et nous avons ramené tous les résultats au poids sec. Le tissu séché était alors extrait à 3 reprises par de l'acide perchlorique 2% pendant 30 min. Toutes ces opérations étaient effectuées à 2–4° C. Sur un aliquot de cette fraction acidodissoluble, l'absorption à 260 mµ a été mesurée. Nous avons ensuite déterminé le phosphate organique et inorganique par la méthode d'ALLEN<sup>6</sup>, ainsi que le ribose et le désoxyribose. Le tissu restant a été traité à deux reprises par de l'acide perchlorique à 5% pendant 1/2 h à 100°C et deux fois avec le même acide à 2%. Nous avons déterminé l'ARN et l'ADN dans cet extrait par la méthode à l'orcinol<sup>7</sup> et par celle de CERIOTTI<sup>8</sup>, respectivement.

**Résultats et discussion.** Les résultats sont rassemblés dans le Tableau, et dans les Figures 1, 2 et 3, où les valeurs ont été exprimées en pourcent de celles obtenues pour les animaux témoins.

Le Tableau et les Diagrammes indiquent une diminution précoce de l'absorption UV. dans la fraction acidodissoluble: il n'y a donc pas d'accumulation de bases azotées dans cette fraction (Fig. 1). Le phosphate organique subit une diminution, sans retour à la normale après 24 h (Fig. 2). Le phosphate inorganique augmente rapidement pour se maintenir, pendant 24 h, au-dessus de la normale (Fig. 3).

Le désoxyribose acidodissoluble commence par diminuer, pour augmenter ensuite au delà de la normale. Une petite augmentation s'observe également dans le cas du ribose acidodissoluble, qui diminue ensuite au-dessous de la normale après 24 h.

<sup>1</sup> H. HEVESY, Adv. Enzymol. 7, 3 (1947).

<sup>2</sup> B. E. HOLMES, Brit. J. Radiol. [N.S.] 22, 487 (1949).

<sup>3</sup> H. ABRAMS, Arch. Biochem. Biophys. 30, 90 (1951).

<sup>4</sup> L. KELLY et H. B. JONES, Proc. Soc. exper. Biol. 74, 493 (1950).

<sup>5</sup> D. KANAZIR, Thèse, Bruxelles 1955.

<sup>6</sup> R. J. ALLEN, Biochem. J. 34, 858 (1940).

<sup>7</sup> W. MEJBAUM, Z. physiol. Chem. 198, 297 (1952).

<sup>8</sup> G. CERIOTTI, J. biol. Chem. 198, 297 (1952).

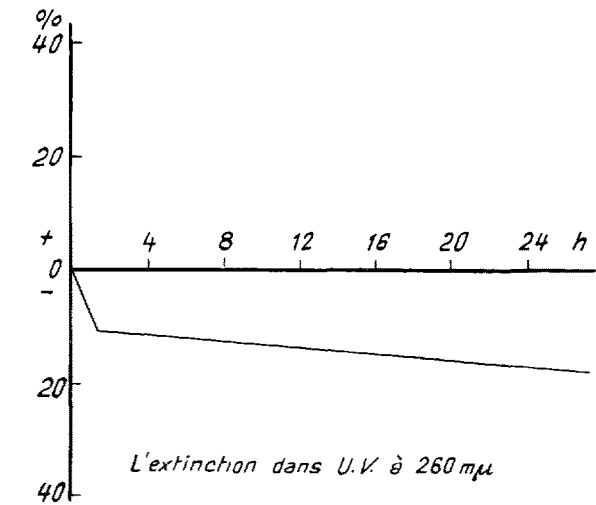


Fig. 1.

L'évolution de l'ADN et de l'ARN montre une chute qui atteint, en 24 h, 43% de la valeur normale pour l'ADN et 33% pour l'ARN.

|                       | non irradié           | irradié<br>2 1/2 h<br><i>a, b</i> | P <i>c</i> | irradié<br>24 h | P <i>c</i> |         |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------------------|------------|-----------------|------------|---------|
| Fraction acidosoluble | U. V. . . . .         | 0,265                             | 0,224      | < 0,001         | 0,221      | < 0,001 |
|                       | CERIOTTI . . .        | 0,064                             | 0,055      | < 0,001         | 0,119      | < 0,001 |
|                       | Orcinol . . .         | 0,296                             | 0,310      | < 0,15          | 0,199      | < 0,001 |
|                       | Phosphate inorganique | 0,072                             | 0,078      | < 0,001         | 0,083      | < 0,001 |
|                       | Phosphate organique . | 0,096                             | 0,091      | < 0,15          | 0,086      | < 0,001 |
|                       | ADN . . . . .         | 0,184                             | 0,150      | < 0,001         | 0,104      | < 0,001 |
| ARN . . . . .         | 0,165                 | 0,121                             | < 0,005    | 0,111           | < 0,001    |         |

- a Les résultats représentent l'extinction à 260 mμ divisée par le poids sec de tissu en mg.
- b Les chiffres représentent la moyenne de 18 expériences pour les témoins, de 17 pour les animaux irradiés 2 1/2 h et de 13 expériences pour les animaux irradiés 24 h.
- c P < 0,05 signifie que la différence entre les moyennes des contrôles et des traités est significative.

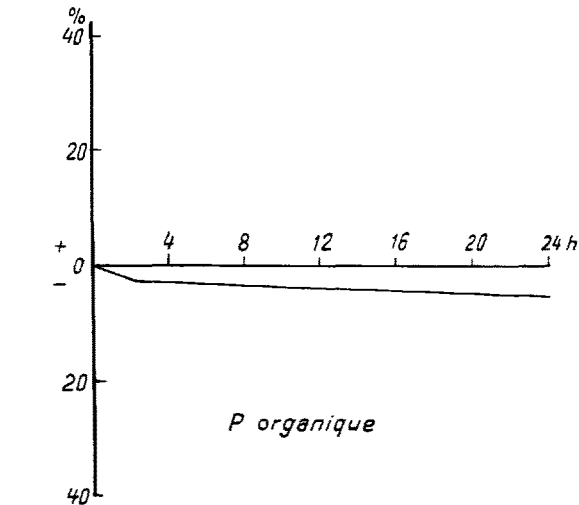


Fig. 2.

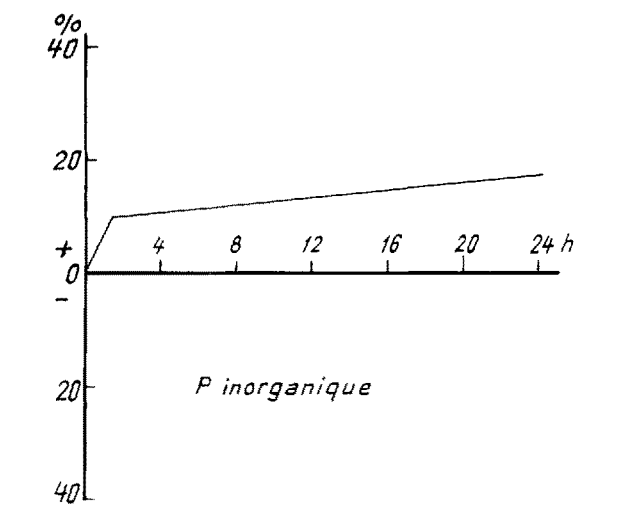


Fig. 3.

Conclusions. L'inhibition de la synthèse de l'ADN et de l'ARN dans la rate de rats ayant subi une irradiation X ne s'accompagne pas d'une augmentation de la teneur de la fraction acidosoluble de cet organe en dérivés nucléiques de faible poids moléculaire (mononucléotides, nucléosides, bases azotées).

Comme la quantité des acides nucléiques diminue par rapport au poids sec des organes, on doit supposer que les acides nucléiques sont dégradés et que l'organe est capable d'éliminer les produits de cette dégradation<sup>9</sup>. Une telle élimination expliquerait également l'appauvrissement de la fraction acidosoluble en dérivés puriques et pyrimidiques. Elle pourrait peut-être résulter d'altération des membranes cellulaires.

A. BEČAREVIĆ, K. KAČANSKI, D. MANČIĆ et LJILJANA HADŽIĆ.

Laboratoire de Radiobiologie de l'Institut des Sciences nucléaires «Boris Kidric» de Belgrade, le 19 octobre 1955.

Summary

In the rat, X-irradiation leads to a decrease of the net RNA and DNA content of the spleen, without, however, increasing the low molecular weight nucleic acid derivatives in the acid-soluble fractions of the same tissue. It is suggested that an alteration of the cell membranes could account for the apparent elimination of these nucleic acid degradation products which should normally appear in the acid-soluble fraction.

<sup>9</sup> A. KELNER, W. D. BELLAMY, G. E. STAPLETON et M. R. ZELL, Bacteriol. Rev. 19, 22 (1955).

Activation concomitante par l'hétéroauxine de la résorption du corps paranucléaire ribonucléique et de la germination des zygotes chez Allomyces

L'émission du premier tube de germination – futur système rhizoïde – par le zygote d'Allomyces est précédée et conditionnée par la dissociation du «nuclear cap»<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> W. R. HATCH, Ann. Bot. [N.S.]2, 583 (1938).