

OFFICIAL ORGAN  
OF THE



EUROPEAN GROUP  
OF LYMPHOLOGY

GROUPEMENT EUROPÉEN  
DE LYMPHOLOGIE

LATINO-MEDITERRANEAN  
CHAPTER OF LYMPHOLOGY

# THE EUROPEAN JOURNAL OF lymphology and related problems

VOLUME 3 • NUMBER 9 • 1992

## SUMMARY

### GEL NEWSLINES

#### Editorial

- The World of Lymphology in Latin-Mediterranean Chapter's Activity. (article in english) —  
C. CAMPISI, J. COSSIO

p. 1

### CLINICAL SCIENCES

#### Original articles

- Lymphography in neoplasms - Past, present and future. — La lymphographie radiologique en cancérologie : passé, présent et futur. (article in english and in french). — S. WALLACE, LUCEIL B. NORTH, MARVIN M. LINDELL, BAO-SHAN JING p. 3
- Relationship between inflammatory synovitis and microcirculation in rheumatoid joint inflammation - Preliminary report. — Relation entre synovite inflammatoire et microcirculation dans l'inflammation articulaire rhumatoïde : rapport préliminaire. (article in english, summaries in english and in french). — A. BEHAR, P. WALTZING, F. COHEN-BOULAKIA and S. OTHMANI p. 9
- Malformations lymphatiques associées au syndrome de Klippe et Trénaunay. — Malformation of the lymphatic vessels associated with Klippe and Trénaunay's syndrome. (article in french, summaries in french and in english). — Marceau SERVELLE p. 15

### BASIC SCIENCES

#### Original article

- The innervation of the lymph vascular wall. — L'innervation de la paroi vasculaire lymphatique. (article in english, summaries in english and in french) — ALESSANDRINI C., GUARNA M., PUCCI A.M., FRUSCHELLI M., FRUSCHELLI C. p. 21

CALENDAR : XVIth Congress of the European Group of Lymphology, 18 - 19-9-1992,  
Prague - Tchécoslovaquie.

9 A

XVIIth Meeting of G.E.L., April 23rd / 24th 1993 - Milano.  
Journée internationale de Kinésithérapie respiratoire  
et cardio-vasculaire - 4 - 5 décembre 1992, Paris.

### THEMES FOR FORTHCOMING ISSUES

- Physical treatments of edemas (II - III).  
— Scintigraphic investigations of lymphatic system (I - II).

# The World of Lymphology in Latin-Mediterranean Chapter's Activity

C. CAMPISI

(Genoa, Italy)

*President of the Latin-Mediterranean Chapter  
of ISL*

J. COSSIO

(Madrid, Spain)

*Secretary General of the Latin-Mediterranean Chapter  
of ISL*

The establishment of the Latin-Mediterranean Chapter of the ISL, occurred 2 years ago in Genoa, represented the result of many years of work and devotion to this programme, aiming at creating the necessary relationship among the different Countries and verifying also the real will, apart from the wish, and timeliness to establish this Chapter.

It was not easy, but when, in Genoa, on the occasion of the XIth Meeting of the European Group of Lymphology, on June 24, 1989, there was a plenary session with all Colleagues representing different National and Regional European and Latin-Mediterranean Groups, to verify practically the will of establishing this new service of our International Society, the consent was universal.

Among the founders of the Chapter there were in Genoa, on that occasion, the representatives of all Countries of National and Regional Groups interested in this project (Table I).

The first aim which was proposed was that of widening scientific cooperation among associated Countries.

To point out the fact that the Chapter was not created to replace the various National and Regional Groups already existing, but only to be a service exclusively devoted to improve relationship among these Countries in the ambit of the ISL, Colleagues and Friends from the different Groups included in the Chapter were unanimously elected in the Executive Committee (Table II).

In order to create a highly representative group in the Chapter, it was also decided to include till 7 delegates for each Country in the Executive Committee, so having the most important scientists' contributions at one's disposal.

Starting from two years ago, the chapter has been following firstly the scientific aim of better coordinating lymphologic researches in progress among the various Groups, in order, above all, to define common protocols in the basic research, diagnostic methods, different kinds of treatment and perform the epidemiologic study of the various forms of lymphatic diseases in our Countries.

From the organizing point of view, we have tried to establish more frequent relations, above all seizing the opportunity of the meetings of the Groups and favour the organization of stages for Young Lymphologists, helping particularly those who come from poor Countries. This has been our main goal.

This programme could, of course, be considered very ambitious, but considering the so far reached results, we can also say that it is not an utopia.

Besides, there are over 200 subscriptions up to today.

After the first meeting in Genoa, the second one was organized in Spain by the President Prof. J. COSSIO.

As regards the official language of the Chapter, it can not be only English, but French and Spanish, widely known in the Latin-Mediterranean Area.

As far as the review is concerned, there is to consider the fundamental importance of the review "Lymphology", official organ of the ISL, which represents the best and most desired landing-place, with the dutiful and rigorous selection of scientific works.

The members of the Executive Committee of the Latin-Mediterranean Chapter, thus, thought it was proper to entrust the new review of the European Group of Lymphology, that is "European Journal of Lymphology and Related Problems", directed by P. BOURGEOIS, to filter the scientific works by Lymphologists of the Countries associated to the LMC, in order to carry out an efficient qualitative selection.

The purpose of this choice is that of better coordinating lymphologic works of the European and Latin-Mediterranean Countries, considering the possibility to publish in French, Spanish, Italian, besides English, but recognizing the absolute primacy of the review "Lymphology", which, like official organ of the ISL, requires original scientific works, with undisputed scientific quality and perfect English, in order to keep the wide and necessary international breath.

— TABLE I —

LMC of the ISL

FOUNDERS :

- A. ANDERCON (Rumania), M. BARTOLO (Italy),  
J. BRUNA (Czechoslovakia), C. CAMPISI (Italy),  
C. CINCE (Rumania), R. CLUZAN (France), S. CORDARO (Italy),  
J.A.J. COSSIO (Spain), J.P. DESPREZ-CURELY (France),  
M.A. DESOUZA PEREIRA (Portugal), A. FARRAJOTA (Portugal),  
R.B. GUEDJ (France), V. IERACITANO (Italy),  
A. KAUFMANN (Rumania), A. LEDUC (Belgium), P. PADULA (Italy),  
A. PISSAS (France), E.A. SAMANIEGO (Spain),  
M. SERVELLE (France), J. TISSOT (France), A.M. VAILLARD (France).

— TABLE II —

Honorary Presidents :

M. SERVELLE (France) - E. TOSATTI (Italy)

Executive Committee

President :

J.A. COSSIO (Spain)

V. Presidents :

R. CLUZAN (France) - M. DEGNI (Brazil)

Secretary General :

C. CAMPISI (Italy)

Coordinators :

I. CAPLAN (Argentina), A. FARRAJOTA (Portugal), U. FOX (Italy),  
A.J. KAUFMANN (Rumania), A. PISSAS (France), E. SAMANIEGO (Spain)

National Delegates :

(till 7 each Country, appointed by National Groups)

REFERENCES

"Lymphology : Advances in Europe" -

Proceedings of the XIth Meeting of g.e.l., M. CASACCIA - C. CAMPISI Eds., ecig, Genova, 1989.

## Lymphography in neoplasms - Past, present and future.

## La lymphographie radiologique en cancérologie : passé, présent et futur.

SIDNEY WALLACE, LUCEIL B. NORTH, MARVIN M. LINDELL, BAO-SHAN JING

*From the Department of Diagnostic Radiology,  
The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center,  
1515 Holcombe Blvd., Houston, TX 77030.*

Lymphography, the only direct radiologic approach to the visualization of the lymphatic vessels and lymph nodes has had its birth, its acceptance, its decline and almost its demise over the past 60 years. HUDACK and McMMASTER (1933)<sup>(1)</sup> visualized the superficial lymphatics by the intradermal injection of vital dye ; an intradermal injection is, in effect, an intralymphatic injection - the dermal lymphatics lack valves while the valves in the subcutaneous lymphatics direct flow towards the heart.

SERVELLE (1944)<sup>(2)</sup>, by direct intralymphatic injection of contrast material, demonstrated, radiologically, the lymphatics and first echelon lymph nodes of the lower extremity for the evaluation of edema due to lymphatic abnormalities, both congenital and acquired. KINMONTH (1952)<sup>(3)</sup> combined these two approaches, the intradermal injection of vital dye and the direct delivery of water-based iodine containing contrast material into a surgically exposed and isolated subcutaneous lymphatic. BRUUN and ENGESET (1956)<sup>(4)</sup>, MALEK (1959)<sup>(5)</sup>, HRESCHYSHYN, SHEEHAN and HOLLAND (1961)<sup>(6)</sup>, and WALLACE, JACKSON et al. (1961)<sup>(7)</sup> utilizing oil-based iodine containing contrast material (Lipiodol ultrafluid / Ethiodol) prolonged and extended the opacification of lymphatics and lymph nodes which created the circumstances for expanded clinical application. With the advent of percutaneous lymph node biopsy more specific diagnoses could be confirmed realizing that only a positive biopsy was significant.

Our experience at the University of Texas M.D. Anderson Cancer Center (MDACC) with lymphography in patients with malignant neoplasms reached a peak of 1162 lymphograms during 1977 and gradually declined with the advent and sophistication of scintigraphy (NM), ultrasonography (US), computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) until 1991 when 626 were performed. In addition, tumor markers and more effective chemo- and immunotherapy have influenced the diminishing pursuit and decreasing use of lymphography. The increasing employment of the combination of radiation and chemotherapy has curtailed, in the practice of some oncologists, the necessity to more accurately define the extent of the neoplastic disease. The limited use of lymphography in most institutions has fostered a lack of expertise in performance and interpretation.

La lymphographie, seule approche radiologique directe permettant la visualisation des vaisseaux et ganglions lymphatiques, a connu sa naissance, son développement, son déclin, et pratiquement sa fin durant ces 60 dernières années. HUDACK & McMMASTER (1933)<sup>(1)</sup> visualisèrent les lymphatiques superficiels grâce à l'injection intradermique d'encre vitale. Une injection intradermique est, en effet, une injection intralymphatique, les lymphatiques dermiques ne présentant pas de valves tandis que celles-ci sont présentes dans les lymphatiques sous-cutanés et dirigent le flux vers le cœur.

SERVELLE (1944)<sup>(2)</sup>, par injection intralymphatique directe de produit de contraste, démontre radiologiquement les vaisseaux lymphatiques mêmes et les premiers relais ganglionnaires dans le cadre d'évaluation d'œdèmes du membre inférieur dûs à des anomalies lymphatiques soit congénitales, soit acquises. KINMONTH (1952)<sup>(3)</sup> combina ces deux approches : l'injection intradermique de bleu vital et l'administration directe de produit de contraste soluble iodé dans un vaisseau sous-cutané lymphatique isolé et découvert chirurgicalement. BRUUN et ENGESET (1956)<sup>(4)</sup>, MALEK (1959)<sup>(5)</sup>, HRESCHYSHYN, SHEEHAN et HOLLAND (1961)<sup>(6)</sup>, WALLACE, JACKSON et al. (1961)<sup>(7)</sup>, utilisant des produits de contraste iodés et huileux (Lipiodol ultrafluide / Ethiodol) prolongèrent et étendirent l'opacification des lymphatiques et des ganglions lymphatiques, créant la base d'une application clinique étendue.

Avec l'arrivée des biopsies ganglionnaires percutanées, des diagnostics plus spécifiques purent être réalisés, confirmant ainsi que seule une biopsie positive était significative.

L'expérience des auteurs du MDACC avec la lymphographie sur des patients présentant des néoplasies malignes atteignit son maximum avec 1.161 lymphographies en 1977. Avec l'introduction et la sophistication des techniques scintigraphiques, ultrasonographiques, de tomographies computées et de résonance magnétique nucléaire, celle-ci déclina graduellement jusqu'en 1991 où seulement 626 lymphographies furent réalisées. De plus, l'apparition de marqueurs tumoraux et de chimiothérapie et immunothérapie plus efficaces fut à l'origine de l'utilisation de moins en moins importante de la lymphographie radiologique.

## MODES OF METASTASES

Lymphography, although only quasi physiologic because of the pressure of injection, allowed the demonstration of the *in vivo* human anatomy of this third component of the blood-lymph vascular system. Variations in the normal distribution of the lymphatic channels and lymph nodes were better and more frequently defined. This was illustrated by the opacification of the thoracic duct where the predominant configuration was that described by BARTELS (1909)<sup>(8)</sup> in which the thoracic duct formed by the junction of the ascending lumbar lymphatic trunks with the gastrointestinal trunk as the cisterna chyli at T<sub>10</sub> to L<sub>2</sub>, continuing up the posterior mediastinum, crossing over to the left at T<sub>5</sub>, emptied into the left venous angle at the junction of the left internal jugular and subclavian veins. This occurs in approximately 50 % of the patients.

Variations include a predominant right sided thoracic duct joining the right venous angle; the rare double thoracic duct emptying individually into each venous angle; and a myriad of other communications at times opacifying the mediastinal, bilateral supraclavicular, lower cervical and even axillary lymph nodes (usually on the left) in continuity. These variations explain, in part, the presence of mediastinal and bilateral supraclavicular metastases from an intra-abdominal neoplasm.

The distribution of lymph node metastases is usually orderly and depends upon the normal distribution of lymphatic channels and the variations of normal as long as they are present and patent. In the presence of obstruction from any etiology, be it from the neoplasm or its therapy, collateral circulation - lymphatic to lymphatic, lymphatic to prelymphatic and lymphatic to venous - will determine the modes of metastases.

Seemingly bizarre sites of metastases are probably the result of these described dynamics. For example, left axillary metastases from a carcinoma of the cervix can be explained by (1) normal variations usually in the continuity of left upper axillary lymphatics and nodes from the thoracic duct, a posterior retroperitoneal chain from the iliac or lower ascending lumbar trunks eventually emptying into the lower axillary lymph nodes, as well as (2) obstructed iliac lymphatics by metastases with collateral flow to the posterior retroperitoneal lymphatics, the lateral chest wall lymphatics to the lower axillary lymphatics and lymph nodes.

## LYMPH NODE INVOLVEMENT BY NEOPLASM

Throughout the years since 1960, lymphography was primarily employed with varying degrees of success, in the staging of almost all malignancies by defining (1) the extent of disease in preparation for local or systemic therapy, (2) monitoring the effects of treatment, and (3) detecting subsequent recurrent disease. With the advent of the newer imaging modalities, especially CT, lymphography has lost favor at many centers because of its difficulty for both the patient and the physician. The place of MRI in this armamentarium is yet to be established. The most recent literature on the diagnostic efficacy of lymphography and the current experience at MDACC are reviewed to determine the present role of this procedure (NORTH et al., 1992)<sup>(9)</sup>. Lymphography is now performed for the staging and surveillance of abdominal and pelvic lymphomas and genital tumors, especially carcinoma of the cervix.

### Lymphoma.

Lymphography has proved to be particularly useful in staging HODGKIN's disease because nodal involvement occurs most frequently in the distribution of those lymph nodes visualized. CASTELLINO et al.<sup>(10)</sup> demonstrated, by histologic correlation, in conjunction with staging laparotomy that the accuracy of lymphography was greater than 90 %. In patients with clinical Stage I and II and a negative lymphogram, approximately 1/3 had

L'utilisation croissante de combinaisons radio-chimiothérapeutiques a réduit, dans la pratique de certains oncologues, la nécessité de définir de manière précise l'extension de la maladie néoplasique. Enfin, l'utilisation limitée de la lymphographie a entraîné, dans la plupart des institutions, un manque d'expertise dans la réalisation et l'interprétation de cet examen.

## MODES DE METASTASISATION

La lymphographie permet la démonstration *in vivo* de l'anatomie humaine de ce 3<sup>e</sup> compartiment du système vasculaire que représentent les vaisseaux lymphatiques. La distribution normale des vaisseaux lymphatiques et des ganglions lymphatiques et leurs variations furent mieux et plus fréquemment observées.

Ceci fut illustré par l'opacification du canal thoracique. La configuration principale était celle décrite par BARTELS (1909)<sup>(8)</sup> où le canal thoracique forme par la jonction des troncs lymphatiques lombaires ascendants avec les troncs gastro-intestinaux, la citerne chilifère à hauteur de T<sub>10</sub> à L<sub>2</sub>, se continue dans le médiastin postérieur, croise à G à hauteur de T<sub>5</sub> et finit dans l'angle veineux G à la jonction des veines sous-clavières et jugulaires internes G. Cette présentation s'observe chez approximativement 50 % des patients. Les variations incluent : un canal thoracique situé à D et rejoignant l'angle veineux D ; un canal thoracique double, situation rare, se jetant individuellement dans chaque angle veineux et une myriade d'autres communications, opacifiant parfois les ganglions médiastinaux, supraclaviculaires bilatéraux, cervicaux inférieurs et même (habituellement à G) les ganglions axillaires. Ces variations expliquent en partie la présence de ganglions médiastinaux et supraclaviculaires bilatéraux à partir de néoplasies intra-abdominales.

L'invasion métastatique ganglionnaire s'effectue d'ordinaire de proche en proche. Elle dépend de la distribution normale des vaisseaux lymphatiques et de leurs variations.

En présence d'une obstruction de quelque cause qu'elle soit (consécutive à la néoplasie ou à sa thérapie), la circulation collatérale lympho-lymphatique, lymphoprélymphatique et lympho-veineuse, déterminera le mode de métastasisation.

Des sites métastatiques apparemment bizarres sont probablement le résultat de ces dynamiques ainsi décrites. Par exemple, des métastases axillaires G d'un carcinome du col de l'utérus peuvent être expliquées : 1) par des variations normales (continuité entre ces vaisseaux et ganglions supérieurs G et le canal thoracique, une chaîne rétropéritonéale postérieure à partir desiliaques ou bien des troncs lombaires ascendants inférieurs se drainant éventuellement dans les ganglions axillaires inférieurs), aussi bien que 2) par des lymphatiques iliaques obstrués par des métastases avec flux collatéral vers les lymphatiques rétropéritonéaux postérieurs, les lymphatiques de la paroi latérale, et finalement vers les lymphatiques axillaires inférieurs et les ganglions axillaires inférieurs.

## ENVAHISSEMENT GANGLIONNAIRE PAR LE CANCER

De 1960 à nos jours, la lymphographie a été principalement employée avec des succès variables dans le staging de la quasi totalité des cancers pour définir l'extension de la maladie en vue d'une thérapie systémique ou locale, pour monitorer les effets du traitement et pour détecter les récidives subséquentes de la maladie. Avec la montée de nouvelles modalités d'imagerie et spécialement de la tomographie computée, la lymphographie a perdu la faveur de beaucoup de centres, eu égard à sa difficulté tant pour le patient que pour le médecin. La place de la résonance magnétique nucléaire dans cet arsenal diagnostique reste à établir.

La littérature la plus récente concernant l'efficacité diagnostique de la lymphographie et l'expérience courante de notre institution furent revus afin de déterminer le rôle présent de cette

abdominal disease, usually in the upper retroperitoneal nodes and in the spleen which were not detectable by currently available imaging techniques.

In non-HODGKIN's lymphoma, the frequency of abnormal nodes outside of those opacified by lymphography and the presence of extra-nodal disease are considerably higher than with HODGKIN's. HEIFETZ et al. (11) found approximately 2/3 of patients with nodular (follicular) disease and normal lymphographic findings had other involvement, frequently in mesenteric nodes. In patients with diffuse lymphoma and a normal lymphogram, only about 1/4 had other abdominal disease.

In patients with lymphoma, evaluation of the lymph nodes by lymphography has several advantages over CT. Small nodes, less than 1 cm in diameter may harbor disease while enlarged nodes, greater than 1.5 cm in diameter, may prove to be hyperplastic or conglomerates of small nodes that are normal by lymphography. Because the contrast material usually remains in the nodes for at least one year (70 %) and at times two years (30 %) and the loss of the iodine containing oil-based contrast material is gradual and throughout the entire node, surveillance is readily accomplished by conventional radiographs of the abdomen. Subtle changes in the disease is earlier and more readily detected in the opacified lymph nodes. The financial burden of follow-up is markedly decreased by interspersing radiographs of the abdomen with CT. In addition, lymphography opacifies the lymph nodes which allows biopsy under fluoroscopic guidance rather than by CT. Fine needle aspiration is performed for diagnostic purposes including obtaining tissue for tumor markers. Radiographic opacification by lymphography also is used by the radiotherapist to more easily tailor the treatment portals to the patient's disease. It is not only essential to outline the nodes but also to define the relationship with other viscera, especially the kidneys, which are to be shielded.

At MDACC, 222 previously untreated patients with lymphoma underwent abdominal and pelvic staging by lymphography and computed tomography from September 1989 through August 1990. Sixty-one patients had HODGKIN's disease and 161 non HODGKIN's lymphoma. The purpose of this study was to determine the current usefulness of lymphography for staging. Two patients with HODGKIN's disease and two with non-HODGKIN's lymphoma had positive lymphograms and negative CT's. None of these had biopsy proof of nodal disease and the nodes did not change following therapy in these three patients. The other patient was also HIV positive which in itself may produce nodal abnormalities. One patient with HODGKIN's disease and 13 with non-HODGKIN's lymphoma had negative lymphograms and positive CT's. Nodal and extra-nodal masses regressed following therapy (12).

CASTELLINO et al. (10) have discussed that the theoretical advantage of CT in detecting disease in upper abdominal nodes, liver and spleen, was not supported because these lesions, usually small, escape detection. STRIJK et al. (13) considered lymphography more reliable than CT of the abdomen. CT performed following lymphography merely demonstrates engorgement of the opacified nodes and offers little additional information. BENSON et al. (14) in studying patients with non-HODGKIN's lymphoma by both techniques stated that CT could not replace lymphography even though there was a 10 % discrepancy. CLOUSE et al. (15) concluded that all patients with HODGKIN's disease and those with Stage I and II non-HODGKIN's disease should be studied by lymphography because of its higher sensitivity when compared to CT.

POND et al. (16) reported that CT and lymphography were complementary in patient management and lymphography should be done on newly diagnosed non-HODGKIN's lymphoma especially when the CT is negative. MANSFIELD et al. (17) and the Southwest Oncology Group considered lymphography more sensitive than CT in detecting HODGKIN's disease in lower abdominal and pelvic lymph nodes and that CT was not reliable

technique (NORTH et al. (1992) (9)). La lymphographie est actuellement réalisée dans le staging et la surveillance des lymphomes (abdominaux et pelviens) et des tumeurs génitales ( principalement le cancer du col de l'utérus).

### Lymphome.

La lymphographie a prouvé être particulièrement utile dans les stagings de la maladie de HODGKIN car l'atteinte ganglionnaire est plus fréquente au niveau des ganglions qu'elle permet de visualiser. CASTELLINO et al. (10) démontrent que l'exactitude de la lymphographie, comparée aux données histologiques obtenues par laparotomie, était supérieure à 90 %. Pour des patients de stade clinique I et II et avec une lymphographie négative, à peu près un tiers présentait une localisation abdominale, soit dans des ganglions rétropéritonéaux supérieurs soit dans la rate, sites non détectables par les techniques d'imagerie couramment disponibles. Dans les lymphomes non hodgkinien, les localisations extraganglionnaires ou ganglionnaires (autres que celles démontrées par la lymphographie) sont considérablement plus fréquentes que dans la maladie de Hodgkin. HEIFETZ et al. (11) trouvèrent qu'approximativement 2/3 des patients avec maladie nodulaire et lymphographie radiologique normale avaient d'autres sites envahis, fréquemment, par les ganglions mésentériques. Les patients avec lymphome diffus et lymphographie normale avaient pour 1/4 d'entre eux une autre localisation abdominale.

Chez les patients avec lymphome, l'évaluation des ganglions par lymphographie a certains avantages comparativement à la tomographie computée. De petits ganglions de diamètre inférieur à 1 cm peuvent être le siège de la maladie alors que des ganglions d'un diamètre supérieur à 1.5 cm peuvent être démontrés simplement hyperplasiques ou représenter des congénérations de petits ganglions normaux à la lymphographie radiologique. Etant donné que le matériel de contraste réside dans les ganglions pendant plus d'une année (dans 70 % des cas) et chez certains pendant deux années (30 % des patients) et que la perte du contraste ganglionnaire est graduelle et continue, une surveillance peut être accomplie simplement par des radiographies conventionnelles de l'abdomen. Des modifications subtiles de la maladie sont ainsi détectées de manière plus claire et plus précoce dans ces ganglions opacifiés. Le coût financier du follow-up est ainsi diminué de manière marquée en alternant ces radiographies de l'abdomen avec des tomographies computées. De plus, la lymphographie opacifie les ganglions, ce qui permet leur biopsie sous contrôle fluoroscopique plutôt que sous tomographie computée. L'aspiration à l'aiguille fine est réalisée dans des projets diagnostiques incluant l'obtention de tissus pour recherche de marqueurs tumoraux.

L'opacification radiologique par lymphographie est également utilisée par le radiothérapeute dans le but d'adapter les limites de champs de radiation à la maladie du patient. Il n'est pas seulement essentiel de délimiter ces ganglions mais également de définir leur relation avec les autres viscères et spécialement les reins qui doivent être protégés.

Au MDACC, 222 patients avec lymphome et non antérieurement traités subirent de septembre '89 à août '90 un staging abdominal et pelvien comprenant lymphographie radiologique et tomographie axiale computarisée. 61 patients avaient une maladie de Hodgkin et 161 un lymphome non hodgkinien. Le but de cette étude était de déterminer l'utilité actuelle de la lymphographie dans ce staging. Deux patients avec maladie de Hodgkin et 2 avec lymphome non hodgkinien avaient des lymphographies positives et des CT négatifs. Aucun de ceux-ci n'eut de preuve biopsique de la maladie ganglionnaire et dans trois cas, les ganglions ne montrèrent pas de modification ultérieure sous traitement. Le dernier patient était également HIV positif, ce qui, en soi, peut être cause d'anomalies ganglionnaires. Un patient avec maladie de Hodgkin et 13 avec lymphome non hodgkinien avaient des lymphographies négatives et des CT positifs. Les masses ganglionnaires et extraganglionnaires régressèrent sous thérapie (12).

in defining disease in the liver or spleen ; therefore, lymphography should not be abandoned. At MDACC, it was concluded that lymphography did not add significantly to staging of these patients. This departure from prior experience may be due to the improved state of the art of computed tomography. Despite this and because of the previously described advantages, lymphography continues to be employed on all patients with lymphomas - for HODGKIN's disease as the primary procedure for abdominal and pelvic disease. In non-HODGKIN's lymphoma, CT is the initial staging procedure and lymphography is the complementary examination especially in those patients with a normal CT. Follow-up examination continues to be done every three months by a conventional radiograph of the abdomen and pelvis with a CT every six months. In children who have little retroperitoneal fat to optimally visualize lymph nodes by CT, lymphography is even more helpful especially in HODGKIN's disease.

### Carcinoma.

Metastatic carcinoma initially obstructs the marginal sinus resulting in a defect in a lymph node which is not traversed by lymphatics. At times, abscess or fibrosis in a node will be responsible for similar findings. A diffusely infiltrating carcinoma, e.g. seminoma or anaplastic carcinoma, may mimic lymphoma, while a lymphoma may occasionally be difficult to differentiate from a carcinoma. The primary diagnosis is usually established when the extent of disease is defined by lymphography.

### Tumors of Genitalia.

Carcinoma of the cervix is the most common female genital neoplasm staged by lymphography at MDACC. Lymphography has also been used to select those women with cervical carcinoma who should receive extended para-aortic field irradiation.

Carcinoma of the cervix, Stage I and IIA, has a very limited yield (29 %) by lymphography as reported by SWART et al.<sup>(18)</sup>. BOIE et al.<sup>(19)</sup> felt that lymphography was not reliable for diagnosing lymph node metastases in patients with Stage IB cervical carcinoma. However, HELLER et al.<sup>(20)</sup> examined, by CT, US and lymphography, patients with Stage IIB carcinoma of the cervix and above. Those with positive nodes were confirmed by fine needle aspiration biopsy while those with negative findings on all studies had para-aortic lymph node dissection. Lymphography was considered to be more reliable with a sensitivity of 79 %, specificity of 73 % as compared to 34 % sensitivity and 96 % specificity of CT. SMALES et al.<sup>(21)</sup> found that lymphography was valuable for determining the status of the lymph nodes and identifying the high risk patient. The authors concluded that the prognosis of patients with a positive lymphogram was poorer in each stage. ASHRAF et al.<sup>(22)</sup> after biopsy of lymph nodes suggested that lymphography was highly predictive of the absence of metastases when negative (93 %), but was of low predictive value (33 %) when positive. In patients with adenocarcinoma of the endocervix, EIFEL et al.<sup>(23)</sup> found a decreased rate of relapse-free survival strongly correlated with positive lymphography and poorly differentiated tumor.

At MDACC, lymphography continues to be used in staging of carcinoma of the cervix, the bulky Stage I and above. This is followed by fine needle aspiration biopsy of positive or suspicious nodes. Lymphography is occasionally used for carcinomas of the endometrium, ovary (especially germ cell tumors), vagina and vulva. In addition, CT and tumor marker studies have now replaced lymphography for staging and surveillance of patients with testicular tumors. The current literature supports this approach.

Despite the obvious shortcomings, lymphography still remains the only modality available to characterize lymph nodes. There is a continuing necessity to define the extent of neoplastic

CASTELLINO et al.<sup>(10)</sup> ont discuté que les avantages théoriques du CT dans la détection de la maladie dans les ganglions abdominaux supérieurs de même qu'au niveau du foie et de la rate n'étaient pas suffisants parce que ces lésions, habituellement de petite taille, échappent à leur détection. STRIJK et al.<sup>(13)</sup> considèrent quant à eux la lymphographie plus fiable que le CT d'abdomen. La tomographie axiale computarisée réalisée après la lymphographie démontre principalement l'engorgement des ganglions opacifiés et offre peu d'information additionnelle. BENSON et al.<sup>(14)</sup>, étudiant des patients avec lymphome non hodgkinien grâce à ces deux techniques, affirment que la tomographie computarisée ne peut remplacer la lymphographie quand bien même il y aurait 10 % de discordances entre les deux. CLOUSE et al.<sup>(15)</sup> concluent que, quant à eux, tous les patients avec maladie de Hodgkin et ceux avec des lymphomes non hodgkiniens stade I et II devraient être étudiés par lymphographie eu égard à sa plus grande sensibilité comparée au CT. POND et al.<sup>(16)</sup> rapportent que CT et lymphographie étaient complémentaires dans le management des patients et que la lymphographie devait être réalisée dans les lymphomes non hodgkiniens nouvellement diagnostiqués et spécialement quand le CT était négatif. MANSFIELD et al.<sup>(17)</sup> et le Southwest Oncology Group considèrent la lymphographie plus sensible que le CT dans la détection de la maladie de Hodgkin dans les ganglions abdominaux inférieurs et pelviens et que le CT n'était pas fiable dans sa définition de la maladie au niveau du foie et de la rate : la lymphographie, conséquemment, ne devrait pas être abandonnée.

Au MDACC, il fut conclu que la lymphographie n'ajoutait pas significativement au bilan de ces patients. Cette déviation à partir de notre expérience préalable peut être due à une amélioration de l'état de l'art de la tomographie computée. Malgré cela et en raison des avantages préalablement décrits, la lymphographie continue à être utilisée dans les cas de patients avec maladies de Hodgkin comme première procédure pour les localisations pelviennes et abdominales. Dans les lymphomes non hodgkiniens, le CT est la procédure de staging initiale et la lymphographie est utilisée comme investigation complémentaire, spécialement pour les patients avec CT normal. Les investigations de follow-up continuent à être réalisées tous les 3 mois à travers une RX conventionnelle de l'abdomen et du pelvis et avec le CT tous les 6 mois. Chez les enfants qui ont peu de graisse rétropéritonéale permettant de visualiser de manière optimale les ganglions par CT, la lymphographie est particulièrement utile et avantageuse, spécialement en cas de maladie de Hodgkin.

### Cancers divers.

Les autres types de cancer métastasent initialement au niveau du sinus marginal des ganglions résultant en un défaut ganglionnaire. Dans certains cas, de tels défauts peuvent être dus à un abcès ou une fibrose ganglionnaire. Un carcinome diffusément infiltrant, par exemple un séminome ou un carcinome anaplastique, peut mimer un lymphome alors qu'un lymphome peut occasionnellement être difficile à différencier d'un carcinome. Le diagnostic primitif est habituellement établi quand la lymphographie est utilisée pour définir l'étendue de la maladie.

### Tumeurs génitales.

Le cancer du col de l'utérus est la néoplasie génitale féminine la plus commune mise au point par lymphographie au MDACC. La lymphographie est également utilisée pour déterminer les patients avec carcinome du col de l'utérus qui recevront une irradiation lomboaortique étendue.

Dans le carcinome du col de l'utérus, stade I et IIA, la lymphographie a un rendement limité (29 %), selon ce que rapportent SWART et al.<sup>(18)</sup>. BOIE et al.<sup>(19)</sup> trouvent que la lymphographie n'est pas fiable dans le diagnostic des métastases ganglionnaires des patients avec cancer du col de l'utérus cliniquement stade IB. Toutefois, HELLER et al.<sup>(20)</sup> étudient par CT, US et lymphographie les patients avec des cancers du col stade IIB

disease which includes the determination of lymph node involvement. CT and US as well as MRI demonstrate the size of the nodes which, in itself, is a poor criterion. The potential of MRI to define abnormalities in lymph nodes has not been realized as yet. The search continues for an oral or intravenous contrast material which would localize in neoplastic nodes. Perhaps targeting to these nodes could be accomplished by monoclonal antibodies, tumor markers, receptor site specific agent, etc., alone or in combination.

et plus. Ceux avec ganglions positifs furent confirmés par biopsie aspiration à l'aiguille fine tandis que ceux avec résultats négatifs par toutes les études avaient une dissection ganglionnaire lombo-aortique. La lymphographie fut considérée la plus fiable avec une sensibilité de 79 % et une spécificité de 73 % par opposition aux 34 % et 96 % de sensibilité et spécificité du CT. SMALES et al. (21) trouvèrent que la lymphographie était valable pour déterminer le status des ganglions et identifier les patients à haut risque. Les auteurs concluaient que le pronostic des patients avec une lymphographie positive était moins bon pour chaque stade. ASHRAF et al. (22), après biopsie ganglionnaire, suggéraient que la lymphographie était hautement prédictive de l'absence de métastase quand négative (93 %) mais avait une valeur prédictive basse quand positive (33 %). Chez les patients avec adénocarcinome de l'utérus, EIFEL et al. (23) trouvèrent une corrélation étroite entre la diminution du taux de survie sans récidive et la positivité de la lymphographie dans les tumeurs peu différencierées.

Au MDACC, la lymphographie continue à être utilisée dans le staging des carcinomes du col de l'utérus, les gros stades I et plus. Elle est suivie d'une biopsie à l'aiguille fine des ganglions suspects ou positifs. La lymphographie est occasionnellement utilisée pour les carcinomes de l'endomètre, de l'ovaire (spécialement les tumeurs à cellules germinales), du vagin et de la vulve. CT et études des marqueurs tumoraux ont actuellement remplacé la lymphographie pour le staging et la surveillance des patients avec tumeurs testiculaires. La littérature actuelle supporte cette approche et cette attitude.

Malgré ces limitations évidentes, la lymphographie reste toujours la seule modalité capable de caractériser les ganglions lymphatiques. La nécessité persiste de définir l'étendue de la maladie cancéreuse y inclus donc l'invasion ganglionnaire. Le CT et l'ultrasonographie de même que la résonance magnétique nucléaire démontrent la taille des ganglions, ce qui, en soi, présente un critère diagnostique de valeur minimale. La capacité de la résonance magnétique nucléaire de définir des anomalies dans les ganglions n'a pas encore été validée actuellement. La recherche continue pour un produit de contraste d'administration intraveineuse ou orale qui se localiserait dans les ganglions cancéreux. Le ciblage de ces ganglions sera peut-être obtenu par des anticorps monoclonaux, des marqueurs tumoraux, des agents spécifiques de site récepteur, etc..., seuls ou en combinaison.

## REFERENCES

- HUACK S., McMMASTER P.D. — The lymphatic participation in human cutaneous phenomenon. A study of the minute lymphatics of the living skin. *J. Exp. Med.*, 57, 751, 1933.
- SERVELLE M. — A propos de la lymphographie expérimentale et clinique. *J. Radiol. Electro. Méd. Nucl.*, 26, 165, 1944-46.
- KINMONTH J.B. — Lymphangiography in man. *Clin. Sci.*, 11, 13, 1952.
- BRUUN S., ENGESET A. — Lymphadenography. *Acta Radiol.*, 45, 389, 1956.
- MALEK P. — Physiologische, pathologische und anatomische Grundlagen der Lymphographie. IX. International Congress of Radiology, München, 1959.
- HRESCHYSHYN M.M., SHEEHAN F., HOLLAND J.F. — Visualization of retroperitoneal lymph nodes. Lymphangiography as an aid in the measurement of tumor growth. *Cancer*, 14, 205, 1961.
- WALLACE S., JACKSON L., SCHAFER B. — Lymphangiograms : their diagnostic and therapeutic potential. *Radiology*, 76, 179, 1961.
- BARTELS P. — Das Lymphgefäßsystem. In : *Handbuch d. Anatomie d. Menschen*. Jena G. Fischer, 1909.
- NORTH L.B., LINDELL M.M., JING B.S., WALLACE S. — Current use of lymphography for staging lymphomas and genital tumors. *AJR*, 158, 725-728, 1992.
- CASTELLINO R.A., HOPPE R.T., BLANK N. et al. — Computed tomography, lymphography and staging laparotomy ; correlations in initial staging of Hodgkin's disease. *AJR*, 143, 37-41, 1984.
- HEIFETZ L.J., FULLER L.M., VELASQUEZ W.S. et al. — Laparotomy findings in lymphangiogram-staged I and II non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer*, 45, 2778-2786, 1980.
- NORTH L.B., WALLACE S., LINDELL M.M., JING B.S., FULLER L.M., ALLEN P.K. — Lymphography for staging lymphomas : is it still a useful procedure ? - (*Submitted for publication*).
- STRIJK S.P., BOETES C., ROSENBUSCH G., RUJIS J.H.J. — Lymphography and abdominal computed tomography in staging Hodgkin's disease. *ROFO*, 146, 312-318, 1987.
- BENSON W.J., DING J.C., COOPER I.A. — Abdominal CT and lymphography in the initial staging of non-Hodgkin's lymphoma. *Austr. N.Z. J. Med.*, 17, 253-254, 1987.
- CLOUSE M.E., HARRISON D.A., GRASSI C.J., COSTELLO P., EDWARDS S.A., WHEELER H.G. — Lymphangiography, ultrasonography and computed tomography in Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. *J. Comput. Tomogr.*, 9, 1-8, 1985.
- POND G.D., CATELLINO R.A., HORNING S., HOPPE R.T. — Non-Hodgkin's lymphoma : influence of lymphography, CT, and bone marrow biopsy on staging and management. *Radiology*, 170, 159-164, 1989.

17. MANSFIELD C.M., FABIAN C., JONES S. et al. — Comparison of lymphangiography and computed tomography scanning in evaluating abdominal disease in stages III and IV Hodgkin's disease. *Cancer*, 66, 2295-2299, 1990.
18. SWART E., BOUMA J., SCHUUR K. — The clinical value of lymphography in cervical cancer, FIGO-stage Ib. IIa. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 10, 85-90, 1989.
19. BOIE H., JAKOBSEN A., PETERSEN J., SELL A. — Diagnostic value of lymphography in cervical cancer stage Ib. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, 10, 393-395, 1989.
20. HELLER P.B., MALFETANO J.H., BUNDY B.N., BARNHILL D.R., OKAGAKI T. — Clinical-pathologic study of stage IB, III and IVA carcinoma of the cervix : extended diagnostic evaluation for paraaortic node metastasis — A gynecologic oncology group study. *Gynecol. Oncol.*, 38, 425-430, 1990.
21. SMALES E., PERRY M., MACDONALD J.S., BAKER J.W. — The value of lymphography in the management of carcinoma of the cervix. *Clin. Radiol.*, 37, 19-22, 1986.
22. ASHRAF M., ELYADERANI M.K., GABRIELE O.F., KRALL J.M. — Value of lymphangiography in the management of carcinoma of the cervix. *Clin. Radiol.*, 37, 19-22, 1986.
23. EIFEL P.J., MORRIS M., OSWALD M.J., WHARTON T., DELCLOS L. — Adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cancer*, 65, 2507-2514, 1990.

**FIBERTEX**  
N.V.  
S.A.

FIBERTEX N.V. - S.A.  
MEENSESTEENWEG 85 / 8500 KORTRIJK  
TEL. 056/35 04 36 - 35 41 14  
BTW / TVA 413 593 251  
TELEX 85230 FIBTEX-B  
HRK 88392  
KB 460-0270781-94  
BNP 690-2203031-27

---

**We can change your office  
to any season of the year.**

---

## **Relationship between inflammatory synovitis and microcirculation in rheumatoid joint inflammation - Preliminary report.**

### **Relation entre synovite inflammatoire et microcirculation dans l'inflammation articulaire rhumatoïde : rapport préliminaire.**

A. BEHAR, P. WALTZING, F. COHEN-BOULAKIA and S. OTHMANI

*Department of Biophysics, University of Paris VI*

*Nuclear Medicine Unit, Hôtel-Dieu Hospital, Paris.*

#### **ABSTRACT**

Edema is often found in rheumatoid joint inflammation. The genesis seems to conflict with the protein content of inflammatory synovitis.

31 patients and 31 healthy volunteers were investigated by capillary filtration Tc-albumin test and oscillation measures by fast Fourier transform. In all patients, we found abnormal retention of Tc-albumin which was normal in control group. Both investigation results are highly significant.

This study showed that the degree of synovial inflammation correlates with an excess of transcapillary albumin leakage and abnormal lymphatic resorption.

Recurrent edema is often found associated with rheumatoid arthritis (R.A.) ; in some cases, it develops around an acutely inflamed joint and sometimes, it appears an unusual swelling in the upper or lower limb. Its nature seems to conflict with the protein content of the edema fluid although other mechanisms could be possible : acute rupture of a joint or synovial cyst, lymphatic obstruction by enlarged glands, which would explain the cases of bilateral edema, or chronic endothelia inflammation (by oxygen free radicals).

To test these hypotheses, lymphatic resorption was investigated by capillary filtration using  $^{99m}$  Technetium-Albumin and Fast Fourier Transform (F.F.T.) analysis of oscillation in 31 outpatients with rheumatoid joint inflammation (R.J.I.) and compared to results in 31 healthy volunteers.

#### **RÉSUMÉ**

Un œdème est fréquemment observé en cas d'inflammation articulaire rhumatoïde. Sa genèse semble liée au contenu protéique de la synovie inflammatoire.

31 patients et 31 volontaires sains ont été investigués à l'aide du test de filtration capillaire de l'albumine technitiée et mesure des oscillations par transformée de Fourier.

Chez tous les patients, une rétention anormale de l'albumine technitiée fut trouvée alors que celle-ci était normale dans le groupe contrôle.

Notre étude montre que le degré d'inflammation synoviale est corrélé avec un excès de perte transcapillaire d'albumine et une réabsorption lymphatique anormale.

**Key words :** Tc-albumin test - Rheumatoid joint inflammation  
Edema - Capillary filtration.

#### **MATERIAL and METHODS**

31 patients (23 female and 8 male, mean age =  $58 \pm 13$  years) with R.J.I. and a  $6 \pm 6$  years history of R.J.I., including some associated with inflamed joints or polyarthritis : rheumatoid arthritis (20 cases), psoriatic polyarthritis (3 cases), connective tissue diseases with polyarthritis (5 cases) and overlap inflammatory diseases (3 cases). 11 among the patients had associated a Raynaud phenomenon.

All patients have been tested for ARA criteria, and by radiology, rheumatoid factor, antinuclear and extractable nuclear antibody, cryoglobulin, LE cells. Inflammation was clinically rated on the following scale : normal = 0 ; minor swelling = 1 ; diffuse swelling and active synovitis = 2. The Erythrocyte Sedimentation Rate (E.S.R.) was  $24 \text{ mm per hour} \pm 19 \text{ mm}$ . Rheumatoid factor tests were positive in 14 cases, antinuclear antibody in 8 cases with extractable nuclear antibody in 2 cases.

8 among the patients were on steroid treatment and 12 were treated with non steroidal anti-inflammatory drugs, hydrochloroquine, gold or thiol derivates.

The control group consisted of 31 healthy volunteers, (23 female, 8 male, mean age =  $48 \pm 14$  years), using the same tests in the meantime.

*Reprints request to*

*Dr A. Behar*

*Service de Biophysique et de Médecine nucléaire*

*Hôtel-Dieu*

*Place du Parvis Notre-Dame*

*75181 Paris Cedex 04*

## METHODOLOGY

**INCLUSION CRITERIA :** the inclusion criteria were based on the results of capillary filtration testing in three areas : elbow, forearm and wrist (Fig. 1, 2).

Labelled albumin testing (1, 2) consists in measuring the amount of albumin present in tissue and its variations following a period of induced stasis.  $^{99m}\text{Tc}$ -Albumin is intravenously injected into the patient and radioactivity counted in the upper limb until total dilution of the label in the plasma fraction. Measurements are repeated after applying a tourniquet at 80 mm Hg for 10 minutes. Cumulative radioactivity is measured every 10 seconds for 25 minutes and a fall-off curve is constructed. The normal subject returns to the basal state some tens of seconds after removal of the tourniquet. Subjects with abnormal protein leakage have a labelled albumin retention rate higher than 8 %. This level is calculated by the ratio  $f_i / m_i$  where  $i$  equals mean initial counts,  $m$  maximum and  $f$  final mean activity. The fall-off curve is converted into a frequency spectrum using an algorithm, the Fast Fourier Transform function :

$$A(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} A(t) \exp(-j2\pi ft) dt$$

from  $2\pi/\Delta t$  to  $2\pi/n_p \Delta t = 0.63$  to 0.02 Hz.

Amplitude was measured on 32 (2) harmonics at a frequency between 0.63 and 0.02 Hz. This allows to define two zones : a high frequency (HF) zone from harmonics  $n = 1$  to  $n = 17$

(venous compliance), and a low frequency (LF) zone from harmonics  $n = 18$  to  $n = 32$  (lymphatic resorption (2).

Validation of this technique in healthy subjects has shown that no more than 2 wide amplitude peaks are visually observed in the low frequency zone and that the low frequency / high frequency ratio (LF / HF) measured over 2 harmonics compared to the fundamental, is less than 0.5 %.

## RESULTS

The isotope results showed that mean labelled albumin retention was high, especially in the wrist (Table I) in patients with R.J.I. and normal in controls (less than 1 % in the three zones).

These results are highly significant ( $p < 0.001$ ). (Table I).

The Low Frequency / High Frequency ratio (LF / HF) measured over the last harmonic (32) compared to the fundamental (normal < 0.5 %) was high (from 0.64 % to 1.05 %) in the patient group and normal (from 0.06 % to 0.12 %) in the controls. These results are highly significant ( $p < 0.001$ ).

The 31 patients were classified into three groups (Table II) :

Group 1 : abnormal retention of labelled albumin in 3 areas,

Group 2 : in 2 areas,

Group 3 : in wrist area only.

In Group 1, 13/16 had signs of clinical inflammation (score 1 and 2), 5/5 in the second ; in Group 3, only 3/10 have clinical signs, and one is a false negative. (Table II).

— Table 1 —

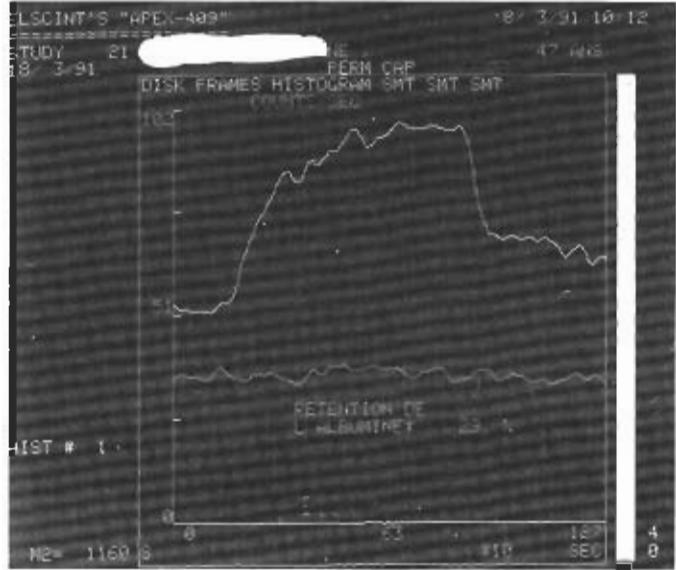
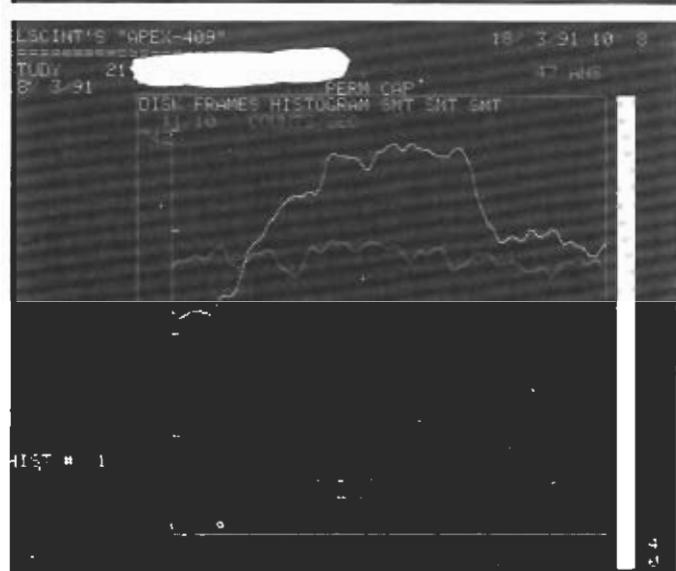
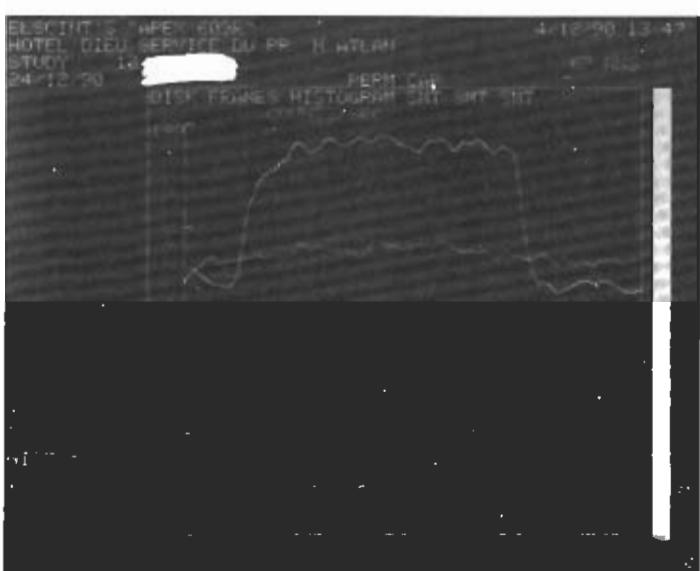
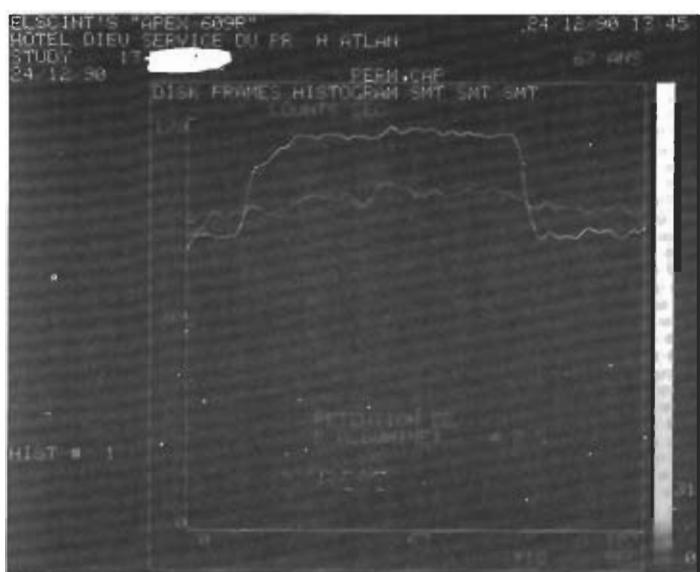
### SYNOPSIS OF PATIENTS WITH R.J.I.

		31 R.J.I. patients	31 healthy subjects
99mTc-Albumin TEST	WRIST	25 % $\pm$ 11 %	0.6 % $\pm$ 0.5 %
Labelled Albumin retention	FOREARM	13 % $\pm$ 10 %	0.3 % $\pm$ 0.2 %
Normal < 8 %	ELBOW	9 % $\pm$ 9 %	0.4 % $\pm$ 0.3 %
LYMPHATIC OSCILLATIONS	WRIST	0.64 % $\pm$ 0.55 %	0.12 % $\pm$ 0.14 %
Frequency spectrum	FOREARM	0.86 % $\pm$ 0.72 %	0.07 % $\pm$ 0.14 %
Normal : Last Harm / Fundamental < 0.5 %	ELBOW	1.05 % $\pm$ 0.62 %	0.06 % $\pm$ 0.13 %

— Table 2 —

### CORRELATION BETWEEN ABNORMAL TEST AND CLINICAL DEGREE OF INFLAMMATION

	Mean resorption albumine			E.S.R.	Clinical Score
	Wrist	Forearm	Elbow		
GROUP 1 (16 Patients)	30 %	17 %	14 %	28 mm $\pm$ 21	10(2),3(1),3(0)
GROUP 2 (5 Patients)	24 %	9.5 %	0	28 mm $\pm$ 13	2(2),3(1)
GROUP 3 *	17 %	3 %	0.5 %	13 mm $\pm$ 7	2(2),1(1),7(0)
(10 Patients * with one false negative).					



*Fig. 1 — NORMAL TEST.*

*Fig. 2 — PATHOLOGICAL TEST.*

## DISCUSSION

Fifty years ago, LANDIS and GIBSON (3) showed a moderate increase in the capillary filtration coefficient in patients with R.J.I. In 1964, PARK and SWINBURNE (4) found a transudate in R.A. patients with a relatively high albumin and globulin content, compared to serum levels. In 1971, JAYSON and PARKS (5) using a special plethysmograph found an increased coefficient of capillary filtration in R.A. and a good correlation with E.S.R. They concluded that a more rapid production of interstitial fluid and a trouble in lymphatic reabsorption would lead to an edema.

JOOS and FAMAEY (6) proposed that a chronic endothelia inflammation was the cause of acute joint or synovial cysts rupture and of the lymphatic obstruction found on lymphoscintigraphy.

DACRE et al. (7) in 7 cases of limb lymphoedema in R.A. assumed that the main cause of the lymphoedema was the obstruction of the deep lymph vessels.

What can be suggested as a mechanism, what could be the model for microcirculation in R.J.I.?

TAYLOR's group are all convinced that the mechanism of transcapillary protein exchange in any vascular bed is characterized by the property to diffuse both by convection and diffusion transport (8) through both small and large pores (9).

LEVICK (10) had shown that the effective albumin concentration of the albuminal face of a small pore is different from the albumin concentration 10  $\mu$ m away.

Furthermore, BLAKE and STEVENS (11, 12) found a significant restriction of superficial blood flow in inflammatory synovitis, generating, in response, a synovium reactive oxygen radical species with damage to protein or at least to proteins exchange.

This "stress protein" leads to an abnormality of the capillary basement membrane in the view of SIMMLING et al. (13), but DRILL et al. (14) did not reach the same conclusions.

The significative retention of  $^{99m}$ Tc-Albumin, especially in wrist area, and the good correlation between extension of this retention and the synovial inflammatory signs, we have found, are more in agreement with the SIMMLING and BLAKE hypothesis.

But what can be suggested for the mechanism of edema genesis?

In the event of excess protein filtration, it could be due to a defect in lymphatic absorption. We have shown in cyclic edema disease, using a double-labelling study, and in diabetic microangiopathy (15), a possible pulsatile effect in the frequency diagram by F.F.T. (as the "peripheral lymphatic heart" of TAYLOR).

The same frequency defect has been found in isolated lymphatic stimulation by MAC HALE (16). It could be a blockage of the deep lymph vessels (7), but the significant change in the frequency diagram obtained by  $^{99m}$ Tc-albumin test would be in agreement with an abnormal lymphatic drainage in R.J.I. according to synovial inflammation.

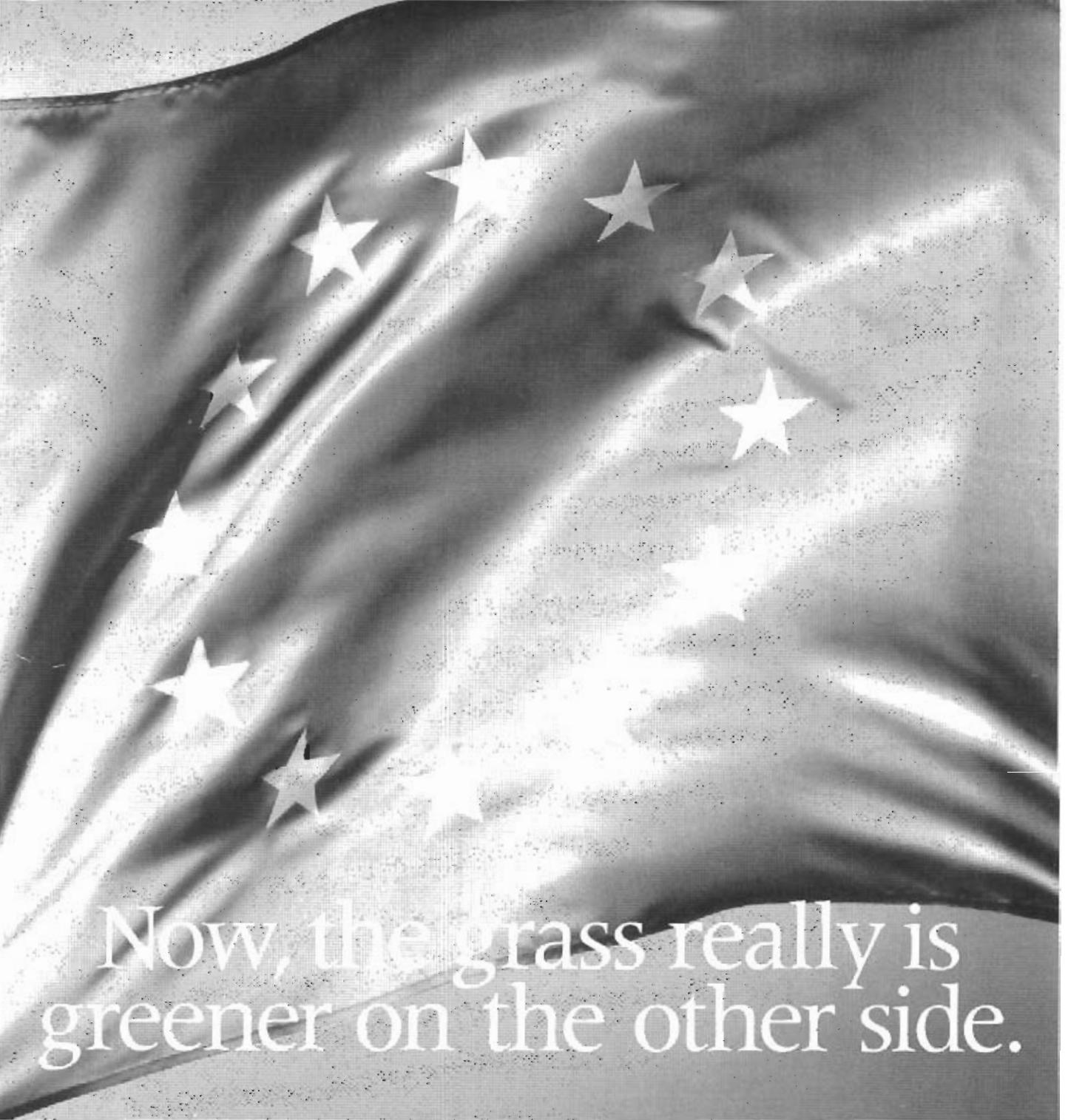
## CONCLUSION

This study, using labelled albumin test in patients with R.J.I. compared to a similar group of healthy subjects showed that the degree of synovial inflammation correlated with excess transcapillary albumin leakage and abnormal lymphatic resorption.

Further studies on the sensitivity and specificity of  $^{99m}$ Tc-albumin testing in R.J.I. are underway and are being applied on a multicenter basis.

## REFERENCES

1. BEHAR A., TOURNOUX A., BAILLET J., LAGRUE G. (1976) — Untersuchungen zur Bestimmung der kapillären Durchlässigkeit mit markierten marischen Albumin. *Nuklear Medizin*, 15 : 214-216.
2. BEHAR A., LAGRUE G., COHEN-BOULAKIA F., BAILLET J. (1988) — Capillary filtration in idiopathic cyclic edema. *Nuclear Medicine*, 47 : 105-107.
3. LANDIS EM., GIBBON A. (1933) — The effects of temperature and tissue pressure on the movement of fluid through the human capillary wall. *J. Clinical Investigation*, 12 : 105.
4. PARK DC., SWINBORNE K. (1964) — Proteins of serum and oedema fluid in rheumatoid arthritis. *Brit. Med. Journal*, 1 : 86-88.
5. JAYSON MIV., BARKS J. (1971) — Oedema in rheumatoid arthritis changes in the coefficient of capillary filtration. *Brit. Med. Journal*, 2 : 555-557.
6. JOOS E., FAMAEY JP. (1990) — Lymphatic disorders in rheumatoid arthritis. *Eur. J. of Lymphology*, 1 : 29-30.
7. DACRE JE., SCOTT DL., HUSKISSON EC. (1990) — Lymphoedema of the limbs as an extra-articular feature of rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheum. Dis.*, 49 : 722-724.
8. TAYLOR AE., TOWSEY MI., REED RK. (1990) — Mechanisms of transcapillary exchange. *Int. J. of Microcir.*, 9 : suppl. 1 : 68.
9. TAYLOR AE. (1981) — Starling forces and lymphatic flow. *Circ. Research*, 49 : 557-575.
10. LEVICK JR. (1990) — Intertitial and pericapillary effects of plasma proteins. *Int. J. of Microcir.*, 9 : suppl. 1 : 15.
11. BLAKE DR., STEVENS CR. (1990) — Hypoxic reperfusion injury and inflammatory synovitis. *Int. J. of Microcir.*, 9 : suppl. 43.
12. STEVENS CR., GROUTVELD M., CLAXON A., THOMSON SJ., BLAKE DR. (1990) — Increased synovial fluid formate in R.A. is a product of oxygen radical induced carbohydrate catabolism proinflammatory properties in vivo endothelial cell culture. *Int. J. of Microcir.*, 9 : suppl. 1 : 44.
13. SIMMLING AM., FASSBENDER HG. (1979) — Transformation of the capillary wall elements in synovial tissue in R.A. *J. of Rheumatol.*, 38 : 153-162.
14. DRYLL A., LANSAMAN J., BARDIN T., RYCKEWAERT A. (1981) — Vascularisation synoviale et inflammation. *Revue du Rhumatisme*, 48 : 463-468.
15. BEHAR A., VALENSI P., de CHAMPVALLINS M., ATALA M. (1990) — Diabetes and increased capillary permeability pharmacodynamic activity of a flavonoid fraction. *Int. J. of Microcir.*, 9 : suppl. 1 : 15.
16. MAC HALE NG., ALLEN JM. (1983) — The effect of the external Ca concentration on the contractility of bovine mesenteric lymphatics. *Microvascular Research*, 26 : 182-192.



# Now the grass really is greener on the other side.

In the run-up to the 1993 single market, Belgian companies must look harder than ever before at what's happening beyond their boundaries. To explore pastures new, at no risk, why not call on BBL and its years of export experience as a large international bank?

- Enjoy our regular information bulletins on foreign markets, exchange regulations, banks, firms, etc.
- Our audit department will help you evaluate your company's export potential. And advise you

how to set up your export organisation.

- We will help you find suitable partners, via our databank of business opportunities.
- And we can offer you a wealth of financial instruments: short- and long-term loans, international bank guarantees, fast payment systems etc.

Our export assistance service underscores BBL's confidence in Belgian companies, and its readiness to promote their exports worldwide.

**BBL**

M O R E   T H A N   J U S T   A   B A N K I N G   B A N K .



## Malformations lymphatiques associées au syndrome de Klippel et Trénaunay.

### Malformation of the lymphatic vessels associated with Klippel and Trénaunay's syndrome.

Marceau SERVELLE

*Paris.*

#### RÉSUMÉ

Depuis 1943, nous avons opéré 835 syndromes de Klippel et Trénaunay. L'allongement du membre atteint est constant, l'œdème et l'angiome plan n'existent que dans 1/3 des cas. La veinographie puis l'exploration chirurgicale ont montré une malformation des veines profondes portant soit sur la veine poplitée soit sur la veine fémorale superficielle ou sur ces 2 veines en même temps, enfin sur les veines iliaques ou sur la veine cave inférieure. La libération de ces veines profondes anormales donne de bons résultats éloignés. Chez l'enfant de 4 à 14 ans, lorsque la différence de longueur des 2 membres est importante, nous réalisons en même temps que la libération des veines profondes, la ligature de la veine poplitée de la jambe la plus courte : à l'âge adulte, la différence de longueur des 2 membres a disparu ou est grandement diminuée. Le syndrome de K.T. peut être associé à plusieurs types de malformations lymphatiques :

- 1) compressions des lymphatiques profonds par la bride comprimant la veine malformée ;
- 2) K.T. associé à un lymphœdème simple : il faut toujours opérer la malformation veineuse en premier ;
- 3) association au K.T. d'un lymphœdème avec reflux du chyle dans les lymphatiques jambiers : on supprime le reflux du chyle puis libère les veines profondes ; si la veinographie est redevenue normale, on peut opérer le lymphœdème ;
- 4) Lymphœdème avec reflux du chyle dans les lymphatiques jambiers et osseux.

Enfin, le K.T. peut entraîner des hématuries et des rectorrhagies.

**Mots clés :** lymphangites mésentériques, rectorrhagies, hématuries, chylopéritoïne, chylothorax, chylorragies.

#### SUMMARY

Since 1943, we have operated on 835 patients with Klippel and Trénaunay's syndrome. Elongation of the impaired limb was invariably found while edema was present in 84 %, varicose veins in 36 % and flat angioma in 32 %. Venography and surgical exploration have demonstrated malformation of the deep veins involving the popliteal vein in 51 %, superficial femoral vein in 16 %, both popliteal and superficial veins in 29 %, iliac vein in 3 % and lower vena cava in 0.5 %. Good clinical results have been achieved following the surgical release of these deep veins. During childhood, when the difference in limb length is noteworthy, ligation of the popliteal vein of the shorter limb induces a compensating elongation. Klippel and Trénaunay's syndrome may be associated with lymphatic malformations :

- 1) compression of the deep lymphatic vessels ;
- 2) lymphedema ;
- 3) lymphedema with chyle reflux in the lymphatic of the lower limb ;
- 4) lymphedema with chyle reflux in the lymphatic of the lower limb and in lymphatic of the bones.

Knowledge of the pathophysiology of these malformation of the deep veins enables a better understanding of the clinical manifestations of the condition as well as the improved treatment of the serious vesical or rectal hemorrhage which occurs in one per cent of these patients.

*Reprints request to*

Marceau SERVELLE  
Rue Spontini 16  
Paris 75116

En 1900, dans les « Archives Générales de Médecine », KLIPPEL et TRÉNAUNAY décrivent le syndrome de nævus variqueux ostéohypertrophique (1) qui porte à juste titre leur nom : il est caractérisé par un **nævus**, des **varices** sur le membre intéressé, une **hypertrophie de tous les tissus** et, en particulier, des os du côté atteint. Cette description reste vraie mais il ne s'agit pas d'ostéohypertrophie mais d'**allongement osseux**. En 1943, nous réalisions une veinographie dans le cas présenté par APERT en 1931 : jeune fille de 15 ans avec un membre inférieur œdématisé et plus long que l'autre et sur lequel existent un nævus et des varices. Sur la veinographie (Figure 1), pas d'injection de la veine poplitée mais de chaque côté du genou montent de grosses veines de suppléance. À l'intervention, le 26 décembre 1943, on isole une bande fibreuse comprimant la partie moyenne de la veine poplitée (Figure 2). Après section de cette bride, la veine se dilate. Quatorze ans plus tard, l'œdème a totalement disparu, la différence de longueur est passée de 5 à 3,6 centimètres (2). Nous venions de démontrer pour la première fois dans le monde que le **syndrome de K.T.** est produit par une **malformation des veines profondes**.

### EXPÉRIMENTATION

Dans nos 14 premières observations, nous notions un **allongement constant du membre atteint** : nous pensions qu'il était dû à la **stase veineuse**. Aussi, de 1945 à 1948, dans une première série de 4 chiens âgés de un mois, nous réalisions une ligature de la veine fémorale commune et de la saphène interne à la patte droite : à l'âge adulte, existait un allongement de tous les os de cette patte. Chez 3 autres chiens de un mois, nous ligaturions la veine poplitée : à l'âge adulte, l'allongement n'intéressait que le tibia et le péroné. Ces résultats ont été présentés à l'Académie de Médecine le 13 juillet 1948 (3). Après cette expérimentation, chez 62 enfants opérés de K.T. avec un **allongement important du membre**, après libération de la veine comprimée du côté le plus long, nous réalisions une **ligature de la veine poplitée du côté sain**. À l'âge adulte, la différence de longueur avait disparu ou était minime.

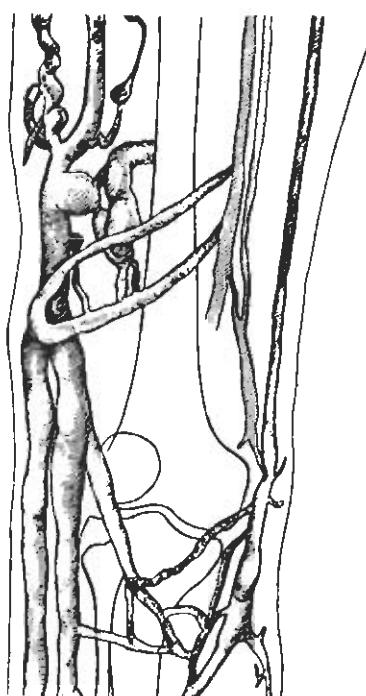


Figure 1.

Melle D... Calque de la veinographie : pas d'injection de la veine poplitée, grosses veines de suppléance à la face interne et à la face externe du genou.

### LOCALISATION DE LA MALFORMATION VEINEUSE

Le syndrome de K.T. n'existe pas seulement au niveau du membre inférieur. Voici les localisations de la malformation veineuse chez nos 835 opérés : **membre inférieur** : 665, **membre supérieur** : 108, **membre inférieur et supérieur** : 27, **quatre membres** : 19, et **deux membres inférieurs** : 16.

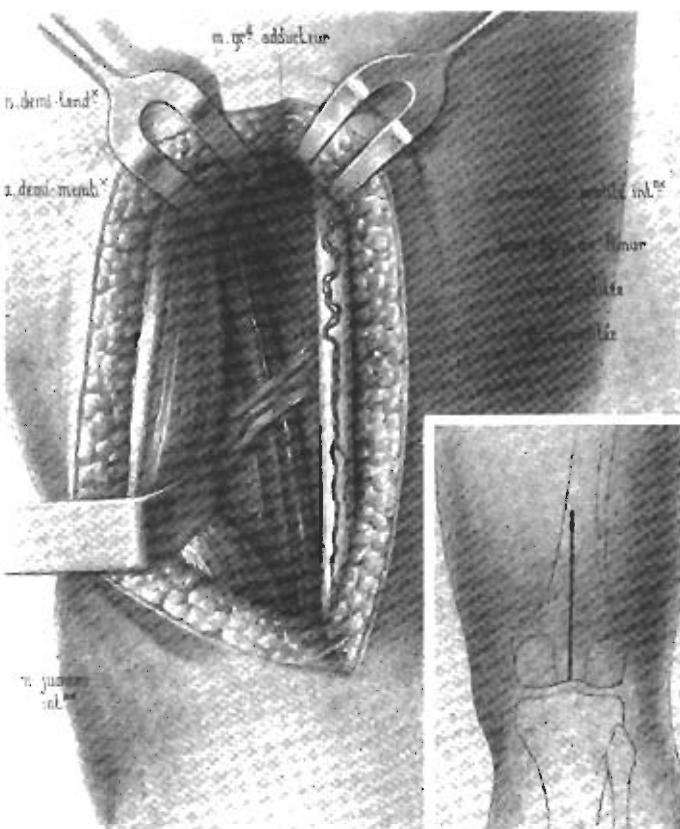


Figure 2.

Melle D... Dessin opératoire : une bride fibrovasculaire cravate en arrière l'artère poplitée et écrase la veine poplitée qui, au-dessus de cet obstacle, est de petit calibre.

### FRÉQUENCE DES DIFFÉRENTS SYMPTÔMES CLINIQUES

L'**allongement** du membre atteint est **constant**. L'**œdème** existe dans **84 %** des cas, les **varices** dans **36 %**, l'**angiome plan** dans **32 %** et les **troubles trophiques** dans **10 %**. Beaucoup de malades viennent pour un œdème et des varices : pour rechercher l'allongement, le clinicien pose chacune de ses mains en supination sur chaque crête illiaque. Si le membre est allongé, la **veinographie** révèle l'anomalie des veines profondes. Tout le diagnostic repose sur cette radiographie des veines qui doit être de bonne qualité. L'allongement du membre existe également dans les séquelles de phlébite de l'enfance (35 cas) et dans les fistules artérioveineuses congénitales (22 cas) : dans ces 2 groupes d'affections existe également une hypertension veineuse. Dans **36 %** de nos K.T. existaient des **varices très nettes avec allongement du membre** : la résection de ces varices unilatérales, sans avoir au préalable libéré les veines profondes anormales, fait apparaître œdème et douleurs. Dans un cas récent, les veines fémorale superficielle et poplitée étaient hypoplasiques sur toute leur longueur ; la veine saphène interne dilatée était la seule voie de retour : sa résection aurait entraîné une gangrène veineuse.

## SIÈGE ET NATURE DE LA MALFORMATION VEINEUSE AU MEMBRE INFÉRIEUR

**Voici le pourcentage des différentes localisations des malformations veineuses au membre inférieur : veine poplitée : 51 %, veine fémorale : 16 %, veine poplitée et fémorale : 29 %, veines iliaques : 3,3 %, veine cave inférieure : 0,7 %. La nature de l'anomalie veineuse varie suivant la localisation :**

	Com- pression	Gaine périveineuse	Hypoplasie	Agénésie
V. poplitée	71,3 %	14,7 %	7,4 %	6,6 %
V. fémorale sup.	54,1 %	1,9 %	40,3 %	2,7 %
V. iliaques			63 %	37 %
V. cave inférieure				100 %

## HÉMATURIES ET RECTORRAGIES DANS LE SYNDROME DE KLIPPEL ET TRÉNAUNAY

Dans les **K. et T. avec hémorragies vésicales ou rectales**, la veinographie révèle une **hypoplasie de la veine fémorale superficielle supplée par une veine saphène interne dilatée et une veine sciatique du calibre du doigt**. Entre ces 2 veines, existe la **veine rétroadductrice** qui se draine en haut dans la veine fémorale profonde puis dans la veine fémorale commune. La **veine du nerf sciatique**, en arrière du grand trochanter, se divise en 2 branches : l'une pénètre dans le bassin par l'échancrure sciatique, l'autre par l'échancrure fessière ; ces 2 grosses veines se jettent dans la **veine iliaque interne** qui se dilate ; du fait de cette surcharge veineuse, les branches d'origine de la veine iliaque interne ne peuvent s'évacuer normalement : elles se dilatent ; ainsi, apparaissent **sur la vessie et sur le rectum de grosses varices** : elles peuvent se rompre dans la vessie (hématuries) ou dans le rectum (rectorragies). La thérapeutique vasculaire comporte la libération :

- 1) de la veine fémorale superficielle sur toute sa longueur,
- 2) de la veine fémorale profonde, de la veine rétro-adductrice et de ses collatérales postérieures qui vont à la veine sciatique : avec une pince mousse, on dilate les orifices musculaires dans lesquels elles s'engagent : ainsi, **une partie du sang de la veine sciatique revient à la veine fémorale commune** d'où une baisse de pression dans la veine iliaque interne et disparition des hémorragies (10 cas).

Mais cette dérivation peut être insuffisante et les hémorragies persistent. En cas d'**hématurie**, il faut faire une **cystectomie partielle** (3 cas) et pour les **rectorragies**, une **résection du sigmoïde** (4 cas) ; pour ces 7 interventions, il n'y eut ni décès ni récidive des hémorragies. Mais les **rectorragies** se produisent **dans la lumière rectale très septique** : nous avons perdu notre premier malade de septicémie avant toute intervention.

## KLIPPEL et TRÉNAUNAY ASSOCIÉ A DES MALFORMATIONS LYMPHATIQUES

**Quatre groupes de malformations lymphatiques peuvent être associées au syndrome de K.T.**

Si l'œdème est important, il faut associer à la **veinographie une lymphographie**. Le 22 décembre 1943, 4 jours avant notre première opération pour K.T., nous réalisions la **première lymphographie dans le monde**. En 1954, lorsque KINMONTH publia

sa technique de lymphographie après injection de bleu Evans, nous avions réalisé 90 lymphographies par ponction directe. Cette radiographie des lymphatiques apporte des précisions sur la dilatation des lymphatiques entraînant une perte de jeu valvulaire permettant d'affirmer le lymphœdème. Enfin, dans tout K.T., il faut demander un **test d'hyperlipidémie** provoqué : prise de sang à jeun puis absorption de 50 g. de beurre et prise de sang toutes les heures pendant 5 heures pour dosages des lipides totaux. Chez le sujet normal, la courbe des lipides part de 6 g à jeun, monte à 7,3 g à T3 et redescend à 5,5 g à la 5<sup>me</sup> heure. Si la **courbe des lipides est en plateau**, on peut affirmer l'existence d'une **hypoplasie de la citerne de Pecquet**, véritable barrage à l'évacuation du chyle : tous les chylifères mis sous tension se dilatent aussi bien dans le mésentère que dans les parois de l'intestin grêle. Ces lymphatiques intestinaux mis sous tension peuvent se rompre dans la cavité péritonéale produisant un **chylorétoïne**. Les **lymphatiques centraux des villosités intestinales** également dilatés peuvent se rompre dans la lumière de l'intestin avec **perte plus ou moins importante de chyle** dans l'intestin pouvant entraîner une **hypoprotidémie**. En France, cette perte de chyle est appelée **entéropathie exsudative** et dans les pays de langue anglaise **protein losing enteropathy**. Pour Littré, « *l'exsudation est un suintement d'une humeur à travers les parois de son réservoir naturel* » ; ceci est vrai lorsque les lymphatiques renferment une **lymphe eau de roche** : les épanchements pleuraux des cardiaques sont produits par filtration dans la cavité pleurale de la lypmhe contenue dans les lymphatiques sous-pleuraux dilatés. Mais du fait du **diamètre des chylomicros, le chyle ne peut sortir du lymphatique qui le contient que par rupture de sa paroi**. Nous avons vérifié ce fait par des lymphographies et surtout au cours d'interventions pour chylorétoïne (15 cas), chylothorax (17 cas) et chylopericarde (9 cas) : il suffit de **localiser cette rupture lymphatique** par où s'écoule le chyle et de la suturer. Aussi, il est mieux de parler d'**« entéropathie par perte de chyle »** et en anglais de **« chyle losing enteropathy »**. De plus, la rupture d'un ou plusieurs chylifères dans la lumière intestinale très septique entraîne l'apparition de **lymphangites mésentériques** fréquentes pouvant entraîner une **septicémie**.

Chez le sujet normal, les 2 trones lymphatiques lombaires renferment une lypmhe eau de roche et se drainent dans la **citerne de Pecquet**. Lorsque celle-ci est **hypoplasique**, les 2 trones lymphatiques lombaires se dilatent et perdent leur jeu valvulaire : ainsi le mélange chyle et lypmhe contenu dans cette citerne de Pecquet **reflue dans les 2 trones lymphatiques lombaires** : leurs premières collatérales sont les lymphatiques des reins : ils se dilatent, perdent leur jeu valvulaire et le **chyle reflue dans ces lymphatiques rénaux** qui finissent par se rompre dans le bassinet avec apparition d'une **chylurie**. Ce reflux dans les lymphatiques lombaires peut s'étendre aux lymphatiques des organes génitaux et des membres inférieurs avec apparition d'un **lymphœdème avec reflux du chyle**.

Enfin, le chyle ne pouvant se drainer à travers la citerne de Pecquet, il se forme des voies de suppléance (lymphatiques du pancréas, du foie puis du diaphragme et du médiastin) qui drainent le chyle vers les régions cervicales. Ces voies de suppléance peuvent se rompre dans la plèvre produisant un **chylothorax** ou dans les lymphatiques du péricarde avec apparition d'un **chylopericarde**.

### 1) Malformations lymphatiques produites par l'obstacle sur les veines profondes.

La bride comprimant la veine poplitée gène également les lymphatiques qui longent cette veine. A l'intervention, on découvre au dessous de l'obstacle sur cette veine poplitée, une dilatation sous forme de varices lymphatiques (Figure 3). Après section de la bride fibreuse, ces varices lymphatiques s'affaissent ; dans les suites opératoires, on note une diminution notable de l'œdème.

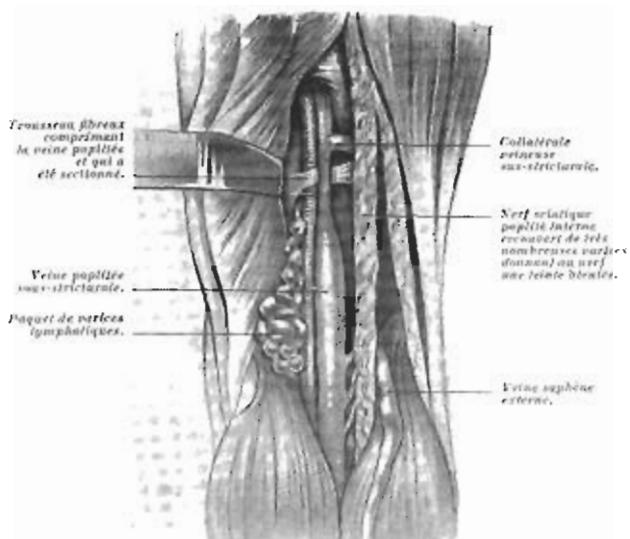


Figure 3.

*Enfant M... La bride fibreuse sur la veine poplitée comprime également les lymphatiques poplités avec apparition de varices lymphatiques au-dessous de l'obstacle.*



Figure 4.

*Enfant L... A gauche : nombreuses et importantes géodes dans le tiers inférieur du fémur.*

*A droite : injection directe de produit opaque dans les lymphatiques de la cuisse : reflux de ce lipiodol ultra-fluide dans les géodes du fémur.*

## 2) Association au K.T. d'un lymphœdème banal.

Cliniquement, l'œdème est beaucoup plus important que dans le K.T. habituel, l'angiome et les varices peuvent faire défaut, mais cette jambe est beaucoup plus grosse que l'autre. La **veinographie** met en évidence la malformation veineuse, la **lymphographie** confirme le lymphœdème. Il faut d'abord opérer la malformation veineuse ; l'œdème s'améliore pendant quelques années mais peut s'accentuer à nouveau. Avant toute décision thérapeutique, il faut **refaire une veinographie** pour vérifier si la veine est revenue à un calibre normal : si un autre rétrécissement est découvert, il faut d'abord le traiter. Notre traitement du lymphœdème sacrifie toutes les veines superficielles : si les veines profondes ne sont pas revenues à la normale, il faut se contenter de la contention élastique. Mais nous avons **opéré 12 lymphœdèmes banaux associés à un K.T. avec de très bons résultats éloignés**.

Nous avons déjà insisté sur l'**importance du test d'hyperlipidémie** même s'il n'existe aucun signe digestif ou biologique (hypoproptidémie). Les parents doivent être prévenus des complications pouvant survenir. Il y a 10 ans nous opérions une fillette d'un K.T., le test d'hyperlipidémie était positif. Trois ans plus tard, cette malade présente un **épanchement pleural droit** : il s'agissait d'un **chylothorax** que nous avons opéré. Un garçon opéré de K.T. avec test d'hyperlipidémie positif présente 10 ans plus tard un tableau d'**arthrite suppurée de la hanche** : il s'agissait d'une **chylarthrose** guérie par simple ponction.

## 3) Association du K.T. à une malformation de la citerne de Pecquet.

Le diagnostic d'hypoplasie de la citerne de Pecquet est fait par le test d'hyperlipidémie. Dans cette double association, l'œdème est plus marqué et sur la peau du membre existent de **petites vésicules blanches** dont la rupture produit des **chylorragies**. La malformation veineuse est ici associée à un **lymphœdème avec reflux du chyle dans les lymphatiques jambiers**. Pour injecter le lipiodol lors de la lymphographie, on ponctionne une de ces vésicules blanches. Pour le traitement, il faut **d'abord supprimer le reflux du chyle dans les lymphatiques jambiers** : après un repas gras et par voie sous-péritonéale d'abord à gauche, on

**résèque les lymphatiques latéroaortiques**, puis à droite dans un deuxième temps les **lymphatiques latérocavés**. On opère ensuite le K.T. Si la veinographie postopératoire révèle un bon rétablissement de la circulation veineuse, on opère le lymphœdème avec de bons résultats éloignés. Dans notre première observation, en 1949, nous avions par laparotomie médiane réséqué les lymphatiquesiliaques de chaque côté : le reflux ne fut pas supprimé, les chylorragies persistèrent et 4 chylarthroses du genou apparaissent. Cette technique doit donc être abandonnée au profit de la résection des lymphatiques latéroaortiques et latérocavés.

En 1974, le Professeur Rossier m'adressa un garçon de 12 ans pour **K.T. associé à un lymphœdème des 2 membres inférieurs et des organes génitaux avec reflux du chyle**. Je traite le reflux du chyle par résection des lymphatiques latéroaortiques puis latérocavés, j'opère le K.T. puis le lymphœdème des organes génitaux et enfin celui des 2 membres inférieurs. Dix-sept ans plus tard, ce patient travaille normalement : les chylorragies sont disparues mais 2 à 3 fois par an apparaissent des **lymphangites mésentériques**.

J'opère une fillette de 10 ans d'un **K.T. avec œdème modéré**. A 24 ans apparaît un **œdème des 2 membres inférieurs avec des chylorragies**. A 34 ans, cette malade arrive en ambulance : elle vient de subir 18 interventions pour lymphœdème bilatéral mais n'est pas cicatrisée ; dès qu'elle se met debout, il s'écoule une quantité importante de liquide laiteux. Sur la peau des jambes existent de nombreuses **vésicules blanches**. La lymphographie par ponction d'une de ces vésicules confirme le diagnostic de **lymphœdème avec reflux du chyle dans les lymphatiques jam-**

biers. La résection des lymphatiques latéroaortiques puis latérocavés permit d'obtenir la cicatrisation et l'arrêt des chylorragies.

#### 4) Syndrome de K.T. associé à un lymphœdème avec reflux du chyle dans les lymphatiques jambiers et osseux (5 observations).

Le tableau clinique est le même que dans le chapitre précédent, mais la radiographie simple du membre malade révèle des géodes intraosseuses ; leur ponction retire du chyle. Le lipiodol injecté dans les lymphatiques passe dans ces cavités osseuses et inversement. Le reflux du chyle se fait donc aussi dans les lymphatiques des os. Le traitement consiste à libérer d'abord les veines profondes, puis on supprime le reflux du chyle par résection en 2 temps des lymphatiques latéroaortiques et latérocavés. Dans un cas, les géodes situées dans le 1/3 supérieur du tibia étaient importantes et entraînèrent une incurvation de l'os. Le Professeur Pouliquen mit des greffes osseuses dans les géodes et redressa l'os. Le résultat fut très bon mais 4 ans plus tard apparut une lymphangite mésentérique rapidement mortelle.

Un garçon de 9 ans vint d'Allemagne avec ce syndrome complet : il existait de nombreuses géodes dans les os du bassin et dans les vertèbres lombaires. Après traitement du K.T. et résection des lymphatiques latéroaortiques puis latérocavés, nous avons opéré l'éléphantiasis des organes génitaux. Cet opéré repartit en bonnes conditions, les chylorragies n'existaient plus. Trois ans plus tard, ce garçon décéda à la suite d'une intervention minime.

Trois de ces 5 malades vont bien après nos interventions, les chylorragies sont disparues, l'œdème est insignifiant, les lésions osseuses ont diminué ou n'existent plus. Une fillette fut opérée à 6 ans avec d'importantes lésions osseuses dans le fémur (Figure 4) ; à 21 ans, les altérations osseuses sont disparues. Cette jeune fille fait des études supérieures sans aucun ennui jambier.

En conclusion, le syndrome de K.T. isolé et pur présente un bon pronostic, mais lorsqu'il est associé à un lymphœdème banal et surtout à une hypoplasie de la citerne de Pecquet, de graves complications peuvent survenir.

### RÉFÉRENCES

1. KLIPPEL M., TRÉNAUNAY P. — Du nævus variqueux ostéo-hypertrophique. *Arch. Médic.*, Paris, 1900, 3, 611-672.
2. SERVELLE M. — La veinographie va-t-elle nous permettre de démembrer le syndrome de Klippel et Trénaunay ? *Presse Médicale*, 1945, 26-30, 353-354.
3. SERVELLE M. — Stase veineuse et croissance osseuse. *Bul. Acad. Nat. Médecine*, 1948, 132, 471-474.
4. SERVELLE M. — Les malformations congénitales des veines. *Rev. de Chir.*, 1949, 88-106.
5. SERVELLE M. — Œdème chronique des membres. *Masson Editeur*, Paris, 1952.
6. SERVELLE M. — Diagnosis and treatment of chronic edema of a limb. *J. Cardio-vasc. Surg.*, 1960, 1, 260-262.
7. SERVELLE M. — Agénésie d'une des veines principales d'un membre (5 cas). *Cœur et Méd. Int.*, 1965, Tome I, 53-63.
8. SERVELLE M., BASTIN R., LOYGUE J. — Hematuria and rectal bleeding in the child with Klippel and Trenaunay's syndrome. *Ann. of Surg.*, 1976, 183, 418-428.
9. SERVELLE M., SOULIÉ J., GINESTE J., NOGUÈS C., ANDRIEUX J.B. — Le test d'hyperlipidémie provoquée. Dix ans d'expérience. *Sem. Hop. Paris*, 1978, 54, 41-42, 1238-1242.
10. SERVELLE P. — Pathologie vasculaire. Tome 2. Les affections veineuses. *Masson Editeur*, Paris, 1978.
11. SERVELLE M., NOGUÈS C. — Les chylifères. *Expansion Scientifique française*, Paris, 1982.
12. SERVELLE M. — Klippel and Trenaunay's syndrome (768 operated cases). *Ann. of Surgery*, 1985, 3, 365-373.
13. PAPENDICK C.M. — Atlas Color. Angiodysplasias in Pediatrics. Buenos Aires. *Editorial Medica Panamericana*. 1988.

Extrait du livre signé par le Professeur A. Leduc et O. Leduc

## **LE TRAITEMENT PHYSIQUE DE L'ŒDEME DU MEMBRE INFÉRIEUR**

### **MOYENS PHARMACOLOGIQUES**

#### **Venoruton®**

(ortho-béta-hydroxyéthyl-rutosides)

Laboratoires Zyma.

**Venoruton® per os**

De nombreux travaux ont été publiés à propos des résultats obtenus en clinique vétérinaire ainsi qu'en clinique humaine. L'action antœdémateuse a été contrôlée par la diminution de la perméabilité des parois capillaires qui redevenait normale.

Les essais cliniques confirment l'efficacité du médicament sur le symptôme "lourdeur des jambes". Les meilleurs résultats semblent obtenus chez les patients présentant une thrombo-phlébite aiguë, une varicosité primaire ou des troubles veineux symptomatiques dans le cadre de la grossesse (BERGSTEIN, 1975 - VAN

CAUWENBERGHE, 1978). Les doses utilisées per os sont de 900 à 1500 mg par jour, en fonction de la gravité de la symptomatologie. Ces doses peuvent être augmentées jusqu'à 3 g sans aggraver la fréquence des éventuelles intolérances digestives (STEMMER, 1986).

A cette posologie de 3 g/jour, une étude en double aveugle versus placebo démontre l'efficacité de Venoruton® dans les lymphœdèmes primaires des membres inférieurs (PILLER, CASLEY-SMITH, 1988).

#### **Venoruton® Gel**

Venoruton® est un gel hydrique sans alcool. Il est incolore et ne graisse pas. L'ortho-béta-hydroxyéthyl-rutoside y est contenu à raison de 2 %. En application topique, le principe actif traverse la barrière épidermique : on le

déetecte après 30 minutes dans le derme, après 2 à 5 heures dans le tissu graisseux sous-cutané.

Ce gel est indiqué dans les troubles subjectifs (lourdeur, douleur, fatigue, crampes...) des membres ainsi que dans les œdèmes d'origine veineuse, traumatique ou chirurgicale, dans les entorses ainsi que dans les œdèmes variqueux. On l'utilise également dans les œdèmes associés aux phlébites.

#### **Venoruton® en ionisation**

Pour les applications électrothérapeutiques galvaniques de Venoruton®, celui-ci sera appliqué sur l'électrode négative.

#### **Présentation:**

Venoruton® per os forte 500 ou 300  
Venoruton® gel tube de 100 g.

Réf. : *Drainage de la grosse jambe*, de A. Leduc, O. Leduc, achevé d'imprimer le 15 mai 1992

#### Réf. bibliographique :

BERGSTEIN N.A.M.

- Clinical study on the efficacy of O-béta-hydroxyéthyl-rutoside (HR) in varicoes of pregnancy.  
- J. Int. Med. Res., 189-193 (1975).

PILLER N.B., MORGAN R.G.,

CASLEY-SMITH J.R.

- A double blind crossover trial of O-béta-hydroxyéthyl-rutosides in the treatment of lymphedema of the arms and legs.  
- Brit. J. of Plastic Surg., 41, 20-27, 1988.

STEMMER R. et FURDERER C.R.

- Posologie de l'O-béta-hydroxyéthyl-rutoside dans l'insuffisance veineuse chronique.  
- Phlébologie, 39, 995-1003, 1986.

VAN CAUWENBERGHE H.

- Etude en double-aveugle de l'efficacité de l'O-béta-hydroxyéthyl-rutoside (HR) dans le traitement des affections veineuses.  
- Méd. et Hyg., 36, 4175-4177, 1979.

## The innervation of the lymph vascular wall.

## L'innervation de la paroi vasculaire lymphatique.

ALESSANDRINI C., GUARNA M., PUCCI A.M., FRUSCHELLI M., FRUSCHELLI C.

*Histology and General Embryology Institute - University of Siena  
Via Laterino 8, 53100 Siena, Italy.*

### SUMMARY

A detailed knowledge of lymph vessel innervation is necessary for understanding the frequency and strength modulation mechanisms of the smooth muscle contractions. Nevertheless there is only scarce and incomplete information on this topic. Therefore we have studied the innervation of the mesentery lymph collectors in guinea pig, using histochemical immunocytochemical and pharmacological methods. The mesentery lymph collectors show a moderate supply of noradrenergic, acetylcholinesterase (AChE) positive and peptidergic nerve fibers. Pharmacological treatment with the neurotoxins 6-hydroxydopamine (6-OHDA) and capsaicin interferes with the observed pattern of innervation. The pharmacological findings suggest that mesentery lymph collectors possess autonomic and sensory nerve fibers.

### RÉSUMÉ

Une connaissance détaillée de l'innervation des vaisseaux lymphatiques est nécessaire pour comprendre les mécanismes modulant la force et la fréquence des contractions de leurs muscles lisses. Néanmoins, l'information à ce propos est incomplète et peu abondante. Nous avons donc étudié l'innervation des collecteurs lymphatiques mésentériques du cochon d'Inde, et ce par des méthodes pharmacologiques, immunocytochimiques et histochimiques. Les collecteurs lymphatiques mésentériques montrent en nombre modéré des fibres nerveuses noradrénégiques, positives pour l'acétylcholinestérase et peptidergiques. Le traitement pharmacologique par les neurotoxines 6-hydroxydopamine et capsaicine interfère avec le pattern observé d'innervation. Ces observations pharmacologiques suggèrent que les collecteurs lymphatiques mésentériques possèdent des fibres nerveuses sensorielles et autonomes.

**Key words :** Lymphatics - Mesentery - Innervation - Histochemistry - Immunocytochemistry - Peptides - Capsaicin.

### Reprints request to

Prof. Corradino Fruscelli  
Institute of Histology and General Embryology  
University of Siena  
Via Laterino 8 - 53100 Siena - Italy  
Fax 39 577 45570.

### INTRODUCTION

It is well known that lymph vessels carry out the important function of bringing cells, proteins and excess tissue fluid (coming from blood capillaries) into the blood circulation (Mc HALE, 1990). The progression of the lymph inside the lymph collectors is essentially an active process and dependent on the spontaneous rhythmic contraction of the smooth muscle of the lymph wall (OHHASHI et al., 1980). Therefore both the regulation of the tissue fluid volume and the normal circulation of lymphocytes depend mainly on the proper functioning of the lymph vessel pump (Mc HALE, 1990). The regulation of the spontaneous contractile activity of the lymph wall smooth muscle is mainly myogenic but it also depends on the action of humoral and nervous factors (JOHNSTON, 1985) and on the action of neurotransmitters released by nervous fibers in the lymph vessel wall (Mc HALE, 1985).

Therefore, a thorough grasp of the functioning of lymph vessel innervation is important for understanding the frequency and strength modulation mechanisms of the smooth muscle contractions.

Moreover, lymph vessel innervation also has a part to play in our understanding of the mechanisms regarding the regulation of lymph flow in physiological and pathological conditions. Unfortunately the majority of studies on lymph vessel innervation date back to the last century (DOGIEL, 1897) and to the beginning of this one (KYTMANOF, 1901 ; LAWRENTJEW, 1925) and since they are based on the use of silver staining methods and offer only a general picture of the nerve fiber distribution in the lymph wall, they are not able to provide any information on the type of nerve fibers, on the neurotransmitters in use and the relationship between nerve terminals and smooth muscle cells of the lymph vessel wall.

More recently, a number of ultrastructural and histochemical studies have been carried out which have provided new and more precise information about this topic (ALESSANDRINI et al., 1981 ; OHHASHI et al., 1982 ; FRUSCHELLI et al., 1988 ; ALESSANDRINI et al., 1990 ; GUARNA et al., 1991).

Ultrastructural studies carried out in guinea pigs and in humans have shown the presence of a number of unmyelinated nerve fibers situated in the adventitia of the lymph collectors at a variable distance from the smooth muscle cells of the outermost layer of the media (200 / 600 nm). In lymph vessels, as in blood vessels, direct innervation only exists for a few of the smooth

muscle cell which are reached by axon varicosities, which in any case are situated at a distance not less than 200 nm (ALESSANDRINI et al., 1981). Human inguinal lymph collectors have a relatively large amount of axon varicosities near the outer contractile elements of the lymph vessel wall. Here too, the varicosities do not form a synapsis and show numerous vesicles with heterogeneous content (FRUSCHELLI et al., 1988).

Histochemical studies have shown the presence of catecholaminergic and AChE positive nerve fibers in the mesenteric lymph vessel wall in guinea pigs (ALESSANDRINI et al., 1981) and in mesenteric lymph vessels of cattle (OHHASHI et al., 1982). It has also recently been shown that peptidergic nerve fibers containing substance P (SP) and Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) are also present in mesentery lymph collector adventitia (OHHASHI et al., 1983; ALESSANDRINI et al., 1990; GUARNA et al., 1991).

However, these histochemical data are incomplete and insufficient to give a detailed knowledge of the type and / or the nature of the nerve fibers present in the lymphatic wall. The histochemical methods for catecholamines previously employed are not in fact able to distinguish among nerve fibers containing noradrenaline, dopamine, serotonin (STEINBUSH et al., 1986). In response to this problem, immunocytochemical techniques employing antibodies against the biosynthetic enzymes of the catecholamines have recently been used to localize noradrenergic nerve fibers (STEINBUSH et al., 1986). In the same way, the histochemical method for AChE containing nerve fibers is not specific for the cholinergic fibers because AChE reaction product is also associated with SP immunoreactive (SP-IR) sensory nerve fibers (PAPKA et al., 1981). Therefore, the present study was undertaken in order to :

- a) confirm and extend, by immunocytochemical methods, the previous histochemical data on the presence and distribution in the guinea pig mesentery lymphatic collectors of nerve fibers containing classical neurotransmitters and neuropeptides ;
- b) establish the nature of the nerve fibers localized by immunocytochemistry, by testing the effect on the observed pattern of innervation, of capsaicin and 6-OHDA, two neurotoxins specific for nerve fibers belonging to different subdivisions of the peripheral nervous system (THOENEN and TRANZER, 1968; JESSEL et al., 1978; HOLZER et al., 1980; PAPKA et al., 1984) ;
- c) test the acute effect of capsaicin treatment on the nerve fibers in the lymphatic collectors by electron microscopy in order to demonstrate the presence and the distribution of capsaicin sensitive sensory nerve fibers and terminal in the lymphatic wall.

## MATERIALS AND METHODS

A total of 30 male guinea pigs (weighing between 150-200 gr) was used in this study. The animals were killed by decapitation under ether anesthesia. The mesenteries were removed as soon as the abdomen was opened and were laid out on balsa wood, fixed and processed as whole mounts for immunocytochemistry according to COSTA's technique (1980) or for AChE histochemistry.

## IMMUNOCYTOCHEMISTRY

The antisera employed for the immunocytochemical reactions, are : rabbit anti bovine adrenaldopamine-B hydroxylase (DBH) (Chemicon International Inc.) ; rat monoclonal antibody anti SP (clone n°NCL/34HL, Sera Lab., Oxford, U.K.) (CUELLO et al., 1979) ; rabbit anti VIP (Immuno-nuclear Co. StillWater, MN, USA) ; rabbit anti synthetic rat alfa calcitonin gene related peptide (CRGP) (Chemicon International Inc.).

In order to localize the reaction product an indirect immunofluorescence technique was employed (COONS et al., 1958). The stretched preparations were incubated in a humid atmosphere at 4° C for 48 hrs with the primary antibodies (dilutions : 1:100 for anti DBH ; 1:80 for anti SP ; 1:200 for anti VIP ; 1:800 for anti CGRP) followed by incubation with the secondary antibodies : fluorescein isothiocyanate (FITC) conjugated goat antirabbit IgG (1:40) (Sigma Chemicals) and FITC conjugated goat antirat IgG (1:20) (Sigma Chemicals) for two hs at room temperature. The preparations were then mounted in glycerine phosphate buffered saline (PBS) (3:1, v/v) and observed under a Zeiss Axiomat microscope equipped with excitation and barrier filters for FITC. Controls were made by incubating the antibodies in excess of antigens, by omitting the first antisera, and using non immune sera instead. No immunostaining of nerve fibers was observed in any case.

## HISTOCHEMISTRY FOR AChE

The mesenteries were stretched out and fixed at 4° C in 10 % formaldehyde containing 1 % CaCl<sub>2</sub> for a night. Then they were processed according to the KARNOVSKY-ROOTS method (1964).

Controls were made by omitting the substrate or replacing isompa with eserine.

## PHARMACOLOGICAL TREATMENT

A group of guinea pigs were injected daily under the skin with capsaicin (Sigma Chemicals) in increasing doses 25 mg/Kg the first day ; 50 mg/Kg the second day ; 100 mg/Kg the third day ; 200 mg/Kg the fourth day ; 400 mg/Kg the fifth day ; the capsaicin was dissolved in a mixture of ethanol, tween 80, saline (1:1:8, v/v/v). Seven days after the last treatment the animals were killed and the mesenteries were removed and then treated for immunocytochemistry as above or for AChE histochemistry. A second group of guinea pigs was treated with 6-OHDA (Sigma Chemicals). The drug was dissolved in distilled water containing ascorbic acid (1 mg/ml) and injected under the skin : 200 mg/Kg the first day ; 300 mg/Kg the seventh day. The mesenteries were removed on the ninth day and processed for immunocytochemistry as above. Control groups for capsaicin and 6-OHDA were only treated with the solvents.

To examine the acute effects of capsaicin on nerve fibers in the lymph vascular wall, another group of guinea pigs was injected subcutaneously with a single dose of capsaicin (50 mg/Kg) dissolved in the same vehicle used for the chronic treatment. Control animals received only the diluent. Capsaicin treated and control animals were killed 24 hours later, the mesenteries rapidly removed and processed for conventional electron microscopy.

## RESULTS

Lymphatic collectors possess a moderate supply of DBH-IR, AChE containing nerve fibers, and peptidergic ones (SP-IR ; VIP-IR ; CGRP-IR). The most numerous nerve fibers are the noradrenergic ones which mostly show a longitudinal course (Fig. 1). The noradrenergic innervation appears to be discontinuous and, in long tracts of the wall, there is no innervation (Fig. 2). Any preferential innervation between the perivalvular tracts and the intervalvular segments was not observed. On the other hand, the mesenteric arteries and veins show a greater innervation of the corresponding lymph vessels (Fig. 2 - 3). The histochemical reaction for AChE fibers shows the existence of a small number of AChE containing nerve fibers in the lymph vascular wall. These fibers often derive from large nerve trunks running parallel to the lymph collectors which are mostly disposed longitudinally (Fig. 4). In this case the mesentery arteries and veins also show a greater number of AChE containing nerve

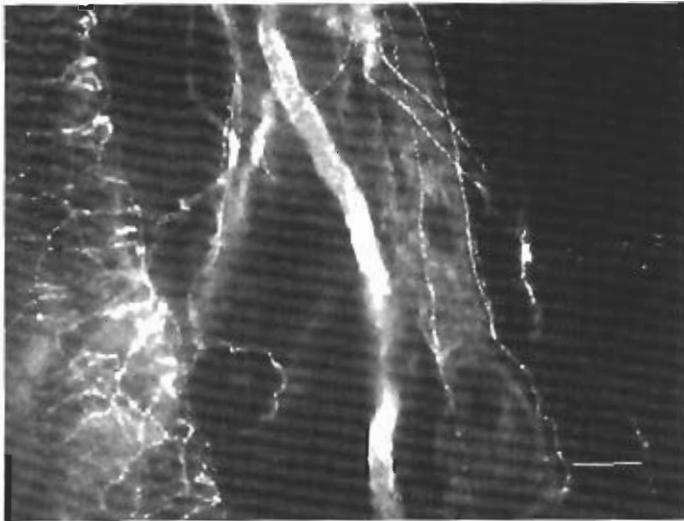


Figure 1.

Mesenteric lymph collector and vein, whole mount.  
Rare DBH-IR nerve fibers with a longitudinal course,  
are present in lymph vascular wall. Venous wall shows  
a loose fluorescent network of nerve fibers with uniform pattern.  
Bar = 25  $\mu$ m.

Veine et collecteur lymphatique mésentérique.

Quelques rares fibres nerveuses DBH-IR positives courent  
longitudinalement dans la paroi vasculaire lymphatique. La paroi  
veineuse montre un réseau de fibres nerveuses fluorescentes.

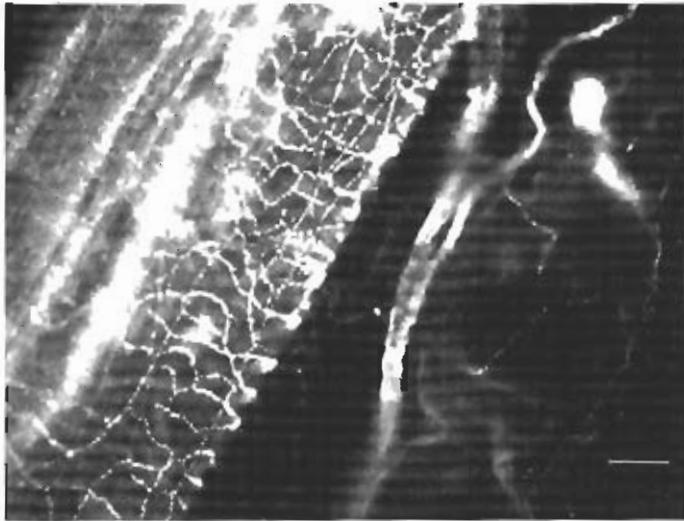


Figure 2.

Mesenteric lymphcollector, vein and artery, whole mount.  
Some fine DBH-IR nerve fibers in the intervalvular tract  
of a lymphangion. The adjacent vein shows  
a loose fluorescent network of nerve fibers.

Bar = 50  $\mu$ m.

Artère, veine et collecteur lymphatique mésentérique.

Quelques fines fibres nerveuses DBH-IR sont observées au niveau  
d'un espace intervalvulaire d'un lymphangion. La veine adjacente  
montre un réseau de fibres nerveuses fluorescentes.

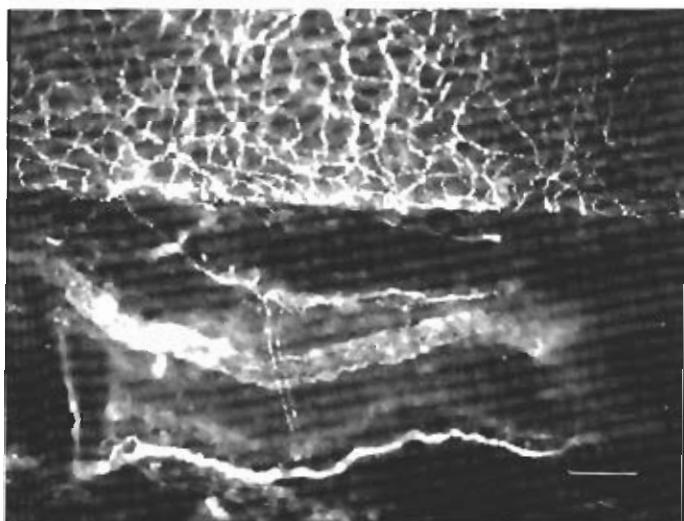


Figure 3.

Mesenteric lymph collector and vein, whole mount.  
Lymph collector shows few DBH-IR nerve fibers transversally  
oriented in the wall, while in the vein the nerve fibers  
form a dense and intensely fluorescent network.  
Bar = 50  $\mu$ m.

Collecteur lymphatique et veine mésentérique.

Le collecteur lymphatique montre quelques fibres nerveuses  
orientées transversalement dans la paroi tandis que dans la veine  
celles-ci forment un réseau dense.

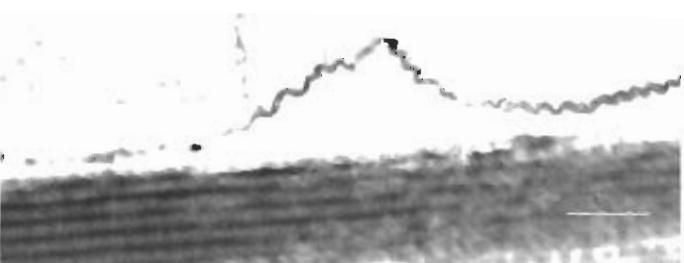


Figure 4.

A stretch preparation of mesenteric lymph collector and artery.  
Few AChE positive nerve fibers which seem to derive  
from a large nerve trunk running parallel to the lymph collector,  
are visible in the lymphatic wall. The adjacent artery  
shows a loose network of nerve fibers.  
Bar = 25  $\mu$ m.

Préparation d'artère et collecteur lymphatique mésentérique.

Quelques fibres nerveuses AChE positives  
sont visibles dans la paroi lymphatique qui semblent provenir  
d'un large tronc nerveux qui court parallèlement  
au vaisseau lymphatique.  
L'artère adjacente montre un important réseau de fibres nerveuses.

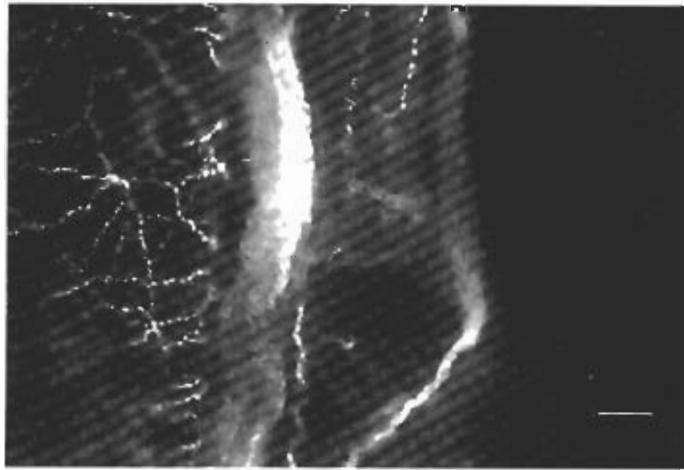


Figure 5.

Mesenteric lymph collector and vein, whole mount.  
SP-IR nerve fibers with a longitudinal course  
in the lymphatic adventitia. The vein shows a loose network  
of fluorescent nerve fibers.  
Bar = 50  $\mu$ m.

Collecteur lymphatique et veine mésentérique.  
Fibres nerveuses SP-IR positives courant longitudinalement  
dans l'adventice lymphatique.  
La veine montre un réseau de fibres nerveuses fluorescentes.

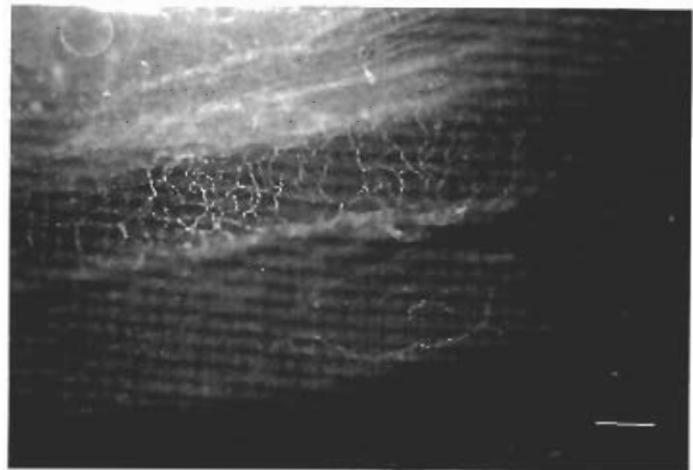


Figure 6.

Mesenteric lymph collector and vein, whole mount.  
Rare CRGP-IR nerve fibers are visible in the lymphatic wall.  
The vein shows a loose and regular network  
of fluorescent nerve fibers.  
Bar = 50  $\mu$ m.

Collecteur lymphatique et veine mésentérique.  
De rares fibres nerveuses CRGP-IR positives sont visibles  
dans la paroi lymphatique. La veine montre un réseau régulier  
de fibres nerveuses fluorescentes.

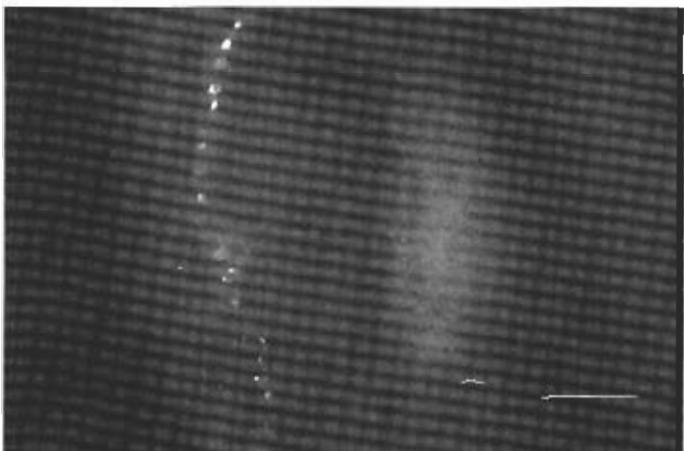


Figure 7.

A stretch preparation of a mesenteric lymph collector.  
A single VIP-IR nerve fiber in the lymph collector adventitia.  
Bar = 20  $\mu$ m.

Collecteur lymphatique mésentérique.  
Une fibre nerveuse VIP-IR positive unique est observée  
dans l'adventice de celui-ci.

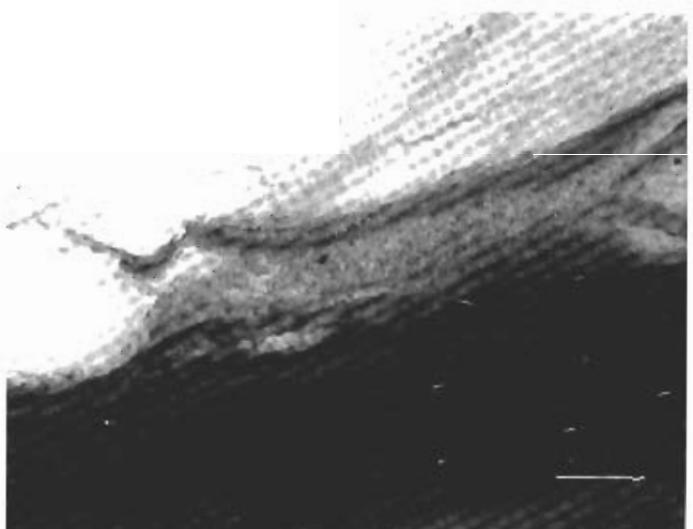


Figure 8.

Mesenteric lymph collector and vein  
from a capsaicin-treated animal, whole mount.  
Capsaicin has substantially reduced the number of visible AChE  
positive nerve fibers in the vessels. An AChE positive nerve fiber  
running in the mesentery is not affected.  
Bar = 25  $\mu$ m.

Collecteur lymphatique et veine mésentérique  
d'un animal traité à la capsaïcine.  
Cette dernière a substantiellement réduit le nombre de fibres  
nerveuses AChE positives visibles dans les vaisseaux.  
Une fibre nerveuse AChE positive courant dans le mésentère  
n'est pas affectée.

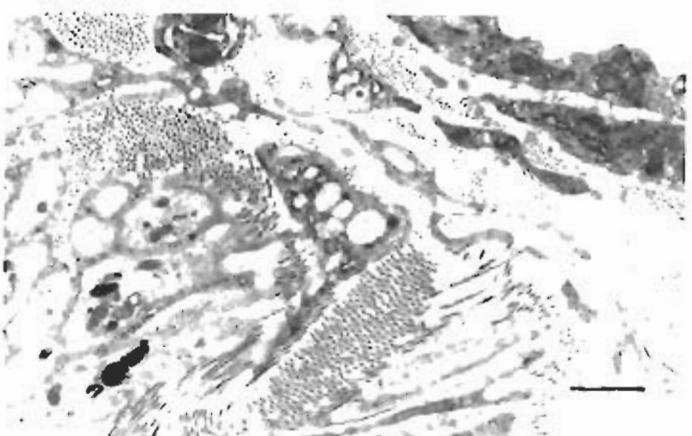
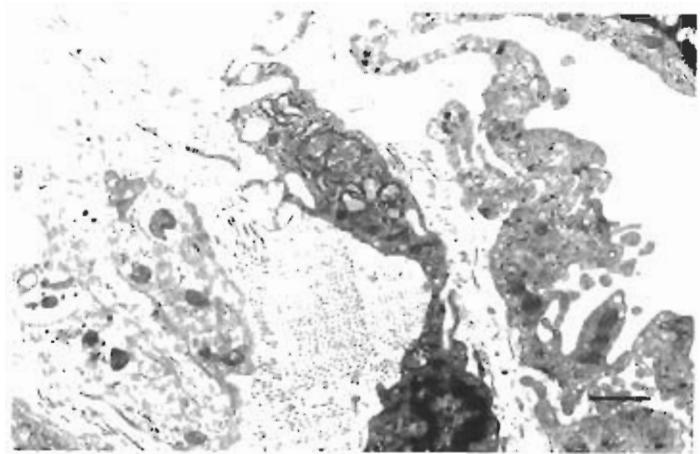


Fig. 9 - 10.

*Electron micrographs. Unmyelinated nerve fibers in the adventitia of a mesenteric lymph collector from an animal treated with capsaicin. The nerve fibers located at the media adventitia junction of a mesenteric lymph collector show degenerative changes consisting of axons containing various amounts of electron dense or pleomorphic material surrounded by or embedded in Schwann cell cytoplasm. Bar = 1 um.*

*Microscopie électronique de fibres nerveuses non myélinisées dans l'aventice d'un collecteur lymphatique mésentérique d'un animal traité par la capsaïcine. Les fibres nerveuses situées à la jonction de l'aventice moyen d'un collecteur lymphatique mésentérique montrent des modifications dégénératives représentées par des axones contenant des quantités variables de matériel pléomorphe ou opaque aux électrons entourés par ou encastrés dans le cytoplasme des cellules de Schwann.*

fibers than lymph collectors (Fig. 4). Lymph collectors also possess a moderate number of peptidergic fibers in the adventitia (Fig. 5). The most numerous appear to be the CGRP-IR fibers (Fig. 6) while the least numerous are the VIP-IR ones (Fig. 7). All these peptidergic nerve fibers appear to be more numerous and regularly distributed along the arterial and venous wall of the same area, where they form a dense regular network in the former and a loose and less regular one in the latter (Figs. 5-6).

#### EFFECT OF DRUGS

Capsaicin treatment causes a complete disappearance of the SP-IR and CGRP-IR nerve fibers in the lymphatic wall and in the corresponding artery and vein wall, and considerably reduces the number of visible AChE containing nerve fibers in the same vessels. However, nerve trunks containing AChE and running in the mesentery are not affected (Fig. 8). On the other hand, capsaicin treatment has no effect on DBH-IR and VIP-IR nerve fibers while 6-OHDA treatment causes a complete disappearance of DBH-IR nerve fibers in the lymphatic collectors and in the mesentery arteries and veins. It has, however, no effect on SP-IR, VIP-IR and CGRP-IR nerve fibers in the same vessels.

#### ACUTE EFFECT OF CAPSAICIN : ELECTRON MICROSCOPY

Electron Microscopy revealed alterations in lymphatic wall nerve fibers of capsaicin treated animals. Ultrastructural changes were evident in unmyelinated nerve fibers located at the junction of the media and adventitia and the near the smooth muscle of the media. The degenerative changes most frequently observed consist of axons containing various amounts of electron dense material or pleomorphic material surrounded by or embedded in Schwann cell cytoplasm (figs 9 - 10).

#### DISCUSSION AND CONCLUSION

Our results show that mesenteric lymph collectors possess a moderate supply of nerve fibers containing classical neurotransmitters and neuropeptides localized in the adventitia. The most numerous immunoreactive nerve fibers appear to be the DBH-IR ones while the peptidergic ones seem to be rarer with slight differences in density among them. The use of whole mount preparations shows that innervation of lymph collectors is discontinuous with long tracts of lymph vascular wall devoid of any nerve fibers. Moreover, any preferential innervation of the intertruncular segments, which are furnished with a more developed muscle coat, is not observable. All the immunoreactive nerve fibers seem to be more numerous and more regularly distributed along the corresponding arterial and vein wall.

Pharmacological treatment with capsaicin and 6-OHDA interferes with the observed pattern of innervation and reveals the existence of nerve fibers in the lymph vascular wall belonging to different subdivisions of the peripheral nervous system (PNS). In fact, 6-OHDA treatment causes the total disappearance of DBH-IR nerve fibers while it has no effect on the AChE containing nerve fibers. On the other hand, capsaicin has no effect on DBH-IR nerve fibers although it causes the disappearance of the majority of the AChE positive nerve fibers in the lymph vessel adventitia and in that of the corresponding blood vessels. This data suggests that DBH-IR nerve fibers are sympathetic fibers while the majority of the AChE positive nerve fibers shown previously in mesentery lymph collectors and blood vessels (ALESSANDRINI et al., 1981) are sensory in nature. Only a very small number of AChE containing nerve fibers might be efferent parasympathetic nerve fibers containing acetylcholine (ACh). On the basis of such morphological evidences, we might speculate as to whether the rare noradrenergic innervation observed in the lymph collectors has some functional significance. Physiological and pharmacological studies of lymph collectors in

laboratory animals showed the presence of alfa 2 and beta receptors in lymphatic smooth muscle cells (Mc HALE, 1990).

The stimulation of such receptors has both an excitatory effect (alfa 2) and an inhibitory one (beta) on the spontaneous contractility of the lymph vessels (Mc HALE, 1990). Stimulation of the sympathetic nervous system in the living animal increases the contractile activity of the collector pump and lymph flow (Mc GEOWN et al., 1987). However, the effect of such a stimulation on cardiovascular homeostasis is not clear. Probably, the sympathetic innervation of the lymph collector is more important in the regulation of the lymphocyte circulation than in the control of tissue volume (Mc HALE, 1989).

On the other hand, pharmacological data providing convincing evidence for the existence of a cholinergic innervation of lymph collectors is still lacking (Mc HALE, 1985) and this is in agreement with the present morphological and pharmacological findings. Our immunocytochemical studies confirm and extend previous findings on the peptidergic innervation of the lymph vessel wall (ALESSANDRINI et al., 1990 ; GUARNA et al., 1991). Lymph collectors possess a small number of SP, VIP and CGRP-IR nerve fibers in the adventitia. These peptidergic fibers belong to different subdivisions of the PNS as suggested by pharmacological data. In fact, 6-ODHA has no effect on these peptidergic fibers while capsaicin causes the total disappearance of the SP-IR and CGRP-IR nerve fibers in the lymph wall while it has no effect on the VIP-IR ones. Therefore, the VIP-IR nerve fibers in the lymph vascular wall might be parasympathetic in nature while the SP and CGRP-IR ones might be sensory fibers. The presence of such peptidergic nerve fibers of autonomic and sensory origin raises questions about their functional role. VIP, a peptide with 28 aminoacid residues isolated in pig intestine, is present in CNS and PNS neurons and nervous fibers (SAID, 1986). Histochemical studies have revealed the presence of VIP-IR nervous fibers in the blood vessel wall of various vessel beds (UDDMAN et al., 1981 ; DELLA et al., 1983). VIP is a powerful vasodilator capable of relaxing the smooth muscle of the blood vessel belonging to various areas (LUNDBERG et al., 1982). In particular, VIP seems to mediate the atropine resistant vasodilator reaction observed upon parasympathetic nerve stimulation in some vascular areas (LUNDBERG et al., 1982). In vitro, it is capable of inducing an atropine resistant relaxation of the mesenteric lymph vessels isolated in cattle and precontracted with bradikinin (OHHASHI et al., 1983). Therefore, our results, together with pharmacological data present in the

literature (OHHASHI et al., 1983), suggest that VIP contained in autonomic nervous fibers might have a vasoconstrictor function in the mesenteric lymph collector wall.

On the other hand, SP and CGRP are also powerfull vasodilators in vivo and in vitro (HALLBERG and PERNOW, 1975 ; BRAIN et al., 1985) ; UDDMAN et al., 1986 ; BENJAMIN et al., 1987). In particular in mesenteric lymph vessels isolated in vitro, SP has a vasodilator action even if this action is less marked than that of VIP (OHHASHI et al., 1983). Our data suggests that these peptides are colocalized in the same capsaicin sensitive sensory nerve fibers in the lymph vascular wall and in that of the corresponding blood vessels. The capsaicin sensitive nerve fibers are unmyelinated sensory fibers (C-fiber afferents) (FITZGERALD, 1983). The stimulation of these fibers (by e.g. capsaicin) causes central autonomic reflexes (both vasodilation by parasympathetic mechanisms in certain organs as well as sympathetic vasoconstrictor responses in other regions as well as release of multiple peptides at the site of the stimulation and more distantly via propagating axon reflex mechanisms (LUNDBERG, 1991). In tissues such as the iris, skin and gut, SP and CGRP could be released by sensory nerve endings following their activation by capsaicin or by antidromic nerve stimulation (HOLZER, 1988). These peripheral axon reflexes generated by stimulation of sensory endings containing SP and CGRP may produce local plasma extravasation which is primarily a function of SP release as well as vasodilation which is mediated to a greater extent by CGRP (LUNDBERG and HÖCKFELT, 1986). Moreover, electron microscopy findings confirm the presence of capsaicin sensitive nerve fibers in the lymph vascular wall. These fibers, which show a variable degree of degeneration (after systemic treatment with capsaicin), are unmyelinated and are located near the smooth muscle cells of the media. The presence in the lymphatic wall, as in blood vessels (PAPKA et al., 1984), of capsaicin sensitive sensory fibers containing vasoactive neuropeptides and located near the smooth muscle cells of the media, suggest that these fibers could have a function in the reflex control of lymphatic collector smooth muscle tone and / or in the coordination of the lymph vessel contractility.

In conclusion, our immunocytochemical, pharmacological and ultrastructural data shows that lymph vessels display a complex pattern of innervation consisting of autonomic and sensory nerve fibers containing classical neurotransmitters and / or neuropeptides.

## REFERENCES

1. ALESSANDRINI C., GERLI R., SACCHI G., IBBA L., PUCCI A.M. and FRUSCHELLI C. (1981) — Cholinergic and adrenergic innervation of mesenteric lymph vessels in guinea pig. *Lymphology*, 14 : 1-6.
2. ALESSANDRINI C., GUARNA M., PUCCI A.M., GERLI R., IBBA L., D'ANTONA D., FRUSCHELLI M. and FRUSCHELLI C. (1990) — Peptidergic innervation of the mesenteric lymph vessel in guinea pig. In : *Progress in Lymphology*, XII. M. NISHI, S. UCHINO and S. YABUKI, Eds. Elsevier Science Publishers B.V. : 551-552.
3. BENJAMIN N., DOLLERY C.T., FULLER R.W., LARKIN S. and McEWAN J. (1987) — The effects of calcitonin gene related peptide and Substance P on resistance and capacitance vessels. *Br. J. Pharmac.*, 90, 39 p.
4. BRAIN S.D., WILLIAMS T.J., TIPPINS J.R., MORRIS H.R. AND Mc INTYRE I. (1985) — Calcitonin gene - related peptide is a potent vasodilator. *Nature*, 313, 54-56.
5. COONS A.H. (1958) — Fluorescence antibody methods : in general cytochemical methods. Ed. DANIELLI F., Academic Press, New York, 399-422.
6. COSTA M., BUFFA R., FURNESS J.B. and SOLCIA E. (1980) — Immunohistochemical localization of polypeptides in peripheral autonomic nerves using whole mount preparations. *Histochemistry*, 65, 157-165.
7. CUELLO A.C., GALFRE G. and MILSTEIN C. (1979) — Detection of substance P in central nervous system by a monoclonal antibody. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 3532-3536.
8. DELLA N.G., PAPKA R.E., FURNESS J.B. and COSTA M. (1983) — Vasoactive intestinal peptide-like immunoreactivity in nerves associated with the cardiovascular system of guinea pigs. *Neuroscience*, 9, 605-619.
9. DOGIEL (1987) — Die Nerven der Lymphgefässe. *Arch. Mikr. Anat.*, 49 : 791.
10. FITZGERALD M. (1983) — Capsaicin and sensory neurons. A review. *Pain*, 15, 109-130.
11. FRUSCHELLI C., GERLI R., ALESSANDRINI C., IBBA L., PUCCI A.M., GUARNA M. and LOSI M. (1988) — Ultrastructure of the lymph vessels in the lower limbs in man. In : *Partsch H. Ed. Proc. XI Internat. Congress of Lymphology*. Amsterdam. Elsevier, 159-164.

12. GUARNA M., PUCCI A.M., ALESSANDRINI C., VOLPI N., FRUSCHELLI M., D'ANTONA D., FRUSCHELLI C. (1991) — Peptidergic innervation of mesenteric lymphatics in guinea pigs : an immunocytochemical and pharmacological study. *Lymphology*, vol. 24, n° 4 (in press).
13. HALLBERG D., PERNOW B. (1975) — Effects of substance P on various vascular beds in the dog. *Acta Physiol. Scand.*, 93 : 277-285.
14. HOLZER P., GAMSE R., LEMBECK F. (1980) — Distribution of substance P in rat gastrointestinal tract-lack of effect of capsaicin pretreatment. *Eur. J. Pharm.*, 61 : 303-307.
15. HOLZER P. (1988) — Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings : involvement of tachykinins, calcitonin gene related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience*, 24 : 739-768.
16. JESSEL T.M., IVERSEN L.L. and CUELLO A.C. (1978) — Capsaicin-induced depletion of substance P from primary sensory neurons. *Brain Res.*, 152 : 183-188.
17. JOHNSTON M.G. (1985) — Involvement of lymphatic collecting ducts in the physiology and pathophysiology of lymph flow. In : JOHNSTON MG (Ed.) *Experimental biology of the lymphatic circulation*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B.V., 81-120.
18. KARNOVSKY M.J. and ROOTS L. (1964) — A direct colouring thiocoline method for cholinesterase. *J. Histochem. and Cytochem.*, 12 : 219-221.
19. KYTMANOF K.A. (1901) — Über die Nervenendigungen in den Lymphgefassen der Säugetiere. *Anat. Anz.*, 19 : 369.
20. LAWRENTJEW A.P. (1925 / 26) — Zur Lehre von der Innervation des Lymphsystems. Über die Nerven des Ductus Toracicus beim Hunde. *Anat. Anz.*, 60 : 475-481.
21. LUNDBERG J.M., ANGGARD A., FANRENKRUNG J. (1982) — VIP as a mediator of hexamethonium sensitive atropine-resistant vasodilation in the cat tongue. *Acta Physiol. Scand.*, 116, 387-392.
22. LUNDBERG J.M. and HOKFELT T. (1986) — Multiple coexistence of peptides and classical neurotransmitters in peripheral autonomic and sensory neurons - Functional and pharmacological implications. In : *Progress in Brain Research* (HOKFELT T., FUXE K. and PERNOW B. Eds.), vol. 68, 241-262. Elsevier, Amsterdam-New York.
23. LUNDBERG J.M., FRANCO-CEREDA A., LACROIX J.S., PERNOW J. (1991) — Release of vasoactive peptides from autonomic and sensory nerves. *Blood vessels*, 28 : 27-34.
24. Mc GEOWN J.G., MC HALE N.G., THORNBURY K.D. (1987) — The effect of electrical stimulation of the sympathetic chain on popliteal efferent lymph flow in the anaesthetised sheep. *J. Physiology*, 393 : 123-133.
25. MC HALE N.G. (1985) — Innervation of the lymphatic circulation. In : JOHNSTON MG (Ed.) *Experimental biology of the lymphatic circulation*. Amsterdam : Elsevier Science Publisher B.V., 121-140.
26. MC HALE N.G., THORNBURY K.D. (1989) — Increased leukocyte output from the popliteal node in response to stimulation of the sympathetic chain in the anaesthetised sheep. *J. Physiol.*, 418 : 176.
27. MC HALE N.G. (1990) — Lymphatic innervation. *Blood vessels*, 27 : 127-136.
28. OHHASHI T., AZUMA T., SAKAGUCHI M. (1980) — Active and passive mechanical characteristics of bovine mesenteric lymphatics. *Am. J. Physiol.*, 239 : H88-H95.
29. OHHASHI T., KOBAYASHI S., TSUKAHARA S., AZUMA T. (1982) — Innervation of bovine mesenteric lymphatics : from the histochemical point of view. *Microvasc. Res.*, 24 : 377-385.
30. OHHASHI T., OLSCHOWKA J.A., JACOBOWITZ D.M. (1983) — Vasoactive intestinal peptide inhibitory innervation in bovine mesenteric lymphatics. *Circul. Res.*, 53 : 535-538.
31. PAPKA R.E., FURNESS J.B., DELLA N.G. and COSTA M. (1981) — Depletion by capsaicin of substance P immunoreactivity and acetylcholinesterase activity from nerve fibers in the guinea pig heart. *Neurosci. Lett.*, 27, 47-53.
32. PAPKA R.E., FURNESS J.B., DELLA N.G., MURPHY R. and COSTA M. (1984) — Time course of effect of capsaicin on ultrastructure and histochemistry of substance P-immuno reactive nerves associated with the cardiovascular system of the guinea pig. *Neuroscience*, 12 : 1277-1292.
33. SAID S.I. (1986) — Vasoactive intestinal peptide. *J. Endocrinol. Invest.*, 9, 191-200.
34. STEINBUSH H.W.M., DE VENTE J. and SCHIPPER J. (1986) — Immunohistochemistry of monoamines in the central nervous system. In : *Neurohistochemistry : modern methods and applications*. ALAN R., Liss Ed., 75-105.
35. THOENEN H. and TRANZER J.T. (1968) — Chemical sympathectomy by selective destruction of adrenergic nerve endings with 6-OHDA. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Path. Pharmac.*, 261, 271-288.
36. UDDMAN R., ALUMETS J., EDVINSSON L., HAKANSON R. and SUNDLER R. (1981) — VIP nerve fibers around peripheral blood vessels. *Acta Physiol. Scand.*, 112, 65-70.
37. UDDMAN R., EDVINSSON L., EKBLAD E., HAKANSON R. and SUNDLER F. (1986) — Calcitonin gene-related peptide (CGRP) : perivascular distribution and vasodilatory effects. *Reg. Pep.*, 15 : 1-23.