

## Essai d'interprétation des résultats obtenus récemment chez les Vertébrés sur l'intersexualité hormonale

Par ETIENNE WOLFF<sup>1</sup>, Strasbourg

### I. – *Les faits*

Depuis les travaux de LILLIE sur les génisses intersexuées connues sous le nom de «free-martin», deux catégories de recherches ont permis d'obtenir expérimentalement des intersexués dans les différentes classes de Vertébrés: a) des recherches sur la parabiose expérimentale des embryons, dont les free-martins sont le modèle naturel; b) des expériences d'injections d'hormones sexuelles aux embryons.

<sup>1º</sup> Les recherches sur la parabiose expérimentale ont été poursuivies avec succès sur les embryons de Batraciens par BURNS, HUMPHREY, WITSCHI et leurs collaborateurs depuis 1925. Elles ont démontré que dans les couples hétérosexués une hormone passe de l'un à l'autre composant; elle agit sur la différenciation primaire des sexes, elle contrôle l'évolution mâle ou femelle des ébauches des gonades et des voies génitales. En particulier, une substance émise par les gonades du composant mâle empêche la différenciation du cortex ovarien du partenaire femelle et stimule la différenciation de la médullaire testiculaire.

<sup>2º</sup> Les expériences d'injections d'hormones sexuelles pures cristallisées aux embryons conduisent à des résultats analogues. J'ai montré<sup>2</sup>, dans une série de recherches entreprises depuis 1935, que l'injection d'une hormone femelle, telle que l'oestradiol, aux embryons mâles de poulet, les transforme infailliblement en intersexués. Si la dose est suffisante, l'inversion sexuelle paraît totale au moment de l'éclosion: les gonades et les voies génitales sont de type femelle. L'injection d'une hormone mâle, telle la testostérone, à des embryons femelles, a une action inhibitrice sur les voies génitales femelles: elle empêche le développement de l'oviducte et stimule les canaux de Wolff. Ces résultats, corroborés par V. DANTCHAKOFF (1935 à 1940)<sup>3</sup> et WILLIER (1935–1938)<sup>4</sup> pour le groupe des Oiseaux, ont été étendus par de nombreux auteurs à toutes les classes de Vertébrés, en particulier aux Batraciens et aux Mammifères. Chez les uns, l'inversion est complète, chez les autres, on n'a encore obtenu que l'intersexualité du tractus génital.

<sup>1</sup> Laboratoire de zoologie et d'embryologie expérimentale de la Faculté des sciences de Strasbourg.

<sup>2</sup> ET. WOLFF et A. GINGLINGER, C. r. Acad. Sci. 200, 2118 (1935); Arch. d'Anat. d'Hist. et d'Emb. 20, 219–278 (1935). — ET. WOLFF, C. r. Soc. Biol. 124, 367 (1937).

<sup>3</sup> V. DANTCHAKOFF, C. r. Acad. Sci. 200, 1983 (1935); C. r. Soc. Biol. 122, 1307 (1936); Biol. Zbl. 56, 605–629 (1936); Aufbau des Geschlechts. G. Fischer, Jena 1941.

<sup>4</sup> B. H. WILLIER, T. F. GALLAGHER et F. C. KOCH, Proc. nat. Acad. Sci. 21, 625–631 (1935); Physiol. Zool. 10, No. 1 (1937).

### II. – *Les théories*

Deux types d'explications ont été proposés pour rendre compte de ces résultats: les unes peuvent être qualifiées de dualistes, parce qu'elles font intervenir dans la morphogénèse sexuelle deux catégories distinctes d'hormones; les autres n'envisagent qu'une seule catégorie d'hormones sexuelles et peuvent être qualifiées de monistes.

<sup>1º</sup> A la suite des expériences de parabiose et de greffes effectuées sur les Batraciens, certains auteurs, en particulier GOLDSCHMIDT et WITSCHI, ont pensé que les hormones de la différenciation primaire des sexes n'ont rien de commun avec les hormones sexuelles proprement dites; celles-ci n'auraient pour rôle que de contrôler les caractères sexuels secondaires. Leur argument principal était d'ordre théorique: comment des hormones qui sont sécrétées par des glandes génitales déjà différenciées pourraient-elles influer sur cette différenciation même? Ces auteurs concluent à l'existence de substances morphogènes de la différenciation sexuelle, ayant la valeur d'organisateurs embryonnaires «cortexine + et cortexine –», «médullarine + et médullarine –», les unes stimulantes (substances +), les autres inhibitrices (substances –) des différenciations de sexe opposé<sup>1</sup>. Ces substances seraient encore inconnues.

<sup>2º</sup> La théorie moniste a pris corps après la découverte de l'intersexualité sous l'action des hormones sexuelles cristallisées. Elle a été formulée pour la première fois par ETIENNE WOLFF et A. GINGLINGER en 1935. Du moment que ces hormones injectées à l'embryon produisent des phénomènes d'intersexualité de même ordre que les greffes de gonades embryonnaires ou les expériences de parabiose, qu'elles sont capables d'inverser le phénotype sexuel d'un individu, c'est qu'il n'y a pas de différences de nature entre les hormones sexuelles de l'adulte et les organisateurs de la différenciation sexuelle de l'embryon. Les unes et les autres appartiennent au groupe des stérols. Cette conception ramène à l'unité la notion des hormones sexuelles. Celles-ci, agissant au début du développement, provoqueraient la différenciation des caractères sexuels primaires. Les mêmes hormones ou des substances du même groupe, agissant au moment de la puberté, déclenchent l'apparition des caractères sexuels secondaires. La première différenciation sexuelle serait

<sup>1</sup> E. WITSCHI, Cold Spring. Harb. Quant. Biol. 10, 145–151 (1942).

d'ordre chimique ou physiologique: l'élaboration des hormones sexuelles précéderait la différenciation morphologique de la glande. Cette conception, en accord avec tout ce que l'on sait du mode d'action des organisateurs embryonnaires, rejoint d'autre part la conception d'ANCEL et BOUIN<sup>1</sup>, d'après laquelle le tissu interstitiel, élaborateur des hormones, a une origine distincte des autres éléments des gonades et se développe avant eux. Cette opinion, adoptée, à quelques nuances près, par V. DANTCHAKOFF et WILLIER, a rallié de nombreux suffrages, dès l'instant où elle a été formulée et au fur et à mesure que de nouveaux résultats venaient affirmer le pouvoir des hormones sexuelles sur la morphogénèse primaire de l'embryon.

Cependant, les partisans de la théorie dualiste, dont le représentant le plus qualifié est WITSCHI, continuent à défendre leur conception avec vigueur. Il devenait dès lors nécessaire d'examiner attentivement leurs nouveaux arguments et d'instituer des expériences pour en éprouver la valeur.

### III. - Critique des théories dualistes

D'une façon générale, les partisans de la théorie dualiste mettent l'accent sur certains insuccès partiels des expériences utilisant les hormones sexuelles, sans voir que les expériences de greffes, sur lesquelles s'appuie leur théorie, conduisent à des insuccès de même ordre. La théorie dualiste a l'attrait du mystère, puisqu'elle postule l'existence de substances de nature protéique, encore totalement inconnues. Elle a le mérite d'avoir suscité de nouvelles recherches qui renforcent, à mon sens, la position de la théorie moniste.

1<sup>o</sup> Un des arguments mis en vedette par certains auteurs (GALLIEN, 1944<sup>2</sup>, MOORE, 1944<sup>3</sup>) est que les injections d'hormones aux embryons ne produisent dans certains cas qu'une intersexualité partielle ou transitoire.

Le type des transformations incomplètes est fourni par les embryons de Mammifères. Aucun expérimentateur n'a encore réussi, en injectant des hormones aux embryons, à provoquer autre chose que des transformations du tractus génital. Les gonades demeurent inaltérées, contrairement à ce que l'on observe chez les free-martins naturels. Il est facile de répondre à cette objection, en faisant remarquer que toutes les expériences ont été faites à un stade tardif du développement, à un moment où les gonades sont en voie de différenciation. A un stade antérieur, l'injection d'hormones empêche la nidation ou la survie des embryons ou encore les hormones, si elles sont in-

jectées à la mère, ne traversent pas le placenta. On n'a pas encore trouvé la technique qui permette d'administrer des hormones à un stade précoce, sans troubler les conditions de la gestation.

Les oiseaux nous fournissent un exemple de transformations transitoires chez le mâle, de transformations incomplètes chez la femelle. J'ai montré<sup>1</sup> en 1936 que la gonade gauche d'un mâle génétique, transformée en ovaire ou en ovotestis sous l'influence de l'œstrone, redevient un testicule quelques mois après l'élosion. D'autre part, l'hormone mâle, injectée aux embryons femelles, n'a pas d'action notable sur les gonades, mais seulement sur les canaux de Müller, qu'elle inhibe.

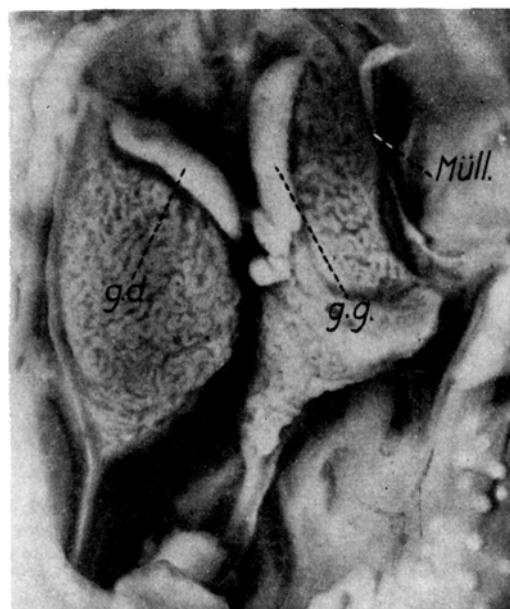


Fig. 1 a. Embryon mâle transformé en intersexué sous l'action d'une greffe d'ovaire embryonnaire.  
g. d. gonade droite de nature testiculaire;  
g. g. glande hermaphrodite;  
Müll. tronçon d'oviducte.

Il était intéressant de savoir quels résultats donneraient les greffes de gonades à des embryons d'Oiseaux: les «substances morphogènes» de 1<sup>er</sup> ordre, ou «inducteurs» de la différenciation sexuelle, postulées par WITSCHI, qui doivent se trouver dans les ébauches des gonades embryonnaires, donneraient-elles des résultats différents des expériences conduites avec les hormones sexuelles? C'est pour répondre à cette question que j'ai entrepris en 1946 des expériences de greffes de gonades embryonnaires chez l'embryon de poulet<sup>2</sup>. Lorsque la gonade greffée est de sexe opposé à l'hôte, on observe des transformations intersexuées

<sup>1</sup> P. BOUIN et P. ANCEL, C. r. Soc. Biol. 55, 1682 (1903).

<sup>2</sup> L. GALLIEN, Bull. Biol. 78, Fasc. 3-4 (1944).

<sup>3</sup> C. MOORE, Physiol. Zool. 14, No. 1, 1-43 (1941); Am. Nat. 78, 97-130 (1944).

<sup>1</sup> E. WOLFF, Arch. d'Anat., d'Hist., d'Embr. 23, 1-28 (1936).

<sup>2</sup> E. WOLFF, C. r. Acad. Sci. 223, 212-214 (1946); C. r. Soc. Biol. 140, 602-603 (1946); Arch. d'Anat. microsc. et de Morphol. exp. 36, 69-90 (1947).

qui sont superposables à celles qu'on obtient avec les hormones sexuelles: transformation de la gonade mâle en ovotestis sous l'influence d'un greffon ovarien (fig. 1); pas de modifications des gonades femelles sous l'action d'un greffon testiculaire, mais inhibition des voies génitales femelles (canaux de Müller) (fig. 2). Dans ces expériences, j'ai observé certains cas de très faible intersexualité des gonades mâles, qui ne manifestent qu'une transformation labile, le cortex régressant très rapidement après un début de développement

cet auteur a apporté la démonstration éclatante que la masculinisation des gonades femelles est stable et définitive<sup>1</sup>.

WITSCHI (1942)<sup>2</sup> a appelé l'attention sur le fait que les ébauches pronéphrétiques et mésonéphrétiques du tractus génital des Batraciens (canal de Wolff et connexions uro-génitales) ne sont sensibles que tardivement à l'action des hormones sexuelles et seulement vers le moment de la métamorphose. Donc la différenciation même de ces conduits ne serait pas sous

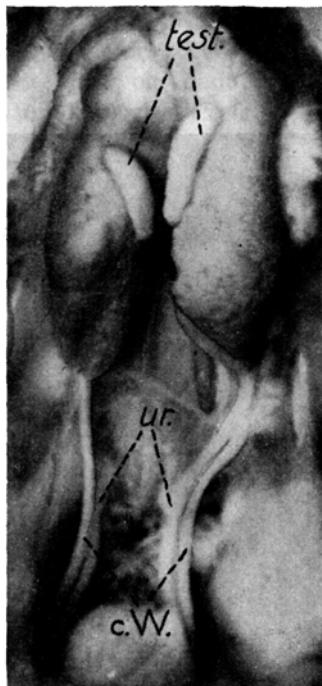


Fig. 1b. Embryon mâle de même âge.  
c. W. canaux de Wolff;  
test. testicules;  
ur. uretères.

ment. Dans ces cas, l'intersexualité est beaucoup plus fugace encore que dans mes expériences antérieures sur les hormones sexuelles (fig. 3). J'ai tenté de reproduire alors avec les hormones sexuelles ces transformations fugaces. En collaboration avec EMILIE ENNE WOLFF<sup>1</sup>, j'ai montré qu'on peut obtenir ces phénomènes soit à l'aide de très faibles doses d'hormones administrées au 5<sup>e</sup> jour de l'incubation (résultat inédit), soit à l'aide de fortes doses administrées tardivement (9<sup>e</sup> au 11<sup>e</sup> jour). Ainsi, les résultats de greffes embryonnaires, après avoir confirmé les résultats des injections d'hormones, ont été confirmés à leur tour par de nouvelles expériences sur les hormones sexuelles.

Chez les Batraciens, si la féminisation des gonades mâles par l'hormone femelle s'est révélée instable et temporaire, d'après les travaux de GALLIEN (1944),



Fig. 2a. Embryon femelle transformé en intersexué sous l'action d'une greffe de testicule embryonnaire. Noter l'absence complète d'oviducte, en comparaison de l'embryon femelle normal de la fig. 2b.

c. W. canaux de Wolff;  
g. d. gonade droite rudimentaire;  
Gr. ♂ greffon testiculaire;  
Ov. Ovaire;  
ur. uretères;  
ov. oviducte.

la dépendance des hormones génitales. L'argument ne me paraît pas convaincant, car il s'agit de formations présentes et fonctionnelles dans les deux sexes chez les Batraciens et qui n'acquièrent que tardivement la valeur d'organes sexués. A ce sujet, il faut dissiper une équivoque qui pèse sur tout le débat.

La différenciation primaire des sexes, que nous attribuons aux hormones génitales, est postérieure à l'édition des ébauches des gonades et des voies génitales. Celles-ci existent dans tout individu mâle ou femelle, qui possède l'assortiment complet des ébauches des deux sexes. On peut considérer cet ensemble comme indifférent ou asexué avant l'action des hormones sexuelles. Si l'on veut dire que celles-ci ne participent

<sup>1</sup> E. WOLFF et EM. WOLFF, C. r. Soc. Biol., 141, séance du 18 janvier (1947).

<sup>2</sup> L. GALLIEN, Bull. Biol. 73, Fasc. 3-4 (1944).

E. WITSCHI, Cold Spring Harb. Quart. Biol. 10, 145-151 (1942).

pas à la première différenciation de l'assortiment d'ébauches bipotentielle, nous partageons entièrement cette opinion (ETIENNE WOLFF, 1946<sup>2</sup>). Là où nous prétendons qu'elles interviennent, c'est au moment où l'un des assortiments est stimulé, et où l'autre est inhibé, c'est-à-dire au moment où s'esquisse la différenciation des sexes. On est donc mal fondé à invoquer l'insensibilité d'un de ces caractères aux hormones sexuelles, à un stade où ce caractère est encore indifférent dans l'évolution normale.

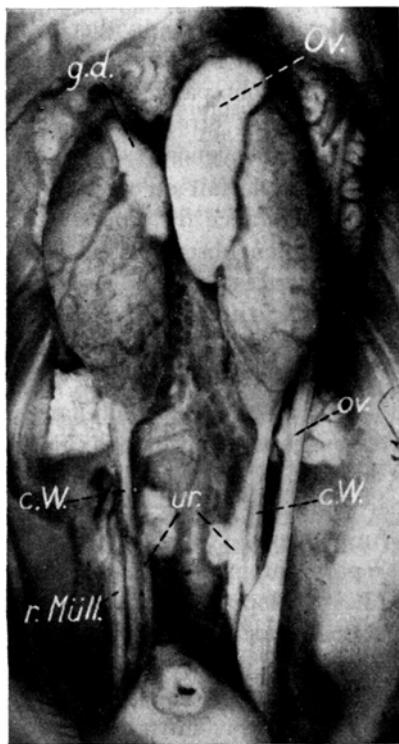


Fig. 2 b. Embryon femelle normal de même âge que l'intersexué de la fig. 2 a. Même légende que pour la fig. 2 a.

*2<sup>o</sup> Les actions paradoxales de certains composés hormonaux.* On a souvent appelé l'attention sur le fait que des substances hormonales pures ont parfois un effet inverse de celui qu'on attend. Ou bien une hormone réputée mâle a simultanément un effet masculinisant et un effet féminisant sur les caractères sexuels primaires, ou bien elle a, dans certaines conditions, une action purement féminisante que les auteurs appellent effet paradoxal.

Une enquête étendue, commencée en 1936 et que je poursuis actuellement avec EM. WOLFF et STRUDEL, montre que de très nombreux composés du groupe mâle ont une double action sur les embryons de poulets, ils féminisent les mâles et masculinisent les femelles, de telle sorte que l'on obtient dans les deux

<sup>2</sup> ET. WOLFF, *Les changements de sexe*, 1 vol. in-16, Gallimard, Paris 1946.

cas un type moyen d'intersexués. Seul, le propionate de testostérone a une action purement masculinisante, mais relativement faible. Il ne provoque le plus souvent qu'une inhibition partielle des canaux de Müller, non la suppression totale de l'oviducte, que j'ai obtenue par la méthode des greffes embryonnaires.

D'autre part, PADOA (1936)<sup>1</sup> a montré que différentes préparations d'hormone femelle ont une action paradoxale sur les gonades des Batraciens anoures : elles transforment les gonades femelles en testicules ou en ovotestis vers le moment de la métamorphose. GALLIEN (1937-1941)<sup>2</sup>, reprenant systématiquement les expériences de PADOA, a démontré que l'oestrone, en solution aqueuse, a effectivement une action masculinisante, mais injectée en solution huileuse, elle a un effet féminisant. Ainsi la nature du solvant ou

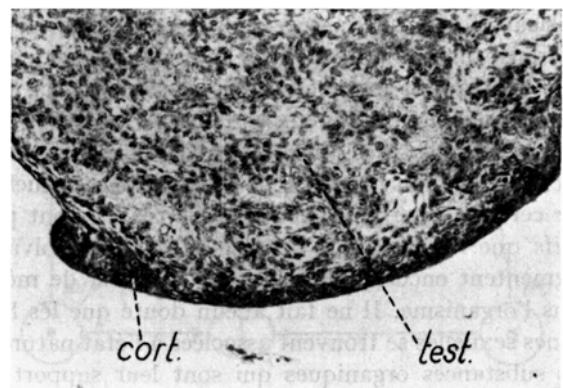


Fig. 3. Forme d'intersexualité faible et instable, obtenue chez un mâle sous l'influence d'un greffon ovarien. Présence d'un cortex mince et en voie de régression au 15<sup>e</sup> jour d'incubation.

cort. cortex; test. tubes testiculaires.

le dosage de l'hormone pourrait déterminer dans l'organisme une marge de réactions allant de la masculinisation à la féminisation. Telle est aussi l'action du propionate de testostérone sur les conduits génitaux des jeunes Marsupiaux. Cette substance, employée à forte dose, a une double action, masculinisante et féminisante. Employée à faible dose, elle n'a qu'une action masculinisante (BURNS, 1945<sup>3</sup>). Est-ce à dire que ces substances ne correspondent pas aux véritables hormones embryonnaires de la différenciation sexuelle ? Et que celles-ci n'appartiennent pas au groupe des stérols ? Il y a là deux problèmes bien distincts et la réponse au premier n'entraîne pas nécessairement la solution du second.

On ne discute plus sur le fait que les hormones responsables du développement des caractères sexuels secondaires sont des stérols. Cependant, certaines de ces substances ont aussi des effets paradoxaux, et d'autre part elles n'ont pas toujours l'effet total d'une

<sup>1</sup> E. PADOA, *Mon. Zool. Ital.* 47, No. 10 (1935).

<sup>2</sup> L. GALLIEN, *Bull. Biol.* 72, Fasc. 3 (1938); 75, Fasc. 4 (1941).

<sup>3</sup> R. K. BURNS, *J. exp. Zool.* 100, 119-140 (1945).

préparation naturelle. Mises à part des substances se rattachant au groupe mâle, qui ont un caractère ambisexuel marqué et que l'on peut considérer comme hormones intermédiaires (exemple: l'androstènediol, la transdéhydroandrostérone), les composés considérés comme des hormones mâles authentiques ont aussi des effets ambisexuels: ainsi la testostérone, d'après DEANESLY et PARKES<sup>1</sup>, l'androstérone, d'après ETIENNE WOLFF et A. GINGLINGER<sup>2</sup>, si elles sont injectées à doses élevées, déclenchent l'œstrus chez les souris impubères ou castrées, test caractéristique des hormones femelles. TSCHOPP (1935)<sup>3</sup> a montré que les hormones œstrogénées ont de leur côté des effets stimulateurs sur certains caractères sexuels secondaires de l'organisme mâle.

Dans le déterminisme des caractères sexuels secondaires aussi bien que dans la différenciation des caractères sexuels primaires, il faut tenir compte de plusieurs facteurs: la nature de la substance employée, les transformations qu'elle peut subir dans l'organisme, les combinaisons auxquelles elle est associée, la dose administrée. De nombreux auteurs ont montré que certaines substances, inertes par elles-mêmes, renforcent le pouvoir morphogène des hormones sexuelles, que certains esters (propionates, benzoates) sont plus actifs que la substance brute, que certains solvants augmentent encore cette activité. Il en est de même dans l'organisme. Il ne fait aucun doute que les hormones sexuelles se trouvent associées à l'état naturel à des substances organiques qui sont leur support ou leur solvant. Il ne viendrait pourtant à l'idée de personne de contester pour cette raison la nature hormonale des composés stériques qui ont été extraits de l'organisme ou préparés à leur image. Ils sont, sinon l'hormone totale, du moins le groupement actif de l'hormone.

S'agit-il de la diversité des substances hormonales? Nous nous servons de composés qui ont été extraits des glandes génitales ou des urines des Mammifères, ou qui ont été préparés synthétiquement suivant les modèles ainsi obtenus. Mais rien ne nous permet d'affirmer que l'un de ces composés est l'hormone totale des Mammifères, ni qu'il correspond à l'une des hormones naturelles des Batraciens, des Oiseaux, des Poissons. On connaît déjà une gamme très étendue de ces substances et l'on ne peut savoir *a priori* si plusieurs d'entre elles ne sont pas associées dans l'organisme pour former l'hormone naturelle, on ignore dans quelles proportions et dans quelles combinaisons elles interviennent.

Il est très remarquable de constater la puissance des actions morphogènes de ces substances pures sur les caractères sexuels primaires, même si ces actions sont

quelquefois paradoxales ou incomplètes. La constitution chimique des hormones mâles est assez proche de celle des hormones femelles pour qu'il n'y ait pas lieu de s'étonner de ces aberrations. On peut penser que d'un groupe à l'autre, la constitution d'une hormone peut subir quelques modifications ou qu'une même substance peut intervenir dans des combinaisons différentes. Et ceci nous amène à poser le problème de la spécificité des substances morphogènes que nous étudierons au paragraphe suivant. Notons dès maintenant que, dans certaines expériences de parabiose entre deux espèces différentes, WITSCHI a obtenu des effets paradoxaux entre individus de même sexe, l'ovaire de l'un inhibant l'ovaire de l'autre. Ces effets paradoxaux ne sont donc pas le propre des hormones cristallisées, ils peuvent être provoqués par les pré-tendus inducteurs embryonnaires.

Quoi qu'il en soit, le fait qu'on peut obtenir avec l'une ou l'autre substance du groupe des stérols les mêmes effets que l'on observe dans la nature sous l'action des «substances morphogènes primaires» est extrêmement significatif: ce sont dans les deux cas des actions stimulatrices ou inhibitrices, ce sont dans les deux cas les mêmes effecteurs.

VANNINI (1946)<sup>1</sup> a poussé plus loin l'analyse de l'action de certains composés hormonaux dans le cas des Batraciens anoures. Il répond à l'objection suivante, formulée par WITSCHI: dans les expériences de parabiose des Amphibiens, l'inversion sexuelle est toujours réalisée par la suppression du «système inducteur dominant». Le développement de l'ébauche de sexe opposé s'effectue alors spontanément. C'est donc la substance-, cortexine- ou médullarine, qui est active dans ce cas. Or les expériences effectuées avec les hormones sexuelles montrent surtout des actions stimulatrices. WITSCHI interprète ces résultats comme une stimulation précoce des inducteurs+, médullarine+ ou cortexine+.

VANNINI montre que certaines substances hormonales provoquent l'inversion sexuelle par l'un ou l'autre procédé: soit par inhibition, soit par stimulation. Ainsi, chez *Rana agilis*, l'œstradiol féminise l'ébauche gonadique par *stimulation* du cortex. La désoxycorticostérone produit le même effet par *inhibition* de la médullaire. De même la testostérone masculinise la gonade par *stimulation* directe de la médullaire tandis que la progesterone donne le même résultat par *inhibition* du cortex. Ainsi, l'action de ces substances est remarquablement similaire à celle qu'on attribue aux pré-tendus «réaliseurs» ou inducteurs sexuels. VANNINI en conclut que les substances morphogènes primaires sont des stérols comme les hormones sexuelles et les hormones cortico-surrénales de l'adulte.

(A suivre)

<sup>1</sup> R. DEANESLY et A. S. PARKES, Brit. med. J., 1, 257 (1936).

<sup>2</sup> ET. WOLFF et A. GINGLINGER, C. r. Soc. Biol. 121, 1476 (1936).

<sup>3</sup> E. TSCHOPP, Nature 136, 258 (1946).

<sup>1</sup> E. VANNINI, Nature 157, 812 (1946).