R. esp. Fisiol.
Tom. IV, núm. 3, páginas 215 a 219. 1948.

Instituto de Fisiología de Barcelona
(Prof. J. Jiménez-Vargas)

Sobre una posible combinación de la histamina con las proteínas plasmáticas

por J. JIMÉNEZ-VARGAS y J. LARRALDE

Recibido para publicar el 28 de junio de 1948

En investigaciones nuestras aun no publicadas hemos podido observar que mientras la anoxia determina hiperhistaminemia, cuando la anoxia se asocia con hipercapnia, la corriente es un descenso de la histamina del plasma. Iniciamos las experiencias encaminadas a la interpretación de este hecho con el estudio *in vitro* de la influencia del CO_2 sobre la concentración de histamina en el plasma.

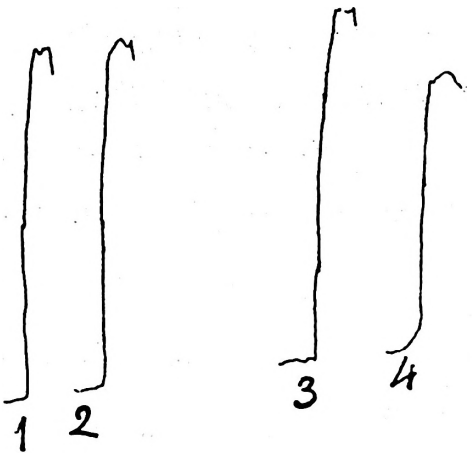
PARTE EXPERIMENTAL

Aunque el objeto de nuestro trabajo era investigar lo que ocurre en el plasma sanguíneo, hemos comenzado las experiencias, con un estudio comparativo entre disoluciones de histamina y extractos de histamina del plasma (de perro o de conejo), obtenidos por el método de CODE (1), suponiendo que la histamina del extracto habría de reaccionar con el anhídrido carbónico de forma muy análoga a las disoluciones de clorhidrato.

Preparamos disoluciones de clorhidrato de histamina que ensayamos en intestino aislado de cobayo. Después de tratar la disolución de histamina con anhídrido carbónico en las mismas condiciones descritas por GARAN (2), efectuamos un

nuevo ensayo inmediato y otro al cabo de una media hora, tiempo suficiente para la separación del CO_2 disuelto.

Hemos efectuado también ensayos enteramente análogos con extractos de histamina, sin observar efecto apreciable del CO_2 sobre la actividad del extracto valorado en intestino. En contraste, las disoluciones de clorhidrato siempre muestran una actividad menor en el ensayo inmediato a la saturación con CO_2. La siguiente gráfica representa estos resultados.



1. — 0,05 cc. Ext. 2. — 0,05 cc. del mismo extracto después de tratar con CO_2. 3. — 0,07 γ Hi. 4. — 0.07 γ. Hi. La misma disolución anterior después de tratar por CO.

En otro tipo de experiencias investigamos la acción del CO_2 sobre el plasma sanguíneo, previamente a la extracción por el método de CODE, operando del siguiente modo. Preparamos tres muestras de 10 cc. del mismo plasma de conejo. En una de estas muestras añadimos el ácido tricloroacético inmediatamente después de saturar el plasma con CO_2 actuando a la presión atmosférica durante 15 minutos. En otra muestra, la mezcla con ácido tricloroacético se hace después de pasar media hora de la acción del anhídrido carbónico. En la tercera muestra hacemos la extracción normal como control. Obtenemos los resultados que se exponen en la siguiente tabla:

Efecto de la saturación del plasma sanguíneo de conejo con CO_2 sobre los valores de histamina, obtenidos por el método de Code.

Experiencia n.º	Control γ por cc.	Inmediato al CO_2 γ por cc.	A la media hora γ por cc.
1	1,2	1'	—
2	1,6	1,2	1,5
3	1	0,65	0,9
4	2	1,5	—
5	3	1,3	—
6	0,9	0,16	0,9
7	2,5	1,7	2
8	1,4	1,3	—
9	0,6	0,4	—
10	1	0,7	0,9
11	1	0,6	0,8
12	1	0,7	0,9

DISCUSION

Según GARAN (2) la fijación del CO_2 por la histamina es un proceso reversible y proporcional a la tensión parcial del gas. Nuestros resultados en lo fundamental no se oponen a esta interpretación que, por otra parte, no explica lo que observamos nosotros al saturar de CO_2 el plasma sanguíneo. Si la acción del anhídrido carbónico se ejerciera en este caso solamente sobre la histamina, habríamos de obtener los mismos valores en el plasma de control y en el plasma saturado de CO_2, puesto que al tratar el plasma por método de extracción, necesariamente se tendría que liberar el anhídrido carbónico fijado. Pero el hecho de que siempre obtenemos valores más bajos en el plasma tratado por CO_2 significa que la posible combinación de la histamina sanguínea con ácido carbónico, no es el único factor de inactivación y que, o se verifica además un proceso diferente que ocasiona una alteración irreversible de la histamina, o esta substancia en parte se retiene junto con las proteínas al precipitar con ácido tricloroacético. Creemos más probable esto último que sugiere una combinación de la histamina con las proteínas plasmáticas. Tal posibilidad parece muy verosímil si se tiene en cuenta que actualmente otros autores han llegado a la conclusión de que la histamina puede estar combinada con las proteínas ce-

lulares. Según han demostrado ROCHE y SILVA (3) (4), la tripsina cristalizada es capaz de liberar histamina del pulmón y las células de la sangre; suponen que el grupo amino de la histamina reacciona con los grupos carboxílicos de los radicales de arginina y lisina de la molécula proteica del protoplasma. La tripsina atacaría este enlace para dejar histamina libre. Análogamente creemos nosotros que puede llegarse a combinar con las proteínas del plasma.

Suponemos que el ácido carbónico, formado al disolver en el plasma anhídrido carbónico, puede reaccionar con bases diferentes de la histamina. Y estas reacciones pueden ser más importantes que la posible formación de carbamino-histamina. Lo que debe ocurrir por lo tanto, es que se forme bicarbonato con bases separadas de su combinación con otros ácidos. Es decir, es posible que se forme bicarbonato por separación de base de las proteínas plasmáticas, dejando grupos carboxílicos libres que serían entonces los que habrían de reaccionar con la histamina. La histamina fijada a las moléculas proteicas lógicamente se tiene que arrastrar al desproteinizar el plasma. Y entonces lo que ocurre es que el método de extracción no permite obtener la totalidad de histamina presente. Esto cuando el tricloroacético se añade inmediatamente a la acción del CO_2. Pero el hecho de que cuando se espera tiempo suficiente para que desaparezca el CO_2 disuelto se vuelven a obtener casi los mismos valores que en las determinaciones de control, sugiere evidentemente que la reacción es reversible, es decir, que al descender la tensión parcial de anhídrido carbónico en el plasma, se regeneran de nuevo las sales que formaba el anión proteico y otra vez queda libre la histamina. Si esta interpretación fuese cierta tendríamos que las proteínas plasmáticas constituirían un sistema regulador de la actividad de la histamina circulante. Sugiere también un antagonismo entre anhídrido carbónico e histamina de probable significación en la adaptación circulatoria.

Al saturar extractos con CO_2, sólo excepcionalmente hemos observado disminución de actividad, a diferencia de la constancia con que disminuye la actividad de disoluciones de clorhidrato de histamina tratadas de la misma manera. Creemos interesante destacar esta diferencia, sin que pretendamos detallar una interpretación definitiva del fenómeno. Como una posible explicación cabe suponer que la histamina de los ex-

tractos se encuentra formando complejos con otras substancias contenidas en el mismo extracto, posiblemente aminoácidos, que sin alterar su actividad biológica impiden la reación con el CO_2.

Resumen

Se estudia *in vitro* la influencia de la saturación del plasma sanguíneo de conejo con CO_2 sobre los valores de histamina obtenidos por el método de Code. Se obtienen siempre valores más bajos en las muestras de plasma recién tratadas con CO_2. Se sugiere como interpretación probable de este hecho, que el ácido carbónico separa base de las proteínas plasmáticas dejando grupos carboxílicos libres que reaccionarían con la histamina. Por eso, al precipitar las proteínas con tricloroacético se pierde parte de la histamina presente.

Summary

The influence of saturation of rabbit blood plasma with CO_2 on the histamine values obtained by Code's method has been studied in vitro.

There are always obtained lowes values in the samples of plasma recently trested with CO_2. As a probable interpretation of this fact we suggest that carbonic acid separates basis from plasmatic proteins, leaving free carboxilic groups that react with histamine. Therefore, on the precipitation of proteins with trichloroacetic acid a part of the histamine present must be lost.

Bibliografía

1. Code, C. F., *J. Physiol.*, *89*, 257, 1937.
2. Garan, R. S., *Arch. Exper. Path, Phar.*, *188*, 247, 1937.
3. Rocha y Silva. Histamine e Anafilaxia. Edigraf., Sao Paulo, año 1946.
4. Rocha, Silva y Andrade, S. O., *J. Biol. Chem.*, *149*, 9, 1946.