



## Étienne Wolff Un pionnier de l'embryologie et de la tératologie expérimentales

Étienne Wolff, né en 1904, nous a quittés le 19 novembre 1996. Il a traversé le siècle laissant après lui une œuvre qui aura marqué son temps et une école d'Embryologie dont la renommée a depuis longtemps dépassé nos frontières.

### Les années de formation

C'est en Normandie qu'il a passé son enfance. Il a commencé sa scolarité au lycée d'Elbeuf, puis a fréquenté celui de Rouen où son père était professeur. Aussi doué pour les matières scientifiques que littéraires il se trouva à 15 ans muni du double baccalauréat de Mathématiques et de Philosophie.

C'est d'avoir obtenu la meilleure note à sa dissertation de philosophie au baccalauréat qui décida, semble-t-il, de ses premières études universitaires. De ce brillant résultat ses professeurs et lui-même conclurent qu'il avait une vocation philosophique. A 17 ans, il était déjà titulaire d'une licence ès Lettres et c'est en préparant un diplôme d'Études Supérieures de Philosophie qu'il dut, pour compenser son ignorance du grec, préparer les certificats de Géologie, Botanique et de Zoologie. Il s'inscrivit pour ce faire à l'université de Strasbourg. Ce n'est certes pas l'enseignement qu'il reçut alors qui suscita l'enthousiasme pour la biologie qui l'habita pendant le restant de sa vie. Il en parle ainsi [1] « Les deux années, que je passai à suivre les cours de ces disciplines me parurent mortelles. La faute était partagée

entre l'élève et les professeurs. Moi qui avais tourné et retourné des idées générales, je ne me résignais pas à cette espèce de vocabulaire, de dictionnaire qu'on voulait m'inculquer. Les professeurs incarnaient l'ennui, ils respiraient l'indifférence, ils enseignaient des mots, non des choses, jamais des idées ».

La force de persévérer dans « ce climat de purgatoire », il la trouva dans la nécessité qu'il y avait pour lui d'obtenir un diplôme scientifique dans la perspective, qui était la sienne à cette époque, de préparer l'agrégation de philosophie. C'est en suivant les cours de biologie générale, ce qu'il faisait par curiosité car ils n'étaient pas nécessaires pour la licence d'enseignement, qu'il rencontra le professeur Édouard Chatton. Celui-ci, qualifié par Étienne Wolff de « *savant de haute classe* », savait faire partager à ses étudiants son enthousiasme pour la biologie et notamment la protistologie, domaine où il était un maître incontesté. Il s'intéressait à ses élèves, à leur avenir et savait les encourager. C'est ainsi que les premiers travaux de recherche d'Étienne Wolff furent accomplis sur les Amibes sous la direction d'Édouard Chatton. L'atmosphère intellectuelle et humaine du laboratoire du professeur Chatton fut à l'origine du choix qu'il fit de poursuivre une carrière de biologiste.

Le voici donc « *orienté par le hasard et par le milieu vers la voie scientifique* » [1]. C'est aussi pendant cette période qu'il devint successivement licencié ès Sciences, puis diplômé d'Études Supérieures de Sciences Naturelles

pour enfin passer avec succès l'Agrégation de Sciences Naturelles en 1928. Tout naturellement, l'agrégation le conduisit à un poste de professeur de lycée. Il enseigna pendant un an et trois mois au lycée de Colmar mais dans son esprit cet épisode, dont il gardait d'ailleurs un souvenir agréable, ne devait être que temporaire car sa vocation pour la recherche était claire et il espérait revenir à l'université pour y reprendre des travaux. Le Cnrs n'existait pas à l'époque et les postes d'assistant à l'Université étaient rares. Par bonheur un de ces postes se présenta dans le service de Paul Ancel, professeur d'Embryologie à la Faculté de Médecine de Strasbourg. Paul Ancel souhaitait que ce poste soit occupé non par un jeune médecin, mais par un étudiant en sciences plus susceptible de consacrer la totalité de son activité à la recherche. C'est sur la recommandation du professeur Chatton qu'Étienne Wolff s'y porta candidat et, au grand regret du directeur de l'Enseignement secondaire en Alsace, abandonna le lycée de Colmar. En 1930, l'embryologie expérimentale connaissait son âge d'or grâce, en particulier, aux travaux de l'école allemande dont le chef de file Hans Spemann, devait recevoir 4 ans plus tard le prix Nobel pour ses travaux sur l'organisateur. Venaient ensuite l'école américaine avec Harrison, l'école belge avec Dalcq. En France, il y avait eu de grands précurseurs tels Bataillon mais, à cette époque, c'était le laboratoire d'Ansel qui, avec son

collaborateur Vintemberger, était le plus productif. Ils étudiaient les effets des rayons X sur le développement des œufs d'amphibien et d'oiseau, notamment sur la mise en place des axes de polarité chez la grenouille, événement essentiel du développement embryonnaire dont on commence aujourd'hui à rendre compte en termes moléculaires. L'attrait des résultats spectaculaires de Spemann et de ses collaborateurs sur le centre organisateur s'exerça sur le jeune biologiste qui nous occupe. Il fut cependant dissuadé par Paul AnceI de s'engager dans cette voie trop fréquentée selon lui. AnceI lui proposa de s'intéresser à la tératologie, qui souffrait de n'avoir été jusque-là que descriptive et d'avoir donné lieu à des interprétations plus fantaisistes que scientifiques.

### Étienne Wolff et la tératologie expérimentale

La tératologie, qu'elle soit descriptive ou expérimentale, a son origine en France. Les premières études sur les êtres nés anormalement constitués sont dues à Ambroise Paré et remontent à 1575. À côté de descriptions et d'illustrations fidèles de cas authentiques, figurent dans le fameux traité « des Monstres et des Prodiges », des monstres de fantaisie semblant sortir de l'imagination de l'auteur plutôt que d'exemplaires réels. Plus curieuse encore est l'interprétation donnée de la genèse de ces monstres. Par exemple, les monstres doubles étaient supposés résulter d'une fécondation par un excès de sperme tandis que les monstres acéphales auraient été dus à une trop faible quantité de semence mâle. Au début du XIX<sup>e</sup> siècle, Étienne Geoffroy Saint-Hilaire et son fils Isidore Geoffroy Saint-Hilaire avaient fait de la tératologie une science objective et proposaient même que, pour comprendre la genèse d'une malformation donnée, il conviendrait d'être capable de la reproduire expérimentalement. Dareste, dans les années 1850, s'employa à mettre en pratique cette idée de Geoffroy Saint-Hilaire et, en soumettant l'œuf de poule à des variations de température, à des

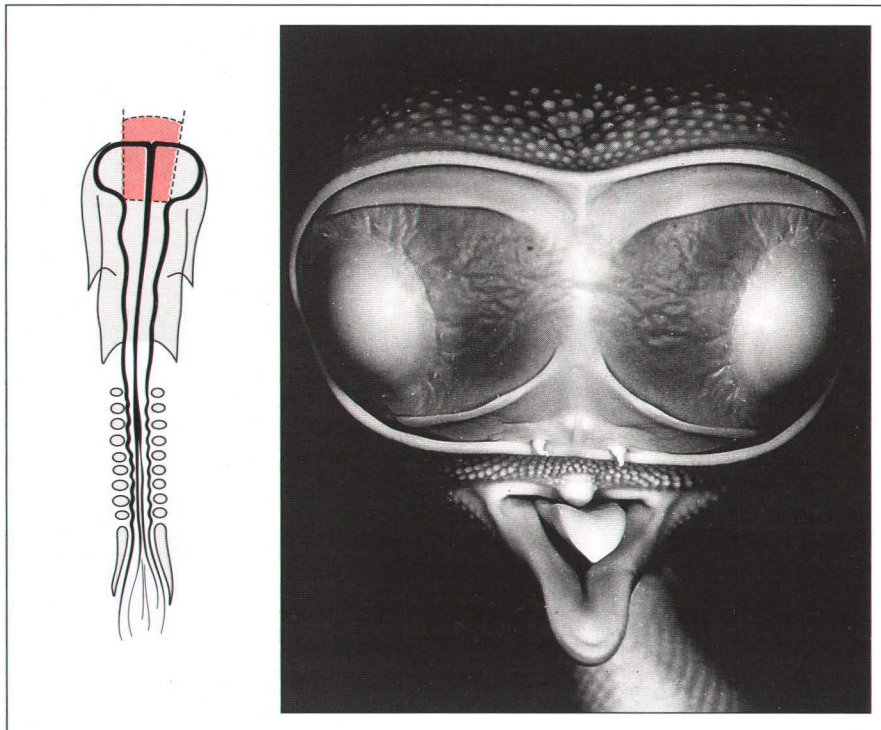


Figure 1. **Intervention (à gauche) permettant d'obtenir des cyclopes dont les deux yeux sont partiellement fusionnés sur la ligne médiane (droite).** Le territoire détruit par les rayons X est indiqué en pointillé et correspond à l'ébauche du télencéphale et du diencephale. Les ébauches oculaires sont protégées de l'irradiation. (D'après [4].)

secousses rythmiques ou au vernissage de la coquille, obtint en effet des anomalies du développement. Celles-ci étaient multiples et apparaissaient au hasard car aucun lien de cause à effet ne pouvait être déduit de méthodes aussi globales. Sur le conseil de son maître Paul AnceI, Étienne Wolff tenta à partir de 1931 de produire des malformations bien définies en appliquant un fin faisceau de rayons X sur certains territoires de l'embryon de poulet. Il y parvint au-delà de toute espérance et sut obtenir à volonté chacune des grandes malformations rencontrées à la naissance chez l'homme et les autres vertébrés. Il put par exemple produire des cyclopes plus ou moins parfaits par fusion de deux vésicules optiques (figure 1), des otocéphales chez qui la mâchoire inférieure est absente et dont les deux oreilles se rejoignent et occupent la place du menton (ou du bec inférieur chez le poulet) (figure 2), des syméliens, fœ-

tus dont les deux membres inférieurs fusionnent en un seul qui prolonge la colonne vertébrale et prend la place du sacrum et du coccyx (figure 3).

L'intérêt de ce travail n'était pas tant de produire ces êtres anormalement constitués que de savoir les fabriquer à volonté. Cela impliquait que les territoires embryonnaires destinés à produire les différents organes et tissus soient identifiés. De plus, les malformations obtenues révélaient parfois les interactions qui se produisent entre ces territoires et les parties de l'embryon qui assurent leur positionnement correct.

Ainsi la cyclopie résultant de la fusion des ébauches oculaires était obtenue si on détruisait le territoire destiné à devenir le cerveau antérieur et le bourgeon frontal, dont on sait maintenant qu'il dérive de cellules de la crête neurale diencephalique, qui était elle aussi détruite par l'irradiation [2].

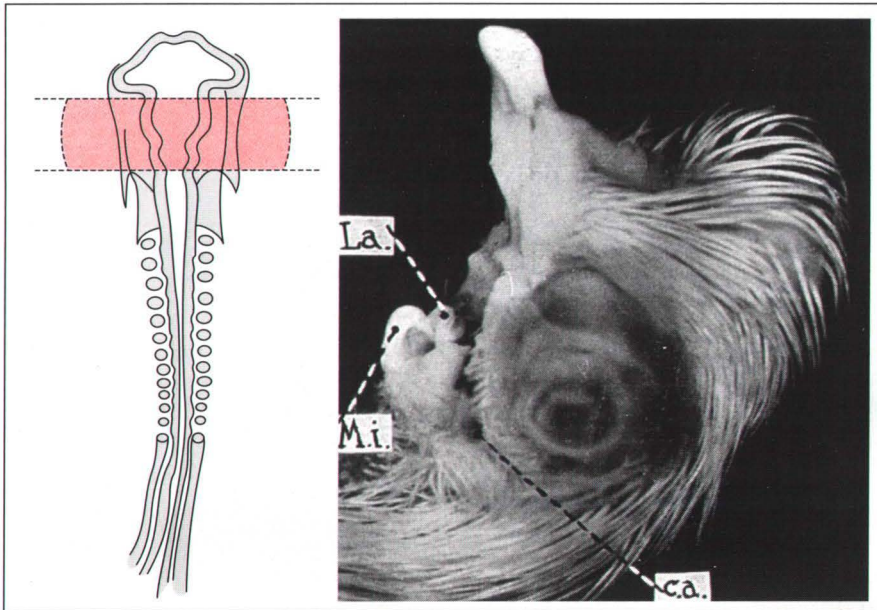


Figure 2. L'intervention provoquant l'otocéphalie consiste dans la radiodestruction d'une zone comprenant mésencéphale et métencéphale antérieur dont proviennent les cellules de la crête neurale responsables de la formation de la mâchoire inférieure (Mi). Celle-ci est très réduite ou inexistante dans l'embryon ayant subi cette opération (droite). Les orifices des conduits auditifs (Ca) sont déportés ventralement. La: langue. L'otocéphalie existe dans l'espèce humaine. (D'après [4].)

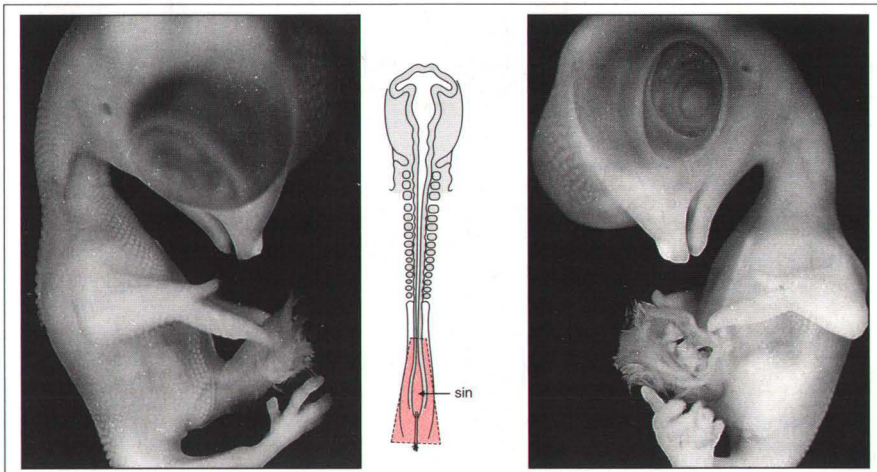


Figure 3. Embryon symélien (droite et gauche) dont les deux pattes ne font qu'une. Cette malformation est obtenue après qu'on a détruit le sinus rhomboidal (sin) qui est à l'origine du futur bourgeon caudal (voir schéma central). (D'après [4].)

La symélie postérieure était obtenue par la destruction du sinus rhomboidal dont émerge ensuite le bourgeon caudal générateur de la partie lombosacrée et caudale de l'embryon. Pour arriver à ce niveau de précision,

il fallait d'abord mettre au point une méthode permettant d'accéder à l'embryon aux stades précoces de son évolution sans en compromettre le développement ultérieur. Très peu d'auteurs avaient jusque-là osé opé-

rer l'embryon de poulet autrement que par des moyens indirects en agissant sur l'œuf entier, comme l'avait fait Dareste. L'accès à l'embryon se soldait généralement par une hémorragie fatale ou la lésion non moins fatale des annexes très richement vascularisées qui adhèrent à la coquille. Étienne Wolff eut l'idée de ponctionner un ou deux millilitres de l'albumine de l'œuf fraîchement incubé. Ainsi un petit espace est ménagé entre la coquille et le jaune. On peut alors ouvrir, dans la coquille, une fenêtre qui met à jour l'embryon dont on peut observer le développement jusqu'à l'éclosion et sur lequel il devient possible d'intervenir dans de meilleures conditions.

En fait, la production systématique de tous les types de malformations connues par application localisée de faisceaux de rayons X est fondée sur la destruction de parties définies de l'embryon réalisée à un stade où le blastoderme de poulet a une configuration plane. Les territoires présomptifs des différents organes se trouvent distribués dans un même plan et on peut en dresser la carte. La mort cellulaire produite par les rayons X est progressive et ne provoque pas de rupture dans le germe dont les parties restées saines se réorganisent autour de la lésion. L'étude de la genèse progressive du « monstre » résultant d'une irradiation localisée est donc révélatrice de la manière dont les malformations spontanées se constituent. Une explication scientifique rationnelle était apportée à la genèse de la plupart des monstruosité répertoriées qui étaient ainsi définitivement démystifiées.

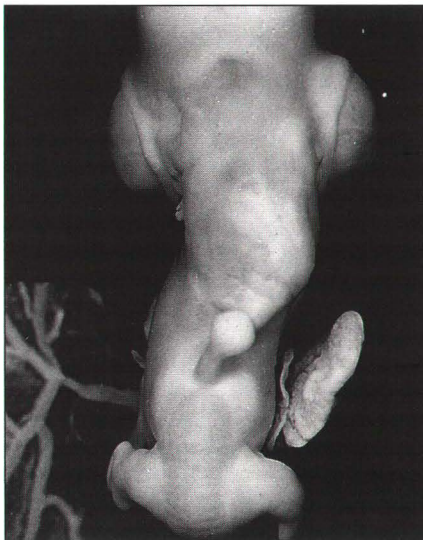
Encouragé par l'obtention de formes connues dans le répertoire des monstres spontanés, Étienne Wolff essaya de fabriquer des monstres « inédits ». Par exemple les syméliens, ces monstres sirènes, l'incitèrent à contraindre les ébauches des membres antérieurs à se souder en un bourgeon d'aile unique. Il détermina l'emplacement du territoire alaire aux stades de 2 jours d'incubation, où l'embryon de poulet se prête particulièrement bien à l'expérimentation dans l'œuf, puis réalisa la « symélie antérieure » en détruisant

les organes axiaux (moelle épinière, notocorde, somites) qui s'intercalent entre les deux ébauches latérales des ailes (*figure 4*).

Sa thèse publiée en 1936 [3] et intitulée « Les bases de la tératogenèse expérimentale des vertébrés amniotes d'après les résultats de méthodes directes » est un modèle de précision dans l'expérimentation, rare à cette époque. Elle constitue encore aujourd'hui une source de précieux renseignements, et elle a montré l'intérêt que présente l'embryon d'oiseau en embryologie expérimentale dont le matériel d'étude jusqu'à cette époque était presque exclusivement l'œuf de grenouille ou de salamandre.

Le problème posé par les déviations du développement embryonnaire engendrant les monstruosités n'est pas seulement celui du « comment » ces maladies se produisent au cours de l'ontogenèse, c'est aussi celui du « pourquoi ». Quelles sont les causes liées à l'environnement ou génétiques qui les provoquent ? Dans le laboratoire de Paul AnceI à Strasbourg on s'intéressait à la même époque aux facteurs chimiques tératogènes susceptibles, lorsqu'ils sont appliqués aux stades où certaines ébauches sont particulièrement sensibles, de provoquer des malformations spécifiques et reproductibles dans les structures qui en dérivent. Les résultats d'Étienne Wolff et ceux obtenus à partir de 1939 par AnceI et Lallemand ont constitué une révolution en tératologie. Quelques années après les premiers travaux d'AnceI, Landauer [4] obtenait aux États-Unis des résultats similaires par l'administration de certaines substances, telles que l'insuline, chez l'embryon de poulet pendant que Warkany et Schraffenberger [5] provoquaient des malformations spectaculaires chez les rongeurs par la privation de vitamine A. L'ouvrage de Paul AnceI « La chimiotératogenèse chez les vertébrés » [6] et la thèse d'Étienne Wolff [3] constituent des documents importants sur l'état de cette question vers le milieu de ce siècle.

Ces travaux, suivis depuis par de nombreux autres, ont mis en lumière la fragilité de l'embryon et du fœtus,



**Figure 4. La radiodestruction du territoire embryonnaire situé entre les ébauches présomptives des deux ailes conduit à la fusion des deux ailes au milieu du dos. Il s'agit d'une monstruosité « originale » produite par l'expérimentateur mais dont on ne connaît pas de cas spontanés. (D'après [4].)**

sa sensibilité aux radiations ionisantes et la nécessité d'éviter toutes substances ou facteurs susceptibles d'effets tératogènes pendant la gestation.

Après qu'il eut établi son propre laboratoire, la tératologie expérimentale resta pendant plusieurs décennies un des sujets d'étude d'Étienne Wolff. On peut citer les travaux de chimiotératogenèse avec l'ypérite et la thalidomide accomplis par Berthe Salzgeber [7], la tératogenèse cardiaque induite par les rayons X étudiée par Georges Le Douarin [8, 9]. La production de monstres doubles avait reçu une explication raisonnable à la suite des travaux de Spemann sur l'œuf de salamandre. En effet, en séparant les deux premiers blastomères par un fin cheveu, il montrait que chacun d'eux a la potentialité de produire un animal entier et normal. Il restait à voir si le même phénomène pouvait se produire chez les vertébrés supérieurs amniotes pour expliquer la genèse des

monstres doubles et des jumeaux monovitelins humains. Avec son premier élève, Hubert Lutz [10], Étienne Wolff apporta la démonstration que le blastoderme d'oiseau sectionné au stade convenable en deux ou plusieurs fragments selon l'axe céphalocaudal présomptif du futur embryon ou perpendiculairement à cet axe, fournit autant d'embryons normalement constitués que de fragments. Cet étonnant pouvoir de régulation montrait qu'à côté de sa vulnérabilité aux agents tératogènes, l'embryon possède aussi la remarquable capacité de se réorganiser pour tendre vers un développement normal, phénomène qualifié de « régulation ».

Les travaux de ces pionniers n'ont généralement pas apporté de réponses au « pourquoi » de la genèse des malformations. La génétique du développement et la biologie moléculaire permettent maintenant une analyse plus approfondie de ces questions. Ainsi, la découverte des mécanismes d'action de la vitamine A par l'intermédiaire de récepteurs dont l'identification et l'expression tissulaire au cours du développement ont été établis encore une fois à la Faculté de Médecine de Strasbourg, dans le laboratoire du professeur Pierre Chambon [11], permet d'expliquer les effets tératogènes de l'avitaminose A observés il y a 50 ans par Warkany et Schraffenberger [5] ainsi que par plusieurs autres depuis.

#### **L'intersexualité hormonale chez les oiseaux**

Avant de s'intéresser à la tératologie, Paul AnceI avait été un grand anatomiste, puis, avec son collaborateur et ami Pol Bouin, l'un des pionniers de l'endocrinologie sexuelle. On leur doit la découverte de la glande interstitielle du testicule et de son rôle dans la sécrétion de l'hormone mâle, la testostérone [12]. C'est à cette école et particulièrement au disciple de Pol Bouin, Robert Courrier, que revient la découverte des deux sécrétions ovariennes, l'hormone folliculaire et celle du corps jaune. AnceI et Bouin ont commencé leurs travaux en collaboration à l'université de

Nancy. Nommés l'un et l'autre à Strasbourg, Bouin continua à exercer son activité dans le domaine de l'endocrinologie, alors qu'Ansel devenu titulaire de la chaire d'embryologie, entreprit des recherches d'embryologie et de tératologie expérimentales avec le succès que l'on sait.

Le bouillonnement intellectuel qui accompagna ces remarquables découvertes subsistait encore dans les laboratoires d'Ansel et de Bouin à la Faculté de Médecine de Strasbourg lorsque Étienne Wolff y faisait ses premiers pas dans la recherche.

En 1935, plusieurs hormones sexuelles avaient été obtenues à l'état cristallisé. L'idée qui prévalait à l'époque était que si les hormones stéroïdes influençaient l'établissement des caractères sexuels secondaires, elles n'avaient pas d'influence sur la différenciation sexuelle primaire, c'est-à-dire le développement des gonades et des conduits génitaux. Étienne Wolff fut cependant tenté d'éprouver leur action sur de jeunes embryons. Avec son collaborateur, Albert Ginglinger [13], il administra quelques microgrammes d'œstrone ou d'œstradiol à des embryons de poulet de 5 jours d'incubation et constata qu'à la fin de l'incubation les embryons avaient tous un appareil génital de constitution femelle ou intermédiaire entre mâle et femelle. Aucun embryon ne présentait un tractus génital et des gonades mâles typiques (figure 5).

Ainsi chez les oiseaux, une classe de vertébrés dans laquelle la femelle est hétérogamétique, les œstrogènes administrés à l'embryon se révélaient-ils capables de produire des intersexués par féminisation partielle des gonades mâles et du tractus génital. La féminisation du testicule s'est révélée, cependant, transitoire et une réversion de l'ovotestis vers une morphologie et un fonctionnement testiculaire était régulièrement observée après l'éclosion. Les hormones mâles, injectées dans les mêmes conditions, agissaient surtout sur le tractus génital qu'elles masculinisaient en perturbant fortement le développement des canaux de Müller, ébauches des voies génitales femelles et en stimulant celui des canaux de Wolff, futurs canaux déférents.

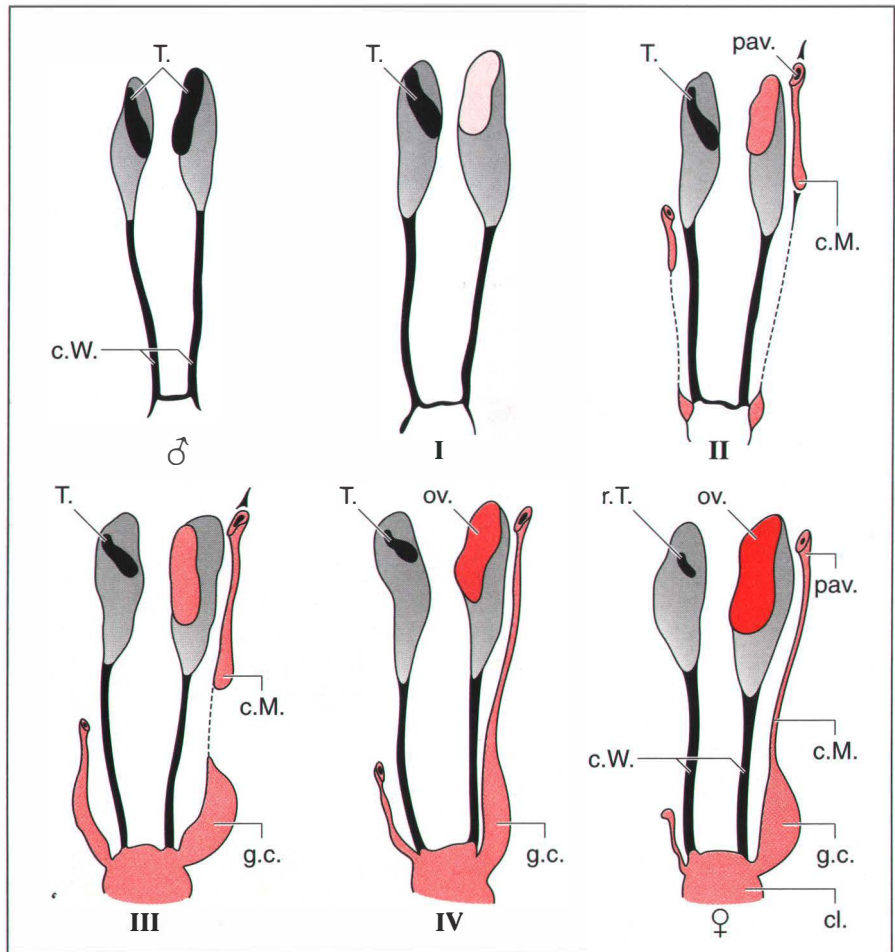


Figure 5. Schéma des gonades et du tractus génital d'un embryon de poulet mâle (en haut à gauche) et femelle (en bas à droite). I à IV représentent des états intersexués obtenus après administration de différentes doses d'œstrogènes à des embryons de poulet mâles. c.W.: canaux de Wolff; c.M.: canaux de Müller; pav.: pavillon de l'oviducte; g.c.: glande coquillière; ov.: ovaire; T.: testicule; r.T.: rudiment testiculaire; cl.: cloaque. (D'après [16].)

C'est après une interruption de six années due à la guerre qu'Étienne Wolff put réorganiser un laboratoire et reprendre ses expériences sur ce sujet. En 1946, il publie les premiers résultats d'intersexualité obtenus par greffes de gonades chez l'embryon de poulet [14]. Cela pouvait être interprété comme la preuve que les gonades de l'embryon d'oiseau sécrètent des hormones sexuelles ou des facteurs agissant d'une manière similaire sur la différenciation sexuelle. Il restait à prouver que ce phénomène expérimental correspondait à une réalité physiologique. La preuve que ces hormones embryonnaires inter-

viennent normalement dans la différenciation du sexe fut apportée par des expériences de castration réalisées par Émilienne Wolff sur l'embryon de canard. Trois caractères somatiques précoces, liés au sexe, étaient affectés par la castration: le développement des canaux de Müller en oviducte, celui de la syrinx et du tubercule génital. Après castration embryonnaire, les canaux de Müller évoluent dans les deux sexes selon un mode voisin de type femelle, la syrinx et le tubercule génital suivant le type mâle [15].

Ces expériences ont évidemment suscité un énorme intérêt. De nom-

breux laboratoires se sont intéressés à l'inversion hormonale du sexe dans tous les groupes de vertébrés [16]. Il est apparu que chez les vertébrés inférieurs, poissons et amphibiens, l'inversion complète et définitive du sexe génétique peut être obtenue par l'administration d'hormones stéroïdes sexuelles aux embryons. Chez les mammifères, au contraire, les stéroïdes ne modifient pas le sexe gonadique mais affectent seulement le développement des voies génitales. La testostérone cependant, contrairement à son action chez l'oiseau, ne provoque pas l'involution des canaux de Müller.

Les travaux effectués par Alfred Jost sur le rat l'ont amené à postuler la production par le testicule fœtal d'un facteur protéique responsable de la régression des canaux de Müller chez le mâle. Les conclusions d'Alfred Jost ont été ensuite confirmées. Il existe bien une hormone antimüllérienne qui, comme l'a montré le Docteur Nathalie Josso [17], disciple d'Alfred Jost, est produite par les cellules de Sertoli des tubes séminifères. La purification de cette hormone et le clonage du gène correspondant ont récemment révélé qu'elle appartient à une famille de facteurs particulièrement actifs dans divers processus du développement embryonnaire comme chez l'adulte et dont le premier membre identifié est le TGF $\beta$  (*transforming growth factor  $\beta$* ) [17, 18].

L'hormone antimüllérienne a été aussi trouvée très récemment chez les oiseaux [19, 20] et pourrait donc rendre compte, au moins partiellement, de la régression des canaux de Müller de la femelle induite par la greffe d'un testicule. Certains auteurs ont, en effet, proposé que l'action de la testostérone sur les canaux de Müller chez les sauropsidés pourrait être de nature plus tératologique que physiologique [21].

Les innombrables recherches sur la différenciation du sexe auxquelles les travaux d'Étienne Wolff ont ouvert la voie ont montré que la détermination génétique des caractères sexuels primaires est plus labile chez les vertébrés inférieurs que chez les mammifères, les oiseaux constituant à cet égard un état intermédiaire. Ainsi, les recherches de Claude Pieau ont

révélé que, chez certains reptiles, la température à laquelle se trouvent les œufs pendant l'incubation détermine le phénotype sexuel des adultes qui en dérivent (*m/s n° 2, vol. 13, p. 281*) [22].

#### La culture d'organes *in vitro*

C'est à partir de 1950 qu'Étienne Wolff, avec l'aide de sa jeune élève Katy Haffen, décida de poursuivre l'analyse de la différenciation sexuelle en isolant les gonades ainsi que différentes parties du tractus génital (par exemple canaux de Müller, syrinx) en culture *in vitro*. On pouvait ainsi envisager d'étudier, dans des conditions mieux maîtrisées par l'investigateur, l'évolution d'une ébauche donnée, soustraite aux influences complexes auxquelles elle est soumise dans l'embryon. Les divers composants de l'appareil génital du poulet ou du canard pouvaient être cultivés en milieu an hormonal ou, au contraire, en présence de doses connues de stéroïdes sexuels. Ils pouvaient être associés en parabiose dans le but de reproduire, hors de l'organisme, l'intersexualité réalisée chez l'embryon. Encore fallait-il que les tissus explantés gardent leur structure tridimensionnelle et que l'explant n'évolue pas en une culture de cellules disposées en couche monocellulaire comme c'est le cas des cultures couramment pratiquées en boîte de Pétri en milieu liquide. En effet, l'adhérence des cellules au substrat a pour effet d'induire leur fuite autour de l'explant et la survie préférentielle des éléments fibroblastiques.

Le secret de la culture « organotypique », où l'arrangement cellulaire du tissu explanté n'est pas altéré, est de fournir aux cellules un support impropre à la migration et de placer le tissu à l'interface air/milieu, ce qui favorise la formation d'une couche de cellules épithélioïdes autour de l'explant et contribue au maintien de sa structure initiale. Les cultures de cellules, inaugurées par les travaux de J. Joly et A. Carrel ont connu, dès le début et tout au long de ce siècle, un succès considérable, alors que les possibilités offertes par la culture organotypique n'avaient été que peu

explorées. Des auteurs comme Maximow et surtout l'école de Strangeways et Fell avaient été presque seuls à exploiter cette méthode avant 1950.

La méthode de Wolff et Haffen [23] consiste à incorporer les substances nutritives (solution physiologique, sérum, extrait d'embryon de poulet) dans un gel d'agar. L'explant est posé à la surface du milieu semi-solide dans un récipient scellé. Les variations adéquates de la composition de ce milieu permettent de l'adapter à la culture d'organes de vertébrés et d'invertébrés divers. On peut aussi l'adapter à la culture d'embryons d'oiseau entiers prélevés avant l'établissement de la circulation sanguine comme le fit une des élèves d'Étienne Wolff, Doris Simon [24]. Elle réalisa même des parabioses entre embryon de poulet et de canard et montra que les cellules germinales qui prennent leur origine dans l'aire extra-embryonnaire rejoignent les gonades par la voie sanguine. On peut ainsi provoquer le peuplement des gonades de canard par des cellules germinales de poulet et inversement grâce à l'établissement d'un réseau vasculaire commun aux deux parabiontes.

#### L'apport de la culture organotypique au problème de la différenciation sexuelle

L'application de la méthode de culture organotypique au problème de la différenciation sexuelle devait permettre à Étienne Wolff et à ses collaborateurs d'obtenir une moisson de résultats importants.

Les ébauches gonadiques, lorsqu'elles sont isolées *in vitro*, poursuivent leur différenciation en accord avec leur sexe génétique [25]. L'association d'ébauches gonadiques provenant d'embryons de sexe différent confirma la capacité des sécrétions ovariennes de féminiser le testicule montrant du même coup que ces sécrétions agissent d'une manière directe sur la gonade [26]. Dans de telles associations la gonade femelle poursuivait, *in vitro*, sa différenciation en ovaire tandis que la gonade mâle était féminisée et se développait en

ovaire ou en ovotestis. Le même résultat était obtenu en incorporant des œstrogènes au milieu de culture. L'intersexualité hormonale et les expériences de castration réalisées *in vivo* fournissaient un résultat paradoxal en ce qui concerne l'évolution des canaux de Müller. Ceux-ci sont présents à l'état d'ébauches dans les deux sexes, régressent chez le mâle tandis que chez la femelle, chez laquelle seule la gonade gauche se développe en ovaire, le canal de Müller gauche évolue en oviducte alors que celui de droite reste rudimentaire puis disparaît (figure 5). L'administration d'hormone femelle à un embryon de sexe mâle inhibe la régression des canaux de Müller mais le même effet est aussi obtenu par la castration.

L'isolement des canaux de Müller en culture a permis d'éclairer ce problème. Avec Yvonne Ostertag et Denise Scheib, Étienne Wolff montra que, s'ils sont prélevés avant le 9<sup>e</sup> jour de l'incubation et cultivés *in vitro*, ces canaux se maintiennent quel que soit leur sexe génétique [27]. Prélevés après 9 jours, les canaux mâles s'atrophient spontanément en culture alors qu'ils continuent à survivre et à s'accroître s'ils sont de sexe génétique femelle.

Ce résultat confirmait ceux des expériences de castration et montrait qu'à partir de 9 jours le programme de mort cellulaire est déjà enclenché sous l'influence d'un facteur qui provient du testicule, puisque l'association de canaux de Müller prélevés avant 9 jours avec une ébauche testiculaire ou l'incorporation d'androgènes au milieu de culture provoque leur régression.

#### **Réalisation *in vitro* d'organes chimériques et culture organotypique de cancers humains**

Les mêmes conditions de culture s'étant montrées favorables à la survie d'organes d'oiseaux et de mammifères, des associations entre organes embryonnaires (rein, foie, poumon) de souris et de poulet furent réalisées. Bien qu'appartenant à des classes différentes, les associations hétérospécifiques d'organes ho-

mologues résultaient en une interpénétration des cellules des deux espèces [28]. Des organes chimères étaient ainsi produits ouvrant la voie aux chimères réalisées plus tard *in vivo* entre différentes espèces d'oiseau telles la caille et le poulet [29, 2] ou de souris et de poulet [30].

Ces expériences d'association parabiologique *in vitro* de tissus d'origine mammifère et aviaire sont à l'origine d'une série de travaux exécutés par Étienne et Émilienne Wolff pendant les deux dernières décennies de leur carrière. Il s'agit de la culture organotypique tout d'abord de tumeurs de rat et de souris puis de cancers humains provenant de pièces opératoires en association avec des organes embryonnaires de poulet. Des fragments tumoraux étaient placés sur le milieu semi-solide de Wolff et Haffen et pouvaient survivre et s'accroître d'une manière virtuellement indéfinie à condition qu'ils soient placés au contact de fragments de rein embryonnaire (mésonephros d'embryons de 7 jours) régulièrement renouvelés. Dans ces conditions, les tumeurs épithéliales gardaient leur structure histologique tridimensionnelle, un caractère auquel Étienne Wolff attachait une grande importance. Il s'est ensuite engagé avec Émilienne Wolff et quelques autres collaborateurs (J. Mason, Y. Croisille, J. Smith) [31, 32] vers une recherche de type nutritionnel qui tendait à établir ce qui, dans l'explant « nourricier » de mésonephros, était nécessaire à la survie du cancer. La mise en évidence qu'un enrichissement du milieu de culture en certains amino-acides pouvait remplacer l'explant de rein embryonnaire montra ensuite que celui-ci n'exerçait sur la culture qu'un rôle nutritif banal [33].

#### **Mise en évidence d'interactions cellulaires entre les composantes épithéliale et mésenchymateuse dans le développement de nombreux organes**

Les années 1950 et 1960 ont été marquées par des recherches menées dans plusieurs laboratoires du monde sur les interactions de nature in-

ductrice s'exerçant au cours de l'organogenèse. Nombre d'organes sont initialement constitués de deux tissus d'origines différentes, l'un est épithélial et dérive de l'ectoderme (pour la peau et ses annexes) ou de l'endoderme (pour le tube digestif et les glandes qui lui sont associées), l'autre est mésenchymateux et provient du mésoderme ou, comme c'est le cas pour les dents, du mésectoderme dérivé de la crête neurale. Le rein, bien que dérivant exclusivement du mésoderme, présente aussi une phase de son développement au cours de laquelle l'uretère primaire, de nature épithéliale, est entouré d'un tissu mésenchymateux qui fournira les canaux sécréteurs et les glomérules. Aux États-Unis, Aron Moscona avait mis au point en 1952 une méthode de dissociation enzymatique des composantes épithéliale et mésenchymateuse applicable à toutes les ébauches embryonnaires mixtes [34]. Cultivés isolément l'épithélium et le mésenchyme ne survivent que peu de temps en culture et ne sont le siège d'aucune différenciation. En revanche, réassociés, ces tissus s'accroissent et accomplissent une morphogenèse accompagnée de cytodifférenciation selon des modalités quasi normales. Les travaux de Clifford Grobstein, Lauri Saxen et d'autres sur le rôle inducteur de l'uretère primaire dans la différenciation du métanéphros étaient, à cette époque, particulièrement spectaculaires [35, 36]. La méthode de culture organotypique préconisée par Grobstein (dérivée de celle de Trowell), consistait à placer l'organe à l'interface air/milieu sur une grille recouverte d'un filtre millipore.

Le milieu de Wolff et Haffen convenait aussi parfaitement aux cultures d'ébauches dissociées en leurs composantes épithéliale et mésenchymateuse ou recombinaison. L'analyse des interactions inductrices entre les éléments de divers organes a constitué un des thèmes de recherche principaux du laboratoire qu'Étienne Wolff avait établi à Nogent-sur-Marne après sa nomination comme Professeur au Collège de France en 1955. Par exemple, le développement des plumes et des écailles a été décompo-

sé en plusieurs étapes au cours desquelles le mésoderme puis l'ectoderme jouent, tour à tour, un rôle décisif sur leur évolution réciproque [37]. Des interactions de nature inductrice entre le mésenchyme splanchnique et l'endoderme furent mises en évidence au cours du développement du foie [38], de l'estomac [39] du poumon [40], du pancréas [41].

La démonstration du rôle inducteur de la corde dorsale et du tube neural dans la différenciation du somite en muscles et en vertèbres fut apportée par Georges Strudel [42].

Aucun laboratoire à cette époque n'a cependant été capable de purifier les facteurs responsables de ces inductions. Elles font intervenir des quantités de substances trop faibles pour qu'il ait été et soit possible de les isoler par les méthodes biochimiques classiques, d'autant que les tests mettant en évidence leur effet biologique sont difficiles à mettre en œuvre et à quantifier. L'application des méthodes modernes de biologie moléculaire commence à lever le voile sur les problèmes posés par les travaux des embryologistes de cette époque.

### La régénération chez les planaires

Bien qu'un peu délaissés de nos jours, les problèmes posés par la capacité qu'ont certains organismes de régénérer un appendice (par exemple une patte chez les urodèles) ou même une grande partie du corps après amputation ont, par le passé, beaucoup intrigué les biologistes du développement. La régénération dont sont capables certains organismes adultes, s'apparente au phénomène de régulation par lequel les embryons peuvent construire un organe complet après ablation d'une partie de son ébauche. La régénération peut être considérée comme une morphogénèse réparatrice et présente donc bien des points communs avec le développement embryonnaire. Étienne Wolff s'est intéressé à ce problème d'une manière constante après son retour de captivité en 1945.

Le modèle sur lequel il a essentiellement concentré ses efforts est la planaire d'eau douce (*Dugesia lugubris*

ou *Polycelis nigra*) douée d'un pouvoir de régénération remarquable. La planaire adulte coupée en deux peut régénérer à partir de chacun des deux fragments une moitié céphalique ou caudale, de sorte qu'un animal entier de taille normale est bientôt reconstitué. Cette reconstruction est donc polarisée, la moitié rostrale régénérant une queue et la moitié caudale une tête. Elle s'accomplit grâce à des cellules indifférenciées auxquelles Étienne Wolff a donné le nom de «néoblastes». Avec Françoise Dubois, il montra que les néoblastes disséminés dans les tissus différenciés de la planaire adulte étaient mobilisés à la suite de l'amputation et migraient activement vers la plaie où ils constituaient un blastème de régénération [43].

Avec ses collaborateurs Théodore Lender [44], Catherine Sengel [45] et Barbara Fedeka-Bruner [46], il démontra que le premier événement de détermination qui a lieu dans le blastème de régénération est l'établissement de la polarité antérieure ou postérieure du régénérat. Il s'ensuit une cascade d'inductions qui assurent l'organisation du blastème. Ainsi, Théodore Lender [44] apporta la preuve que lors de la régénération céphalique, la différenciation du cerveau précède et conditionne celle des yeux. L'apparition d'yeux dans un blastème céphalique peut cependant être obtenue si on traite le blastème antérieur par un extrait de cerveau de planaire, traitement qui a, par ailleurs, la propriété d'inhiber la différenciation du cerveau à partir du blastème. Ainsi se pose, pour la régénération de la Planaire comme d'ailleurs pour le développement de l'embryon, le problème des mécanismes génétiques qui contrôlent et limitent le pouvoir de prolifération des cellules ainsi que leur capacité de s'organiser en tissus et organes.

### Étienne Wolff, le chercheur et le Maître

Tels sont les principaux sujets abordés par Étienne Wolff en tant que chercheur et directeur de recherche. Il fut aussi l'auteur talentueux d'articles de synthèse et d'ouvrages mon-

trant la justesse et l'acuité de son jugement scientifique autant que l'étendue de ses connaissances.

Ainsi à partir de sa rencontre avec Édouard Chatton et Paul AnceI, les deux maîtres auxquels il s'est plu à rendre à maintes reprises un hommage émouvant, Étienne Wolff a éprouvé pour la recherche une passion qui s'est maintenue pendant toute la durée de son activité et au-delà. Il a su la transmettre à plusieurs des nombreux élèves qu'il a initiés au métier de chercheur. Certains ont occupé des postes de Professeurs d'Université, d'autres ont accompli une carrière de chercheur au Cnrs. Il a en effet créé une école d'Embryologie qui est demeurée bien vivante et dévoilé les avantages remarquables qu'offre l'embryon d'oiseau pour l'étude des problèmes d'organogenèse, de morphogenèse et de différenciation cellulaire.

Dans sa thèse s'exprime déjà pleinement son talent de chercheur qui associe harmonieusement créativité et rigueur. N'est-il pas remarquable que, plus de 60 ans après qu'elle a été publiée, cette œuvre puisse encore constituer aujourd'hui une source d'informations utiles pour un chercheur s'intéressant à l'embryon d'oiseau? La pérennité de ce travail tient autant à l'abondance des observations pertinentes qu'aux situations expérimentales riches en enseignement créées par la tératogenèse.

Il était certes important de montrer, à cette époque, que des anomalies semblables à celles qu'on observe à la naissance dans l'espèce humaine, pouvaient être systématiquement reproduites par des perturbations bien définies du développement de l'embryon. Mais, au-delà, ce travail montrait que fabriquer sciemment des monstres constitue une voie d'accès à la connaissance des mécanismes qui sous-tendent le développement normal de l'embryon. En effet, qu'on produise des monstres en perturbant par les rayons X l'évolution des ébauches en train de se former, comme le faisait Étienne Wolff dans les années 1930, ou comme on le fait aujourd'hui en provoquant la mutation d'un gène chez la souris, en injectant le produit d'un gène chez le xénope



---

ou encore en greffant chez le poulet des cellules transformées qui sécrètent une substance morphogène, la démarche expérimentale reste la même. Elle consiste à perturber le développement de l'œuf pour en comprendre les lois. Seuls le niveau et le raffinement de l'analyse ont changé avec l'accumulation des connaissances et l'avènement des techniques modernes de biochimie et de biologie moléculaire.

Alors qu'une science nouvelle, l'endocrinologie, voyait le jour au début de ce siècle, au sein de l'École Française Étienne Wolff puis Alfred Jost et leurs collaborateurs montraient que la présence et les effets des sécrétions internes n'étaient pas limités à l'adulte. Les hormones sont déjà produites dans l'embryon et sont responsables de certains phénomènes d'organogenèse et de différenciation cellulaire. L'endocrinologie embryonnaire et fœtale était née et devait être brillamment développée dans ces deux laboratoires.

Alors que sa carrière scientifique débutait de la manière la plus spectaculaire par la publication en 1936 de sa thèse principale sur les bases de la tératogenèse expérimentale et de sa thèse secondaire (il fallait en faire une à l'époque et jusque dans les années 1960!) intitulée «L'évolution après l'éclosion des poulets mâles transformés en intersexués par l'hormone femelle injectée aux jeunes embryons» [47], son activité scientifique fut interrompue par la Seconde Guerre mondiale. Mobilisé dès 1938 sur la ligne Maginot, il fut fait prisonnier le 20 juin 1940 avec son régiment. Commença alors une période sombre de captivité qui dura cinq ans au cours de laquelle il a lié des amitiés auxquelles il est resté fidèle pendant le restant de sa vie.

Dans le camp de Haute-Autriche où il resta quatre ans, il participa à la création d'une université où il dispensa des cours de biologie. Les conditions très dures auxquelles étaient soumis les prisonniers ne sont pas parvenues à le réduire à une inaction stérile. Il a en effet trouvé l'énergie et les ressources intellectuelles nécessaires pour écrire deux livres au cours de sa captivité: «Les

changements de sexe» [48] et «la Science des Monstres» [49].

De retour à la Faculté des Sciences de Strasbourg tout était à reconstruire. Il put au début disposer de deux pièces et progressivement, grâce à sa combativité et à son dynamisme, il réussit à obtenir des locaux plus grands où il réunit ses premiers élèves. Son épouse, Émilienne Wolff, fut l'une de ses premières collaboratrices et le resta très efficacement tout au long de sa vie. Le développement de son laboratoire à Strasbourg, la mise au point de sa méthode de culture d'organes *in vitro* et l'expansion considérable qu'a pris cette technique par la suite doivent beaucoup à l'aide que lui apporta dès le début le Cnrs et son directeur Georges Teissier. Grâce au Cnrs il put recruter des jeunes scientifiques et constituer une équipe qui comprit jusqu'à vingt à trente chercheurs.

En 1955, Étienne Wolff fut élu Professeur au Collège de France et créa l'Institut d'Embryologie expérimentale et de Tératologie dans une propriété située à Nogent-sur-Marne, à l'orée du bois de Vincennes, propriété qui avait été léguée au Collège de France par le Professeur Arsène d'Arsonval. Étienne Wolff entreprit de la rénover et de la transformer en un laboratoire moderne. Il fit construire en 1968 une aile qui s'ajouta au bâtiment primitif. Il y exerça son activité jusqu'en 1975.

Sa droiture, son talent d'organisateur et sa remarquable réussite scientifique lui ont valu de nombreuses marques d'estime. Il fut, en 1964, choisi par ses pairs pour assumer les fonctions d'Administrateur du Collège de France. Lourde tâche, particulièrement délicate au moment de la révolution qui a agité la société française et le monde universitaire en 1968. Il a milité pour conserver au Collège de France son statut d'exception et beaucoup d'entre nous qui en avons été témoins lui en sommes reconnaissants.

Le couronnement de cette carrière particulièrement réussie fut son élection à l'Académie des Sciences, à l'Académie de Médecine et enfin à l'Académie Française, un honneur qui l'a particulièrement touché.

C'est au laboratoire de Nogent que j'ai rejoint son équipe et préparé ma thèse de 1960 à 1964. Étienne Wolff était un Maître attentionné dont l'enthousiasme pour l'Embryologie était communicatif. Au cours des deux premières années, je ne m'exerçais au métier de chercheur qu'à temps très partiel car j'étais en même temps professeur dans un lycée de la région parisienne. Je me souviens avec gratitude de sa disponibilité et de son accessibilité. Même tard le soir il trouvait le temps de parler avec moi de mes premières et balbutiantes expériences.

Il se dégageait de lui une autorité et un sérieux qui nous impressionnaient tous. Par ses connaissances, son talent et ses réalisations il éveillait en nous une grande admiration. J'ai appris au cours de ces longues années de ma carrière de chercheur au cours desquelles j'ai entretenu avec lui des relations régulières que la confiance qu'il nous inspirait était hautement justifiée. Il avait à cœur et se réjouissait de la réussite de ses élèves. J'en ai eu personnellement de nombreuses preuves qui lui ont valu, de ma part, une reconnaissance et une affection profondes. Je pense qu'il en est de même pour nombre de ses anciens élèves et collaborateurs qui ont ressenti sa disparition comme une grande perte ■

## RÉFÉRENCES

1. Wolff E. *Trois pattes pour un canard. Mémoire d'un biologiste*. Paris: Fondation Singer Polignac. 1990; 201 p.
2. Le Douarin N. *The neural crest*. Cambridge: Cambridge University Press. 1982; 259 p.
3. Wolff E. Les bases de la tératogenèse expérimentale des vertébrés amniotes d'après les résultats de méthodes directes. *Arch Anat Histol Embryol* 1936; 22: 1-382.
4. Landauer W. Rumplessness of chicken embryos produced by the injection of insulin and other chemicals. *J Exp Zool* 1945; 98: 65-77.
5. Warkany JM, Schraffenberger E. Congenital malformations induced in rats by maternal vitamin A deficiency. *Arch Ophthalmol* 1946; 35: 150.
6. Ancel P. *La chimiotératogenèse chez les vertébrés*. Paris: Doyn et Cie. 1950; 397 p.

## RÉFÉRENCES

7. Salzgeber B, Wolff E. Experimental production of malformations of the limbs by means of chemical substances. *Int Rev Exp Path* 1964; 3: 330-63.
8. Le Douarin G. Étude de l'action des rayons X sur la physiologie et l'organogenèse du cœur embryonnaire chez le poulet. *Bull Biol* 1963; 97: 643-759.
9. Le Douarin G. Les malformations cardiaques expérimentales. *Ergeb Anat Entwickl* 1964; 37: 167-93.
10. Lutz H. Sur la production expérimentale de la polyembryonie et de la monstruosité double chez les oiseaux. *Arch Anat Histol Embryol* 1949; 38: 79-144.
11. Lohnes D, Mark M, Mendelsohn C, Dolé P, Decimo D, Le Meur M, Dierich A, Gorry P, Chambon P. Developmental roles of the retinoic acid receptors. *J Ster Biochem Mol Biol* 1995; 53: 475-86.
12. Fischer J. Sexualité et procréation: problème de frontière. *Med Sci* 1996; 12: 240-2.
13. Wolff E, Ginglinger A. Sur la transformation des poulets mâles en intersexués par injection d'hormone femelle (folliculine) aux embryons. *Arch Anat Histol Embryol* 1935; 20: 219-78.
14. Wolff E. Recherches sur l'intersexualité expérimentale produite par la méthode des greffes de gonades à l'embryon de poulet. *Arch Anat Histol Embryol* 1946; 36: 69-90.
15. Wolff E, Wolff E. The effects of castration on bird embryo. *J Exp Zool* 1951; 116: 59-97.
16. Jost A. Les péripéties d'une recherche: l'étude de la différenciation sexuelle. *Med Sci* 1991; 7: 263-75.
17. Josso N, Picard JY, Vigier B. Purification de l'hormone antimüllérienne bovine à l'aide d'un anticorps monoclonal. *C R Acad Sci, Série III, Paris* 1981; 293: 447-50.
18. Picard JY, Benarous R, Guerrier D, Josso N, Kahn A. Cloning and expression of cDNA for anti-Müllerian hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 5464-8.
19. Carré-Eusèbe D, Di Clemente N, Rey R, Pieau C, Vigier B, Josso N, Picard JY. Cloning and expression of the chick anti-Müllerian hormone gene. *J Biol Chem* 1996; 271: 4798-804.
20. Neeper M, Lowe R, Galuska S, Hofmann K, Smith RG, Elbrecht A. Molecular cloning of an avian anti-Müllerian hormone homologue. *Gene* 1996; 176: 203-9.
21. Stoll R, Maraud R. Le rôle du testicule dans la différenciation sexuelle des gonoductes chez l'embryon des vertébrés amniotes. *Bull Assoc Anat (Nancy)* 1974; 58: 699-764.
22. Pieau C. Temperature variation and sex determination in reptiles. *Bioessays* 1996; 18: 19-26.
23. Wolff E, Haffen K. Sur une méthode de culture d'organes embryonnaires *in vitro*. *Texas Rep Biol Med* 1952; 10: 463-72.
24. Simon D. Contribution à l'étude de la circulation et du transport des gonocytes primaires dans les blastodermes d'oiseau cultivés *in vitro*. *Arch Anat Micr Morph Exp* 1960; 49: 93-176.
25. Wolff E, Haffen K. Sur le développement et la différenciation sexuelle des gonades embryonnaires d'oiseau en culture *in vitro*. *J Exp Zool* 1952; 119: 381-99.
26. Wolff E, Haffen K. Sur l'intersexualité expérimentale des gonades cultivées *in vitro*. *C R Soc Biol* 1952; 146: 109-11.
27. Wolff E, Haffen K, Lutz-Ostertag Y, Salzgeber B. Les facteurs qui conditionnent le maintien des canaux de Müller chez l'embryon de poulet. *Arch Anat Micr Morph Exp* 1951; 40: 168-82.
28. Wolff E. Potentialités et affinités des tissus, révélées par la culture *in vitro* d'organes en associations hétérogènes et xénoplastiques. *Bull Soc Zool Fr* 1954; 79: 357-68.
29. Le Douarin N. Particularités du noyau interphasique chez la caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*). Utilisation de ces particularités comme « marquage biologique » dans les recherches sur les interactions tissulaires et les migrations cellulaires au cours de l'ontogenèse. *Bull Biol Fr Belg* 1969; 103: 435-52.
30. Fontaine-Pérus J, Jarno V, Fournier-Leray C, Li Z, Paulin D. Mouse chick chimera: A new model to study the *in ovo* developmental potentialities of mammalian somites. *Development* 1995; 121: 1705-18.
31. Wolff E. La culture de tumeurs sur des organes embryonnaires explantés *in vitro*. *Rev Med Bruxelles* 1956; 36: 2235-43.
32. Wolff E, Smith J, Wolff E. Organotypic cultures of human tumors. In: Balls M, Monnickendam MA. *Organ culture in biomedical research*. Cambridge: Cambridge University Press, 1976: 405-15.
33. Mason J, Wolff E, Wolff E. « Wolff factors » from chick embryo mesonephros and liver or yeast. In: *Ciba Foundation symposium on homeostatic regulators*. London: Wolstenholme, Knight, eds, 1969: 75-81.
34. Moscona A, Moscona H. The dissociation and aggregation of cells from organ rudiments of the early chick embryo. *J Anat* 1952; 87: 287-301.
35. Grobstein C. Inductive interaction in the development of the mouse metanephros. *J Exp Zool* 1955; 130: 319-40.
36. Saxen L, Koskimies O, Lahti A, Miettinen H, Rapola J, Wartiovaara J. Differentiation of kidney mesenchyme in an experimental model system. *Adv Morph* 1968; 7: 251-93.
37. Sengel P. *Morphogenesis of the skin*. Cambridge: Cambridge University Press, 1976: 277 p.
38. Le Douarin N. Étude expérimentale de l'organogenèse du tube digestif et du foie chez l'embryon de poulet. *Bull Biol Fr Belg* 1964; 98: 544-674.
39. Sigot M. Organogenèse de l'estomac de l'embryon de poulet. Analyse des mécanismes de la différenciation. *Arch Anat Micr Morph Exp* 1971; 60: 169-204.
40. Dameron F. Étude expérimentale de l'organogenèse du poumon: nature et spécificité des interactions épithélio-mésenchymateuses. *J Embryol Exp Morphol* 1968; 20: 151-67.
41. Dieterlen-Lièvre F. Étude morphologique et expérimentale de la différenciation du pancréas chez l'embryon de poulet. *Bull Biol Fr Belg* 1965; 99: 3-116.
42. Strudel G. L'action morphogène du tube nerveux et de la corde sur la différenciation des vertèbres et des muscles vertébraux chez l'embryon de poulet. *Arch Anat Micr Morph Exp* 1955; 44: 209-35.
43. Wolff E, Dubois F. Sur la migration des cellules de régénération chez les planaires d'eau douce. *Rev Suisse Zool* 1948; 55: 218-27.
44. Lender T. Le rôle inducteur du cerveau dans la régénération des yeux d'une planaire d'eau douce. *Bull Biol Fr Belg* 1952; 86: 140-215.
45. Sengel C. La région caudale d'une planaire était-elle capable d'induire la régénération d'un pharynx? *J Emb Exp Morph* 1959; 7: 73-85.
46. Fedeska-Bruner B. La régénération de l'appareil copulateur chez la Planaire *Dugesia lugubris*. *Arch Anat Micr Morph Exp* 1961; 50: 221-31.
47. Wolff E. L'évolution après l'éclosion des poulets mâles transformés en intersexués par l'hormone femelle injectée aux jeunes embryons. *Arch Anat Histol Embryol* 1936; 23: 1-28.
48. Wolff E. *Les changements de sexe*. Gallimard, Paris, 1946; 306 p.
49. Wolff E. *La Science des Monstres*. Gallimard, Paris, 1948; 265 p.

### Nicole Le Douarin

Professeur au Collège de France. Directeur de l'Institut d'embryologie cellulaire et moléculaire du Cnrs et du Collège de France.  
Institut d'embryologie cellulaire et moléculaire du Cnrs et du Collège de France, 49 bis, avenue de la Belle-Gabrielle, 94736 Nogent-sur-Marne Cedex, France.

### Remerciements

L'auteur tient à remercier le Dr N. Josso et le Dr F. Dieterlen d'avoir bien voulu lire le manuscrit de cet article et de lui avoir prodigué d'intéressantes suggestions.

### TIRÉS À PART

N. Le Douarin.