

ETUDE DU MODE D'ACTION DU FACTEUR PLASMATIQUE DIMINUANT L'ACTIVITE DE L'HISTAMINE SUR L'ILEON ISOLE DE COBAYE

GENEVIEVE DURAND, JEANNE FEGER, BERNARD LEBEL et JEAN AGNERAY

Laboratoire Central de Biochimie de l'Hôpital Herold, 7, Place Rhin et Danube, Paris 19ème, et
U.E.R. de Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris-Sud, France

(Received 25 July 1972; accepted 25 October 1972)

Abstract—This report concerns the plasma factor responsible for the decrease of the biological activity of histamine on the isolated guinea-pig ileum.¹ The results presented prove that its plasma factor combines with histamine.² The combination between histamine and our protein causes a decrease in its inhibitory effect: the histamine bound to the plasma factor cannot be determined either by a fluorimetric or biological method, and acid hydrolysis is necessary to release the histamine from its complex.

DANS UNE publication antérieure (Durand *et al.*),³ nous avons exposé un plan de purification du facteur plasmatique capable de diminuer l'activité biologique de l'histamine sur l'iléon isolé de Cobaye. Ce composé macromoléculaire est une glycoprotéine qui, soluble dans l'acide phytique 0,1 N, présente: (1) un poids moléculaire d'environ 150.000 [V_e/V_0] entre 1,30 et 1,58 sur Sephadex G-200), (2) une grande mobilité électrophorétique à pH 8,6 (albuminique ou préalbuminique), (3) un point isoélectrique de $4,0 \pm 0,1$.

La description de ces propriétés a été grandement facilitée dans la mesure où la glycoprotéine possédait une activité pharmacologique aisément mesurable. C'est d'ailleurs la seule détermination de cette activité qui nous a permis de séparer les fractions actives où la protéine était présente, des fractions inactives où la protéine était absente. Il s'agit d'une activité inhibitrice vis-à-vis de l'action contracturante de l'histamine sur l'iléon isolé de Cobaye et c'est dans ce sens précis que, dans la suite de l'exposé, nous utiliserons l'expression "activité pharmacologique inhibitrice".

Parallèlement, nous nous sommes attachés à connaître le mode d'action de ce facteur tant au niveau des récepteurs de l'iléon qu'en présence d'histamine. Pour cela, nous avons cherché à prouver, *in vitro* par une technique physico-chimique, que cette glycoprotéine est capable de se lier à l'histamine.

En effet, nous avons été frappés par la mise en évidence d'une augmentation considérable de l'activité globale mesurée sur l'iléon des préparations obtenues par le relargage par le sulfate d'ammonium et par électrophorèse de zone en gradient de densité.

Ceci pouvait être dû à l'élimination de composés plasmatiques, soit inhibiteurs du phénomène pharmacologique, soit liés intimement à la protéine étudiée. Cette révélation d'une activité dissimulée n'entraînant pas une diminution du poids moléculaire,

nous avons émis l'hypothèse qu'elle pouvait être due à l'élimination de petites molécules comme l'histamine que des méthodes de fractionnement "drastiques" détachent de la protéine. Ceci libère des sites actifs de la protéine et augmente sa capacité soit pour l'histamine, soit pour les récepteurs de l'iléon. Nous avons donc, dans un premier stade d'étude, cherché à prouver l'existence d'une combinaison entre l'histamine et le facteur étudié. Or, il nous est difficile de réaliser ces expériences avec la protéine purifiée: la répétition des essais entraîne en effet une consommation de matière première. On se trouve limité par les rendements décrits et la faible teneur des plasmas en principe actif (5 à 10 mg/l.).

En attendant d'obtenir une quantité suffisante de produit pur, nous avons préféré travailler non pas sur le sérum, mais sur des préparations protéiques très actives encore hétérogènes obtenues par diafiltration directe de sérums humains. La formation et l'isolement de la combinaison histamine-protéine sont suivis avec précision par la mesure de la radioactivité émise par le carbone 2 du cycle imidazole (Féger).⁴

Le but poursuivi est de prouver que l'histamine se combine *in vitro* avec certaines protéines sériques et que cette liaison entraîne une diminution de l'activité inhibitrice de ces préparations.

Le facteur étudié sera donc défini: (1) par son activité pharmacologique, inhibitrice c'est-à-dire en appréciant, sur l'iléon isolé de Cobaye, la diminution maximale (environ 20 pour cent) de l'action contracturante de l'histamine sur iléon isolé de Cobaye; (2) par sa capacité de combinaison à l'histamine (nanomoles d'histamine fixées par mg de protéine).

MATERIEL ET METHODES

Mesure de l'activité pharmacologique inhibitrice. On mesure la diminution de l'activité biologique de l'histamine par la protéine sur l'iléon isolé de Cobaye selon la méthode décrite par Laborde *et al.*⁵ et modifiée par Lebel.³⁻⁶

On utilise l'iléon isolé de Cobaye maintenu en survie dans du liquide de Tyrode. On étalonne les contractions de l'iléon avec une gamme d'histamine et on mesure les contractions d'un mélange d'histamine et de protéine à étudier. Par comparaison avec la gamme, on peut chiffrer la diminution d'activité de l'histamine en présence d'une quantité déterminée de préparation.

Rappelons que l'unité, ou dose minimale d'activité inhibitrice (D.M.A.I.) est le poids minimum de préparation (en nanogrammes) qui, dissoute dans un ml de liquide de Tyrode, au contact de l'iléon isolé de Cobaye, diminue au maximum l'activité biologique de l'histamine, soit environ de 20 p. 100.

Dosage du dichlorhydrate d'histamine. L'histamine est dosée par deux méthodes différentes: (a) par mesure de radioactivité β émise par le 14 C placé en position 2 du cycle imidazole. L'activité spécifique du dichlorhydrate d'histamine est de 51,3 mCi/mM et 1 ml de solution utilisée dans nos expériences renferme 5,13 μ Ci ou 0,1 μ M; (b) par son activité biologique sur l'iléon isolé de Cobaye. Le matériel est le même que celui mis en oeuvre lors de la détermination de l'activité pharmacologique des protéines.

Obtention des préparations protéiques. 20 ml de sérum humain sont dilués dans 280 ml d'une solution de chlorure de sodium à 9 p. 1000. Ce volume est introduit dans une

cellule de filtration Amicon* 402 de 200 ml reliée à un réservoir contenant 3 l. d'une solution de chlorure de sodium à 9 g/l.

La partie inférieure de la cellule est équipée d'une membrane sélective Amicon XM 300 de 76 mm de diamètre qui, sous une pression d'azote de 0,7 bar et à une température de + 4°, retient la protéine étudiée et élimine des protéines inactives et de plus faible poids moléculaire (Golovtchenko).⁷

TABLEAU 1. ACTIVITÉ COMPAREE DES PROTÉINES SÉRIQUES PRÉSENTES DANS LA CELLULE AVANT ET APRÈS DIAFILTRATION

	x	1/x	P/x	
Sérum	$1,67 \times 10^3$	598	811×10^3	P = 1,340 g
Fraction retenu sur XM 300	2	$0,50 \times 10^6$	550×10^6	P = 1,100 g

P, gramme de produit lyophilisé.

x, D.M.A.I. (nanogramme).

1/x, nombre de D.M.A.I. par milligramme de produit lyophilisé.

P/x, nombre de D.M.A.I. par échantillon lyophilisé.

En effet, si nous comparons (Tableau 1) le nombre d'unités contenues dans la préparation avant et après diafiltration, nous constatons une augmentation globale d'activité de 665 fois. Le passage de 10 volumes d'une solution saline sur un volume de solution protéique semble agir en déplaçant du principe actif des molécules qui traversent la membrane XM 300.† L'enrichissement du retenu de diafiltration en protéine active qui est de 835 est essentiellement dû à la révélation de l'activité potentielle qui était dissimulée dans le sérum natif.

Préparation de la combinaison histamine–protéine. (a) Dans trois ml de liquide de Tyrode, 150 mg des échantillons protéiques obtenus par diafiltration sur membrane XM 300 sont mis en contact 24 heures à 22° avec: (1) 0,2 μ M de dichlorhydrate d'histamine radio marquée, (2) et 0,025 mM de dichlorhydrate d'histamine froide.

(b) Après ce temps d'incubation, la combinaison histamine–protéine est séparée de l'histamine libre par filtration sur gel de Sephadex G-25 gonflé en eau distillée. L'enregistrement en continu de la densité optique de l'éluat à 270 nm permet de localiser le clocher protéique: après avoir recueilli dans un collecteur de fractions, on détermine, sur un ml de chaque tube, la radioactivité β émise par le ¹⁴C de l'histamine. On recueille l'éluat correspondant à la superposition de ces deux clochers et on le lyophilise.

(c) Une nouvelle détermination de la radioactivité β est entreprise sur 1 mg de l'échantillon lyophilisé, préalablement dissous dans 1 ml d'eau. En tenant compte de la dilution isotopique, nous calculons la quantité de dichlorhydrate d'histamine contenue dans un ml de préparation. Nous appelons F₁, F₂, F₃ et F₅, F₆ les combinaisons histamine–protéine obtenues après incubation avec l'histamine de fractions

* Distribué par Meca Vigor, 88 Rue de la Folie Méricourt, Paris 11ème.

† Les constituants du diafiltrat n'ont pas été étudiés. Une concentration préalable aurait été nécessaire et pouvait entraîner une dénaturation des constituants présents et en particulier des aminés que nous soupçonnons être liés à la protéine.

protéiques pharmacologiquement actives retenues par une membrane XM 300 lors d'une diafiltration. F₄, la combinaison histamine–protéine obtenue après incubation d'un échantillon protéique dénué de toute activité pharmacologique inhibitrice.

Hydrolyse chlorhydrique. Dix mg de la combinaison histamine–protéine sont hydrolysés par 5 ml d'une solution d'acide chlorhydrique 6 N sous vide à 100° et pendant 24 h. Après ce temps, on élimine l'acide chlorhydrique par évaporation à sec de l'hydrolysate dans un bain-marie à 100°. Après avoir éliminé l'acide chlorhydrique, le résidu sec est dissous dans 5 ml de liquide de Tyrode. Un dosage biologique de l'histamine est effectué sur cette solution.

Diafiltration sur une membrane Amicon PM 30. Six mg de la combinaison histamine–protéine sont dissous dans 6 ml de liquide de Tyrode. Introduite dans une cellule Amicon 8 MC équipée d'une membrane PM 30 de 25 mm de diamètre, cette solution est "diafiltrée" par 60 ml d'une solution de Tyrode. Le liquide diafiltré est recueilli par fractions de 2 ml dans un collecteur de fractions.

La filtration de l'histamine est suivie par la mesure en scintillation liquide de 1 ml de chaque tube.

La quantité d'histamine retenue est déterminée dans 1 ml du volume non diafiltré. Sur ce retenu de diafiltration, deux études parallèles sont entreprises. On détermine d'une part son activité pharmacologique et on étudie d'autre part la possibilité qu'ont les protéines retenues de fixer à nouveau l'histamine; le protocole opératoire est alors analogue à celui décrit plus haut.

Au préalable, nous avons étudié, sur une membrane PM 30 la diafiltration de l'histamine en suivant la radioactivité β émise par le ¹⁴C. Nous constatons que l'histamine n'est pas retenue par cette membrane et que le volume de liquide nécessaire pour éliminer cette amine est à peine supérieur à celui nécessaire à l'élimination du chlorure de sodium (Blatt *et al.*).⁸

RESULTATS

Nous réalisons trois expériences d'incubation de dichlorhydrate d'histamine et de préparations protéiques douées d'activité pharmacologique inhibitrice très variable. Parallèlement, nous étudions une fraction protéique dénuée de tout pouvoir de dissimuler l'activité biologique de l'histamine sur l'iléon isolé de Cobaye.

Par milligramme de chaque échantillon (F₁ à F₄), nous comparons la quantité de dichlorhydrate d'histamine fixée au nombre de D.M.A.I. (Tableau 2). Nous pouvons

TABLEAU 2. ETUDE DE L'ACTIVITÉ PHARMACOLOGIQUE ET DU POUVOIR DE FIXATION DE DIFFÉRENTES FRACTIONS PROTÉIQUES

	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
1/x	10 × 10 ⁵	16 × 10 ⁵	0,3 × 10 ⁵	Inactive
Nanomoles de dichlorhydrate d'histamine fixée par mg de F	0,33	0,53	0,29	0,01
1/x1	1,6 × 10 ⁵	3,3 × 10 ⁵	0,05 × 10 ⁵	Inactive

P, gramme de produit lyophilisé.

x, D.M.A.I. (nanogramme).

1/x, nombre de D.M.A.I. par milligramme de produit lyophilisé.

1/x1, nombre de D.M.A.I. par milligramme de produit lyophilisé après fixation d'histamine.

constater un certain parallélisme entre l'activité pharmacologique inhibitrice de cette glycoprotéine et sa capacité de fixer l'histamine.

Pour compléter cette expérience, nous calculons la quantité de dichlorhydrate d'histamine présente dans les échantillons F₁, F₂, F₃ non plus par mesure de la radioactivité, mais par la méthode biologique. Le Tableau 3 permet de comparer les résultats obtenus par deux techniques de dosage tout à fait différentes, l'une dosant la molécule d'histamine marquée présente dans la combinaison, l'autre appréciant l'activité contracturante de celle-ci.

TABLEAU 3. ETUDE COMPARATIVE DE LA QUANTITE DE DICHLORHYDRATE D'HISTAMINE (NANOMOLÉES) FIXÉE PAR MILLIGRAMME DE F AVANT ET APRES HYDROLYSE DETERMINEE PAR LA METHODE BIOLOGIQUE ET PAR MESURE DE LA RADIOACTIVITE

	Avant hydrolyse		Après hydrolyse
	Par radioactivité	Par méthode biologique	Par méthode biologique
F ₁	0,33	0,16	0,35
F ₂	0,53	0,10	0,41
F ₃	0,29	0,10	0,31

Les échantillons protéiques F₁, F₂, F₃ sont alors traités par une solution d'acide chlorhydrique 6 N. Après élimination de cet acide et reprise du résidu par le liquide de Tyrode, nous procédons à une nouvelle détermination de l'histamine par la méthode biologique sur l'iléon isolé de Cobaye (Tableau 3).

TABLEAU 4. DIAFILTRATION SUR UNE MEMBRANE PM 30 DES COMBINAISONS HISTAMINE-PROTEINE

	F ₄	F ₅	F ₆
1/x	Inactive	0,33 × 10 ⁶	1,6 × 10 ⁷
Nanomoles de dichlorhydrate d'histamine fixée par mg de F	0,01	0,60	0,18
1/x1	Inactive	0,16 × 10 ⁶	1 × 10 ⁶
Diafiltration sur PM 30			
1/x2	Inactive	0,33 × 10 ⁶	3 × 10 ⁶
Nanomoles de dichlorhydrate d'histamine fixée par mg de F	0,001	0,26	0,01
Nanomoles de dichlorhydrate d'histamine fixée par mg de F après une nouvelle incubation		0,50	0,21
1/x3		0,10 × 10 ⁶	0,80 × 10 ⁶

x, D.M.A.I. (nanogramme).

1/x, Nombre de D.M.A.I. par milligramme de produit lyophilisé.

1/x1, Nombre de D.M.A.I. par milligramme de produit lyophilisé après incubation.

1/x2, Nombre de D.M.A.I. par milligramme de produit lyophilisé après diafiltration sur membrane PM 30.

1/x3, Nombre de D.M.A.I. par milligramme de produit lyophilisé après incubation du retenu avec l'histamine.

Dans une dernière étape, nous étudions la diafiltration sur une membrane PM 30 des combinaisons histamine–protéine obtenues (F_4 , F_5 et F_6). Une partie de l’histamine est ultrafiltrée; une fraction non négligeable est retenue. Le déplacement de l’histamine des protéines sériques s’accompagne d’une augmentation de l’activité pharmacologique inhibitrice des échantillons. Ce retenu remis en contact avec une solution d’histamine en capte à nouveau une certaine quantité et la combinaison obtenue présente une plus faible activité pharmacologique (Tableau 4).

Une étude parallèle est entreprise sur F_4 (échantillon protéique dépourvu d’activité pharmacodynamique). La très faible quantité d’histamine qu’il lie est entièrement déplacée par diafiltration.

DISCUSSION

De tous ces résultats, il apparaît qu’un mélange de protéines sériques est capable de fixer *in vitro* l’histamine. Trois preuves formelles d’une telle liaison sont apportées au cours de ce travail:

(1) La présence d’histamine radiomarkée dans la fraction exclue au volume mort d’une colonne de Sephadex G-25 ne peut résulter que d’une association entre l’histamine, petite molécule et les protéines, composés macromoléculaires. L’excès d’histamine libre diffuse largement dans les mailles du gel et est élué plus tardivement.

(2) Lorsque l’on détermine l’histamine accompagnant ces protéines, nous constatons que les deux techniques de dosages mises en oeuvre conduisent à des résultats tout à fait différents (Tableau 3). Une partie de l’histamine dosée par radioactivité échappe au dosage biologique; cette fraction dissimulée d’histamine est vraisemblablement liée à la protéine puisqu’une hydrolyse acide est nécessaire pour l’en déplacer totalement. La faible quantité d’histamine biologiquement active correspond soit à de l’histamine libre entraînée au cours de la filtration sur gel Sephadex G-25, soit plus probablement à l’histamine libérée de la combinaison histamine–protéine lors du dosage biologique pour respecter l’équilibre de la réaction $HP \rightleftharpoons H + P$.

(3) Nous pourrions éventuellement imputer cette différence dans les résultats au fait que les deux techniques de dosage utilisées font appel à des principes tout à fait différents. Par contrôle préalable d’échantillons témoins, nous observons au contraire une concordance parfaite dans les résultats obtenus par ces deux techniques; les différences enregistrées lors des déterminations de la concentration d’histamine des solutions utilisées sont toujours inférieures à 5 pour cent.

Le dosage biologique demeurant la méthode de référence, nous nous sommes attachés à trouver un procédé qui nous permette de doser par cette technique l’histamine intégralement présente. Par hydrolyse chlorhydrique, qui provoque une rupture de liaisons aussi solides que les liaisons covalentes, nous pouvions espérer déplacer l’histamine de son site de combinaison. Comme l’illustre le Tableau 3, nous constatons en effet que la quantité d’histamine active biologiquement est beaucoup plus importante après qu’avant hydrolyse et se rapproche des valeurs trouvées par détermination de la radioactivité. Ces résultats signifient que l’histamine est bien liée à certaines protéines présentes dans le milieu d’incubation et que cette combinaison se traduit par une perte de l’activité contracturante de l’histamine sur l’iléon isolé de Cobaye.

Si à ce stade d’étude, nous affirmons l’existence d’une combinaison entre l’histamine et certaines protéines sériques, nous ne pouvons pas assurer qu’il s’agisse d’une

liaison spécifique entre l'histamine et la protéine décrite précédemment,³ puisque nous travaillons avec des préparations protéiques hétérogènes. Nous sommes donc amenés à suivre l'activité pharmacologique inhibitrice des combinaisons histamine-protéine obtenues. Nous constatons d'abord qu'un échantillon protéique incapable de dissimuler l'activité biologique de l'histamine (donc ne contenant pas le facteur protéique que nous étudions), ne fixe que des quantités minimales de cette amine (0,01 nanomoles). Il semble de plus exister un certain parallélisme entre l'activité pharmacologique inhibitrice d'une préparation et son affinité pour l'histamine *in vitro* (Tableau 2).

Mais beaucoup plus convaincant est le fait qu'une préparation protéique ayant fixé l'histamine, présente toujours une plus faible activité pharmacologique inhibitrice que l'échantillon initial. La combinaison protéine-histamine dissimule donc moins efficacement l'action contracturante de l'histamine sur l'iléon isolé de Cobaye que la protéine native. Toutefois, nous ne pouvons pas justifier tous les phénomènes; dans la mesure où les incubations sont réalisées en très grand excès d'histamine, nous pouvons espérer que tous les sites actifs de la protéine soient saturés et que la combinaison ainsi obtenue ne possède plus aucune activité pharmacologique inhibitrice. Or, nous obtenons toujours une activité inhibitrice résiduelle.

Pour mieux comprendre le maintien de cette activité pharmacologique inhibitrice résiduelle, même après incubation avec un excès d'histamine, il faut envisager deux possibilités d'action:

(1) Ou bien la protéine porte deux sites différents de liaison, l'un pour l'histamine, l'autre pour le récepteur de l'iléon. L'affinité de la protéine pour les récepteurs musculaires étant plus grande que celle de la protéine pour l'histamine, la protéine serait attirée préférentiellement par les récepteurs tissulaires.

(2) Ou bien l'histamine et le récepteur de l'iléon sont en compétition pour un même site, et nous pensons alors qu'au cours de la filtration sur Sephadex G-25 et à chaque plateau théorique, il se produit un déplacement partiel de l'histamine préalablement combinée aux protéines. Il y aurait de ce fait deux sites de fixation de l'histamine sur la glycoprotéine: (a) un premier labile dont se détache l'amine par simple dialyse (Durand)⁹ ou par filtration sur gel et qui pourrait entrer en contact avec les récepteurs musculaires, (b) un second, plus stable qui ne libère l'histamine que lors d'un traitement plus drastique (relargage, électrophorèse de zone en gradient de densité, diafiltration).

Ces deux hypothèses ne s'excluent pas l'une l'autre. Des essais sont en cours pour confirmer ou infirmer la première éventualité.

Par diafiltration, sur une membrane PM 30, des combinaisons histamine-protéine isolées par filtration sur Sephadex G-25, nous prouvons déjà qu'une fraction de l'histamine est encore susceptible d'être déplacée et que ce phénomène s'accompagne (Tableau 4) d'une variation de l'activité pharmacologique inhibitrice de l'échantillon retenu. L'affinité plus grande que présente le retenu de diafiltration pour les récepteurs de l'iléon n'est pas due à une dégradation de la structure tertiaire de la protéine rendant certains sites de fixation plus accessibles mais bien à la libération de sites de combinaison préalablement occupés par l'histamine. Si le retenu de diafiltration est remis en contact avec l'histamine, nous constatons que les protéines présentes se combinent à nouveau à une quantité d'histamine égale ou voisine de celle initialement

fixée et que cette combinaison s'accompagne toujours d'une diminution de l'activité pharmacologique inhibitrice des préparations obtenues.

Ces expériences de diafiltration confirment bien l'hypothèse de l'existence dans le plasma d'une protéine dont les sites de fixation sont déjà partiellement occupés par l'histamine ou un composé analogue. La détermination pharmacologique de l'activité histaminopexique d'un sérum est en fait le reflet, d'une part de la concentration en protéine active de ce sérum, d'autre part du nombre de sites libres sur cette protéine. De façon plus pratique, on peut dire qu'un plasma contenant un plus grand nombre d'unités qu'un autre peut soit être plus riche en protéine étudiée, soit avoir la même teneur en un principe actif dont les sites de fixation sont libres. Notons cependant que l'absence d'activité pharmacologique inhibitrice observée chez certains sujets allergiques n'est pas due à une saturation totale des sites actifs de la protéine puisqu'une diafiltration de sérum de tels sujets n'a jamais mis en évidence une activité initialement dissimulée (Féger).⁴

CONCLUSION

A l'issue de ce travail, nous pouvons affirmer l'existence d'une liaison physico-chimique entre l'histamine et la glycoprotéine possédant la propriété pharmacologique de diminuer l'activité biologique de l'histamine sur l'iléon de Cobaye. Nous constatons que l'histamine liée à cette glycoprotéine échappe au dosage biologique. Nous notons surtout que l'activité pharmacologique inhibitrice de la combinaison histamine-protéine obtenue est toujours plus faible que celle déterminée pour la protéine native. Cela signifie-t-il que la diminution de l'activité biologique est due à la combinaison histamine-protéine? Si nous voulons concilier ce travail avec les récents résultats de Lebel⁶ il faut admettre que la protéine liée à l'histamine présente alors moins d'affinité pour l'iléon.

Nous allons maintenant nous attacher à étudier le mécanisme d'action dans la cuve à organe isolé au contact de l'iléon, non plus avec des préparations protéines hétérogènes, mais avec la protéine pure.

Précisons enfin que la combinaison histamine-protéine a été observée dans nos conditions expérimentales, c'est-à-dire en présence d'un très grand excès d'histamine. Ceci repose d'ailleurs le problème du rôle physiologique de cette glycoprotéine qui est présente à une très faible concentration dans le plasma et se trouve toujours en contact avec des quantités minimales d'histamine.

Compte tenu de nos connaissances actuelles, il faut donc se garder d'extrapoler les résultats de nos expériences, et de faire jouer d'emblée, à cette glycoprotéine plasmique, un rôle physiologique.

Résumé—Nous étudions le facteur plasmatique responsable de la diminution de l'activité biologique de l'histamine sur l'iléon isolé de Cobaye. Des résultats expérimentaux apportent des preuves définitives de l'existence de la combinaison entre l'histamine et une protéine présente dans les fractions étudiées. Cette combinaison entre l'histamine et notre glycoprotéine entraîne une diminution de l'activité inhibitrice de celle-ci. L'histamine ainsi combinée ne peut plus être dosée ni par fluorimétrie, ni par méthode biologique. Une hydrolyse acide est nécessaire pour la déplacer totalement de ses sites de fixation.

BIBLIOGRAPHIE

1. J. L. PARROT, D. A. URQUIA et CL. LABORDE, *C.R. Soc. Biol.* **145**, 1045 (1951).
2. CL. LABORDE, J. L. PARROT et G. SANDOR, *C.R. Acad. Sci.* **248**, 3069 (1959).

3. G. DURAND, J. FEGER, B. LEBEL, J. AGNERAY, J. E. COURTOIS et J. L. PARROT, *Biochimie* **53**, 909 (1971).
4. J. FEGER, Thèse Doct. Pharm. Paris, Série E, No. 258 (1972).
5. C. LABORDE, J. L. PARROT et D. A. URQUIA, *Pressé Méd.* **61**, 1151 (1953).
6. B. LEBEL, Thèse Doct. Pharm. Paris, Série E, No. 228 (1971).
7. A. M. GOLOVTCHENKO, Mémoire de D.E.A. U.E.R. de Biochimie Paris, VII (1971).
8. W. F. BLATT, S. M. ROBINSON et H. J. BIXLER, *Analyt. Biochem.* **26**, 151 (1968).
9. G. DURAND. Thèse Doct. Pharm. Paris, Série E, No. 209 (1970).