

A Lipase in the Milk of the Gorilla

In 1901 MARFAN, a French paediatrician, discovered a lipase in human milk by using monobutyryl as a substrate and titrating the formation of butyric acid with alkaline solution. This effect could be found only in a very low degree in cows' milk. There was no splitting of high molecular fats. In 1928 it was shown by the author that MARFAN had made an error because the lipase in human milk had to be activated. After activation even fats of high molecular weight, such as those in human and cows' milk and in plants, could be split. Activation was brought about by bile acids such as cholic acid, desoxycholic acid, glyco- and taurocholic acid, but not by lithocholic acid. Scymnol of sharks' bile was also an activator and/or neutralized human gastric juices or extracts of gastric mucosa.

The effect of the latter group was based on the activation of the substrate by which the triglycerides are changed to di- and monoglycerides. These can be split by the lipase of human milk without the presence of bile acids, similar to the action on low molecular esters. For methods and literature used see FREUDENBERG¹. This is demonstrated in Table I.

Even highly purified (by chemical and physical procedures, finally by electrophoresis) human milk lipase is inactive against high molecular fats and must be activated.

In 1965 the author investigated the presence of lipase activity in gorilla milk. At present, a lipase is not known to exist in any animal's milk, except as having weak action against esters of low molecular weight in the cow, the goat, the mare, the dog, the rabbit and the guinea-pig.

Table I. Influence of activation of bile acids on splitting of different substrates of lipase in human milk

Substrates	Non-activated lipase	Activated lipase
Monobutyryl	+	++
Tributyryl	+	++
Methylbutyryl	+	++
Äthylbutyryl	+	++
Laurel oil	0	+
Olive oil	0	+
Fat of cows' milk	0	+
Fat of human milk	0	+
Acetylcholin	0	0
Lecithin	0	0

After activation by bile acids, gorilla milk, on the other hand, can split the fat of its own milk, of boiled cows' milk and of olive oil. Without activation there was splitting of tributyrin. Against inactivation of the lipase by chinin and/or physostigmin, human and gorilla milk showed the same properties (as indicated in Table II).

The similarity of the effect of the poisons on the lipases of human and gorilla milk is as convincing as the similarity of the activation by bile acids and/or gastric juices and the parallelism of action on low molecular esters. It would be desirable to undertake similar research on the milk of the lower apes.

Table II

Poison	Pancreatic lipase	Gastric lipase	Human milk lipase	Gorilla milk lipase
Chinin	Suppression	Suppression	No suppression	No suppression
Physostigmin	No suppression	No suppression	Suppression	Suppression

Zusammenfassung. Gorillamilch hat nach Gallensäureaktivierung eine ähnlich spaltende Wirkung auf echte Fette wie Menschenmilch. Ohne Gallensäure kann hochmolekulares Fett auch im Zusammenwirken mit neutralisiertem menschlichem Magensaft oder Magenmucosaeextrakten angegriffen werden, indem hierbei Di- und Monoglyzeride entstehen. Ebenso werden niedrig molekulare Ester direkt angegriffen wie zum Beispiel Tributyrin. Die Gorillamilch ist die einzige Tiermilch, bei der ein der Menschenmilch genau entsprechendes Verhalten der Lipase bisher gefunden wurde.

E. FREUDENBERG²

Feierabendstrasse 57, Basel (Switzerland),
January 6, 1966.

¹ E. FREUDENBERG, *Die Frauenmilchlipase* (J. Karger, Basel and New York, 1953).

² Acknowledgment: The gorilla milk I obtained from Prof. K. BERNHARD, Director of the Physiologisch-Chemisches Institut in Basel, who received it from Dr. E. LANG, Director of the Zoological Garden in Basel. I thank both gentlemen very much.

Die alkalische Phosphatase-Aktivität des Ratten-serums nach anaphylaktoidem Schock

In früheren Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass anaphylaktische¹ und anaphylaktoide² Reaktionen eine Erhöhung der alkalischen Phosphatase (AP)-Aktivität des Rattenharnes bewirken. Unter normalen Bedingungen entstammt die gesamte AP des Harnes den Nierentubuli, eine Ausscheidung von Serum-AP findet nicht statt. Unter pathologischen Bedingungen (bei Proteinurie oder bei erhöhter Serumaktivität) konnte jedoch eine Ausscheidung von AP des Serums durch die Niere festgestellt werden³. Deshalb erschienen Untersuchungen

der AP des Ratten-serums zu verschiedenen Zeitpunkten nach Auslösung eines anaphylaktoiden Schocks angezeigt, um Veränderungen der Serum-AP als allfällige Ursache der gesteigerten AP-Aktivität des Harnes auszuschliessen.

Material und Methoden. Als Versuchstiere dienten Albinoratten von 200 g Körpergewicht. Nach Bestimmung der AP-Aktivität im Serum normaler Tiere (50

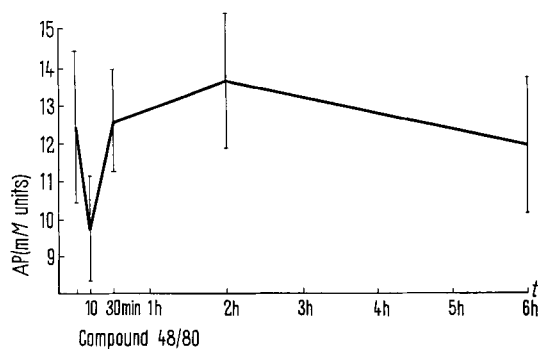
¹ W. RAAB, *Nature*, im Druck.

² W. RAAB, *Experientia*, 22, 91 (1966); *Naturwiss.* 53, 43 (1966).

³ C. A. FLOOR, E. B. GUTMAN und A. B. GUTMAN, *Am. J. Physiol.* 120, 696 (1937). – G. NAVA und L. SZASZ, *Folia endocr.* 3, 437 (1950).

Ratten) wurde durch intraperitoneale Injektion von 1,25 mg/kg Compound 48/80 ein anaphylaktoider Schock ausgelöst. Compound 48/80 ist eine synthetische mastzelldegranulierende Substanz⁴. Chemisch handelt es sich um ein Gemisch von Dimeren, Trimeren und Tetrameren, die bei Kondensation von *p*-Methoxyphenyläthylmethylamin mit Formaldehyd entstehen. 10 und 30 min, 2, 6, 9, 15 und 24 h nach Injektion von Compound 48/80 erfolgte bei je 20 Tieren eine Bestimmung der AP im Serum. Die Methodik der Enzymbestimmung wurde bereits an anderer Stelle beschrieben^{1,2}.

Ergebnisse. Die normale Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum des verwendeten Rattenstammes betrug $12,4 \pm 2,0$ mMU. 10 min nach Auslösung des anaphylaktoiden Schocks sank die Aktivität auf $9,7 \pm 1,4$ mMU (Figur). 30 min nach der Injektion des Compound 48/80 fanden sich praktisch normale Aktivitäten ($12,5 \pm 1,3$ mMU). 2 h nach der Auslösung des anaphylaktoiden Schocks war eine geringe Erhöhung der AP-Aktivität im Serum auf $13,6 \pm 1,8$ mMU zu beobachten. Die AP-Aktivitäten 6, 9, 15 und 24 h nach dem Schock lagen im Bereich der Norm (11,9, 11,8, 12,6 bzw. 12,4 mMU).



Die alkalische Phosphatase-Aktivität (AP) des Ratten-serums nach anaphylaktoidem Schock. mMU = milliMol Unit.

Schlussfolgerungen und Zusammenfassung. Bei toxischen Nierenveränderungen legen alle histochemischen und biochemischen Befunde über die Abnahme der AP in der Niere und dem hierzu parallel gehenden Anstieg der AP-Aktivität im Harn übereinstimmend eine renale Herkunft der erhöhten AP-Ausscheidung nahe³. Für den anaphylaktoiden Schock ist ein gleicher Mechanismus anzunehmen. Da weder eine pathologische Erhöhung der AP-Aktivität des Serums nachzuweisen ist, noch eine pathologische Proteinurie vorliegt, muss auf eine renale Herkunft der erhöhten AP-Aktivität im Harn nach anaphylaktoiden und nach anaphylaktischen Reaktionen geschlossen werden. Die Differenzierung der AP des Harnes in Isoenzyme⁵ könnte den letzten Beweis für die rein renale Herkunft der gesteigerten AP-Aktivität im Harn nach Schockreaktionen bringen.

Der Abfall der AP-Aktivität im Serum 10 min nach Injektion von Compound 48/80 dürfte keinen spezifischen Befund darstellen, sondern auf hämodynamischen Faktoren beruhen⁶.

Summary. At seven different intervals after the elicitation of anaphylactoid shock (compound 48/80), determinations of alkaline phosphatase (AP) activity were carried out in rat serum. No significant increase could be detected. These findings exclude extrarenal factors as the cause for increased AP-activity in urine following anaphylactoid shock.

W. RAAB

Universitätsinstitut für medizinische Chemie, 1090 Wien (Österreich), 3. Dezember 1965.

⁴ Compound 48/80 wurde von Burroughs Wellcome, London, freundlichst zur Verfügung gestellt.

⁵ P. J. BUTTERWORTH, D. W. MOSS, E. PITKANEN und A. PRINGLE, *Clinica chim. Acta* 11, 212 (1965).

⁶ H. SCHWIEGK, *Klin. Wschr.* 21, 741 (1942); 22, 477 (1943). – E. HESSE, *Angewandte Pharmakologie* (Urban und Schwarzenberg, Berlin-München-Wien 1949).

Reduced Excretion of Urinary Procoagulant in Uremic Patients

Normal human urine when added in vitro to hemophilic blood corrects completely the clotting abnormality^{1,2}. The responsible urine component is prepared from urine by adsorption onto BaSO₄³, porcelain thimbles⁴, or extensive dialysis of the urine and then subsequently purified by isoelectric precipitation at pH 3.5^{3,4}, precipitation with 0.57M NaCl followed by chromatography on Sephadex G-200, and other steps⁵. The resulting white amorphous material is soluble in 0.005M glycine buffer pH 8.6. One outstanding feature is the marked heat resistance of the procoagulant in solution, which can be brought to 98°C for 10 min with little loss of activity. A few micrograms of the purified material normalize the clotting of hemophilic plasma (A, B, C) in the test tube (clotting time, prothrombin consumption, thrombelastogram). The urinary procoagulant also normalizes the clotting of plasma

from patients with circulating 'antithromboplastins'⁴ but not of thrombocytopenic plasma. The procoagulant converts purified prothrombin into thrombin in the presence of factor V, CaCl₂ and either whole platelets, platelet factor 3⁶ or brain lipid⁵. The conversion of prothrombin to thrombin by the procoagulant is a concentration dependent time reaction. The yield of thrombin can be made

¹ W. GRUNKE, *Z. ges. exp. Med.* 96, 512 (1935).

² L. M. TOCANTINS and H. J. LINDQUIST, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 65, 44 (1947).

³ K. N. VON KAULLA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 91, 543 (1956).

⁴ K. N. VON KAULLA and E. VON KAULLA, *Acta haemat.* 30, 25 (1963).

⁵ N. AOKI and K. N. VON KAULLA, (a) *Thromb. Diath. haemorrh.* 73, 583 (1965); (b) in preparation.

⁶ M. J. CALDWELL, K. N. VON KAULLA, E. VON KAULLA, and W. H. SEEGERS, *Thromb. Diath. haemorrh.* 9, 53 (1963).