ÉTUDE DE LA CHONDROGENÈSE VERTÉBRALE CHEZ L'EMBRYON DE SOURIS. INFLUENCE D'UNE IRRADIATION TÉRATOGENÈ AUX RAYONS X.

I. — TOPOGENÈSE DES MALFORMATIONS OBSERVÉES AU TERME DU DÉVELOPPEMENT

Madeleine NOVEL

Laboratoire de Biologie,
Institut national des Sciences appliquées de Lyon, 69 - Villeurbanne

SOMMAIRE

1. Le 10^e jour de la vie embryonnaire représente chez la Souris une des périodes critiques majeures de l'organogenèse vertébrale. Une dose modérée de Rayons X (300 r), administrée *in toto* à ce stade, n'aggrave que de 18 p. 100 la mortalité prénatale, mais suffit à provoquer des malformations vertébrales chez 92 p. 100 des embryons survivants.

2. Les malformations, bien que très diverses, peuvent être rangées en 9 grandes catégories. Quatre d'entre elles affectent les centres vertébraux. Ce sont l'*absence d'ossification* au 18^e jour, la *réduction*, la *fusion* entre centres successifs, et l'*ossification bilatérale*. On constate qu'exception faite de la *fusion*, leur répartition longitudinale présente des analogies avec celle de la différenciation. En effet, l'*ossification bilatérale* concerne les centres ossifiés les premiers, tandis que *réduction* et *absence* portent sur des centres à ossification plus tardive. Cette constatation souligne l'importance des mouvements morphogénétiques et celle de la différenciation dans la genèse des malformations, et le rôle de leur asynchronisme longitudinal dans la diversification de ces dernières.

3. Les côtes présentent quatre types d'anomalies. L'*angulation*, l'*interruption* et la *fusion* paraissent se produire sans lien avec la topographie. La variation du nombre affecte au contraire surtout les frontières de la cage thoracique, avec des particularités propres à notre souche. Les arcs vertébraux montrent une *fusion dorsale*, selon une répartition distincte de celle des anomalies centrales.

INTRODUCTION

L'existence de malformations squelettiques engendrées par une irradiation *in utero* a été maintes fois signalée (JOB, LEIBOLD et FITZMAURICE, 1935 ; WARKANY et SCHRAFFENBERGER, 1947 ; WILSON, 1954 ; RUSSELL, 1950, 1956 ; RUSSELL et

RUSSELL, 1954). Ces derniers auteurs en particulier ont montré que la colonne vertébrale passait, aux environs du 10^e jour embryonnaire, par une période critique de radiosensibilité. Alors que, d'une façon générale, le tissu squelettique est particulièrement radiorésistant, une dose modérée (300 r), administrée ce jour-là, suffit à produire électivement de nombreuses malformations.

Du point de vue de la morphogenèse, le dixième jour se trouve inclus dans la période de latence qui sépare induction et différenciation. La radiosensibilité particulière de cette phase de prédifférenciation est un phénomène très général (WOLFF, 1936) bien qu'encore mal expliqué. Il est logique de supposer qu'en raison de l'importance du nombre des mitoses, et de l'activité d'information liée à la différenciation, l'ADN soit « démasqué » et particulièrement vulnérable. WHITFIELD (1966) observe après irradiation une large sortie des histones à l'extérieur du noyau. L'ARN messager pourrait également être touché. Citons la démonstration par EKERT et GRUNBERG-MANAGO (1966) d'une influence de l'irradiation sur l'activité messagère de polyribonucléotides de synthèse, *in vitro*.

Mais l'analyse de ces problèmes exige au préalable que soit délimité, d'une part, ce qui est imputable à la cytolysse, et à ses multiples répercussions, topographiques notamment, dans l'édification des malformations, et d'autre part, ce qui peut être considéré comme une atteinte directe de la différenciation. Il convient en outre de discerner si celle-ci est perturbée de façon transitoire, à l'échelle de la génération cellulaire, ou de façon plus durable, ce qui introduirait un phénomène génétique. Dans ce but, nous étudierons ici la morphogenèse des malformations vertébrales. Les résultats obtenus seront exposés dans une série de trois publications.

Dans cette première partie, nous évaluerons tout d'abord l'effet létal de l'irradiation dans nos conditions expérimentales. Puis nous établirons une classification des malformations vertébrales apparaissant dans ces conditions bien définies. En regroupant la multiplicité des déficiences décrites par RUSSELL (1954) lorsqu'elles présentent des analogies, on a pu définir quelques grandes catégories. L'apparition de chacun de ces grands types de malformations a ensuite été dénombrée pour chaque vertèbre prise individuellement, à l'exclusion des vertèbres caudales, de façon à mettre en évidence une éventuelle relation entre la nature des malformations et leur localisation.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les souris utilisées proviennent d'une souche *Swiss/gif* entretenue au Centre de Sélection du C. N. R. S. On choisit de préférence des femelles ayant porté déjà une fois, plus rarement des femelles primipares. Le datage des portées se fait d'abord en consignait l'apparition du bouchon vaginal, qui donne le jour zéro. Puis il est déterminé de façon plus précise au moment du sacrifice, selon une clef établie d'après GRUNBERG (1950) et MILAIRE (1963) sur des critères morphologiques. Tous les embryons qui n'ont pas effectivement l'âge souhaité sont écartés.

L'irradiation est pratiquée de façon systématique au 10^e jour de la gestation. Les rayons X sont fournis par un appareil Stabilipan Siemens, sous 150 kV et 8 mA, avec une filtration de 2 mm d'aluminium. Le débit est de 33 r/mn à 60 cm de l'anticathode.

La mère est sacrifiée dans le courant du dix-huitième jour pour les raisons suivantes. Il est indispensable en premier lieu que l'observation soit suffisamment tardive pour intervenir après le démarrage de l'ossification. En effet, JOST, MOREAU et FOURNIER (1960) ont montré que, lors de ces « virages physiologiques », la variabilité est pendant quelques heures extrêmement grande. Il convient par ailleurs d'intervenir avant la parturition, afin de pouvoir observer les sites de résorption d'une part, et la totalité des fœtus survivants d'autre part ; car la mère, traumatisée par l'irradiation, peut détruire elle-même sa portée.

Les foetus sont fixés au formol, colorés en masse à l'alizarine, puis éclaircis à la potasse et enfin conservés dans la glycérine. Le squelette osseux apparaît en rouge, le squelette cartilagineux et les tissus mous deviennent parfaitement translucides. 70 embryons, issus de 23 portées, ont été examinés après coloration du squelette. Le taux de mortalité a été établi à partir d'un nombre plus étendu d'individus (1 183), destinés à d'autres types d'études.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

I. — Taux de mortalité embryonnaire

A. — Taux moyen.

Le tableau 1 donne le nombre moyen d'embryons survivants et résorbés dans les portées normales et irradiées à 300 r. On voit que la mortalité embryonnaire n'est pas négligeable au cours du développement normal (17 p. 100). En retranchant cette valeur de la mortalité totale observée chez les irradiés (35 p. 100), on obtient une valeur résiduelle de 18 p. 100 qui représente le taux attribuable à l'irradiation.

TABLEAU I

*Influence d'une irradiation à 300 r sur le taux de survie embryonnaire.
Taux de létalité établi en observant les sites de résorption*

Traitement	Nombre de portées étudiées	Survivants	Morts	Taille moyenne globale	Nombre moyen de survivants	Survie (%)
Témoins.....	43	346	76	10,26	8,04	83
Irradiées.....	54	360	191	10,10	6,60	65

B. — Évolution de la mortalité au cours de la gestation.

a) Sites de résorption.

Chez les témoins, les avortements sont déjà nombreux au dixième jour, et il est à remarquer qu'une femelle peut en subir jusqu'à 8. Il est vraisemblable qu'il s'agit dans ce cas de primipares ; en effet ces dernières, à la parturition, ne donnent souvent

FIG. 1. — Sites de résorption observés au cours du développement

Les valeurs sont exprimées en pourcentage du nombre total de placenta observés à chaque stade.
Traits pleins = irradiés ; Traits discontinus = témoins

naissance qu'à 4 ou 5 jeunes. D'autre part, la décrue observée après le douzième jour doit provenir de la régression totale des sites de résorption qui échappent de ce fait à l'observation. Chez les irradiées, au contraire (fig. 1), la courbe subit une ascension très nette, démontrant que la mortalité se poursuit jusqu'au 18^e jour.

b) *Nombre moyen d'embryons vivants à divers stades.*

Ce mode de comparaison (tabl. 2) indique également que c'est après le douzième jour que se creuse l'écart entre portées témoins et irradiées.

TABLEAU 2
Évolution de la taille moyenne des portées au cours du développement
(Embryons survivants)

Traitement	Nombre de portées étudiées	Survivants	Taille moyenne des portées (embryons vivants)			Moyenne
			10-12 jours	13-17 jours	18-20 jours	
Témoins ..	75	637	7,40	10,13	9,77	8,5
Irradiées ..	70	446	8,29	6,23	5,19	6,37

c) *Distribution du nombre d'embryons vivants par portée à divers stades.*

Chez les témoins, la taille des portées est très variable jusqu'au douzième jour (fig. 2 a). Puis elle se stabilise autour de certaines valeurs. C'est ainsi qu'à dix-huit

FIG. 2. — *Taille des portées considérées à divers stades de gestation*
Les valeurs expriment en pourcentage la fréquence de chaque taille par rapport au nombre total des portées observées à ce stade.
a : période de 10 à 12 jours
b : période de 13 à 17 jours
c : période 18 jours à la naissance.
Traits pleins = irradiées Traits discontinus = témoins

jours (fig. 2 c) on ne trouve plus de portées comprenant moins de quatre fœtus. Certaines, correspondant probablement à des premières gestations, en possèdent quatre, mais la majorité en comporte sept à quatorze.

L'irradiation ne modifie pratiquement pas le profil dans les deux premiers jours (fig. 2 a). Mais ensuite les portées nombreuses se raréfient jusqu'à devenir exceptionnelles. Les portées très réduites sont au contraire en nombre accru. Enfin, les tailles intermédiaires encore dispersées pendant un certain temps (fig. 2 b), se regroupent finalement autour d'un seul maximum pour les portées de cinq fœtus (fig. 2 c).

C. — Discussion.

Il est difficile de comparer les pourcentages de létalité observés par les auteurs, étant donné d'une part les différents modes d'observation possibles, et d'autre part, les différences génétiques. C'est ainsi que d'après RUSSELL (1956), 300 roentgens administrés entre 9 1/2 jours et 13 1/2 jours ne provoquent aucune mort fœtale mais 100 p. 100 de mort néonatale. Pour RUGH et WOHLFROMM (1962), le taux normal de survie, au dix-huitième jour, d'une lignée CF₁ de souris *Swiss* s'élève à 84 p. 100, ce qui concorde avec nos propres observations (tabl. 1). Mais il tombe pour 300 r à 14 p. 100 si les rayons X sont administrés à dix jours et à 33 p. 100 s'ils sont donnés à onze jours, ce qui est largement inférieur à nos résultats (65 p. 100).

Intermédiaires entre ces données extrêmes, nos observations indiquent donc que les conditions d'irradiation utilisées ici n'entraînent qu'une mortalité relativement modérée. Elles soulignent de plus que ce phénomène se poursuit tout au long de la vie fœtale, alors que dans les conditions normales, la mortalité semble stabilisée durant la deuxième moitié de la gestation. Enfin, l'étude détaillée de la distribution des tailles montre que l'irradiation frappe indifféremment les portées quelle que soit leur taille initiale, déportant le polygone de fréquence depuis ses limites normales comprises entre sept et quatorze individus, vers des tailles faibles, comprises entre un et sept individus.

II. — Classification des principales anomalies observées

Le tableau 3 précise, pour les 9 classes proposées, les anomalies que nous regroupons dans chacune d'entre elles. Il y figure également, dans une colonne distincte, les autres anomalies susceptibles d'être observées, mais qui ne seront pas dénombrées par la suite. Certaines correspondent à des effets marginaux d'une autre période critique de radiosensibilité, et n'apparaissent que rarement ; c'est le cas par exemple du *tilting* des centres, ou des déformations de l'atlas (RUSSELL, 1956). D'autres sont difficiles à apprécier, comme l'asymétrie des centres (pl. 1, fig. A), ou les lésions affectant le sternum, dont les différentes parties constitutives deviennent difficilement reconnaissables.

Les anomalies retenues recouvrent une certaine variabilité de forme. L'*ossification bilatérale* peut prendre des aspects très divers, depuis le simple rétrécissement médian (pl. 1, fig. A, B, C) jusqu'à la séparation en deux éléments totalement distincts (pl. 1, fig. E). La fusion des centres peut être soit large (pl. 1, fig. B, C, I) soit ténue (pl. 1, fig. B). A propos de l'*absence d'ossification* (pl. 1, fig. D, E, I, J) il faut

remarquer que la coloration à l'alizarine ne permet pas toujours de trancher entre les absences réelles de pièce squelettique et de simples retards d'ossification. On peut considérer cependant que ce retard constitue déjà le signe d'une perturbation consécutive à l'irradiation, et qu'il est légitime de grouper cette anomalie avec l'absence de pièce ossifiée. Ce retard peut lui-même masquer d'autres anomalies, échappant ainsi à l'examen. Des observations faites sur un nouveau-né (pl. 1, fig. B) montrent par exemple une segmentation confuse de la zone cervicale par suite du dédoublement et de la fusion unilatérale des centres ; cette grave perturbation aurait totalement échappé si l'observation avait été faite au dix-huitième jour. Aussi le groupe que nous intitulez *absence d'ossification* caractérisé par défaut, est-il un groupe hétérogène, notion dont il conviendra de tenir compte lors de l'exposition et de l'interprétation des résultats.

TABLEAU 3

*Les grandes catégories d'anomalies vertébrales
provoquées par l'irradiation au 10^e jour
(Voir le texte)*

	Désignation	Anomalies retenues	Anomalies exclues dans le dénombrement
Centre	Absence	Absence réelle ou retard d'ossification (pl. 1, fig. D, E, I, J).	Anomalies cartilagineuses des centres. Basculement, <i>tilting</i> , asymétrie (pl. 1, fig. A) Ankylose dorsale. Confusion des centres (<i>jumbling</i>).
	Réduction	S'observe dans le sens longitudinal ou transversal (pl. 1, fig. A, B).	
	Ossification bilatérale	Constriction médiane — formes en haltères — en doubles pointes de diamants (pl. 1, fig. A, B, C). Peut aller jusqu'à la scission totale (pl. 1, fig. F).	
	Fusion	Intervient dans le sens longitudinal, entre centres successifs, le plus souvent limitée à une moitié sagittale des centres (pl. 1, fig. B, C, I).	
Arcs	Fusion	Dorsale ou ventrale (pl. 1, fig. B) ; elle unit dans le sens longitudinal les arcs voisins (pl. 1, fig. E, G).	Rapprochement médian dans le sens transversal. Déformation des arcs de l'atlas.
Côtes	Angulation	Déformation : la côte est sinueuse, ondulée ou présente un angle brusque (pl. 1, fig. D).	Fusion des parties cartilagineuses qui peuvent constituer un réseau (pl. 1, fig. D). Anomalies sternales.
	Interruption	Au niveau de la zone particulièrement fragile, située au-delà du tubercule de la côte (pl. 1, fig. J).	
	Fusion	Entre côtes adjacentes.	
	Variation du nombre	Par excès = côte surnuméraire (pl. 1, fig. G). Par défaut = absence (pl. 1, fig. J). Si cette variation se manifeste en bordure de la cage thoracique, il s'ensuit un déplacement de la frontière cervico-thoracique ou thoraco-lombaire.	

III. — Distribution longitudinale de la radiosensibilité vertébrale

A. — Centres vertébraux.

Les défauts affectant chacun des centres des zones thoracique, lombaire et sacrée sont dénombrés et les polygones de fréquence correspondants sont établis (fig. 3). L'étude systématique des centres cervicaux n'a pas été faite ; elle n'aurait pas de signification puisqu'ils sont souvent imperceptibles à dix-huit jours même chez les fœtus normaux.

FIG. 3. — Fréquence des malformations des centres vertébraux

Les anomalies sont données en pourcentage du nombre total des sujets étudiés. T, centres thoraciques (1, premier centre ; 2, deuxième centre...) L, centres lombaires ; S, sacrum.

Traits gras = 300 r. Traits fins = 400 r

D'une façon globale tout d'abord, on remarque que la dose de 300 r touche 60 p. 100 des centres thoraciques (T), 30 p. 100 des centres lombaires (L) et 15 p. 100 des centres constituant le sacrum (S). Sur 40 fœtus étudiés après 300 r, 4 ne présentent aucune anomalie des centres, 11 montrent seulement des malformations antérieures (jusqu'à T₄), 34 possèdent des lésions sur toute la longueur de l'axe vertébral, mais aucun n'en montre dans la zone postérieure seule. Il faut donc admettre que la zone antérieure est, au dixième jour, particulièrement radiosensible. Remarquons aussi que les anomalies d'un type donné sont en général, pour un individu, groupées sur des centres voisins.

PLANCHE I.

Quelques aspects du squelette fœtal coloré à l'alizarine après irradiation

- A — Réduction des centres $T_1, 2, 3, 5$; ossification bilatérale de $T_{11, 13}$. La déformation de L_2 n'entre pas dans notre classification.
- B — Nouveau-né en vue ventrale. Les centres C sont visibles mais touchés par des fusions larges et l'ossification bilatérale. Fusion également, mais plus légère, de $T_5, 6, 7$. Fusion ventrale des arcs T_3 et 4 .
- C — Absence de T_1 . Réduction de T_2 et 3 . Fusion large de T_4 et 5 . Ossification bilatérale de $T_4, 10$, et 11 .
- D — Fusion des cartilages costaux à gauche, et angulation des côtes correspondantes.
- E — Fusion dorsale des arcs C gauches 2 et 3, 4 et 5.
- F — Dédoublement complet de T_{11} .
- G — Fusion dorsale des arcs gauches $C_{2, 3}$ et 4 , et T_2 et 3 . Présence d'une quatorzième côte gauche.
- H — Fœtus témoin de 17 jours montrant l'ossification des centres cantonnée dans la zone moyenne et l'absence de la portion dorsale des arcs.
- I — Retard d'ossification des vertèbres caudales 7 à 9 et fusion de deux centres du sacrum.
- J — Absence de la 1^{ère} côte gauche ; interruption au-delà du tubercule de la deuxième : angulation de la 3^{ème} et de la 4^{ème}.

La fréquence de chaque anomalie semble passer par un ou deux maxima, de part et d'autre desquels elle décroît progressivement. C'est ainsi que l'*absence d'ossification* est importante dans la zone antérieure ; de 66 p. 100 en T_1 , elle décroît jusqu'à s'annuler en T_5 pour réapparaître caudalement (pl. 1, fig. 1). La *réduction* montre un premier pic de T_1 à T_3 , et un second au niveau des lombaires. L'*ossification bilatérale* affecte surtout les vertèbres thoraciques de la zone moyenne et postérieure, avec un pôle de sensibilité en T_{11} . L'irradiation à dose plus forte (400 r) augmente la fréquence des anomalies, et en particulier de l'*absence d'ossification*. Cette disposition fait apparaître une sorte de symétrie céphalo-caudale, dont le centre se situerait au niveau des dernières vertèbres thoraciques.

B. — Arcs vertébraux.

Les arcs réagissent presque exclusivement par la *fusion*, le plus souvent dorsale (pl. 1, fig. E, G), parfois ventrale (pl. 1, fig. B). L'histogramme des fréquences concernant la fusion dorsale (fig. 4) accuse deux sommets, l'un tout à fait antérieur, au niveau de C_2 et C_3 , l'autre plus atténué sur T_1 et T_2 . La dose de 400 r fait apparaître le *rapprochement médian*.

FIG. 4. — Fréquence de la fusion dorsale des arcs

Les anomalies sont données en pourcentage du nombre total de paires d'arcs homologues analysées. C, arcs cervicaux ; T, arcs thoraciques.

Traits gras = 300 r Traits fins = 400 r

C. — Côtes.

L'*angulation*, l'*interruption* et la *fusion* paraissent se produire sans lien avec la topographie. Aussi le pourcentage d'animaux atteints par l'une ou l'autre de ces anomalies est-il donné sans préciser combien de côtes sont affectées, ni lesquelles (fig. 5). Par contre, le défaut ou le surnombre d'éléments se manifeste préférentiellement aux extrémités (pl. 1, fig. G, I) conduisant au déplacement des limites de la

FIG. 5. — Fréquence des anomalies costales

Pourcentage d'animaux atteints sur une côte au moins. Pour le déplacement des frontières thoraciques, les flèches dirigées vers le haut indiquent un déplacement vers l'avant, celles qui sont dirigées vers le bas un déplacement vers l'arrière.

Traits gras = 300 r Traits fins = 400 r

cage thoracique (RUSSELL, 1954). La présence d'une quatorzième paire sur L_1 est fréquente (16 p. 100), les trois autres types de déplacement beaucoup plus rares (3 à 4 p. 100) pour 300 r ; pour une dose plus forte (400 r), il n'est jamais apparu de côte surnuméraire ; par contre, la probabilité d'absence des premières ou dernières paires de côtes a été augmentée.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

A. — Malformations des centres

1. Mise en évidence d'une régionalisation.

La radiosensibilité particulière de la zone thoracique postérieure a déjà été signalée. RUSSELL (1956) a observé une localisation préférentielle de l'*ossification bilatérale* sur T_6 à T_{11} , sans la quantifier. MURAKAMI et KAMEYAMA (1964) obtiennent également une zone très radiosensible au dixième jour ; sa localisation (T_9 à L_6) est peu différente, compte tenu des différences de dose et de souche.

Mais nous avons vu que cette réponse n'était pas la seule, et qu'autour de ce maximum apparaissaient deux maxima de *réduction* et deux autres plus distants d'*absence d'ossification*. En outre, nous avons observé un gradient céphalocaudal de radiosensibilité en ce qui concerne l'intensité des réponses. Un diagramme schématique (fig. 6) illustre l'interaction de ces deux phénomènes.

FIG. 6. — Schéma illustrant la superposition de deux facteurs avec la radiosensibilité des centres vertébraux

a) le développement (en noir, développement avancé ; en hachures, développement moyen ; en blanc, développement tardif).

b) la position céphalo-caudale (tête vers la gauche du schéma).

Les vertèbres ont une taille proportionnelle à la fréquence des malformations.

C = centres cervicaux T = centres thoraciques
L = centres lombaires S = centres des vertèbres sacrés
Q = centres des vertèbres caudales

2. Hypothèses morphogénétiques.

Si on se réfère à la chronologie normale de l'ossification, l'*ossification bilatérale* affecte les centres les plus précocement ossifiés. En effet, à la fin du 16^e jour de développement embryonnaire, seuls les centres thoraciques moyens et postérieurs sont colorables à l'alizarine, accompagnés parfois des premiers centres thoraciques, ou bien des premiers centres lombaires (pl. 1, fig. H). Les deux autres types d'anomalies concernent des zones dont le développement est moins avancé. Qu'en est-il au moment de l'irradiation ?

Les mouvements morphogénétiques intervenant au dixième jour sont complexes. Tout d'abord les sclérotomes opèrent leur soudure médiane autour de la corde, puis, renversant le sens de leur prolifération, ils évoluent ensuite de façon centrifuge. Il est classique d'attribuer une sensibilité particulière aux cellules en cours de prolifération et non encore différenciées (KIRRMANN et WOLFF ; 1964) ; on peut alors concevoir la *réduction* comme la conséquence d'une radiolésion de la zone périphérique d'ébauches ayant déjà opéré ce renversement. De la même façon on pourrait aisément imaginer que l'*ossification bilatérale* touche des ébauches moins avancées, qui n'auraient pas encore réalisé leur soudure, et se trouveraient désormais empêchées de le faire. Cette hypothèse implique que la situation au 10^e jour soit l'inverse, du point de vue de l'asynchronisme longitudinal, de ce qu'elle est au 18^e jour, ce qui demande à être vérifié.

RUSSELL (1956) observe une période critique très précoce pour la *fusion* des centres, vers le 7^e jour, ce qui correspond à la formation des somites. Les fusions observées ici représentent une deuxième période critique pour cette anomalie. Elles sont vraisemblablement liées à des troubles de la segmentation secondaire des ébauches vertébrales (AREY, 1954).

Le retard d'ossification n'est pas accessible directement, mais il est une cause probable de certaines absences et réductions. RUSSELL (1956) le mentionne comme un effet certain des rayons X.

Toutes ces questions rendent nécessaire l'étude précise de la chronologie des événements morphogénétiques entre le 10^e et le 18^e jour ; cette analyse fera l'objet de la seconde partie de ce travail.

B. — Malformations des côtes

Les côtes présentent spontanément, dans la souche *Swiss* utilisée, une certaine variabilité numérique : une côte ou une paire de côtes surnuméraires peuvent apparaître à la limite de la cage thoracique, provoquant ainsi un déplacement de cette frontière en direction postérieure. L'irradiation augmente la fréquence de cette anomalie. Elle suscite également les trois autres déplacements possibles des frontières thoraciques, c'est-à-dire d'une part le transfert en direction antérieure de cette même frontière thoraco-lombaire, d'autre part le mouvement vers l'avant ou vers l'arrière de la limite cervico-thoracique.

Soulignons que le déplacement de la frontière cervico-thoracique n'a pas été cité par RUSSELL. Les animaux étudiés par cet auteur sont des hybrides C 57 BL ♀ × NB ♂. Par ailleurs, MURAKAMI et KAMEYAMA (1964) observent bien un déplacement de cette frontière, mais quel que soit le jour de l'irradiation et la lignée (*ddN* ou *CF*₁) il est toujours en direction antérieure, révélé alors par la présence de côte sur le septième centre cervical. Dans la lignée *Gif* de la souche *Swiss* que nous utilisons, le déplacement en direction postérieure a effectivement été observé après une irradiation au 10^e jour, et il y a peut-être là une radiosensibilité originale de cette souche (NOVEL, 1965). Cette sensibilité spécifique conduit à l'idée que, dans la différenciation costale, l'irradiation pourrait intervenir en facilitant l'apparition de malformations à base génétique. GIROUD et TUCHMANN-DUPLESSIS (1962) ont souligné ce mode d'action des agents tératogènes.

Les autres déformations costales paraissent sans relation avec les centres correspondants, ni localisation préférentielle dans le sens longitudinal. Cependant, RUSSELL (1956) avait établi une corrélation avec les anomalies sternales, aberrations non étudiées dans ce travail. Et il existe une évidente relation entre la partie osseuse et la partie cartilagineuse de la côte : la figure D de la planche 1 en donne un exemple, puisqu'à l'angulation de l'une correspond la fusion de l'autre.

Les anomalies provoquées par une irradiation de l'embryon de Souris au 10^e jour n'interviennent donc pas au hasard, mais revêtent des aspects typiques et affectent préférentiellement certaines régions. L'augmentation de la dose accuse le phénomène, tout particulièrement les absences ou retards d'ossification.

Ces observations apportent des éléments intéressants pour la compréhension de la genèse des malformations, en suggérant l'importance des relations entre les mouvements morphogénétiques et la différenciation. Aussi est-ce à une analyse du déroulement de ces deux processus entre le 10^e et le 18^e jour, avec une chronologie précise, que nous allons procéder dans la deuxième partie de ce travail.

Reçu pour publication en septembre 1968.

SUMMARY

TERATOGENIC EFFECT OF X-RAY IRRADIATION ON VERTEBRAL ORGANOGENESIS IN THE MOUSE EMBRYO.

I. — DESCRIPTION AND DISTRIBUTION OF ABNORMALITIES IN THE FOETUS

In the Mouse, day 10 of embryonic life is a critical period for vertebral organogenesis. Total-body 300 r, X-ray irradiation administered at this stage induces only an 18 per cent increase in embryonic mortality, but it causes vertebral malformations in 92 per 100 surviving embryos.

The various abnormalities can be divided into 9 groups. Four of them concern the vertebral centra : non-ossification (day 18) reduction ; fusion between consecutive centra ; bilateral ossification. With the exception of fusion, the distribution pattern of these abnormalities is similar to that of organogenetic differentiation. Bilateral ossification occurs in early-ossified centra whereas reduction and absence concern late-ossified centra. This points out the importance of morphogenetic changes and differentiation in the genesis of abnormalities, and the part played by axial dissynchronism in their diversification. Four types of abnormalities were noticed in the rib, i. e. angulation, deficiency, fusion, change in number. The occurrence of angulation, deficiency and fusion seemed irrespective of topography, whereas change in number of elements mainly affected the border of the thoracic cage—with peculiarities due to the *Swiss/gif* strain.

The abnormality of vertebral arches is dorsal fusion, with a different distribution from central abnormalities.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AREY L. B., 1954. *Developmental anatomy*. 6^e édition. Saunders éd. Philadelphia.
- EKERT B., GRUNBERG-MANAGO M., 1966. Effets des rayons γ sur l'efficacité de quelques polyribonucléotides en tant que messagers. *C. R. Acad. Sci.*, série D, **263**, 1762-1765.
- GIROUD A., TUCHMANN-DUPLESSIS H., 1962. Malformations congénitales. Rôle des facteurs exogènes. *Pathol. Biol.*, **10**, 119-151.
- GRUNBERG H., 1943. The development of some external features in Mouse embryos. *J. Hered.*, **34**, 89-92.
- JOB T. T., LEIBOLD G. J., FITZMAURICE H. A., 1935. Biological effects of Roentgen rays. The determination of critical periods in mammalian development with X rays. *Am. J. Anat.*, **56**, 97-117.

- JOST A., MOREAU G., FOURNIER C., 1960. Date et ordre d'apparition des premiers centres d'ossification chez le fœtus de Rat normal ou soumis au propylthiouracile. *Arch. Anat. Micr.*, **49**, 431-457.
- KIRRMANN J. M., WOLFF Et., 1964. Teratogenic effects of ionizing radiation on the embryonic development of the higher vertebrates. *Internat. Rev. exper. Pathol.*, **3**, 365-408.
- MILAIRE J., 1963. Étude morphologique et cytochimique du développement des membres chez la Souris et chez la Taupe. *Arch. Biol.*, **74**, 129-317.
- MURAKAMI U., KAMEYAMA Y., 1964. Vertebral malformation in the mouse foetus caused by X-radiation of the mother during pregnancy. *J. Embryol. exp. Morph.*, **12**, 841-850.
- NOVEL M., 1965. Malformations vertébrales provoquées chez l'embryon de Souris par une irradiation *in utero* aux Rayons X. *C. R. Acad. Sci., Paris*, **260**, 6.215-6.218.
- RUGH R., WOHLFROMM M., 1962. Can the mammalian embryo be killed by X-irradiation? *J. exper. Zool.*, **151**, 227-243.
- RUSSELL L. B., 1950. X-ray induced developmental abnormalities in the mouse and their use in the analysis of embryological patterns. I. External and gross visceral changes. *J. exper. Zool.*, **114**, 545-602.
- RUSSELL L. B., 1956. X-ray induced developmental abnormalities in the mouse and their use in the analysis of embryological patterns. II. Abnormalities of the vertebral column and thorax. *J. exper. Zool.*, **131**, 329-395.
- RUSSELL L. B., RUSSELL W. L., 1954. An analysis of the changing radiation response of the developing mouse embryo. *J. cell. compar. Physiol.*, **43**, suppl. 1, 103-149.
- WARKANY J., SCHRAFFENBERGER E., 1947. Congenital malformations induced in rats by röntgen rays. *Am. J. Röntgenol.*, **57**, 455-63.
- WHITFIELD J. F., 1966. How radiation causes cell death. *Biochem. abst.*, **65**, n° 20, 476 b.
- WILSON J., 1954. Differentiation and the reaction of Rat embryos to radiation. *J. Cell Compar. Physiol.*, **43**, suppl. 1, 11-37.
- WOLFF Et., 1936. Les bases de la tératogénèse expérimentale des vertébrés amniotes d'après les résultats des méthodes directes. *Arch. Anat. Hist. Embryol. Fr.*, **22**, 1-375.
-