

Modelo experimental para el estudio de la recidiva locorregional del cáncer colorrectal

J. F. Noguera Aguilar^a, C. Tortajada Collado^{*b}, J. M. Morón Canis^b, A. Plaza Martínez^{**b},
I. Amengual Antich^{***c} y J. J. Pujol Tugores^{****a}

Servicio de Cirugía General. ^{*}Diplomada Universitaria en Enfermería. ^{**}Servicio de Cirugía Vascular. ^{***}Servicio de Anatomía Patológica. ^{****}Área Quirúrgica. ^aFundación Hospital Son Llàtzer. Son Ferriol. Baleares. ^bHospital Son Dureta. Baleares. ^cFundación Hospital de Manacor. Baleares.

RESUMEN

Objetivo: evaluar el modelo experimental diseñado mediante comparación con los modelos existentes e investigar si es adecuado para el estudio de la recidiva locorregional del cáncer colorrectal.

Métodos: estudio experimental con 40 ratas Sprague-Dawley macho, asignadas aleatoriamente a uno de los dos grupos: control (n=20), con manipulación del colon descendente; y anastomosis cólica (n=20), con sección del colon descendente y posterior anastomosis. Tras inducción carcinogénica con 1-2 dimetilhidrazina a dosis semanal de 25 mg/kg de peso durante 18 semanas, se analizaron los tumores cólicos inducidos en la semana 20 del postoperatorio.

Resultados: el número de tumores, la superficie tumoral cólica y el porcentaje de tejido tumoral cólico fueron muy superiores en el grupo con anastomosis cólica frente al grupo control. En los grupos con sutura cólica dichos parámetros fueron muy superiores en el colon perianastomótico respecto al resto del colon.

Conclusiones: dada la elevada incidencia de tumores inducidos y su agrupación alrededor del área perianastomótica, creemos que es un modelo experimental ideal para realizar estudios sobre la recidiva locorregional del cáncer colorrectal.

Palabras clave: Cáncer colorrectal. Recidiva. Rata. Modelo experimental.

INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal es el cáncer digestivo más frecuente en Europa Occidental y los Estados Unidos (1) y la segunda causa de muerte en el mundo occidental (2). En nuestro país supone el 15% de todos los cánceres excluyendo los cánceres de piel no melanoma, y posee una incidencia de 20-30 casos por 100.000 habitantes y año, con ligeras variaciones regionales, siendo responsable del 20% de las muertes por procesos malignos (3,4). El 70-80% de los pacientes con cáncer colorrectal serán candidatos a cirugía con finalidad curativa por primera intención; en el 20-30% restante sólo se podrá realizar cirugía paliativa (5,6).

El cáncer colorrectal presenta una supervivencia del 60% a los 5 años (6). La mortalidad atribuida a estos tumores está relacionada con la extensión locorregional y a distancia. La recidiva de la neoplasia colorrectal puede ser local, locorregional y a distancia, siendo la tasa de recidiva global del 30-50% (7,8). La recidiva a distancia se suele presentar en cifras del 5 a 17% de los pacientes, siendo el resto recidivas locorregionales. El porcentaje global de resecabilidad de estas recidivas se sitúa en torno al 30-40%.

Los términos de recidiva local y locorregional provocan confusión a la hora de definir la recidiva tumoral. Se entiende por recidiva locorregional aquella que asienta en la zona donde se extirpó el tumor primario, ya sea en la zona anastomótica o perianastomótica, como en los tejidos y vísceras adyacentes. El término de recidiva local debería reservarse para aquella que asienta en la zona perianastomótica, sin invasión de estructuras adyacentes. Este tipo de recidiva puede deberse a crecimiento tumoral en el propio colon anastomótico o perianastomótico, o bien a invasión del tubo colorrectal desde el mesenterio intestinal debido a una recidiva ganglionar. De entre todas las recidivas locales, aproximadamente el 20-30% son endoluminales, sin afectación pericólica o perirrectal (9,10).

Noguera Aguilar JF, Tortajada Collado C, Morón Canis JM, Plaza Martínez A, Amengual Antich I, Pujol Tugores JJ. Experimental model for the study of perianastomotic recurrence in colorectal cancer. *Rev Esp Enferm Dig* 2002; 94:131-134.

Recibido: 08-01-02.

Aceptado: 11-02-02.

Correspondencia: José Francisco Noguera Aguilar. Fundación Hospital Son Llàtzer. Carretera de Manacor, Km. 4. 07198 Son Ferriol. Palma de Mallorca. Baleares.

La recurrencia local y locorregional del cáncer colorrectal es un problema importante dentro de la recidiva global de la enfermedad neoplásica. Algunas de estas recidivas son precoces, indicando que puede haberse practicado una inadecuada excisión tumoral o linfadenectomía regional, o bien pueden ser debidas a la implantación de células tumorales viables en la línea anastomótica. Para las recidivas anastomóticas tardías la explicación más adecuada parece ser la de la carcinogénesis metacrónica a nivel anastomótico. Esta susceptibilidad de la anastomosis para la aparición de tumores metacrónicos o recurrencia local parece deberse a la proliferación celular aumentada en las criptas cólicas en vecindad de la anastomosis y al efecto irritante crónico de los materiales de sutura empleados (11-14).

Es tal la importancia del tema que conviene tener modelos experimentales de uso estandarizado que permita valorar los resultados de distintas manipulaciones encaminadas a variar la historia natural de la recidiva locorregional en el cáncer colorrectal.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio se emplearon 40 ratas Sprague-Dawley macho (de Criffa, España), con un peso medio de 160 g (rango 105-175 g). Para la anastomosis colocólica se empleó material de sutura no absorbible (polivinildifluoroetileno, monofilar 5/0, de Lorca-Marín, España). Para el cierre de la pared abdominal anterior se usó material reabsorbible (multifilar trenzado de ácido poliglicólico 3/0, de Braun-Dexon, España). El cierre cutáneo se realizó con agrafes de acero (Autosuture, España). La inducción carcinogénica de las neoplasias colónicas se realizó con 1-2 dimetilhidrazina dihidrocloruro (Sigma-Aldrich, España).

Condiciones dietéticas y ambientales. Las ratas fueron alojadas en jaulas tipo III (Criffa, España), con dos animales por jaula. Las condiciones ambientales del estabulario fueron: periodo luz/oscuridad de 12/12 horas (luz de 8,00 a.m.- 8,00 p.m.); temperatura homogénea de $22 \pm 2^\circ$ C, y humedad relativa del 60-70%. La dieta suministrada fue dieta de mantenimiento A.04 (Panlab, España).

Método anestésico. Se empleó una solución de ketamina, atropina y diazepam (50, 10 y 40%, respectivamente), administrado como dosis única a razón de 4 ml/kg de peso por vía intramuscular. Para el sacrificio de los animales se empleó sobredosis anestésica de la misma solución.

Método quirúrgico. Se realizó laparotomía media de 3-4 cm de longitud en la parte inferior del abdomen. Tras localizar el colon descendente, se identificaba el tramo cólico inferior que presenta trayectoria rectilínea y mesenterio laxo, por lo que es fácilmente movilizad, señalándose el lugar de manipulación cólica a 4 cm del ano. En el grupo control se realizaba manipulación cólica que consistía en la preparación del colon para su sección y anastomosis; tras el aislamiento del colon a 4 cm del ano se abandonaba el mismo y se cerraba la laparotomía. En

el grupo con anastomosis colocólica, tras el aislamiento y la preparación del segmento cólico, se procedía a la sección cólica completa respetando la arcada vascular, con posterior sutura colocólica discontinua con material irreabsorbible de calibre 5/0. Se colocaban ocho puntos equidistantes y se comprobaba la estanqueidad intraoperatoria de la anastomosis por instilación de suero a presión por vía endoanal. El cierre de la laparotomía se efectuó en ambos grupos con sutura continua monoplano del plano musculoaponeurótico con material reabsorbible de calibre 3/0 y la piel con agrafes de acero.

Inducción carcinogénica, seguimiento y sacrificio. Los tumores cólicos se indujeron con una sustancia carcinógena, 1-2 dimetilhidrazina dihidrocloruro (1-2 DMH, de Sigma-Aldrich, España). En el octavo día del postoperatorio los animales recibieron la primera de dieciocho inyecciones subcutáneas semanales de 1-2 DMH, a una dosis de 25 mg/kg de peso. Los animales eran examinados semanalmente, prestando atención especial a su peso, perímetro abdominal, presencia y calidad de las deposiciones y aparición de rectorragias. Todos los animales serían sacrificados en la semana 20 postoperatoria y el colon examinado en busca de tumores cólicos. El colon fue dividido en dos piezas: el colon perianastomótico (2 cm por encima y debajo de la línea anastomótica), y el resto del colon excluyendo el ciego. Las piezas fueron fijadas en solución de formol al 10% para su examen histológico.

Estudio de los tumores cólicos. Los dos segmentos cólicos se estudiaron en cada animal, buscando tumores macroscópicos que serían teñidos con colorantes para determinar tres parámetros: número de tumores, superficie tumoral y porcentaje de superficie tumoral (porcentaje de superficie cólica ocupada por tejido tumoral). La superficie y porcentaje tumoral se determinaron por ser más fieles indicadores de la cantidad de tejido tumoral que el mero tamaño tumoral.

Análisis estadístico. Los datos obtenidos se analizaron con el programa informático SPSS. El análisis estadístico se realizó con modelos Anova de comparación de medias.

RESULTADOS

Mortalidad. La mortalidad global del estudio fue del 5%, 2 animales de los 40 del estudio, pertenecientes todos ellos al grupo de anastomosis colocólica. Estos fallecimientos se debieron a cuadros oclusivos intestinales.

Alteraciones al tránsito cólico. Aparecieron alteraciones al tránsito digestivo por oclusión cólica en 3 animales (7,5%). Dos de ellos fallecieron (semanas 17 y 18) siendo realizado el estudio *postmortem*, y en un caso se adelantó el sacrificio a la semana 18 por existir cuadro de oclusión cólica total. Los tumores cólicos anastomóticos fueron la causa de los cuadros obstructivos.

Número de tumores. Se hallaron un total de 111 tumores cólicos en los 40 animales estudiados. Sólo en dos casos aparecieron tumores de intestino delgado dis-

tal. En el grupo control aparecieron 44 tumores ($X=2,2$ tumores por animal), mientras que en el grupo con sutura cólica aparecieron 67 tumores ($X=3,3$). En el grupo control, el 13,63% de los tumores fueron perianastomóticos (6 de 44), mientras que en el grupo con sutura cólica los tumores perianastomóticos alcanzaron el 56,71% (38 de 67).

Superficie tumoral. En el conjunto de los animales se obtuvieron 46 cm² de superficie cólica tumoral. En el grupo control aparecieron 17 cm² y en el grupo con sutura cólica 29 cm². El área perianastomótica del grupo control abarcó el 17,64% de la superficie tumoral del grupo control (3 de 17 cm²), mientras que en el grupo con sutura cólica el 62,06% de la superficie tumoral asentó en el área perianastomótica (18 de 29 cm²).

Porcentaje tumoral. En el grupo control el 8,45% del tejido cólico se convirtió en neoplásico, frente a un 23,45% en el grupo con sutura cólica. En este grupo con anastomosis cólica, el área perianastomótica presentó un 18,65% de tejido neoplásico (Fig. 1), mientras que en el grupo control se obtuvo un 2,25% de tejido tumoral en esta área. En el resto del colon apareció un 6,2% de tejido tumoral en el grupo control frente a un 4,8% en el grupo con sutura cólica.

En el área perianastomótica, el número de tumores y la superficie y porcentaje tumoral fueron superiores en el grupo con anastomosis colocólica, con diferencias significativas ($p<0,005$, modelo Anova de comparación de medias). En cuanto a los resultados obtenidos en el resto del colon, los tres parámetros fueron superiores en el grupo control frente al grupo con anastomosis, aunque estas diferencias no fueron significativas.

Estudio histológico. Excepto dos casos de adenocarcinoma en anillo de sello, el resto fueron adenocarcinomas no específicos, la inmensa mayoría bien diferenciados (80%), y con distintos niveles de invasión en la pared cólica, pero sin ningún caso de invasión extraparietal.

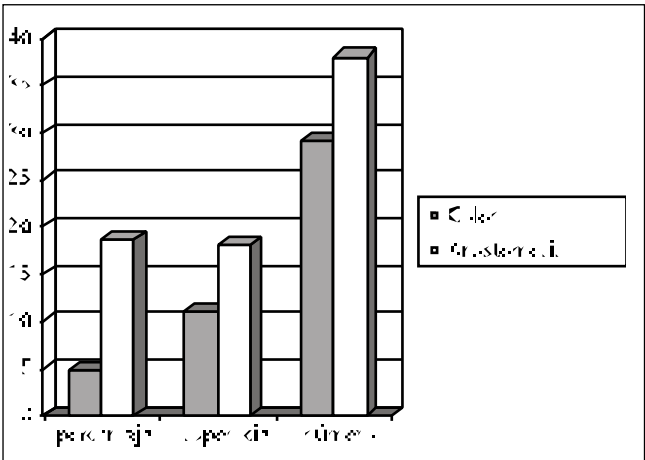


Fig. 1.- Grupo con anastomosis colocólica. Diferencias entre el área anastomótica y el resto del colon.

DISCUSIÓN

El cáncer colorrectal es el cáncer digestivo más frecuente en el Oeste de Europa, y la segunda causa de muerte en el mundo occidental. En nuestro país presenta una incidencia de 20-30 casos/100.000 habitantes y año. El 70-80% de estos pacientes serán intervenidos con finalidad curativa, pero el 30-50% de ellos sufrirán una recidiva neoplásica. Sólo el 30-40% de las recidivas podrán ser reseca­das. Parte de estas recidivas se producen a nivel anastomótico y pueden obedecer a defectos de técnica quirúrgica, metástasis implanta­da o a carcinogénesis metacrona. La aparición de tumores metacronos en la anastomosis se halla relacionada con los mecanismos de reparación y regeneración tisular, que se pueden ver modificados por los materiales y modalidades de sutura.

Tras diversos estudios experimentales encaminados al estudio del cáncer colorrectal y las posibles modulacio­nes terapéuticas, pensamos que el modelo experimental diseñado puede ser el modelo ideal para la valoración de variaciones en la historia natural del cáncer colorrectal experimental farmacológicamente inducido en animales.

La mortalidad global en el estudio fue baja, (5% de animales fallecidos, 7,5% si añadimos el sacrificio ade­lantado por cuadro oclusivo), si tenemos en cuenta que se trata de un estudio con una duración de 20 semanas. To­dos los fallecimientos ocurrieron en el grupo con sutura cólica, al igual que los animales que presentaron cuadros oclusivos intestinales. Este hecho es debido a la agrupa­ción de tumores en el área perianastomótica, dado que se trata de un lugar predispuesto a la promoción neoplásica.

Los parámetros estudiados; número de tumores, superfi­cie tumoral y porcentaje de superficie tumoral, fueron ma­yores globalmente en el grupo con anastomosis colocólica (Tabla I). A esta diferencia contribuyeron en mayor medida los resultados obtenidos en el área perianastomótica, donde alcanzaron significación estadística (Tabla II). El parámetro evaluado más fiable y representativo, el porcentaje de su­perficie tumoral, alcanzó en el área perianastomótica del grupo con anastomosis un 18,65%, mientras que en el gru­po control representó el 2,25% ($p<0,005$).

El hecho de que en el resto del colon, extraanastomóti­co, los parámetros estudiados fueran mayores en el grupo control que en el de sutura cólica obedecen a la falta de agrupación en torno a la línea anastomótica, careciendo esta diferencia de significación estadística.

La mayoría de estudios sólo hacen referencia al núme­ro de tumores cólicos dejando de lado parámetros tan im­portantes como son la superficie y porcentaje tumoral.

Tabla I. Diferencias entre el grupo control y con sutura cólica en los parámetros evaluados			
	Número	Superficie	Porcentaje
Control	44	17	8,45
Sutura	67	29	23,45
	n	cm²	%

Tabla II. Diferencias en las medias de los valores evaluados según se trate del área perianastomótica o del resto del colon, en los dos grupos de estudio

		Número	Superficie	Porcentaje
Control	Anastomosis	0,3	0,15	0,225
	Colon	1,9	0,7	0,62
Sutura	Anastomosis	1,9	0,9	1,865
	Colon	1,45	0,55	0,475

Salvando esta dificultad evaluadora del poder promotor de la carcinogénesis, encontramos en nuestro modelo experimental más número de tumores que en otros estudios, como los de Appleton (14) (1,07 tumores por rata) y McGregor (2,06) (15). El régimen farmacológico empleado de 25 mg/Kg de 1-2 DMH durante 18 semanas con sacrificio en la semana 20, se ha mostrado más eficaz que otros regímenes inductores con el mismo fármaco (16), consiguiendo además acortar el tiempo de estudio. El aumento de dosis que realizamos en nuestro estudio respecto a los estudios publicados no implicó aumento de toxicidad en los animales. Para el modelo de carcinogénesis metacrónica o recidiva en el área perianastomótica es importante el inicio de la carcinogénesis en el periodo postoperatorio para evitar el fenómeno de la metástasis implantada en la línea de sutura y el fenómeno de displasia subyacente en las criptas cólicas donde se va a efectuar la anastomosis. Creemos, al igual que Roe (12), que la proliferación neoplásica cólica en la rata es tanto mayor cuanto más se acercan en el tiempo la intervención y la administración del fármaco inductor.

En nuestra opinión, el modelo experimental descrito podría ser el patrón ideal para el estudio experimental de los fenómenos de inducción, promoción y proliferación neoplásica cólica experimental en la rata, gracias a que consigue una buena inducción neoplásica en el colon perianastomótico, consigue agrupar los tumores en el área perianastomótica, permite acortar el tiempo de estudio sin aumentar la toxicidad del fármaco, genera neoplasias cólicas homogéneas en cuanto al tipo histológico y nivel de invasión y permite evaluar de manera muy fiable el

efecto conseguido al determinar no sólo el número de tumores, sino la relación entre el tejido cólico sano y neoplásico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arnaud JP, Schloegel M, Ollier JC, Adloff M. Colorectal cancer in patients over 80 years of age. *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 896-8.
2. McGregor JR, Galloway DJ, McCulloch P, George WD. Anastomotic suture materials and implantation metastasis: an experimental study. *Br J Surg* 1989; 76(4): 331-4.
3. Dominguez F, Riera JR, Junco P, Tojo S, Diaz-Faes M. Influencia en el pronóstico a corto plazo de la sobreexpresión de la proteína p53 en carcinomas colorrectales. *Rev Esp Enf Digest* 1994; 86(5): 796-802.
4. García JC, Cugat E, Angás J, Gonzalez FJ, Reverter JC, Lacy AM. Cáncer colorrectal: resultados de un protocolo de seguimiento. *Cir Esp* 1993; 53(6): 430-3.
5. Tissot E, Naouri A, Nasr JR, Feghali B. Récidives locorégionales isolées des cancers coliques : résultats du traitement, facteurs de risque de ces récidives. *Lyon Chir* 1992 ; 88(3): 277-9.
6. García JA, Morcillo MA, Vázquez JL, Zaragoza C, Moltó M, Cámara J. Cáncer colorrectal en el anciano. Experiencia de los 5 primeros años en un Servicio de cirugía de un hospital Comarcal. *Cir Esp* 1996; 60: 256-7.
7. Törnqvist A, Ekelund G, Leandroer L. The value of intensive follow-up after curative resection for colorectal carcinoma. *Br J Surg* 1982; 69: 725-8.
8. Palmer ML, Herrera L, Petrelli NJ. Colorectal adenocarcinoma in patients less than 40 years of age. *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 343-5.
9. Delperro JR, LeTreut YP, Granger F, Pol B, Houvenaeghel G, Brandone JM. Chirurgie des récidives locorégionales des cancers colorectaux. *Lyon Chir* 1992; 88(6): 475-82.
10. Pol B, Delperro JR, Le Treut YP, Hardwigsen J, Houvenaeghel G. Resections of colorectal adenocarcinoma recurrentes: a series of 120 patients. *Br J Surg* 1996; 83(2): 32-3.
11. Rubio CA, Nylander G. Surgical resection of the rat colon: effects on carcinogenesis by 1,2-Dimethylhydrazine. *JNCI* 1982; 68(5): 813-5.
12. Roe R, Fermor B, Williamson RCN. Proliferative instability and experimental carcinogenesis at colonic anastomoses. *Gut* 1987; 28: 808-15.
13. Umpleby HC, Williamson RCN. Anastomotic recurrence in large bowel cancer. *Br J Surg* 1987; 74: 873-8.
14. Appleton GVN, Davies PW, Williamson RCN. El efecto de la desfuncionalización sobre la citocinética y el cáncer en las líneas de sutura del colon. *Br J Surg* 1990; 77: 768-72.
15. McGregor JR, Galloway DJ, Jarrete F, Brown IL, George WD. Anastomotic suture materials and experimental colorectal carcinogenesis. *Dis Colon Rectum* 1991; 34(11): 987-92.
16. Noguera JF, Tortajada C, Zurita M, García JC, Álvarez C, Rial R. Nuevo régimen farmacológico para la inducción de tumores cólicos en ratas. *Span J Surg Res* 2000; 3(1): 33-4