

Laboratoire de physiologie :

Faculté de Médecine de Tours

Unité de cellules cardiaques et vasculaires CNRS UMR 6542

MEMOIRE DE PHYSIOLOGIE CELLULAIRE
MOLECULAIRE ET INTEGRE (D.P.R.B.m)

Année Universitaire 1997-1998

**Sujet : Ischémie intestinale par ligature artérioveineuse et
lymphatique: étude expérimentale des lésions chez le rat
de J0 à J7**

par

Bertin Dibi KOUAME

Directeur du mémoire

Docteur Marie Christine- LEMAIRE

Plan

Introduction

I Matériel et Méthodes

II Résultats

III Discussion

Conclusion

REMERCIEMENTS

A Madame Marie-Christine LEMAIRE pour avoir voulu diriger ce mémoire , mais également pour son aide, sa vigilance et sa rigueur .

Merci à toute l'équipe du laboratoire pour sa disponibilité.

Introduction

Les travaux princeps expérimentaux sur le chien de Louw et Barnard ont montré en 1955 qu'en période néonatale, une ischémie intestinale pouvait entraîner une atrésie du grêle. C'est à dire une interruption congénitale de la continuité du grêle, qui apparaissait sur le segment intestinal correspondant au territoire ischémique.(1)

Depuis de nombreux cas cliniques ont confirmé le rôle important de l'ischémie intestinale dans la pathogénie de l'atrésie intestinale chez l'homme.(2,3) La nature des lésions observées, est proportionnelle à la gravité de l'ischémie. Ces lésions sont classées en **3 types**.

Type I réduction de la lumière intestinale par un **diaphragme** avec continuité du grêle.

Type II **atrésie cordonale** avec une réduction du calibre intestinal pouvant aboutir à une fibrose.

Type III **atrésie complète**, interruption de la continuité intestinale avec deux culs de sac intestinaux associés ou non à un défaut méésentérique.

Le traitement chirurgical le plus souvent proposé est la résection de l'atrésie avec anastomose termino-terminale, mais l'absence de reprise du transit par dysfonctionnement de l'anastomose peut survenir. Dans ce cas l'explication la plus souvent avancée est que l'anastomose a été effectuée en territoire non fonctionnel du fait de l'existence des lésions ischémiques de la paroi intestinale.

Le problème posé au chirurgien est donc d'éviter une trop grande résection du grêle pour prévenir le syndrome du grêle court (moins de 80 cm de grêle) et d'autre part d'effectuer une résection suffisante pour éviter l'échec de la chirurgie.

Dans ce travail nous nous proposons de réaliser un modèle expérimental d'ischémie intestinale sur le rat afin d'essayer d'établir une corrélation entre l'aspect macroscopique et l'aspect microscopique des lésions observées.

Par la suite nous nous proposerons d'étudier les limites extérieures de l'ischémie.

Matériel et Méthodes

L'étude a été faite au laboratoire de Physiologie de la faculté de Médecine de Tours.

20 rats mâles Wistar ont été anesthésiés en intramusculaire avec un mélange 10 ml de KETALAR (dosé à 50 mg / ml de KETAMINE) + 1,5 ml de LARGATIL (CHLORPROMAZINE) en raison de 1 ml pour 200 g de poids(0,05 ml/Kg). La durée de l'anesthésie obtenue était de 4 à 5 heures.

D'autres auteurs ont utilisé du pentobarbital en intraveineuse à 0,5 mg/Kg. (4)

Après laparotomie , l'intestin grêle était extériorisé , une ligature artério-veineuse et lymphatique avec du prolène 4/0 de 2 types suivant a été effectuée indifféremment sur le jéjunum ou l'iléon.

Deux équipes Mexicaine et Japonaise ont utilisé des microclips pour l'occlusion des vaisseaux.(5,6)

- une ligature à la bifurcation de 2 branches d'origine des vaisseaux droits (vasa recta) étiquetée « **ligature minime** » ou **type A** (Figure 1)

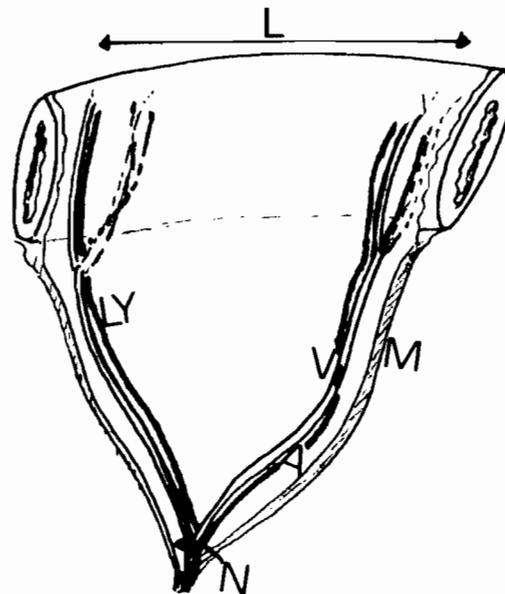


Figure 1: Nœud à la division de 2 branches d'origine des vasa recta (type A)

A: artère V: veine N: nœud M: mésentère LY: lymphatique L: longueur

- une ligature à la division de 3 à 4 branches d'origine des vaisseaux droits (vasa recta) étiquetée « **ligature massive** » ou **type B** (voir figure 2)

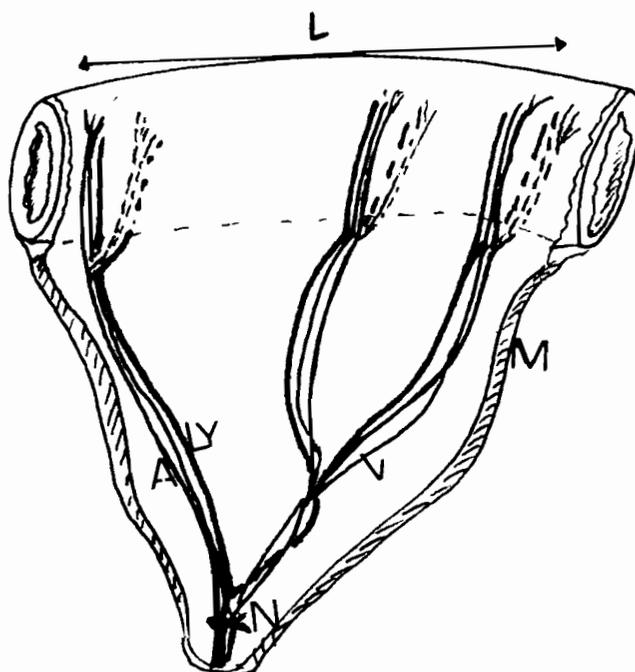


Figure 2: Noeud à la division de 3 branches d'origine des vasa recta

A: artère V: veine N: noeud M: mésentère L: longueur LY: lymphatique

La paroi abdominale du rat était refermée, et l'ischémie observée pendant des durées variables de J0 à J7. (tableau I)

Tableau I: nombre de rats selon le type de ligature et de la durée

	durée en jours							
	J0(h6)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7
rats n =	4	4	2	2	2	2	2	2
type A n =	2	2	1	1	1	1	1	1
type B n =	2	2	1	1	1	1	1	1

n : nombre

Au terme du délai d'ischémie intestinale prévu, chaque rat subissait une deuxième anesthésie et une deuxième laparotomie avec

- observation de l'aspect macroscopique du segment intestinal en regard de la ligature;
- mesure et résection du segment intestinal sensé avoir subi l'ischémie (les limites marquées par les vaisseaux droits) (tableau II);
- anastomose digestive termino-terminale afin de rétablir la continuité digestive et enfin fermeture pariétale.

Tableau II: Longueur moyenne des segments intestinaux réséqués selon le type de ligature

	horaire en jours							
	J0(H6)	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7
longueur cm								
type A	1,2	1,8	1,5	5,5	3	2	1,6	5,5
type B	1,5	2	2,5	1,7	5	2	2	3

Tous les segments intestinaux réséqués ont été fixés dans le liquide de Bouin.

Les coupes microscopiques des segments intestinaux réséqués ont été effectuées d'une part sur les limites externes et d'autre part sur les parties centrales.

Les fragments des coupes ont été inclus dans de la paraffine, coupés à 4 µm d'épaisseur puis colorés par de l'Héματοxyline Eosine Safran (HES)

Les lésions histologiques ont été analysées au microscope optique et classées selon le score de lésion microscopique proposé par MUSEMECHE ET COL. score de 0 à 4 (4)

0- Pas de lésion

1- Epaisseur partiel et nécrose de la muqueuse

2- Epaisseur complet et nécrose de la muqueuse

3- Epaisseur partiel et nécrose de la musculature

4- Epaisseur complète de l'intestin avec nécrose pariétale

Les résultats ont été validés par le test de X². corrigé de MCNEMAR

Résultats

.1/ Aspect des lésions

*** macroscopique**

- au niveau du mésentère

. oedèmes du mésentère en aval de la ligature

- au niveau de la paroi intestinale

. zones d'épaississement délimitées du bord antimésentérique (2 cas /20 segments intestinaux) soit 10% .

*** microscopique**

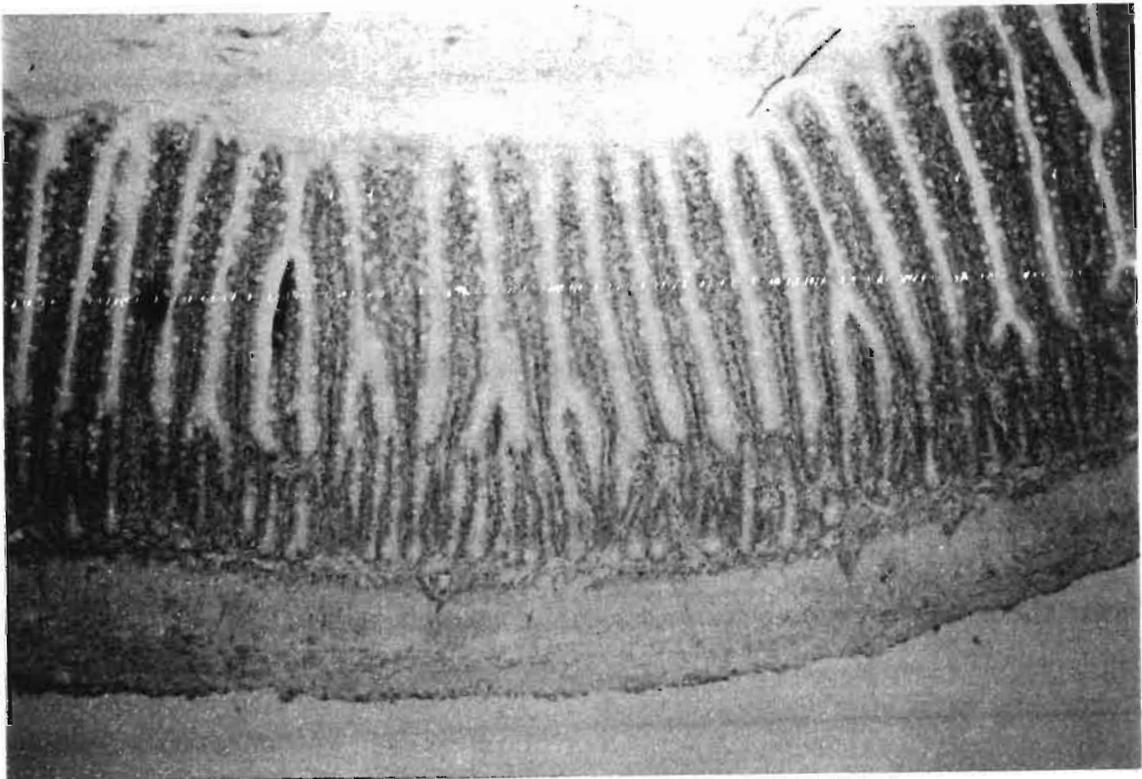


Figure 3: Gx25 paroi intestinale normale

- au niveau du mésentère (Figure 4)
- . thrombose artérielle et granulome macrophagique autour du fil de ligature

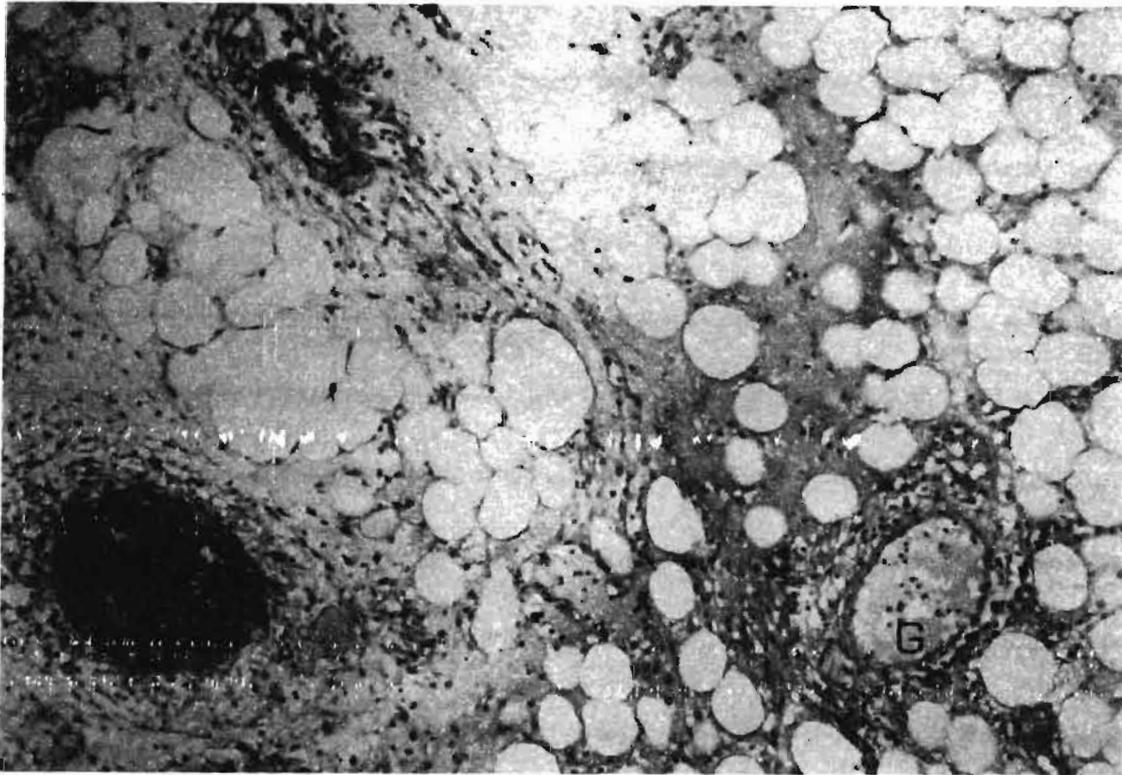


Figure 4: Gx100 Thrombose récente dans un vaisseau oedème du tissu conjonctif et congestion vasculaire ;T (THROMBOSE);G (GRANULOME)

- au niveau de la paroi intestinale
- . congestions de toutes les couches de la paroi intestinale. score 0
- . infiltrat inflammatoire oesinophile
- . amas lymphoïdes (Figure 5)

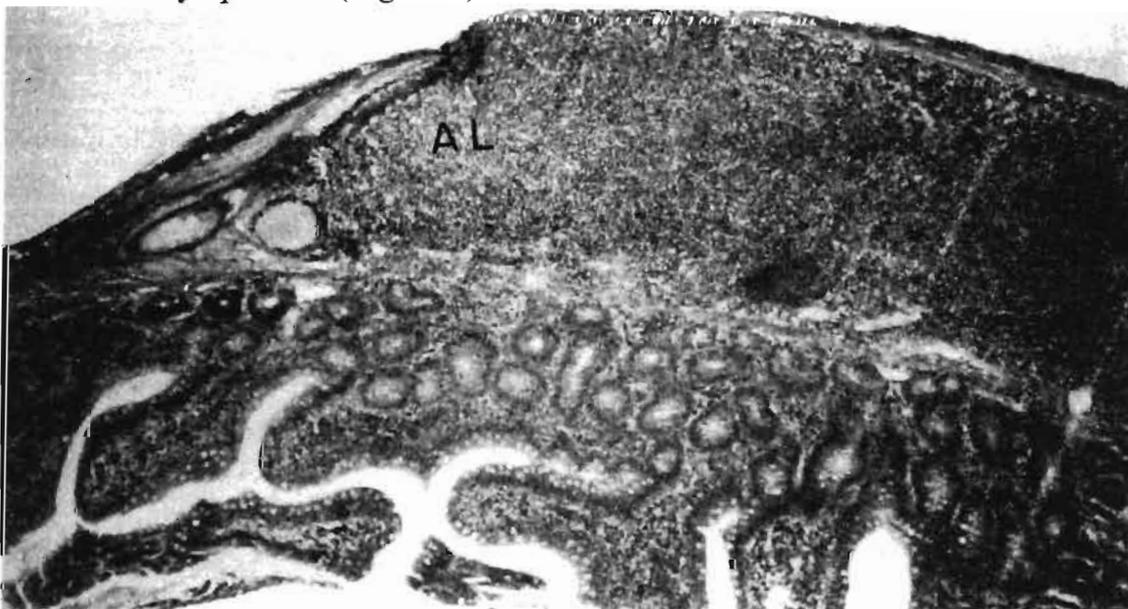


Figure 5: Amas lymphocytaire organisé au niveau du pôle antimésentérique de l'intestin A L (AMAS LYMPHOCYTAIRE)

. nécrose de l'épithélium de surface au niveau de la zone apicale score 2 (Figure 6)

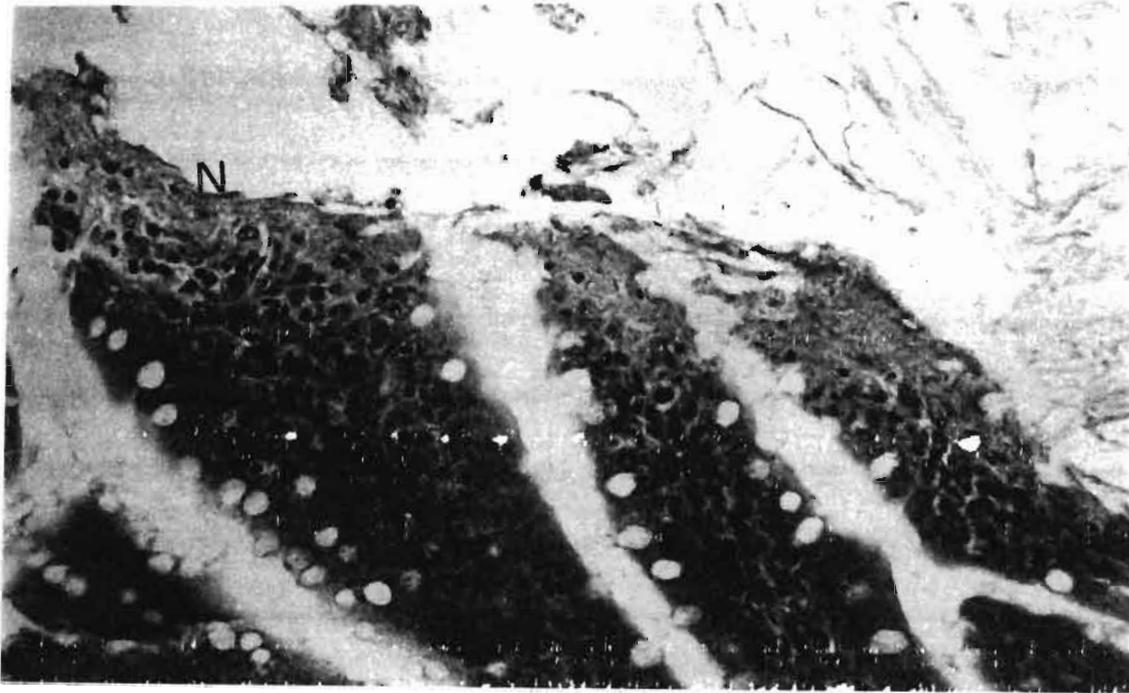


Figure 6 : Gx250 nécrose superficielle des villosités de la muqueuse sur le bord mésentérique , quelques polynucléaires oesinophiles, plasmocytes , lymphocytes , infiltrats inflammatoires polymorphes. N (NECROSE)

. nécrose complète étendue de la muqueuse à la sous séreuse avec un dépôt fibrinoleucocytaire sur la séreuse (péritonite) score 4 (Figure 7)

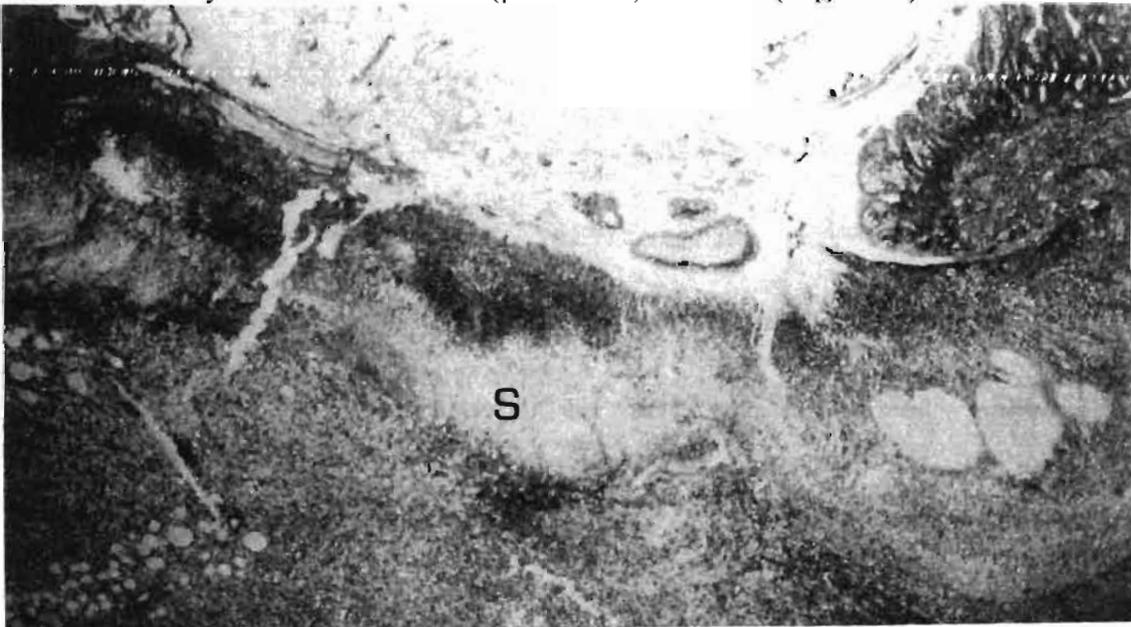


Figure 7: Gx25 Nécrose d'allure ischémique de la muqueuse soulignée par un infiltrat inflammatoire suppuré qui s'étend jusqu'à la sous séreuse. S (SUPPURATION)

2/Aspect des lésions ischémiques pariétales selon le type de ligature

Tableau III: Comparaison des lésions macroscopiques microscopiques

	types de ligatures	
	type A	type B
<u>types de lésions macroscopiques</u>	-	++
<u>microscopiques</u>		
congestion et oedème	+	+
infiltrat inflammatoire oesinophile	+	+
amas lymphoïdes	-	++
score 2	+	+
score 4	-	+

(-) absence (+) présence

3 cas de nécroses observées sur 20 rats opérés. 15 % de nécrose.

3/ Délai de survenue des lésions microscopiques selon le type de ligature

Tableau IV: Délais d'apparition des lésions microscopiques selon le type de ligature (j = jours)

	type A	type B
<u>lésions microscopiques</u>		
congestion et oedème	J0 à J7	J0 à J7
infiltrat inflammatoire oesinophile	J0 à J7	J0 à J7
amas lymphoïdes	-	J3 et J4
score 2	J7	J2
score 4	-	J4

4/ corrélation entre lésions macroscopiques et lésions microscopiques

Un épaissement du bord antimésentérique limité, a été observé en macroscopie après ligature massive, dans 2 cas, et il correspondait en microscopie à des amas lymphoïdes associés à une congestion pariétale . (figure 5)

Une nécrose épithéliale a été observée dans un cas après ligature minime, elle était focalisée sur les coupes centrales et absente sur les coupes des extrémités du segment intestinal. Deux autres cas ont été observés après ligature massive, la nécrose était étendue à toute la longueur des segments intestinaux.

Cette différence entre la ligature minime et massive est significative ($X^2 = 43,28$) à $p < 0,05$ (chi 2 corrigé de MCNEMAR)

Discussion

Le but de ce travail était de voir si une simple ligature artérioveineuse et lymphatique d'une portion du grêle était capable d'entraîner des lésions visibles macroscopiquement et microscopiquement et de voir s'il y avait une corrélation entre les deux.

La ligature artérielle, veineuse et lymphatique du grêle chez le rat a généré des lésions congestives du mésentère et ischémiques de la paroi intestinale.

Les deux cas de lésions macroscopiques observés étaient des amas lymphoïdes, structure histologique considérée comme normale selon les histopathologistes, mais ces lésions n'avaient pas été observées avant l'ischémie et nous pensons qu'elles sont dues à l'ischémie.

Les lésions ischémiques microscopiques étaient dominées par un infiltrat inflammatoire lymphoïde pariétal diffus intéressant toutes les couches de la paroi intestinale. Ces lésions microscopiques pariétales n'avaient pas de traduction macroscopique.

Il n'y a donc pas de corrélation entre les lésions microscopiques et les lésions macroscopiques.

Plus la ligature artérioveineuse et lymphatique était massive, plus les lésions ischémiques étaient importantes. Dans ces cas, les nécroses de la muqueuse ou de la paroi étaient significativement proportionnelles aux segments présumés atteints par rapport aux ligatures minimales. ($p < 0,05$)

Une analyse histologique des recoupes intestinales au delà des limites marquées par les vasa recta nous aurait donné plus de précision sur l'étendue des lésions microscopiques.

L'absence de nécrose de la muqueuse dans 85 % des cas dans notre étude et qui est conforme aux résultats d'autres auteurs, nous ont permis de comprendre le rôle important joué par le réseau artérioveineux sous muqueux dans la suppléance. (6)

Ces résultats ont une importance pour la chirurgie intestinale.

Ainsi YANO et al ont montré que le délai moyen de l'apparition de la nécrose intestinale était de 7,03 heures, lorsque la ligature artérioveineuse était couplée à une occlusion intestinale par des microclamps sur les limites du territoire ischémique.

Dans une étude similaire, une équipe japonaise avait noté la variation dans le temps de l'apparition des lésions en cas de ligature distincte artérielle ou veineuse. Les ligatures

veineuses entraîneraient des lésions plus massives et précoces que les ligatures artérielles.(4,6,8)

SIBBONS et al ont révélé le rôle déterminant des lymphatiques dans l'ischémie intestinale surtout dans la pathogénie de la pneumatose intestinale. (7)

Dans ce travail nous n'avons pas analysé de façon spécifique l'incidence de chaque élément du pédicule (artère, veine , lymphatique) intestinal sur l'ischémie intestinale.

Le caractère diffus de l'oedème et de l'infiltrat inflammatoire au cours des ischémies aiguës sur toute la longueur des segments intestinaux, laisserait supposer une extension des lésions microscopiques au delà des limites présumées des lésions. Ce qui expliquerait en pratique les résections larges dans le traitement chirurgical des atrésies intestinales. De nombreuses questions restent posées sur le devenir et les conséquences de cette ischémie sur les éléments ultrastructuraux de la paroi intestinale sur une longue durée.

Conclusion

Cette étude expérimentale a montré que les lésions ischémiques microscopiques de la paroi intestinale par ligature artério-veineuse et lymphatique n'avaient pas toujours un traduction macroscopique. Ces lésions microscopiques étaient dominées par l'infiltrat inflammatoire aiguë, qui s'étendait dans la quasi totalité des cas à toute la longueur du segment intestinal ischémique. Les lésions ischémiques donc intéresseraient au moins l'intestin présumé ischémié.

Toute résection intestinale en chirurgie pourrait être orientée par cette notion.

En attendant de définir les limites réelles des lésions ischémiques par d'autres études, la qualité du réseau artério-veineux et lymphatique sous muqueux reste un important facteur de suppléance en cas d'altération du pédicule sur un segment intestinal isolé.

Bibliographie

1-LOUW JH, BARNARD CN.

Congenital intestinal atresia .Observation on its origin Lancet 1965; 2: 1065

2-GUNDOGDU ZH, SENOCAK M E

Intrauterine intussusception due to Meckel's diverticulum as a cause of ileal atresia: analysis of 2 cases. Eur J Pediatr Surg 1966; 6: 52-54

3-LEWIS MP, EMBERTON M, OWEN E R T C, SING M P

Delayed presentation of intestinal atresia and intussusception .A case report and literature review. Eur J Pediatr Surg 1993; 3: 296-298

3-ZENRO N, IKUO H, HIROYUKI M, MASHASHI I, YOSHIO M.

An experimental study on intestinal vascular lesions: a comparaisn between the effects of arterial and venous occlusion in the acute phase. Surg Tod Jpn J Surg 1993; 23: 280-282

5-MUEMECHE CA, BAKER JL, and FEDDERSEN MR.

A model of intestinal ischemiain the neonatal rat utilizing superior mesenteric artery occlusion and intraluminal platelet-activating factor. J. Surg. Rese. 1995;58; 724-727

6-YANO K, HATA Y, MATSUKA K, ITO O, MATSUDA H.

Time limits for intestinal ischemia and congestion : an experimental study in rats Ann Plast Surg 1994; 34: 310-314

7-SIBBONS P, SPITZ L, VELZEN VD

The role of lymphatics in the pathogenesis of pneumatosis in experimental bowel ischemia. J Ped Surg 1992; 3: 339-342

8-HORTON JW

Alterations in intestinal permeability and blood flow in a new model of mesenteric ischemia. Circ Shoc 1992; 36: 134-139

Résumé

Le but de cette étude était de corréler l'aspect macroscopique et microscopique des lésions ischémiques intestinales obtenues par ligaturé artério-veineuse et lymphatique.

Technique:

Des lésions ischémiques intestinales ont été provoquées par ligature artério-veineuse et lymphatique chez rat.

L'évolution des segments intestinaux ischémiques a été suivie de 0 à 7 jours . Les segments intestinaux ont été mesurés et réséqués . L'analyse histologique au microscope optique a été pratiquée sur les limites et sur les parties centrales de la résection.

Résultats

- 1- Les lésions macroscopiques étaient absentes dans 90 %.
- 2- Les lésions microscopiques étaient dominées par l'infiltrat inflammatoire aiguë, la nécrose de la muqueuse et de la paroi, présente dans 15 % des cas.
- 3- Il n'y avait pas de corrélation entre l'aspect macroscopique et l'aspect microscopique .
- 4- En cas de nécrose , pour les ligatures minimales les lésions étaient focalisées au centre de la zone ischémique, en cas de ligature massive , elles sont étendues à toute la zone privée de vascularisation. Cette différence est significative ($X^2= 43,28$) $p<0,05$.