

Jean Louis Fischer (CNRS, centre A. Koyré)

## **Les recherches sur l'intersexualité expérimentale chez les vertébrés dans l'école française de l'entre- deux-guerre.**

Les travaux sur l'intersexualité expérimentale chez les Vertébrés entre les années 1935-1940, correspondent à l'aboutissement d'un programme de recherche, qui prend ses sources au début du siècle, concernant la biologie sexuelle ou, plus précisément, le déterminisme des caractères sexuels primaires et secondaires.

Le but des biologistes, dans leurs investigations sur le déterminisme du sexe, consistait à découvrir à la suite de protocoles expérimentaux, la ou les causes qui sont à l'origine des structures des systèmes génitaux des deux sexes (caractères sexuels primaires) et des morphologies, couleurs et comportements (caractères sexuels secondaires) qui permettent de distinguer, chez certaines espèces, les mâles des femelles (1).

L'origine des recherches qui ont conduit aux expériences cruciales des années 1935-1940 est double: elle se situe dans un premier temps avec les travaux de Pol Bouin (1870-1962) et Paul Ancel (1873-1961) (Facultés de Médecine de Nancy et Strasbourg) (2) quand ils publient en 1903 leurs "Recherches sur les cellules interstitielles du testicule des Mammifères", puis, dans un second temps en 1916, avec les travaux de Franck-Rattray Lillie (1870-1947) (Université de Chicago) sur le free-martinisme (3).

Bien avant que l'extraction, la purification et la synthèse des hormones sexuelles soient réalisées, Bouin et Ancel découvraient que la glande qui devait sécréter l'hormone mâle chez les Vertébrés, était constituée par ce tissu diffus du testicule dénommé tissu interstitiel (cellules interstitielles ou cellules de Leydig) et que Franz Leydig avait découvert en 1850 (4). Ce tissu désigné par différents histologistes comme conjonctif, nerveux, épithélial ou comme jouant un rôle trophique, prend, avec Bouin et Ancel, le statut de glande (5). Ce statut ne fit pas immédiatement l'unanimité parmi les spécialistes des sciences de la vie: beaucoup rejetaient la fonction glandulaire des cellules interstitielles et d'autres niaient son existence chez de nombreux Vertébrés ou refusaient de croire à la réalité de ces cellules qu'ils prenaient pour des cellules de Sertoli transformées (les cellules de Sertoli tapissent les tubes séminifères).

En raison de l'intérêt qu'ils portaient sur ce phénomène biologique de la dissociation entre un comportement génésique normal et une stérilité due à l'absence de lignées séminales, Bouin et Ancel formulaient, dès 1903, que l'hormone mâle devait exercer un effet morphogène : elle était responsable des caractères sexuels secondaires. En effet, les sujets cryptorchides gardent leur morphologie, instinct et comportement mâles. Ils concevaient aussi qu'elle devait jouer un rôle dans la détermination des caractères sexuels primaires. Plus tard ils vont élaborer une théorie

sémilaire pour les hormones femelles (6). Bouin et Ancel exprimaient, en s'appuyant sur des résultats expérimentaux et des observations histo-physiologiques d'une grande précision, et en élargissant la question aux problèmes posés par la morphogenèse, ce que les physiologistes du 19<sup>e</sup> siècle avaient, depuis Claude Bernard et Charles-Edouard Brown-Séquard en particulier, formulé en terme de sécrétion interne.

Quant à Lillie (1916), il mettait en évidence, chez des couples embryonnaires de jumeaux mâles et femelles de bovidés, la présence d'une anastomose vasculaire permettant une circulation sanguine commune entre les jumeaux. La conséquence de cette communication artério-veineuse induisait une maculinisation du jumeau femelle (free-martin). L'idée qu'une hormone mâle (ou une substance inductrice) influait sur le développement du système génital femelle était proposé (cette observation était faite et cette hypothèse posée la même année par deux biologistes viennois Tandler et Keller).

La découverte de Lillie est à l'origine des nombreuses recherches anatomiques, embryologiques et expérimentales sur l'intersexualité. La phase expérimentale sera particulièrement développée chez les amphibiens par Robert K. Burns (1925-1930), Rufus-Richard Humphrey (1920-1936) et Emil Witschi (1927-1939) (7).

### **Les chromosomes sexuels**

Si, mais sans généraliser, la théorie "hormonique" du déterminisme du sexe se défendait surtout dans le contexte de la néo-épigenèse, nous ne pouvons ignorer qu'il se développait conjointement une théorie "chromosomique" dans le contexte de la néo-préformation. Le point de départ de cette dernière théorie se trouve dans la découverte des "chromosomes sexuels" ou "hétéro-chromosomes" par Clarence-Erwin Mac Clung en 1902 qui travaillait sur cette question depuis 1899. Ces recherches sur les hétérochromosomes ont été particulièrement développés par Carl Correns (1907) et Edmund-Beecher Wilson (1911) (8).

Ces travaux sont très importants dans l'histoire du déterminisme du sexe et sollicitèrent de nombreux chercheurs à s'engager dans cette voie. Mais, cette nouvelle vocation ne fut pas générale. En effet, entre 1902 et 1912 nous comptons pour 5 publications en français concernant les chromosomes sexuels, 110 en anglais, 35 en allemand et 2 en italien. Ces chiffres, qui ne sont qu'une approximation, représentent toutefois l'impact de ce type de recherche sur les pays anglo-saxons.

La découverte des chromosomes sexuels a conduit à deux attitudes conceptuelles qui sont le reflet du dualisme théorique devant lequel nous sommes confrontés d'une manière particulièrement forte pendant cette époque de l'émergence de la génétique et aussi, et surtout, en raison même de l'objet de la biologie: le vivant. Ce dernier amène, à la suite de résultats expérimentaux ou d'observations, les biologistes à le concevoir dans une interprétation dualiste: néo-épigenèse ou néo-préformation; ou dans une conception plus générale et globale néo-lamarckisme ou néo-darwinisme. Certains biologistes feront le pas de concilier, avec des dosages variables suivant leur tendance initiale, les deux aspects dualistes pour essayer d'expliquer et de comprendre les phénomènes du vivant. La découverte des hétérochromosomes illustrent ce dualisme en raison du rôle qu'on leur faisait jouer: soit qualitatif (néo-préformation), soit quantitatif (néo-épigenèse).

E. Wilson, qui publie entre 1905 et 1912 dix-huit notes et mémoires sur les chromosomes sexuels et a qui nous devons de les avoir baptisés X et Y, écrivait: "*Je les considère non pas comme des déterminants du sexe au sens exclusif, mais je les regarde comme un lien essentiel dans une chaîne de facteurs par laquelle le sexe est*

déterminé et transmis, et puisqu'ils sont les plus accessibles et les plus évidents de ces facteurs, nous devons concentrer toute notre attention sur eux" (9). De même, Bouin et Ancel croyaient que le chromosome accessoire, qu'ils découvrent chez une espèce de mille-pattes (scutigère) (1911), augmentait les échanges nutritifs de l'oeuf: c'était la quantité de nourriture qui influait sur le déterminisme du sexe: "*Jusqu'à plus ample informé, le chromosome accessoire nous paraît jouer le rôle dans le déterminisme du sexe, non parce qu'il est le support d'une particule représentative spécifique, mais plutôt parce qu'il augmente la masse de chromatine dans les spermies qui doivent déterminer le sexe femelle. Il représente un excédent chromatique qui multiplie, dans les oeufs qui le reçoivent, les rapports nucléo-plasmiques, agit sur les échanges de matières et exalte les fonctions nutritives. Cette nutrition plus considérable de certains oeufs fécondés détermine le sexe dans le sens femelle...*" (10). Quant à Thomas-Hunt Morgan, dont les prises de positions théoriques biologiques sont bien connues des historiens (11), il défendait, surtout dans les années 1903-1911, la conception qualitative des chromosomes comme jouant un rôle dans la détermination du sexe, et après 1911 sa façon de concevoir la détermination devint plus souple, en prenant en compte une influence morphogène des hormones sexuelles. Wilson comme Bouin et Ancel représentaient la tendance néo-épigéniste et Morgan la tendance néo-préformationniste.

Ce débat particulier est le reflet d'un débat biologique plus général caractérisant bien ce début du XXe siècle qui préparait la nouvelle biologie. C'est avec raison que Louis Gallien, dans son mémoire posthume, écrivait à propos de la biologie en France: "*Les dernières années du XIXe siècle virent parvenir à la plénitude scientifique une génération d'hommes et de femmes jeunes et brillants, qui pour la plupart accédaient au poste de responsabilité et de créativité d'une chaire. L'an 1900 et la décennie qui suivra, verra leur épanouissement. Ils s'appelaient Yves Delage, Eugène Bataillon, et ce fut la parthénogenèse expérimentale, Lucien Cuénot et Emile Guyénot, pionniers de la génétique animale, Justin Joly le précurseur de la culture in-vitro, Pol Bouin et Paul Ancel fondant l'endocrinologie sexuelle et l'endocrinologie comparée. N'est-il pas singulier de voir tant de talents réunis et émergeant en cette courte période du début du siècle*" (12).

En France, pendant les années 1930, quatre noms, parmi d'autres, vont marquer la biologie de la sexualité en générale et l'embryologie sexuelle en particulier: en 1935, Etienne Wolff en collaboration avec Albert Ginglinger réalisent chez l'embryon de poulet les premières expériences montrant l'action morphogène des hormones sexuelles sur le système génital. Louis Gallien (1908-1976) vérifie l'effet morphogène des hormones sexuelles sur les larves d'amphibiens dès 1937. Enfin, Albert Raynaud fait une étude magistrale sur l'action des hormones sexuelles sur le développement du système génital de l'embryon de souris; ses premières publications datent de 1937 et sa thèse a pour sujet la *Modification expérimentale de la différenciation sexuelle des embryons de souris par action des hormones androgènes et oestrogènes*, publiée en 1942 chez Hermann.

Comme nous ne pouvons dans le cadre de cet article développer l'ensemble des travaux de ces chercheurs, nous nous attacherons à décrire quelques aspects des recherches de Wolff. Toutefois, pour avoir une idée du paysage intellectuel dans lequel les études de biologie sexuelle trouvaient leur plus grand développement nous devons évoquer les Ecoles et les maîtres qui ont forgé des esprits à ce type de recherche, ainsi que les premiers travaux des biochimistes et chimistes réalisant les premières purifications et synthèses des hormones sexuelles.

## Les écoles

Dans les quelques vingt premières années du siècle, la biologie sexuelle en France fait l'objet de recherches particulièrement actives dans deux écoles que nous pouvons désigner pour la première "Ecole de Nancy/Strasbourg" et pour la seconde "Ecole de Lyon".

L'école de Nancy/Strasbourg est animée par Bouin et Ancel. Bouin, qui a eu pour maître l'histologiste Auguste Prenant, représente l'histo-physiologie (il est professeur d'histologie à la Faculté de Médecine de Nancy en 1908), et Ancel, dont le maître fut l'anatomiste Adolphe Nicolas, représente l'anatomo-morphologie (il est professeur d'anatomie à la même faculté à Nancy en 1908). En 1918, après la reconstitution de la Faculté de Médecine de Strasbourg par le doyen Georges Weiss, Bouin dirige le laboratoire d'histologie et Ancel le laboratoire d'embryologie (1919). Parmi les collaborateurs et élèves de Bouin et Ancel qui ont réalisé d'importants travaux en biologie sexuelle nous relevons les noms de Max Aron, Jacques Benoit et Robert Courrier (laboratoire d'histologie) puis Etienne Wolff (laboratoire d'embryologie). Trois d'entre-eux obtiendront une chaire au Collège de France: R. Courrier (endocrinologie) (1938), J. Benoit (histophysiology) (1952) et E. Wolff (embryologie) (1955) (13).

L'Ecole de Lyon concernant la biologie sexuelle a pour origine le Laboratoire d'Anatomie et d'Histologie de la Faculté de Médecine, dirigé par Jules Renaut puis Claudius Regaud. Ce dernier eut parmi ses élèves et collaborateurs, C. Policard et A. Lacassagne (14). L'étude de l'effet des radiations ionisantes sur les glandes génitales était l'une des préoccupations expérimentales de ce laboratoire (Ancel travailla en 1904 à Lyon (15) en collaboration avec Renaut et Regaud). Lacassagne sous la direction de Regaud se spécialisa dans cette discipline, puis fit des recherches sur les effets cancérigènes des hormones sexuelles. A. Raynaud (1936) prépara sa thèse sous la direction de Lacassagne (Institut du Radium de l'Institut Pasteur).

Raynaud (16) et Gallien (17) ont pour premier maître Albert Vandel (Toulouse) qui les recommanda à Caullery.

Dans les années 1930, un lieu de passage, presque obligatoire, pour les jeunes biologistes, est le laboratoire maritime de Wimereux, dirigé par Maurice Caullery (18). Louis Gallien fut pendant une période assistant au laboratoire de Wimereux que fréquentèrent Wolff, Raynaud, mais aussi de nombreux autres chercheurs de renom dont Emile Guyénot qui venait régulièrement accompagné d'élèves genevois. Si Wimereux était un centre d'étude de biologie des Invertébrés marins, la biologie sexuelle était alors une discipline qui devenait prometteuse en découvertes pour les biologistes, surtout depuis que les biochimistes et chimistes venaient de purifier, cristalliser et synthétiser les hormones sexuelles.

## Les hormones sexuelles

Dans le dossier "Pol Bouin" conservé aux Archives de l'Académie des Science de Paris, un document tapuscrit, non signé, en provenance d'Alger, daté du 17 janvier 1940, nous apprend que deux biologistes français sont proposés pour le Prix Nobel: *"En réponse à la consultation que vous nous avez fait l'honneur de nous adresser sur l'attribution du Prix Nobel de Physiologie et de Médecine, nous nous permettons de vous suggérer que ce prix soit décerné aux deux biologistes français: P. Bouin et P. Ancel...pour leurs belles recherches relatives à l'histo-physiologie des glandes génitales mâles et femelles. Ces recherches nous semblent en effet présenter le mérite*

*essentiel d'avoir, depuis le début du 20e siècle, ouvert aux biologistes la voie si féconde et, de nos jours, si riche déjà en applications pratiques, de l'endocrinologie sexuelle*" (19). Toutefois, le Prix ne leur sera pas attribué. D'abord il n'y pas eu de Prix Nobel pendant les années 1940-41 et 42 et, ensuite, leurs travaux d'histo-physiologie sexuelle, malgré leur importance et leur actualité, commençaient à dater en comparaison des travaux des biochimistes et des chimistes sur les hormones sexuelles.

Pour ces raisons, Adolf Butenandt avait reçu en 1939 le Prix Nobel de chimie pour ses recherches sur les hormones sexuelles, qu'il partageait avec Leopold Ruzicka. Butenandt, en 1929, obtenait la cristallisation de la folliculine (nom donné par Courrier en 1924 à cette hormone femelle) et en 1931 celle de l'androstérone dont Ruzicka obtenait la première synthèse. En 1943, si le Prix Nobel de Physiologie et Médecine était décerné à Edward A. Doisy et Henrik Dam pour la découverte et la synthèse de la vitamine K anti-hémorragique, Doisy bénéficiait aussi de ce Prix pour avoir en 1920 (en collaboration avec E. Allen) et en 1929 (en collaboration avec C.D. Velen et J.A. Thayer) été le premier à purifier et à cristalliser la "folliculine". Ainsi, la biologie sexuelle était-elle, en quelque sorte, nobélisée, mais pour des travaux qui marquaient la fin d'une étape: les travaux initiateurs de Bouin et Ancel n'ayant pas été pris en compte par le jury Nobel (20).

Quand Wolff, Gallien et Raynaud entrent sur la scène de la recherche biologique, les problèmes posés par le déterminisme du sexe retiennent particulièrement l'attention de nombreux biologistes: les aspects embryologiques et histo-physiologiques sont relativement bien connus et la chimie des hormones sexuelles est en plein essor. Tout est en place pour débattre sur l'origine des facteurs qui jouent un rôle dans la détermination et la différenciation des sexes.

### **L'intersexualité hormonale expérimentale (1935)**

En 1935, à la suite d'injections d'hormone femelle chez l'embryon de poulet, Véra Dantchakoff (Lithuanie), publie qu'elle vient d'obtenir l'inversion complète du sexe, Etienne Wolff et Albert Ginglinger (France) et Benjamin H. Willier, T.F. Gallagher et F.C Koch (USA), annoncent qu'ils viennent de réaliser l'intersexualité expérimentale.

V. Dantchakoff envoie son manuscrit à l'Académie des Sciences de Paris. Il est présenté par M. Caullery à la séance du 3 juin 1935 (21a), E. Wolff et A. Ginglinger annoncent leurs résultats à cette même Académie dans la séance du 17 juin (21b), soit 14 jours après V. Dantchakoff. Enfin, B.J. Willier (qui fut l'élève de Lillie) et ses collaborateurs (département de zoologie de l'Université de Rochester et département de chimie physiologique de l'Université de Chicago), publient leurs travaux un peu plus tard, en novembre 1935 (21c), si nous nous en tenons aux références et à l'ordre bibliographique généralement donnés pour ces travaux.

Cet ordre n'est pas tout à fait exact car, B.H. Willier, T.F. Gallagher et F.C. Koch ont communiqué leur découverte à la "National Academy of Sciences" le 4 octobre 1934. Mais cette date ne peut être retenue pour donner la priorité. C'est la date de la publication qui compte. Or leur texte n'est publié, dans les "Proceedings" de l'Académie, que dans le numéro du 15 novembre 1935, soit 13 mois après leur communication: c'est cette publication qui fait référence dans les bibliographie concernant la production d'intersexués à la suite d'injections d'hormones sexuelles. Toutefois, cette équipe présente ses recherches lors de la 51e session annuelle de l'Association américaine des anatomistes, qui s'est tenue entre le 18 et 20 avril 1935.

Le résumé de ses recherches est publié dans le "supplément" de la revue *The Anatomical Record*, avec pour date, celle de la réunion d'avril 1935 (22). B.J. Willier et ses collaborateurs prennent cette date comme étant celle du texte fondateur de leur découverte. Mais c'est un résumé présentant rapidement les résultats sans donner d'information statistique. Toutefois, il reste suffisamment explicite pour comprendre que les auteurs ont réussi à obtenir des intersexués à la suite d'injections d'hormones sexuelles femelle et mâle, qu'ils ont pratiqué une étude morphologique et histologique des gonades et conduits génitaux. La publication de novembre 1935 correspond au développement de ce résumé.

Ce sont donc Willier, Gallagher et Koch les premiers à dévoiler les effets morphogènes des hormones sexuelles sur la détermination et la différenciation du sexe de l'embryon de poulet, suivis par V. Dantchakoff puis Wolff et Ginglinger. Cette priorité n'a pas grande importance, sinon pour le fait historique. Car, si nous comparons ces trois publications quant au contenu, la note de Wolff et Ginglinger est celle qui contient le plus grand nombre de résultats démonstratifs qui donnaient à l'équipe française une position de "laeder", qu'elle allait, dureste, renforcer par la suite.

Ces chercheurs ont travaillé sur le même sujet indépendamment les uns des autres. Willier, Gallagher et Koch ignorent dans leur bibliographie de novembre 1935 aussi bien V. Dantchakoff que Wolff et Ginglinger. De même V. Dantchakoff, Wolff et Ginglinger ignoraient, en juin 1935, le travail de l'équipe américaine. En revanche, Wolff et Ginglinger sont immédiatement informés de la communication de V. Dantchakoff à l'Académie, ce qui les conduit à publier, à leur tour, les résultats qu'ils avaient obtenus depuis quelques mois. Enfin, si Willier, Gallagher et Koch marquaient une étape finale aux investigations sur le déterminisme du sexe de l'Ecole de F.R. Lillie à Chicago, Wolff et Ginglinger se trouvaient dans la même situation vis à vis de l'Ecole de Bouin et Ancel à Strasbourg.

### **Etienne Wolff et les premières expériences d'inversion sexuelle par les hormones**

En février 1932, E. Wolff commence des recherches de tératologie expérimentale sous la direction d'Ancel au laboratoire d'embryologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg. Il soutient sa thèse de doctorat ès-sciences naturelles en 1936, qui représente un travail particulièrement riche en résultats nouveaux marquant une date dans l'histoire de la biologie tératologique (23).

Alors que Wolff expérimente pour ses recherches de tératogenèse, on apporte au laboratoire un foetus humain mort au 7<sup>e</sup> mois de gestation. Il est polymalformé. La malformation principale touche les organes uro-génitaux "qui étaient particulièrement hypertrophiés" (24). Cet excès de développement fait penser à une action hormonale du type "gonadostimuline" (hormones hypophysaires, prolans). Une action de la thyroxine, particulièrement bien connue par le rôle qu'elle joue sur la métamorphose des amphibiens et aussi envisagée. En 1935, la chimie et la physiologie de ces hormones ont déjà fait l'objet de nombreuses recherches (25).

A. Ginglinger, médecin gynécologue à l'hôpital civil de Strasbourg et ami de Wolff, vient "à ce moment" lui demander de collaborer avec lui pour faire de la recherche fondamentale.

La recherche de Wolff consistait à étudier et à expliquer la genèse des malformations et monstruosité par "défaut" (26). Le foetus monstrueux qu'il venait d'examiner, présentait une malformation par "excès" qui n'avait pas été soumise à ses

investigations. Il décide, pour inaugurer la collaboration avec Ginglinger, d'étudier les causes qui sont à l'origine des monstres par excès. Dès janvier 1935, ils commencent leur recherche de tératologie expérimentale.

Dans leurs premiers essais ils pratiquent, sur des embryons de poulet, soit des greffes "chorio-allantoïdiennes" de placenta humain soit des injections d'extrait de cette annexe embryonnaire. C'est Ginglinger, en raison de son activité médicale qui fournissait les placentas, ces derniers sécrétant des "prolans" proches des gonadostimulines hypophysaires. Sans entrer dans les détails de ces premiers essais expérimentaux (27), un fait important va stimuler la curiosité des expérimentateur et modifier leur direction de recherche. En effet, après avoir constaté que l'extrait de placenta n'induisait pas des malformations par excès du système uro-génital, Wolff écrit: "Mais notre attention fut attirée par un rapport anormal dans la proportion des sexes: 19 femelles pour un seul mâle" (28). D'autres séries donnèrent une proportion encore plus importante de femelles, puis les pourcentages des séries suivantes rétablirent la sexe-ratio proche des 50% de femelles et 50% mâles. Avant que Wolff et Ginglinger, prennent conscience que ces séries "exceptionnelles" étaient dues au "hasard" et non à leur intervention expérimentale, ils soupçonnèrent que l'hormone femelle contenue dans l'extrait de placenta avait transformé les embryons mâles en femelles. Toutefois, si les résultats des expériences qu'ils poursuivirent dans ce but ne confirmèrent pas leur hypothèse leur "attention avait été appelé sur la question: est-il possible de modifier le sexe des embryons en leur injectant des hormones sexuelles?" (29).

Le chimiste français, André Girard, directeur des Laboratoires Roussel, spécialiste de la chimie des hormones sexuelles, qui venait de cristalliser (1932) deux nouvelles hormones oestrogènes à partir de l'urine de juments gravides, fournissait, en avril 1935, à Wolff et Ginglinger une solution saturée de folliculine cristallisée correspondant à 70 UI. Le 5 avril 1935, les deux chercheurs définissaient le protocole expérimental à suivre: injections à des embryons de poulets des solutions aqueuses de folliculine variant de 2,8 UI à 14 UI du 3e jour au 14e jour de l'incubation. Des 24 embryons expérimentés, 22 ont été autopsiés entre le 9e et le 18e jour de l'incubation. Sur ces 22 embryons il a été trouvé 10 femelles, 3 mâles et 9 intersexués dont certains à structures génitales femelles très prononcées.

La nouveauté dans cette expérience cruciale est la présence d'intersexués qui témoignent de la modification des embryons génétiquement mâles en femelles. Wolff se souvient de cette découverte: après les premières injections, "*Je pris, écrit-il, à ce moment quelques jours de congé. Quand je revins, neuf jours après, c'est-à-dire au 15e jour de l'incubation, je demandai à mon collaborateur, sans espoir véritable: Y-a-t-il du nouveau dans notre expérience? Il me répondit: Quelques embryons sont morts. Je les ai autopsiés. Je n'arrive plus à reconnaître les mâles des femelles. Il n'y a rien de plus facile à distinguer, même à première vue, que le sexe d'embryons autopsiés après 9 jours d'incubation...Il me paraissait étrange, étant donné ces différences très accusées, qu'on pût avoir un doute sur le sexe des embryons. Nous décidâmes d'autopsier tous les survivants. Ils avaient 17 à 19 jours d'incubation. A ce stade, aucune incertitude n'était possible? Eh bien! O surprise! ils étaient tous femelles ou de constitution intermédiaire entre mâles et femelles. Cela ne s'était jamais vu. Les femelles étaient en forte majorité: elles représentaient non seulement les femelles normales, mais aussi les mâles que le traitement avait complètement féminisé. On les reconnaissait à quelques signes discrets. Il y avait en outre les intermédiaires, les "intersexués", que l'on observait pour la première fois, sous des traits qui ne pouvaient tromper"* (30).

Dès le 20 avril 1935, Wolff et Ginglinger sont en possession de résultats significatifs concernant l'intersexualité expérimentale provoquée par l'injection de folliculine. Mais, ils ne dévoileront leurs résultats au monde scientifique que le 17 juin, car Ancel leur avait demandé d'attendre, avant de publier ces résultats, de les vérifier et de les compléter. La collaboration de Wolff et Ginglinger s'achèvera la même année par la publication d'un mémoire que nous devons considérer comme fondamental en raison des résultats qu'il apporte, et de sa formulation théorique concernant la détermination du sexe (31). Wolff poursuivra seul les recherches sur l'action de la folliculine chez l'embryon de poulet, mais aussi sur celle de l'androstérone (hormone mâle) dont il montre l'effet paradoxal: l'androstérone agit sur le tractus génital femelle en le masculinisant et sur le tractus génital mâle en la féminisant (32).

Les premiers résultats expérimentaux de 1935 concernant la masculinisation des embryons mâles par l'hormone femelle ont conduit Wolff et Ginglinger à émettre ces deux conclusions:

*"Si des embryons tendent à réaliser expérimentalement le sexe femelle sous l'action de la folliculine, il est probable que la production normale des femelles génétiques procède des mêmes causes, qu'elle est due à la sécrétion par l'organisme femelle de folliculine ou d'une substance voisine de la folliculine et que le mécanisme génétique se réduit bien à des actions hormoniques"* (33).

*"Puisque la castration change le sexe des poules, même adultes, et que nous venons par un procédé très différent, de féminiser les embryons mâles, on ne saurait contester que n'importe quel embryon possède initialement les potentialités morphologiques mâles et femelles, ébauches des voies génitales (canaux de wolff et de müller), les gonocytes eux-mêmes n'échappent pas à cette règle. Ils peuvent indifféremment évoluer en ovogonies ou en spermatogonies. Tout dépend des conditions de milieu qu'ils rencontrent, conditions qui dépendent de facteurs externes ou internes"* (34).

Ces premières expériences d'intersexualité embryonnaire provoquée par des injections de folliculine confirmaient l'ambivalence sexuelle de l'embryon, problème d'origine lointaine (35), et consolidaient la thèse du déterminisme "hormonique" du sexe. Ce dernier point apportait une démonstration à l'hypothèse défendue par Bouin et Ancel au début du siècle.

Le 12 juillet 1936, Ancel fait une communication à la société de biologie (36), qui met en valeur le travail de Wolff et Ginglinger en comparaison de celui de Dantchakoff dont le résultat était fondé sur une base statistique critiquable. En effet, Dantchkoff présentait dans sa note de l'Académie des Sciences qu'elle avait obtenu sur 36 embryons de poulet 36 femelles et concluait: *"Tout embryon de poulet réalise invariablement le sexe femelle à la suite de l'introduction dans son organisme de l'hormone femelle progynon"*. Il manquait la présence des intersexués qui témoignent de l'effet de l'hormone, et qui avaient posés un problème à Ginglinger (37). Ensuite, Ancel rappelait que l'hypothèse qu'il avait posé dans sa thèse de sciences-naturelles (réf. note 36), était que la différenciation des cellules sexuelles dépendait des conditions qu'elles rencontraient dans l'organisme. Dans ce cas, c'est la présence d'une hormone spécifique (théorie de Bouin et Ancel). Les résultats expérimentaux de Wolff et Ginglinger apportaient, suivant son expression, la preuve "définitive" du bien fondé de cette théorie: *"Cette transformation des mâles en intersexués par la folliculine permet de penser que les conditions qui orientent les cellules sexuelles indifférentes dans le sens mâle ou femelle, sont normalement réalisées par la présence ou l'absence d'une hormone sécrétée par la glande génitale"* (38).



Le rôle joué par les hormones sexuelles paraît alors évident dans la différenciation sexuelle embryonnaire (différenciation primaire). C'est l'hormone femelle qui dirige le cortex à se structurer en ovaire et les cellules germinales indifférenciées en ovules; comme l'hormone mâle (ou l'absence d'hormone femelle) doit agir sur la médulla et induire les cellules germinales à produire des spermatozoïdes. Ces expériences prouvaient aussi (pour les partisans de cette théorie) que l'hormone responsable de la différenciation primaire du sexe et des caractères sexuels secondaires était la même chez l'embryon et chez l'adulte et qu'elle était identique chez tous les Vertébrés.

Reste que la théorie "hormonique" (défendue par Wolff mais aussi par Gallien) sera opposée à la théorie "protéique" défendue par Emil Witschi aux Etats-Unis (Université d'Iowa) et Raynaud en France.

Chez l'embryon, la gonade indifférenciée comprend deux territoires: la médulla qui correspond aux futures structures testiculaires, et le cortex à celles de l'ovaire. Pour les défenseurs de la théorie hormonique, l'hormone femelle permet au cortex de se développer et se différencier en ovaire, et l'hormone mâle (ou l'absence d'hormone femelle) incite la médulla à se différencier en testicule. Pour Witschi, les hormones sexuelles ont une action morphogène tardive. Il pense que la différenciation primaire du sexe se fait par le jeu d'inducteurs, en référence à Hans Spemann qui venait de mettre en évidence la notion d'organisateur (inducteur) embryonnaire (1924) (39): le cortex produirait une "cortexine" inhibant la médulla (différenciation de la gonade en ovaire) et la médulla une "médullarine" inhibant le cortex (différenciation de la gonade en testicule) (40). Le tableau suivant résume ces deux théories :

Périodes	Théorie de Witschi	Théorie de Wolff
Fécondation	Détermination de sexe génétique(gènes sexuels)	
Vie embryonnaire	<u>Protéines inductrices</u> (médullarine,cortexine) des caractères sexuels primaires	<u>HORMONES GENITALES</u> Induisent les caractères sexuels primaires et secondaires
Après la naissance (puberté-dulte)	<u>HORMONES GENITALES</u> Induisent les caractères sexuels secondaires	

(d'après E. Wolff, Les changements de sexes, 1946, p. 180)

Suite aux premiers résultats de productions expérimentales d'intersexués par l'injection d'hormones sexuelles, se met en place un nouveau système de penser le déterminisme du sexe dans lequel la notion de détermination va se distinguer de celle de différenciation. Si les biologistes de ces années 1935, s'accordent sur la détermination génétique du sexe au moment de la fécondation, leurs conceptions divergent quant à l'explication de la suite des événements causals de la différenciation primaire du sexe (différenciation protéique ou chimique).

## Notes

- 1- Chez les animaux à sexes séparés, les caractères sexuels primaires sont représentés par les glandes génitales (testicules et ovaires), classées également comme "caractères germinaux" que certains auteurs distinguent des "caractères somatiques, subdivisés eux-mêmes en caractères primaires et en caractères secondaires" (Houillon, 1967); par les conduits (canaux déférents, oviductes) servant au transport des produits génitaux, spermatozoïdes et ovules, ces conduits sont aussi appelés spermiductes et oviductes; par les organes d'accouplement et de gestation (pénis, vagin, utérus) et par des glandes annexes à ces structures. Les caractères sexuels secondaires représentent, par exemple, les formes et les couleurs du plumage des mâles particulièrement exhubérantes chez l'oiseau de Paradis; le développement du système pileux chez les mâles de certaines espèces de mammifères (crinière du lion) etc.
- 2- Bouin, P. et Ancel, P., Recherches sur les cellules interstitielles du testicule des mammifères, Arch. Zool. expér. et génér., 1903, 4e série, t. 1, p. 437-523.
- 3- Lillie, F.R., The theory of the free-martin, Science, 1916, t. 43, p. 611-613.
- 4- Leydig, F., Zur Anatomie der männlichen Geschlechtsorgane und Analdrüsen der Säugethiere, Z. Win. Zool., 1850, t. 2, p. 1-57. Consulter également: Stieda, L., Die Leydig'sche Zwischensubstanz des Hodens, eine historische Notiz, Arch. mikro. Anat. u. Entwickl., 1897, t. 48, p. 692; et Klein, M., Le testicule humain adulte, ses structures histologiques et leurs variations, Actualités endocrinologiques, 1967, t. 8, p. 17-33.
- 5- Boll avait en 1871 émis l'hypothèse que les cellules de Leydig pouvaient être d'une nature glandulaire, mais en 1876 il les considère comme de simples cellules conjonctives et se ralliait, dans cette nouvelle proposition, à l'opinion la plus commune. G. Pouchet et F. Tournoux in Précis d'Histologie humaine et d'Histogénèse, Paris, G. Masson, 2e éd. 1878, écrivent p. 731: les "...cellules interstitielles...", ont depuis longtemps fixé l'attention des histologistes. Henle avait noté une certaine ressemblance entre elles et les cellules nerveuses, tandis que d'autres anatomistes (Ebner, Hofmeister, Waldeyer) en font, probablement avec raison, une variété de cellules du tissu conjonctif".
- 6- Pour un complément d'informations sur le fond et les sources de cette question consulter: a) Fischer, J.L., Histoire du déterminisme épigénétique du sexe chez les animaux et l'homme de 1800 à 1935, Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Paris I-Panthéon-Sorbonne, Paris, 1993, 740 p. Et concernant plus spécialement les travaux outre-Atlantique: b) Maienschein, J., What determines sex? a study of converging approaches 1880-1916, Isis, 1984, vol. 75, n° 278, p. 457-480.
- 7- Consulter pour un historique et une bibliographie détaillés: Ponse, K., La différenciation du sexe et l'intersexualité chez les Vertébrés, facteurs héréditaires et hormones, Paris, Masson, 1949, 366 p.
- 8- Mc Clung, C.E, Note on the accessory chromosome, Anat. Anz., 1902, t. 20; et The accessory chromosome sex determinant? Biol. Bull., 1902, t. 3. Correns, C., Die Bestimmung und Vererbung der Geschlechter nach Versuchen mit höheren Pflanzen, Archiv für Rassen- und Gesellschaftsbiologie einschliesslich Rassen- und Gesellschaftshygiene, 1907, t. 4. Wilson, E. The sex chromosome, Arch. mikr. Anat. u. Entwickl., 1911, t. 77.
- 9- Citation traduite par Amédée Bonnet in Les problèmes de la détermination du sexe, Thèse présentée à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon, soutenue le 27 février 1914, Lyon, A. Rey, Imprimeur-éditeur de l'Université, 1914, p. 217.
- 10- Bouin, P. et Ancel, P., Sur l'existence d'un chromosome accessoire chez *Scutigera coleoptrata* et sa signification, C.R. Ass. Anat. de Paris, 1911, p. 114.
- 11- Allen, G.H., Thomas Hunt Morgan, it the man and his science, Princeton, Princeton University Press, 1978, XVII et 447 p. Consulter aussi en ce qui concerne les positions Morgan sur le déterminisme du sexe: Bordage, E., Hermaphrodisme et déterminisme du sexe chez les grenouilles, Biologica, 1912, vol. 2, n° 17, p. 150-153.
- 12- Gallien, L., A propos d'un centenaire. Un siècle de Zoologie expérimentale en France, 1876-1976, Bull. Soc. Zool. Fr., 1976, n° 5, p. 817.
- 13- Maubeuge, P.L., Quelques aspects historiques du mouvement scientifique en Lorraine, Bull. Acad. Soc. Lor. Sci., 1973, t. 12, n°2, p 1-30; Le Minor, J.M., Histoire de l'Embryologie à Strasbourg, Arch. Anat. Hist. Embr. N. et exper., 1990, t. 73, p. 67-82. Consulter également les dossiers "Pol Bouin" et "Paul Ancel" des Archives de l'Académie des Sciences.
- 14- Archives de l'Académie des sciences dossier "Lacassagne"; Archives de l'Académie de Médecine dossier "Lacassagne".
- 15- La publication suivante montre l'empreinte sur Ancel et Bouin de l'Ecole lyonnaise: Ancel, P. et Bouin, P., Rayons X et glandes génitales, Presse Médicale, 1907, n° 29, p. 228-233.
- 16- Raynaud, A., Discours présidentiel, Bull. Soc. Zool. Fr., 1975, t. 100, n°1, p. 11-19.(et communications personnelles).
- 17- Houillon, C., Louis Gallien (1908-1976), Bull. Soc. Zool. Fr., 1976, t. 101, n°4, p. 517-523.
- 18- Consulter les textes de Caullery qui font le point sur la biologie sexuelle et le déterminisme du sexe concernant cette période: 1) Le problème du déterminisme du sexe, Biologica, 1913, t. 13, p. 193-202. 2) Les problèmes de la sexualité, Paris, Flammarion, (1913), 2e éd. 1929, 332 p.
- 19- Dossier "Pol Bouin" des Archives de L'Académie des Sciences de Paris.
- 20- Pour avoir une idée sur l'état des recherches à l'époque sur les hormones sexuelles consulter: Courrier, R., Les hormones sexuelles femelles, C.R.Soc.Biol., 1931, t. 25, p. 1367-1412; Girard, A., La chimie des hormones sexuelles, Bull. Soc. Chim. Biol., 1933, t. 15, p. 562-606; A. Butenandt, Recherches chimiques sur la spécificité physiologique du groupe des hormones génitales, Bull. Soc. Chim. Biol., 1937, t. 19, p. 1477-1497; Doisy, E., An autobiography, Annual Review of Biochemistry, 1976, vol. 45, p. 1-9. Pour les sources

- complémentaires des travaux originaux consulter: Morton, L.T., A medical biography (Garrison and Morton), fourth edition, A Grafton Book, Gower, London, Butler and Tanner, 1983.
- 21- a) Dantchakoff, V., Sur l'inversion sexuelle expérimentale de l'ébauche testiculaire chez l'embryon de poulet, C.R.Acad.Sci., 1935, t. 200, p. 1983-1985. b) Wolff, E. et Ginglinger A., Sur la production expérimentale d'intersexués par l'injection de folliculine à l'embryon de Poulet, C.R.Acad.Sci., 1935, t. 200, p. 2118-2120. c) Willier, B.H., Gallagher T.F. et Koch F.C., The action of male and female hormones, Proc. of the Nat. Acad. of Sci., 1935, vol. 21, p. 625-631.
  - 22- Willier, B.H., Gallagher T.F. et Koch F.C., The action of male and female sex hormones upon the reproductive glands and ducts of the chick embryo, The Anatomical Record, 1935, vol. 61, sup., p. 50.
  - 23- Wolff, E., Les bases de la tératogenèse expérimentale des Vertébrés amniotes d'après les résultats de méthodes directes, Arch. Anat. Hist. Embryol., 1936, t. 22, p. 1-382.
  - 24- Wolff, E., Les chemins de la vie, Paris, Hermann, 1963, cf "Psychologie de l'expérimentateur", p. 38-42.
  - 25- Consulter Harington, Sir C.R. et Barger, G., Chemistry of thyroxine. III. Constitution and synthesis of thyroxine, Biochem. J., 1927, t. 21, p. 169-181; et Zondek, B. et Aschheim, S., Das Hormon des Hypophysenvorderlappens, Klin. Wschr., 1927, t. 6, p. 348-152 et t. 7, p. 831-835.
  - 26- Fischer, J.L., De la genèse fabuleuse à la morphogenèse des monstres, Cahiers d'Histoire et de Philosophie des Sciences, Société Française d'Histoire des Sciences, diffusion Editions Belin, Paris, 1986, n°13, 150 p.; et Monstres, Histoire du corps et de ses défauts, Paris, Syros-Alternatives, 1991, 126p.
  - 27- Ces expériences sont détaillées in référence note (6).
  - 28- a) Wolff, E., Les chemins de la vie, Paris, Hermann, 1963, p. 40; b) consulter également Trois pattes pour un canard, Paris, Editions de la Fondation Singer-Polignac, 1990.
  - 29- Ibid., note 26 (a), p. 41.
  - 30- Ibid., note 26 (b), p. 173-176.
  - 31- Wolff, E. et Ginglinger A., Sur la transformation des poulets mâles en intersexués par injection d'hormone femelle (folliculine) aux embryons, Arch. Anat. Hist. Embryol., 1935, t. 20, p. 219-278.
  - 32- Wolff, E., Sur l'action de l'hormone mâle (androstérone) injectée à l'embryon de poulet. Production expérimentale d'intersexués, C.R. Soc. Biol., 1935, t. 120, p. 1312-1314; Interprétation des résultats obtenus au cours des expériences d'injection d'androstérone synthétique aux embryons de poulet, Ibid., p. 1314-1316; La double action masculinisante et féminisante de l'androstérone sur le tractus génital des embryons de poulet, Ibid., 1936, t. 121, p. 1474-1476.
  - 33- Loc. cit. note (31), p. 271.
  - 34- Ibid., p. 272.
  - 35- Fischer, J.L., Etienne Geoffroy Saint-Hilaire (1724-1844) face au déterminisme du sexe, History and Philosophy of Life Sciences, 1979, vol. 1, n° 2, p. 261-283; et loc. cit. note (6).
  - 36- a) AnceI, P., Sur une ancienne théorie du déterminisme cyto-sexuel des gamètes et les récents résultats des injections de folliculine à des embryons de poulet, C.R.Soc.Biol., 1935, t.120, p. 118-120. Consulter aussi la thèse (sciences-naturelles) d'AnceI: b) Histogenèse et structure de la glande hermaphrodite d'*Helix pomatia*, Archives de Biologie, 1903, t. 19, p. 389-652.
  - 37- Dantchakoff a dû compter les mâles intersexués comme étant des femelles.
  - 38- Loc. cit. note (36a), p. 119.
  - 39- Spemann, H. et Mangold, H., Uber Induktion von Embryonalanlagen durch Implantation artfremder Organisatoren, Arch. Entw. Organ., 1924, t. 100, p. 599-638. Spemann obtenait en 1935 le Prix Nobel de Physiologie-Médecine pour ses travaux d'embryologie.
  - 40- Witschi, E., Studies on Sex Differentiation and Sex Determination in Amphibians. IX. Quantitative Relationships in the Induction of Sex Differentiation, and the Problem of Sex reversal in Parabioc Salamanders, Jour. Exper. Zool., 1936, vol. 74, p. 313-373.