

Sur une petite modification technique permettant une meilleure survie des artères de l'embryon de poulet explantées in vitro¹

Au cours d'expériences précédentes²⁻⁴ sur l'artère mésentérique de l'embryon de poulet explantée et cultivée in vitro avec la méthode de la culture organo-typique de WOLFF, nous avons constamment observé des signes de souffrance frappant la paroi artérielle dès le premier jour de l'explantation: une dégénérescence lipidique marquée se manifeste; on observe une hypotrophie et une dédifférenciation des éléments musculaires lisses de la paroi vasculaire; dans les phases avancées de culture, l'explant se transforme en un nodule de tissu fibreux. Nous avons remarqué ces phénomènes de souffrance tissulaire soit sur des artères qui avaient été repiquées au 2e, 3e, 4e et 5e jour de culture (le milieu ayant été ainsi renouvelé), soit sur des artères cultivées dans des salières fermées hermétiquement et sans renouvellement du milieu.

Si l'on ajoute au milieu de culture des doses adéquates de facteur *P* (*O*-(β -hydroxyethyl)-rutoside, Zyma, Nyon), la survie et la conservation des explants sont nettement meilleures^{4,5}. Puisqu'il semble que le facteur *P* joue un rôle dans les processus de phosphorylation oxydative, donc dans la respiration cellulaire⁶, nous avons pensé que l'une des causes de la dédifférenciation et de la dégénérescence de la paroi artérielle explantée (sans l'adjonction du facteur *P*), était l'altération de l'apport d'oxygène, de son métabolisme et de son utilisation par les cultures. Dans le but d'élucider cette hypothèse, nous nous sommes proposés d'étudier les effets de différentes concentrations d'oxygène sur l'artère mésentérique de l'embryon de poulet, explantée in vitro. La méthode de WOLFF⁷, comme telle, ne nous permet pas techniquement, cette étude. Nous avons donc apporté une légère modification permettant de conserver la même méthode de culture, tout en faisant agir différentes concentrations d'oxygène. Dans la présente note, nous exposons la modification en question et les résultats obtenus par cette technique en cultivant l'artère mésentérique sur le milieu standard.

Les salières contenant le milieu de culture (7 gouttes de gélose, 3 gouttes de Tyrode et 3 gouttes de jus embryonnaire dilué 1:1 dans du Tyrode) et 3 explants chacune, au lieu d'être couvertes et scellées à la paraffine, sont déposées ouvertes dans un dessiccateur en verre; sur le fond de ce dernier, on pose du coton hydrophile imbibé d'eau distillée pour maintenir une atmosphère saturée d'humidité.

On a réalisé 100 cultures, divisées en 5 groupes correspondant aux différentes périodes de culture (1, 2, 3, 4 et 6 jours). Les explants proviennent de l'artère mésentérique de l'embryon de poulet au 15e jour d'incubation. La morphologie de la paroi artérielle, dans son segment compris entre le point d'où elle se sépare de l'aorte et sa première bifurcation au sein du mésentère, est toujours la même. Ce segment a été subdivisé en 3 fragments explantés dans la même salière et considérés comme tout à fait équivalents. Les salières sont déposées dans un dessiccateur qui est ensuite fermé à la paraffine et mis au thermostat à la température de 37°C. Les explants, après prélèvement, sont fixés au Carnoy et les coupes colorées avec les méthodes histologiques habituelles: hématoxyline-éosine, Ladewig, résorcine-fuchsine. Les artères cultivées dans les salières placées dans le dessiccateur ont à leur disposition, par rapport à la méthode originale de WOLFF, une quantité plus grande d'air et, en particulier, d'oxygène. La quantité d'air dans le dessiccateur est très importante, surtout si on la compare à la petite taille des explants; le métabolisme ralenti de ceux-ci n'est pas en mesure d'en modifier la composition d'une manière appréciable. De plus, l'air est renouvelé toutes les

24 h, au moment où certains explants sont prélevés pour être fixés et colorés; à cet effet, le dessiccateur est ouvert dans une ambiance stérile et l'air est ainsi renouvelé.

Les coupes microscopiques de la paroi artérielle nous ont montré ce qui suit: après 1 jour de culture, les artères présentent un aspect nettement meilleur que celles cultivées dans les salières fermées; dans quelques cas, l'artère est presque meilleure que l'artère de contrôle non cultivée, puisqu'in vitro se sont réalisés des phénomènes de croissance. Les cellules de la couche interne circulaire de la media se différencient et prennent un aspect bien évident de cellules musculaires lisses. Après 2 jours de culture, les artères sont un peu moins belles; on observe une hypotrophie discrète des couches musculaires; mais la couche externe longitudinale est toujours bien conservée et on n'y voit jamais de signes de dégénérescence lipidique. Au fur et à mesure que la période de culture se prolonge, l'hypotrophie des couches musculaires devient toujours plus évidente; peu à peu, les 2 couches musculaires sont remplacées par un tissu conjonctif fibreux. Mais, même après 4 jours de culture, on observe encore, dans la couche interne circulaire et externe longitudinale, des cellules musculaires lisses, assez bien conservées et disposées en 2, 3 rangées. Seulement vers cette période de culture apparaissent les premières vacuoles de dégénérescence lipidique qui restent toutefois, dans l'ensemble, assez rares. Des éléments musculaires isolés peuvent encore être observés au 6e jour de culture; mais, à cette période, l'artère est en général totalement transformée en un tissu conjonctif fibreux, délimitant une lumière qui persiste dans la presque totalité des cas. Les vacuoles de dégénérescence lipidique sont particulièrement abondantes, surtout à la périphérie de l'explant.

Les résultats de ces expériences semblent donc montrer que, lorsque la paroi de l'artère mésentérique est cultivée dans un milieu semi-solide avec l'air en quantité abondante et qui, de plus, est journellement renouvelé, elle ne présente pas les signes importants de souffrance tissulaire, observés dans les artères cultivées dans les salières habituelles, en présence d'une petite quantité d'oxygène.

Summary. The mesenteric artery of chicken embryo, cultivated in vitro in an abundant gas atmosphere (normal air) does not show the marked signs of cellular distress that appear when the artery is cultivated in the usual 'salières', containing a small quantity of oxygen.

B. CAPPELLI-GOTZOS, V. GOTZOS
et G. CONTI

*Institut d'Histologie et d'Embryologie générale
de l'Université,
CH-1700 Fribourg (Suisse), le 12. septembre 1969.*

¹ Ces recherches ont été faites grâce à un subside du Fonds National suisse de la Recherche scientifique et de la Fondation E. Barell.

² G. CONTI et B. CAPPELLI, *Experientia* 24, 1050 (1968).

³ G. CONTI et B. CAPPELLI, *Bull. Ass. Anat. Paris* 141, 728 (1968).

⁴ B. CAPPELLI, G. CONTI, L. LASZT et B. MANDI, *Angiologica* 5, 28 (1968).

⁵ B. CAPPELLI, G. CONTI, L. LASZT et B. MANDI, *Angiologica* 5, 41 (1968).

⁶ HEIDI FRITZ-NIGGLI, *Praxis* 6, 180 (1968).

⁷ E. WOLFF et K. HAFEN, *Texas Rep. Biol. Med.* 10, 463 (1952).