

Desarrollo de un modelo experimental de colocistoplastia en la rata

Dres. J. Rodó Salas y Farré Pueyo.

Servicio de Cirugía, Hospital San Jose de Deu, Barcelona, España.

Resumen

Fueron intervenidas 56 ratas Sprague-Dawley de ambos sexos con un peso medio de 270 gramos con el objetivo de crear un modelo experimental de ampliación vesical que sirviera de base para otros estudios. Para la realización de la misma, se aisló un pequeño segmento de colon con su meso que se anastomosó a la vejiga, y se restableció la continuidad intestinal mediante una anastomosis término-terminal. En el momento del sacrificio, se observó la indemnidad de la colocistoplastia y que la intervención no había alterado la curva ponderal de los animales. La necropsia demostró que la capacidad del neoreservorio colovesical había aumentado y estaba distendido de forma asimétrica con mayor distensión de la vejiga que el injerto, y que en su interior había orina y moco retenidos en cantidad variable. El estudio anatomopatológico demostró cambios histológicos que afectaron a la zona anastomótica y respetaron las zonas alejadas.

Palabras clave: Colocistoplastia - Enterocistoplastia.

Summary

The purpose of this work was to create an experimental model of colocystoplasty that would allow the intestinal mucosa to contact urine without coming in contact at the same time with stools. Fifty-six Sprague-Dawley rats of both sexes and weighing an average of 270 grams were subjected to colocystoplasty. A small amount of colon with its mesentery was isolated and grafted into the bladder. The bowel continuity was reestablished by means of end-to-end anastomosis. After sacrifice the experimental model had clearly been successful and that rate of weight gain had not been affected by the procedure. Necropsy findings revealed that the capacity of the neobladder was augmented, there was asymmetrical distension and variable retention of urine and mucus within it. Histopathologic examination revealed changes that affected the anastomotic region but not those further away.

Index words: Colocystoplasty - Enterocystoplasty.

Resumo

Foram operados 56 ratos Sprague-Dawley de ambos os sexos, com um peso médio de 270 gramas, com o objetivo de criar um modelo experimental de ampliação vesical que servirá de base para outros estudos. Para a realização da mesma, foi isolado um pequeno segmento de cólon com o seu meso que foi anastomosado à bexiga, restabelecendo-se a continuidade intestinal mediante uma anastomose término-terminal. No momento do sacrifício, observou-se a integridade da colocistoplastia e que a intervenção não havia alterado a curva ponderal dos animais. A necrópsia demonstrou que a capacidade do neoreservatório colovesical havia aumentado e estava distendido de forma assimétrica, com maior distensão da bexiga que o enxerto, e que em seu interior havia urina e muco retido em quantidade viável. O estudo anatomopatológico demonstrou mudanças histológicas que afetaram a zona anastomótica e respeitaram as zonas afastadas.

Palavras chave: Colocistoplastia - Enterocistoplastia.

Introducción

La ampliación vesical experimental sirve como base para el estudio de diversas variables: papel de las nitrosaminas en la formación de cáncer de colon¹⁴, cambios histológicos^{5,8}, electrolíticos y morfológicos¹², incidencia de bacteriuria¹¹, producción de moco⁸, desmineralización^{14,15} y también, para comparar distintas técnicas de enterocistoplastia.

El objetivo de este estudio fue lograr un modelo experimental en ratas, para mantener el contacto de la orina con la mucosa intestinal exenta de heces. Se creó un reservorio colovesical, separando un segmento de intestino del tubo digestivo que se anastomosó a la vejiga y se estudió la técnica y su comportamiento.

Material y método

Fueron utilizadas 56 ratas Sprague-Dawley que se distribuyeron por sexos en 5 grupos de 10.

El peso medio de las hembras fue de 258 g (200-332), y el de los machos de 293g (226-176). Durante el estudio los animales fueron tratados según las condiciones que establece la normativa legal vigente.

La colicistoplastia se realizó bajo anestesia general (AG) con Ketamina, en dos dosis de 30-40 mg/kg, la primera por vía intramuscular (IM) y la segunda por vía intraperitoneal (IP). Los animales fueron pesados previo a la intervención y al sacrificio.

Técnica quirúrgica: el animal anestesiado se fijó en decúbito supino a una plancha de corcho mediante bandas adhesivas a nivel de axilas e ingles cuidando que el grado de tensión no limite la excursión respiratoria.

La antisepsia de la pared abdominal se realizó con povidona yodada y mediante una laparotomía mediana infraumbilical, se demarcaron los límites del segmento de colon escogido para la colicistoplastia. Al nivel elegido, el intestino se ligó y seccionó por encima. El borde antimesentérico del cabo distal del segmento de colon aislado, se incidió parcialmente a fin de obtener mayor superficie de sutura. El segmento aislado y los cabos proximal y distal del intestino fueron vaciados de heces y se lavaron con povidona yodada y suero fisiológico. La continuidad intestinal se restableció mediante una anastomosis término-terminal (Fig. 1a y 1b). Las maniobras quirúrgicas se realizaron a través de los espacios avasculares del meso evitando cualquier tracción.

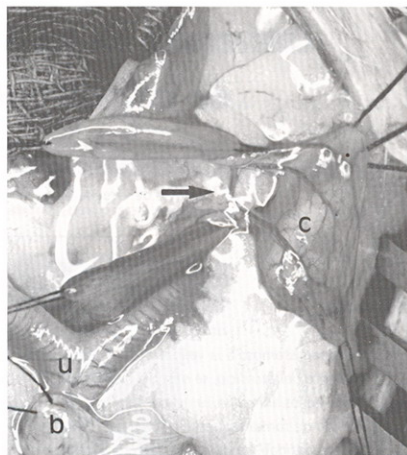


Fig. 1a: aislamiento del segmento de colon. Se han separado un segmento de colon (c) que será anastomosado a la vejiga (b), se ha respetado la vascularización de la arcada intestinal.

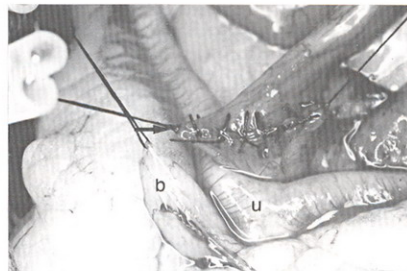


Fig. 1b: anastomosis cólica finalizada.

Se incidió la cara dorsal de la vejiga longitudinalmente en la línea media, y se la anastomosó latero-terminally al cabo distal del segmento de colon aislado (Fig. 2a y 2b) con puntos separados perforantes de seda 6/0. En algunas hembras, se comprobó la impermeabilidad de la sutura colovesical mediante sondaje vesical transuretral con un catéter de 18 Gauge e instilación de suero fisiológico.

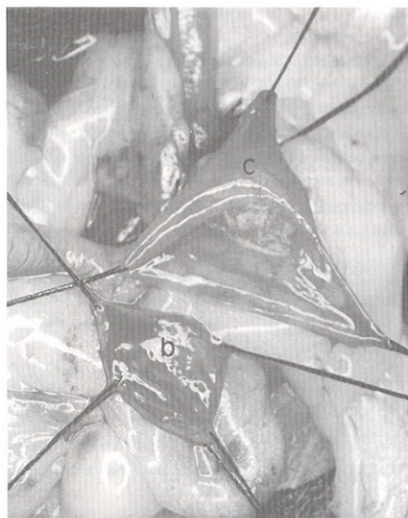


Fig. 2a: colosistoplastia. La cara posterior de la vejiga (b) ha sido abierta y el borde antimesentérico del colon (c), espatulado ligeramente.

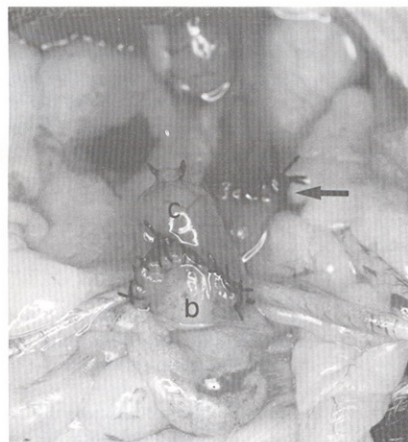


Fig. 2b: sutura colovesical finalizada. Al fondo destaca la anastomosis cólica terminoterminal.

Se cerró la laparotomía en dos planos (musculoaponeurótico y piel) y se colocó el animal bajo una fuente de calor hasta su recuperación, antes de devolverlo a la jaula.

La media de longitud de colon utilizado para la coloplastia fue de 13,4 mm (rango 7 a 20), la media de apertura del borde antimesentérico fue de 2,9 mm (rango 0 a 7), y la media de apertura vesical fue de 7,1 mm (rango 5 a 10).

A los doce días de la intervención se practicó una nueva laparotomía media para recuperar el neoreservorio colovesical y realizar el estudio anatomopatológico. Se seccionaron los uréteres a la entrada de la vejiga, se ligó la uretra por transfijión lo más distal posible y por encima de esta se colocó otra ligadura sin ajustar^{18,20}. Mediante punción de la uretra entre ambas ligaduras se aspiró la orina e introdujo 1 ml de formol al 10% en la cavidad vesical.

Retirada la aguja y ajustada la ligadura, se seccionó la uretra. La eutanasia se realizó por exsanguinación mediante la transección de ambos pedículos renales²¹.

El examen histopatológico se realizó con microscopía óptica. Las muestras se fijaron en una solución de formol al 10%, se incluyeron en parafina, se realizaron secciones de 5 micras de espesor de la vejiga, del injerto y de la zona anastomótica y se tiñeron con hematoxilina-eosina.

Resultados

La intervención no alteró la curva ponderal de los animales. La comparación del peso entre el día de la intervención y el día del sacrificio, demostró una media de aumento de peso de un 4,3% en las hembras y de un 16,3% en los machos.

En el momento del sacrificio, a diferencia de las ratas no intervenidas, el reservorio colovesical y los uréteres se encontraron distendidos. Del interior del neoreservorio se extrajo orina y moco en cantidades que oscilaron entre 1 y 2 ml. La distensión del neoreservorio vesical fue asimétrica, la vejiga se distendió más que el injerto intestinal (Fig.3). Se constató la eficacia de la unión vesicoureteral al seccionar los uréteres y comprobar que la vejiga no se vaciaba.

No se produjo ningún caso de dehiscencia de las suturas intestinal o colovesical y hubo pocas complicaciones: dos casos de litiasis vesical ocasionadas

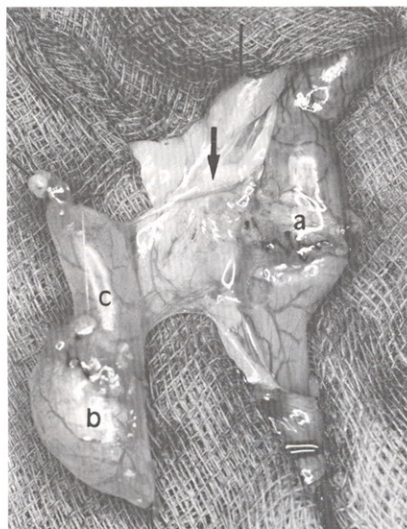


Fig. 3: Vejiga, injerto, pedículo vascular y anastomosis intestinal. La imagen muestra el colon con la sutura terminoterminal (a), el pedículo vascular del injerto conservado (--->) y la vejiga (b) ampliada con el injerto de colon (c). Se ha llenado la vejiga con solución de formol al 10% antes de separarla de la uretra.

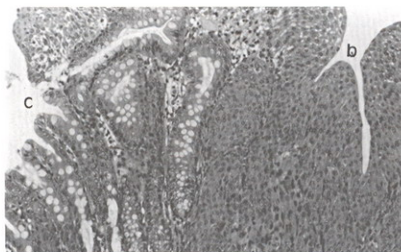


Fig. 4a: Zona anastomótica. (x100). A la izquierda mucosa colónica (c) y a la derecha mucosa vesical (b).

por un pelo y dos casos de abscesos a nivel de la cicatriz de la laparotomía. Hubo 6 fallecidos, uno por sobredosisificación anestésica, otro por hipotermia, otro por lesión accidental de la arcada cólica y 3 por

causas desconocidas entre las 48 y las 72 horas tras la intervención.

El estudio anatomopatológico de las piezas de necropsia demostró cambios que afectaron a la zona anastomótica y respetaron las zonas alejadas. Se observaron abundantes cambios inflamatorios y la presencia de células gigantes del tipo "cuerpo extraño" frente al material de sutura (Fig. 4a), macrófagos cargados con hemosiderina y mezcla de los epitelios intestinal y transicional (Fig. 4b).

Discusión

Se escogió la rata Sprague-Dawley^{5,6,11,12,17,18,22,31} como modelo quirúrgico por las ventajas de disponibilidad y resistencia.

Aunque el uso y las dosis de Ketamina reportados en la literatura son muy variables^{1,20,32} con las dosis descritas se obtuvo la hipnosis, analgesia y relajación adecuadas. La intervención se realizó en medio aséptico pero no estéril y la laparotomía mediana^{32,34} ofreció una exposición suficiente.

El colon distal, análogo al sigmoides del hombre, se eligió por su uso frecuente en pediatría¹. La longitud media del segmento utilizado correspondería a un segmento en el hombre de entre 15 y 20 cm⁸. El cabo proximal del segmento intestinal aislado se ligó siguiendo modelos previos^{12,15} y la incisión parcial del borde antimesentérico del cabo distal se realizó para obtener mayor superficie de sutura y establecer una amplia comunicación entre la vejiga y el injerto. La destubularización y reconfiguración del asa^{1,5,8,13} imprescindibles cuando se pretende aumentar al máximo la capacidad de la vejiga y minimizar las contracciones del intestino, no se realizó por cuanto el objetivo de la intervención sólo era lograr la formación de un reservorio colovesical que garantizara el contacto permanente de la orina con la mucosa intestinal y eliminara todo posible contacto entre la orina y las heces.

La apertura vesical fue ventral y longitudinal^{5,6,8,20}, aunque se han descrito otros tipos: transversal^{6,17}, bivalva^{7,10,15}, con resección de la cúpula vesical¹³ y en "Y" invertida.

Para las anastomosis se han utilizado todo tipo de materiales (catgut^{5,7,10,17,20}, ácido poliglicólico^{2,7,8,11,15,17}, polipropileno⁶, polidioxanona^{1,16,20}, etc.) y de sutura (puntos sueltos^{5,7} y sutura continua^{6,10,33}), pero ninguno



Fig. 4b: (x100). Destaca el material de sutura (-->), rodeado de una zona claramente inflamatoria.

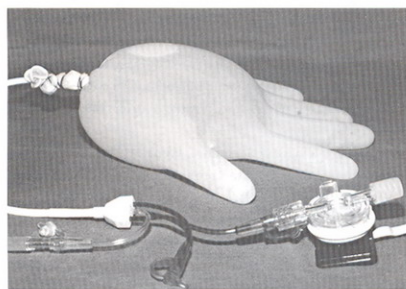


Fig. 5a: Acomodación del reservorio colovesical. Por la ley de Laplace, se sabe que a una presión dada, un aumento en el volumen provoca un aumento en el radio que secompensa con un aumento en el grado de tensión de la pared. Esta, es mucho mayor en la palma y en el dorso (firmes) que en los dedos (blandos).

influye esencialmente en el resultado de las mismas.

No se usaron antibióticos de protección^{6,17} ya que su necesidad o eficacia en ratas es dudosa. No obstante existen muchas publicaciones sobre variedad de tipos, dosis y vías de administración^{2,4,5,7,8,10,11,13,15}.

El reservorio colovesical obtenido tuvo mayor capacidad, se dilató de forma asimétrica y en su interior se produjo retención de orina y moco. El aumento de capacidad se produjo por la suma de las capacidades de la vejiga y del segmento de colon¹⁷ y por la dilatación del reservorio formado por ambos. La dilatación asimétrica de éste, que fue mayor a nivel de la vejiga (radio mayor), que a nivel del injerto (radio

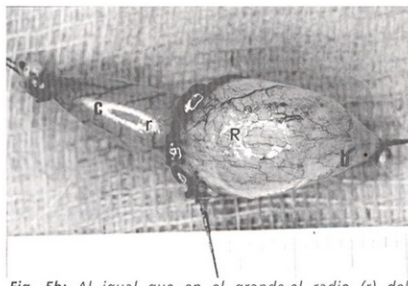


Fig. 5b: Al igual que en el grande, el radio (r) del intestino intacto limitó la tensión de la pared y por lo tanto la cantidad de orina que fue capaz de acomodar. Por el contrario, la vejiga conservó su radio primitivo (r), fue capaz de sumentar la tensión de la pared y pudo albeaar cantidades mayores de orina.

menor), fue provocada por falta de destubularización del intestino (ley de Laplace) (fig. 5a y b)^{16,17}. La retención urinaria probablemente fue provocada por la pérdida de eficacia en la contracción del detrusor, ya que el injerto actuó como un divertículo y por la falta de capacidad de contracción del injerto.

Los cambios histopatológicos que se produjeron estuvieron claramente relacionados con la intervención y pudieron ser secundarios a sustancias o estímulos inductivos que se producen al entrar en contacto tejidos diferentes^{7,38,39}. No obstante el mecanismo puede no ser el único. La irritación crónica de la vejiga provocada por agentes mecánicos^{40,42}, por infección^{5,43} o por alteración del pH⁴⁴ puede producir hiperplasia, metaplasia y carcinomas.

En conclusión, mediante la técnica descrita se consigue un modelo experimental fácilmente reproducible que permite que la mucosa intestinal entre en contacto con la orina sin que ésta lo haga con las heces. El reservorio colovesical que se obtiene se dilata de forma desigual, a expensas de la vejiga, y se producen una serie de cambios histopatológicos que afectan a la zona anastomótica y respetan las zonas alejadas.

Bibliografía

1. Daher N, Gautier R, Abourachid H, et al. Rat colonic carcinogenesis after ureterosigmoidostomy: Pathogenesis and immunohistological study. J Urol; 139: 1331-1336, 1988.

2. Gitts Rf. Carcinogenesis in ureterostomoidostomy. *Urol clin North Am*; 13: 201-205, 1986.
3. Tsujihashi H, Nakanishi A, Matsuda, et al. Enhancing effect of partial cystectomy on rat urinary bladder carcinogenesis. *J Urol*; 145: 168-170, 1991.
4. Kåbåle T, Tricker AR, Berger M, et al. Tumor induction in a rat model for ureterostomoidostomy without evidence of nitrosamine formation. *J Urol*; 146: 862-866, 1991.
5. Spencer JR, Steckel J, May M, et al. Histological and bacteriological findings in long-term ileocystoplasty and colicystoplasty in the rat. *J Urol*; 150: 1321-1325, 1993.
6. Buson H, Castro D, Manivel J, et al. The development of tumours in experimental gastroenterocystoplasty. *J Urol*; 150: 730-733, 1993.
7. Little Jr JS, Klee LW, Hoover Dm, et al. Long-term histopathological changes observed in rats subjected to argumentation cystoplasty. *J Urol*; 152: 720-724, 1994.
8. Guan Z, Ricard G, Charest-Boulé L, et al. Argumentation cystoplasty in rats: Development of an animal model. *J Urol*; 144: 461-465, 1990.
9. Hall MC, Koch MO, Halter SA, et al. Morphologic and functional alterations of intestinal segments following urinary diversion. *J Urol*; 149: 664-666, 1993.
10. Klee LW, Hoover MO, Mitchell ME, et al. Long term effects of gastrocystoplasty in rats. *J Urol*; 144: 1283-1287, 1990.
11. Davidsson T, Carlen B, Bak-Jensen E, et al. Morphologic changes in intestinal mucosa with urinary contact-effects ζ urine or disuse?. *J Urol*; 156: 226-232, 1996.
12. Burnett AL, Donowitz M, Marshall FF. Inhibition of transport processes of intestinal segments following augmentation enterocystoplasty in rats. *J Urol*; 156: 1872-1875, 1996.
13. Lauvetz RW, Monda JM, Kramer SA, et al. Urinary pH and urea concentration correlate to the bacterial colonization rate in gastric, colonic, ileal and myoperitoneal bladder augmentation. *J Urol*; 154: 899-902, 1995.
14. Koch MO, McDougal WS. Bone demineralization following ureterostomoid anastomosis: An experimental study in rats. *J Urol*; 140: 856-859, 1988.
15. Vordermark JS, Irby PB, Shehata BM, et al. The effects of ileocystoplasty on the development of renal failure in a rat model 5/6 nephrectomy. *J Urol*; 148: 566-570, 1992.
16. Oesch I. Neurothelium in bladder augmentation. An experimental study in rats. *Eur Urol*; 14: 328-329, 1988.
17. Badiola F de, Manivel JC, Gonzalez R. Seromuscular enterocystoplasty in rats. *J Urol*; 146: 559-562, 1991.
18. Koch MO, Gurevitch E, Hill DE, et al. Urinary solute transport by intestinal segments: A comparative study of ileum and colon in rats. *J Urol*; 143: 1275-1279, 1990.
19. Malmgren A, Sjögren C, Uvelius B, et al. Cystometrical evaluation of bladder instability in rats with infravesical outflow obstruction. *J Urol*; 137: 1291-1294, 1987.
20. Steward DW, Buffington PJ, Wacksman J. Suture material in bladder surgery a comparison of polydioxanone, polyglactin and chromic catgut. *J Urol*; 143: 1261-1263, 1990.
21. Close B, Banister K, Baumans V, et al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. *Laboratory Animals*; 31: 1-32, 1997.
22. Themann H, Oberdorf E, Brock N, et al. Electron microscopic investigations of the cyclophosphamide-included lesions of the urinary bladder of the rat and their prevention by Mesna. *Urol Int*; 42: 37-43, 1987.
23. Kalota SJ, Stein PC, Parsons CL. Prevention of acrolein-induced bladder injury by pentosanpolysulfate. *J Urol*; 148: 163-166, 1992.
24. Safron J, Rice D, Gordon D, et al. Protective effect of L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate treatment on cyclophosphamide-induced cystitis in rats. *J Urol*; 157: 1946, 1997.
25. Gray KJ, Engelmann UH, Johnson EH, et al. Evaluation of misoprostol cytoprotection of the bladder with cyclophosphamide (cytoxan) therapy. *J Urol*; 136: 97-500, 1986.
26. Krane DM, Kim J, Straus F, et al. Prophylactic and therapeutic carboprost tromethamine bladder with cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *J Urol*; 148: 1326-1330, 1992.
27. Grimberg-Funes DJ, Sheldon C, Weiss M. The use of prostaglandin F2 alpha for the prophylaxis of cyclophosphamide induced cystitis in rats. *J Urol*; 144: 1500-1504, 1990.
28. Gil-Vernet JM, Escarpenter JM, Perez-Trujillo G, et al. A functioning artificial bladder: Results of consecutive cases. *J Urol*; 87: 825-829, 1962.
29. Motley RC, Montgomery BT, Zollman PE, et al. Augmentation cystostomy utilizing de-epithelialized sigmoid colon: A preliminary study. *J Urol*; 143: 1257-1260, 1990.
30. Gill Wb, Ruggiero K, Strauss IIIH. Crystallization studies in a urothelial-lined living test tube (The catheterized female rat bladder). *Invest Urol*; 17: 257-261, 1979.
31. Stein PC, Pham H, Ito T, et al. Bladder injury model induced in rats by exposure to protamine sulfate followed by bacterial endotoxin. *J Urol*; 155: 1133-1138, 1996.
32. Chun AL, Wallace LJ, Gerald MC, et al. Effect of age on in vivo urinary bladder function in the rat. *J Urol*; 139: 625-627, 1988.
33. Chun AL, Wein AJ, Harkaway R, et al. Comparison of urinary bladder function in sexually mature and immature male and female rats. *J Urol*; 143: 1267-1271, 1990.
34. Chun AL, Wallace LJ, Gerald MC, et al. Effect of age on in vivo urinary bladder function in the rat. *J Urol*; 141: 170-173, 1989.
35. Crissey MM, Steele GD, Gittes Rf. Rat model for carcinogenesis in ureterostomoidostomy. *Science*; 207: 1079-1080, 1980.
36. Himman F Jr. Selection of intestinal segments for bladder

- substitution: Physical and physiological characteristics. *J Urol*; 139: 519-523, 1988.
37. Schmidbauer CP. Mechanics and neurophysiology of intestinal segments as bowel substitutes: An editorial comment. *J Urol*; 138: 1438-1439, 1987.
38. Cunha GR, Lung B, Reese B. Glandular epithelial induction by embryonic mesenchyme in adult bladder epithelium of BALB/c mice. *Invest Urol*; 17: 30-304, 1980.
39. Neubauer BI, Best KL, Hoover DM, et al. Mesenchymalepithelial interactions as factors influencing male accessory sex organ grown in the rat. *Fed Proc*; 45: 2618-2620, 1986.
40. Akaza H, Murphy WM, Soloway MS. Bladder cancer induced by noncarcinogenic substances. *J Urol*; 131: 152-155, 1984.
41. Bonser GM, Clayson DB, Jull JW, et al. Induction of tumors of the bladder epithelium in rats by the implantation of paraffin wax pellets. *Brit J cancer*; 7: 456-458, 1953.
42. Mobley TI, Coyle Jk, al-Hussaini M, et al. The role of chronic mechanical irritation in experimental urothelial tumorigenesis. *Invest Urol*; 3: 325-328, 1966.
43. Davis CP, Cohen MS, Gruber MB, et al. Urothelial hyperplasia and neoplasia: a response to chronic urinary tract infections in rats. *J Urol*; 132: 1025-1031, 1984.
44. Lina B, Woutersen RA. Effects of urinary potassium and sodium ion concentrations and pH on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis*; 10: 1733-1736, 1989.

Trabajo recibido para su publicación en Abril 2000.

Dr. J Rodó Salas
Servicio de Cirugía Hospital San Joan de Déu
Avda. Sant Joan de Déu, 2
08950 Esplugues de Llobregat
Barcelona
España