



REVISTA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DEL DOLOR



REVISTA DE LA SOCIEDAD
ESPAÑOLA DEL DOLOR

Artículo Aceptado para su pre-publicación

Título:

Caracterización fluoroscópica en rata de la dismotilidad colónica asociada a tratamiento con morfina

Autores:

Susana Díaz-Ruano, Ana Esther López-Pérez, Rocio Girón, Irene Pérez-García, María Isabel Martín-Fontelles, Raquel Abalo

DOI: [10.20986/resed.2017.3531/2016](https://doi.org/10.20986/resed.2017.3531/2016)

Instrucciones de citación para el artículo:

Díaz-Ruano Susana, López-Pérez Ana Esther , Girón Rocio, Pérez-García Irene, Martín-Fontelles María Isabel, Abalo Raquel. Caracterización fluoroscópica en rata de la dismotilidad colónica asociada a tratamiento con morfina. Rev. Soc. Esp. Dolor. 2017. doi: 10.20986/resed.2017.3531/2016.



que se publique en su forma final. Tenga en cuenta que durante el proceso de producción se pueden dar errores lo que podría afectar el contenido final. El copyright y todos los derechos legales que se aplican al artículo pertenecen a la Revista de la Sociedad Española de Dolor.

PRESENTADO EN EL XIII CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DEL DOLOR**CARACTERIZACIÓN FLUOROSCÓPICA EN RATA DE LA DISMOTILIDAD COLÓNICA ASOCIADA A TRATAMIENTO CON MORFINA****FLUOROSCOPIC CHARACTERIZATION OF COLONIC DYSMOTILITY IN RAT ASSOCIATED WITH MORPHINE TREATMENT**

S. Díaz-Ruano¹, AE López-Pérez^{1,5}, R. Girón^{2,3,4,5}, I. Pérez-García I, M. I. Martín-Fontelles^{2,3,4,5} y R. Abalo^{2,3,4,5}

¹Unidad de Dolor. Servicio de Anestesiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. ²Departamento de Ciencias Básicas de la Salud, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Rey Juan Carlos, Alcorcón. ³Unidad Asociada I+D+i al Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación. CIAL (CSIC). ⁴Unidad Asociada I+D+i al Instituto de Química Médica. IQM (CSIC). ⁵Grupo de Excelencia Investigadora URJC-Banco de Santander-Grupo Multidisciplinar de Investigación y Tratamiento del Dolor (i+DOL). Madrid

CORRESPONDENCIA:

Susana Díaz Ruano

susdiru@yahoo.es

Recibido 31-10-2016

Aceptado 31-10-2016

Palabras clave: Motilidad de colon, morfina, rata, sulfato de bario, fluoroscopia.

INTRODUCCIÓN

La utilización de morfina o sus derivados en el tratamiento de pacientes con dolor crónico, incluso no oncológico, es una práctica habitual en nuestros días. Uno de sus efectos secundarios más temidos es el que produce sobre la motilidad gastrointestinal

(GI) (1). Se han utilizado con anterioridad múltiples métodos de evaluación de la dismotilidad intestinal en ratas (2). Siempre se han preferido métodos de valoración no invasivos, por su mayor proximidad a la situación clínica. Pero la mayoría de ellos requiere el empleo de anestesia, lo que interfiere claramente en la motilidad intestinal. Por ello, pretendemos desarrollar una metodología que permita registrar simultáneamente, en rata consciente, la motilidad de intestino delgado y grueso, para caracterizar la dismotilidad ocasionada por tratamientos analgésicos. El objetivo del presente trabajo ha sido caracterizar el efecto de dosis crecientes de morfina en la motilidad colónica de rata, mediante registro fluoroscópico, un método no invasivo y sin la interferencia de la anestesia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los experimentos fueron diseñados y realizados siguiendo la legislación vigente europea y española en cuidado y utilización de animales de experimentación (Directiva EU 2010/63/EU para animales de experimentación; R. D. 53/2013) y fueron aprobados por el Comité de Ética de la Universidad Rey Juan Carlos (URJC) y del Hospital General Universitario Gregorio Marañón (HGUGM). Un total de 64 ratas Ratas Wistar macho adultas (210-360 g; n = 8-16 animales/grupo), recibieron contraste baritado (2 mg/ml, 1,5 ml) por sonda oro-gástrica en 2 momentos diferentes (20 horas y una 1,5 h antes del registro fluoroscópico), para “marcar” simultáneamente las distintas regiones GI (la primera carga de bario marca ciego y bolos fecales; la segunda, estómago e intestino delgado). Una hora después de la segunda carga de bario, las ratas recibieron una inyección intraperitoneal (i. p.) de morfina (Laboratorios Abelló [Madrid, España]) a diferentes dosis (0,1, 1, 5 o 10 mg/kg), o de solución salina (SS) (1 ml/kg) en el grupo control. Media hora después, se realizó un registro fluoroscópico de cada uno de los animales (de 2 minutos de duración) (Figura 1.A). Cada uno de los registros fluoroscópicos se descompuso en 120 fotogramas con el programa Quick Time Pro y se realizaron los siguientes análisis:

1. Determinación de longitud y diámetro de los bolos fecales presentes en el colon mediante el programa Image J (software de acceso libre en: www.imagej.net).

2. Determinación de la velocidad de propulsión (VP) de cada uno de los bolos, tomando como referencia el disco intervertebral ubicado en la base de la cola del animal (a la altura del ano).
3. Creación de un Mapa Espacio Temporal (MET) en Excel. En dicho mapa se representa cada bolo fecal y su avance a lo largo del colon descendente y recto (última porción colorrectal, la más visible y adyacente a la columna vertebral) durante los 2 minutos que dura el registro. En base a estos METs, se calculó un Factor de Propulsión (FP) para cada bolo (Figura 1.B).

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante ANOVA de una vía o test Chi cuadrado, según fuera preciso. Se consideró un nivel de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

No se observó diferencia significativa en cuanto al diámetro y la longitud de los bolos de animales control y tratados con morfina ($p < 0,05$, ANOVA de una vía). En cambio, como esperábamos, se observó una tendencia a la disminución de la VP y del valor del FP conforme aumentaba la dosis de morfina administrada ($p < 0,05$, ANOVA de una vía). La agrupación de los MET por grupos de tratamiento, y a su vez en dos grupos (grupo 1: porcentaje de MET con todos sus bolos con movimiento = 0 cm; grupo 2: porcentaje de MET con por lo menos uno de sus bolos con movimiento \geq de 3 cm), tras eliminar los registros no analizables y los animales en los que no aparecían bolos fecales, permitió observar más claramente el efecto de la morfina, que ralentizó la propulsión de los bolos fecales intracolónicos de manera dosis-dependiente ($p < 0,01$, Chi cuadrado como "Test de tendencia") (Figura 2).

CONCLUSIONES

Por primera vez hemos evaluado, mediante métodos fluoroscópicos, los efectos sobre la motilidad colónica de dosis crecientes de morfina en rata consciente. Como se esperaba, se produjo un enlentecimiento de la motilidad colónica, que fue dosis-

dependiente. La técnica empleada puede ser útil para la valoración, no invasiva y sin anestesia, de la dismotilidad colónica asociada al tratamiento con diferentes fármacos, incluyendo los analgésicos opioides.

AGRADECIMIENTOS

Financiado por SAF2012-40075-C02-01, S2010/BMD-2308.

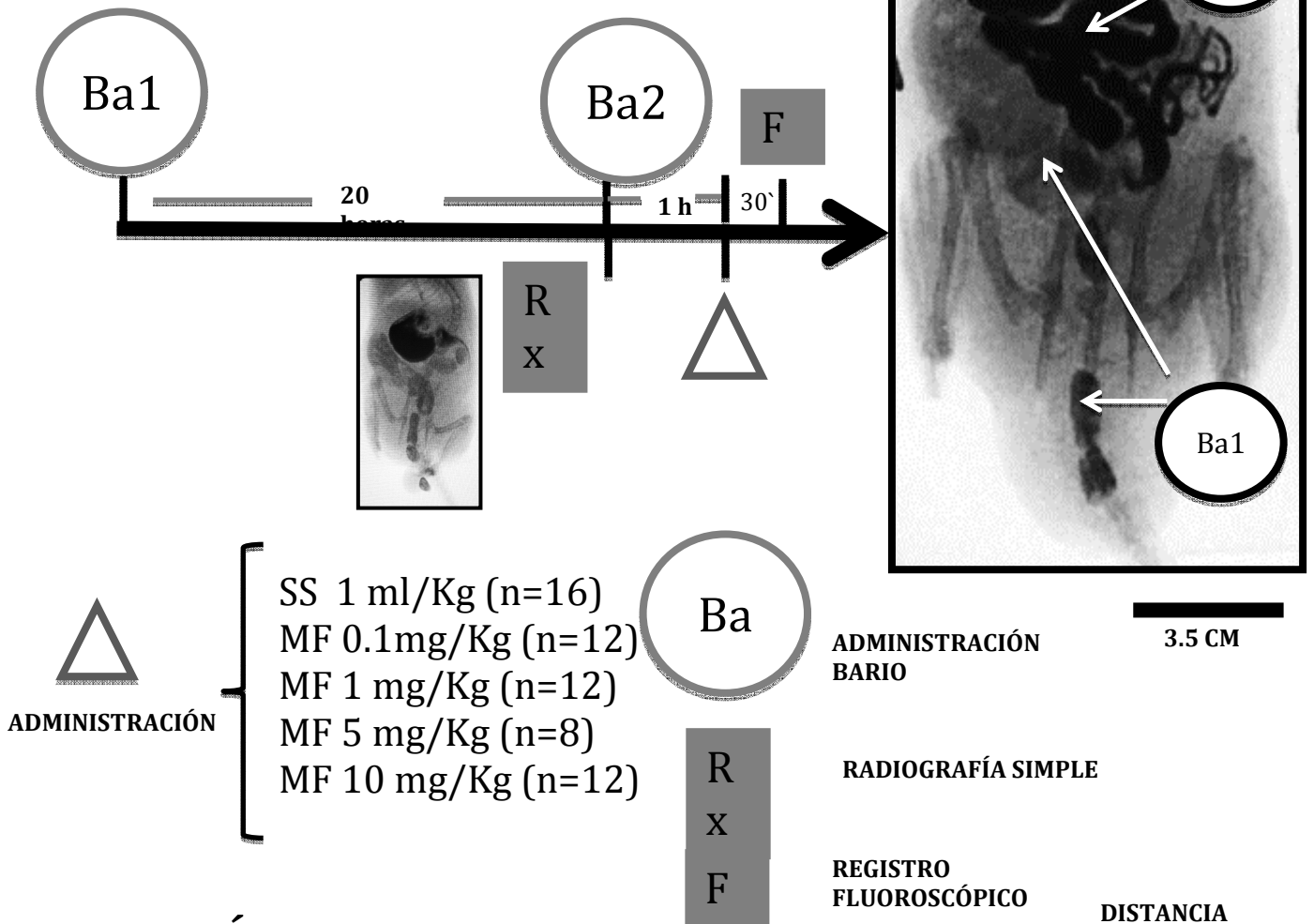
BIBLIOGRAFÍA

1. Ossten AW, Oldenmenger WH, Mathijssen RH, van der Rijt CC. A systematic review of prospective studies reporting adverse events of commonly used opioids for cancer-related pain: A cry for the use of standardized outcomes measures. *J Pain* 2015;16(10):935-46.
2. Girón R, Pérez-García I, Abalo R. X-ray of gastrointestinal motility in conscious mice. Effects of morphine and comparison with rats. *Neurogastroenterol Motil* 2016;28(1):74-84.

Figura 1. Metodología. A. Protocolo experimental (ver detalles en el texto). B. Análisis de los registros de fluoroscopia mediante mapas espacio-temporales (MET).

Para cada registro se construye un MET en Excel que muestra el avance de cada bolo fecal a lo largo de los 10 últimos cm del colon (dirección oral → anal, en los fotogramas la estrella muestra el disco intervertebral tomado como referencia), durante los 120 segundos que dura el registro. A partir del MET, se puede calcular un Factor de Propulsión (FP), empleando la formula mostrada, donde ABC es área bajo la curva descrita durante el recorrido de cada bolo en el mapa, y AT es el área total del mapa (idealmente, representaría el movimiento de un bolo que recorriera todo el colon distal a velocidad máxima y saliera inmediatamente tras comenzar el registro).

A. PROTOCOLO EXPERIMENTAL



B. ANÁLISIS



101"



3.5 cm

$$FP = \frac{ABC \times 100}{AT}$$

DISTANCIA RECORRIDA EN COLON (CM)

| TIEMPO (S) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 42 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 51 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 54 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 57 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 63 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 66 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 69 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 72 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 75 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 78 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 81 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 84 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 87 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 90 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 93 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 96 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 98 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 101 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 104 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 107 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 110 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 113 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 116 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 119 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

TIEMPO (S)

ORAL



ANAL

Figura 2. Resultados. Distribución de mapas espacio-temporales (MET) en función del tratamiento administrado y el movimiento de sus bolos. Las ratas recibieron suero salino o morfina 0,1, 1,5 o 10 mg/kg (ver detalles en el texto). Para cada tratamiento se muestra el % de METs en el que, al menos, unos de sus bolos presentó un movimiento ≥ 3 cm (blanco), frente al % de METs en que ninguno de sus bolos presentó movimiento (negro), tras eliminar los METs no analizables (por excesivo movimiento del animal en el cepo durante el registro), así como aquellos en los que ya no había bolos marcados (fueron expulsados antes de comenzar el registro). La morfina produjo una disminución dosis-dependiente de la motilidad colónica (análisis estadístico: χ^2 , como prueba de tendencia, $p < 0,01$).

%MET AGRUPADOS POR TRATAMIENTO Y MOVILIDAD DE SUS BOLOS

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | # |
|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 42 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 51 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 54 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 57 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 63 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 66 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 69 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 72 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 75 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 78 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 81 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 84 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 87 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 90 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 93 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 95 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 98 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 101 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 104 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 107 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 110 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 113 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 116 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 119 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 150612_R2_SS | | | | | | | | | | |

SUERO SALINO

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | # |
|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 27 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 33 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 42 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 51 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 54 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 57 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 60 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 63 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 66 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 69 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 72 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 75 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 78 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 81 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 84 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 87 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 90 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 93 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 95 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 98 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 101 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 104 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 107 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 110 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 113 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 116 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 119 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 150417_JAR!_MF10 | | | | | | | | | | |

MORFINA 10

χ^2 TEST FOR TREND P = 0.0056
(P<0.01)

