

Sécrétion de stéroïdes par les gonades embryonnaires d'Oiseaux

J.-P. WENIGER

*Laboratoire de Zoologie et d'Embryologie expérimentale,
Université Louis Pasteur,
12, rue de l'Université, 67000 Strasbourg, France.*

Introduction.

L'origine des travaux sur la sécrétion de stéroïdes par les gonades embryonnaires d'Oiseaux est à rechercher dans l'hypothèse que Wolff et Ginglinger avaient formulée en 1935. L'administration de folliculine — nom sous lequel on désignait l'œstrone à l'époque — à de jeunes embryons de Poulet ayant entraîné la féminisation plus ou moins complète des mâles génétiques, ces auteurs en avaient conclu que « la production normale des femelles génétiques était due à la sécrétion par l'organisme femelle de folliculine ou d'une substance voisine ». C'était une hypothèse hardie, car non seulement elle revenait à assimiler l'hormone femelle des embryons d'Oiseaux à celle des Mammifères adultes, mais encore elle lui assignait le rôle d'agent de la différenciation sexuelle.

Je ne reviendrai pas ici sur les expériences initiales, qui ne prétendaient pas à une identification absolue des hormones sécrétées. Le lecteur intéressé par ce côté historique pourra se reporter à mon travail de 1969 (Weniger, 1969). Je commencerai mon enquête en 1966, où les méthodes radiochimiques étaient devenues d'un usage courant pour l'identification d'une substance.

1. Synthèse d'œstrone et d'œstradiol par les gonades femelles d'embryon de Poulet.

Après avoir cultivé des gonades femelles d'embryon de Poulet de 7-10 jours *in vitro* en présence de déhydroépiandrostérone-¹⁴C pendant 3 jours, Cédard et Haf-fen (1966) identifièrent par recristallisation à rapport isotopique constant de l'œstrone et de l'œstradiol marqués au ¹⁴C dans les milieux de culture. L'année suivante, cultivant des gonades femelles de 7 jours en présence d'acétate de Na-¹⁴C pendant 24 h, Weniger *et al.* (1967) identifièrent les deux œstrogènes par radiochromatographie fonctionnelle. Dès le stade de 7 jours, qui correspond classiquement au stade de la différenciation sexuelle, les gonades femelles d'embryon de Poulet sont donc capables d'effectuer la synthèse totale d'œstrone et d'œstra-

diol. Précisons que, bien qu'atrophique, la gonade femelle droite sécrète les deux œstrogènes, comme l'ovaire gauche (Weniger, 1968b), ce qui se comprend, les cellules stéroïdogènes se trouvant dans la zone médullaire, commune aux deux gonades.

2. Le problème de la sécrétion de testostérone par le testicule embryonnaire d'Oiseau.

En 1966, Cédard et Haffen identifièrent par recristallisation à rapport isotopique constant de la testostérone marquée au ^{14}C dans les milieux où des testicules embryonnaires de Poulet de 7-10 jours avaient été cultivés pendant 3 jours en présence de déhydroépiandrostérone- ^{14}C . Ces mêmes auteurs obtinrent aussi la formation de testostérone à partir de prégnénolone- ^3H et de progestérone- ^{14}C (Cédard, Guichard et Haffen, 1970), mais non à partir d'acétate de Na- ^{14}C (Cédard, Haffen et Guichard, 1968). De son côté, Weniger ne put obtenir la synthèse de testostérone ni à partir d'acétate de Na- ^{14}C (1969) ni à partir de progestérone ou de déhydroépiandrostérone marquées au ^{14}C (1970). Pourtant, Guichard *et al.* (1973) et Scheib *et al.* (1974) confirmèrent la formation de testostérone aussi bien à partir de prégnénolone- ^3H que de progestérone- ^{14}C ou de déhydroépiandrostérone- ^{14}C par le testicule embryonnaire de Caille. Weniger et Zeis (1973a, 1976, 1977) quant à eux accumulèrent les résultats négatifs. Voilà quelle était la situation quand les méthodes radioimmunologiques commencèrent à être employées (Guichard *et al.*, 1977, 1979a).

Après que Guichard *et al.* (1979b) eurent démontré la formation de grandes quantités de testostérone par les testicules embryonnaires de Poulet de 15-18 jours à partir de déhydroépiandrostérone ou d'androstènedione non radioactives incorporées aux milieux de culture à forte concentration (86 μM), l'idée se fit jour que la concentration en précurseurs devait être un facteur important dans la synthèse de testostérone (Weniger *et al.*, 1984). Cultivant des testicules embryonnaires de Poulet de 15-18 jours en présence de concentrations variables de déhydroépiandrostérone- ^3H ou d'androstènedione- ^{14}C , Weniger *et al.* (1985b) montrèrent qu'il fallait une concentration minimale en précurseur, environ 1 μM , pour que la formation de testostérone pût être mise en évidence. Mais, dans ces conditions, la capacité de formation de testostérone n'est pas l'apanage des testicules ; elle est partagée par d'autres organes, nommément l'ovaire et le mésonéphros. C'est dire que la 17β -hydroxystéroïde-déshydrogénase, ainsi que le système enzymatique Δ_5 - 3β -hydroxystéroïde-déshydrogénase, Δ_4 - Δ_5 -isomérase, existent dans tous ces organes. Mais il faut une forte concentration en précurseur pour que les réactions catalysées par ces enzymes aboutissent à la formation de testostérone.

Ainsi, aux yeux de l'auteur du présent article, la formation de testostérone par le testicule embryonnaire de Poulet est possible en présence de fortes concentrations en précurseur, mais doit être inexistante dans les conditions physiologiques. Cette conclusion est corroborée par l'impossibilité de démontrer la synthèse totale de testostérone à partir d'acétate de Na (Cédard, Haffen et Guichard, 1968 ; Weniger, 1969), ni de mettre en évidence, par des expériences d'associa-

tions d'organes en culture *in vitro*, une quelconque action du testicule embryonnaire de Poulet sur des organes effecteurs de la testostérone, tels le canal de Wolff d'embryon de Souris (Weniger, 1965) ou le canal de Wolff d'embryon de Poulet (Chouraqi *et al.*, 1980).

3. Synthèse d'œstrone et d'œstradiol par le testicule féminisé d'embryon de Poulet.

Les gonades mâles pouvant être féminisées par l'œstradiol, la question se posait de savoir si ces gonades féminisées sécrétaient de l'œstrone et de l'œstradiol comme les gonades femelles. Haffen et Cédard (1967) cultivèrent pendant 3 jours en présence de déhydroépiandrostérone-³H seule ou conjointement avec de la testostérone-¹⁴C des gonades génétiquement mâles de 10 jours féminisées par le dipropionate d'œstradiol à 3 jours, tandis qu'Akram et Weniger (1967, 1969) cultivèrent pendant 24 h en présence d'acétate de Na-¹⁴C des gonades de 16-18 jours féminisées par le benzoate d'œstradiol à 4 jours. Dans les trois conditions expérimentales, de l'œstrone et de l'œstradiol marqués au ³H ou (et) au ¹⁴C furent identifiés dans les milieux de culture. Les gonades mâles féminisées sont donc capables, comme les gonades femelles, de transformer des précurseurs androgènes en œstrone et en œstradiol et même d'effectuer la synthèse totale de ceux-ci. Ajoutons que le mode de féminisation est indifférent : connus pour être féminisants, certains androgènes comme la dihydrotestostérone ou le 5-androstène- $3\beta,17\beta$ -diol induisent dans le testicule la synthèse d'œstrone et d'œstradiol (Weniger et Zeis, 1973b, 1974).

On pouvait s'interroger sur la rapidité de la mise en place des mécanismes de synthèse d'œstrogènes. Cultivé simultanément en présence d'œstradiol non radioactif et de déhydroépiandrostérone-¹⁴C, le testicule de 8 jours a déjà formé de l'œstradiol-¹⁴C 24 h après le début de la culture, ce qui n'est pas le cas du testicule cultivé en présence du précurseur radioactif seul (Weniger et Zeis, 1975). L'œstradiol induit donc dans le testicule sa propre synthèse, et comme cette synthèse s'accompagne de la féminisation du testicule, on peut soutenir, comme l'avaient déjà fait Wolff et Ginglinger en 1935, que la différenciation de l'ébauche gonadique femelle en un ovaire s'effectue sous l'action de l'œstradiol qu'elle sécrète. Il fallait donc vérifier si l'ébauche gonadique sexuellement indifférenciée était déjà capable de synthétiser de l'œstradiol.

4. Synthèse précoce d'œstrone et d'œstradiol par l'ébauche gonadique femelle.

De l'œstrone et de l'œstradiol radioactifs ont été formés à partir de progestérone-¹⁴C par les ébauches gonadiques de 6 et 5 jours (Weniger, 1968a) et à partir d'acétate de Na-¹⁴C par les ébauches gonadiques de 5-6 jours (Weniger et Zeis, 1969), mais ni par celles de quatre ni par celles de 5 jours (Weniger et Zeis, 1971). La sécrétion d'œstrone et d'œstradiol est donc démontrée entre 5 et

6 jours, mais pas avant ce stade. Toute la question est alors de savoir si, entre 5 et 6 jours, l'ébauche gonadique est encore sexuellement indifférenciée.

Classiquement, on fait coïncider le stade de la différenciation sexuelle de l'embryon de Poulet avec le stade de 7 jours d'incubation (stade 31 de Hamburger et Hamilton). Mais en examinant attentivement les ébauches gonadiques d'embryons de 5-6 jours, on peut déjà reconnaître leur sexe dans la grande majorité des cas (Weniger, 1961). Il est donc difficile de les considérer comme étant encore sexuellement indifférenciées à ce stade. Tout ce qu'on peut dire, c'est que les ébauches gonadiques sont le siège d'une sécrétion d'œstrone et d'œstradiol au moment de la différenciation sexuelle.

Même si la sécrétion d'œstradiol n'est pas démontrée avant ce stade, la puissance de son action féminisante ne laisse pas d'être déconcertante, comme nous l'avons vu. Un traitement de quelques heures par l'œstradiol suffit pour activer ou faire apparaître dans le testicule embryonnaire de Poulet de 8 jours les enzymes nécessaires à la transformation de la déhydroépiandrostérone en œstradiol. La féminisation du testicule par l'œstradiol s'accompagne de la sécrétion d'œstradiol. L'œstradiol induit sa propre sécrétion. On ne peut pas exclure que l'expression des gènes responsables de la différenciation sexuelle normale se traduise finalement par une sécrétion d'œstradiol. On ne s'étonnera donc pas que les anti-œstrogènes fussent jetés dans le débat.

5. Anti-œstrogènes et différenciation ovarienne.

Après avoir injecté 0,2-2 mg de tamoxifène en solution huileuse à des embryons de Poulet de 1 à 7 jours d'incubation ou après avoir trempé au plus tard au 3^e jour de l'incubation des œufs de Caille dans une solution alcoolique de tamoxifène, Salzgeber *et al.* (1981), ainsi que Scheib et Baulieu (1981), notèrent des modifications de structure des gonades chez la plupart des femelles génétiques. Le cortex des ovaires gauches était moins bien développé que normalement, par rapport à celui de gonades normales le système de lacunes était moins étendu dans la médullaire de l'ovaire gauche, aussi bien que dans la gonade droite atrophique, et des cordons de type testiculaire étaient présents dans les deux gonades. Contrecarrant l'action des œstrogènes endogènes en bloquant leur récepteur, le tamoxifène avait empêché une différenciation sexuelle normale des ébauches gonadiques femelles, qui tendaient à se masculiniser. Le rôle des œstrogènes dans la différenciation des ébauches gonadiques femelles paraissait clairement établi.

Dans leurs premières expériences d'administration de tamoxifène à l'embryon de Poulet, Weniger *et al.* (1981a) n'avaient pas remarqué de modification de structure des gonades femelles. Il est vrai que la dose maximale était de 250 μ g seulement. Aussi, reprirent-ils la question, en respectant les conditions expérimentales de Salzgeber *et al.* (1981).

Sacrifiés entre 16 et 19 jours, après avoir reçu entre 4 et 6 jours, soit sur la membrane chorio-allantoïdienne, soit dans la vésicule vitelline, une dose unique de 0,2-1,5 mg de tamoxifène en solution huileuse, les embryons femelles présen-

taient un ovaire gauche qui pouvait être de taille réduite et une gonade droite qui pouvait être plus développée que normalement. Mais la structure histologique de l'une et l'autre gonades ne différait pas sensiblement de celle de gonades normales. Dans certains cas, le cortex pouvait être réduit en épaisseur ou le système de lacunes moins développé, mais des cordons de type testiculaire étaient absents (Weniger et Zeis, 1984 ; Weniger et Samsel, 1985). L'absence de modification notable de structure est corroborée par l'absence de changement de l'activité hormonale : l'ovaire de l'embryon traité par le tamoxifène forme en culture *in vitro* les mêmes quantités d'œstrone et d'œstradiol que l'ovaire normal (Weniger *et al.*, 1982).

Si les résultats de Salzgeber *et al.* (1981) et ceux de Weniger et Zeis (1984) divergent quant à l'action masculinisante du tamoxifène sur les gonades femelles, ils se rejoignent pour ce qui est de son effet protecteur vis-à-vis de la féminisation du testicule par l'œstradiol. Alors que l'embryon génétiquement mâle recevant à 5 jours 100 µg d'œstradiol est féminisé à coup sûr, ce n'est plus le cas si l'injection d'œstradiol est précédée par une injection de 100 µg de tamoxifène (Weniger *et al.*, 1981a). L'administration de tamoxifène peut même se faire conjointement avec celle d'œstradiol (Salzgeber *et al.*, 1981) ou la suivre (Weniger et Zeis, 1984), sans que l'effet en soit modifié. C'est dire que l'ébauche testiculaire doit contenir le récepteur de l'œstradiol et que le tamoxifène doit avoir pour ce récepteur une affinité plus grande que l'œstradiol lui-même, puisqu'il déplace celui-ci de sa liaison avec le récepteur. Ajoutons que le tamoxifène annihile tout aussi bien l'action féminisante de certains androgènes, tels l'androstérone ou la dihydrotestostérone (Weniger *et al.*, 1981b, 1983), ainsi que du diéthylstilbœstrol (Samsel *et al.*, 1982).

L'action masculinisante du tamoxifène sur les gonades femelles étant problématique, l'hypothèse d'un rôle des œstrogènes dans la différenciation sexuelle des gonades femelles doit-elle pour autant être définitivement écartée ? On hésite à franchir ce pas, tant l'action morphogène de l'œstradiol exogène est puissante. Redisons qu'on ne pouvait s'attendre à ce que le tamoxifène fût efficace que dans la mesure où l'œstradiol endogène agissait par l'intermédiaire de son récepteur. Si tout indique que c'est le cas de l'œstradiol exogène, ce n'est sans doute pas le cas de l'œstradiol endogène, sinon, neutralisant l'effet de 100 µg d'œstradiol endogène, le tamoxifène aurait dû annihiler sans difficulté l'action des faibles quantités d'œstrogènes sécrétées par les ébauches gonadiques au moment où elles s'engagent sur la voie de la différenciation ovarienne. On se trouve donc devant l'alternative suivante : ou bien les œstrogènes ne jouent aucun rôle dans la différenciation sexuelle ou bien ils se passent de leur récepteur. Le recours aux inhibiteurs de la synthèse des œstrogènes s'imposait.

6. Différenciation ovarienne et inhibiteurs d'aromatisation.

L'aminoglutéthimide est un inhibiteur d'aromatisation utilisé efficacement dans le traitement du carcinome mammaire. Cultivé *in vitro* en présence de ce composé, l'ovaire embryonnaire de Poulet voit sa synthèse d'œstradiol diminuer, et ceci d'autant plus que la concentration en aminoglutéthimide est plus élevée.

L'aminoglutéthimide est donc bien un inhibiteur du système enzymatique d'aromatation de l'ovaire embryonnaire de Poulet. Mais administré *in ovo*, il ne modifie pas la différenciation des gonades femelles. Il en est de même de l'androst-1,4,6-triène-3,17-dione, un autre inhibiteur d'aromatation (Weniger *et al.*, 1985b). Il reste à vérifier si l'un et l'autre composés abolissent la sécrétion d'œstrogènes *in vivo*, avant de pouvoir se prononcer sur le rôle de ceux-ci dans la différenciation ovarienne. Une autre façon d'aborder le problème qui consistait à administrer à l'embryon un antisérum anti-œstradiol a donné un résultat négatif (inédit).

7. Rôle de l'hypophyse dans la sécrétion d'œstrogènes par l'ovaire embryonnaire d'Oiseau.

Chez l'embryon de Canard, l'hypophysectomie par décapitation partielle au stade de 50 h d'incubation entraîne une diminution de la sécrétion d'œstrogènes par l'ovaire. Au stade de 16 jours, la synthèse d'œstradiol est diminuée de moitié, celle d'œstrone restant inchangée (Weniger *et al.*, 1974). Au stade de 24 jours, la synthèse d'œstradiol est complètement abolie, alors que celle d'œstrone est réduite de moitié. L'administration de LH supplée l'hypophyse manquante (Akram et Weniger, 1973). La synthèse d'œstrogènes dépend donc de LH hypophysaire, celle d'œstrone moins étroitement que celle d'œstradiol. La diminution de la synthèse d'œstrogènes après hypophysectomie explique que la différenciation de la syrinx et du tubercule génital s'infléchisse dans le sens mâle, comme c'est le cas après castration partielle (Kinyon et Watterson, 1958).

Chez l'embryon de Poulet de 16-17 jours, les quantités d'œstrogènes synthétisées par l'ovaire en culture *in vitro* sont les mêmes, que l'embryon soit normal ou hypophysectomisé. Ceci a été vérifié aussi bien par les méthodes radiochimiques (Akram *et al.*, 1973 ; Akram et Weniger, 1974) que radioimmunologiques (Weniger et Zeis, 1987). Il y a donc des différences en ce qui concerne le rôle de l'hypophyse dans la sécrétion d'œstrogènes par l'ovaire embryonnaire quand on passe d'un ordre d'Oiseaux à un autre (Ansériformes et Galliformes). Cependant, d'après Woods et Brazzill (1981), la nette augmentation de la concentration plasmatique en œstradiol au stade de 13 jours d'incubation traduirait une influence de l'hypophyse sur la sécrétion d'œstrogènes chez l'embryon de Poulet normal. Le dosage de l'œstradiol plasmatique chez l'embryon normal et chez l'embryon hypophysectomisé devrait permettre de trancher la question.

8. Rôle de l'hypophyse dans la sécrétion de testostérone par le testicule embryonnaire de Poulet.

Bien que l'auteur du présent article ait la conviction que le testicule embryonnaire de Poulet ne sécrète pas de testostérone, il lui faut mentionner les travaux visant à mettre en évidence un rôle de l'hypophyse dans la sécrétion de testostérone.

Pedernera et Gomar (1984) ont dosé la testostérone par radioimmunologie dans les milieux où des testicules embryonnaires de Poulet de 8-16 jours avaient été cultivés *in vitro* en présence ou en l'absence d'hCG. Ils ont noté une action positive de la gonadotrophine chorionique à partir du stade de 12 jours d'incubation.

Woods *et al.* (1983) trouvent à partir du stade de 13 jours d'incubation une testostéronémie significativement plus faible chez l'embryon hypophysectomisé que chez l'embryon normal. LH administrée à l'embryon hypophysectomisé restaure une testostéronémie normale. Ces résultats tendent à démontrer l'action stimulatrice de LH hypophysaire sur la sécrétion de testostérone par le testicule embryonnaire de Poulet. Ils gagneraient cependant à être confirmés.

Conclusion et perspectives.

Les travaux sur la sécrétion de stéroïdes par les gonades embryonnaires d'Oiseaux soulignent la précocité de la sécrétion d'œstrogènes par les ébauches gonadiques femelles. Cependant, l'absence d'action des anti-œstrogènes et des inhibiteurs d'aromatase sur la différenciation ovarienne enlève pratiquement tout crédit à l'hypothèse de Wolff et Ginglinger (1935) qui voulait que l'œstradiol fût l'agent causal de la différenciation sexuelle femelle. Mais l'induction, dans le testicule, de la sécrétion d'œstrogènes par l'œstradiol et certains androgènes demeure un fait intéressant, dont le mécanisme intime mériterait de nouvelles études. Le rôle de l'hypophyse dans la sécrétion d'œstrogènes par l'ovaire devrait aussi faire l'objet de nouvelles recherches. Le seul point faible de cet ensemble de travaux concerne la sécrétion de testostérone par le testicule au sujet de laquelle les auteurs sont partagés. Mais ayant travaillé à la fois sur le testicule embryonnaire d'Oiseau et sur celui de Mammifère, l'auteur du présent article croit disposer d'éléments de comparaison lui permettant de mettre sérieusement en doute la sécrétion de testostérone par le testicule embryonnaire d'Oiseau.

Reçu en janvier 1987.

Accepté en mars 1987.

Références

- AKRAM H., WENIGER J.-P., 1967. Sécrétion d'œstrone et d'œstradiol par le testicule féminisé de l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **264**, 1806-1807.
- AKRAM H., WENIGER J.-P., 1969. Sécrétion d'œstrone et d'œstradiol par les gonades embryonnaires d'Oiseaux. *Gen. comp. Endocrin.*, **12**, 568-573.
- AKRAM H., WENIGER J.-P., 1973. Effet de l'hypophysectomie sur la sécrétion d'œstrogènes par les gonades de l'embryon de Canard femelle. *Gen. comp. Endocrinol.*, **21**, 543-546.
- AKRAM H., WENIGER J.-P., 1974. L'hypophyse est sans influence sur la synthèse d'œstrogènes chez l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **278**, 2669-2670.
- AKRAM H., ZEIS A., WENIGER J.-P., 1973. Biosynthèse d'œstrogènes par l'ovaire de l'embryon de Poulet hypophysectomisé : aspect quantitatif. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **276**, 359-361.

- CÉDARD L., HAFFEN K., 1966. Transformation de la déhydroépiandrostérone par les gonades embryonnaires de Poulet cultivées *in vitro*. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **263**, 430-433.
- CÉDARD L., HAFFEN K., GUICHARD A., 1968. Influence de l'hormone gonadotrope chorionique sur la production d'œstrogènes à partir d'acétate de Na et de déhydroépiandrostérone radioactifs par les gonades embryonnaires de Poulet, cultivées *in vitro*. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **267**, 118-120.
- CÉDARD L., GUICHARD A., HAFFEN K., 1970. Métabolisme de la prégnénolone-7 α -³H et de la progestérone-4-¹⁴C par les gonades embryonnaires de Poulet cultivées *in vitro*. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **271**, 1707-1710.
- CHOURAQUI J., ZEIS A., WENIGER J.-P., 1980. Etude comparative en culture *in vitro* de l'action des testicules embryonnaires de Poulet et de Rat sur le canal de Wolff d'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **69**, 167-173.
- GUICHARD A., CÉDARD L., HAFFEN K., SCHEIB D., 1973. Métabolisme de la prégnénolone et de la progestérone radioactives par les gonades embryonnaires de Caille (*Coturnix coturnix japonica*) en culture organotypique. *Gen. comp. Endocrinol.*, **21**, 478-484.
- GUICHARD A., CÉDARD L., MIGNOT Th.-M., SCHEIB D., HAFFEN K., 1977. Radioimmunoassay of steroids produced by cultured chick embryonic gonads : differences according to age, sex and side. *Gen. comp. Endocrinol.*, **32**, 255-265.
- GUICHARD A., HAFFEN K., CÉDARD L., MIGNOT Th.-M., SCHEIB D., 1979a. Effects of hCG and of season on *in vitro* steroidogenesis by 18-day chick embryo gonads. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **19**, 1317-1325.
- GUICHARD A., CÉDARD L., MIGNOT Th.-M., SCHEIB D., HAFFEN K., 1979b. Radioimmunoassay of steroids produced by chick embryo gonads cultured in the presence of some exogenous steroid precursors. *Gen. comp. Endocrinol.*, **39**, 9-19.
- HAFFEN K., CÉDARD L., 1967. Métabolisme de la déhydroépiandrostérone et de la testostérone radioactives par les gonades mâles intersexuées de l'embryon de Poulet cultivées *in vitro*. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **264**, 1923-1926.
- KINYON N., WATTERSON R. L., 1958. Reduced endocrine activity of ovaries of hypophysectomized duck embryos as indicated by modified development of genital tubercule and syrinx. *Physiol. Zool.*, **31**, 60-72.
- PEDERNERA E., GOMAR Y., 1984. Onset of the response to chorionic gonadotropin in the chick embryo testis. *Gen. comp. Endocrinol.*, **54**, 344-349.
- SALZGEBER B., REYSS-BRION M., BAULIEU E.-E., 1981. Modifications des gonades femelles de l'embryon de Poulet, après action du tamoxifène. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. III*, **293**, 133-137.
- SAMSEL J., ZEIS A., WENIGER J.-P., 1982. Féminisation du testicule embryonnaire de Poulet par le diéthylstilboestrol et action antagoniste du tamoxifène. *Biochimie*, **64**, 369-376.
- SCHEIB D., BAULIEU E.-E., 1981. Action antagoniste du tamoxifène sur la différenciation normale des gonades femelles de l'embryon de Caille. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. III*, **293**, 513-518.
- SCHEIB D., HAFFEN K., GUICHARD A., CÉDARD L., 1974. Transformation de la déhydroépiandrostérone-4-¹⁴C par les gonades embryonnaires de la Caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*) explantées *in vitro*. *Gen. comp. Endocrinol.*, **23**, 453-459.
- WENIGER J.-P., 1961. Activité hormonale des gonades morphologiquement indifférenciées de l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **50**, 269-288.
- WENIGER J.-P., 1965. Etude comparée des actions hormonales des testicules embryonnaires de Poulet et de Souris en culture *in vitro*. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **54**, 909-919.
- WENIGER J.-P., 1968a. Sur la précocité de la sécrétion d'œstrogènes par les gonades embryonnaires de Poulet cultivées *in vitro*. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **266**, 2277-2279.
- WENIGER J.-P., 1968b. Sécrétion d'œstrone, d'œstradiol, d'œstriol et d'épi-œstriol par la gonade droite, atrophique, d'embryon de Poulet cultivée *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, **162**, 1393-1397.
- WENIGER J.-P., 1969. Recherches sur la nature chimique des hormones sexuelles embryonnaires de Poulet. *Ann. Embr. Morph.*, **2**, 433-444.
- WENIGER J.-P., 1970. Le testicule embryonnaire de Poulet sécrète-t-il de la testostérone ? *Arch. Anat. Hist. Embr.*, **53**, 97-105.
- WENIGER J.-P., SAMSEL J., 1985. Tamoxifen and ovarian differentiation in birds. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **74**, 50-51.

- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1969. Formation d'œstrone et d'œstradiol radioactifs, à partir d'acétate de Na- ^{14}C , par les ébauches gonadiques d'embryon de Poulet de 5 à 6 jours. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **268**, 1306-1309.
- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1971. Biosynthèse d'œstrogènes par les ébauches gonadiques de Poulet. *Gen. comp. Endocrinol.*, **16**, 391-397.
- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1973a. Recherches sur la nature chimique de l'hormone testiculaire de l'embryon de Poulet. *Ann. Embr. Morph.*, **6**, 219-228.
- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1973b. Induction de la production d'œstrogènes dans le testicule embryonnaire de Poulet par la dihydrotestostérone. *Biochimie*, **55**, 1163-1164.
- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1974. Sur l'induction de la synthèse d'œstrogènes. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **279**, 85-87.
- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1975. Sur la rapidité de la mise en place des mécanismes de synthèse d'œstrogènes chez l'embryon de Poulet mâle traité par l'œstradiol. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **280**, 749-751.
- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1976. Androgènes et régression des canaux de Müller chez l'embryon de Poulet : nouvelles recherches. *Arch. Anat. Hist. Embr.*, **59**, 19-32.
- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1977. Hormone anti-müllérienne d'Oiseau et testostérone. *Arch. Anat. Hist. Embr.*, **60**, 189-196.
- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1984. Tamoxifène et différenciation sexuelle des gonades chez l'embryon de Poulet. *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **73**, 217-222.
- WENIGER J.-P., ZEIS A., 1987. 17β -estradiol secretion by the ovary of the hypophysectomized chick embryo. *Gen. comp. Endocrinol.*, **65**, 9-11.
- WENIGER J.-P., EHRHARDT J.-D., FRITIG B., 1967. Sur la formation d'œstrone et d'œstradiol par les gonades de l'embryon de Poulet femelle cultivées *in vitro*. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. D*, **264**, 838-841.
- WENIGER J.-P., AKRAM H., REICHHART D., ZEIS A., 1974. Le rôle de l'hypophyse dans la sécrétion hormonale ovarienne chez l'embryon de Canard. *Arch. Anat. Hist. Embr.*, **57**, 283-288.
- WENIGER J.-P., CHOURAQUI J., ZEIS A., SAMSEL J., 1981a. Action anti-œstrogène du tamoxifène chez l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. III*, **292**, 927-928.
- WENIGER J.-P., SAMSEL J., ZEIS A., 1981b. Le tamoxifène contrecarre l'action féminisante des androgènes sur l'embryon de Poulet. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. III*, **293**, 451-452.
- WENIGER J.-P., CHOURAQUI J., ZEIS A., 1982. Sécrétion d'œstrogènes par l'ovaire d'embryon de Poulet traité par le tamoxifène. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. III*, **294**, 1025-1027.
- WENIGER J.-P., SAMSEL J., CHOURAQUI J., ZEIS A., 1983. Action du tamoxifène sur la féminisation du testicule embryonnaire de Poulet. *Ann. Endocrin.*, **44**, 139-142.
- WENIGER J.-P., CHOURAQUI J., ZEIS A., 1984. Le problème de la sécrétion de testostérone par le testicule embryonnaire de Poulet : nouvelles recherches. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **24**, 155-164.
- WENIGER J.-P., FAY L., CHOURAQUI J., ZEIS A., 1985a. Influence de la concentration des précurseurs dans la biosynthèse de la testostérone par le testicule embryonnaire de Poulet. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **25**, 591-598.
- WENIGER J.-P., VAULTIER J.-P., COUMAROS G., ZEIS A., 1985b. L'aminoglutéthimide, inhibiteur de l'aromatase de l'ovaire embryonnaire de Poulet. *C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. III*, **301**, 37-40.
- WOLFF Et., GINGLINGER A., 1935. Sur la transformation des Poulets mâles en intersexués par injection d'hormone femelle (folliculine) aux embryons. *Arch. Anat. Hist. Embr.*, **20**, 219-278.
- WOODS J. E., BRAZZILL D. M., 1981. Plasma 17β -estradiol levels in the chick embryo. *Gen. comp. Endocrinol.*, **44**, 37-43.
- WOODS J. E., RUTHERFORD J. E., THOMMES R. C., 1983. Functional development of the hypothalamic-adenohypophyseal-testicular (HAT) axis in the chick embryo. *Gen. comp. Endocrinol.*, **50**, 235-241.
-