



# Desarrollo de modelos experimentales de alto riesgo de dehiscencia de anastomosis colorrectal en ratas

Ciclo de Metodología Científica II - 2023

Grupo 105

## Autores

- Lima, Gabriela<sup>a</sup>
- Martínez, Guillermo<sup>a</sup>
- Nuñez, Noelia<sup>a</sup>
- Vieira, Lucía<sup>a</sup>
- Rodríguez, Julieta<sup>a</sup>
- Sardiña, Juan Manuel<sup>a</sup>
- Tolosa, Juan<sup>b</sup>
- Brito, Noelia<sup>c</sup>

## Afiliación

<sup>a</sup> Estudiante de Medicina; Ciclo de Metodología Científica II 2023; Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay.

<sup>b</sup> Ayudante Departamento Básico de Cirugía; Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

<sup>c</sup> Prof. Adj. Departamento Básico de Cirugía; Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

## Resumen

La dehiscencia de la anastomosis es una de las complicaciones postoperatorias más frecuentes en la cirugía colorrectal, asociándose con un considerable aumento de la morbimortalidad. Esta complicación es responsable de un tercio de la mortalidad postoperatoria en cirugía colorrectal (1). A lo largo del tiempo se han producido importantes avances técnicos para la prevención de una dehiscencia anastomótica, así como un mayor conocimiento fisiopatológico de los mecanismos de falla. A pesar de esto, continúa existiendo un porcentaje considerable de pacientes que sufren una dehiscencia de la anastomosis colorrectal. Los estudios experimentales en animales permiten realizar investigaciones en condiciones controladas que, posteriormente, podrían reproducirse en la clínica. Si bien el objetivo de este estudio fue desarrollar y evaluar modelos de alto riesgo de dehiscencia de anastomosis colorrectales en ratas, esto no pudo ser llevado a cabo. Se definieron tres grupos: un grupo control, donde solo se realizó una anastomosis colorrectal (grupo en el cual se espera un mínimo o nulo porcentaje de falla anastomótica), y dos grupos experimentales, en los cuales se llevarían a cabo procedimientos adicionales (instilación transanal con ácido acético y clampeo venoso portal) con el objetivo de generar un mayor porcentaje de dehiscencia en forma controlada y protocolizada. Sin embargo, tras intervenir a los animales del grupo control, se observó un porcentaje elevado de falla de anastomosis (70%), lo que llevó a la decisión de no intervenir a los grupos experimentales por razones bioéticas y teniendo en cuenta que los objetivos de la investigación ya no podrían realizarse. Por lo tanto, se analizaron posibles causas, tanto intrínsecas como extrínsecas, para el alto índice de dehiscencia, proponiendo modificaciones para futuras investigaciones, como son la importancia de cambios en las apreciaciones técnicas, un período de mayor ayuno previo a la intervención y la consideración del uso de antibióticos en el perioperatorio. Se establece también la posibilidad de reanudar en un futuro la investigación con un protocolo ajustado.

**Palabras clave:** Dehiscencia anastomótica; Anastomosis Quirúrgica; Cirugía Colorrectal; Modelos Animales; Ratas Sprague-Dawley.

## Abstract

Anal anastomotic dehiscence (anastomotic leak) is one of the most common postoperative complications in colorectal surgery, associated with a significant increase in morbidity and mortality. This complication is responsible for one-third of postoperative mortality in colorectal surgery (1). Over time, there have been significant technical advances in the prevention of anastomotic dehiscence, as well as a greater understanding of the pathophysiological mechanisms of failure. Despite this, there remains a significant percentage of patients who suffer from anastomotic dehiscence of the colorectum. Animal experimental studies allow research to be conducted under controlled conditions that could later be applied in a clinical setting. While the aim of this study was to develop and evaluate high-risk models of colorectal anastomotic dehiscence in rats, this could not be carried out. Three groups were defined: a control group, where only a colorectal anastomosis was performed (a group in which a minimal or null percentage of anastomotic failure is expected), and two experimental groups, in which additional procedures would be carried out (transanal instillation with acetic acid and portal venous clamping) with the aim of generating a higher percentage of dehiscence in a controlled and protocolized manner. However, after intervening in the animals of the control group, a high percentage of anastomotic failure (70%) was observed, which led to the decision not to intervene in the experimental groups for ethical reasons and considering that the research objectives could no longer be achieved. Therefore, possible causes, both intrinsic and extrinsic, for the high dehiscence index were analyzed, proposing modifications for future research, such as the importance of fundamental changes in technical considerations, a longer fasting period prior to the intervention and the consideration of the use of antibiotics in the perioperative period. It also established the possibility of resuming the research in the future with an adjusted protocol.

**Keywords:** Anastomotic dehiscence; Surgical anastomosis; Colorectal surgery; Animal models; Sprague-Dawley rats.

## Índice de contenido

<b>Introducción.....</b>	<b>3</b>
Complicaciones de la cirugía colorrectal.....	3
Dehiscencia de la anastomosis.....	4
Etiología y factores de riesgo en la dehiscencia de la anastomosis.....	4
Diagnóstico.....	5
Tratamiento.....	6
Prevención.....	7
<b>Modelos experimentales de dehiscencia de la anastomosis.....</b>	<b>8</b>
<b>Objetivos del estudio.....</b>	<b>9</b>
Objetivo general.....	9
Objetivos específicos.....	9
<b>Metodología.....</b>	<b>10</b>
Diseño experimental.....	10
Valoración macroscópica.....	12
Plan estadístico.....	12
Consideraciones bioéticas.....	12
<b>Resultados.....</b>	<b>13</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>17</b>
<b>Conclusiones y perspectivas.....</b>	<b>20</b>
<b>Agradecimientos.....</b>	<b>20</b>
<b>Referencias bibliográficas.....</b>	<b>21</b>

## Introducción

La cirugía colorrectal se realiza con intenciones curativas en un amplio espectro de condiciones (tanto malignas como benignas); las mismas incluyen cáncer colorrectal, diverticulitis, oclusión intestinal, entre otras. En el tratamiento quirúrgico de estas patologías frecuentemente se requiere de la resección del segmento intestinal afectado seguido de la reconstrucción del tránsito intestinal mediante anastomosis (2–4). Una anastomosis se define como la unión quirúrgica entre dos vísceras huecas, con la correcta comunicación entre los compartimentos intraluminales (5).

En el siglo XIX, se confeccionaron las primeras anastomosis colorrectales, con una altísima tasa de morbimortalidad. Desde su surgimiento hasta la actualidad, este procedimiento se ha convertido en un acto quirúrgico seguro y rutinario. Han influido en la disminución de su morbimortalidad múltiples avances en el conocimiento técnico de la confección anastomosis, así como avances propios del ámbito quirúrgico en general. Dentro de estos se destacan la importancia de incluir el plano submucoso en la anastomosis, la aproximación serosa, la introducción de la sutura mecánica, y avances en la asepsia quirúrgica (3,4).

Actualmente existen diferentes formas técnicas de confeccionar una anastomosis colorrectal, debiendo tomarse en cuenta el terreno del paciente y las preferencias y experiencia del equipo quirúrgico tratante. Existe consenso en que la clave para realizar una anastomosis colorrectal, independientemente de la técnica utilizada, está en conseguir la unión de dos sectores de intestino con buena vascularización, evitar al máximo la tensión de la anastomosis, e idealmente confeccionar la misma en ausencia de un proceso inflamatorio-infeccioso local/regional (6).

## Complicaciones de la cirugía colorrectal

Sí bien la cirugía colorrectal se ha convertido en un acto quirúrgico seguro, no está exenta de complicaciones (7). Las complicaciones intraoperatorias más importantes incluyen las hemorragias y la lesión de vísceras huecas. Entre las complicaciones postoperatorias las más frecuentes incluyen la infección del sitio quirúrgico, tanto superficial como profunda, el íleo postoperatorio, las hemorragias, los abscesos intraabdominal y la dehiscencia de la anastomosis (7).

## Dehiscencia de la anastomosis

La dehiscencia de la anastomosis (DA) o falla de sutura es una de las complicaciones más frecuentes en la cirugía colorrectal (8,9). El International Multispecialty Anastomotic Leak Global Improvement Exchange (IMAGInE) propone la siguiente definición de DA: "defecto de la integridad en una unión quirúrgica entre dos vísceras huecas con comunicación entre los compartimentos intraluminal y extraluminal" (10). Como consecuencia de este defecto en la unión quirúrgica puede existir pasaje de contenido intestinal al peritoneo, derivando eventualmente en el desarrollo de abscesos, peritonitis y sepsis con fallo orgánico y muerte del individuo (7). Por lo tanto, esta complicación asocia una alta morbimortalidad, afectando gravemente la calidad de vida de los pacientes y los costos para los servicios de salud. A su vez, existe evidencia de que la dehiscencia anastomótica también es un factor de mal pronóstico oncológico a largo plazo (7,10,11).

La incidencia de esta complicación dentro de los 30 días postoperatorios se estima entre el 1 al 20%. La variabilidad de estas cifras se explica por múltiples factores: variables propias del paciente que aumentan el riesgo (edad avanzada, mal estado nutricional, tipo y duración de la enfermedad, enfermedades crónicas, entre otros), la topografía donde se realiza la anastomosis, y la definición de DA utilizada, ya que no existe una definición estandarizada (7,10). Sí bien es un problema prevalente, su prevención y tratamiento continúan presentando aspectos controversiales en la actualidad (7,10,11).

### *Etiología y factores de riesgo en la dehiscencia de la anastomosis*

Habitualmente la DA no tiene una única causa identificable, siendo frecuentemente multifactorial. Influyen en el desarrollo de la misma variables de la técnica quirúrgica, así como factores propios del paciente. Se ha observado DA incluso en pacientes jóvenes, con buen estado nutricional, sin condiciones médicas preexistentes y luego de una cirugía en la que se ha seguido una técnica quirúrgica adecuada (7,11).

Los factores de riesgo para DA pueden dividirse en preoperatorios, operatorios y postoperatorios (2,12,13).

De los factores preoperatorios se destacan fundamentalmente la edad avanzada, la desnutrición (particularmente hipoalbuminemia), el consumo de alcohol, el tabaquismo, obesidad, el sexo masculino, la diabetes mellitus, una clasificación ASA (American Society of Anesthesiologists) mayor a II y otras comorbilidades. Respecto a la edad, luego de los 60 años aumenta considerablemente la incidencia de DA y la mortalidad asociada. Particularmente los

hombres presentan mayores dificultades técnicas en la cirugía del recto debido a que presentan una pelvis más estrecha respecto al sexo femenino. Otro factor de importancia es la topografía de la anastomosis, existiendo evidencia de que cuanto más distal sea la anastomosis a nivel de recto pelviano, mayor será la incidencia de falla de sutura. (2,12,13).

Los factores de riesgo operatorios se relacionan con la experiencia del equipo quirúrgico, la oportunidad, la técnica y condiciones de la cirugía (2,12,13).

En cuanto a la experiencia del equipo quirúrgico los diferentes estudios plantean resultados mixtos sobre ésta y las tasas de DA. Se plantea que en centros dónde existe un mayor volumen de intervenciones, y por lo tanto de experiencia, el riesgo será menor. La oportunidad de la cirugía es otro factor a considerar, observándose que pacientes sometidos a resecciones y anastomosis de urgencia o emergencia poseen mayores tasas de falla de suturas. Teniendo en cuenta al abordaje quirúrgico, algunos estudios han encontrado que la tasa de DA es menor cuando se realizan procedimientos laparoscópicos. También se ha observado un aumento del riesgo en intervenciones con una duración mayor a 3 horas (2,12–14).

Los factores de riesgo postoperatorio, ya sea para DA u otras complicaciones, son la presencia de anemia y las pérdidas intraoperatorias con necesidad de transfusión sanguínea. El oxígeno se une a la hemoglobina, cuando existe anemia existe un descenso en la perfusión y oxigenación de los márgenes anastomóticos, lo cual altera directamente al correcto proceso de cicatrización de la anastomosis. De igual manera, la pérdida de sangre intraoperatoria puede inducir isquemia en la anastomosis afectando su cicatrización; mientras que, las transfusiones de sangre pueden inducir supresión inmunológica aumentando el riesgo de infecciones alrededor de la anastomosis, siendo el riesgo de DA en estos pacientes 1,5 veces mayor que en quienes no recibieron transfusiones (2,12,13).

### *Diagnóstico*

El diagnóstico de DA se basa fundamentalmente en hallazgos clínicos, imagenológicos e intraoperatorios (15). La mayoría de las fallas de sutura de una anastomosis intestinal ocurren entre el cuarto y octavo día del postoperatorio. Sin embargo, los hallazgos clínicos aparecen comúnmente a partir del quinto día postoperatorio, haciéndose más evidentes desde el octavo día (9). Dentro de los signos y síntomas clínicos encontramos: dolor abdominal, taquicardia, fiebre, taquipnea, íleo, y en los casos más severos elementos de disfunción orgánica; en caso de haberse colocado drenaje intraoperatorio puede observarse gasto purulento (16). Los exámenes de laboratorio colaboran en evidenciar una respuesta inflamatoria sistémica con

leucocitosis, aumento de los reactantes de fase aguda y aumento del ácido láctico, así como evidenciar las eventuales disfunciones orgánicas (16).

Una herramienta fundamental para cuando existe la sospecha clínica de una DA es la tomografía computada, la cual permite evidenciar la presencia de líquido libre intraperitoneal, neumoperitoneo o colección perianastomótica con o sin gas, como elementos de falla de sutura. Sin embargo, si bien presenta un alto rendimiento, asocia también una tasa de falsos negativos para DA de hasta el 25%, y en un porcentaje considerable de los casos el diagnóstico se confirma durante la exploración intraoperatoria (16,17).

Teniendo en cuenta las dificultades en el diagnóstico temprano de esta complicación se han desarrollado métodos intraoperatorios para intentar predecir y anticipar una eventual DA. De estas, se destacan aquellos que evalúan la vascularización de los cabos a anastomosar, aspecto fundamental para lograr una adecuada cicatrización intestinal. Estos varían desde métodos subjetivos, como valorar el aspecto y color de los segmentos intestinales, hasta tecnologías más modernas como la angiografía de fluorescencia con verde de indocianina (16,17).

La media del diagnóstico para DA es de 8-12 días postoperatorios (9,16). La morbimortalidad a corto, mediano y largo plazo, así como la necesidad de una ostomía permanente, disminuye cuánto más precozmente se detecte la DA (9). Por todo esto, resulta esencial combinar las diferentes herramientas tradicionales y modernas para el diagnóstico precoz de una DA (8).

### *Tratamiento*

El tratamiento de la DA es muy variable y pobremente estandarizado en la actualidad, dado que este variará de acuerdo con la severidad de la falla anastomótica, reserva funcional del paciente, topografía de la anastomosis y experiencia del equipo quirúrgico fundamentalmente (17,18).

Utilizando la definición propuesta por Rahbari et al. se puede dividir la DA en tres grados (A, B, C), según la gravedad clínica de la DA. En los grados más leves la DA es habitualmente tratada mediante antibióticos y el eventual drenaje de las colecciones, evitando así una reintervención quirúrgica, mientras que en el grado más severo de dehiscencia anastomótica se requiere de una re-intervención quirúrgica, con la eventual confección de una ostomía de detransitación y el desmontaje de la anastomosis (17,18).

## *Prevención*

En las últimas décadas se ha investigado sobre el impacto de algunas prácticas del perioperatorio en la incidencia de una DA (12).

La contaminación anastomótica por la flora digestiva microbiana se considera un factor importante que contribuye a la DA. En base a esto, varios estudios han intentado valorar la influencia de la preparación colónica y el uso de antibióticos orales, aunque, a día de hoy, su contribución a la prevención de la DA sigue siendo incierta (12).

La preparación mecánica del colón consiste en la utilización de diferentes técnicas tendientes a eliminar la mayor cantidad de materia fecal posible en el colon al momento de la intervención. La lógica detrás de esta práctica se encuentra en que, al reducir la cantidad de heces en contacto con la anastomosis, la presión intraluminal ejercida por éstas disminuiría y, por tanto, la probabilidad de isquemia o falla de sutura; así como también se reduciría la carga bacteriana ante una eventual falla (19). Sí bien la preparación mecánica del colón es ampliamente practicada, la última revisión Cochrane en 2010 no consiguió demostrar su efectividad en la prevención de una DA, aunque tampoco evidenció mayor tasa de efectos adversos significativos (19).

Otra práctica incluye el aporte de antibióticos orales con el objetivo de disminuir la carga bacteriana y las probabilidades de infección, reduciendo también el riesgo de DA. En un estudio sistemático realizado en 2014 se concluyó que esta medida podría ser efectiva, aunque sin evidencia sólida (12,13,19,20).

También se han implementado técnicas que buscan la detección temprana de la DA. Éstas no previenen la ocurrencia, pero sí tienen el potencial de disminuir la morbimortalidad al permitir un diagnóstico y tratamiento precoz, realizando por tanto prevención secundaria (8,19).

En conclusión, no existe un consenso claro sobre la manera más eficaz de prevenir y tratar la DA, generando esto una diversidad de enfoques y posibilidades. Por lo tanto, resulta de suma importancia desarrollar modelos experimentales que permitan investigar en profundidad las causas de esta complicación, así como identificar las mejores estrategias de prevención (11,21).

## Modelos experimentales de dehiscencia de la anastomosis

Los modelos experimentales proporcionan a los investigadores la oportunidad de realizar estudios de cirugía experimental en condiciones similares a las del ser humano. Estos modelos permiten generar conocimientos fundamentales y básicos que puedan servir como base para futuros estudios clínicos. Al analizar y comprender mejor los mecanismos subyacentes y los factores de riesgo asociados con la DA, se podrían identificar nuevas formas de prevención y tratamiento más eficaces (11,21).

La rata es un animal de experimentación de uso frecuente y difundido. En lo que respecta a colon y recto, presenta características anatómicas y fisiológicas similares al humano y podría aportar información valiosa sobre los mecanismos que conducen a la dehiscencia y sobre posibles estrategias de prevención y tratamiento (22). Se ha observado en diferentes estudios experimentales que cuando este animal es intervenido en condiciones ideales se obtiene un porcentaje de ésta complicación de aproximadamente 10% (23,24).

En las últimas décadas se han desarrollado modelos de alto riesgo de dehiscencia de anastomosis colorrectal en ratas. Entre estos se describen modelos de inflamación parietal por irritación química intraluminal o modelos de isquemia venosa por clampeo venoso portal (11). La importancia de generar modelos de alto riesgo de dehiscencia de anastomosis está dada por los principios bioéticos que rigen las investigaciones experimentales con animales, donde se debe utilizar la menor cantidad posible de sujetos para llegar a los resultados. Al establecerse estos modelos se maximiza la posibilidad de observar la complicación sobre la que se quiere estudiar, reduciendo la muestra necesaria (25–27).

No existen en nuestro medio publicaciones respecto al desarrollo, uso o validación de modelos de alto riesgo de dehiscencia anastomótica colorrectal en ratas. Por lo tanto, realizar intervenciones para validar estos métodos favorecerá el posterior diseño de proyectos de cirugía experimental sobre DA, así como la utilización de un menor número de animales de experimentación (25–27).

## Objetivos del estudio

El estudio propone los siguientes objetivos generales y específicos:

### Objetivo general

Creación y evaluación de modelos experimentales de alto riesgo de dehiscencia de anastomosis colorrectales en ratas.

### Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de un modelo de colitis inducida por ácido acético en la aparición de dehiscencia de anastomosis colorrectal en ratas.
- Evaluar el efecto de un modelo de isquemia venosa intestinal en la aparición de dehiscencia de anastomosis colorrectal en ratas.
- Comparar los resultados respecto a la aparición de dehiscencia de anastomosis entre los grupos experimentales y el grupo control.
- Analizar y comparar los hallazgos macroscópicos de la exploración quirúrgica entre los grupos experimental y control.

## Metodología

Con fines académicos, y debido a que el siguiente protocolo experimental tuvo que ser discontinuado por resultados iniciales desfavorables, se describe la metodología tentativa.

### Diseño experimental

Se realizó un estudio experimental en el período comprendido entre agosto-setiembre de 2023, utilizando ratas macho exocriadas de la cepa Sprague Dawley, con aproximadamente 12 semanas de edad y un peso entre 276-379 gramos. Los animales fueron criados y alojados en la Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación de la Facultad de Medicina (URBE), en condiciones ambientales apropiadas, con temperaturas de 20-24 °C y ciclos de luz-oscuridad de 12 horas. Recibiendo alimento para ratas (Nutrisur®) y agua ad libitum.

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en 3 grupos: grupo control (anastomosis, n = 10), modelo 1 (colitis inducida por ácido acético + anastomosis, n = 12) y modelo 2 (isquemia venosa + anastomosis, n = 12). Los procedimientos que se buscaba aplicar a los grupos modelo 1 y 2 están validados por otros estudios experimentales (11,28,29).

Los procedimientos fueron desempeñados por un ayudante del Departamento Básico de Cirugía. En todos los grupos, los animales fueron previamente anestesiados con una solución de ketamina 75 mg/kg y xilacina 4 mg/kg vía intraperitoneal.

En el grupo experimental 1 (modelo 1) se realizaría el modelo de colitis inducida por ácido acético. Una vez anestesiado el animal, se realiza un enema mediante la administración de 2 mL de ácido acético al 4% a través de un catéter Abbocath calibre 14 introducido vía rectal, con el extremo distal del catéter a 6 cm del ano. Luego de instilada la solución el animal se coloca en ligera posición de Trendelenburg invertida para evitar el pasaje de la solución a sectores más proximales del colon, mientras se realiza presión con los dedos a nivel del ano para evitar fugas. La solución se mantiene durante unos 30 segundos, para luego ser evacuada a través del catéter. En el resto de los grupos también se realizará el enema descrito previamente, a diferencia de que la solución instilada corresponde a una solución de cloruro de sodio al 0,9%.

Luego del enema, en todos los grupos se realiza una mediana xifopúbica de 6-7 cm aproximadamente, previa asepsia cutánea con solución de iodopovidona al 1%. La incisión se realizará con bisturí frío hoja 11 hasta el plano muscular. Una vez alcanzado dicho plano, se tracciona el plano muscular con una pinza americana hacia el "cenit" y posteriormente se

secciona con una tijera hasta alcanzar el plano intraperitoneal. Se introduce una pinza de disección dentro de la cavidad peritoneal y se secciona bajo visión entre ambas mandíbulas de la pinza, para evitar una lesión visceral.

En el grupo experimental 2 (modelo 2) se realizaría el modelo de alto riesgo de dehiscencia anastomótica por isquemia venosa. Una vez accedido a la cavidad peritoneal, se identifica el hilio hepático y se realiza el clampeo continuo del eje venoso porta-hepático durante 30 minutos con un micro-clamp de cirugía microvascular, mientras se cubre las vísceras de la cavidad con una gasa húmeda.

Luego de 30 minutos de clampeo portal en el grupo 2 y una vez accedido a la cavidad peritoneal en el resto de los grupos se aborda el recto para realizar su sección y anastomosis. A 6 cm del margen anal aproximadamente se realizará la sección completa del recto con tijera de microcirugía. De este modo se obtienen dos cabos, uno proximal y otro distal, que serán anastomosados mediante sutura continua monoplano con poliglactina 910 6-0.

Finalmente se realiza el cierre parietal, primero del plano muscular mediante sutura continua con poliglactina 910 5-0 y luego del plano cutáneo con puntos simples de nylon 5-0.

Durante todo el procedimiento se utilizaron guantes estériles y material quirúrgico previamente esterilizado en el autoclave de la URBE y posteriormente sumergido en alcohol etílico eucaliptado al 70% durante la realización de los procedimientos.

Durante los 7 días del postoperatorio se realizó un control clínico diario a cargo del grupo investigador. Durante este período los animales recibieron analgesia con ibuprofeno y acetaminofeno diluidos en el agua para beber con una concentración de 200 mg/L y 1 g/L respectivamente.

A los 7 días de realizado el procedimiento (límite establecido por ser el período en el cual ocurre la gran mayoría de las dehiscencias anastomóticas en el ámbito clínico (9)), los animales fueron sacrificados mediante el uso de una solución de ketamina y xilacina intraperitoneal cuatro veces mayor a la utilizada para la inducción anestésica. Para el caso de los animales que fallecieron antes del tiempo establecido se realizó la autopsia al momento del fallecimiento. A su vez, estaba pautado que los animales que durante el seguimiento clínico el animal presentaran signos clínicos de sufrimiento o enfermedad grave, también serían sacrificados, realizando la autopsia en dicho momento.

## Valoración macroscópica

Una vez sacrificado el animal, se realizó la exploración de la cavidad peritoneal y de la anastomosis con el objetivo de identificar signos macroscópicos de dehiscencia anastomótica: peritonitis fecaloidea o purulenta, abscesos o colecciones inflamatorias peri-anastomóticas y evidencia de algún defecto en la hermeticidad de la anastomosis de la valoración in situ o al estudiar la pieza quirúrgica con el sector intestinal anastomosado.

## Plan estadístico

La principal variable recabada en dicho proyecto fue la dehiscencia anastomótica, obtenida a través de los hallazgos macroscópicos de la exploración de la cavidad peritoneal a los 7 días o eventualmente antes por fallecimiento o necesidad de sacrificar al animal. A su vez, se registró como factor intrínseco el peso de cada animal previo a la realización de los procedimientos, y fue analizada con su media y desvío estándar.

La variable dehiscencia anastomótica fue presentada y analizada de dos formas: como variable cualitativa dicotómica: presencia/ausencia de dehiscencia anastomótica; y como una variable cualitativa ordinal, según la gravedad de los signos macroscópicos, utilizando una clasificación previamente descrita en otros diseños experimentales (30). La clasificación asigna valores numéricos a cada nivel de gravedad: "0" representa la ausencia de signos de dehiscencia anastomótica, "1" representa abscesos peri-anastomóticos, "2" representa peritonitis purulenta o abscesos de gran tamaño según el criterio de los investigadores, y "3" representa peritonitis fecaloidea o dehiscencia macroscópicamente visible en la anastomosis.

La dehiscencia anastomótica como variable cualitativa dicotómica fue analizada mediante tablas de frecuencia y sería comparada entre los grupos mediante el test de chi cuadrado. La dehiscencia anastomótica como variable cualitativa ordinal fue analizada mediante tablas de frecuencia y sería comparada entre los grupos mediante el test de Kruskal-Wallis. En todos los casos se utilizaría un nivel de significación del 95%. Los datos obtenidos fueron cargados y analizados en SPSS para Windows versión 28.0 (IBM Corp., NY, USA).

## Consideraciones bioéticas

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de la República, Montevideo, Uruguay (CEUA). La elección de la rata como animal

de experimentación se justifica por su similitud anatómica y fisiológica con el ser humano y por su manejo más fácil en comparación con los ratones (22).

Durante la investigación se siguieron los principios bioéticos de las 3R (Reducción, Refinamiento y Reemplazo) propuesto por Russell y Burch en 1959, garantizando el bienestar de los animales de experimentación y minimizando al máximo posible su dolor y malestar (7-9).

## Resultados

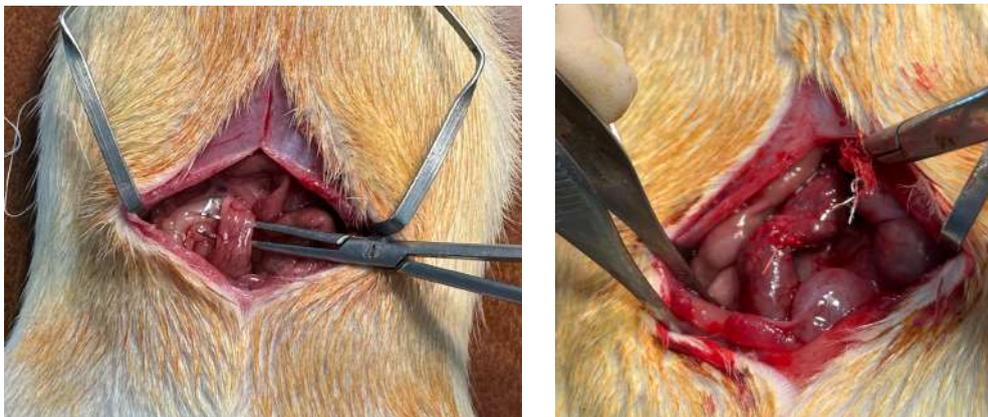
Durante el período comprendido entre agosto y septiembre de 2023 se intervinieron solamente 10 animales del grupo control (Figura 1). Como se mencionó previamente, se decidió no continuar con el resto de los animales debido al alto porcentaje de dehiscencia anastomosis que se obtuvo en los primeros animales del grupo control.

Los animales presentaron un peso medio de 327 gramos  $\pm$  29 gramos, con un mínimo de 276 gramos y un máximo de 379 gramos (Tabla 1).

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. estándar
Peso	10	276,00	379,00	327,3000	28,96377
N válido (por lista)	10				

**Tabla 1.** Media y desvío estándar peso

De los 10 animales intervenidos, se cumplió en 9 con el período de observación preestablecido de 7 días, mientras que uno de los animales falleció 24 horas luego de ser intervenido, no identificándose una causa objetivable de muerte ni una dehiscencia de la anastomosis colorrectal.



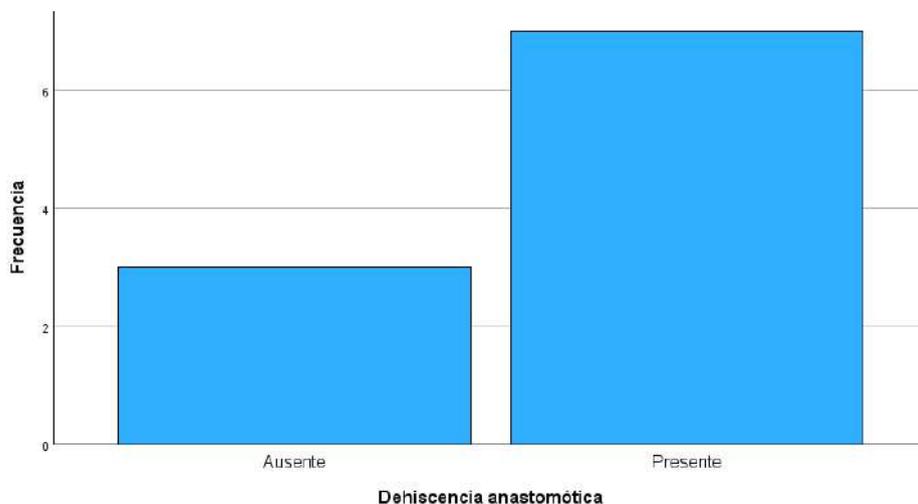
**Figura 1.** En la imagen de la izquierda se muestra el abordaje del recto disecado, mientras que en la imagen de la derecha se muestra la sección y anastomosis de recto confeccionada en el intraoperatorio.

De los 10 animales del grupo control intervenidos 7 presentaron una dehiscencia de la anastomosis, mientras que 3 mantuvieron la anastomosis íntegra. La frecuencia absoluta y

porcentaje correspondiente se presentan mediante tabla de frecuencia (Tabla 2) y gráfico de barras (Figura 2)

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	Ausente	3	30,0	30,0	30,0
	Presente	7	70,0	70,0	100,0
	Total	10	100,0	100,0	

**Tabla 2.** Tabla de frecuencia presencia/ausencia DA



**Figura 2.** Gráfico de barras de ausencia/presencia de dehiscencia anastomótica.

En cuanto a los hallazgos macroscópicos durante la autopsia (Figuras 3 y 4), los mismos fueron ordenados en una tabla de frecuencia según su gravedad (Tabla 3) y su visualización gráfica facilitada mediante un gráfico de barras (Figura 5). De los mismos se desprende que el hallazgo con mayor frecuencia fue una dehiscencia anastomótica macroscópicamente visible, correspondiente al grado más alto de severidad de la clasificación utilizada en este trabajo (30). Únicamente 3 animales intervenidos obtuvieron un nivel de severidad de 0 (no presentaron signos macroscópicos de DA), si bien una de ellas solamente sobrevivió 24 horas del postoperatorio, por lo que no alcanzó el período de mayor desarrollo de fallas de sutura. En ninguno de los animales con falla de sutura se evidenciaron elementos de peritonitis difusa (purulenta o fecaloidea). Sí se observó un importante proceso inflamatorio local con bloqueo de la anastomosis por adherencias con vísceras adyacentes, así como el desarrollo de abscesos peri-anastomóticos en 2 casos, siendo bilaterales en ambos casos y no mayores a 1 cm de diámetro.



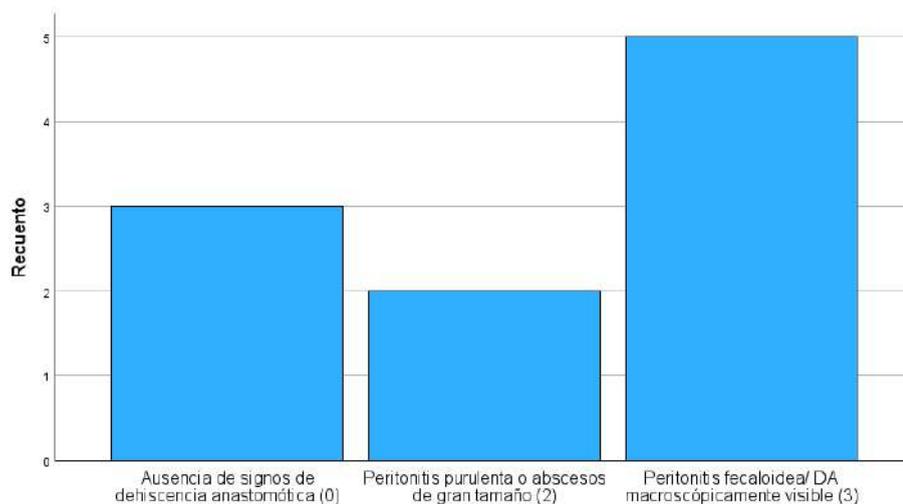
**Figura 3.** Hallazgos de la autopsia al 7° día de la intervención. En la imagen de la izquierda se evidencia un importante proceso inflamatorio con adherencias locorregionales de vísceras y epiplón. En la imagen de la derecha se evidencia el resultado de la disección de los procesos adherenciales, que cubrían el gran defecto de la anastomosis (asterisco amarillo).



**Figura 4.** Segmento de recto resecado a nivel de la anastomosis. En la imagen de la izquierda se muestra el defecto de la anastomosis (asterisco amarillo), mientras que en la imagen de la derecha se observa una anastomosis íntegra.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	Ausencia de signos de dehiscencia anastomótica (0)	3	30,0	30,0	30,0
	Peritonitis purulenta o abscesos de gran tamaño (2)	2	20,0	20,0	50,0
	Peritonitis fecaloidea/ DA macroscópicamente visible (3)	5	50,0	50,0	100,0
	Total	10	100,0	100,0	

**Tabla 3.** Tabla de frecuencia con la gravedad de los hallazgos macroscópicos.



**Figura 5.** Tabla de frecuencia Gravedad de los hallazgos macroscópicos

## Discusión

Este estudio se propuso desarrollar modelos experimentales de alto riesgo de dehiscencia de anastomosis colorrectales en ratas, con el objetivo de que sean útiles para futuros diseños experimentales sobre el tema. A pesar del pequeño tamaño de muestra en el grupo control se observó que el porcentaje de dehiscencia de anastomosis (DA) en éste grupo fue considerablemente alto, alcanzando el 70%, superando las expectativas o el porcentaje de falla de sutura aceptable para dicho grupo. En comparación con estudios similares, donde el grupo control presentó un porcentaje de DA de alrededor del 10%, el resultado de esta investigación fue 7 veces mayor (23,24).

Si analizamos las dos variables principales del estudio (“presencia/ausencia de DA” y “gravedad”) se observa no sólo predominancia de casos donde existió falla de sutura, sino también donde la falla se ubicó en el nivel más alto de gravedad. Razón por la cuál continuar con la investigación e intervenir a los grupos experimentales no parecía adecuado ni tampoco ético, dado que se parte de la base de que las anastomosis colorrectales realizadas correctamente y en ausencia de una intervención adicional no deberían alcanzar un alto porcentaje de dehiscencia anastomótica. El objetivo de esta investigación era crear modelos experimentales de alto riesgo de dehiscencia de anastomosis colorrectales favorecido por intervenciones adicionales (instilación de ácido acético transanal o isquemia venosa), que

podrían estandarizarse y realizarse en forma relativamente controlada, con resultados esperables.

Se analizaron factores intrínsecos y extrínsecos que podrían haber influido en estos resultados, clasificándolos como intrínsecos al sujeto de investigación o extrínsecos, relacionados con el entorno.

Considerando que los animales utilizados fueron exocriados en condiciones de asepsia y con una edad promedio de 12 semanas, se toma al peso como única variable intrínseca que podría haber influido en los resultados.

Los animales intervenidos que desarrollaron una DA asociaban un peso medio de 330 g, mientras que los que no desarrollaron la complicación presentaron un peso medio de 320 g.

Para establecer si existieron diferencias significativas entre el peso de los animales que sufrieron la complicación de los que no, se establece primero la normalidad de la variable (prueba de Shapiro-Wilk) y la homogeneidad entre las varianzas (prueba de Levene). Posteriormente, se realiza la prueba T de student para muestras independientes (tabla 4) concluyendo que no se puede establecer que exista una diferencia significativa en el peso de entre ambos grupos.

Contraste T para Muestras Independientes			
	t	gl	p
Peso	0.476	8	0.647

**Tabla 4.** Contraste T de muestras independientes para la variable peso entre los animales que desarrollaron una dehiscencia de la anastomosis y los que no la desarrollaron.

Por otro lado, los factores extrínsecos que podrían influir en los resultados. Dentro de estos uno de los que podría tener mayor relevancia es la variable técnica. El alto índice de falla de sutura puede estar influenciado por una variedad de factores extrínsecos que afectan la calidad, resistencia y cicatrización de la anastomosis colorrectal. A continuación, haremos un breve análisis de los siguientes factores externos que podrían haber contribuido a este problema (7,11,13,15,31).

Con respecto a los aspectos técnicos de la anastomosis, se plantea que podría haber tenido una importante influencia en el desarrollo de las complicaciones. Una observación relevante en el análisis de las fallas de sutura reveló que las dehiscencias significativas se produjeron en la cara anterior de la anastomosis, en algunos casos en toda su extensión y en

otros a nivel de la línea media, lo cual coincide con el anudado de la sutura continua para confeccionar la anastomosis. Se postula que la falta de un anudado más seguro en el último punto de esta cara podría ser un factor crucial. La aplicación de una técnica de sutura más precisa y segura en esta área específica puede mejorar significativamente la resistencia de la anastomosis.

Es importante destacar que el cirujano encargado de las intervenciones presentaba cierto grado de experiencia en suturas digestivas en ratas, particularmente en intestino delgado, pero probablemente no contaba con la suficiente experiencia previa en anastomosis a nivel rectal, y menos aún en anastomosis rectales con supervivencia del animal. La falta de experiencia específica podría haber influido en la ejecución de la técnica de sutura.

Durante la valoración intraoperatoria inmediatamente después de realizar las anastomosis colorrectales, se llevó a cabo una exploración detallada en todos los casos. Este proceso tenía como objetivo evaluar diversos aspectos cruciales para determinar la viabilidad y éxito de las anastomosis. Se evaluó la integridad de la anastomosis en busca de posibles defectos por falta de aproximación de los bordes de la anastomosis. La ausencia de defectos evidenciaría una correcta ejecución de la técnica quirúrgica inicial. También se examinaron los bordes de los cabos a anastomosar para detectar signos de isquemia. La presencia de un aspecto isquémico podría indicar alteraciones en la vascularización local, que inevitablemente conducirían a una cicatrización adecuada y eventual falla de sutura.

Se evaluó la presencia de tensión en la anastomosis, un aspecto fundamental para una correcta cicatrización. La preservación de la adecuada tensión evita la generación de fuerzas desiguales que podrían comprometer la resistencia de la sutura e incluso generar isquemia a nivel de los puntos.

La conclusión obtenida tras esta evaluación intraoperatoria fue que ninguno de estos parámetros se encontraba alterado en los casos estudiados. Específicamente, la tensión de la anastomosis fue respetada, y los cabos se encontraban libres de tensiones indebidas. Este hecho es respaldado por la decisión de realizar únicamente la sección y anastomosis del recto, sin resección de ningún segmento adicional que pudiera contribuir a la dehiscencia de la anastomosis.

Otra consideración clave es la topografía de la anastomosis (15,21). Se plantea la hipótesis de que realizar la anastomosis más proximalmente, donde el colon presenta un diámetro mayor, podría facilitar la intervención. La elección de esta ubicación podría permitir una mejor manipulación y sutura, reduciendo así la probabilidad de falla.

Otro aspecto adicional que podría influir en el éxito de las anastomosis colorrectales es el tamaño de los animales utilizados en el estudio. El uso de ratas de mayor tamaño podría asociarse con un recto de mayor diámetro. Este factor podría facilitar la confección de la anastomosis, permitiendo una mayor maniobrabilidad durante la intervención y reduciendo las posibles tensiones en la sutura.

Adicionalmente, durante el intraoperatorio se observó un importante contenido fecal a lo largo del colon y recto, con materias sólidas de un diámetro significativamente mayor al del recto. En condiciones normales esto no genera inconvenientes por la gran capacidad de distensión de la pared intestinal. Sin embargo, al confeccionar la anastomosis, este estiramiento podría contribuir con el aumento de la presión intraluminal y consecuente aumento de la tensión de la anastomosis, lo cual podría influir en una mayor tasa de fallas de sutura. En el presente trabajo no se realizó un ayuno preoperatorio, lo que podría contribuir en parte con la aparición de DA por lo anteriormente mencionado.

## Conclusiones y perspectivas

La obtención de resultados desfavorables y la necesidad de cumplir con plazos académicos llevaron a la interrupción temporal del proyecto de investigación. Se contempla la posibilidad de reanudar el estudio tras la reevaluación del protocolo y la implementación de los ajustes necesarios. Se analizaron factores extrínsecos, resaltando aspectos técnicos de la anastomosis, el cumplimiento de ayuno y la ubicación más proximal de la anastomosis.

Se proponen modificaciones al protocolo en función de los hallazgos. Aunque no se lograron los objetivos iniciales, se destaca el valor científico del estudio al identificar posibles causas del alto índice de dehiscencia en el grupo control, así como su valor académico y como experiencia para el grupo investigador. Este conocimiento guiará mejoras en el protocolo para continuar investigando sobre la dehiscencia de anastomosis colorrectal y métodos que reduzcan su prevalencia y morbimortalidad.

## Agradecimientos

Queremos expresar nuestro agradecimiento a nuestros tutores, Noelia Brito y Juan Tolosa, así como al Departamento Básico de Cirugía de la Facultad de Medicina, por permitirnos participar en esta investigación.

Agradecemos a Silvana Bartesaghi por su constante disposición y apoyo, resolviendo los problemas que surgieron a lo largo de la monografía.

Finalmente, extendemos un agradecimiento especial a Santiago Mansilla, asistente del Departamento de Metodología Científica de la Facultad de Medicina, quien nos brindó orientación y asesoramiento en la redacción de los resultados y la discusión.

## Referencias bibliográficas

1. Sparreboom CL, Wu ZQ, Ji JF, Lange JF. Integrated approach to colorectal anastomotic leakage: Communication, infection and healing disturbances. *World J Gastroenterol*. 28 de agosto de 2016;22(32):7226-35.
2. Sripathi S, Khan MI, Patel N, Meda RT, Nuguru SP, Rachakonda S. Factors Contributing to Anastomotic Leakage Following Colorectal Surgery: Why, When, and Who Leaks? *Cureus*. 14(10):e29964.
3. Chen C. The Art of Bowel Anastomosis. *Scand J Surg*. 1 de diciembre de 2012;101(4):238-40.
4. Liu Q, Li X. [Evolution and prospect of colorectal anastomosis]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi Chin J Gastrointest Surg*. April de 2018;21(4):470-5.
5. Townsead, Beauchamp, Evers. Sabinston: tratado de cirugía. Fundamentos biológicos de la práctica quirúrgica moderna. 21.ª ed. Elsevier; 2022.
6. Goulder F. Bowel anastomoses: The theory, the practice and the evidence base. *World J Gastrointest Surg*. 27 de septiembre de 2012;4(9):208-13.
7. Kirchhoff P, Clavien PA, Hahnloser D. Complications in colorectal surgery: risk factors and preventive strategies. *Patient Saf Surg*. 25 de marzo de 2010;4:5.
8. Vardhan S, Deshpande SG, Singh A, Aravind Kumar C, Bisen YT, Dighe OR. Techniques for Diagnosing Anastomotic Leaks Intraoperatively in Colorectal Surgeries: A Review. *Cureus*. 15(1):e34168.
9. Daams F, Wu Z, Lahaye MJ, Jeekel J, Lange JF. Prediction and diagnosis of colorectal anastomotic leakage: A systematic review of literature. *World J Gastrointest Surg*. 27 de febrero de 2014;6(2):14-26.
10. Grzona EG, Quelin LA, Sotelo JM, Serafini VH. Dehiscencias anastomóticas en coloproctología: Estado del arte. *Rev Argent Cir*. septiembre de 2018;110(3):135-45.
11. Alvarenga Junior V, Ferraz ED, Rolim M, Carra AM, Silva PT da, Franco OB, et al. Rat models of high risk colorectal anastomoses. *Acta Cirúrgica Bras*. octubre de 2018;33:914-23.
12. Fang AH, Chao W, Ecker M. Review of Colonic Anastomotic Leakage and Prevention Methods. *J Clin Med*. 16 de diciembre de 2020;9(12):4061.
13. Zarnescu EC, Zarnescu NO, Costea R. Updates of Risk Factors for Anastomotic Leakage after Colorectal Surgery. *Diagnostics*. 17 de diciembre de 2021;11(12):2382.
14. Murray ACA, Chiuzan C, Kiran RP. Risk of anastomotic leak after laparoscopic versus open colectomy. *Surg Endosc*. diciembre de 2016;30(12):5275-82.
15. Kingham PT, Pachter LH. Colonic Anastomotic Leak: Risk Factors, Diagnosis, and Treatment. *J Am Coll Surg*. febrero de 2009;208(2):269-78.
16. Hernandez PT, Paspulati RM, Shanmugan S. Diagnosis of Anastomotic Leak. *Clin Colon Rectal Surg*. 23 de noviembre de 2021;34(6):391-9.
17. Gessler B, Eriksson O, Angenete E. Diagnosis, treatment, and consequences of anastomotic leakage in colorectal surgery. *Int J Colorectal Dis*. 2017;32(4):549-56.
18. Thomas MS, Margolin DA. Management of Colorectal Anastomotic Leak. *Clin Colon Rectal Surg*. junio de 2016;29(2):138-44.
19. Leenen JPL, Hentzen JEKR, Ockhuijsen HDL. Effectiveness of mechanical bowel preparation versus no preparation on anastomotic leakage in colorectal surgery: a systematic review and meta-analysis. *Updat Surg*. junio de 2019;71(2):227-36.
20. How to Prevent Anastomotic Leak in Colorectal Surgery? A Systematic Review [Internet]. [citado 17 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://coloproctol.org/journal/view.php?number=1751>
21. Bannura C G, Cumsille G MA, Barrera E A, Contreras P J, Melo L C, Soto C D, et al. Factores asociados a la dehiscencia clínica de una anastomosis intestinal grapada: análisis

- multivariado de 610 pacientes consecutivos. *Rev Chil Cir.* octubre de 2006;58(5):341-6.
22. Pommergaard HC, Rosenberg J, Schumacher-Petersen C, Achiam MP. Choosing the Best Animal Species to Mimic Clinical Colon Anastomotic Leakage in Humans: A Qualitative Systematic Review. *Eur Surg Res.* 30 de septiembre de 2011;47(3):173-81.
  23. Ghiselli R, Lucarini G, Ortenzi M, Salvolini E, Saccomanno S, Orlando F, et al. Anastomotic healing in a rat model of peritonitis after non-steroidal anti-inflammatory drug administration. *Eur J Histochem EJH.* 10 de enero de 2020;64(1):3085.
  24. Czeiger D, Osyntsov A, Osyntsov L, Ball CG, Gigi R, Shaked G. Examining the safety of colon anastomosis on a rat model of ischemia-reperfusion injury. *World J Emerg Surg WJES.* 2 de julio de 2013;8:24.
  25. Barrios EE, Espinoza M, Leal U, Ruiz N, Pinto V, Jurado B. Bioética y el empleo de animales de experimentación en investigación. *Salus.* agosto de 2011;15(2):28-34.
  26. Mandal J, Parija SC. Ethics of involving animals in research. *Trop Parasitol.* 2013;3(1):4-6.
  27. Hubrecht RC, Carter E. The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change. *Anim Open Access J MDPI.* 30 de septiembre de 2019;9(10):754.
  28. Colonic healing after portal ischemia and reperfusion: an experimental study with oxidative stress biomarkers [Internet]. [citado 3 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1179/135100007X239261?needAccess=true&role=button>
  29. Simsek A, Yagci G, Zeybek N, Gorgulu S, Kaymakcioglu N, Kesim E, et al. Effects of portal triad occlusion on left-sided colonic anastomosis. *Int Surg.* 2002;87(1):25-30.
  30. Yauw STK, Lomme RMLM, Vijver RJ van der, Hendriks T, Laarhoven KJHM van, Goor H van. Diclofenac causes anastomotic leakage in the proximal colon but not in the distal colon of the rat. *Am J Surg.* 1 de agosto de 2015;210(2):382-8.
  31. Obesity and anastomotic leak rates in colorectal cancer: a meta-analysis | SpringerLink [Internet]. [citado 31 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00384-021-03909-7>