

Novel insights in the pathophysiology of colorectal anastomotic leakage

Citation for published version (APA):

Jongen, A. C. H. M. (2019). *Novel insights in the pathophysiology of colorectal anastomotic leakage*. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20190926aj>

Document status and date:

Published: 01/01/2019

DOI:

[10.26481/dis.20190926aj](https://doi.org/10.26481/dis.20190926aj)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

English summary

English summary

In Europe, colorectal cancer (CRC) is the second most common cause of cancer related deaths in both men and women. It is the second most common form of cancer in women preceded only by breast cancer, and the third most common in men, after lung and prostate cancer. The incidence rates are strongly influenced by behavioural risk factors such as smoking, poor diet (low consumption of fruits and vegetables, and high consumption of red meats), obesity, physical inactivity, and alcohol consumption. Over the past years, a rapid increase of the overall incidence of colorectal cancer has been observed, which can be contributed to the adaptation of a more western lifestyle and diet in medium to high human development index (HDI) countries, and the implementation of national screening programmes in the highest indexed HDI countries. It is thought that these incidence rates will continue to rise even further during the next few decades; some even estimate a 60% increase by 2030.

An important corner stone for treatment of CRC remains surgery, which is often combined with (neo)adjuvant chemo(radio)therapy, depending on tumour location and stadium. Important improvements have been made over the past decades with regards to the perioperative care of the colorectal patient, including the implementation of 'fast-track' protocols and, for example, minimal invasive surgery. Despite these improvements, complications are not uncommon after this type of surgery, and colorectal anastomotic leakage in particular is still the most feared one. Anastomotic leakage occurs when the anastomosis does not heal properly, leading to the leakage of luminal content (faeces and bacteria), into the normally sterile abdominal cavity, which can result in abscess formation, peritonitis and, in severe cases, sepsis.

In around 7-12% of cases of colorectal surgery, leakage of the anastomosis occurs, which is associated with a prolonged hospital admission, an increased risk of reoperation and ICU admission, and mortality. Several large studies have also shown an association between anastomotic leakage and an impaired oncological outcome, for example a decreased disease-specific survival and an increased risk of recurrence.

Despite the intensive research that has been done on this topic during the past decades by research groups worldwide, we have been unable to bring down the numbers of leakages. This can largely be contributed to the lack of understanding of the processes involved in the normal healing of the gut and the pathways involved in leakage.

Formulating a definition for colorectal anastomotic leakage

What is considered to be the definition of colorectal anastomotic leakage varies considerably from physician to physician. The existing definitions are rather vague and,

therefore, not used in clinical practice. This makes comparison of large randomized studies and their outcomes difficult, and hampers the formulation of guidelines. The first part of this thesis focuses in more detail on this problem. We used a survey (Chapter 2) and a large literature study (Chapter 3) to specify what exactly clinicians think anastomotic leakage is. The survey was conducted both in the Netherlands and in China, and showed that there are large regional differences as to what clinicians consider leakage. This can explain the large variation in reported incidence rates between studies conducted in the East and the West. With the literature study, we looked closer into the definitions used and what surgery-related parameters are described in the studies. It appeared that most authors prefer to use their own wording and definitions rather than definitions that were formulated by others. Also, the information provided on the cases that were included in the study with regards to the surgery and the postoperative course varied strongly between studies. Together with the Dutch Taskforce for Anastomotic Leakage, we drafted a set of 11 points that are advised to be reported in future papers. The results from these two studies have formed the basis of a consensus study which is currently being conducted by our research group. In this Delphi study (not included in this thesis), we asked a number of highly specialised surgeons around the world to give their input regarding this matter, and through several rounds of questions, we aim to formulate a new definition of CAL. As this new definition will be approved by important authors worldwide, it is very likely to be accepted and used by the rest of the scientific community.

Developing a risk assessment tool for leakage

In the second part of the thesis, the study protocol of the REVEAL study (Chapter 4) is discussed. The REVEAL study is an on-going prospective observational study that aims to develop an algorithm to assess the risk of developing anastomotic leakage. Before the start of this study, it was not possible for clinicians to assess the risk of leakage adequately, despite our knowledge on the risk factors that were described above. Based on a large number of different parameters such as plasma levels of several inflammatory markers, pre-operative CT scans, breath samples and the composition of the microbiome in stool samples, we aim at developing a risk score that can predict the risk of leakage before patients actually undergo surgery. This would make it easier for the clinician to discuss important aspects of the surgery with the patient, for example whether or not to construct a bowel anastomosis in case of a very high pre-operative risk score. In cases like these, the surgeon and patient could decide to not make an anastomosis, but rather to construct a permanent stoma. Based on the assessed risk, recommendations regarding postoperative monitoring of the patient could also be

given, such as routine blood tests or CT scans. Another important goal of the REVEAL study is to decrease the time between development of the complication and diagnosis. Studies have shown that early diagnosis and subsequent treatment with antibiotics, drainage or surgery decreases the consequences of a leak significantly.

Chapter 5 presents the results of a subset of patients included in the REVEAL study, in which we used an imaging technique called near infrared fluorescence (NIRF) imaging to assess the perfusion of the intestine. These patients were administered a substance intravenously, that can be visualised in the tissues with the use of a certain light. The better the vascularisation of the intestines, the more blood is delivered to the tissues, which leads to a more intense fluorescent signal. In this so-called pilot study, we found that the intensity of the imaging signal was lower in patients who eventually developed a leak. The study shows that NIRF imaging is a safe and effective method to assess the perfusion of the intestine at the site of the future anastomosis.

Different imaging modalities to assess the quality of the anastomosis

During the past decade or so, important improvements have been made regarding the in-hospital care of the patient. Enhanced recovery protocols have been drafted to shorten recovery and hospital admission time, and to reduce postoperative complications such as ileus or pneumonia. Whereas certain aspects have been captured in these protocols, other important decisions have to be made for every individual patient, such as whether or not to construct a temporary ostomy. The presence of a temporary ostomy also leads to new discussion points, for example what is the best interval between the index surgery and temporary stoma reversal. In Chapter 6, we used a large national cohort of patients to investigate which of two imaging modalities (colonoscopy or CT scan with contrast) was most suitable to assess the integrity of the anastomosis before patients underwent temporary stoma reversal. In this study, no statistically significant differences were observed between the two tests, but they both have pros and cons. The CT scan with contrast has the risk of being 'false positive', in which it may look as if there is a leak, when in reality there is none. Some advantages for the colonoscopy can be described on the other hand, as it can simultaneously detect new polyps or stenosis of the anastomosis, which could then immediately be treated. However, new randomized studies with larger patient numbers are needed before we can make recommendations for either technique.

Understanding the processes involved in leakage

In the final part of the thesis, we aimed at increasing the understanding of the processes that are involved in normal intestinal healing and leakage. Three different studies were

discussed in this section. In Chapter 7 we investigated whether supplementation of a specific substance called butyrate would reduce the risk of colorectal anastomotic leakage in rats. Butyrate is a so-called short-chain fatty acid (SCFA), and forms the main source of energy for the cells of the large intestine. The bacteria that reside in the intestine produce butyrate by the breakdown of dietary fibres. Studies have shown that butyrate has positive effects on cell renewal and that it decreases inflammation in the intestine. In Chapter 7, we looked at three different application routes to deliver butyrate to the intestinal cells: 1) by single injection right before construction of the anastomosis, 2) by continuous effusion from a patch that was placed in the lumen, or 3) by intermittent doses of butyrate by means of an enema. The first and second techniques seemed either insufficient or dangerous (the patches caused obstruction of the intestine), but some positive results were observed in the animals that received enemas on several consecutive days. However, this cannot be translated into clinical practice directly, as clinicians are usually weary of giving enemas in the early postoperative phase in case of low rectal anastomoses. During the days after the surgery the anastomosis is still vulnerable, and the risk of rupture of the anastomosis is high due to the increased intraluminal pressure of the enema.

Another study that was discussed in the final part of the thesis was on the mucous layer of the intestine. This study was conducted in collaboration with a research group in Gothenburg, Sweden. The entire intestine is lined by a layer of mucous, which forms the first line of defence against passing stool and harmful bacteria. It is produced by a certain cell type of the intestinal wall and provides a natural habitat for certain types of 'beneficial' intestinal bacteria. In the study presented in Chapter 8, a specific strain of mice was used that completely lack this mucous layer, as well as normal 'wild-type' mice. The results from this study showed that this mucous layer is indeed necessary for the normal processes of intestinal healing. Newer studies are needed to investigate methods to support the normal function of the mucous layer.

In several chapters of this thesis, the importance of the composition of the microbiome and 'beneficial' bacteria was mentioned. In other studies it has also been shown that there are certain bacterial strains that pose serious risks for the newly constructed anastomosis. Some bacteria develop harmful characteristics when exposed to certain triggers (for example certain drugs such as opioids, or simply the surgery itself), and produce enzymes that break down the intestinal wall. Another issue that has received a lot of attention in the past decades are the group of drugs of the NSAIDs (non-steroidal anti-inflammatory drugs). These are very commonly used analgesics that are believed to have a negative effect on intestinal healing, by mechanisms that are not yet completely understood. Some have suggested a relation between NSAIDs and the composition of

the microbiome to be the cause of these detrimental effects. In the final chapter of this thesis (Chapter 9) we have looked in depth into this, and found that not the use of these drugs, but the surgical damage itself was the most important influencing factor for the difference in microbiome composition after surgery.

Nederlandse samenvatting

Nederlandse samenvatting

Darmkanker is de tweede meest voorkomende oorzaak van kanker-gerelateerde sterfte voor zowel mannen als vrouwen. Het is de tweede meest voorkomende vorm van kanker bij vrouwen na borstkanker, en wordt bij mannen alleen voorafgegaan door long- en prostaatkanker. De incidentie wordt voor een belangrijk deel beïnvloed door de levensstijl van patiënten, waarbij men moet denken aan factoren als roken, slechte eetgewoonten (lage consumptie van groenten en fruit, hoge consumptie van rood vlees), obesitas, weinig beweging en het gebruik van alcohol. De afgelopen paar jaar werd er een sterke toename van het aantal gevallen van darmkanker gezien, welk kan worden toegeschreven aan het ontwikkelen van een meer Westerse levensstijl en dieet in landen met een middel tot hoge ontwikkelingsindex (Engels: human development index (HDI)), en door de start van nationale screeningprogramma's in de landen met de hoogste ontwikkelingsindex. Men verwacht dat deze incidentie nog alleen maar verder zal stijgen de komende decennia; experts spreken zelfs over een toename van 40% in 2030.

De belangrijkste hoeksteen voor de behandeling van colorectaal carcinoom blijft nog altijd chirurgie, welk vaak wordt gecombineerd met (neo)adjuvante chemo(radio)therapie, afhankelijk van de tumor locatie en het stadium waarin de ziekte verkeert. De afgelopen decennia werden er belangrijke verbeteringen doorgevoerd in de perioperatieve zorg van de colorectale patiënt, zoals ook de implementatie van 'snelherstel' protocollen en bijvoorbeeld de introductie van minimaal invasieve chirurgie. Ondanks deze ontwikkelingen zijn complicaties na dit type chirurgie niet ongewoon, en blijft colorectale naadlekkage een erg gevreesde. Colorectale naadlekkage treedt op wanneer de anastomose (naad) niet goed geneest, en leidt tot de lekkage van darminhoud (ontlasting en bacteriën), naar de normaal steriele buikholte. Dit leidt tot de vorming van abscessen, buikvliesontsteking (peritonitis) en in ernstige gevallen, bloedvergiftiging (sepsis).

In ongeveer 7-12% van de operaties treedt er naadlekkage op, welk geassocieerd is met een verlengde opnameduur, een verhoogd risico op re-operatie, opname op de Intensive Care, en op overlijden. Tevens tonen verschillende grote studies aan dat er ook een relatie bestaat tussen het optreden van naadlekkage en een verhoogd risico op het ontwikkelen van een recidief.

Ondanks de grote aantallen studies die er wereldwijd naar deze complicatie zijn verricht door verschillende onderzoeksgroepen wereldwijd, is het nog niet mogelijk gebleken om het risico op naadlekkage te verminderen. We denken dat dit grotendeels verklaard kan worden omdat er nog weinig inzicht bestaat in de processen die betrokken zijn bij de normale darmgenezing en de pathways betrokken bij naadlekkage.

Het formuleren van een definitie van colorectale naadlekkage

Wat precies wordt verstaan onder naadlekkage verschilt sterk van arts tot arts. De bestaande definities zijn erg abstract en worden derhalve weinig toegepast in de dagelijkse praktijk. Dit maakt het vergelijken van uitkomsten van grote gerandomiseerde studies erg moeilijk, en het formuleren van richtlijnen vrijwel onmogelijk. Het eerste deel van dit proefschrift focust daarom op dit probleem. Er werd gebruik gemaakt van een vragenlijst (Hoofdstuk 2) en een uitgebreide literatuurstudie (Hoofdstuk 3) om uit te zoeken wat door artsen precies wordt verstaan onder naadlekkage. The vragenlijst werd zowel in Nederland als in China afgenomen, en toonde grote regionale verschillen tussen de gehanteerde definities van naadlekkage. Dit kan de grote variatie in de gerapporteerde incidentie van naadlekkage verklaren tussen studies die in het Westen en het Oosten werden uitgevoerd.

Met behulp van de literatuurstudie konden we in meer detail kijken naar de definities die gebruikt worden en welke chirurgie-gerelateerde gegevens werden gepubliceerd in de studies. Het bleek dat de meeste auteurs het liefst gebruik maakten van een eigen geformuleerde definitie, en niet van een reeds bestaande definitie. Daarnaast waren er grote verschillen aan te wijzen in de informatie die de auteurs publiceerden over het type chirurgie en het postoperatieve beloop. Samen met de Nederlandse Taskforce Naadlekkage stelden we 11 punten als advies voor toekomstige publicaties.

De resultaten van deze twee studies vormden de basis van een consensus studie die op dit moment wordt uitgevoerd door onze onderzoeksgroep. In deze Delphi studie (die niet in deze thesis werd opgenomen), vroegen we een aantal zeer gespecialiseerde chirurgen wereldwijd om hun mening te geven over deze kwestie. In een aantal rondes waarin de chirurgen hun feedback kunnen geven, zullen we een nieuwe definitie van naadlekkage formuleren. Omdat deze nieuwe definitie wordt goedgekeurd door belangrijke auteurs op het gebied van naadlekkage, is het waarschijnlijk dat deze beter wordt geaccepteerd door anderen die zich bezighouden met colorectale naadlekkage.

Het ontwikkelen van een risicoanalyse voor naadlekkage

In het tweede deel van dit proefschrift wordt het studie protocol van de REVEAL studie (Hoofdstuk 4) beschreven. Deze REVEAL studie is een nog lopende prospectieve observationele studie gericht op het ontwikkelen van een risicoanalyse voor naadlekkage. Voor de start van deze studie was het voor artsen vrijwel onmogelijk om een goede inschatting te maken van dit risico, ondanks onze brede kennis over risicofactoren zoals hierboven beschreven. Op basis van een groot aantal verschillende parameters zoals bijvoorbeeld plasma concentraties van ontstekingsmarkers, preoperatieve CT scans, uitademingslucht en de samenstelling van de darmbacteriën in

ontlastingsamples, richten we ons middels deze studie op het ontwikkelen van een risico-score die het risico op naadlekkage al vóór de operatie kan inschatten. Een adequate inschatting van dit risico zou het voor de behandelend arts makkelijker maken om belangrijke aspecten van de operatie met de patiënt te bespreken, bijvoorbeeld de keuze om wel of geen anastomose aan te leggen in het geval van een zeer hoog risico. In deze gevallen zouden de chirurg en de patiënt samen kunnen besluiten om geen darm anastomose, maar liever een permanent stoma aan te leggen. Gebaseerd op het vooraf bepaalde risico zouden er ook aanbevelingen kunnen worden gedaan over het postoperatieve traject, bijvoorbeeld over het routinematig afnemen van bloedsamples of vervaardigen van CT scans.

Een belangrijk nevendoeel van de REVEAL studie is het verminderen van de tijd tussen het ontwikkelen van de complicatie en de daadwerkelijke diagnose ervan. Studies hebben namelijk aangetoond dat vroege diagnose en behandeling met bijvoorbeeld drainage, antibiotica of een nieuwe operatie, het risico op ernstig nadeel van de complicatie fors verminderen.

In Hoofdstuk 5 presenteerden we de resultaten van een kleinere studie binnen de REVEAL studie, bij wie er gebruik werd gemaakt van een beeldvormende techniek genaamd nabij-infrarood fluorescentie (NIRF) om de doorbloeding van de darm te kunnen visualiseren. Er werd tijdens de operatie bij deze patiënten een stofje via de bloedbaan toegediend die in weefsels oplicht wanneer er met licht van een bepaalde golflengte op wordt geschoten. Een betere bloedvoorziening van de darmen betekent een grotere intensiteit van het fluorescente signaal. In deze zogenaamde pilotstudie, vonden we dat de intensiteit van het geobserveerde signaal lager was bij patiënten die uiteindelijk naadlekkage zouden ontwikkelen. De studie toonde aan dat NIRF een veilige en effectieve methode is om de perfusie van de darm ter plaatse van de toekomstige anastomose in te schatten.

Verschillende beeldvormende technieken om de kwaliteit van de anastomose te testen

Tijdens het laatste decennium zijn er belangrijke verbeteringen doorgevoerd in de zorg die wordt geleverd in de dagen rondom de chirurgie. Zogenaamde versneld-herstel protocollen (Engels: Enhanced recovery protocols) werden opgesteld om het herstel en de opnameduur te verkorten, en om postoperatieve complicaties zoals ileus of longontsteking te verminderen. Bepaalde aspecten van de zorg konden reeds in deze protocollen worden gevangen, terwijl andere belangrijke beslissingen per individuele patiënt moeten worden genomen, zoals het wel of niet aanleggen van een tijdelijk dunne darm of dikke darm stoma. De aanwezigheid van een dergelijk ontlastend stoma

brengt ook weer discussiepunten met zich mee, zoals wat het optimale tijdsinterval is tussen de initiële chirurgie en het opheffen van het tijdelijk stoma. In Hoofdstuk 6 maakten we gebruik van de gegevens die werden verzameld in een groot nationaal cohort van patiënten om te onderzoeken welke van twee diagnostische modaliteiten (colonoscopie of CT scan met contrast) het beste kan worden ingezet om de integriteit van de darmnaad te controleren, voordat het stoma kan worden opgeheven. In deze studie werden geen statistisch significante verschillen gevonden tussen de twee testen, maar er zijn voor beide voor- en nadelen te beschrijven. Bij gebruik van een CT scan met contrast bestaat er het risico dat de test vals-positief is, wat wil zeggen dat het lijkt alsof er een lekkage is, maar dat dit in werkelijkheid niet zo is. Een voordeel van de colonoscopie is dat er tegelijkertijd ook nieuwe poliepen of een stenose van de anastomose kan worden gezien, welk dan direct kan worden behandeld. Echter, op basis van de resultaten van onze studie kunnen hier geen conclusies over worden getrokken, en er zijn grotere gerandomiseerde studies nodig met meer patiënten voordat er aanbevelingen kunnen worden gedaan voor een van de twee modaliteiten.

Meer inzicht in de processen die een rol spelen bij naadlekkage

In het laatste deel van dit proefschrift hebben we ons gericht op het vergroten van het inzicht in de processen die betrokken zijn bij normale darmgenezing en bij lekkage. In het vierde en laatste deel worden drie verschillende studies beschreven. In Hoofdstuk 7 hebben we onderzocht of de suppletie van een specifieke stof genaamd butyraat (of boterzuur) het risico op naadlekkage in ratten vermindert. Butyraat is een zogenaamde korte-keten vetzuur (SCFA), en vormt de belangrijkste bron van energie voor de cellen van de dikke darm. De bacteriën die in huizen in de darm produceren butyraat door middel van de afbraak van voedingsvezels. Studies hebben aangetoond dat butyraat een positief effect heeft op celvernieuwing en dat het de inflammatie in de darm doet verminderen. In Hoofdstuk 7 hebben we gekeken naar drie verschillende toedieningsmanieren om butyraat aan te bieden aan de intestinale cellen: door een eenmalige injectie direct voordat de naad wordt aangelegd, bij continue afgifte door een patch die in het lumen van de darm werd geplaatst, en door intermitterende doses van butyraat door middel van klyσμα's. De eerste twee technieken bleken echter onvoldoende effect te hebben of gevaarlijk (de patches zorgden voor een obstructie van de darm), maar er werden wel positieve resultaten gevonden in de groep die klyσμα's ontvingen. De translatie naar de dagelijkse praktijk is echter niet eenvoudig, omdat artsen vaak terughoudend zijn in het geven van klyσμα's gedurende vroege postoperatieve fase in het geval van lage darmnaden. Tijdens de eerste dagen na

chirurgie is de anastomose nog erg kwetsbaar en het risico op ruptuur van de anastomose door de verhoogde intraluminaire druk is daardoor hoog.

Een andere studie die werd beschreven in het laatste deel van dit proefschrift is het onderzoek naar de mucuslaag van de darm. Deze studie werd uitgevoerd in samenwerking met een onderzoeksgroep uit Gotenburg, Zweden. De gehele darm is van de binnenzijde bekleed door een mucuslaag die de eerste bescherming vormt tegen passerende ontlasting en schadelijke bacteriën. De mucus wordt geproduceerd door een specifiek celtype in de darmwand en vormt een natuurlijke omgeving voor bepaalde typen goede darmbacteriën. In de studie beschreven in Hoofdstuk 8, werd er een bepaald type muis gebruikt waarbij de mucuslaag in zijn geheel ontbreekt, maar ook normale zogenaamde 'wild-type' muizen. De resultaten van deze studie laten zien dat de mucuslaag inderdaad nodig is voor de normale processen van darmgenezing. Nieuwe studies zijn nodig om methoden te onderzoeken die deze normale functie verder kunnen ondersteunen.

In verschillende hoofdstukken van dit proefschrift werd het belang van de samenstelling van het microbioom en de goede darmbacteriën genoemd. In andere studies werd ook getoond dat er bepaalde bacteriesoorten zijn die een groot risico vormen voor de pas aangelegde anastomose. Sommige bacteriën ontwikkelen schadelijke eigenschappen wanneer ze worden blootgesteld aan bepaalde invloeden (zoals opioïden, of zelfs de chirurgie zelf), en produceren dan enzymen die de darmwand afbreken. Een ander veel onderzocht onderwerp is de invloed van bepaalde medicijnen, de zogenaamde NSAIDs (non-steroïdale anti-inflammatoire drugs, bijvoorbeeld diclofenac of ibuprofen). Dit zijn zeer veelgebruikte pijnstillers waarvan wordt gedacht dat ze een negatief effect hebben op de darmgenezing. Het mechanisme hierachter is echter nog niet geheel opgehelderd. Sommige auteurs suggereerden dat er een verband zou bestaan tussen het gebruik van NSAIDs en de samenstelling van het microbioom die zou zorgen voor deze negatieve effecten. In het laatste hoofdstuk van dit proefschrift (Hoofdstuk 9) werd er in detail gekeken naar deze relatie, en werd er gevonden dat niet zozeer deze medicijnen, als wel de chirurgische schade zelf de meest belangrijke factor was voor de verandering in samenstelling van het microbioom na chirurgie.

