

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 4 • No. 16 • 1993-1994

INDEXED IN *EXCERPTA MEDICA*.

## SUMMARY

### CLINICAL SCIENCES

#### Original article

- Physiopathologie des chylifères chez le chien et chez l'homme. Intérêt dans les transplantations de l'intestin grêle. — Physiopathology of chyliferous vessels in dogs and humans. Relevance to small intestine transplants. (article in french and in english) — M. SERVELLE p. 95

### BASIC SCIENCES

#### Original articles

- Apparition et croissance embryonnaire des lymphatiques du poumon et du cœur chez l'homme. — Origin and embryonic growth of lymphatics of heart and lungs in human. (article and summaries in french and in english) — RIQUET M., LE PIMPEC-BARTHES F., DUPONT P., HIDDEN G. p. 99
- Ultrastructural study on the pleural stomata in human. — Etude ultrastructurale des stomates de la plèvre humaine. (article in english, summaries and legends in french and in english) — JICHENG LI p.111
- Microlymphatic and thromboembolic disease in acute spinal cord injury. A morphological study on skin biopsies. (article in english, summaries and legends in french and english) — SCELSI R., LOTTA S., POGGI P., BOCCHI R., SCELSI L. p.115

### LETTERS TO THE EDITOR

- No free flow of oedema fluid along the tissue spaces after MLD — Pas de transfert libre du liquide lymphatique dans les espaces tissulaires après DLM. (in english and french). p.121
- The interpretation of lymphoscintigraphy removal rate constants. (in english). p.123

### CONGRESS REPORTS

- Review of the Prague Symposium on lymphology "LYMPHO 94" — Prof. K. BENDA p.125

CALENDAR : XVth International Congress of Lymphology  
25th, 26th September 1995 - Recife  
27th, 28th, 29th, 30th September 1995 - São Paulo - Brasil

## Physiopathologie des chylifères chez le chien et chez l'homme. Intérêt dans les transplantations de l'intestin grêle.

## Physiopathology of chyliferous vessels in dogs and humans. Relevance to small intestine transplants.

Marceau SERVELLE

En janvier 1951, utilisant le rein d'un condamné à mort, nous avons réalisé la première transplantation rénale (1) avec une survie de 19 jours. Aussi, avons nous suivi avec intérêt les autres transplantations d'organes (cœur, poumon et organes intraabdominaux).

Thomas E. STARZL de Pittsburg, après une première tentative de greffe du foie en 1963, réalise avec succès cette transplantation hépatique chez l'homme en 1967. Dans son livre remarquable publié en 1992, "THE PUZZLE PEOPLE. MEMOIRS OF A TRANSPLANT SURGEON." (2), il résume ses recherches cliniques et expérimentales d'une importance considérable, d'abord sur les greffes du rein depuis 1965, puis sur la transplantation du foie et surtout la mise au point du traitement antirejet. Ensuite il associe à ces transplantations hépatiques les greffes de l'intestin grêle. C'est à ces dernières que nous nous intéressons dans le présent mémoire.

### PHYSIOLOGIE DES CHYLIFÈRES. GÉNÉRALITÉS.

Il y a 15 ans, au cours d'un voyage à Houston, nous découvrons un livre intitulé "GASTROINTESTINAL PHYSIOLOGY" par SERNKA et JACOBSON (1979) (3). Surpris de ne trouver aucun chapitre consacré à l'absorption par les lymphatiques de l'intestin grêle, nous avons cherché dans l'index pour trouver une seule référence sur ce sujet.

Par contre, Mark RAVITCH, en 1966, rassemble en 2 gros volumes, les 269 publications réalisées par Alfred BLALOCK au cours de sa carrière universitaire : "THE PAPERS OF ALFRED BLALOCK" (4). Nous trouvons dans le tome I,

---

**Key words** : Chyliferous vessels, chyle, animal, human, transplants, surgery.

---

Reprints request to :

Marceau SERVELLE  
Chirurgien cardiovasculaire  
16, rue Spontini  
F - 75116 Paris.

In January 1951, we performed the first kidney transplant (1), using the kidney from a condemned person, following which the patient survived for 19 days. We therefore followed other organ transplants with interest (heart, lung and intra-abdominal organs).

After an initial attempt at a liver transplant in 1963, Thomas E. STARZL from Pittsburg successfully carried out a human liver transplant in 1967. In his remarkable book, published in 1992, "THE PUZZLE PEOPLE. MEMOIRS OF A TRANSPLANT SURGEON." (2), he summarises his significant clinical and experimental research, firstly into kidney transplants since 1965 and then into liver transplants and, in particular, perfection of the anti-rejection treatment. He then links small intestine transplants to these liver transplants. The present paper will deal specifically with the latter transplants.

### PHYSIOLOGY OF CHYLIFEROUS VESSELS. GENERAL.

Fifteen years ago, during a trip to Houston, we came across a book entitled "GASTROINTESTINAL PHYSIOLOGY", by SERNKA and JACOBSON (1979) (3). We were surprised not to find a chapter devoted to absorption by the lymph vessels of the small intestine, we looked in the index to find only one reference on this subject.

On the other hand, in 1966, Mark RAVITCH compiled into 2 large volumes the 269 papers published by Alfred BLALOCK during his university career, "THE PAPERS OF ALFRED BLALOCK" (4). In volume 1, page 1116, we find a publication entitled "CHYLOTHORAX AND CHYLOPERITONEUM". A 17-year-old woman presents a double effusion of chyle in the pleura and the peritoneum. Over a period of 19 months 550 litres of chyle are withdrawn by pleural and peritoneal punctures and 11 litres reinjected into the patient intravenously. The same article refers to another publication by BLALOCK, CUNNINGHAM and ROBINSON (*Annals of Surgery*, 1936) : these authors made a ligature of the superior vena cava of several dogs. Half of the dogs present a chylothorax with a fall in blood proteins.

## CHIRURGIE VASCULAIRE et LIGATURES DES CHYLIFÈRES

De 1966 à 1989, chez 500 artérites juvéniles, nous avons associé à la chirurgie vasculaire la ligature des chylifères. Cette double intervention nous a donné à longue échéance des résultats supérieurs à ceux de la seule chirurgie vasculaire. Aucun de nos opérés n'a présenté de troubles digestifs car nos ligatures des lymphatiques intestinaux étaient réalisées sur chaque face du mésentère mais près du grêle. Nous n'avons jamais réalisé de ligature du tronc lymphatique intestinal chez l'homme. Par contre, chez le chien, nous avons effectué quelques ligatures du tronc lymphatique intestinal devant la veine cave inférieure, ainsi que des anastomoses de ce tronc lymphatique intestinal à la veine cave inférieure. De plus, un trocard en plastique placé dans ce tronc lymphatique intestinal permettait la prise de pression à l'aide d'un manomètre électronique. De plus, toutes les heures, nous prélevions du chyle dans ce tronc lymphatique ainsi que du sang dans une veine mésentérique pour faire dans chaque échantillon des dosages des lipides totaux, des protéides et du cholestérol.

## PHYSIOLOGIE DE L'ABSORPTION INTESTINALE et LIGATURES DES CHYLIFÈRES

Nous avons également étudié avec notre test d'hyperlipidémie provoquée l'effet des ligatures des chylifères chez le chien et chez l'homme ainsi que la physiologie de l'absorption par l'intestin grêle. Pour ce test d'hyperlipidémie, nous effectuons une prise de sang à jeûn puis le malade ou le chien absorbe 50 grammes de beurre fondu dans du lait chaud. Des prises de sang sont réalisées toutes les heures pendant 5 heures pour dosages des lipides totaux et des triglycérides ainsi que la densité optique. Sur une courbe, nous portons en abscisse les heures et en ordonnée les lipides totaux ou la densité optique. Chez le sujet normal, ce test montre que les lipides totaux sont à 6 grammes à jeûn ; ils montent à 6,4 grammes à la première heure, à 7 grammes à la 2<sup>me</sup> heure et atteignent leur sommet à 7,3 grammes à la 3<sup>me</sup> heure, puis redescendent à 6,5 gr à la 4<sup>me</sup> heure et se terminent à 5,5 gr à la 5<sup>me</sup> heure. Ce test d'hyperlipidémie provoquée a été réalisé chez 500 artérioscléreux jeunes et chez 300 malformations des chylifères. Au-dessus de la courbe normale s'inscrivent les courbes des lipides totaux des artérioscléreux, des coronariens, des anévrismes artériels et celles des femmes prenant la pilule. Au-dessous de la courbe normale, s'inscrivent les courbes des malformations congénitales des chylifères dont les manifestations cliniques sont variées et souvent graves.

La courbe de densité optique a le même profil que la courbe d'hyperlipidémie provoquée, mais, à la 5<sup>me</sup> heure, nous avons une densité optique à 10 alors qu'au temps 0 elle est à 5.

Toutes nos études des courbes d'hyperlipidémie provoquée après absorption de 50 grammes de beurre sont en totale contradiction avec ce qu'écrivait DAVENPORT dans son livre cité plus haut : " *les graisses absorbées apparaîtraient dans la lymphe 13 heures après le repas gras.* "

Le même auteur prétend également que, après ligature du canal thoracique, l'absorption des graisses diminuerait quelques jours puis reviendrait à la normale par suite de l'ouverture de voies de communications entre les lymphatiques de l'intestin et les veines mésentériques. Ni au cours de nos laparotomies, ni après nos lymphographies intestinales, nous n'avons vu ces passages du produit opaque des lymphatiques de l'intestin grêle vers les veines mésentériques supérieures. De même, BLALOCK, après ligature du canal thoracique chez l'animal, voit apparaître un chylothorax une fois sur deux.

in front of the inferior vena cava, as well as anastomoses from this intestinal lymphatic trunk to the inferior vena cava. Furthermore, a plastic needle inserted into this intestinal lymphatic trunk enabled the pressure to be taken using an electronic pressure gauge. In addition, once per hour we took chyle from this lymphatic trunk, as well as blood from a mesenteric vein to measure the total lipids, proteins and cholesterol of each sample.

## PHYSIOLOGY OF INTESTINAL ABSORPTION and LIGATURES OF THE CHYLIFEROUS VESSELS

Using our provoked hyperlipaemia test, we also studied the effect of ligatures of the chyloferous vessels in dogs and man, as well as the physiology of absorption by the small intestine. For this hyperlipaemia test, we take a blood sample from a patient who has not eaten, after which the patient or the dog takes 50 grammes of butter melted in hot milk. Blood is taken every hour for 5 hours to measure total lipids and triglycerides, as well as the optical density. We plot a curve where the x-axis represents the hours and the y-axis the total lipids or the optical density. In a normal subject, this test shows that total lipids are 6 grammes on an empty stomach ; they rise to 6.4 grammes after the first hour, 7 grammes after the 2<sup>nd</sup> hour and reach their peak of 7.3 grammes after the 3<sup>rd</sup> hour, falling again to 6.5 g after the 4<sup>th</sup> hour and ending on 5.5 g after the 5<sup>th</sup> hour. This provoked hyperlipaemia test was performed on 500 young arteriosclerotics and in 300 cases of chyloferous vessel malformations. The curves for the total lipids of the arteriosclerotics, coronary patients, those with arterial aneurysm and those for women taking the pill are shown above the normal curve. The curves for congenital chyloferous vessel malformations, where clinical manifestations vary and can often be serious, are shown below the normal curve.

The optical density curve is the same shape as the provoked hyperlipaemia curve, but after the 5<sup>th</sup> hour we have an optical density of 10, while at time 0 it is 5.

All our studies of provoked hyperlipaemia curves after absorption of 50 grammes of butter entirely contradict what DAVENPORT wrote in his book referred to above. : *the fats absorbed would appear in the lymph 13 hours after the fatty meal.* The same author also claims that, after ligature of the thoracic duct, the absorption of fats would diminish for a few days and would then return to normal following the opening of communication channels between the intestinal lymph vessels and the mesenteric veins. We did not see such movement of the opaque product of the lymph vessels from the small intestine to the superior mesenteric veins, neither during our laparotomies nor after our intestinal lymphographies. Equally, BLALOCK, after ligature of the thoracic duct in animals, observes a chylothorax in 50 % of cases.

## CONCLUSION

All our clinical and lymphographic observations are of only theoretical value. We think that when the small intestine is taken from a donor for transplant, melted butter in warm milk should be injected by gastroduodenal probe 3 hours beforehand to make it easier to find the intestinal lymphatic trunk which is to be severed, with coloured thread to mark the section to be severed.

## Apparition et croissance embryonnaire des lymphatiques du poumon et du cœur chez l'homme.

## Origin and embryonic growth of lymphatics of heart and lungs in human.

RIQUET M. \* \*\*, LE PIMPEC-BARTHES F. \*, DUPONT P. \* \*\*, HIDDEN G. \*\*

\* Service de Chirurgie Thoracique (Pr Debesse) - Hôpital Laennec, Paris.

\*\* Laboratoire d'Anatomie (Pr Lassau) - Biomédicale des Saints-Pères, Paris.

### RÉSUMÉ

Selon LINBORGH, des plexus lymphatiques paratrachéaux apparaissent chez l'embryon de 13 mm et un primordium unique sous la bifurcation trachéale à 22 mm.

De façon à étudier plus avant le développement des lymphatiques du poumon et du cœur, les coupes histologiques de 71 embryons et fœtus humains de la collection du Laboratoire d'Anatomie de l'UER Biomédicale des Saints-Pères ont été revues. Leur taille calculée du vertex au sacrum allait de 16 à 92 mm : 49 étaient coupés en série transversalement, 15 sagitalement, 7 frontalement. Nous avons observé des vaisseaux lymphatiques dès 21 mm, du tissu lymphoïde entre 33 et 42 mm et des lymphonœuds dès 69 mm. Ces éléments apparaissent à la même période quelle que soit la région anatomique observée : inter-trachéo-bronchique, sus-bronchique gauche, pré-trachéale droite et ligaments triangulaires. Les vaisseaux lymphatiques établissaient des connexions avec les veines de la base du cou et le canal thoracique dans le médiastin pratiquement en même temps qu'apparaissaient les premiers éléments lymphoïdes.

Les lymphatiques du poumon et du cœur sont donc constitués et à leur place définitive avant la fin de la période de la croissance embryonnaire telle qu'elle est définie par PINEAU.

---

**Key words** : Lymphatics - heart - lungs - embryology - lymphangioma.

---

Reprints request to :

Prof. M. RIQUET

Service de Chirurgie Thoracique - Hôpital Laennec

Laboratoire d'Anatomie, Faculté de Médecine,

45, rue des Saints-Pères,

75270 Paris Cedex 06

### ABSTRACT

According to LINBORGH, paratracheal lymph plexuses appear in the embryo at 13 mm and a single primordium appears inferior to the tracheal bifurcation at 22 mm. In order to study the development of the lymphatics of the lungs, we have reviewed serial sections of 71 human embryos and fetuses from the *Laboratoire d'Anatomie de l'UER Biomédicale des Saints-Pères*.

Their crown-rump lengths ranged from 16 to 92 mm : 49 were sectioned transversally, 15 sagittally and 7 frontally. We observed lymphatic vessels as early as 21 mm, lymphoid tissue between 33 and 42 mm and lymph nodes at 69 mm. These structures appeared at the same time whatever the anatomical site studied : tracheal bifurcation, left superior bronchus, right aspect of the trachea and pulmonary ligaments. The lymph vessels were connected with the cervical veins and the thoracic duct in the mediastinum as soon as the first lymphoid structures appeared. The lymphatics of the heart and lungs are formed and at the right place before the end of the embryonic growth period as defined by PINEAU.

— I —

### INTRODUCTION

Studies about lymphatic drainages of intrathoracic organs are rare in embryos. About the heart, we must quote works of KAMPMEIER (7) and about the lungs, works of VAN DER PUTTE and of VAN LINBORGH (9, 13). The purpose of this study is to better assess the anatomy of this lymphatic system as early as its embryonic origin.

## DISCUSSION

Ces vaisseaux lymphatiques et le tissu lymphoïde apparaissent en même temps chez le même embryon au niveau des différents sites anatomiques étudiés. Ils sont facilement mis en évidence au niveau des ITB mais aussi de BSG, de PTD et de LT ; des vaisseaux péricésophagiens sont constants dès 21 mn et le canal thoracique est déjà visible à cette taille. Le collecteur lymphatique droit du cœur est lui aussi parfaitement visible (Fig. 6) et reste dépourvu de tissu lymphoïde tout au long de la croissance embryonnaire.

Les vaisseaux lymphatiques apparaissent gros initialement puis semblent diminuer de calibre au fur et à mesure que l'embryon grandit et qu'apparaît le tissu lymphoïde.

Les connexions avec la circulation sanguine sont difficiles à mettre en évidence mais les vaisseaux lymphatiques connectés aux veines jugulaires et sous-clavières, de même qu'un réseau lymphatique péri-œso-trachéo-bronchique connecté avec le canal thoracique au médiastin sont constants et décelables dès 31 mm et bien objectivés par la suite (Fig. 7).

## — IV —

## DISCUSSION

La nature des structures observées a été considérée comme lymphatique et lymphoïde sur leur aspect évocateur et sur le fait qu'elles ont été constatées au niveau des sites anatomiques ne contenant que ce type de structures chez l'adulte. De plus, les photographies reproduites par VAN DER PUTTE (13) au niveau du poumon et par KAMPMEIER (7) au niveau du cœur montraient les mêmes structures lymphatiques vasculaires que celles que nous présentons. Le tissu lymphoïde et les lymphonœuds ont le même aspect que celui photographié par HAMILTON à 50 mm (6) et par BLECHSCHMIDT pour des tailles de fœtus plus grandes (4). Les amas lymphoïdes nous semblent apparaître avant 42 mm, ce qui est en accord avec les observations faites par BAILEY (2). La réalité des lymphatiques observés ne semble donc faire aucun doute : la certitude pourrait être obtenue sur du matériel frais en utilisant des immunomarqueurs mais ce matériel est difficile à se procurer actuellement.

Deux points embryologiques sont à souligner. Tout d'abord, le fait que les vaisseaux lymphatiques apparaissent tous au même moment dans les différents sites anatomiques et évoluent parallèlement va en faveur de l'origine centripète dans la lymphangiogénèse, théorie défendue notamment par KAMPMEIER (8) et à l'encontre de la théorie centrifuge (faisant dériver ces vaisseaux de structures veineuses) développée dès le début du siècle par SABIN notamment (17). Deuxièmement, l'existence de connexions avec les confluents veineux mais aussi avec le canal thoracique est anatomiquement identique à celle que nous avons observée chez l'adulte (14) : ces connexions sont le siège des lymphangiomes cervico-médiastinaux du nouveau-né, considérés habituellement comme congénitaux et celui des lymphangiomes médiastinaux de l'adulte développés de façon probablement acquise au niveau de ces chaînes nodales.

Sur le plan de l'organogénèse, les lymphatiques apparaissent donc présents au niveau du cœur au stade embryonnaire et dès la fin de la cardiogénèse telle qu'elle a été décrite par O'RAHILLY (10) ; ils sont également présents dans le poumon au stade embryonnaire (1), apparaissant dès la fin de l'organogénèse (1, 12) : leur mise en place définitive est complète durant la première moitié du stade pseudoglandulaire (de la 7<sup>me</sup> à la 17<sup>me</sup> semaine) (5) qui prend place au début de la vie fœtale proprement dite des auteurs classiques. Cette période est celle définie par PINEAU (12) comme étant la phase de croissance embryonnaire : cet auteur ne fait en effet commencer la vie fœtale qu'à la fin de la 14<sup>me</sup> semaine, la taille étant alors de 98 mm en moyenne.

We have considered that the structures we have seen were of lymphatic and lymphoid nature because they were observed at the anatomical sites where only this kind of structures exists by adults. Moreover, the photographs produced by VAN DER PUTTE (13) at the lung level and by KAMPMEIER (7) at the heart level show the same lymphatic vessels as those we have observed. The lymphoid tissue and the lymphnodes compared with those photographed by HAMILTON at 50 mm CL (6) and by BLECKSCHMIDT for bigger fetal specimens (4). The lymphoid tissue appears at about 42 mm which is what was also observed lymphatics makes no doubt : certain would be afforded by immunohistology on fresh embryos but such a material is difficult to obtain at the moment.

Two embryologic points must be stressed (5). First the fact that all lymphatic vessels appear at the same time in different anatomical sites and then keep growing together favours the hypothesis of the centripetous origin of lymphangiogenesis as it was advocated by KAMPMEIER (8) and does not agree with the centrifugal theory which states that those lymph vessels originate from the veins as it was advocated by SABIN (17). Second, connections of the lymph vessels with the cervical veins and with the thoracic duct in the mediastinum is exactly what we have already observed by adults (14). These connections are the sites of the cervico-mediastinal lymphangiomas observed by newborns which are considered as congenital and the site of the mediastinal lymphangiomas observed by adults which probably develop at the level of those nodal chains.

As far as organogenesis is concerned, lymphatic vessels are present in the heart by embryos as soon as cardiogenesis as described by O'RAHILLY (10) is finished ; they are present too in the lungs and mediastinum by the embryo (1) and do appear at the end of organogenesis (1, 12) : they are definitely in place during the first half of the pseudo glandular stadium (between 7 and 17 weeks of intrauterin life) which begins with the fetal life as defined by embryologists. This period is the one PINEAU (12) named the embryonic growing period : this author thinks that the fetal life begins at the end of the 14th week, the CR length being then of 98 mm.

TABLE I

Embryos serially sectionned transversaly. — Embryons coupés transversalement.

Taille en mm	Age moyen	Horizon streeter	Numéro	Poids (grammes)	Année	Origine	Fixateur	Coloration	Coupe (microns)
16,5	46,2	XVIII	P 10HT 50	-	1957	Arsac	F 10 %	Trichrome	5
17	47	-	106	0,70	1961	-	F 10 %	Hémateine Eosine	5
20	49	XIX	CI	-	1931	Palmer	F 10 %	Morel Bassal	-
20	49	-	P 10HT 46	-	1957	Quenu	Bouin	Hémateine Eosine	10
20,3	49	-	CL	-	1936	Judet	F 10 %	Morel Bassal	-
20,75	50	-	BR	-	1931	Lenormant	F 10 %	Morel Bassal	-
21	50	XIX	P 10 B 16 . 17	-	1948	Debeyre	-	Loyez	10
21	50	-	P 10 HT204	1,3	1971	Lassau	F 10 %	-	10
21	50	-	P 10H54	-	1957	Arsac	Bouin	Trichrome	5
22	50,8	XX	P 10HT139	1,44	1961	Thoyer-Rozat	F 10 %	Trichrome Loyez	10
22	51	-	K	-	1927	Rouvière	F 10 %	-	-
22	51	-	D	-	1927	Rouvière	F 10 %	-	-
22,5	-	-	P 10HT 151	1,3	1964	Hureau	F 10 %	Trichrome	10
23	52	-	CI	-	1932	Rouvière	F 10 %	Morel Bassal	-
24	52,3	XXI	P 10 bas 3	-	1946	Chevalier	-	Loyez	10
25	53	-	P 10HT16	-	-	-	F 10 %	Gabe	10
27	54,4	XXII	P 10HT17	-	1955	-	F 10 %	Bielchowsky	10
27	-	-	P 10HT156	3	1964	-	F 10 %	Trichrome	10
27	55	-	P 5 W-X	-	1930	Rouvière	F 10 %	Morel Bassal	10
29	56	XXIII	P 8 CR	-	1930	Rouvière	F 10 %	Morel Bassal	-
30,5	56,4	XXIII	P 10HT4	-	-	-	-	Trichrome	10
31	-	-	P 10HT76	3,45	1959	Quereux	Carnoy	Trichrome	10
31	-	-	P 5 RS	-	1928	Rouvière	F 10 %	Morel Bassal	15
31	-	-	P 5 J	-	1928	Rouvière	F 10 %	Morel Bassal	10
32	57,8	-	P 7 CM	-	1936	Rouvière	F 10 %	Morel Bassal	15
32	-	-	P 9 EJ	-	1942	-	-	Loyez	10
33,3	-	-	P 7 CN	-	1919	Bindeau	Bouin	Morel Bassal	-
33,5	59	-	P 10HT104	-	1961	Farge	Carnoy	Trichrome	10

TABLE III

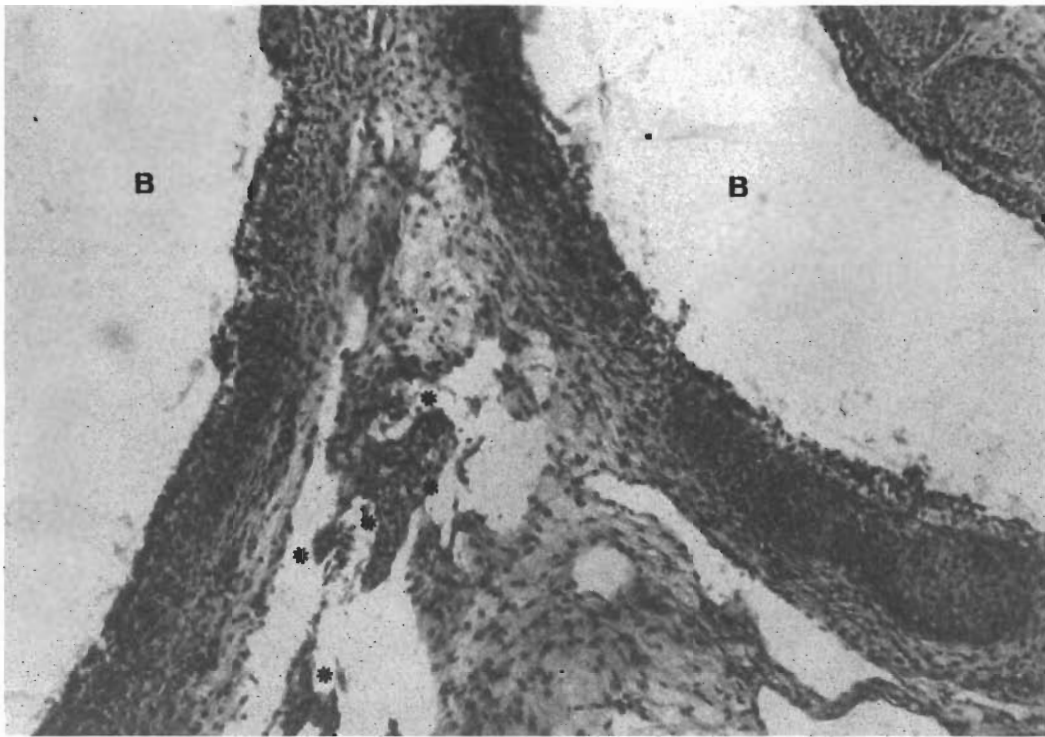
Embryos sectionned frontally. — Embryons coupés frontalement.

Taille en mm	Age moyen	Horizon streeter	Numéro	Poids (grammes)	Année	Origine	Fixateur	Coloration	Coupe (microns)
16	46	XVIII	68	0,443	1958	Olivier	F 10 %	Bielchowsky	5
18	47	—	P 7 CK	—	1932	Rouvière	F 10 %	Kaiserling	—
20	49	XIX	P10 HT 196	1,01	1970	Hidden	F 10 %	Trichrome	5
22	51	XX	P10 HT 147	2	1964	Chevrel	F 10 %	Trichrome	10
23,5	52	XXI	P10 HT 86	1,85	1959	Moatti	Bouin	Trichrome	10
23,5	52	—	P 7 BQ	—	1968	Rouvière	F 10 %	Morel Bassal	—
30	56	XXIII	P 8 CS	—	1934	Rouvière	F 10 %	Morel Bassal	—
31	57	—	P10 HT 19	—	1960	—	F 10 %	Trichrome	—
32,7	58	—	P9 EH-E1	—	1942	Sicard	F 10 %	Morel Bassal	—
33	58	—	P 8 188	3,2	1968	Lassau	F 10 %	Trichrome	10
34	59	—	P9 DC-DD	—	1930	Rouvière	F 10 %	Morel Bassal	—
50	69	—	P 9 D2	—	1939	—	—	—	—
55	71	—	P10 B4-5-6	—	—	Olivier	F 10 %	—	—
68	79	—	P9 DG-DL DN-DS	—	—	Nicolas	F 10 %	Hémaline	10
91	91	—	P6 AP	—	1929	Rouvière	F 10 %	—	—

TABLE IV

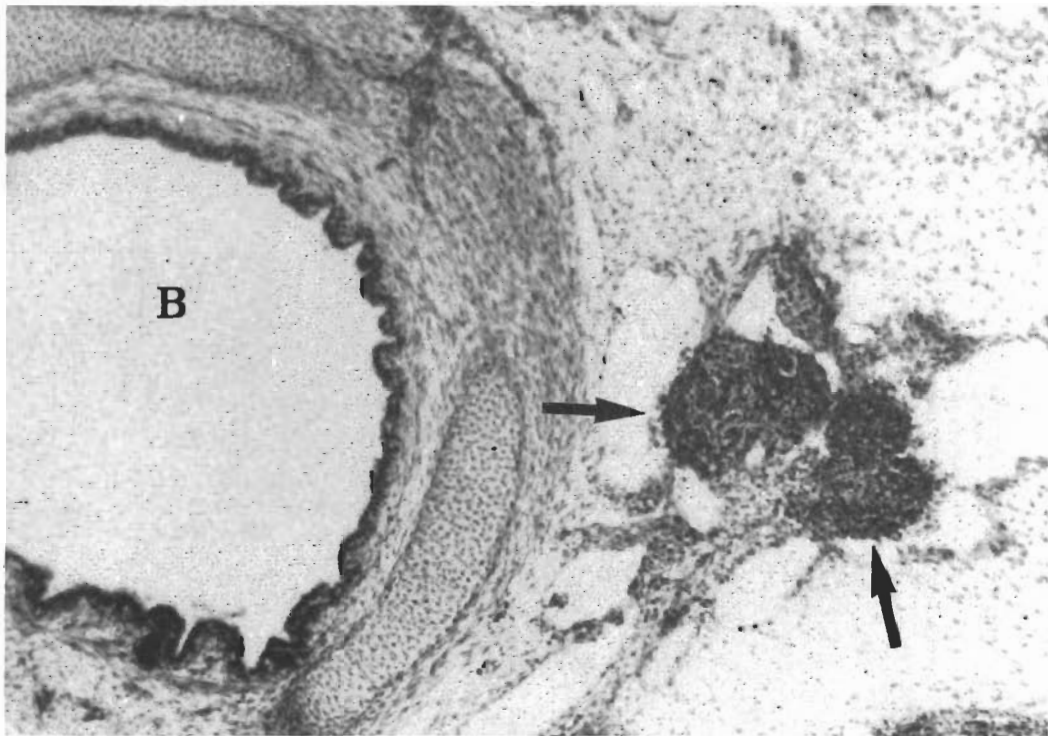
Embryos sectionned sagittally. — Embryons coupés sagitalement.

Taille en mm	Age moyen	Horizon streeter	Numéro	Poids (grammes)	Année	Origine	Fixateur	Coloration	Coupe (microns)
16 mm	46	XVIII	U-V	—	1929	Rouvière	F 10 %	—	—
21 mm	50	XIX	CL	—	1924	Nicolas	—	Carmois Borate	—
24 mm	52	XXI	EB	—	1939	Rouvière	F 10 %	—	10
24 mm	52	—	P10 HT15	—	1965	—	F 10 %	—	—
30,5 mm	57	XXIII	P 6 AV	—	1931	Hovelacque	F 10 %	Morel Bassal	10
44 mm	65	—	P 1399	—	1960	Hureau	Carnoy	Trichrome	10
55 mm	72	—	P 9 EN-EO	—	1935	—	—	—	—



**FIGURE 3**

*Embryon de 44 mm (coupe frontale).  
 B = bronches ; amas lymphoïdes (astérisque)  
 (gross.  $\times 10$  ; col. Masson).  
 Embryo 44 mm (frontal slide).  
 B = bronchus ; lymphoid cells (asterix).  
 Magnification  $\times 10$  ; col. Masson.*



**FIGURE 4**

*Fœtus de 70,5 mm (coupe transversale).  
 B = bronche ; lymphonœuds au sein de vaisseaux lymphatiques  
 (flèches). (gross.  $\times 10$  ; col. Morel et Bassal).  
 Fetus 70,5 mm (transversal slide).  
 B = bronchus ; lymph nodes inside lymph vessels (arrows)  
 Magnification  $\times 10$  ; col. Morel and Bassal.*



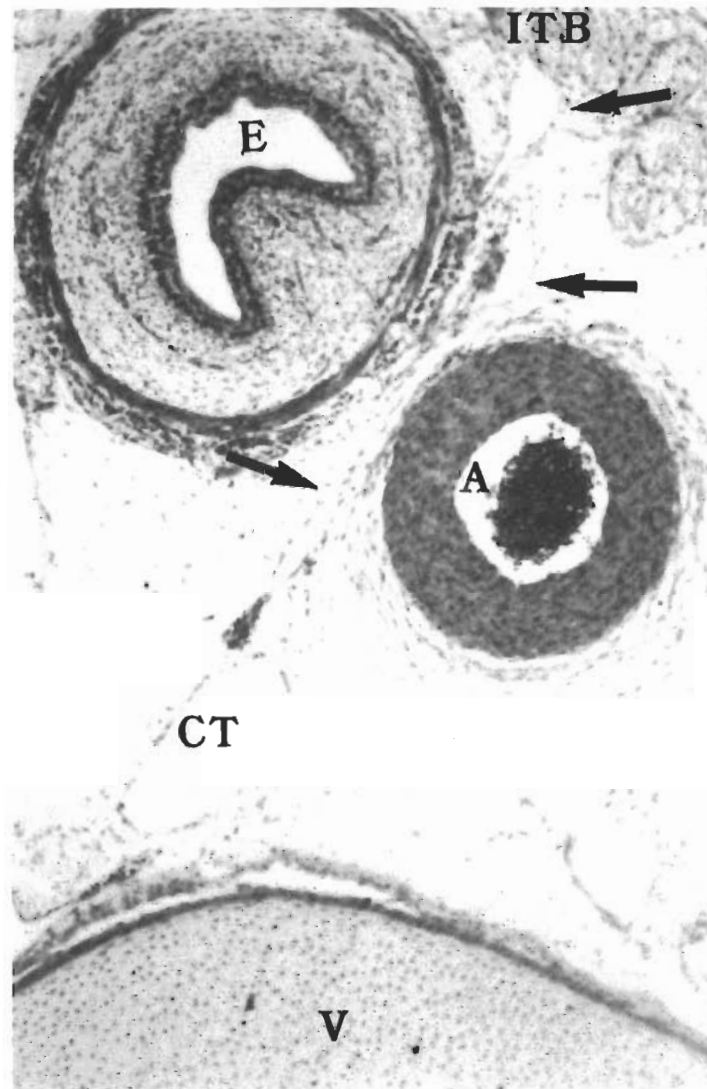


FIGURE 7

*Embryon de 38 mm (coupe transversale).  
 Connexion médiastinale d'ITB avec le canal thoracique (CT)  
 (gross.  $\times 10$  ; col Trichrome)  
 par 1 vaisseau lymphatique antéro-postérieur (flèche).  
 Corps vertébral = V - Aorte = A - Œsophage = E.*

*Embryo 38 mm (transversal slide).  
 Anteroposterior lymph vessel (arrow)  
 connecting the nodes of the tracheal bifurcation (ITB)  
 with the thoracic duct in the mediastinum (CT).  
 V = vertebra - A = aorta - E = esophagus.  
 Magnification  $\times 10$  ; Col. Trichrome.*

## Ultrastructural study on the pleural stomata in human.

## Etude ultrastructurale des stomates de la plèvre humaine.

JICHENG LI

*Department of Histology and Embryology,  
Zhejiang Medical University,  
Hangzhou 310006 China*

### RÉSUMÉ

Nous avons étudié l'ultrastructure des plèvres diaphragmatiques et viscérales humaines en microscopie électronique à balayage et par transmission. Des stomates pleuraux, habituellement arrondis ou ovalaires, d'environ 6,2  $\mu\text{m}$  de diamètre ont été mis en évidence au niveau de la plèvre diaphragmatique. Nous n'en avons observé aucun sur la plèvre viscérale. La majorité de ces stomates pleuraux humains étaient profonds, constituant de véritables canaux paraissant faire communiquer la cavité pleurale avec les lacunes lymphatiques sous-jacentes. D'autres ressemblaient à des puits peu profonds ouverts sur le tissu conjonctif sous-jacent.

Dans certaines régions de la plèvre diaphragmatique, les stomates pleuraux étaient bordés par de nombreuses expansions villoses des cellules mésothéliales qui en entouraient l'entrée. Ces microvillosités étaient toujours plus longues et armées d'un réseau plus dense de filaments que les autres expansions présentes en général à la surface des cellules mésothéliales. Ainsi, les cellules mésothéliales, par ces prolongements cytoplasmiques, réalisaient à l'intérieur des stomates un dispositif valvulaire qui autorisait en permanence l'épuration rapide de liquides de particules étrangères ou de cellules vers les lymphatiques diaphragmatiques à partir de la cavité pleurale.

---

**Key words** : pleural stomata - pleural lymphatics -  
electron microscope - human.

---

*Reprints request to :*

**JICHENG LI**  
*Department of Histology and Embryology  
Zhejiang Medical University  
Hangzhou 310006  
China*

### ABSTRACT

The ultrastructure of human diaphragmatic and visceral pleura was studied by scanning and transmission electron microscope. Human pleural stomata, which are usually round or oval in shape with about 6.2  $\mu\text{m}$  in diameter, were present on the diaphragmatic pleura. There were never found on the visceral ones. Majority of human pleural stomata were quite deep, forming channels which seem to connect pleural cavity with underlying lymphatic lacunae. Some of them occurred as shallow pits exposing components of the underlying connective tissue. In some areas of the diaphragmatic pleura the pleural stomata were furnished with great number of microvilli of mesothelial cells surrounding their openings. These microvilli were always longer and had denser network of filaments in comparison with other on the surface of mesothelial cells. In this way, the mesothelial cells formed valve-like cytoplasmic processes into the pleural stomata, as a permanent structure, provided a rapid removal of fluid-particles and cells from the pleural cavity into the diaphragmatic lymphatics.

### INTRODUCTION

The peritoneal stomata were small openings of lymphatics which open into the diaphragmatic peritoneum and connect peritoneal cavity with lumen of lymphatics. The function of these stomata has been to remove fluid, particles and cells from the peritoneal cavity into the lymphatics. The peritoneal stomata were very important for absorption when ascites developed, tumor cells and bacteria were escaped from the peritoneal cavity (18, 7), haemolytic disease of fetuses was treated by intrauterine transfusion (8, 12) and ultrafiltration and solution clearance were increased in long-acting peritoneal dialysis (10, 14).

A number of investigators (7, 17, 16, 19, 20, 13, 6) have studied the ultrastructure and the function of the peritoneal stomata in human and different animals.

## Microlymphatic and thromboembolic disease in acute spinal cord injury. A morphological study on skin biopsies.

R. SCELSI, S. LOTTA \*, Paola POGGI \*\*, R. BOCCHI \* and Laura SCELSI

From the Department of Human Pathology, University of Pavia.

\* Rehabilitation Center " G. Verdi ", USL 3, Villanova d'Arda (Pc)

\*\* Institute of Normal Anatomy, University of Pavia.

### SUMMARY

The thromboembolic disease (TED) of deep veins of legs is an important cause of morbidity and mortality in the first few months following traumatic spinal cord lesions in over 30 % paraplegic patients, in absence of chemical prophylaxis. In paraplegia, the main causes of the disease are the venous stasis following paralysis and immobilisation in the present condition, numerous paraplegic patients with documented ilio-femoral venous thrombosis developed the so called *phlegmasia alba dolens* with oedema and stasis dermatitis of the lower extremities suggesting changes in the cutaneous lymphatic microcirculation.

Skin biopsies from 4 paraplegic patients with ilio-femoral TED were obtained from the lower lateral region of the involved leg and were studied with light and electron microscopy. Biopsies from 2 healthy subjects served as control. In all specimens, numerous lymphatics with dilated lumen and distended wall were present. The endothelial cells were attenuated and numerous open junctions and channels between contiguous endothelial cells were present. Perivascular collagen and elastic fibres were dissociated by presence of granular material.

These morphological alterations demonstrated a lymphatic microangiopathy in paraplegic patients with TED, with endoluminal lymph stasis and an increased transcapillary diffusion of the lymph material into interstitial dermic tissues, clinically resulting in oedema with reduced removal of tissue catabolites.

### RÉSUMÉ

La maladie tromboembolique (TED) des veines profondes des jambes est une cause importante de morbidité dans 30 % des sujets paraplégiques après lésions traumatiques de la moelle épinière.

De nombreux patients avec paraplégie et avec thrombose des veines ilio-fémorales montrent œdème et altérations cutanées au niveau des jambes (*phlegmasia alba dolens*).

Ces altérations suggèrent que la microcirculation lymphatique cutanée est impliquée.

Nous avons étudié les modifications morphologiques et ultra-structurelles des vaisseaux lymphatiques dans des biopsies cutanées des jambes chez 4 sujets paraplégiques avec TED.

Les principales modifications ont été : dilatation des vaisseaux lymphatiques, présence de nombreuses jonctions ouvertes et de canaux parmi les cellules endothéliales, le tissu conjonctif entourant les vaisseaux lymphatiques apparaissait désorganisé par la présence de granulations libres et de vésicules remplies de granulations fines.

Les résultats suggèrent que la microcirculation lymphatique cutanée des jambes des sujets paraplégiques avec TED est impliquée dans une pathologie produisant une stase lymphatique avec œdème et avec accumulation des catabolites dans le tissu conjonctif.

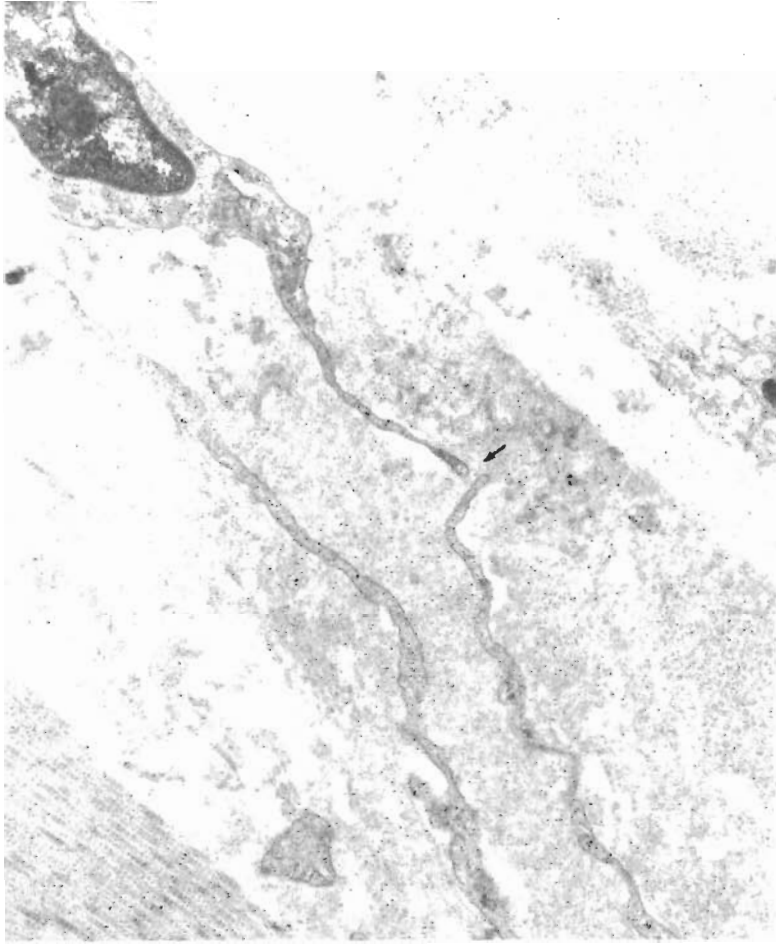
---

**Key words :** lymphatic vessels ; human skin ; paraplegia ; thromboembolic disease ; ultrastructure.

---

Reprints request to :

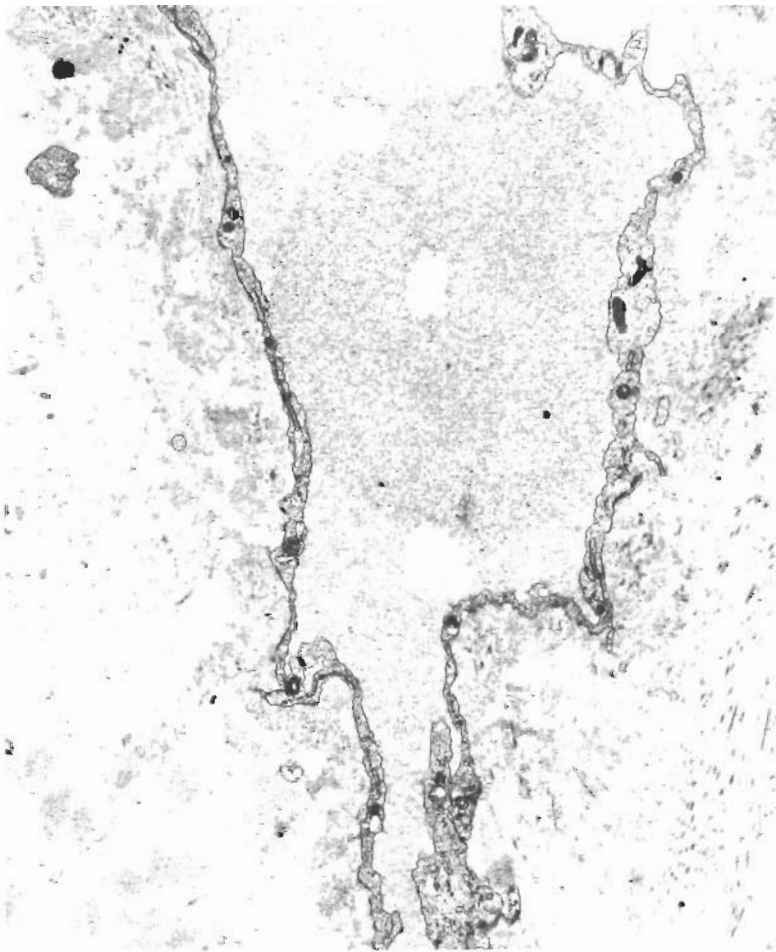
Prof. Roberto SCELSI  
Department of Human Pathology  
Via Forlanini 14  
27100 Pavia (Italy)



**FIGURE 1**

*A lymphatic vessel from the skin of a normal healthy subject is characterized by a thin endothelial wall, by open junctions and by perivascular connective tissue arranged in packed groups of elastic and collagen fibres (× 4,000).*

*Un vaisseau lymphatique cutané d'un sujet sain est caractérisé par une paroi mince, par des jonctions ouvertes et par un tissu normal conjonctif avec nombreuses fibres collagènes et élastiques (× 4.000).*



**FIGURE 2**

*A lymphatic vessel from a paraplegic patient with TED showing a very dilated lumen filled by coagulated lymph. The perivascular connective tissue is disorganized by oedema (× 4,000).*

*Un vaisseau lymphatique de la peau d'un sujet paraplégique avec TED, caractérisé par une paroi ectasique et distendue. Le tissu conjonctif paraît désorganisé par l'œdème (× 4.000).*

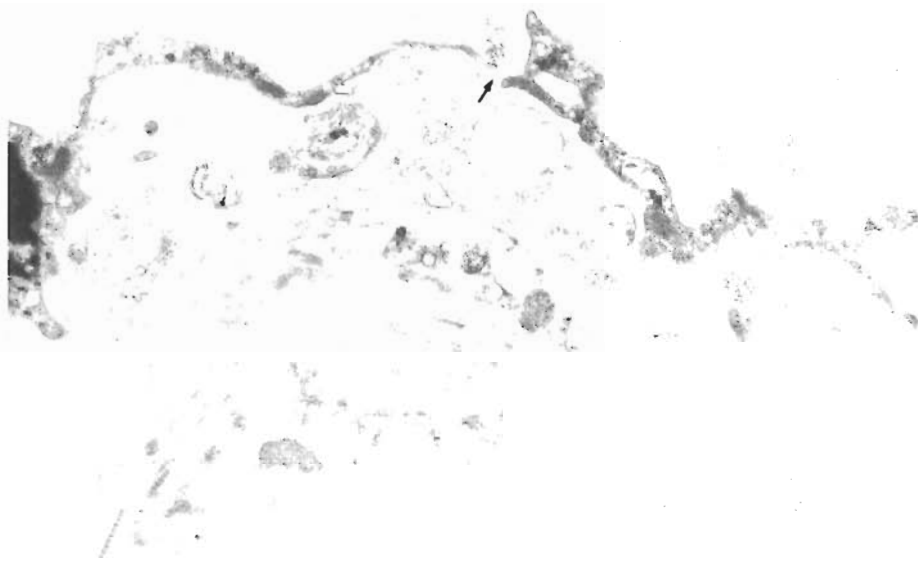


FIGURE 5

*An open junction between contiguous endothelial cells is present in the lymphatic wall. The perivascular connective tissue shows vacuolation and presence of free granular material between disorganized elastic and collagen fibres (× 10,000).*

*La paroi du vaisseau lymphatique montre une jonction ouverte entre deux cellules endothéliales. Le tissu conjonctif montre de nombreuses vacuoles et des fibres collagènes et élastiques désorganisées (× 10.000).*

#### REFERENCES

1. PERKASH A. — Experience with the management of thromboembolism in patients with spinal cord injury. Part I. Incidence, diagnosis and role of some risk factors. *Paraplegia*, 16 : 322-331, 1978.
2. WATSON N. — Venous thrombosis and pulmonary embolism in acute spinal cord injury. *Paraplegia*, 6 : 113-121, 1968.
3. VAN HOVE E. — Prevention of thrombophlebitis in spinal cord injured patients. *Paraplegia*, 16 : 322-325, 1978.
4. FRANZECK UK., HASELBACH P., SPEISER D., BOLLINGER A. — Microangiopathy of cutaneous blood and lymphatic capillaries in chronic venous insufficiency. *The Yale J. Biol. Med.*, 66 : 37-46, 1993.
5. SCELSE R., SCELSE L., CORTINOVIS R., POGGI P. — Morphological changes of dermal blood and lymphatic vessels in chronic venous insufficiency of the leg. *Int. Angiology*, 13 : 26-31, 1994.
6. BOLLINGER A., PFISTER G., HOFFMANN U., FRANZECK UK. — Fluorescence microlymphography in chronic venous incompetence. *Int. Angiology*, 8 (suppl 4), 23-26, 1989.
7. WENNER A., LEU HJ., BRUNNER U. — Ultrastructural changes of capillaries in chronic venous insufficiency. *Exp. Cell Biol.*, 48 : 1-14, 1980.

A propos de :

**Pas de transfert libre  
du liquide lymphatique  
dans les espaces tissulaires  
après DLM**

EDITEUR,

Dans le " *European Journal of Lymphology* ", 1993-1994, 4, N° 14, p. 51-57, HUTZSCHENREUTER P. et HERPERTZ U. (1) se réfèrent dans leur article sur " *le lymphœdème primaire et secondaire chez les enfants traités par le DLM et pressothérapie* " à notre étude, présentée au GEL à Prague en 1992.

Ils ont trouvé une réduction significative dans des cas de lymphœdème après mastectomie, traités par le DLM, suivis de bandages compressifs. Suite à cela, ils mettent en question notre constatation qu'il n'y avait pas de transfert libre du liquide lymphatique dans les espaces tissulaires chez les patients souffrant de lymphœdème chronique, traités par DLM.

Nous aimerions préciser que le but de notre étude ne fut pas d'évaluer les résultats thérapeutiques positifs, rapportés par les patients traités par DLM, mais de trouver le mécanisme par lequel ces résultats sont obtenus.

Pour cette raison, nous avons décidé d'étudier l'effet d'une session de DLM de 30 minutes. Nous avons exploré deux domaines.

Premièrement, les changements hémodynamiques de la macro circulation sur le retour veineux à l'aide du scanner duplex, coloré. Ensuite en approfondissant l'examen sur la microcirculation ; nous avons mesuré la pression interstitielle dans les tissus.

Les résultats, démontrant la corrélation entre ces deux domaines, furent présentés au 14<sup>me</sup> Congrès International de Lymphologie à Washington en 1993 (MLD Mode of action).

Dans toutes nos études, nous n'avons jamais mis en question la possibilité de décongestion après plusieurs sessions de DLM, suivie immédiatement par l'application d'un bandage compressif.

Nos mesures démontrent simplement que la décongestion, rapportée par HUTZSCHENREUTER et HERPERTZ, ne fut pas effectuée par le transfert de la masse (et pour cela mesurable) du liquide interstitiel.

Les changements hémodynamiques, rapportés dans la macro circulation et par la suite, indirectement dans la micro circulation, suggèrent que l'œdème, mobilisé par le DLM, est transféré pendant chaque cycle, pas à pas, c'est-à-dire par infime et non mesurable quantité des compartiments interstitiels vers le compartiment vasculaire.

DERDEYN - ASLAM - PFLUG  
Swollen Limb Clinic  
Hammersmith Hospital  
Ducane Road London W12

(1) HUTSCHENREUTER P. and HERPERTZ U.  
*Titel* : Primary and secondary lymphoedema in children treated with manual lymph drainage and compression therapy. *European Journal of Lymphology*, 1993-1994 : 4, No. 14, pp. 51-57.

Concerning :

**No free flow  
of oedema fluid  
along the tissue spaces  
after MLD**

EDITOR,

In the " *European Journal of Lymphology* ", 1993-1994, 4, N° 14, p. 51-57, HUTZSCHENREUTER P. et HERPERTZ U. (1) refer in their paper on primary and secondary lymphoedema in children treated by manual lymph drainage and compression therapy, to the results we presented at the GEL meeting in Prague, 1992.

They have achieved " *significant volume reduction in cases of post mastectomy lymphoedema treated with MLD and compression bandage* " and question therefore our finding that there was no free flow of oedema fluid along the tissue spaces in patients presenting with chronic lymphoedema and treated by MLD.

We would like to point out that the explicitly declared aim of our study was not the assessment of the positive therapeutic results reported by the patients treated by MLD but the mechanism how these results were achieved.

For this reason, we decided to study the effect of just one session of lymph drainage of 30 min. duration. We focused on two variables.

Firstly on the haemodynamic changes of the macro circulation by monitoring the venous flow with a colour coded duplex scanner.

Secondly by getting deeper inside into the micro circulation by measuring interstitial tissue pressure. The results showing the correlation between these two variables were presented on the 14th International Congress of Lymphology in Washington in 1993 (MLD - Mode of action).

In all our studies, we have never questioned the possibility of decongestion after several sessions of MLD immediately followed by application of compressing dressing.

Our measurements simply demonstrated that the decongestion reported by HUTZSCHENREUTER and HERPERTZ was not effected by a mass (and therefore measurable) transfer of interstitial oedema fluid.

The haemodynamic changes, consistently recorded in the macro circulation and the indirect evidence from the micro circulation, suggest that oedema mobilized by MLD is transferred during each circulation cycle, step by step ; i.e. in minute non measurable quantities from the interstitial into the vascular compartment.

DERDEYN - ASLAM - PFLUG  
Swollen Limb Clinic  
Hammersmith Hospital  
Ducane Road London W12

(1) HUTSCHENREUTER P. and HERPERTZ U.  
*Titel* : Primary and secondary lymphoedema in children treated with manual lymph drainage and compression therapy. *European Journal of Lymphology*, 1993-1994 : 4, No. 14, pp. 51-57.

A propos de :

## The interpretation of lymphoscintigraphy removal rate constants

THE EDITOR

Dear Sir,

Isotopic lymphoscintigraphy is now the preferred method of investigation in lymphoedema because 1) it is less invasive than lymphography and 2) it provides functional information about the rate of removal of material by the lymphatic system. The term "quantitative lymphoscintigraphy" has become accepted in the literature to mean the ability to measure abnormalities of lymph drainage as determined from either colloid removal from the injection site or uptake of colloid in the regionally draining lymph nodes. We are concerned here with the former - colloid removal from the injection site.

While many users of lymphoscintigraphy are careful to point out that the removal rate constant does *not* measure lymph flow per se, it is often tempting to interpret the data as a measure of lymph flow. We felt it would be useful, therefore, to undertake a simple analysis of the rate constant, to see what it really measures. In doing this we employed Occam's razor, i.e. we made the simplest possible assumption, namely that the radio-colloid is removed from the depot entirely by bulk flow (F) which, at least in normal subjects, is flow into the lymphatic system. More complex situations can, of course, be envisaged; we aim here merely to identify the most *fundamental* determinants of the measured removal rate constant.

Let mass  $m_0$  be injected at time  $t = 0$ . After time  $t$  there will be a smaller mass  $m_t$  remaining, of mean concentration  $C_t$ . If the volume of distribution of mass  $m$  is  $V_D$ , then from the definition of mean concentration,  $C_t = m_t / V_D$ . If the removal of colloidal material is entirely by convection (our simplest assumption, for which there is much experimental support) and if colloid transport is not complicated by interactions such as partial molecular reflection then removal rate  $-dm / dt$  is -

$$\frac{-dm}{dt} = C_t F = \frac{m_t F}{V_D} \quad (1)$$

In order for equation (1) to give rise to a monoexponential curve, as usually observed, it is necessary to assume that the ratio  $F/V_D$  does not change significantly with time, i.e.  $F/V_D$  is constant. If this is so, integration of (1) gives

$$\ln m = \frac{-F t + \ln m_0}{V_D} \quad (2)$$

or

$$\frac{m}{m_0} = e^{-t.F/V_D} = e^{-tk} \quad (3)$$

Thus the simplest possible analysis of the lymphoscintigraphy rate constant  $k$  (units of  $\text{min}^{-1}$ ) shows that it depends on the *ratio* of Flow to volume of distribution,  $F/V_D$ . The reciprocal of  $k$  is called the time constant  $\tau$  (units of minutes) and this is the ratio of volume of distribution to flow. Half-life,  $t_{1/2}$  is  $-0.693 V_D/F$ .

The removal process can equally well be expressed in terms of "clearance". Clearance, Cl, is by definition the virtual volume of a solution that is cleared of a solute per unit time. Thus Cl is  $(dm/dt)/C$  and has units of volume/time: the renal clearance of creatinine from plasma, for example, is 120 ml/min. For the lymphoscintigraphy colloid,

$$Cl = k V_D \quad (4)$$

If the clearance of the lymphoscintigraphy colloid is entirely by unimpeded convective transport into lymphatic vessels then  $Cl = F$ , i.e. clearance rate equals lymph flow from the labelled region.

In comparing the removal rate constant in a normal and oedematous limb, one must therefore bear in mind the potential influence of volume of distribution of the injected colloid. If, in an oedematous limb, the tracer half-life is longer than in the control limb, one can state that the lymph flow per unit volume of distribution of tracer is reduced in the oedematous limb; but the investigator may wish to ask whether this is solely due to reduced lymph flow or whether an increased volume of distribution of the injectate might play a part too.

In making the above simple analysis, we are struck by the necessity of assuming time-independence of  $F/V_D$  in order to get a monoexponential removal process. One might expect, a priori, that even if  $F$  were relatively constant (the volume of injectate being small, around 0.2 ml),  $V_D$  would increase with time by diffusion. A truly monoexponential curve would seem to be telling us, therefore, that lymph flow per unit volume is uniform in the neighbourhood of the injection site. In conclusion, we suggest that measurements of  $V_D$  as well as  $k$  (or  $\tau$  or  $t_{1/2}$ ) could usefully be made by imaging during lymphoscintigraphy, in order to clarify our understanding of the method and give us a firmer basis for interpreting differences in rate constants between limbs.

Yours sincerely,

Dr J R LEVICK (Dept Physiology)  
Dr P S MORTIMER (Dept Physiological Medicine)

St George's Hospital Medical School,  
Cranmer Terrace, London SW17 0RE

## REVIEW

### of the Prague symposium on lymphology " LYMPHO 94 "

---

In the second week of September 1994, Prague hosted an international symposium devoted to lymphology : " LYMPHO 94 ". Its organizer was the Czech Lymphology Society, in cooperation with the Groupement Européen de Lymphologie (GEL). The Czech Lymphologic Society is young, having been founded two years ago on the initiative of Czech lymphologists desiring to associate and to offer a strong organizational platform to the physicians and health care providers in this field that has become a modern interdisciplinary medical branch.

The topics of the " LYMPHO 94 " symposium attracted well over one hundred of attendants, of that 17 from abroad. There were specialists in internal diseases among them, oncologists, surgeons, angiologists, dermatologists, pediatricians, radiologists, specialists in diagnostics, pathologists, anatomists, as well as theoreticians and experimental scientists. The comprehensive scientific agenda was divided into eight separate topical sessions in which 52 communications were presented.

Within the framework of the festive opening of the symposium, the first honorary members of the Czech Lymphologic Society were appointed : Prof. BARTÓŠ, Prof. BELAN and Prof. BAŘINKA. They presented their communications that had been asked for, reflecting the contributions of the Czech specialists for the benefit of national and international development of lymphology. The following introductory session of the scientific programme comprised the papers of invited lecturers covering the essential groups of issues discussed at the symposium. The scientific agenda of the second day focussed upon problems of anatomy, physiology and pathophysiology of the lymphatic system. It brought many interesting communications, of which well deserved attention was invited in particular by the corner-stone papers of the German lymphologists, Prof. KASTENHOLZ and Prof. HUTZCHENREUTER, being of extraordinary practical importance for the clinical work.

A separate session was devoted to methods applied in the diagnosis of pathological conditions of the lymphatic system. This session centred around imaging methods the overview of which, including the contribution of the imaging the lymphatic structures by magnetic resonance (MRI), was the subject of the introductory paper. The proceedings of the symposium stressed the necessity of diagnostic orientation upon non-invasive modalities of examination, allowing timely detection of functional and morphologic changes accompanying the affections of the lymphatic systems. The clinical problems were dealt with in the sessions focussing upon lymphostatic diseases, lymphedemas, and on systemic diseases, lymphomas. Rational treatment of lymphedema including its methodology and the achieved results were presented and discussed. Much stress was laid on the comprehensiveness of lymphedema therapy that should be consistent and long lasting (practically life-long). It should be based, primarily, on full-scale physical therapy encompassing skin care, manual lymphatic drainage, special exercises and compression treatment.