

# CHARLES LINDBERGH

## ET LA CULTURE DES ORGANES

### NOUVELLES CONCEPTIONS ANATOMIQUES

Les conceptions des tissus et des organes enseignées par l'anatomie classique sont simples et commodes. Mais, comme toutes les abstractions, elles sont une expression incomplète de la réalité. Elles ont montré leur utilité en donnant une base à la physiologie et à la pathologie. Elles ont grandement aidé au développement de la médecine et constituent la base indispensable de la chirurgie. Mais leur faiblesse est apparue en même temps. Quand l'anatomie a coupé en deux organes et membres, elle est incapable de nous faire comprendre la pleine signification de ces fragments. Elle ne peut expliquer comment les tissus peuvent former un être vivant. Elle ne dévoile pas le mécanisme des phénomènes les plus communément observés, tels que l'inflammation d'un tissu, le développement d'une tumeur, la cicatrisation d'une blessure. Ces lacunes proviennent de la technique utilisée pour apprendre à connaître la structure du corps. Depuis l'époque d'Aristote, l'anatomie a disséqué l'organisme en fragments morts. Et ces fragments, dépourvus d'activité fonctionnelle par leur séparation du sang circulant, apparaissent comme des formes inertes privées de réalité. Ils sont, en effet, des représentations non temporelles de choses douées de la caractéristique essentielle, la souffrance.

Les organes vivants diffèrent profondément des organes

enlevés par dissection du corps, parce que les tissus et le sang circulant constituent un tout indivisible. Quoique circulant sans cesse à travers les capillaires, le sang est un composant nécessaire de chaque organe. La lymphe vient des capillaires et remplit les espaces intraorganiques. Chaque élément anatomique dépend directement ou indirectement de cette lymphe qui constitue son milieu et, en dernier lieu, du sang circulant. Une cellule est liée au milieu aussi étroitement que le noyau au cytoplasme. Cette conception est aussi vieille que la cytologie elle-même. Il y a presque un siècle, Schwann enseignait que les cellules sont environnées d'un liquide, le *cytoblastema*, qu'il décrit comme contenant les matériaux nécessaires pour la nutrition. Plus tard, Claude Bernard a démontré l'importance capitale de ce liquide dans la vie du corps. Il l'a appelé le « milieu intérieur ». La physiologie, selon sa conception, est fondée à la fois sur les propriétés inhérentes aux tissus et sur les conditions physico-chimiques du milieu intérieur. Ce milieu est produit par les tissus et les organes, et, à son tour, règle leur activité. Un certain état morphologique et fonctionnel des cellules est déterminé par un état donné de leur milieu. Mais chaque type de cellule répond, suivant sa modalité personnelle, au même milieu, comme l'a montré la méthode de la culture des tissus (1).

La structure et les fonctions d'un organe dépendent à la fois de ses propriétés héréditaires, de son histoire antérieure et de l'état de ses humeurs. Ces caractéristiques physiologiques acquièrent seulement leur pleine signification quand les conditions physiologiques, physico-chimiques et physiques du sang et sa composition chimique sont définies avec précision. La conception des organes bâtie par l'anatomie classique doit donc être remplacée par celle d'un système composé de tissus et de cellules sanguines et des constituants chimiques du plasma sanguin. Ces constituants chimiques sont aussi indispensables à la constitution de chaque organe que les cellules épithéliales et les cellules conjonctives et leur charpente. L'étude d'une structure anatomique ne peut pas être séparée de celle du liquide circulant à travers ses capillaires. Les cellules et le milieu ne font qu'un. La distinction

(1) A. Carrel (Préface de R. C. Parker), *Méthodes de la culture des tissus*. New York, Hoeber, 1938.

entre structure et fonction est aussi artificielle que celle entre cellule et milieu. Elle n'existe pas dans la nature. Elle a été créée par les techniques anatomiques. La fonction est l'expression nécessaire de la durée des éléments histologiques. Un organe séparé du corps par la dissection est hors du temps et sans fonction. La structure, le temps et la fonction sont seulement des aspects de l'intégralité des organes vivants (1). Chaque détail de structure possède une expression fonctionnelle. Un organe survit à travers les aptitudes physiologiques de ses constituants. Un organe est essentiellement une chose vivante. C'est un mouvement, un changement incessant dans un cadre identique. La durée d'un organisme est équivalente à celle des modifications chimiques des tissus et du plasma sanguin qui s'expriment elles-mêmes par les étapes de croissance, maturité, vieillesse. Les tissus, les organes et les organismes sont des structures fluides. La rigidité et l'immobilité de leur apparence sont des illusions, car ils se déplacent dans le temps physique à la même vitesse que l'observateur. Mais le temps de notre corps, c'est-à-dire le temps physiologique, est complètement indépendant du temps marqué par une horloge, aussi indépendant que la structure des tissus est indépendante du système solaire. Le temps physiologique est simplement la quatrième dimension de l'organisme vivant. L'extension temporelle fait un avec son extension spatiale. Nous devons considérer les organes comme des choses se mouvant à leur propre rythme, comme des séries mélangées d'états structuraux et fonctionnels qui établissent leur quatrième dimension sous les yeux de l'observateur. La structure et la fonction n'ont pas d'existence séparée.

En somme, les tissus et les organes sont constitués non seulement par des cellules, mais aussi par des fluides dont la composition chimique et les conditions physico-chimiques déterminent l'expression structurale et fonctionnelle des propriétés inhérentes des cellules. De telles conceptions doivent être substituées à celles de l'anatomie classique. Elles ne sont ni révolutionnaires, ni nouvelles. En réalité, elles sont celles de Schwann et de Claude Bernard.

(1) A. Carrel, *le Temps physiologique* (*Science*, 1931, 74, 618).

## BUT DE LA MÉTHODE

Le but de la méthode est de rénover l'anatomie en étudiant la structure et la fonction des organes en même temps que la composition chimique et les conditions physiques du liquide qui circule à travers leurs vaisseaux sanguins. Les conceptions anatomiques doivent être expérimentales, comme toutes les conceptions scientifiques. Et les conceptions expérimentales sont équivalentes à l'ensemble des expériences par lesquelles elles sont acquises. Les nouvelles conceptions, cependant, sont créées exclusivement par de nouveaux procédés. Les progrès de la science expérimentale dépendent entièrement des progrès des techniques. Pour pouvoir étudier les structures en même temps que la fonction, et les tissus en même temps que le milieu, nous avons dû apprendre à disséquer le corps, non en fragments morts, mais en fragments vivants. Il a donc été nécessaire d'enlever les organes de l'organisme sans les priver de leur milieu et de leur fonction.

Les procédés employés pour atteindre ce but doivent être différents suivant les dimensions et la nature des fragments qui doivent être maintenus en vie hors du corps. Le procédé le plus simple pour empêcher la mort des tissus extirpés du corps est de les réduire en petits lambeaux et d'immerger ces lambeaux dans un milieu nutritif où les cellules peuvent se multiplier comme le font les bactéries. Au lieu d'utiliser les voies normales de la circulation, les petits fragments de tissus se nourrissent de substances qui diffusent dans leur intérieur du coagulum plasmatique ou du liquide dans lequel ils sont immergés. Cette technique a été créée, il y a trente ans, par Harrison, lorsqu'il a étudié la formation des processus protoplasmiques par les cellules du tube neural des embryons de grenouilles dans une goutte de lymphe suspendue sur une lame creuse. Les procédés qui constituent la méthode de la culture des tissus sous la forme présente (1) découlent de cette expérience simple. Quand on a pu obtenir des colonies de tissus et de cellules sanguines

(1) R.-C. Parker, *Méthodes de la culture des tissus*. New York, Hoeber, 1938.

en souches pures, on a constaté que chaque type de cellule peut être défini par ses propriétés physiologiques aussi bien que par son aspect morphologique. La structure et la fonction peuvent être ainsi saisies simultanément, et l'on peut analyser leurs modifications sous l'influence des constituants chimiques du milieu.

La possibilité de l'observation *in vitro* des propriétés physiologiques des colonies cellulaires a conduit à une nouvelle forme de cytologie (1). Les lois spécifiques de la physiologie, a dit Claude Bernard, sont les lois d'organisation. Telles sont précisément les lois que cette cytologie nouvelle permet de découvrir par l'étude des tissus et des cellules sanguines cultivés *in vitro* et des liquides dans lesquels ils vivent. Considérées ainsi, les cellules apparaissent comme douées de propriétés qui font d'elles les pierres de l'édifice, mais aussi les bâtisseurs d'un organisme capable de se développer, d'arriver à la maturité, à la vieillesse, de réparer les blessures et de résister ou de succomber à la maladie.

Un second procédé, pour maintenir en vie les tissus hors du corps, consiste à faire circuler un liquide nutritif à travers les artères, les capillaires et les veines de ces tissus. Les organes peuvent ainsi vivre dans la pompe de Lindbergh, comme les colonies cellulaires le font dans le coagulum d'une éprouvette. La méthode de la culture des tissus est applicable au niveau cellulaire de l'organisation de la matière vivante et la méthode de culture des organes entiers au niveau supracellulaire, c'est-à-dire aux agrégats hétérogènes de cellules qui constituent les organes et qui doivent leur structure particulière à la présence des vaisseaux sanguins et des canaux excréteurs. La première méthode convient aux propriétés des tissus et des cellules sanguines et aux lois de l'association cellulaire dans l'édification des organes. La seconde méthode convient aux propriétés des organes et aux lois de l'association de ces organes en un organisme. Ces méthodes ne se complètent pas l'une l'autre. Elles diffèrent au point de vue de leurs buts spécifiques. Mais elles convergent toutes les deux vers l'élaboration de concepts structuraux plus larges et le développement d'une anatomie nouvelle.

(1) A. Carrel, *la Cytologie nouvelle* (Science, 1931, 73, 297). Préface de R. C. Parker, *Méthodes de la culture des tissus*. New York, Hoeber, 1938.

## EXPÉRIENCES DE PERFUSION

L'idée de maintenir en vie une partie du corps, afin d'étudier ses fonctions, n'est pas nouvelle. Le physiologiste français Le Gallois, en 1812, avait déjà envisagé la possibilité de faire circuler artificiellement un liquide à travers un organe ou une région anatomique (1). Dans son livre, il a écrit que si l'on pouvait remplacer le cœur par un système d'injection... de sang artériel, on réussirait facilement à « maintenir en vie indéfiniment une partie quelconque du corps ». Le Gallois, cependant, n'a pas essayé d'irriguer les organes avec une telle circulation artificielle. En réalité, cent vingt-cinq ans se sont écoulés entre l'époque où ces lignes prophétiques ont été écrites et le début du développement des techniques de culture des organes entiers. Pendant cette longue période, aucune tentative n'a été faite pour « maintenir indéfiniment en vie une partie quelconque du corps » en protégeant les organes contre les bactéries et en les nourrissant avec des milieux nutritifs artificiels. Mais des procédés plus ou moins précis ont été développés lentement pour la « perfusion » des organes.

La première circulation artificielle a été probablement réalisée par Kay, en 1828, afin de rétablir l'irritabilité des muscles en train de mourir. Löbel a perfusé un rein en 1849. En 1858, Brown-Séquard a publié les résultats d'expériences dans lesquelles du sang oxygéné était envoyé dans les artères avec une seringue. En faisant circuler du sang à travers les vaisseaux d'une tête séparée du corps, il a observé le rétablissement de certaines fonctions cérébrales. Le premier appareil à perfusion semble avoir été inventé dans le laboratoire de Ludwig. En 1868, en effet, Ludwig et Schmidt ont décrit un appareil envoyant sous une pression constante du sang provenant d'un réservoir. Avec cette technique, de Cyon a fait contracter pendant quarante-huit heures un cœur de grenouille isolé. Plus tard, il a démontré, avec une technique analogue, qu'un foie perfusé peut encore fabriquer de l'urée. En même temps, Ludwig et Schmidt reconnaissaient que les

(1) C.-J.-J. Le Gallois, *Expériences sur le principe de la vie*. Paris, d'Hautel, 1812.

variations de pression produites en injectant le sang avec une seringue exercent des effets bienfaisants. Fry et Gruber obtiennent alors une pression pulsatile d'une manière mécanique. D'autres appareils sont imaginés par Hamel, Jacobj, Brodoe, qui permettent une pression pulsatile et l'aération du liquide de perfusion. Les conditions mécaniques de la perfusion sont améliorées progressivement. En effet, l'appareil de Hooker, employé aussi par Belt, Smith et Whipple (1), peut fournir une pulsation identique à celle observée sur l'animal normal. L'historique toute récente de la perfusion des organes en Amérique et en Europe est bien connue.

Beaucoup d'expériences de perfusion ont été effectuées avec des appareils divers. Mais aucune technique, en aucun cas, n'a permis de maintenir un organe en état de survie pendant plus de quelques heures. Tous les organes maintenus ainsi, *in vitro*, ont toujours subi un processus de destruction. La vie des tissus perfusés dépend en effet de beaucoup de facteurs. Le liquide de perfusion doit être exempt de particules flottantes qui pourraient déterminer des embolies. Quand on emploie le sang, il ne doit pas contenir de globules agglutinés. La température, la pression osmotique, le pH du liquide, le rythme des pulsations, les pressions maxima et minima doivent être exactement réglées. La composition chimique du milieu nutritif et son oxygénation ont une importance capitale. En outre, il est indispensable que l'organe soit complètement protégé contre les bactéries. Même si toutes les conditions sont bien requises, sauf une, l'expérience est vouée à un échec complet. La perfusion physiologique des organes est extrêmement difficile. Telle a été la conclusion à laquelle sont arrivés, il y a quelques années, Belt, Smith et Whipple, après avoir passé soigneusement en revue les résultats obtenus en perfusant des organes (2). Ils concluent que la perfusion des organes n'a que peu ou pas de valeur touchant des déductions que l'on peut tirer de l'existence de cellules vivantes. Les organes parenchymateux, perfusés, dégénèrent en quelques heures.

(1) A.-E. Belt, H.-P. Smith et G.-H. Whipple, III. *Facteurs en jeu dans la perfusion des organes et des tissus vivants* (*Am. J. Physiol.* 1920, 52, 101).

(2) *Ibidem.*

L'organe observé n'est pas un organe vivant, mais un organe en autolyse.

Pour cette raison, un essai a été fait en 1912 pour maintenir les organes *in vitro* dans des conditions plus naturelles (1). La technique a consisté essentiellement à enlever du corps le cœur, les poumons et les organes abdominaux, ce système étant maintenu dans des conditions telles que le cœur puisse perfuser les organes spontanément avec du sang normal, l'air étant injecté dans les poumons. Ainsi a été créé un organisme viscéral se perfusant lui-même. L'eau et les aliments étaient introduits dans l'estomac par l'œsophage, l'urine était recueillie dans la vessie. Les organes gardaient pendant plusieurs heures l'apparence qu'ils ont sur un animal vivant. Les contractions du cœur et la circulation des organes restaient normales. L'intestin évacuait les fèces par un orifice artificiel et par des contractions péristaltiques régulières. Dans une expérience au cours de laquelle l'estomac avait reçu de la viande au moment de la mort, la digestion s'est produite. Au moins 90 pour 100 des acides aminés injectés dans l'intestin ont été rapidement absorbés. Il y avait également une diurèse abondante. En général, l'organisme viscéral restait dans un état normal dix heures environ. Sa mort était annoncée par des irrégularités des contractions du cœur. Puis, le cœur s'arrêtait brusquement. Bien que les organes aient pu être maintenus en vie pendant un certain nombre d'heures, la difficulté de cette technique, qui présente pourtant de nombreux avantages, a empêché son développement. Il est évident que la seule façon pratique de cultiver les organes est de recourir à la circulation artificielle.

Mais aucune des techniques classiques de perfusion ne peut être utilisée dans la culture des organes, car aucune n'apporte de protection suffisante contre les bactéries. La première condition pour une technique efficace est l'asepsie complète. Nous avons essayé, en 1929, de cultiver des organes entiers en combinant les techniques décrites depuis longtemps pour la transplantation des organes, les procédés antiseptiques découverts pendant la guerre et un appareil à perfusion stérilisable entièrement fait de verre.

(1) A. Carrel, *Sur les organismes viscéraux* (J. exp. Med., 1913, 58, 155.)

Cet appareil consistait en une pompe magnétique inventée par Rosenberger et en une chambre respiratoire (1). Il a été employé pour la perfusion des reins. Mais les expériences ont complètement échoué. Il est donc évident que la vieille méthode de Ludwig ne peut pas être rénovée de cette manière. Il était inutile d'essayer de cultiver des organes entiers jusqu'à ce que des techniques, incomparablement plus efficaces pour la circulation artificielle, sous des conditions stériles, d'un liquide nutritif à travers leurs vaisseaux sanguins, aient été réalisées.

#### LA CULTURE DES ORGANES ENTIERS ET DES RÉGIONS ANATOMIQUES

L'histoire de la méthode que nous voulons décrire a débuté en 1931, quand Lindbergh a inventé un appareil à serpentin pouvant être maintenu stérile (2). Cet appareil était en pyrex. La pression était maintenue par la colonne de liquide et le liquide était élevé et mis en circulation en plaçant l'appareil sur un plan incliné auquel était imprimé un mouvement circulaire. Ce mouvement élevait le liquide dans le serpentin et dans le réservoir supérieur. L'oxygène, l'azote et le gaz carbonique aux concentrations nécessaires pouvaient être introduits dans le tube à mi-hauteur du serpentin. Dans la chambre des organes, l'organe ou le vaisseau sanguin était monté sur deux canules, une pour l'admission du sang et l'autre pour sa sortie. Le mouvement de la plate-forme permettait au liquide de circuler vers le haut le long du serpentin. Toutefois la pression du liquide n'était pas suffisante ; de plus, le liquide ne pulsait pas ; le montage des organes dans leur chambre était difficile ; l'infection se produisait fréquemment. Néanmoins, cet appareil a pu maintenir une circulation de sérum sanguin à travers une artère carotide pendant un mois entier sans apparition d'infection. Un autre appareil, fondé sur un principe différent, dans lequel la pression était plus élevée, a été construit par la suite. La pression dans cet appareil était aussi maintenue par la colonne de

(1) H. Rosenberger, *Une pompe électromagnétique* (*Science*, 1930, 71, 463).

(2) C.-A. Lindbergh, *Appareil permettant de faire circuler des liquides sous pression constante dans un système fermé* (*Science*, 1931, 73, 566).

liquide, mais le serpentín était remplacé par un tube de verre d'un diamètre intérieur de trois millimètres environ. La circulation était maintenue par une pression gazeuse transportant le liquide perfusé du tube vers un réservoir placé au sommet et oxygénant en même temps le liquide. Cet appareil était plus facile à construire que le premier, mais difficile à stériliser, à cause de la longueur du tube nécessaire pour maintenir une pression suffisante dans l'organe. Les expériences faites avec cet appareil n'ont pas encore été satisfaisantes.

Vers la fin de 1934, Lindbergh a inventé une pompe permettant de maintenir une circulation pulsatile de liquide nutritif, convenablement oxygéné, à travers un organe. Cet appareil faisait appel à la plupart des principes généraux sur lesquels l'appareil employé actuellement est fondé. L'appareil a été progressivement modifié les mois suivants. En même temps, une technique chirurgicale a été mise au point, permettant d'enlever les organes de l'animal et de les greffer dans la chambre d'organe sans danger d'infection et sans danger de nécrose. Ce procédé chirurgical est fondé sur les techniques mises au point depuis longtemps pour la greffe des vaisseaux sanguins et des organes. Le but de ces techniques a été d'extirper et de greffer un organe de telle façon que le sang ne se coagule pas dans les vaisseaux et qu'aucune particule étrangère n'obstrue les capillaires pendant le lavage de l'organe. Les embolies et la nécrose sont ainsi évitées.

Ces expériences préliminaires ont également montré que la circulation peut rester interrompue une heure ou deux, même dans des organes aussi délicats que le rein, sans lésions définitives. Toutefois, le degré élevé d'asepsie chirurgicale, nécessaire pour le succès des anastomoses vasculaires, ne suffisait pas pour assurer la stérilité des organes greffés dans la chambre d'organe de l'appareil de Lindbergh. Bien que l'air de la salle d'opération fût presque stérile, et qu'une asepsie rigoureuse fût observée dans les manipulations des tissus, des infections bactériennes et même des colonies d'*aspergillus niger* se développaient souvent. L'asepsie seule ne suffisait pas. Pendant la grande guerre, dans les laboratoires installés à Compiègne par la Fondation Rockefeller, on a constaté combien de simples antiseptiques comme

l'hypochlorite de sodium et la chloramine T pouvaient être utiles. Ces procédés antiseptiques ont été employés dans la préparation des organes pour la pompe de Lindbergh. La protection du champ opératoire avec des champs immergés dans une solution d'hypochlorite et le lavage des mains gantées, des instruments et des fils dans cette même solution ont supprimé l'infection.

Un nouveau type de chambre d'organe a été inventé récemment, en 1935, par Lindbergh. Puis, le 5 avril, un organe a été cultivé avec succès *in vitro* pour la première fois. Un chat fut saigné jusqu'à la mort sous anesthésie à l'éther. Au bout de quelques minutes, le cou fut ouvert et l'artère carotide droite, le nerf vague et la glande thyroïde furent mis à nu. Une canule fut insérée dans le bout inférieur de l'artère. Avec une seringue de Gentile on injecta de la solution de Ringer dans l'artère et les vaisseaux sanguins de la glande. Puis, l'artère carotide fut ligaturée et sectionnée 2 centimètres au-dessus de l'artère thyroïdienne. La glande fut enlevée en masse avec la carotide, le nerf vague et le tissu conjonctif environnant. La thyroïde gauche fut fixée dans la formaline et gardée comme témoin. La thyroïde droite fut placée dans la chambre d'organe et la perfusion mise en train. Le liquide de perfusion était composé de 235 centimètres cubes de sérum de chat à 40 pour 100 dans la solution de Tyrode. A ce liquide fut ajouté 0,005 pour 100 de rouge phénol. Le mélange gazeux était formé de 3 pour 100 de gaz carbonique, 21 pour 100 d'oxygène et 76 pour 100 d'azote.

La perfusion dura dix-huit jours. A la fin de l'expérience, la glande présenta les mêmes dimensions que la glande témoin. Quelques fragments de cette glande furent inclus dans un coagulum plasmatique, dans une fiole D. Les cellules épithéliales envahirent bientôt le milieu d'une façon très étendue. C'était la preuve que, pendant la période de perfusion, la thyroïde était restée vivante. Les coupes de la glande montrèrent une grande aire nécrotique, mais la plupart des follicules étaient normaux. L'épithélium était moins épais que celui du témoin, mais il n'y avait pas de vacuoles dans la colloïde. La consommation totale de glucose pendant la période de culture avait été de 110 milligrammes. C'est

ainsi que fut démontrée la possibilité de maintenir un organe entier vivant hors du corps (1). L'idée de Le Gallois avait été réalisée.

#### NOUVEAU DÉVELOPPEMENT DE LA MÉTHODE

La pompe de Lindbergh s'étant montrée capable de protéger les thyroïdes et les ovaires contre les bactéries et de fournir à ces glandes une circulation de sérum dilué, il a fallu vérifier ensuite si d'autres organes continueraient à vivre quand ils sont nourris avec un tel liquide de perfusion simple. Au cours de cette recherche, des techniques pour la préparation des divers organes ainsi que pour prévenir les accidents qui peuvent arriver, soit à l'appareil lui-même, soit aux organes, ont été progressivement développées. Une étude des conditions mécaniques de la circulation et des relations entre les dimensions des organes et le volume du liquide de perfusion a été faite également. Tous les organes ne se comportent pas de la même manière, quand on les cultive dans du sérum dilué. Nourris avec un tel milieu, les artères, les veines, le tissu conjonctif, les glandes thyroïdes et parathyroïdes, les ovaires, les ganglions sympathiques, les poumons, le myocarde, la peau et les cartilages restent sensiblement normaux. La rate, le pancréas, les glandes surrénales sont plus ou moins altérés. Les reins dégénèrent toujours. Quand le milieu circulant contient des globules rouges, les reins sont moins profondément modifiés. La concentration des ions H du liquide de perfusion, la tension de l'oxygène du mélange gazeux, la fréquence du pouls, la pression des pulsations et la pression maxima du liquide de perfusion sont également des facteurs importants dans la survie des organes. Le sang total ne donne pas de résultats satisfaisants pour une longue perfusion. Des expériences variées ont été ensuite entreprises en vue d'augmenter la teneur en oxygène du liquide de perfusion par d'autres méthodes. Ces méthodes impliquent l'addition d'hémoglobine, la diminution de la température de l'organe perfusé et le travail des pompes à per-

(1) A. Carrel et C.-A. Lindbergh, *la Culture des organes entiers* (Science, 1935, 81, 624). C.-A. Lindbergh, *Un appareil pour la culture des organes entiers* (J. exp. Med., 1935, 62, 409).

fusion dans une chambre de pression sous une pression de plusieurs atmosphères.

Les organes perfusés, comme on pouvait le prévoir, répondent aux modifications de la composition chimique de leur milieu par des modifications de leur structure. Dans les milieux naturels, sérum sanguin à différents taux de dilution, ou sang total héparinisé, l'ovaire, la thyroïde et les parathyroïdes ne subissent que des modifications légères dans leur aspect anatomique. Cependant la thyroïde devient généralement plus active, quand elle est cultivée avec du sérum sanguin qu'*in situ*, dans le corps. L'addition de faibles quantités de peptone de Witte détermine une hyperplasie marquée de la thyroïde et également une prolifération des cellules conjonctives de l'ovaire. La présence de l'hormone thyrotropique dans le liquide de perfusion déclenche de la vacuolisation de la colloïde et augmente les dimensions des cellules thyroïdiennes. Un excès de calcium produit une dégénérescence des fibres élastiques de l'artère carotide. Selon la nature du milieu de perfusion, les glandes thyroïdes prennent des aspects quelque peu analogues à ceux des goîtres hyperplastiques et colloïdes. En même temps, des modifications de l'activité de l'organe ont été mises en évidence par les modifications de la teneur en iode du liquide circulant.

Ces expériences, ainsi que d'autres, ont montré que les organes *in vitro* adaptent leur structure et leurs fonctions à la composition chimique des milieux. Les analyses précises des effets réciproques du milieu et de l'organe nécessitent l'emploi de milieux artificiels, au lieu du sérum sanguin, comme liquide de perfusion. Par exemple, la fonction et l'origine des protéines du sérum ne peuvent pas être pleinement comprises, tant que les organes ne sont pas cultivés dans un milieu dépourvu de protéines. Des milieux artificiels, tel que le suc embryonnaire, peptones et digérés de protéines, ont été employés pendant longtemps pour la culture des tissus. Dans les expériences faites avec Landsteiner, des milieux très simples, sans sérum, circulaient à travers les thyroïdes, les ovaires et d'autres organes. Des liquides de composition plus complexe ont été préparés récemment par Baker et employés dans la pompe de Lindbergh sans sérum. Ces milieux ont pu maintenir en vie des organes tels que les glandes thyroïdes

et les ovaires pendant plus d'une semaine. Ils ont rendu possible l'application de la méthode aux organes et aux groupes d'organes des petits animaux, tels que les cobayes. Ils ont pu être utilisés aussi pour la culture des tissus humains et des tissus d'animaux dont le sérum sanguin ne peut pas être obtenu en quantité suffisante.

En somme, pendant cette seconde partie du développement de la méthode, des organes entiers, cultivés *in vitro*, ont pu vivre, mais ils ont pu aussi modifier leur structure et leur fonction selon la composition chimique et les conditions physico-chimiques et mécaniques du liquide circulant.

#### EMPLOI DE LA MÉTHODE

La culture des organes est réalisée par trois ordres de procédés : mécaniques, chirurgicaux et chimiques. Ces procédés sont extrêmement simples, quand on a été entraîné à manipuler l'appareil et à préparer les milieux et les organes. Une simple description de la méthode ne suffit pas à les enseigner ; avant qu'on puisse être maître de tous leurs détails, il faut les suivre et les pratiquer sous une direction rigoureuse. Quand l'appareil est monté et travaille correctement, il fonctionne automatiquement pendant des périodes de temps presque illimitées. Mais chaque détail du montage et des opérations doit être exécuté avec une minutieuse exactitude. De même, chaque détail concernant la préparation de la pompe pour la stérilisation, la préparation du sérum sanguin et des milieux artificiels, l'introduction du milieu dans la pompe, l'extirpation de l'organe, sa préparation et son introduction dans la chambre d'organe, est indispensable. A la vérité, la complexité de la méthode n'est qu'apparente. En fait, les techniques sont plus faciles que celles de la culture des tissus. Par exemple, il ne faut pas plus de vingt minutes pour préparer une glande thyroïde et la transplanter dans la chambre d'organe de la pompe de Lindbergh.

Bien que la culture des organes soit encore dans la période primitive de son histoire, elle est solidement établie sur un grand nombre d'expériences. Chaque procédé a été soumis à de nombreux tests. Sans doute, cette méthode développera progressivement ses potentialités en s'adaptant à la diversité

des problèmes anatomiques, physiologiques, chimiques et pathologiques. Actuellement, cependant, ceux qui commencent à pratiquer la culture des organes seront sages en n'essayant pas de modifier un détail avant d'avoir acquis la maîtrise de la technique complète.

#### LE BUT FINAL

Bien que le progrès des machines soit très rapide, un certain nombre d'années est nécessaire pour amener une invention à son rendement complet. Environ cent trente ans se sont écoulés entre l'apparition du bateau à vapeur de Robert Fulton sur l'Hudson et les traversées triomphales de l'Océan par les gigantesques paquebots modernes. Il a fallu plus de soixante ans à la chirurgie, après les opérations de Lister et les premières applications de l'antisepsie, pour réaliser ses merveilleux progrès et aboutir à Hervey Cushing et à ses audacieuses opérations cérébrales. Mais le succès des techniques s'étend généralement au delà de toutes prévisions. Nous devons rappeler que l'appareil de Lindbergh et les techniques chirurgicales et chimiques pour la culture des organes ont à peine trois ans d'existence. Comme ils ont juste commencé à développer leurs potentialités, leur rôle dans les progrès futurs de la physiologie et de la médecine ne peut être que partiellement prévu.

Ces techniques ouvrent à la recherche expérimentale un champ interdit jusqu'alors : le corps humain vivant. La physiologie et la pathologie devaient se contenter d'expériences sur les animaux. Et encore, la vivisection est-elle considérée par certains comme presque criminelle. Il arrive aujourd'hui que des organes enlevés du corps humain, au cours d'une opération ou tout de suite après la mort, peuvent revivre dans la pompe de Lindbergh, et refonctionner quand on les perfuse avec un liquide artificiel. Ainsi sont rendues possibles des expériences sur des parties vivantes du corps quand la personnalité a disparu. Le domaine de la recherche pathologique sera très étendu, puisque des organes atteints de tumeurs malignes ou d'autres maladies dégénératives pourront être étudiés vivants, bien que séparés du corps humain. Quand des appareils plus grands seront construits,

des organes humains entiers tels que le pancréas, la surrénale, la thyroïde et d'autres glandes pourront libérer leurs produits de sécrétion dans leur milieu circulant. Comme ces liquides ne contiennent pas de protéines étrangères, ils pourront être injectés sans danger aux êtres humains à des fins thérapeutiques et donner aux organismes déficients les hormones ou les anticorps dont ils ont besoin. Ainsi des organes humains fabriqueront *in vitro* les substances fournies aujourd'hui aux malades par les chevaux ou les lapins.

La construction de pompes plus grandes pourra conduire à d'autres applications de la méthode. Nous pouvons peut-être rêver d'enlever des organes malades du corps et de les placer dans la pompe de Lindbergh comme l'on met un malade à l'hôpital. Là, ces organes pourront être traités beaucoup plus énergiquement que dans l'organisme, et quand ils seront guéris, on les replantera chez le patient. Une thyroïde extirpée au cours d'une opération pour maladie de Basedow, un rein enlevé pour tuberculose, une jambe amputée pour ostéosarcome, pourront peut-être guérir en vivant *in vitro* sous l'influence d'un milieu artificiel. La replantation n'offrira pas de difficultés, car les techniques chirurgicales pour la suture des vaisseaux sanguins et la transplantation des organes et des membres se seront perfectionnées depuis longtemps.

Cependant les applications réellement importantes de la méthode ne seront pas dans le champ de la chirurgie. Elles dériveront des connaissances acquises par l'étude *in vitro* des besoins nutritifs de chaque organe. Il existe des relations définies, comme on le sait bien, entre les fonctions d'un organe, sa structure et la concentration de certaines substances chimiques dans son milieu intérieur. Les phénomènes de croissance, de régénération, de cicatrisation des blessures et la sécrétion des hormones dépendent de la composition du liquide qui diffuse des capillaires dans les tissus. « Nous acquerrons une explication scientifique des phénomènes, écrivait Claude Bernard, seulement quand nous serons capables de déterminer, avec le milieu organique interne, les conditions générales de nutrition de tous les éléments histologiques avec les agents nutritifs spécifiques pour chacun de ces éléments. » La méthode de la culture des tissus et

celle de la culture des organes nous a donné les moyens dont Claude Bernard rêvait, mais qu'il ne pouvait espérer obtenir pour l'étude des besoins alimentaires de chaque type de cellule et de chaque tissu en état d'activité et au repos. Ainsi sera découverte la nature des substances chimiques spécifiques requises par un organe donné, pour sa croissance et sa fonction normale. Peut-être sera-t-il alors possible de fournir au corps vivant les substances indispensables pour le développement d'un organe ou pour sa régénération. Au lieu d'injecter des hormones à un malade, nous fournirons aux glandes les substances nutritives appropriées et nous les amènerons ainsi à se développer, à se régénérer et à sécréter de nouveau les hormones. Provoquer la régénération dans le pancréas des îlots de Langerhans sera une méthode beaucoup plus efficace de traitement du diabète que l'injection quotidienne d'insuline au malade. Cette connaissance plus complète de la nutrition permettra de stimuler la croissance ou d'empêcher la détérioration d'un organe donné dans le corps.

La culture des organes nous a fourni les moyens de déterminer les conditions de la nutrition de chaque partie du corps. Elle a donc rempli l'espérance de Claude Bernard. La physiologie et la médecine ont ainsi acquis un instrument puissant pour l'investigation des relations intriquées entre les organes et le sang. Une ère nouvelle est ouverte. La nouvelle anatomie est capable de saisir les structures du corps dans la plénitude de leur réalité, de comprendre comment les organes forment l'organisme, et comment l'organisme croît, vieillit, cicatrise ses blessures, résiste à la maladie et s'adapte avec une facilité merveilleuse aux variations de milieu. Le but final de la culture des organes est d'obtenir cette nouvelle connaissance et de la poursuivre à travers la complexité de ses conséquences imprévisibles.

DOCTEUR A. CARREL.

Traduit par le docteur Paul Boyer.