

Sur le comportement des vaisseaux artériels de la base du cœur de l'embryon de poulet en culture organo-typique¹

Dans le cadre de recherches poursuivies depuis plusieurs années sur le système vasculaire, nous avons cultivé les vaisseaux sanguins de la base du cœur d'embryons de poulet prélevés entre le 5e et 20e jour d'incubation. Les 5 vaisseaux étudiés furent les suivants: l'aorte, les 2 artères anonymes droite et gauche, les 2 branches de division de l'artère pulmonaire. Le but de ces recherches est de suivre le comportement des vaisseaux sanguins *in vitro* à des intervalles de temps différents.

La méthode de culture organo-typique employée est celle de WOLFF et HAFFEN (1951). Le milieu de culture se compose de 6-7 gouttes de gélose, 3 gouttes de Tyrode, 3 gouttes de jus d'embryon (50% dans du Tyrode). La culture des vaisseaux a duré de 24 h à 10 jours. Les explants ont été ensuite fixés au Bouin et colorés avec les méthodes histologiques habituelles.

Afin de comparer la morphologie des vaisseaux cultivés, nous avons étudié leur structure et leur morphogénèse au cours de la vie embryonnaire du poulet. Ces observations peuvent être résumées ainsi: au 5e jour de l'incubation, la paroi des vaisseaux est très simplement constituée. Elle est formée par une lame endothéliale autour de laquelle des cellules mésenchymatiques se disposent en couches et en nombre variables; à cette époque, il n'existe ni fibres collagènes, ni matériel élastique. Les fibres collagènes et élastiques apparaissent entre le 6e et le 7e jour, deviennent nombreuses au 8e, tandis que seules les fibres élastiques continuent à augmenter notablement à partir du 9e jour. Parallèlement, les cellules mésenchymatiques se différencient, se transformant en cellules musculaires. Les vaisseaux sanguins acquièrent leur physionomie définitive et ne varient plus jusqu'à l'éclosion, entre le 11e et le 12e jour: il s'agit d'artères typiquement élastiques montrant toutefois une différence entre la moitié interne et externe de la paroi; cette dernière est plus nettement muscleuse, la moitié interne, par contre, garde plus longtemps un aspect mésenchymateux.

Les nombreuses cultures ainsi réalisées nous permettent de résumer les observations de la manière suivante:

(a) Les artères prélevées au 5e-6e jour d'incubation ne vivent pas sur le milieu standard. Après 24 h déjà, des signes de souffrance tissulaire (dégénérescence granuleuse et lipidique) et des signes de dédifférenciation sont visibles. Il n'y a pas de formation d'éléments musculaires en culture. Dans un certain nombre de cas, les vaisseaux apparaissent en mauvais état de conservation après 3-5 jours de culture.

(b) A partir du 7e-8e jour, les artères explantées montrent une capacité accrue à la survie: les phénomènes de dégénérescence et de nécrose sont moins accusés, le matériel élastique augmente considérablement. Cette capacité de survie est encore plus marquée si les vaisseaux sont prélevés sur des embryons du 9e ou 10e jour. Toutefois, nous n'avons jamais constaté un véritable accroissement des tissus, sauf pour le matériel élastique. Nous n'avons pas observé en culture de différenciation cellulaire. Les tissus restent tout au plus au degré de développement qu'ils avaient atteint au moment de l'explantation.

(c) Dans les périodes ultérieures du développement, nous avons pu vérifier les phénomènes déjà décrits: les vaisseaux artériels embryonnaires sont graduellement plus résistants par rapport aux nouvelles conditions de vie, sans toutefois qu'il n'apparaisse jamais *in vitro* une véritable différenciation cellulaire.

(d) Les différences de structure dans la moitié interne et externe de la paroi artérielle sont plus accusées *in vitro*

qu'*in vivo*. Cette constatation montre que la dédifférenciation frappe surtout la moitié interne de la paroi, tandis que les couches plus externes gardent souvent un aspect musculo-élastique.

L'arrêt du développement, la dédifférenciation importante et les phénomènes de souffrance tissulaire constatés sur les vaisseaux explantés *in vitro*, nous ont posé le problème suivant: pourquoi les vaisseaux sanguins, contrairement à tous les autres organes d'embryons de poulet, ne vivent-ils et ne se différencient-ils pas sur le milieu standard de WOLFF? Nous avons alors pensé que l'un des facteurs pouvant être indispensable pour une morphogénèse normale de la paroi artérielle soit la stimulation mécanique du flux sanguin qui évidemment manque *in vitro*. Nous avons réalisé une autre série d'expériences dans le but de suppléer, du moins en partie, à l'absence du facteur mécanique, et pour se faire, nous avons introduit dans la lumière des artères un corps étranger (crin de Florence) pour maintenir la lumière bâinte. Les résultats de ces expériences sont les suivants:

(a) La présence du crin dans la lumière ne favorise nullement la survie de la paroi cultivée. Par contre, la présence du crin amène souvent l'hypotrophie de la paroi artérielle dans des vaisseaux prélevés sur des embryons jusqu'au 13e-14e jour. Après cette date, la présence du crin ne favorise pas la survie du vaisseau, mais ne provoque pas non plus d'hypotrophie.

(b) Dans un certain nombre de cultures, on a introduit dans la lumière artérielle 2 crins pour occuper totalement le diamètre interne de l'artère. Dans la presque totalité de ces cas, la réponse de la paroi artérielle à la stimulation exercée par les 2 crins a toujours été la même, c'est-à-dire un dédoublement plus ou moins complet de la lumière vasculaire. Autrement dit, nous avons constaté que la présence des 2 crins stimule l'endothélium à proliférer et à se glisser entre un crin et l'autre pour former une double couche cellulaire qui divise la lumière en 2 compartiments. Au début de l'expérience, cette travée de division est purement endothéliale; mais, par la suite, des cellules mésenchymatiques et des fibrilles collagènes s'y glissent aussi en s'appuyant sur le support solide représenté par les crins de Florence.

En résumé, les résultats de la deuxième série d'expériences révèlent des propriétés insoupçonnées de la paroi vasculaire de l'embryon de poulet. Cette paroi, tout en vivant mal en culture organo-typique, montre un important degré de malléabilité et d'adaptation qui peut aboutir au dédoublement de la lumière.

Summary. The authors studied the arteries of the heart of chick embryos (aorta, anonyma and pulmonary arteries). They describe: (a) the morphogenesis of these arteries; (b) the ability of these arteries to survive and to differentiate when cultivated *in vitro*; (c) the way the arteries reacted to the presence of a foreign body in the lumen.

G. CONTI, B. CAPPELLI et J. P. MUSY

Institut d'Histologie et d'Embryologie générale de l'Université, 1700 Fribourg (Suisse), 27 décembre 1967.

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