

## Originals

### ROLE OF MALNUTRITION IN COLLAGEN SYNTHESIS IN PRIMARY COLONIC ANASTOMOSIS. ANALYSIS OF PROCOLLAGEN AND CARBOXYTERMINAL TELOPEPTIDE THROUGH RADIOIMMUNOASSAY

**Introduction:** Various clinical, pathological and technical factors influence the viability of intestinal suturing after intestinal resection. One of the most important factors is the patient's nutritional status.

**Objectives:** To evaluate the influence of induced nutrition on the viability of primary intestinal anastomosis by means of analysis of collagen I procollagen (PINP) and telopeptide (ICTP) deposited in the anastomosis.

**Material and method:** 40 Wistar rats and material for the radioimmunoassay (ICTP-RIA® and Intact PINP® commercial radioimmunoassay kits) were used. We used two groups of 20 rats each: control group (A) and a "malnourished" group (B). PINP and ICTP were analyzed through radioimmunoassay of homogenized, preanastomotic and anastomotic colonic tissue.

**Results:** PINP levels were lower in the colons of group B rats than in the control group (0.3620 and 0.4340 µg/g respectively) ( $p = 0.032$ ). ICTP levels were higher in the colons of group B rats than in those of group A rats (0.9545 versus 0.8460 µg/g respectively) ( $p = 0.875$ ). PINP synthesis was lower in the anastomoses of group B than in group A (0.376 and 0.468 µg/g respectively;  $p = 0.002$ ).

**Conclusions:** Colonic anastomosis increases PINP and ICTP levels in scar tissue ( $p < 0.001$ ). Malnutrition reduces collagenization of colonic anastomoses ( $p < 0.001$ ).

**Key words:** Intestinal anastomosis. Procollagen. Carboxyterminal telopeptide. Albumin.

## Papel de la desnutrición en la síntesis de colágeno en anastomosis cólicas primarias: análisis de procolágeno y telopeptido carboxiterminal mediante radioinmunoanálisis

JOSÉ MARÍA ÁLAMO<sup>a</sup>, ANTONIO GALINDO<sup>a</sup>, SALVADOR MORALES<sup>a</sup>, FELIPE GARCÍA<sup>b</sup>, GEMMA DAZA<sup>c</sup>, CARMEN BERNAL<sup>a</sup>, JOSÉ MARÍA SOUSA<sup>a</sup>, MARÍA SOCAS<sup>a</sup>, JUAN MARTÍN-CARTÉS<sup>a</sup>, HISNARD CADET<sup>a</sup> Y MANUEL BUSTOS<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla. España. <sup>b</sup>Servicio de Medicina Nuclear. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla. España. <sup>c</sup>Servicio de Neurofisiología Clínica. Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla. España.

**Introducción:** Diversos factores clínicos, anatopatológicos y técnicos influyen en la cicatrización correcta de las suturas intestinales tras la práctica de una resección intestinal. Uno de los factores más implicados es el estado nutricional del paciente.

**Objetivos:** Evaluar la influencia de la desnutrición inducida en la viabilidad de una anastomosis intestinal primaria mediante el análisis del procolágeno (PINP) y del telopeptido carboxiterminal del colágeno I (ICTP) depositados en ella.

**Material y método:** Usamos 40 ratas Wistar y material de radioinmunoanálisis (kits comerciales de RIA ICTP-RIA® e Intact PINP®). Se formaron 2 grupos de ratas, 20 animales para cada grupo: grupo control (A) y grupo "desnutrición" (B). Se analizó PINP e ICTP mediante RIA sobre tejido colónico homogeneizado, preanastomótico y anastomótico.

**Resultados:** Hay menores valores de PINP en el colon de las ratas del grupo B que en el del grupo A (0,3620 y 0,4340 µg/g, respectivamente) ( $p = 0,032$ ). Hay un mayor valor de ICTP analizado en el colon del grupo B (0,9545 en contraposición a 0,8460 µg/g, en el grupo A) ( $p = 0,875$ ). En las anastomosis del grupo B hay menos síntesis de PINP que en el grupo A (0,376 y 0,468 µg/g, respectivamente;  $p = 0,002$ ).

**Conclusiones:** La anastomosis colónica incrementa las concentraciones de PINP e ICTP en el tejido cicatrizal ( $p < 0,001$ ); la desnutrición reduce la collagenización de las anastomosis ( $p < 0,001$ ).

**Palabras clave:** Anastomosis intestinal. Procolágeno. Telopeptido carboxiterminal. Alúmina.

Correspondencia: Dr. J.M. Álamo Martínez.  
 José Laguillo, 27, bloque 3, 7.<sup>o</sup> C. 41003 Sevilla. España.  
 Correo electrónico: jmalamom@terra.es

Manuscrito recibido el 29-7-2005 y aceptado para su publicación el 19-12-2005.

## INTRODUCCIÓN

Aunque parece comprobado que diversos factores como la presencia de una peritonitis o un mal estado clínico del paciente pueden hacer que la cicatrización de una sutura intestinal no sea del todo favorable, existen otros factores clínicos, anatomo-patológicos o técnicos en los que no está tan claro su papel en la viabilidad de una sutura intestinal. Uno de estos factores es la malnutrición del paciente. En este trabajo intentamos evaluar la influencia que la desnutrición inducida tiene en el metabolismo del colágeno en las anastomosis intestinales. Para ello utilizamos, tal como hacen Bode y Mosorin<sup>1</sup> y Bode y Karttunen<sup>2</sup>, el procolágeno (PINP) y el telopeptido carboxiterminal (ICTP) como marcadores, respectivamente, de la síntesis y de la destrucción del colágeno I en el tejido colónico.

El colágeno (el predominante en el adulto es el tipo I), es la proteína más frecuente del mundo animal y constituye el principal componente del tejido conectivo fibroso, las membranas basales, el cartílago, la córnea, las válvulas cardíacas y otros tejidos especializados. La unidad fundamental del colágeno es el *tropocolágeno*. En las cisternas del retículo endoplásmico rugoso, las cadenas  $\alpha$  sufren la hidroxilación de la prolina en posición  $\alpha$ , que proporciona al colágeno su alto contenido en hidroxiprolina, característico de esta molécula. En el interior del fibroblasto, la molécula de procolágeno es aún soluble debido a que posee un fragmento carboxiterminal polipeptídico extra, que pierde en el espacio extracelular por la acción de peptidasas procolágenas. Este procolágeno, en el caso del colágeno I, se denomina PINP, sustancia que utilizaremos en este modelo experimental como marcador de la síntesis de colágeno. El telopeptido carboxiterminal unido por enlaces trivalentes es liberado por las metaloproteinasas durante su degradación. Es este telopeptido del colágeno tipo I (ICTP) la otra molécula que analizaremos en el tejido colónico como marcador de la destrucción del colágeno.

Planteamos una hipótesis de trabajo: la desnutrición favorece el fallo de las suturas intestinales. El objetivo del trabajo está encaminado a evaluar cómo este supuesto influye en la viabilidad de las anastomosis intestinales mediante el análisis del colágeno depositado en la anastomosis. El objetivo perseguido no es otro que demostrar si la hiperalbuminemia modifica el depósito de colágeno en las anastomosis intestinales.

## MATERIAL Y MÉTODO

El material utilizado a tal fin es el siguiente:

- Fármacos anestésicos: Ketolar<sup>®</sup> (ketamina) y Rompun<sup>®</sup> (xilacina).
- Material quirúrgico e hilos de polipropileno, de lactomer y de seda.
- Procesado y almacenaje de muestras tisulares: balanza de precisión, criotubos y nitrógeno líquido.

– Procesado y almacenaje de muestras sanguíneas: tubos Z serum Sep. Clot Activator, centrifugadora y tubos PS.

– Material para el procesado de muestras tisulares: nitrógeno líquido, pulverizador, tampón PBS/Tween-20, tampón de lavado de péptido C, balanza de precisión, agitador de vidrio, centrífuga y tubos PS.

– Análisis de la albúmina plasmática: nefelómetro y tubos PS.

– Material para el radioinmunoanálisis: kits comerciales de radioinmunoanálisis ICTP-RIA<sup>®</sup> e Intact PINP<sup>®</sup>, micropipetas, tubos de test, papel absorbente, agua destilada y contador gamma.

Hemos diseñado un modelo experimental animal de desnutrición inducida con ratas Wistar en el que utilizamos 2 grupos de ratas, el grupo control (A): 20 ratas sanas, bien nutridas y mantenidas de forma adecuada, y el grupo "desnutrición" (B): 20 ratas sanas, sometidas a ayuno, excepto agua, durante 72 h. Para comprobar el estado de desnutrición se analiza la pérdida de peso, la concentración plasmática de albúmina previa y posterior al ayuno (mediante extracción sanguínea por punción aórtica) y al análisis cualitativo de la grasa mesentérica (objetivación *de visu*).

Cada grupo, como hemos comentado, consta de 20 sujetos de estudio, muestra que hemos considerado suficiente para obtener datos significativos después de analizar los primeros datos del grupo preliminar y del grupo control. Todos los modelos experimentales han sido validados desde el punto de vista estadístico.

La anestesia del animal se ha realizado mediante inyección intraperitoneal de ketamina y xilacina. Se practica una resección colónica y una anastomosis primaria terminoterminal con sutura sintética a cada animal; se extirpa el tejido anastomótico al cuarto día para analizar posteriormente el comportamiento del colágeno tanto en el "colon sano" recogido en la primera intervención como en el "colon anastomótico" recogido en la segunda. El sacrificio se ha realizado mediante inyección intracardíaca de cloruro potásico.

Para analizar las modificaciones producidas en el depósito de colágeno nos basamos en la detección en el tejido anastomótico de ICTP y PINP. Para el análisis radioinmunoanalítico de las muestras, y debido a que estas sustancias se detectan en la práctica clínica habitual en fluidos biológicos como el plasma o la orina, hemos preparado las muestras recogidas de forma conveniente. Para ello, y siguiendo la metodología recomendada, hemos pulverizado y homogeneizado mediante métodos mecánicos y tripsinización el tejido recogido con el fin de poder analizarlo en la gammacámara. Previamente, y con las primeras muestras, hemos elaborado una curva de radioactividad para facilitar la lectura de muestras posteriores.

Los resultados recogidos se han analizado de forma estadística, realizándose en primer lugar estadística descriptiva de las variables cuantitativas. Para comparar dichas variables, según los grupos de estudio, hemos utilizado como pruebas de significación estadística para datos apareados la de la t de Student para muestras independientes y ANOVA con corrección de Bonferroni para medidas repetidas. Se ha establecido la significación estadística en un valor de  $p < 0,05$ .

El presente proyecto es respetuoso con lo dispuesto en la normativa legal vigente y, en particular, en el Real Decreto 223/1988, sobre Protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

## RESULTADOS

Para validar el grupo B (desnutrición), hemos utilizado 3 parámetros: peso del animal, concentración plasmática de albúmina y variación cualitativa de la grasa mesentérica. Los resultados conseguidos son: *a*) peso del animal en ayunas, el 93% del peso inicial: de 350,25 a 325,75 g de media ( $p = 0,032$ ) (fig. 1); *b*) disminución de la concentración plasmática de albúmina al 81,57%: de 982 mg/dl en el grupo control a 801 mg/dl en el grupo B ( $p < 0,001$ ) (fig. 2), y *c*) disminución en la cantidad de grasa mesentérica en todas las ratas del grupo B en comparación con el grupo control ( $p < 0,001$ ); esta observación es meramente cualitativa y *de visu*, pues se puede objetivar una reducción en el grosor del mesenterio de las ratas desnutridas.

### Análisis de las concentraciones de PINP e ICTP

Una vez comprobada la validez de los modelos experimentales utilizados, pasamos a evaluar el comportamiento del colágeno en el tejido colónico antes y después de las anastomosis en cuanto a concentraciones tisulares ( $\mu\text{g/g}$ ) de PINP e ICTP (tablas 1 y 2). En la figura 3 se representan las medias de concentración de PINP e ICTP obtenidas en cada grupo de estudio, y se observa que hay mayor depósito de PINP y menores concentraciones de ICTP en las ratas del grupo control que en los animales del grupo B. Desglosamos, a continuación, los datos obtenidos.

### Análisis de PINP e ICTP en el tejido colónico

Podemos observar unos valores de PINP en el colon de las ratas del grupo B menores que en el grupo con-

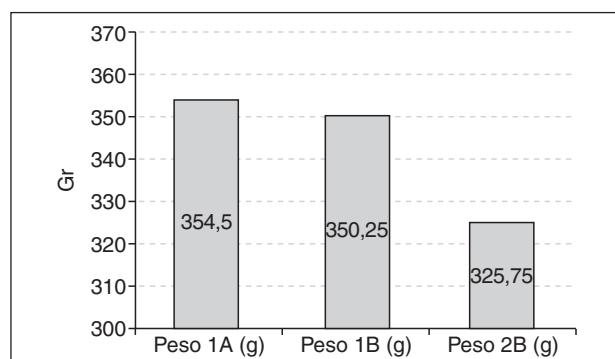


Fig. 1. Diferencias en el peso de las ratas de los grupos A y B (peso 1B: peso previo a ayuno; peso 2B: peso tras ayuno de 72 h).

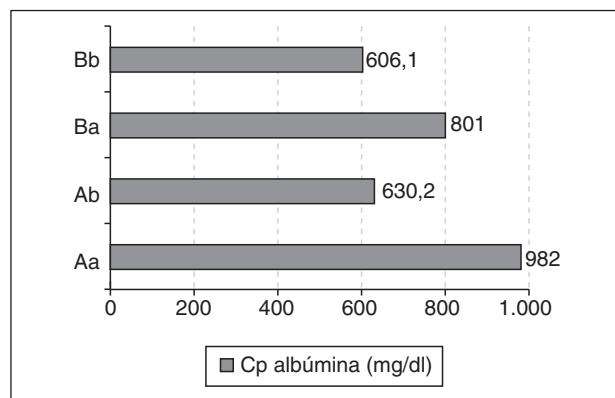


Fig. 2. Diferencias en la albuminemia de las ratas de los grupos A y B. Aa: previo a la anastomosis en grupo A; Ab: tras la realización de anastomosis colónica en grupo A; Ba: previo a la anastomosis en grupo B; Bb: tras la realización de anastomosis colónica en grupo B; Cp: concentración plasmática.

**TABLA 1. Concentraciones plasmáticas de procolágeno (PINP), en  $\mu\text{g/g}$**

	Aa	Ab	Ba	Bb
1	0,48	0,49	0,43	0,44
2	0,52	0,53	0,41	0,44
3	0,41	0,42	0,42	0,42
4	0,42	0,47	0,44	0,45
5	0,39	0,48	0,48	0,51
6	0,34	0,39	0,24	0,30
7	0,49	0,53	0,27	0,29
8	0,39	0,47	0,22	0,23
9	0,44	0,46	0,45	0,46
10	0,47	0,46	0,36	0,38
11	0,48	0,54	0,30	0,31
12	0,51	0,55	0,42	0,43
13	0,44	0,47	0,37	0,39
14	0,31	0,33	0,43	0,45
15	0,49	0,50	0,42	0,43
16	0,36	0,38	0,34	0,37
17	0,52	0,58	0,39	0,27
18	0,44	0,48	0,25	0,27
19	0,39	0,43	0,33	0,37
20	0,39	0,44	0,27	0,31
Media	0,434	0,468	0,362	0,376
Mediana	0,44	0,47	0,38	0,385
Intervalo	0,34-0,52	0,33-0,58	0,22-0,48	0,23-0,51

Aa: previo a la anastomosis en grupo A; Ab: tras realización de anastomosis colónica en grupo A; Ba: previo a la anastomosis en grupo B; Bb: tras realización de anastomosis colónica.

**TABLA 2. Concentraciones plasmáticas de procolágeno, en  $\mu\text{g/g}$**

	Aa	Ab	Ba	Bb
1	0,41	1,31	0,74	2,41
2	0,83	1,25	0,84	2,16
3	1,09	1,75	1,04	1,74
4	0,88	1,15	1,04	2,03
5	0,71	1,16	0,99	1,32
6	0,94	1,61	0,32	1,12
7	0,50	1,28	0,86	0,75
8	0,43	1,57	0,95	2,03
9	1,06	1,17	1,59	1,57
10	0,76	1,60	1,05	2,17
11	0,97	1,32	1,18	1,71
12	1,04	1,49	1,03	0,76
13	1,01	1,25	0,84	0,94
14	1,26	1,56	0,70	1,20
15	0,99	2,14	0,81	2,23
16	1,08	1,42	1,26	1,76
17	1,03	0,71	0,86	1,54
18	0,28	0,82	0,85	1,80
19	0,96	1,75	0,98	2,21
20	0,69	2,19	1,16	1,35
Media	0,846	1,425	0,954	1,640
Mediana	0,95	1,37	0,965	1,725
Intervalo	0,28-1,26	0,71-2,19	0,32-1,26	0,75-2,23

Aa: previo a la anastomosis en grupo A; Ab: tras realización de anastomosis colónica en grupo A; Ba: previo a la anastomosis en grupo B; Bb: tras realización de anastomosis colónica.

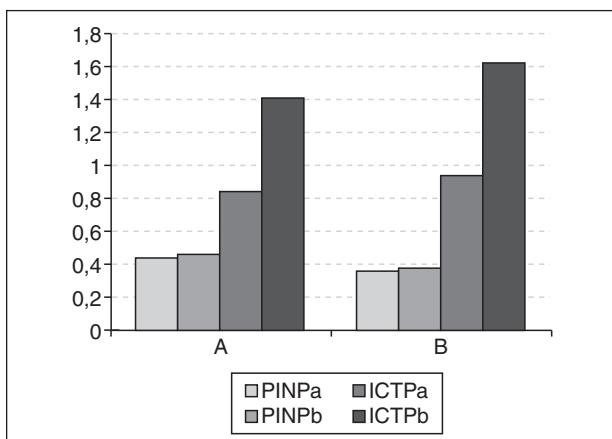


Fig. 3. Medias de procolágeno (PINP) y telopeptido carboxiterminal (ICTP) ( $\mu\text{g/g}$ ) por grupos de estudio (a: tejido colónico previo a anastomosis; b: colon anastomótico).

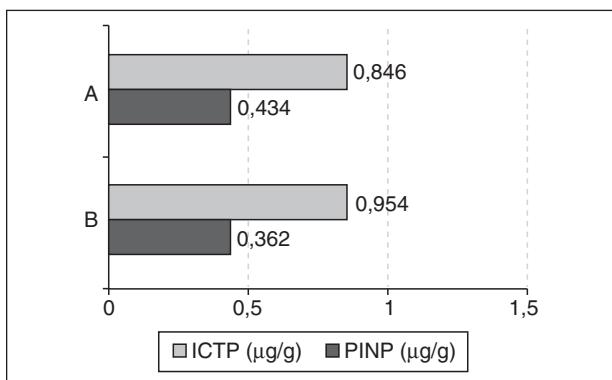


Fig. 4. Media de procolágeno (PINP) y telopeptido carboxiterminal (ICTP) ( $\mu\text{g/g}$ ) analizado en el colon antes de la anastomosis de cada grupo de estudio.

tral (0,3620 y 0,4340  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente), estadísticamente significativo ( $p = 0,032$ ). Asimismo, existe una tendencia a depositarse en mayor cuantía el ICTP analizado en el colon de los animales del grupo B respecto al grupo A (0,9545 frente a 0,8460  $\mu\text{g/g}$  en el grupo control) ( $p = 0,875$ ) (fig. 4).

#### Análisis de PINP e ICTP en el tejido anastomótico

Comparando las concentraciones tisulares de PINP como dato aislado en las anastomosis de ambos grupos, se objetiva que en la anastomosis del grupo B también son menores los valores en su síntesis respecto al grupo control A (0,376 y 0,468  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente) ( $p = 0,002$ ). En cuanto a los datos analizados de ICTP (fig. 5), no se observan diferencias significativas ( $p = 0,330$ ).

#### Análisis comparativo de PINP e ICTP entre colon y tejido anastomótico

Comparando los valores de PINP depositado en el tejido colónico antes y después de la anastomosis se

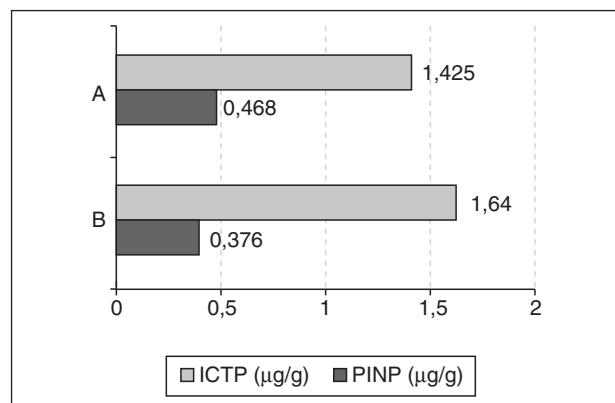


Fig. 5. Media de procolágeno (PINP) y telopeptido carboxiterminal (ICTP) ( $\mu\text{g/g}$ ) en el tejido anastomótico de cada grupo.

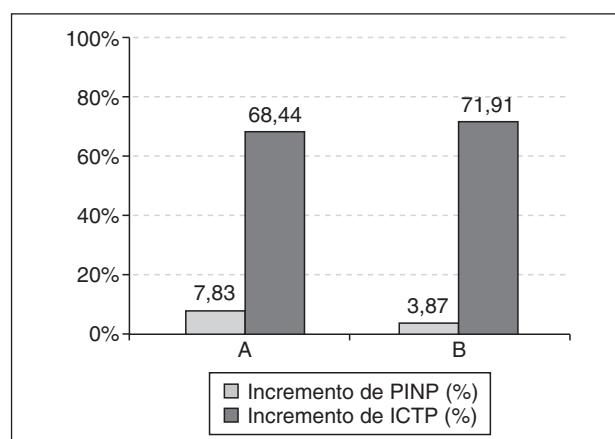


Fig. 6. Incremento de procolágeno (PINP) y telopeptido carboxiterminal (ICTP) (%) en el tejido anastomótico al cuarto día de la anastomosis.

puede objetivar que en el grupo control hay un incremento de PINP, al cuarto día de la anastomosis, de un 7,83% (0,034  $\mu\text{g/g}$ ) ( $p < 0,001$ ). En el grupo B, este aumento es tan sólo del 3,87% ( $p = 0,086$ ). No obstante, comparando estos incrementos con el grupo control A, el aumento de PINP en la anastomosis en el grupo B carece de significación ( $p = 0,356$ ) (fig. 6).

Pese a no establecerse como objetivo inicial observar la incidencia de dehiscencias de sutura, ya que es un parámetro sujeto a la técnica realizada, hemos observado que mientras que no se han apreciado dehiscencias de sutura ni complicaciones en el grupo control, hemos objetivado 2 fugas anastomóticas en el grupo B. Un animal del grupo B presentó, además, una evisceración parcial en el cuarto día del postoperatorio.

## DISCUSIÓN

Numerosos autores han evaluado la calidad de la sutura intestinal realizada tras resecciones colónicas de urgencia mediante el análisis de la incidencia de

dehiscencias de sutura. No obstante, esos estudios no tienen en cuenta el importante sesgo que supone el factor técnico, y no se puede afirmar, por tanto, que esas dehiscencias no sean consecuencia de una deficiente técnica quirúrgica. La mayoría de los trabajos publicados ofrecen cifras de dehiscencias anastomóticas sobre series de pacientes en su gran mayoría no aleatorizadas y sin tener en cuenta en muchos casos factores clínicos como la edad o las enfermedades concomitantes. De esta forma, es muy difícil extraer conclusiones significativas de series de pacientes en cuanto a incidencia de dehiscencia de sutura tras la realización de una anastomosis primaria. Por ello, si se quiere estudiar de qué forma afectan a la sutura intestinal los diferentes factores asociados, parece más fiable realizar un modelo experimental animal, donde la técnica quirúrgica posiblemente sea un factor más controlado.

La mayoría de los estudios experimentales publicados utilizan para valorar la calidad de la sutura 2 técnicas: métodos mecánicos, como medir la tensión de rotura de la sutura, y métodos de detección del colágeno, como el análisis de prolina, hidroxiprolina y/o metaloproteasas o la valoración de las muestras mediante imágenes de microscopía óptica. Los estudios experimentales que utilizan la tensión de rotura de la sutura como variable directamente asociada al riesgo de fallo, la miden mediante una sonda de Foley conectada a un manómetro, inflando el balón de la sonda hasta conseguir la dehiscencia de la sutura intestinal<sup>3-5</sup>. Este método podría parecer poco fiable y poco sensible para detectar la calidad de la anastomosis, ya que, probablemente, la resistencia de la sutura a la distensión no esté tan directamente relacionada con su dehiscencia; por otro lado, la tensión necesaria para deshacer la sutura realizada en el animal de experimentación, aun controlada mediante manometría, parece una medida sometida a una variabilidad mecánica importante. Mansson et al<sup>6</sup> publican un estudio experimental en el que demuestran, con pruebas radiológicas basadas en la extravasación de contraste, que la medición de la presión de la anastomosis en ratas no es un método fiable para el estudio de la resistencia de estas suturas.

Otros estudios experimentales utilizan el análisis de prolina y de hidroxiprolina<sup>7</sup>, metabolitos del colágeno, para valorar su metabolismo, pero esas sustancias no son específicas del colágeno y pueden aparecer en el tejido tras la metabolización de otras moléculas proteínicas, por lo que su cuantificación no está relacionada de forma tan directa con las alteraciones producidas en el metabolismo del colágeno.

Savage y Lacombe<sup>8</sup> publican un estudio con conejos en el que evalúan mediante inmunofluorescencia indirecta la presencia de metaloproteasas (MMP), enzimas del catabolismo del colágeno, y del inhibidor tisular de las MMP (TIMP) en la mucosa colónica. Demuestran que a las 24 h hay depósito de esas sustancias tanto en los conejos sometidos a anastomosis como en aquellos a los que se practicó colostomía, pero a las 72 h sólo

aparecen en el colon de los primeros, y al séptimo día, únicamente en la anastomosis, y además relacionan su concentración en la mucosa colónica con la aparición de dehiscencias. La detección de MMP como marcadores del metabolismo del colágeno ha sido utilizada por otros autores en diversos estudios experimentales<sup>9,10</sup>. No obstante, las MMP y su inhibidor, a pesar de asociarse en estos trabajos a la regeneración tisular y a la aparición de dehiscencias de las suturas intestinales, son parámetros que se relacionan sólo de forma indirecta con el catabolismo del colágeno.

Otros estudios han utilizado criterios histológicos para evaluar la cicatrización de las anastomosis<sup>11</sup> utilizando una escala basada en grado de tinción de la muestra, celularidad, etc. Es un método que tiene el inconveniente de no ser cuantificable de forma exacta y estar sometido, en gran medida, a cierta subjetividad del evaluador.

En el presente trabajo hemos conseguido, mediante técnicas de radioinmunoanálisis, aislar las moléculas de PINP e ICTP como marcadores de la formación y la degradación, respectivamente, del colágeno I depositado en el tejido colónico y relacionarlas desde la base de un grupo control, con modelos animales de desnutrición, distensión intestinal y lavado colónico intraoperatorio. Obviamos, por tanto, la incidencia de dehiscencia de la sutura por parecernos un factor con gran dependencia de la técnica quirúrgica, no utilizamos la medición de la tensión de rotura de la anastomosis medida mediante manometría por considerarla poco sensible respecto a cuantificar la calidad de la sutura, y preferimos no usar la detección de prolina, hidroxiprolina o metaloproteasas, que a nuestro juicio son marcadores menos específicos y con una relación indirecta con la síntesis y la destrucción del colágeno. Las determinaciones de PINP e ICTP son marcadores de especificidad y sensibilidad altas, por lo que son de alta fiabilidad como indicadores del metabolismo del colágeno debido a que son moléculas directamente relacionadas con él.

Como se ha detallado anteriormente, el colágeno tipo I es el más abundante del organismo, aunque dependiendo del tejido conectivo puede encontrarse en mayor o menor proporción junto con los tipos III, V y VI. En el presente estudio utilizaremos el colágeno I como marcador de la cicatrización en el tejido colónico, pues es el más abundante en esta localización. Estos péptidos se encuentran intactos en el plasma y en la orina directamente después de su liberación del tejido conectivo. En la práctica clínica son marcadores utilizados ampliamente en el estudio de enfermedades relacionadas con el metabolismo óseo, ya que se ha comprobado su relación directa con la reabsorción ósea. Su determinación mediante radioinmunoanálisis o mediante enzimoinmunoanálisis en estos pacientes es una prueba habitual desde hace años. Se han publicado, además, numerosos estudios de estas moléculas en afecciones no relacionadas con el metabolismo óseo, como el cáncer esofágico<sup>12</sup> o el cáncer de

mama<sup>13</sup>, donde se lo propone como marcador pronóstico, en el cáncer de tiroides<sup>14</sup>, donde pudiera ser marcador del efecto supresor de la levotiroxina, o asociado a tratamientos como la isotretinoína<sup>15</sup>. También se ha estudiado mediante radioinmunoanálisis las modificaciones de colágeno tipo I y III en las placas de aterosclerosis de arterias carótida, femoral común y aorta<sup>1</sup>, en las que se ha objetivado una escasa colagenización.

Bode y Karttunen<sup>2</sup>, de la Universidad de Oulu, en Finlandia, han utilizado la cuantificación del ICTP y del IIICTP en muestras de colon para evaluar su concentración en el tejido colónico afectado de cáncer y en el afectado por diverticulosis. El método utilizado en ese estudio para la preparación de las muestras titulares en extractos solubles ha sido el utilizado como base para la realización de este trabajo experimental.

Las determinaciones de PINP e ICTP se han analizado directamente sobre el tejido colónico, anastomótico y tejido "sano", por lo que sus variaciones están directamente relacionadas con el modelo experimental asociado, y su concentración tisular es indicativa del metabolismo *in situ* de la molécula colágena y las modificaciones inducidas por cada modelo animal.

Las modificaciones encontradas en la síntesis y destrucción del colágeno de cada grupo de estudio, respecto al grupo control A, están relacionadas con la viabilidad de la anastomosis colónica. Es decir, un incremento en la síntesis de colágeno o una menor destrucción implican una mayor viabilidad de la sutura. Por el contrario, un descenso en la síntesis o un incremento en su destrucción incrementan el riesgo de dehiscencia.

En el tejido colónico del animal sano (grupo A) hemos encontrado unos valores basales de PINP de 0,434 µg/g de tejido y unas concentraciones tisulares de ICTP de 0,846 µg/g. Al cuarto día de realizar la anastomosis terminoterminal, en condiciones anatómicas y metabólicas normales, las concentraciones de PINP son de 0,468 µg/g y las de ICTP, de 1,425 µg/g. Es decir, hay un incremento de PINP del 7,83% y un aumento de ICTP del 68,44% ( $p = 0,000$ ). Se comprueba, así, que la realización de una sutura colónica produce un aumento en el metabolismo del colágeno, que se refleja en un incremento estadísticamente significativo tanto en sus valores de síntesis (PINP) en un 7,83% como en los de destrucción (ICTP) en un 68,44%. Este mayor incremento de ICTP se debe probablemente a que ya se encuentra asentado en la sutura, tras 4 días de cicatrización, el proceso de remodelación habitual de la red colágenica, al mismo tiempo que continúa la síntesis de fibra colágena por las células fibroblásticas.

El modelo experimental de desnutrición se ha conseguido tras 72 h de ayuno. Para otorgar validez a este grupo de estudio, hemos analizado 3 parámetros: pérdida de peso, reducción de concentraciones plasmáticas de albúmina y reducción de la grasa mesentérica.

Después de 3 días de ayuno, se ha conseguido una reducción media del peso de 350,3 a 325,75 g. Es decir, una disminución de peso del 7% ( $p = 0,032$ ), que supone, según los estándares establecidos en la práctica clínica, una desnutrición en grado leve (el 93% del peso inicial). Asimismo, la media de concentraciones plasmáticas de albúmina obtenidas de sangre arterial tras 72 h de ayuno son de 982 mg/dl en el grupo control (A) y 801 mg/dl en el grupo de ratas desnutridas (B), o lo que es lo mismo, una diferencia en la concentración plasmática de albúmina del 18,43%, que certifica los hallazgos recogidos en cuanto al peso del animal ( $p < 0,0001$ ). Respecto a la disminución de la grasa mesentérica, se trata de un parámetro cualitativo, no cuantitativo, y que, aunque no estaba previsto inicialmente, se decidió incluirlo debido a su aparición en todos los animales de este grupo B. Se ha objetivado un descenso cualitativo de la grasa mesentérica en el 100% de los animales. Estos datos nos hacen afirmar de manera estadísticamente significativa que el modelo animal del grupo B se encuentra en situación de desnutrición proteínico-calórica, lo que establece su validez como grupo de estudio de desnutrición.

Hemos comprobado que la desnutrición reduce los valores de PINP en el colon de la rata antes de la anastomosis en un 16,59%, y se detecta 0,362 µg/g de PINP en el colon de las ratas desnutridas, frente a los 0,434 µg/g recogidos en el grupo control. No sólo eso, sino que en el tejido anastomótico se objetiva también una menor concentración tisular de PINP en el grupo de ratas desnutridas (diferencia del 19,69%): 0,376 µg/g de PINP detectados en el grupo B, frente a 0,468 µg/g del grupo control. Es decir, el tejido colónico de las ratas desnutridas presenta menos depósito de colágeno secundario, probablemente, a una menor capacidad de síntesis en el recambio habitual del colágeno en los tejidos y, además, este hecho se ve reflejado en una reducción en la síntesis de colágeno en la anastomosis.

Hemos detectado mayores valores de ICTP (12,77%) en el colon de la rata desnutrida de este grupo B respecto al grupo control: 0,954 frente a 0,846 µg/g en el grupo control. También en la anastomosis son más elevados las cifras de ICTP, hasta 1,640 µg/g (1,425 µg/g en el grupo control), o lo que es lo mismo, una diferencia del 15,09%. Estos datos, próximos a la significación estadística establecida en el presente estudio, reflejan un incremento en la destrucción del colágeno en los animales desnutridos, tanto en el colon preanastomótico como en la anastomosis del cuarto día, sin que se pueda ofrecer una razón fisiológica adecuada.

Aunque tanto las concentraciones colónicas de PINP como las de ICTP se encuentran aumentadas en el tejido anastomótico de las ratas desnutridas en un 3,87 y un 71,91%, respectivamente, respecto a las detectadas en el colon preanastomótico de este grupo, el PINP aumenta menos que en el grupo control (7,83%;

$p = 0,356$ ), y no hay diferencias respecto al incremento de ICTP.

Todos estos datos apuntan a que existe un descenso estadísticamente significativo de PINP en el colon y en las anastomosis de las ratas desnutridas respecto al grupo control que indican que la desnutrición y la hipoalbuminemia reducen la síntesis de colágeno en las anastomosis intestinales, lo que favorece la aparición de dehiscencias en la sutura. La destrucción del colágeno está incrementada en el colon y en las anastomosis de las ratas desnutridas, aunque no es un dato con significación estadística y no encontramos una razón plausible al respecto.

El estado nutricional del paciente es de lo que más se ha estudiado como posible factor de riesgo de aparición de dehiscencias de la sutura intestinal. En este sentido, la albuminemia y sobre todo la concentración plasmática de prealbúmina son los marcadores más fiables para detectar posibles déficit nutricionales en los pacientes. La bibliografía consultada aporta estudios referentes al estado clínico y, más concretamente, la desnutrición y la hipoalbuminemia, como factor pronóstico de la viabilidad de una anastomosis primaria. Así, Aliev<sup>16</sup> y Briskin y Smakov<sup>17</sup>, con una serie de 242 y 263 pacientes con cáncer de colon, respectivamente, abogan por una descompresión y resolución de los síntomas agudos del paciente tales como la desnutrición, previamente a la intervención quirúrgica, como base para reducir la incidencia de fracaso en la anastomosis. Para Koperna y Kissner<sup>18</sup>, además de la desnutrición, también la edad avanzada podría influir en el pronóstico de las anastomosis intestinales.

Testini y Margari<sup>19</sup> ya demuestran, en un estudio retrospectivo en 200 pacientes sometidos a resección colónica y anastomosis terminoterminal, que la hipoalbuminemia está asociada a la aparición de fugas anastomóticas. Más amplia es la serie de Longo y Virgo<sup>20</sup>, de 4.711 pacientes, en la que demuestran además que el descenso de albúmina es un factor predictivo de mortalidad. Este estudio es, en función de la gran amplitud de la muestra que presenta, significativo desde el punto de vista estadístico en cuanto a demostrar que la hipoalbuminemia incrementa el riesgo de fallos anastomóticos y complicaciones postoperatorias. También Ceriati et al<sup>21</sup> proponen la hipoalbuminemia como el factor clínico de riesgo más importante de fracaso en las anastomosis intestinales, sólo por detrás de la insuficiencia renal crónica, tras estudiar de forma retrospectiva una amplia serie de pacientes intervenidos.

Nuestros resultados experimentales, en los que demostramos que hay una menor síntesis de PINP en las anastomosis de las ratas desnutridas respecto al grupo control, corroboran las conclusiones aportadas por esos autores tras observar que la desnutrición influye de forma negativa en la viabilidad de las anastomosis intestinales. Podemos también confirmar el dato que ya expusieron Testini y Margari<sup>19</sup>, Longo y Virgo<sup>20</sup> y Cieriati et al<sup>21</sup> mediante estudios retrospectivos de se-

ries de pacientes que describen la hipoalbuminemia como marcador pronóstico de fallo de la anastomosis, ya que en nuestro estudio demostramos la reducción de PINP en las anastomosis de las ratas desnutridas con una reducción de la albuminemia del 18,43%. Además, aportamos datos que indican que la desnutrición incrementa la destrucción de colágeno en el tejido anastomótico.

Respecto a los estudios experimentales publicados, hay varios artículos referentes a la desnutrición como factor influyente en la viabilidad de las anastomosis intestinales. Ward et al<sup>22</sup> publican un trabajo experimental en el que comparan 3 grupos de ratas sin alimentación, con alimentación hipoproteínica y con dieta normal. Al determinar la presión de rotura anastomótica en el postoperatorio, demuestran una menor presión colónica de rotura, estadísticamente significativa, en las ratas desnutridas. Law y Ellis<sup>23</sup> publican un estudio experimental con 2 grupos de ratas a las que se somete a nutrición parenteral normal e hipoproteínica respectivamente, y comprueban que la segunda incide negativamente en la correcta cicatrización tanto de las anastomosis intestinales como de la herida de laparotomía. Delemarre et al<sup>24</sup> demuestran, midiendo la tensión de rotura de las anastomosis practicadas en ratas, que el aporte nutricional parenteral mejora la resistencia de la sutura. En otro estudio experimental realizado por Domínguez Jiménez et al<sup>25</sup> se empleó 2 grupos de ratas, nutritas y desnutridas, y se objetivó una mayor incidencia de dehiscencias de la anastomosis en el grupo de ratas desnutridas, y se confirmó que el estado nutricional afecta a la cicatrización colónica y ocasiona inmunodepresión, lo que favorece la formación de abscesos. Kiyama et al<sup>26</sup> realizan un estudio experimental para analizar la tensión de la sutura intestinal en 2 grupos de ratas, uno control y otro con alimentación precoz, y concluyen que en el segundo grupo la anastomosis es de mejor calidad, con mayor presión de la sutura respecto al grupo control ( $p < 0,05$ ). Los estudios experimentales presentados correlacionan la concentración plasmática de albúmina con la resistencia de la anastomosis medida mediante manometría o con la presencia de dehiscencias de la sutura, con el consiguiente sesgo que estas técnicas presentan, como ya comentamos en la discusión del método.

Nuestros resultados indican, al igual que los trabajos expuestos y mediante un modelo experimental con significación estadística, que la desnutrición favorece la dehiscencia de la sutura intestinal, aunque pensamos que nuestro método de detección de PINP e ICTP presenta mayor fiabilidad que el uso de la tensión de rotura de la anastomosis utilizada en otros trabajos.

Como conclusiones podemos establecer que: *a*) el ayuno de 72 h reduce el peso y la albúmina plasmática; *b*) la anastomosis colónica incrementa los valores de PINP e ICTP en el tejido, y *c*) la desnutrición reduce la colagenización de la anastomosis colónica.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bode MK, Mosorin M. Complete processing of type III collagen in atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:1506-11.
- Bode MK, Karttunen J. Type I and III collagens in human colon cancer and diverticulosis. *Scand J Gastroenterol.* 2000;35:747-52.
- Ikeuchi D, Onodera H, Aun J. Correlation of tensile strength with bursting pressure in the evaluation of intestinal anastomoses. *Dig Surg.* 1999;16:478-85.
- Martínez E, Vázquez A, Larrocha M. Low-residue diets supplemented with fermentable fiber. Effect on experimental colonic anastomosis. *Nutr Hosp.* 1991;6:356-63.
- Ervin T, Bostock T. The effects of mesh preparation and acidification of the colon on the healing of colonic anastomoses. *Sug Gynecol Obstet.* 1976;143:443-7.
- Mansson P, Zhang XW, Jeppsson B, et al. Anastomotic healing in the rat colon: comparison between a radiological method, breaking strength and bursting pressure. *Int J Colorectal Dis.* 2002;17:420-5.
- Rolando H, Rolandelli MD. Intravenous butyrate and healing of colonic anastomoses in the rat. *Dis Colon Rectum.* 1997;40:67-70.
- Savage FJ, Lacombe DL. Effect of colonic obstruction on the distribution of matrix metalloproteinases during anastomotic healing. *Br J Surg.* 1998;85:72-5.
- Shaper KR, Savage FJ, Hembry RM. Regulation of matrix metalloproteinases in a model of colonic wound healing in a rabbit. *Dis Colon Rectum.* 2001;44:72-82.
- Gallegos NC, Smales C, Savage FJ. The distribution of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in colorectal cancer. *Surg Oncol.* 1995;4:21-9.
- Mutter D, Aprahamian M. Evaluation of human collagen biomaterials in the healing of colonic anastomoses in dogs. *Eur J Surg.* 1997;163:287-95.
- Nabeya Y. Serum cross-linked I-CTP as a prognostic tumor marker in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer.* 2002;94:940-9.
- Saarto T, Blomqvist C, Risteli J, Risteli L, Sarna S, Elomaa I. PINP correlates to bone loss and predicts the efficacy of antiresorptive therapy in pre and postmenopausal non-metastatic breast cancer patients. *Br J Cancer.* 1998;78:240-45.
- Toivonen J, Tahtela R, Laitinen K, Risteli K, Valimaki MJ. Markers of bone turnover in patients with differentiated thyroid cancer with and following withdrawal of thyroxine suppressive therapy. *Eur J Endocrinol.* 1998;138:667-73.
- Trifiro G. I-CTP variation in adolescents receiving oral isotretinoin. *J Ped-Endocrinol Metab.* 2002;15:35-9.
- Aliev SA. Surgical management in complicated sigmoid cancer. *Khirurgija Mosk.* 1999;11:26-30.
- Briskin BS, Smakov GM. Occlusive ileus in colonic cancer. *Khirurgija Mosk.* 1999;5:37-40.
- Koperna T, Kissner M. Emergency surgery for colon cancer in the aged. *Arch Surg.* 1997;132:1032-7.
- Testini M, Margari A. Le deiscenze nelle anastomosi colo-retali: fattori di rischio. *Ann Ital Chir.* 2000;71:433-40.
- Longo WE, Virgo KS. Risk factors for morbidity and mortality after colectomy for colon cancer. *Dis Colon Rectum.* 2000;43:83-91.
- Ceriat F, Tebala GD, Ceriat E, Coco C, Tebala D, Verbo A, et al. Surgical treatment of left colon malignant emergencies. A new tool for operative risk evaluation. *Hepatogastroenterology.* 2002;49:961-6.
- Ward MWN, Danzi M, Lawin MR J, Clark CG. The effects of subclinical malnutrition and refeeding on the healing of experimental colonic anastomoses. *Br J Surg.* 1982;69:308-10.
- Law NW, Ellis H. The effect of parenteral nutrition on the healing of abdominal wall wounds and colonic anastomoses in protein-malnourished rats. *Surgery.* 1990;107:449-54.
- Delemarre JB, Van de Velde CJ, De Brauw LM, Vree R. Internal biliary drainage, parenteral nutrition and variation in the total parenteral nutrition feeding solutions: influence on the healing of colon anastomosis in jaundiced rats. *J Parenter Enteral Nutr.* 1990;14:629-33.
- Domínguez Jiménez GL, Athié AJ, Mijares García JM, et al. Efecto de la desnutrición en la anastomosis colónica de la rata. *Cirujano General.* 2001;23:81-6.
- Kiyama T, Onda M, Tokunaga A, Vree R. Effect of early postoperative feeding on the healing of colonic anastomoses in the presence of intra-abdominal sepsis in rats. *Dis Colon Rectum.* 2000;43:S54-8.