

## Efecto espasmogénico de la histamina en el intestino aislado de hamster (*Cricetus auratus*)

por

Josefina Ingianna A.\* , Rodrigo Umaña A.\*\* e Ismary Gutiérrez G.\*

(Recibido para su publicación de 29 de noviembre de 1974)

**ABSTRACT:** A comparative study of the effects produced by histamine on 15 different sections of the small intestine of hamsters (*Cricetus auratus*) from the stomach to the ileocecal valve was performed to find a substitute for that of guinea pigs and to ascertain which of the sections was the most sensitive.

Changes in tone, amplitude and frequency of contractions with respect to control (spontaneous motility) were significant ( $P < 0.01$ ); the variance analysis showed no significant variations in the sensitivity or the motility of the different sections.

El objetivo de este trabajo es desarrollar una técnica adecuada para la determinación de la acción espasmogénica producida por la histamina en el intestino aislado. Uno de los métodos clásicos para la determinación de esta actividad es utilizando el íleo del cobayo (4); el de conejo es poco sensible (5), y el íleo de la rata casi no responde al estímulo producido por esta droga (4).

En vista de la imposibilidad de encontrar cobayos y de la relativa abundancia de hamsters, además de la urgencia de contar con un sustrato sensible a esa droga, se hizo necesario buscar otras especies de animales para realizar el ensayo.

En la literatura consultada no se encontró información sobre la sensibilidad de los órganos aislados del hamster a la histamina, de donde se deduce que no se le conoce.

Cuando se utiliza el intestino como órgano aislado, se recomienda escoger un segmento de unos dos centímetros de la porción del íleo, por su mayor

---

\* Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Costa Rica.

\*\* Departamento de Estadística, Facultad de Ciencias Económicas, Universidad de Costa Rica.

sensibilidad (5). Ocasionalmente, éste no responde satisfactoriamente aún a dosis elevadas de histamina. En esos casos, se sustituye por otra porción; este nuevo segmento responde frecuentemente a dosis de histamina que no afectaban al segmento desechado. Esta variabilidad en sensibilidad fue lo que llevó a EICHBAUM y BRUNO (2) a realizar estudios con diversos segmentos del íleo de cobayos, manteniendo las otras variables constantes hasta donde les fue posible. Al analizar luego los datos obtenidos por el "sign test" de DIXON y MOOD (1), encontraron que el segmento de íleo más sensible a la histamina es el más alejado de la válvula ileocecal; además la motilidad espontánea también resultó más elevada en esta sección.

En nuestro trabajo se estudió la sensibilidad de todo el intestino delgado del hamster a la histamina y se probó la sensibilidad a la droga en 15 de estos segmentos.

## MATERIAL Y METODOS

Se hizo todos los experimentos en hamsters (*Cricetus auratus*), hembras y machos escogidos al azar, de  $147.5 \pm 24.5$  gramos de peso. Después de decapitar al animal se midió la longitud de todo el intestino delgado, desde su extremo cefálico, próximo al estómago, hasta la porción caudal que conecta con la válvula ileocecal; esta medida es aproximadamente de 42 cm de longitud. Se escogió 15 segmentos de 2 cm de largo en la siguiente forma: los primeros 9 a partir de la válvula ileocecal, siendo el segmento No. 1 el que conecta directamente con la válvula. Los otros 6 segmentos siguientes se tomaron a intervalos de 4 cm uno del otro, o sea el No. 10, a 22 cm de la válvula y el No. 15, a 42 cm; este último conecta directamente con el estómago. Cada uno de estos 15 segmentos fue cogido de un hamster diferente; además se repitió los ensayos en cada segmento en 5 hamsters, lo que nos dio un total de 75 animales para el ensayo total.

El intestino se montó de acuerdo con la técnica clásica de MAGNUS (7), pero en una cámara de órgano aislado de 100 ml de capacidad, usando solución Tyrode a  $38 \pm 0.5$  C y aerada con una mezcla de 95 % de  $O_2$  y 5% de  $CO_2$ . Se realizó todos los experimentos en condiciones semejantes de tensión, volumen, etc., para disminuir el número de variables al mínimo.

Para cada respuesta se estudió tres parámetros diferentes: la amplitud, el tono y la frecuencia de las contracciones, en un fisiógrafo (E. & M. Instrument Co., Inc.) de 4 amplificadores (90-201-71), y con miógrafos tipo A (sensibilidad 0-300 mg).

Las soluciones usadas fueron de clorhidrato de histamina, calidad FEU, en concentraciones finales de 10  $\mu\text{g/ml}$ , 5  $\mu\text{g/ml}$ , 2.5  $\mu\text{g/ml}$  y 1.25  $\mu\text{g/ml}$  en forma seriada (ciclos), comenzando con la dosis más alta y terminando con la más baja; esta serie (ciclo) se repitió tres veces en cada sustrato y en 5 hamsters diferentes para cada segmento, lo que dio un total de 15 valores para cada dosis y cada segmento en particular. El tiempo de exposición a la droga fue de 2 minutos, inmediatamente después se procedió a lavar el segmento de intestino por

2 veces consecutivas con solución Tyrode precalentada y se esperó un lapso de 3 minutos para efectuar el tercer lavado.

Se estudió tanto los registros de las contracciones espontáneas del intestino (control) como las producidas por la droga en sus tres parámetros: tono, amplitud y frecuencia. En los controles, al tono "normal" se le dio arbitrariamente un valor de cero; la amplitud de contracción se midió en centímetros desde la línea basal hasta el efecto pico producido espontáneamente, sacándose luego un promedio de las amplitudes individuales para ser considerado como "amplitud control". La frecuencia de las contracciones se midió contando el número de contracciones por minuto. Con la droga, el aumento de tono se midió en centímetros desde la línea basal del experimento (tono control cero) hasta el inicio de las contracciones producidas por la droga. La amplitud de contracción producida por la droga se midió desde su inicio hasta el efecto pico, procediéndose luego a hacer un promedio de esos valores para obtener un solo valor que representara esa amplitud y poderle restar la amplitud control, obteniéndose así el aumento real en amplitud producido por la droga. La frecuencia se midió en contracciones por minuto, el aumento producido por la droga se obtuvo restándole a esos valores los obtenidos con el control. Luego se cambió los valores en centímetros a sus equivalentes en miligramos, tanto para el tono como para la amplitud de contracción, con base en la curva de tensión específica para cada experimento. Toda esta descripción de la forma como se midió estos parámetros se hace debido a que cada investigador los evalúa arbitrariamente, haciendo imposible la comparación de los resultados.

## RESULTADOS

**MOTILIDAD ESPONTANEA DEL INTESTINO DELGADO EN LOS DIFERENTES SEGMENTOS (CONTROL):** Analizando los resultados resumidos en el Cuadro 1, vemos que la frecuencia de contracción es aparentemente menor en los extremos caudales del intestino delgado y comienza a aumentar a medida que el intestino se aproxima al estómago (extremo cefálico). Sin embargo, en la Figura 1 se observa que no existe una tendencia bien definida en ese sentido. Tampoco existe esa tendencia en lo que se refiere a la amplitud espontánea de las contracciones del intestino (Fig. 1). De los resultados anteriores, se concluye que las contracciones espontáneas del intestino de hamster son similares desde el extremo cefálico hasta su unión con la válvula ileocecal.

**EFFECTOS DE LA HISTAMINA A DIFERENTES DOSIS EN TODO EL INTESTINO DELGADO:** Las respuestas típicas a las diferentes dosis se pueden observar en la Figura 2 y los resultados están resumidos en el Cuadro 2. En el Cuadro observamos que la frecuencia de las contracciones aumenta progresivamente con 1.25  $\mu\text{g/ml}$ , y llega a ser máxima con 2.5  $\mu\text{g/ml}$ . Las dosis mayores tienden a dis-

minuirla, sin embargo, aún a esas dosis altas, el número de contracciones producidas por la histamina es mayor que la frecuencia espontánea (control) del intestino. También se construyó curvas relacionando la dosis con el tono y con la amplitud de contracción. En ambos casos se obtuvo el tipo de curva típico de la relación dosis-efecto. Para hacer el análisis estadístico comparando los cambios producidos por la histamina en el tono, la amplitud y la frecuencia de las contracciones (con respecto al control) se escogió la dosis intermedia de 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , y se sometió esos resultados al "Test de Student" (6). Las diferencias con relación al control fueron estadísticamente significativas ( $P < 0.01$ ), por lo que se concluye que a esa dosis el intestino de hamster es un buen sustrato para la histamina.

## CUADRO 1

*Motilidad espontánea del intestino delgado de hamster  
en los diferentes segmentos (controles)\**

Segmentos	Frecuencia (cont./minuto)		Amplitud (mg)	
	Promedio	E.E.	Promedio	E.E.
1	23.2	3.74	142.57	36.9
2	32.0	0.51	185.91	27.0
3	30.6	1.00	215.08	59.1
4	31.0	1.05	208.66	25.8
5	31.2	0.71	202.66	56.2
6	32.4	1.41	207.91	43.9
7	32.1	0.51	164.16	32.3
8	30.9	1.86	165.58	32.2
9	31.2	2.58	123.83	29.2
10	28.8	3.40	229.41	53.3
11	31.0	0.56	165.91	31.3
12	32.4	1.20	113.25	40.3
13	34.4	1.52	118.08	27.5
14	37.4	1.08	234.66	48.2
15	37.8	1.78	331.75	88.9

\* Cada valor es el promedio de 60 determinaciones.

E.E. = error estándar.

El segmento No. 1 es el próximo a la válvula ileocecal (caudal) y el No. 15 es el más cercano al estómago (cefálico).

## CUADRO 2

*Aumentos en tono, amplitud y frecuencia producidos por la histamina a diferentes dosis en todo el intestino delgado\**

Concentración final de histamina ( $\mu$ /ml)	Tono (mg)		Amplitud (mg)		Frecuencia (cont./minuto)	
	Promedio	E.E.	Promedio	E.E.	Promedio	E.E.
10	588.7	45.2	437.7	41.8	1.50	0.34
5**	418.0	31.5	414.6	29.1	2.48	0.60
2.5	276.8	27.5	379.6	29.9	2.86	0.67
1.25	178.1	25.9	328.1	23.3	2.42	0.54

\* Cada valor es el promedio de 225 determinaciones.

\*\* Se escogió esta concentración intermedia de histamina para comparar los aumentos en tono, amplitud y frecuencia con respecto al control ( $P < 0.01$ ).

EFFECTOS DE LA HISTAMINA ( $5 \mu\text{g/ml}$ ) EN LOS QUINCE SEGMENTOS DE INTESTINO DELGADO: Si bien es cierto que se ensayó las diversas dosis de histamina (de  $10 \mu\text{g/ml}$  hasta  $1.25 \mu\text{g/ml}$ ) en todos los segmentos, únicamente se sometió los resultados obtenidos con la dosis intermedia ( $5 \mu\text{g/ml}$ ) al análisis estadístico, por dos razones: con esa concentración de histamina se obtenía una buena respuesta ( $P < 0.01$ ) y además el objetivo era comparar la sensibilidad a la histamina de todos los segmentos de intestino. Es por eso que el Cuadro 3 resume solamente los datos obtenidos con esa concentración. Los resultados fueron sometidos a un análisis de variancia (6), con el objeto de saber si las diferencias en el tono, la amplitud y la frecuencia en los 15 segmentos son indicativas de una mayor sensibilidad a la histamina en algún segmento en particular. Los valores de F obtenidos para el tono ( $F=165$ ), la amplitud ( $F=1.19$ ) y la frecuencia ( $F=1.38$ ) no son estadísticamente significativos, por lo que se concluye que todo el intestino delgado del hamster responde a la histamina en forma similar.

CUADRO 3

*Efectos de la histamina (5  $\mu\text{g/ml}$ ) en los quince segmentos de intestino delgado de hamster<sup>1,2</sup>*

Segmentos	Tono (mg)		Amplitud (mg)		Frecuencia (cont./minuto)	
	Promedio	E.E.	Promedio	E.E.	Promedio	E.E.
1	462.3	44.7	462.3	28.6	9.40	3.90
2	674.0	52.5	522.3	31.3	1.00	0.38
3	366.6	49.3	524.0	58.1	0.73	0.39
4	410.0	48.9	384.0	37.9	0.26	0.68
5	456.0	71.2	434.3	54.0	0.40	0.44
6	459.0	79.8	222.6	56.7	2.50	1.70
7	263.6	22.3	388.6	37.3	—	0.33
8	352.6	70.6	568.6	140.0	2.60	1.20
9	531.0	85.1	531.0	85.1	6.50	2.76
10	543.3	71.4	399.6	67.3	2.40	1.78
11	308.3	45.7	469.0	66.9	1.30	0.68
12	188.3	31.0	301.6	61.7	6.90	2.94
13	383.3	55.0	282.3	53.2	2.10	0.38
14	358.3	66.7	168.0	41.0	0.40	0.34
15	514.3	52.4	303.8	35.2	0.80	0.38

\* Cada valor es el promedio de 15 determinaciones y representa los aumentos en esos parámetros producidos por la histamina con respecto al control.

EFFECTOS DE LA HISTAMINA (5  $\mu\text{g/ml}$ ) EN LOS TRES CICLOS DE CADA EXPERIMENTO: Cuando se comparan los efectos producidos por una misma concentración final de histamina (5  $\mu\text{g/ml}$ ) en tres ciclos diferentes (Cuadro 4) se obtiene que el tono y la amplitud de las contracciones tienden a permanecer constantes, mientras que la frecuencia tiene un aumento pronunciado en el tercer ciclo de administración. Esto se puede observar en la Figura 3. Otros autores han obtenido taquifilaxis cuando se repite la misma dosis de histamina pero con tiempos mayores de exposición a la droga, concentraciones más altas de histamina y modificando el contenido de calcio en la solución Tyrode (3).

CUADRO 4

*Comparación de los efectos producidos por una misma concentración final de histamina (5 µg/ml) en los tres ciclos de cada experimento*

Orden de hamsters en los 15 segmentos	Tono (mg) y ciclo			Amplitud (mg) y ciclo			Frecuencia (cont./minuto) y ciclo		
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
1°	500	514	443	441.0	471.3	531.6	3.66	5.80	8.26
2°	454	420	428	348.2	321.6	347.0	-0.20	1.06	2.33
3°	445	360	372	413.3	411.6	486.3	1.20	0.53	4.00
4°	471	430	510	292.2	438.6	477.3	1.46	0.93	1.40
5°	344	330	308	340.0	366.0	390.0	2.93	0.66	2.66
Prom. ±E.E.	442±26.4	410±31.7	412±34	367±26.8	402±26.8	446±33.7	1.79±0.46	1.79±1.00	3.35±1.45

\* Cada valor es el promedio de 15 determinaciones y representa los aumentos en esos parámetros producidos por la histamina con respecto al control.

## CONCLUSIONES

Se encontró que la amplitud y la frecuencia espontáneas (control) en 15 segmentos de intestino delgado de hamster aparentemente aumentan conforme el segmento se aleja de la válvula ileocecal, en dirección hacia su unión con el estómago; sin embargo, el análisis de los gráficos respectivos muestra que en realidad no existe una tendencia definida en ese sentido.

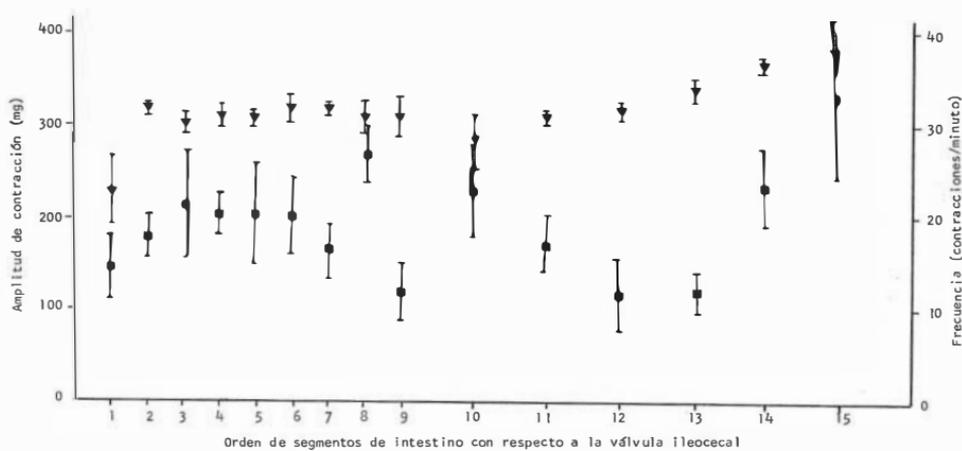
Con las cuatro dosis de histamina (de 10  $\mu\text{g/ml}$  a 1.25  $\mu\text{g/ml}$ ) se obtuvo un aumento en el tono y en la amplitud de las contracciones, proporcional a la dosis, en los quince segmentos. Con respecto a la frecuencia de las contracciones, éstas aumentan en número al aumentar la dosis pero hasta cierto límite; con la dosis más alta (10  $\mu\text{g/ml}$ ) la curva de relación dosis-efecto desciende bruscamente después de haber alcanzado la respuesta máxima, con lo que se demuestra que la frecuencia de las contracciones disminuye a dosis altas, pero aún así, es mayor que la frecuencia espontánea (control) del intestino. En todos los casos, las diferencias en respuestas a una misma dosis no fueron pronunciadas en lo que se refiere a amplitud y tono. Por el contrario, la frecuencia de las contracciones fue cada vez mayor conforme se repetía la misma dosis a intervalos diferentes y en el mismo sustrato. Con la dosis de 5  $\mu\text{g/ml}$ , los aumentos en el tono, la amplitud y la frecuencia, con respecto al control, son estadísticamente significativos cuando se aplica la prueba del "Test de Student" ( $P < 0.01$ ). En el análisis de variancia, nuestros estudios demuestran que básicamente la sensibilidad de las diferentes porciones del intestino delgado del hamster es bastante similar cuando se utiliza histamina como droga de ensayo.

De todo lo anterior se establece la posibilidad de usar el intestino delgado del hamster como sustituto del íleo de cobayo, además de que todo ese intestino delgado responde a la histamina en forma similar, de manera que se puede escoger cualquier segmento como sustrato.

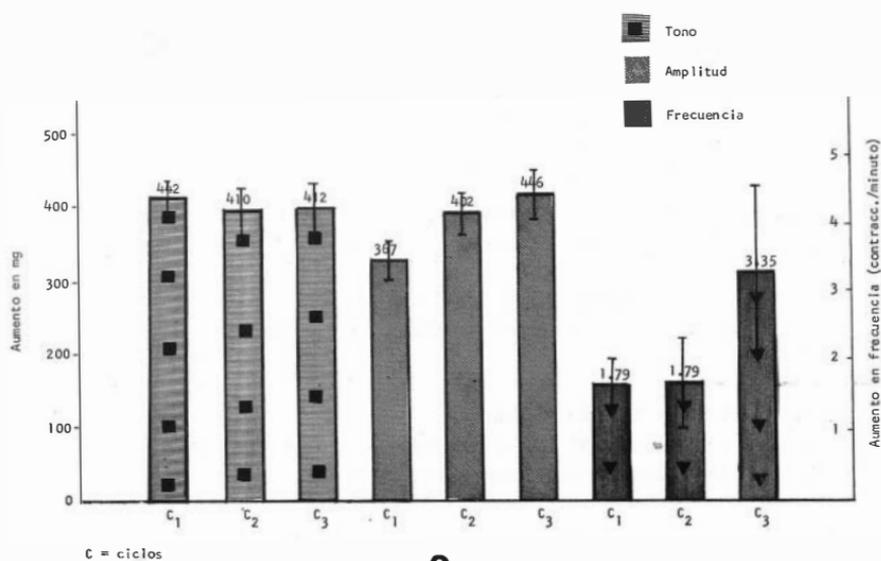
---

Fig. 1. Amplitud y frecuencia espontáneas del intestino de hamster (cada valor es el promedio de 60 determinaciones con su respectivo error estándar).

Fig. 2. Efectos de diferentes dosis de histamina en el intestino delgado del hamster.



1



c = ciclos

2

## RESUMEN

Se hizo un estudio comparativo entre los efectos producidos por la histamina en segmentos de intestino delgado de hamster cortados en 15 secciones diferentes, desde su unión con el estómago hasta la válvula ileocecal, para dilucidar posibles diferencias en sensibilidad a esa droga y poder establecer, no sólo el hecho de que el intestino delgado de hamster sea un buen sustituto cuando no se puede disponer fácilmente de cobayos, sino también, cuál es la porción de intestino más recomendable. Los resultados sometidos a un análisis de variancia demuestran que no existen diferencias significativas entre las respuestas a la histamina en los diferentes segmentos, de manera que cualquier porción de intestino delgado de hamster es un buen sustrato para los ensayos con histamina. Cuando se comparan los cambios producidos por la histamina en tono, amplitud y frecuencia de las contracciones con respecto al control (motilidad espontánea), estos sí resultan estadísticamente significativos ( $P < 0.01$ ).

## REFERENCIAS

1. DIXON, W. J., & A. M. MOOD  
1946. The statistical sign test. *J. Amer. Statist. Ass.*, 41: 557-566.
2. EICHBAUM, F. W., & Z. BRUNO  
1968. Effect of smooth muscle stimulating substances on different segments of the guinea pig ileum. *Pharmacology (Basel)*, 1: 241-245.
3. GOSSELIN, R. E. & R. S. GOSSELIN  
1973. Tachyphylaxis of guinea-pig ileum to histamine and furtrethonium. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 184: 494-505.
4. HENDERSON, P. T., E. J. ARIENS & A. M. SIMONIS  
1968. Differentiation of various types of cholinergic and other spasmogenic actions on the isolated guinea-pig ileum. *Europ. J. Pharmacol.*, 4: 62-70.
5. MILLER, L. C., T. J. BECKER, & M. L. TAINTER  
1948. The quantitative evaluation of spasmolytic drugs *in vitro*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 92: 260-268.
6. SNEDECOR, G. W., & W. G. COCHRAN  
1956. *Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology*. The Iowa State College Press, Ames, Iowa. 534 p.p.
7. UNIVERSITY OF EDINBURGH. STAFF OF THE DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY  
1970. *Pharmacological experiments on isolated preparations*. E. & S. Livingstone. Edinburgh and London. 2<sup>a</sup> ed. 62 p.p.

---

Fig. 3. Aumentos en tono, amplitud y frecuencia causados por una misma dosis de histamina ( $5 \mu\text{g/ml}$ ) en los tres ciclos de cada experimento (cada barra representa el promedio de 75 determinaciones con su respectivo error estándar).

