

# Anastomose microchirurgicale porto cave terminolatérale chez le poisson « petite roussette » (dogfish)

## Dogfish portacaval microanastomosis

M Germain [1], D Louis, FM Leclere

1. Ecole de Chirurgie des Hôpitaux de Paris, 7, rue du Fer à Moulin, 75005 Paris

### Mots clés

- ◆ Microchirurgie
- ◆ Anastomose porto cave
- ◆ Poisson

### Résumé

**But.** L'utilisation du microscope opératoire dans la chirurgie du foie chez l'animal permet de mettre au point de nouveaux modèles expérimentaux. La Petite Roussette (ordre des Sélaciens) a la particularité d'avoir un métabolisme des protéides particulier, et d'avoir des branchies très musclées et très vascularisées, ce qui lui permet d'être opérée à l'air libre pendant 60 minutes. Le but de ce travail est de préciser chez ce requin l'influence de l'anastomose porto cave sur le métabolisme du foie et la fiabilité de cette opération.

**Méthode.** Dix-neuf poissons Petite Roussette (Dogfish) ont eu une microanastomose porto cave. Ces poissons pèsent entre 250 et 350 g avec un âge de 2,5 mois. L'anesthésie se fait par immersion (Tricaine méthanesulfonate : MS-222, Sandoz®). Les conditions de vie de ces poissons sont précises : la température de l'eau doit être de 17°C, la salinité de l'eau est déterminée : 1 016 à 1 018. Après dissection des vaisseaux, l'anastomose porto cave terminolatérale est réalisée avec du fil 11-0. Le diamètre des vaisseaux et la durée des anastomoses sont précisés. Les bilans hépatiques ont été réalisés grâce aux transaminases (SGO et SGP). La fragilité des vaisseaux est extrême. La perméabilité des anastomoses a été étudiée au moment de l'anastomose et trois puis six mois après. La douleur postopératoire est prévenue par du Butorphanol : 0,4 mg/kg, en dose unique en intramusculaire. Une supplémentation en iode doit être faite en postopératoire avec 3 ml d'iode par jour pour éviter le goitre (injecté dans l'éperlan décongelé).

**Résultats.** Le modèle présenté est sûr pour la microchirurgie. L'anesthésie par immersion est simple. Aucun décès postopératoire n'est survenu. *Le diamètre moyen des vaisseaux est de 2,5 +/- 0,2 mm. La durée moyenne de réalisation des microanastomoses est de 14 +/- 2,5 min.* La perméabilité des anastomoses est de 100 % au moment de la chirurgie. Le contrôle postopératoire réalisé à trois et six mois montre une sténose partielle chez trois poissons. Le dosage des transaminases a été réalisé par la méthode colorimétrique de Reitnam-Frankel. Le taux moyen de SGOT (Sérum Glutamoxaloacétate Transférase) avant et après la chirurgie est : 96 unités, 97 unités, 119 unités soit quatre fois la valeur des mammifères. Le taux de SGP (Sérum Glutamopyruvate Transférase) est nul à chaque dosage.

**Conclusion.** Le poisson Dogfish est un modèle expérimental sûr, car sans mortalité opératoire, en recherche hépatique. Cette technique peut être utilisée en perfectionnement microchirurgical.

### Keywords

- ◆ Microsurgery
- ◆ Portal shunt
- ◆ Dogfish

### Summary

**Background.** The use of an operating microscope in animal liver surgery has made it possible to obtain new experimental models. The goal of this prospective animal study is to present our experience with dogfish portacaval microanastomosis, and hepatic function.

**Methods.** Nineteen portacaval microanastomoses were performed in dogfish. The end-to-side anastomoses were accomplished using continuous 11-0 sutures. The diameter of the vessels and time required for the anastomoses were measured. A patency test and its outcome were also prospectively evaluated at the time of anastomoses and then 3 and 6 months after the operation.

**Results.** The mean vessel diameter was 2,5 +/- 0, 2 mm. The mean anastomosis time was 14 +/- 2, 5 min. The anastomoses patency rate was 100 % at the time of surgery. A postoperative control performed after 3 and 6 months showed a partial stenosis in three animals.

**Conclusion.** The dogfish appears to be a reliable experimental model in liver research. Moreover, this technique could be used for microsurgical training.

La microchirurgie s'est considérablement développée depuis cinquante ans. Les progrès viennent des améliorations techniques en microchirurgie, du matériel optique, et des fils microchirurgicaux. Actuellement, la microchirurgie a beaucoup d'applications dans tous les domaines de la chirurgie

dont la reconstruction de la paroi thoracique, la reconstruction de la paroi abdominale, la reconstruction du sein après exérèse, la transplantation de la main. Dans le domaine de la chirurgie hépatique et digestive, elle ouvre la porte aux applications cliniques et expérimentales. En clinique, la microchi-

### Correspondance :

Michel Germain

Département de chirurgie oncologique, Institut Gustave Roussy, 39, rue Camille Desmoulins, F 94805 Villejuif cedex

E-mail : m.a.germain@orange.fr

urgie permet la reconstruction de l'œsophage par transplant libre de *jejunum*, ou la reconstruction de l'artère hépatique durant les transplantations à partir de donneurs vivants. Dans le domaine de la recherche, les modèles animaux ont amélioré l'entraînement des microchirurgiens par des techniques qui augmentent la difficulté et ont contribué à l'étude de la pathogénie, la prophylaxie et le traitement des maladies du foie (1). En 1906, Alexis Carrel décrit les anastomoses vasculaires. Son travail est récompensé par la prix Nobel en 1912. En 1960, Jacobson et Suarez débute la microchirurgie en réalisant les anastomoses vasculaires sous microscope opératoire : *voir mieux permet de faire mieux*. L'anastomose porto cave s'est développée dès 1961 avec Sun Lee (2) chez le rat puis chez d'autres animaux comme le porc. Ces animaux ont été utilisés comme modèle d'insuffisance hépatique et aident à mieux comprendre les altérations métaboliques dans l'insuffisance hépatique. Ces modèles expérimentaux permettent de préciser les modifications qui surviennent durant la cirrhose du foie. Bien que les procédés chirurgicaux aient été développés très précocement chez le poisson particulièrement pour étudier le diabète, les techniques et l'anesthésie commencent juste à être standardisées. Depuis 1984, avec Dominique Louis (3), nous étudions une technique de microanastomose porto cave terminale latérale chez la Petite Roussette (Dogfish) : ce poisson est le plus petit des requins. La Petite Roussette est un modèle fiable et cette technique microchirurgicale a été développée comme un modèle de perfectionnement pour les microchirurgiens expérimentés en raison de la finesse et de la fragilité des vaisseaux particulièrement du sinus veineux méso néphrotique qui nécessite du fil 11-0. Nous avons développé la technique en raison de la grande cavité abdominale comparée à la taille : ceci peut permettre des applications futures pour la microchirurgie endoscopique. D'autres poissons : rascasse, truite, bar, ont un abdomen étroit, ce qui ne permet pas de les utiliser. Le rat possède aussi une large cavité abdominale qui autorise une chirurgie endoscopique, mais sa dimension est trop petite pour des applications microchirurgicales endoscopiques. Pour d'autres animaux (porc), un assistant est nécessaire pour l'anesthésie et un autre pour l'aide opératoire. Le modèle de chirurgie du poisson développé ici, est une technique fiable pour la microchirurgie dans lequel l'anesthésie par immersion est simple et ne nécessite pas d'assistant. Pourquoi s'intéresser à la chirurgie chez le poisson ? Il y a deux intérêts majeurs :

D'une part la Petite Roussette, comme tous les séliaciens présente des particularités remarquables concernant le métabolisme des protéides, les immunoglobulines sont particulières, ils ont un système de régulation originale : leur sang contient des composés azotés en concentration élevée. Ceci confère à ces poissons une certaine valeur osmotique assurant l'équilibre osmotique entre milieu intérieur et milieu marin. La concentration en urée est 100 fois plus importante que chez les autres espèces. Or l'urée est une substance toxique. Les Séliaciens produisent du triméthylamine N-oxide (TMAO) qui en neutralise l'effet toxique. En raison de ce métabolisme particulier, il convient d'étudier les transaminases sériques du foie.

Le deuxième but de ce travail est de présenter une série de microanastomoses porto cave chez la Petite Roussette et de développer la technique, pour des chirurgiens expérimentés.

## Matériel et méthodes

### Les poissons Petite Roussette (Dogfish)

Cette étude répond à la législation sur l'expérimentation animale avec des animaux qui proviennent de la pêche en méditerranée reproduits en laboratoire. Elle a été effectuée à l'Institut Michel Pacha (laboratoire maritime de physiologie de

Figure 1. La Petite Roussette (longueur 25 cm, âge 2,5 mois).



Figure 2. Anesthésie par immersion de la Petite Roussette (MS 222).



l'université Lyon 1 - Tamaris-sur-Mer) sur 19 poissons Petite Roussette, *scyliorhinidae* appartenant à l'ordre des séliaciens (ce sont les plus petits requins). Les poissons choisis pèsent entre 200 et 350 g et mesurent 20 à 30 cm. Ils sont âgés de deux mois et demi. (fig. 1). Ils sont anesthésiés par immersion pendant une heure dans de l'eau de mer à une température de 17°C. Cette température nécessite un dispositif de refroidissement et de climatisation. (fig. 2). Lorsque la réponse circulatoire et respiratoire cesse, le poisson est sorti du bain d'anesthésie, et placé sur la table d'opération. Il faut compléter cette anesthésie par immersion, par une anesthésie complémentaire. Après l'opération, l'analgésie postopératoire est réalisée. Tous les poissons reçoivent 3 ml par jour d'iode en postopératoire pendant un mois. L'iode est injecté dans leur alimentation (injection dans la gueule de l'éperlan décongelé). Ceci fait suite à notre étude qui avait observé un goitre dans la période postopératoire, en l'absence d'iode (3).

### Anatomie

- La veine porte est située dans le pédicule hépatique : celui-ci contient l'artère hépatique et le canal biliaire. La veine porte est l'élément le plus externe et inférieur. Son diamètre mesure 2,5 mm. Le pédicule est entouré par le péritoine, particulièrement épais autour de la veine porte ; elle reçoit la veine gastroduodénale sur le côté gauche : celle-ci doit être conservée.
- Le système cave de ce poisson est de type primitif très différent de ceux des mammifères : il est composé des sinus veineux méso néphrotiques et génital. Les sinus veineux méso néphrotiques sont longs, rétro péritonéaux, et sont des organes bilatéraux. Chez la Petite Roussette il existe deux systèmes porte : hépatique et rénal. Chacun d'eux est formé par la capillarisation d'un vaisseau ramenant du sang vers le cœur. Il y a système porte chaque fois qu'un système de vaisseaux ne comprenant pas le cœur se trouve précédé et suivi par des réseaux de capillaires, chaque fois que des

Figure 3. Clampage de la veine porte et du sinus veineux méso néphrotique.

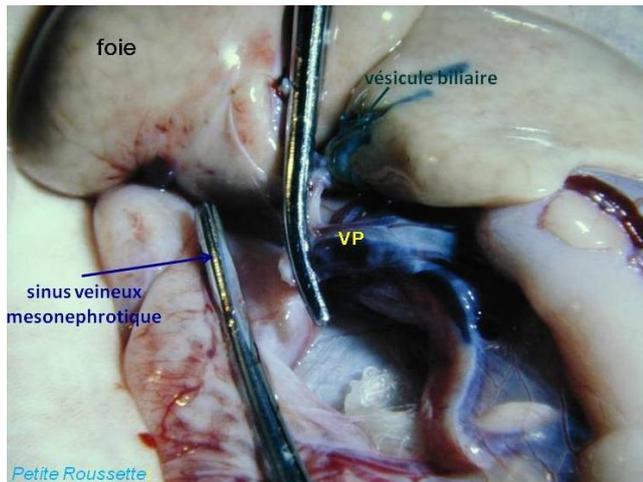
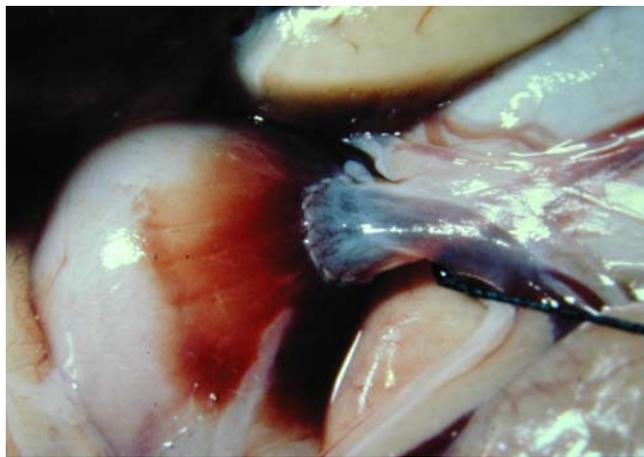


Figure 4. Déclampage de l'anastomose porto cave termino-latérale.



vaisseaux de même nom, souvent veineux, parfois artériels, sont ainsi encadrés par des capillaires.

- La veine porte hépatique reçoit le sang des capillaires du tube digestif, elle se jette ensuite dans le foie pour former les capillaires hépatiques. Ceux-ci forment les veines sus-hépatiques qui débouchent dans le sinus veineux. Enfin du sang venant directement des branchies par l'artère coronaire irrigue la paroi du cœur.
- Le sang des capillaires de la région postérieure du poisson va dans des veines qui alimentent la région rénale où ils forment les capillaires. Ceux-ci forment une veine qui se jette dans le sinus veineux.
- La Petite Roussette présente des particularités anatomiques importantes, en particulier chez la femelle, l'ovaire est unique, placé du côté droit. Chez le mâle, les testicules sont paires.

### L'Opération

Après anesthésie, l'opération est réalisée à l'aide d'un microscope opératoire Zeiss® avec un grossissement compris entre 6 et 20 x. Les micro-sutures vasculaires sont réalisées avec du nylon monofil 11-0, puis les plans pariétaux avec du fil de nylon 4-0.

#### L'anesthésie comprend trois phases

- L'anesthésie générale se fait par anesthésie par immersion : le poisson est placé dans de l'eau de mer contenant 100 mg par litre de tricaine méthane sulfonate (MS 222, Laboratoire

Sandoz). L'endormissement est obtenu en 15 à 30 minutes. A ce moment la Petite Roussette est sortie du bain anesthésique en arrêt circulatoire.

- Le maintien de l'anesthésie : une gaze imprégnée de MS 222 couvre la tête du poisson pendant la durée de l'opération pour maintenir l'anesthésie. La température de l'air doit être de 17°C ce qui nécessite une installation refroidissante.
- Après l'intervention et la fermeture du poisson, une analgésie postopératoire est indispensable : butorphanol à la dose de 0,4 mg/kg en injection intramusculaire en dose unique réalisée en fin d'intervention.

#### Technique chirurgicale

- Le poisson étant allongé sur la table, à l'air libre, une incision abdominale médiane est réalisée à l'aide de ciseaux et non un bistouri, car les téguments sont épais chez le poisson. Le pédicule hépatique est exposé en plaçant le tube digestif et le lobe hépatique gauche sur le côté gauche du poisson. La dissection de la totalité de la veine porte dans le pédicule hépatique est réalisée sans ligature en particulier en respectant la veine duodénale. La dissection doit être réalisée prudemment en raison de la fragilité des vaisseaux. Le système cave est abordé en ouvrant le péritoine postérieur. La face antérieure (méso néphrotique ou génitale) est disséquée.
- La ligature de la veine porte est réalisée le plus distalement possible ; un clamp recouvert de silastic est placé proximale-ment et la veine est sectionnée à l'aide de micro ciseaux.
- Une courte incision est pratiquée au niveau du sinus veineux, dont la paroi est très fragile à la différence de la veine porte. Bien que le clampage du sinus veineux ne soit pas nécessaire en raison de l'arrêt circulatoire, il est recommandé car après incision, l'ouverture du sinus s'élargit, et l'anastomose est rendue délicate. Il faut noter l'extrême fragilité des vaisseaux. (fig. 3).
- L'anastomose termino-latérale est alors réalisée à l'aide de deux surjets de fil de nylon 11-0, en commençant par la paroi postérieure. Puis la suture antérieure est réalisée. Après déclampage, l'hémostase est obtenue par pression douce avec un tampon de coton humide. L'opération dure au total moins d'une heure. (fig. 4).
- Lors de l'opération, une ponction cardiaque est réalisée pour obtenir la quantité de sang nécessaire au dosage des transaminases hépatiques. Le dosage des transaminases est réalisé au moyen de la méthode de Reitman et Frankel. Les résultats sont exprimés en unités Reitman-Frankel par ml de sérum sanguin.
- Il convient de noter la large cavité abdominale chez la Petite Roussette. La paroi abdominale est alors suturée en deux plans car la paroi des requins est épaisse.

### Résultats

#### L'intervention

La durée de l'anastomose porto cave est de 14 mn +/- 2,5 mn. La durée de l'intervention est de 50 mn +/- 6 mn. Aucun décès n'est observé durant les 48 premières heures.

Quelques difficultés immédiates ont été observées

Deux réveils précoces ont nécessité une ré-immersion du poisson dans le bain anesthésique avec du MS 222, sans conséquence vitale. Deux plaies du sinus veineux causées par les clamps ont été réparées par suture au fil 11-0.

Des complications secondaires sont survenues

Trois hémorragies tardives ont été observées au début de notre expérience. Trois sténoses légères de l'anastomose porto cave n'ont pas eu de conséquence sur la vie des pois-

sons. (fig. 5). Dans un cas est survenue une désunion partielle de la suture de la peau, probablement due à un non-respect de la salinité du bain.

### Les transaminases

Le dosage des transaminases sériques chez les mammifères et spécialement chez l'homme a un intérêt majeur pour préciser l'intégrité du foie. Leur augmentation traduit un trouble de la perméabilité cellulaire ou la lyse des cellules qui libèrent les enzymes. La Petite Roussette comme les Sélaciens a des particularités concernant le métabolisme des protéides. Aussi nos recherches ont précisé le taux des transaminases glutamiques oxalo-acétiques (TGO) et de transaminases glutamique-pyruvique (TGP) dans le sérum de ce poisson, lorsqu'il est anesthésié dans l'eau de mer, et après anastomose porto cave. Une ponction cardiaque permet d'obtenir la quantité de sang nécessaire au dosage. L'anesthésique choisi est la tricaine méthane sulfonate (MS 222 Sandoz®) très souvent utilisée chez le poisson.

Le dosage des transaminases est réalisé au moyen de la méthode de Reitman et Frankel. Les résultats sont exprimés en unités Reitman-Frankel par ml de sérum sanguin.

Plusieurs faits sont mis en évidence :

- Avant anesthésie il existe un taux relativement élevé des TGO : 96 +/-12 unités/ml, qui contraste avec l'absence de TGP dosable chez le poisson. Chez l'homme, on indique normalement une quantité de TGO cinq fois moindre et la présence régulière de TGP mesurable. Il y a là une singularité remarquable.
- En second lieu l'anesthésie utilisée ne modifie pas de façon statistiquement significative les quantités de TGO : 97 +/-12 unités/ml, et ne fait pas apparaître de TGP dans le sérum.
- De même après anastomose porto cave, les TGO sont modérément augmentées : 119 +/- 16 unités/ml et les TGP demeurent indosables.

Dans les conditions expérimentales choisies, l'anesthésie et l'anastomose porto cave modifient peu les TGO, et ne s'accompagnent pas de phénomène toxique cellulaire qui se traduirait par des signes de cytolyse au niveau du sérum sanguin.

### Discussion

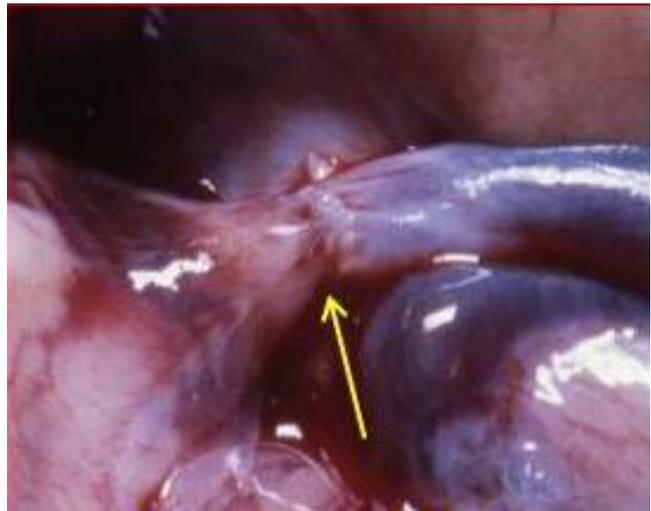
L'étude de la Petite Roussette présente trois intérêts majeurs.

L'intérêt en microchirurgie est le plus évident pour les chirurgiens. L'anastomose porto cave permet un perfectionnement des microchirurgiens expérimentés en raison de la fragilité des vaisseaux en particulier du sinus veineux méso néphrotique. La Petite Roussette a une large cavité abdominale, ce qui permet de nombreuses applications chirurgicales. Nous avons utilisé d'autres poissons comme la rascasse, la truite, le bar : ceux-ci ont un abdomen étroit qui rend difficile toute intervention, de plus l'anesthésie de ces poissons est délicate. (4).

L'intérêt physiopathologique. La Petite Roussette a un métabolisme des protéides très particulier, de même que pour les anticorps. Les enzymes hépatiques de ces poissons sont très différentes de ceux des mammifères : les SGO sont spontanément élevés, et cinq fois plus élevés. Les SGP en revanche sont indosables dans le sérum. La signification de ces résultats n'est à ce jour pas clair. Ceci encourage les recherches en physiopathologie hépatique chez ce poisson. Autre intérêt, l'étude du métabolisme des médicaments chez ce poisson : elle est facilitée par la tolérance à la vie en aérobie, une heure à l'air libre étant possible.

L'intérêt pratique de la Petite Roussette est souligné par la simplicité de l'anesthésie en immersion, et permettant une vie en aérobie pendant une heure. Un seul opérateur est suffi-

Figure 5. Sténose partielle de l'anastomose porto cave.



sant pour l'anesthésie et pour l'intervention : il n'y a aucun besoin d'assistant, ce qui est différent du porc où un anesthésiste et un aide opératoire sont nécessaires. La cavité abdominale de la Petite Roussette est large comme chez le rat, toutefois chez celui-ci, les études sur l'anastomose porto cave sont nombreuses, alors qu'elles sont inexistantes chez le poisson.

Enfin il faut démystifier la chirurgie chez le requin, en raison de sa tolérance à la vie à l'air libre pendant une période d'une heure. Récemment plusieurs requins adultes vivant dans des aquariums ont été opérés avec succès pour ablation de corps étrangers intra gastriques, absorbés avec les aliments.

### Conclusion

La Petite Roussette est un modèle de microchirurgie chez le poisson, l'anesthésie par immersion est facile, et il s'agit d'un bon perfectionnement pour les microchirurgiens expérimentés.

La microanastomose porto cave est une technique fiable et reproductible chez ce poisson.

Le métabolisme hépatique de ce poisson est très particulier avec des transaminases TGO spontanément élevées et des TGP indosables. La Petite Roussette est un bon modèle de recherche en physiopathologie hépatique. Aussi il convient de poursuivre les recherches.

### Références

1. Tixier A, Gaillard JM. Anatomie animale et dissection. Vigot Frères Ed. Paris 1963 ; 267-81.
2. Lee SH, Fisher B. Portacaval shunt in the rat. Surgery 1961 ; 50 : 668-72.
3. Louis D, Mouyriquand P, Clement G, Rigal BS, Peres G. Technique of end-to-side portacaval shunt in fish (scyllorhinus canicula : small dogfish). Microsurgery 1984 ; 5 : 54-6.
4. Germain M. La microchirurgie dans le monde. Glyphe Ed. Paris 2009