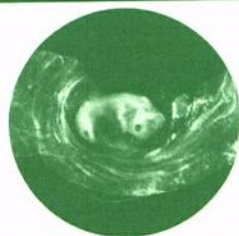
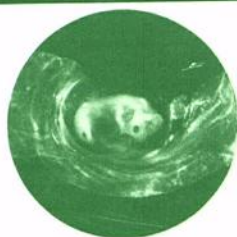
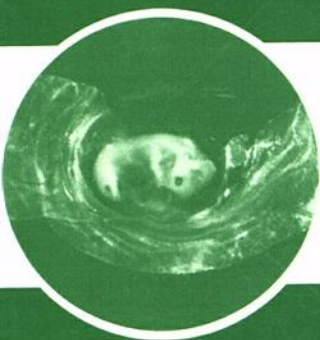


L'EMBRYON CHEZ L'HOMME ET L'ANIMAL



Coordinateur

J. MARTAL

Groupe Biologie
du Développement

SCIENCE UPDATE

Inserm

 **INRA**
EDITIONS

L'EMBRYON CHEZ L'HOMME ET L'ANIMAL

Coordinateur

J. MARTAL

Groupe Biologie du Développement

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

101, rue de Tolbiac,
75654 Paris cedex 13



Institut National de la Recherche Agronomique

147, rue de l'Université,
75338 Paris cedex 07

Éditeur

J. MARTAL
INRA - Unité de Physiologie animale
Domaine de Vilvert
78352 Jouy-en-Josas cedex, France

En vente

INRA Editions, RD 10
78026 Versailles Cedex, France
email : INRA-Editions@versailles.inra.fr

© INRA/INSERM, 2002 ISSN : 1159-554X ISBN INRA : 2-7380-0990-5
ISBN INSERM : 2-85598-804-7

© Le code de la propriété intellectuelle du 1er juillet 1992 interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique. Toute reproduction, partielle ou totale, du présent ouvrage est interdite sans autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20, rue des Grands-Augustins, Paris 6ème.

Sommaire

Préface	7
Avant-propos	11
Introduction	13

Première partie Biologie du développement précoce et Biotechnologies

1. HÉRÉDITÉ ÉPIGÉNÉTIQUE

Empreinte parentale : un exemple de l'hérédité épigénétique chez les mammifères <i>P. Valenza-Schaerly, A. Pàldi</i>	23
---	----

2. CONTRÔLE MATERNEL DES PREMIERS STADES DU DÉVELOPPEMENT

De l'ovocyte au zygote : la chorégraphie des protéines impliquées dans la maturation de la chromatine <i>O. Zatsepina, N. Beaujean, M. Chebrou, P. Debey, C. Bouniol-Baly</i>	35
--	----

3. TOTIPOTENCE CELLULAIRE ET DIFFÉRENCIATION

Les voies du LIF dans les cellules souches embryonnaires de souris (cellules ES) <i>H. Boeuf, D. Duval, B. Reinhardt, C. Kedinger</i>	45
--	----

Les cellules souches embryonnaires : un modèle pour étudier <i>in vitro</i> le développement précoce de la cellule adipeuse <i>N. Belmonte, C. Vernochet, J. Aubert, C. Iehlé, B. Phillips, B. Wdziekonski, P. Villageois, G. Ailhaud, C. Dani</i>	53
---	----

4. CLONAGE, TRANSGÈNE ET THÉRAPIE CELLULAIRE

Clonage, transgénèse et thérapie cellulaire <i>L.-M. Houdebine</i>	59
---	----

5. CLONAGE SOMATIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIE

Clonage et physiopathologies de la gestation associées <i>P. Chavatte-Palmer, Y. Heyman, J.-P. Renard</i>	77
--	----

6. THÉRAPIE CELLULAIRE

- Transplantation d'hépatocytes fœtaux de primate : un modèle préclinique
de thérapie cellulaire des maladies métaboliques hépatiques 89
*J.-E. Allain, D. Mahieu-Caputo, N. Loux, I. Dagher, G. Germain,
F. Bargy, M. Andreoletti, F. Capron, A. Weber*

Deuxième partie Embryogenèse, Morphogenèse et Organogenèse

7. L'EMBRYON ET LE TEMPS

- L'embryon et l'évolution 103
A. Adoutte

8. MORPHOGENÈSE

- Principales étapes de la morphogenèse de l'embryon péri-implantatoire
de brebis. Microscopie électronique à balayage 125
B. Fléchon

9. ORGANOGENÈSE

- Mécanismes de l'embryogenèse : formation du derme et des muscles
squelettiques des vertébrés étudiée par la méthode de chimères 133
souris-poulet
Y. Chéraud, G. Auda-Boucher, J. Fontaine-Pérus

- Origine commune des neurones et des cellules gliales : les cellules souches
de l'encéphale étudiées grâce au mosaïcisme de la séquence polyCAG 145
du gène associé à la chorée de Huntington
P. Kahlem, P. Djian

- Un nouvel allèle du gène "hairless" et la mise en place du tégument au cours
de l'embryogenèse chez la souris 151
M. Brancaz, S. Curtet, S. Nonchev

Troisième partie Physiologie et Immunologie de la relation mère-embryon

10. LE DIALOGUE MÈRE-EMBRYON

- Les interactions immuno-endocrines entre la mère et l'embryon 159
*J. Martal, N. Chêne, L. Huynh, S. Zourbas, C. Rogez, N. Charpentier,
P. Hermier, R. L'Haridon, M. Charlier, G. Chaouat, G. Germain*

11. PARADOXE IMMUNOLOGIQUE DU NON-REJET DU CONCEPTUS

Actualité sur la tolérance materno-fœtale

203

*G. Chaouat, S. Zourbas, S. Ostojic, G. Laprée-Delage, N. Ledée,
V. Mairowitz, V. Cayol, S. Dubanchet, J. Martal***12. PHYSIOLOGIE DES CIRCULATIONS PENDANT LA GROSSESSE**

Les circulations maternelle et fœtale

223

*P. Bonnin***Quatrième partie
Médecine de la Reproduction****13. FÉCONDATION *IN VITRO***

Fécondation assistée et amélioration de l'implantation

253

*S. Hamamah, F. Entezami***14. FIBROMES UTÉRINS ET RADIOLOGIE INTERVENTIONNELLE**Embolisation des fibromes utérins et fertilité. Importance
de la particule d'embolisation

267

*J.P. Pelage, J. Martal, W. Wassef, L. Huynh, N. Charpentier,
M. Bonneau, R. Rymer, J.-J. Merland, A. Laurent***Cinquième partie
Diagnostic génétique et bioéthique****15. TABLE RONDE**

275

*B. Sèle, M. Ben Khalifa, G. Tachdjian, I. Liebaers,
P.F. Ray, F. Reyat, S. Viville, C. Sureau, J. Testart***Liste des auteurs**

303

Index

309

Index des planches

PLANCHE I	(Chapitre 2, page 35)
PLANCHE II	(Chapitre 3, page 45)
PLANCHE III	(Chapitre 5, page 77)
PLANCHE IV	(Chapitre 6, page 89)
PLANCHE V	(Chapitre 6, page 89)
PLANCHE VI	(Chapitre 7, page 103)
PLANCHE VII	(Chapitre 7, page 103)
PLANCHE VIII	(Chapitre 9, page 133)
PLANCHE IX	(Chapitre 9, page 133)
PLANCHE X	(Chapitre 9, page 151)
PLANCHE XI	(Chapitre 9, page 151)
PLANCHE XII	(Chapitre 11, page 203)
PLANCHE XIII	(Chapitre 11, page 203)
PLANCHE XIV	(Chapitre 12, page 223)
PLANCHE XV	(Chapitre 12, page 223)
PLANCHE XVI	(Chapitre 14, page 267)

Préface

L'embryon, discorde et transgression

C. SUREAU

Président Honoraire de l'Académie Nationale de Médecine

Depuis que l'Homme s'est affranchi des contraintes de la quadrupédie, qu'en libérant sa main et en acquérant l'extension isolée de l'index, il a accédé au monde des concepts, de la culture et des symboles, il s'interroge sur son origine et son destin, tente de se situer par rapport aux êtres qui l'entourent, cherche à pénétrer le mystère de la reproduction et de sa procréation.

Très tôt, il a perçu, intuitivement, sa position particulière, sinon toujours privilégiée et à ce "quelque chose" qui fait la différence il donna le nom d'âme. Très tôt également, avant même de s'aviser que l'ontogenèse reproduisait morphologiquement certains aspects de la phylogénèse, il admit que ce concept d'animation pouvait évoluer progressivement au cours de la gestation et à la suite d'Aristote envisagea une ontogenèse de l'âme correspondant à celle du corps. Ce parallélisme ontogénétique est toujours au cœur de nos débats.

Les religions monothéistes apportèrent des éléments, non d'information, mais de réflexion, supplémentaires, fondés sur la Révélation ; dès le début, elles furent à l'origine de prises de positions dogmatiques dont l'influence, quoi qu'on en dise, a durablement imprégné notre philosophie de la vie, même "sécularisée" au sein d'une société pluraliste. Il suffit pour s'en convaincre de se référer à la phrase essentielle de Tertullien au III^e siècle : "*homo est qui venturus est*", dont on peut penser qu'elle est directement traduite dans les articles 1 de la loi de 1975 et 2 de la loi 653 de 1994 (art. 16 du Code Civil).

Ce qui manquait alors et manqua pendant longtemps, c'est l'observation directe, humaine et même animale. Puis lentement, progressivement, la science, poussée par le démon de la connaissance, élucida les mécanismes complexes de l'ovulation, de la fécondation, et de l'implantation, qui constituent précisément l'essence de cet ouvrage.

Il est intéressant de jeter un regard sur certains de ceux qui l'ont précédé : par exemple, l' "*Embryologie en quelques leçons*" de Ch. Debierre en 1902, il y a seulement un siècle, avec ses excellents dessins fondés sur l'observation d'amphibiens ; et déjà en 1912, le passage à l'observation humaine, donc à la transgression, avec la "*Contribution à l'étude de la nidation de l'œuf humain*" de Fr. Delporte et ses coupes saisissantes d'implantation obtenues à l'occasion d'interruptions de grossesse ; un degré de plus dans la transgression est observé à la lecture des diverses éditions depuis 1945 du Hamilton et Boyd ; les audacieux documents empruntés à Hertig et Rock et à la collection de la Carnegie Institution of Washington

rèvent ainsi l'anatomie des stades précoces du développement de l'embryon migratoire jusqu'à celle du célèbre œuf implanté de 7,5 jours.

Jusque là, il s'agissait seulement de connaître et de comprendre ; or ce regard indiscret porté sur l'embryon humain et ses premiers contacts avec l'organisme maternel représente déjà une forme majeure de transgression. Mais un tel mouvement ne saurait s'arrêter ; à l'observation succède l'action, l'action sur l'œuf humain, et c'est "*Ovum Humanum*" de Landrum B. Shettles en 1960, avec ses admirables photographies princeps de fécondation humaine *in vitro*. Les conséquences professionnelles en furent lourdes pour Shettles, comme pour son chef de service du Columbia Presbyterian Medical Center, R. Van de Wiele.

A l'inverse, après des années d'efforts et de recherches, Steptoe et Edwards acquirent avec la naissance de Louise Brown, en 1978, une réputation internationale méritée et la reconnaissance de milliers de couples infertiles ; mais ces succès conduisent aujourd'hui volontiers à oublier les transgressions majeures dont ils furent directement responsables : les recherches menées sur les embryons humains et la création d'embryons pour la recherche, puisque certains de ces embryons ne furent volontairement pas implantés. Il en fut de même pour les avancées ultérieures, qu'il s'agisse de la cryopréservation embryonnaire que bien des juristes français rêvent d'interdire, ou de cette ICSI dont ses détracteurs ne se consolent pas du succès.

A contempler l'évolution foudroyante de ces dernières années, bien révélée par les divers chapitres de cet ouvrage, on ne peut s'empêcher de poser quelques questions, à l'origine de réponses divergentes, voire opposées, de la part des biologistes et praticiens, des juristes et des politiques, des philosophes et des théologiens et tout simplement de la société civile.

La science et la médecine, les scientifiques et les praticiens, ont-ils eu raison de privilégier ainsi l'utilitarisme, avec ses effets bénéfiques immédiats, pas pour tous certes, mais pour un grand nombre, ce que, depuis le Rapport Belmont, on groupe sous le terme de Bienfaisance ? Et cela au détriment de ce que certains considèrent, à tort ou à raison, comme intangible, le respect dû à l'embryon, le tabou de son instrumentalisation, irrémédiablement attentatoire à la dignité humaine.

B. Mathieu a récemment écrit¹ : "Il est tout à fait possible de défendre une vision utilitariste de l'être humain qui justifie le sacrifice de l'embryon dans l'intérêt de la collectivité. Il convient seulement de reconnaître que ce choix est incompatible avec la reconnaissance d'une quelconque dignité à l'embryon humain. La réglementation de la recherche sur l'embryon engage la société sur l'une ou l'autre de ces voies."

Cette phrase est d'actualité à un moment où l'on s'interroge sur la légitimité d'une recherche conduisant à l'utilisation thérapeutique de cellules embryonnaires, mais elle était déjà valable il y a 30 ou 40 ans au temps de Shettles et d'Edwards, et pourtant nos sociétés, et leurs membres les plus attachés au respect de la dignité humaine, acceptent aujourd'hui avec reconnaissance les fruits de ces transgressions.

Le problème capital, qu'il convient d'aborder avec sérénité, en évitant imprécations et anathèmes, est de réussir à harmoniser une "éthique de conviction", infiniment respectable et une "éthique de responsabilité", en particulier vis-à-vis des générations futures. Or, celles-ci

¹ "Les droits fondamentaux : les contraintes (?) du droit international et du droit constitutionnel". Dans *La recherche sur l'embryon : qualifications et enjeux*. Numéro spécial, Revue de droit médical, Les Etudes Hospitalières, Bordeaux, 2000.

ont certes droit d'abord à la protection de leur sécurité sanitaire, mais aussi à bénéficier des progrès des recherches actuelles.

Certaines sont évoquées dans cet ouvrage, elles concernent, pour n'en citer que quelques unes, l'épigénèse, l'hérédité extra-génomique, l'empreinte parentale, le rôle des mitochondries et les relations nucléo-cytoplasmiques, les cellules ES ou EG, la transgénèse et le clonage, la transdifférenciation, l'établissement des relations fœto-maternelles, parfois conflictuelles aussi bien éthiquement que biologiquement.

Toutes ces avenues du savoir sont *a priori* légitimes et nous ignorons celles qui seront fécondes.

Or des voix s'élèvent qui, à juste titre, mettent en garde contre dérives et délires, prolongeant ainsi le plaidoyer de Hans Jonas en faveur de "l'heuristique de la peur" : il est en particulier un avertissement légitimement récurrent, celui du risque d'eugénisme. La réalité de celui-ci est certaine, mais réside peut-être moins dans les conséquences des progrès de la biologie, que dans l'interventionnisme débridé de l'Etat en matière de procréation humaine. N'oublions pas que les grandes dérives eugéniques du XX^e siècle ont tiré leur origine non de l'évolution concrète des connaissances scientifiques, mais de leur interprétation fallacieuse et plus encore des considérations idéologiques et politiques qui y furent associées. Or, l'eugénisme qui risque d'apparaître au XXI^e siècle, qui apparaît déjà aujourd'hui, est essentiellement un eugénisme économique, c'est-à-dire dans nos pays de "*welfare state*" régulé par l'Etat. On peut légitimement redouter que son interventionnisme en procréation assistée ne conduise un jour au même interventionnisme dans le cadre de la procréation naturelle. Divers exemples géopolitiques nous démontrent la réalité de ce risque.

C'est dire la responsabilité de la société dans son ensemble, mais au premier rang des biologistes et des cliniciens.

Leurs divergences, voire leurs disputes, sont saines. Ils doivent définir eux-mêmes où ils désirent et où ils ne désirent pas aller. Il leur faut, surtout, promouvoir la transparence de leurs recherches, depuis leur initiation jusqu'à leurs conséquences, même lointaines. Ce livre y contribuera.

La plupart se refusent, à juste titre, au clonage reproductif, non en raison d'une hypothétique transgression de la dignité de l'homme mais, beaucoup plus concrètement, de ses risques médicaux et de la redoutable liberté qu'il conduirait à prendre avec les relations intergénérationnelles.

Mais faut-il, au nom du respect de la dignité de l'embryon humain, interdire le recours thérapeutique à des lignées cellulaires, quelle qu'en soit l'origine (embryonnaire, somatique par transfert nucléaire, ou transdifférenciée) ? Faut-il, une fois encore, choisir entre l'utilitarisme instrumentalisant et la valeur transcendante de l'être "qui sera un homme", c'est-à-dire entre la bienfaisance espérée et la dignité supposée ? C'est là affaire de conscience et de référence personnelles et non de respect de l'Ordre Public et des bonnes mœurs.

Libre à ceux qui préfèrent la deuxième attitude de ne pas y participer et de récuser pour eux et leurs familles les bénéfices éventuels de ces hypothétiques progrès. D'autres, au contraire, s'orienteront vers le pragmatisme, qu'il s'agisse des recherches destinées à traiter des affections redoutables, de celles dirigées vers l'amélioration de la PMA, la congélation ovocytaire par exemple, ou, objectif plus important encore et très constamment négligé, vers la prévention des trop nombreux accidents de la procréation naturelle, c'est-à-dire suivant l'expression de G. David vers une "médecine de l'embryon". Est-il inévitable de tolérer de

tels accidents, fausses-couches, grossesses extra-utérines, malformations ? Est-il, à l'inverse, admissible de sacrifier, dans le cadre de telles recherches, des embryons vivants, issus de PMA ou de clonage, pour prévenir peut-être demain des morts et des malformations embryonnaires, ou doit-on continuer à dépister ces dernières et à éliminer par DPN ou DPI les êtres affectés ?

L'opposition doctrinale, si exactement traduite par la phrase citée plus haut, ne comporte-t-elle aucun espoir de consensus ? Ne faut-il pas reconnaître qu'elle révèle simplement l'incapacité conceptuelle de certains à admettre l'existence d'une entité embryofœtale, méritant attention et respect spécifiques, et évolutive en fonction du déroulement de la grossesse, entité différente de celles héritées du Droit romain qui distinguait seulement les personnes et les choses et les esclaves...

Ce livre souligne la nécessité d'une telle évolution des mentalités et y contribuera sans aucun doute, illustrant et renouvelant le sens de la phrase inscrite au frontispice de l'amphithéâtre d'anatomie de Bologne : "Ici la mort se réjouit de venir en aide à la vie".

Avant-propos

P. FERRÉ

Ce livre fait suite au Congrès "Embryon 2000" organisé en mai 2000 par le Groupe Biologie du Développement et plus particulièrement par son président en exercice, Jacques Martal. Le Groupe Biologie du Développement rassemble au-delà des clivages habituels et en dehors des sociétés savantes classiques des chercheurs appartenant à des organismes différents (INRA, INSERM, CNRS, Université) et à des disciplines variées (physiologie, spécialiste de la reproduction, virologie, biologie cellulaire, myologie...) réunis par un intérêt pour le développement, mais aussi par une insatiable curiosité et de solides sympathies. Le Congrès "Embryon 2000" fut à l'image de ce groupe, "interdisciplinaire" pour employer un mot à la mode, mais il fut surtout - à travers cette diversité - une source d'étonnement et d'enrichissement.

Il nous est alors venu à l'idée de rassembler au sein d'un ouvrage les contributions des spécialistes intervenus lors de ces journées. Ouvrage atypique qui va bien au-delà de simples actes de congrès puisqu'on y parle aussi bien d'évolution, de gènes organisateurs du développement, de clonage, de transgénèse, de cellules totipotentes, d'éthique, d'embryon, de diagnostic préimplantatoire, de facteurs épigénétiques, etc.

Après l'avoir lu, vous pourrez comme nous vous interroger :

Pourquoi la nature a-t-elle choisi dans de très nombreux cas la voie de la complexité en inventant des organismes de plus en plus sophistiqués (au moins dans leur organisation !) en contradiction avec la deuxième loi de la thermodynamique ?

Pourra-t-on bientôt mimer la prochaine bouffée évolutive dans les laboratoires en dupliquant certains gènes Hox (des doigts au bout des doigts, un cerveau surnuméraire, etc.) ?

Qui découvrira (un biologiste, un mathématicien ?) comment la nature arrive, en partant d'une information linéaire semblable (l'ADN de jumeaux) et malgré la présence de systèmes intermédiaires hautement non-linéaires (les millions de cellules en interaction), à réaliser des structures tridimensionnelles parfaitement identiques par leur taille et leur forme ?

Comment un œuf fécondé dont on enlève le noyau pour le remplacer par un autre (clonage), comment un embryon à qui l'on retire une cellule à un stade où il n'en a que huit (diagnostic préimplantatoire) ou à qui l'on rajoute quelques centaines de cellules totipotentes surnuméraires (transgénèse) et sur lequel on exerce des contraintes thermiques (congélation), mécaniques, hormonales, arrive-t-il malgré tout à aboutir à un développement normal ? Est-on parfaitement sûr à long terme de cette normalité ?

Existe-t-il une programmation épigénétique *in utero* ? En d'autres termes, l'environnement maternel intervient-il dans notre destin biologique ?

Le diagnostic préimplantatoire est-il la porte ouverte à un nouvel eugénisme ?

Quelle est notre responsabilité en tant que chercheur (ou plutôt découvreur) lorsque nous ouvrons une boîte de Pandore ? Serons-nous condamnés, tel Prométhée, pour avoir volé le feu divin, à ce qu'un aigle vienne nous dévorer le foie ? Rappelons-nous que le foie a cette propriété étrange : il se régénère pour prolonger notre supplice !

Introduction

J. MARTAL

Le *Groupe de Biologie du Développement* (GBD) a été fondé en 1974 par une dizaine de jeunes chercheurs de l'INRA. Il s'est ensuite ouvert aux autres organismes de la recherche et ses membres appartiennent aujourd'hui à l'INSERM, au CNRS, à la Faculté de Médecine, à l'Université et aux Grandes Ecoles de Biologie. Ce groupe, dont le Président est élu tous les deux ans, organise une réunion scientifique bisannuelle sur un thème d'actualité en relation avec "le développement des structures, organes, tissus et fonctions dans le règne animal". Ces réunions ont traité de thèmes variés tels que le tissu musculaire, le tissu adipeux, le système nerveux, les acides gras, la croissance fœtale, la manipulation du génome eucaryote, la multiplication, différenciation et transformation cellulaire, etc.

A la fin du II^e millénaire, le thème "*Embryon 2000. Biologie du développement, biotechnologies et médecine de la reproduction*" a été choisi à l'initiative du Président du GBD. Une approche volontairement transdisciplinaire partait de la biologie du développement la plus fondamentale en passant par les applications biotechnologiques du clonage, de la transgénèse, de la thérapie cellulaire pour finir par le dialogue mère-embryon, la procréation médicalement assistée et une table ronde d'actualité sur le diagnostic génétique préimplantatoire (DPI).

Ce 20^e colloque du GBD a eu lieu au "Carré des Sciences" du MENRT (ministère de l'Éducation nationale, de la Recherche et de la Technologie). Il bénéficia de nombreux soutiens et de l'aide particulière de M. Claude Valin, Directeur scientifique à l'INRA. *M. le Professeur François Jacob, Prix Nobel de Biologie et de Médecine* et spécialiste de génétique du développement nous a honoré de sa présence assidue, ainsi que *M. le Professeur Claude Sureau, Président honoraire de l'Académie nationale de Médecine*, qui est abondamment intervenu dans les débats. Des spécialistes, de niveau international, de biologie du développement, des biotechnologies humaines et animales, de physiologie et d'immunologie de la grossesse, de génétique et de médecine de la reproduction se sont confrontés aux progrès fulgurants des disciplines voisines.

L'intérêt des nombreux thèmes abordés et l'enthousiasme des participants nous a conduits à prolonger cette rencontre exceptionnelle autour de l'Embryon, en approfondissant et concrétisant nos connaissances et nos réflexions par la *réalisation de cet ouvrage original de biologie intégrée*.

Il rassemble la participation de plus de 70 auteurs éminents qui, malgré leurs multiples activités de *cliniciens, d'enseignants* et de *chercheurs*, ont bien voulu nous apporter leur précieuse contribution. Qu'ils en soient chaleureusement remerciés !

Nous tenons tout particulièrement à exprimer notre profonde gratitude à Marie-Elisabeth Marmillod qui a d'abord assuré toute la coordination du colloque pendant des mois puis la réalisation du travail éditorial de cet ouvrage. Elle y a apporté un goût, une précision et un dévouement extraordinaires. Nous voulons encore vivement remercier les amis et collègues qui nous ont abondamment assistés dans cette entreprise : ceux du GBD, Nicole Chêne, Pascal Dieudonné, Christian Poirier, Guy Germain, Louis Huynh, Nicole Charpentier, Philippe Bonnin, ainsi que tous ceux que nous ne pouvons nommer personnellement, mais qui se reconnaîtront.

Cet ouvrage de synthèse, sans vouloir être exhaustif, fait le point de nos connaissances sur l'Embryon à l'aube du 3^e millénaire. Ce volume de "Science update", coédité par l'INSERM et l'INRA dépasse largement un classique compte rendu de congrès. Des chapitres originaux ont été ajoutés. Leur rédaction a permis aux auteurs d'approfondir et d'élargir leurs propos, de mieux les argumenter grâce à l'espace qui leur était proposé. Une importante bibliographie a pu être jointe. Des illustrations en couleur ont enrichi une abondante iconographie. Nous avons tenu à retranscrire les échanges de la table ronde sur le DPI où Science et Ethique se confrontaient.

Au moment où philosophes, journalistes, politiques, théologiens, juristes, médecins, biologistes, psychanalystes, etc. ont fait de *l'Embryon le sujet de multiples débats de société*, il nous est apparu utile d'apporter une contribution écrite du monde scientifique, spécialisé en la matière. La grande *presse* s'est emparée du sujet et interpelle la Société par des nouvelles, des scénarios et projections fracassantes. Chercheurs et médecins sont quelque peu embarrassés de répondre en quelques mots à des questions complexes. Les *scientifiques* répugnent aux réponses simplistes. Leurs convictions éthiques sont non moins présentes. Sous des discussions courtoises, des tempéraments vifs s'affrontent. Leur désir de servir les autres est assez général. Leurs divergences proviennent souvent de différences d'appréhension des mêmes problèmes à travers des caractères plus ou moins optimistes. Elles proviennent aussi du degré de prospective auquel chacun s'accorde. Les *scientifiques* veulent entrer dans la complexité des choses. En effet, certaines avancées spectaculaires peuvent être dangereuses, voire inquiétantes. Ils pensent que ce n'est pas vraiment la connaissance qui est dangereuse, mais ses applications. Ils craignent davantage l'obscurantisme, la mauvaise foi, les ambitions, la technocratie, le pouvoir excessif de l'argent et de l'administration. Ils considèrent légitimes les débats de société et les garde-fous juridiques, mais ils craignent aussi les esprits psychorigides capables de paralyser les futures avancées de la science. C'est là leurs problèmes et leurs contradictions, leurs doutes et leurs convictions. Le médecin praticien, quant à lui, est pressé par les demandes urgentes des patients.

Maintenant, qu'est-ce que l'Embryon ?

La couverture est illustrée par un embryon ovin âgé de 25 jours, observé à la loupe binoculaire : embryon dans son amnios dégagé de son enveloppe, le trophoblaste. Par transparence, à ce stade, on peut aisément observer le foie et le cœur.

Le chapitre sur la morphogenèse montre divers stades de développement d'un embryon ovin observés à l'aide de la microscopie électronique à balayage. La planche de Haeckel, dans le chapitre "L'embryon et l'évolution" montre l'anatomie comparée des embryons de vertébrés.

Les *embryologistes* parlent d'un *œuf segmenté* en 2, 4, 8, 16, ... cellules, de *morula* ou petite mûre étymologiquement ou ensemble de cellules appelées blastomères. Ces cellules

sont totipotentes ou multipotentes selon leur degré de différenciation et leur aptitude à redonner un organisme entier. Les blastomères sécrètent un liquide qui constitue le blastocoèle et définit le *blastocyste*. Les blastomères périphériques vont former le trophoctoderme primitif, les autres constituent la masse cellulaire interne (MCI) ou bouton embryonnaire. La MCI donne le véritable embryon aux organes plus ou moins constitués. Quand l'organogenèse de l'embryon est achevée, on parle alors de fœtus d'après les anatomistes. Il grandit et on assiste tout au long de la gestation à une maturation progressive des fonctions physiologiques, par exemple le fonctionnement du complexe hypothalamo-hypophysaire. Le trophoctoderme primitif donne les enveloppes embryonnaires dont l'amnios, l'allantoïde et surtout le *trophoblaste* ou *placenta*, encore désigné chorion. Dans cette terminologie, on réserve le terme d'embryon aux stades différenciés de la masse cellulaire interne ou embryogenèse proprement dite. Cette brève terminologie de base présente l'énorme avantage de la précision du stade de développement considéré. C'est pourquoi elle est conservée par les biologistes - en général - et les biologistes du développement en particulier. Il est bien évident que ce livre ne prétend pas se substituer aux magnifiques planches ou schémas d'embryologie ou aux traités de biologie du développement, d'Evolution, de génétique ou de physiologie. Dans un langage que l'on a voulu accessible, ce sont diverses facettes disciplinaires de l'embryon que nous proposons, avec une bibliographie conciliant, autant que possible, des références majeures d'articles de synthèse et des articles correspondant à des données très récentes.

La terminologie de l'embryon a largement dérivé sous l'influence des *praticiens de la procréation médicalement assistée*, depuis les résultats spectaculaires et le développement de la fécondation *in vitro* (FIV). La première FIV avec transfert embryonnaire a été réalisée en 1959 chez le lapin par Charles Thibault, à la Station de Physiologie animale, à l'INRA de Jouy-en-Josas. Vingt ans plus tard, à la suite des premiers "bébés-éprouvettes" obtenus en 1978 par Robert Edwards en Angleterre, puis par Jacques Testart et René Frydman en France, cette nouvelle biotechnologie a pris réellement son essor dans l'espèce humaine. Le *produit de conception est dès lors appelé "embryon"* au sens étymologique d'"organisme en voie de développement". *Chez l'homme, on conserve ce terme durant les trois premiers mois de grossesse.* L'ovule fécondé *in vitro* est en général cultivé pendant 48 h jusqu'au stade 4 cellules. La culture peut être prolongée *in vitro* quelques jours, notamment pour pratiquer les techniques de DPI à partir de blastomères. On est toujours partagé entre le désir de mieux apprécier l'embryon à transplanter et de bien le cultiver et celui de ne pas l'altérer dans les conditions *in vitro*. On compte aujourd'hui en France environ 30 000 bébés obtenus chaque année par FIV. Le vocabulaire de la FIVETE (FIV et transfert embryonnaire) s'est largement vulgarisé et l'on parle donc d'embryons dès l'ovule fécondé.

Depuis le succès de la FIV, *juristes, théologiens, philosophes* et même *politiques* se mettent à définir ce qu'est un embryon. Il s'ensuit une certaine confusion terminologique. On a même parlé de "grumeaux de cellules" pour justifier le clonage non reproductif à partir des cellules pluripotentes de la masse cellulaire interne. Certains définissent systématiquement tout embryon humain comme une "*personne*", même pas potentielle. Il devient sacré dès le début de la conception. D'autres considèrent que l'embryon humain n'est *une personne que s'il y a désir d'enfant*, sinon c'est un "grumeau de cellules", plus ou moins constitué (*Le Monde des débats*, juin 1999). Les définitions des juristes varient selon les lois qui changent les époques, les pays et les desseins médicaux du moment.

Il existe encore l'*embryon "abandonné"*, congelé dans un réservoir d'azote liquide, selon que les parents sont ou non "preneurs" pour une nouvelle tentative de grossesse. Des parents comblés se détachent de cet enfant en puissance, d'autres le revendiquent. Ces embryons

congelés depuis plus de cinq ans sont source de "crime", de "délit" ou de "gaspillage" selon le point de vue considéré. Certains les revendiquent pour la science médicale.

Il existe en fait un large consensus pour la nécessité de règles, cela a été le but des lois de Bioéthique, mais certains en veulent le moins possible. Rappelons que les biologistes de la reproduction ont été les premiers à réclamer la création d'un *Comité d'Ethique* national à la suite des expérimentations de transgénèse sur les souris géantes du groupe de Palmiter et Brinster, en 1982 (*Nature*, 300, 611-615) et des demandes d'utilisation en médecine humaine des biotechnologies animales pratiquées déjà alors couramment pour la conservation des embryons bovins.

L'obtention d'une petite fille de nationalité australienne à partir d'un embryon congelé ouvrit la porte à la pratique de la transposition de la méthode de congélation des embryons bovins aux embryons humains.

Cet ouvrage a été divisé en cinq parties : les trois premières concernent essentiellement l'embryon précoce, son embryogenèse et ses relations avec la mère, les deux dernières la médecine de la reproduction, la génétique et la bioéthique. Les biotechnologies de l'embryon telles que le clonage, la transgénèse et la thérapie cellulaire ont été réunies dans la première partie.

La biologie du développement précoce concerne essentiellement l'embryon au stade de l'œuf fécondé, de morula, de blastocyste et de cellules pluripotentes de la masse cellulaire interne. C'est précisément à ces stades qu'ont lieu les principales manipulations nucléaires et cellulaires.

Nous avons beaucoup tenu à traiter des relations de la *génétique* et de l'*épigénétique* en raison des nombreux débats actuels sur l'influence du milieu dans le contrôle de l'hérédité et dans les radiations adaptatives au cours de l'évolution. L'exemple de l'empreinte parentale est à ce titre tout à fait éclairant. L'hérédité épigénétique joue-t-elle un rôle clé dans le développement des individus, dans leur adaptation au milieu, dans l'évolution ?

Comment un gène peut-il changer d'état d'activité ? Ce changement d'état d'activité peut-il être transmis au cours des mitoses ? et des méioses ? Autrement dit, comment des variations de milieu peuvent-elles influencer l'hérédité ?

L'hérédité épigénétique peut être définie comme l'héritabilité indépendante de la séquence de l'ADN. Quels sont les mécanismes moléculaires susceptibles d'être mis en jeu ?

La méthylation de cytosines de l'ADN et l'acétylation d'histones ont été décrites. L'empreinte parentale paternelle ou maternelle peut affecter par méthylation certains allèles entraînant le blocage de leur fonction. De nombreux gènes susceptibles de subir l'empreinte parentale sont aujourd'hui connus. Tous les systèmes de régulation de la cellule peuvent être affectés : des hormones (insuline), des facteurs de croissance (IGFII), des récepteurs (R-IGFII), des facteurs de transduction (protéine G), des canaux ioniques (K^+), des facteurs de transcription (NFkB, les protéines à doigt de zinc). La cellule semble considérer les deux allèles d'un même gène comme deux gènes différents lors de l'empreinte parentale.

De petites variations d'amplitude et de fréquence de stimulations calciques au cours de la première heure suivant l'activation de l'ovocyte de lapin après fécondation peuvent influencer de façon heureuse ou dramatique le développement embryonnaire. Les conséquences peuvent être plus tardives : citons le doublement des taux d'implantation et de gestation. Les mécanismes moléculaires de l'hérédité épigénétique nous apportent donc de nouvelles voies de compréhension des mécanismes adaptatifs au milieu.

Un autre débat d'importance concerne les *mécanismes d'activation de l'ovocyte fécondé*. On sait depuis un certain temps que le génome embryonnaire n'est pas

instantanément activé après la fusion des pronoyaux mâle et femelle. Il est activé aux stades I cellule chez la souris et le lapin, 2-4 cellules dans d'autres espèces. Mais la transcription des ARNm maternels et la traduction des ARNm déjà présents dans l'ovocyte sont très précocement stimulées par la fécondation. La dissection de ces mécanismes d'interactions noyau-cytoplasme nécessite des marqueurs parfaitement caractérisés pour comprendre la "chorégraphie" de la machinerie transcriptionnelle maternelle. Ces régulations conditionnent l'aptitude des ovocytes au développement embryonnaire. A l'heure des clonages embryonnaire et somatique, les mécanismes de la différenciation d'un noyau sont largement posés, de même ceux de la *totipotence* et de la *différenciation* par la thérapie cellulaire. Les voies cellulaires du LIF dans les cellules souches embryonnaires et la différenciation d'une cellule très étudiée comme la cellule adipeuse sont de bons exemples à portée générale.

Le clonage embryonnaire commence à être bien connu. Il nous est apparu intéressant de nous concentrer sur les *conséquences physiopathologiques du clonage somatique*. Ce dernier permet aussi d'illustrer les nombreuses difficultés techniques potentielles d'un clonage somatique humain, ce qui renforce la désapprobation éthique générale. Il permet de mieux comprendre certaines pathologies et démontre aussi combien nous maîtrisons mal cette redifférenciation du noyau des cellules somatiques animales.

Un chapitre sur les interactions entre les biotechnologies du *clonage*, de la *transgénèse* et de la *thérapie cellulaire* fait mieux comprendre la complémentarité des diverses stratégies. Un exemple de thérapie cellulaire, à travers la transplantation d'hépatocytes fœtaux chez le singe, permet d'appréhender les nombreuses difficultés de ce type de modèle préclinique et de la double stratégie des transferts de gènes et de cellules.

Dans la deuxième partie, nous avons voulu traiter de *l'embryon à travers le temps de l'évolution et celui du développement*. La *biologie évolutive du développement*, encore appelée familièrement par les Anglo-saxons "Evo-Dévo", réalise tout l'intérêt d'une approche transdisciplinaire de la génétique, de l'embryologie, de la systématique et de la biologie évolutive. Sur la base de la phylogénie moléculaire, les arbres phylogénétiques doivent être sensiblement revus. L'extraordinaire conservation des gènes de développement, comme les gènes Hox, s'étend à tous les *Bilateria* : aux mollusques, aux vers, aux arthropodes et aux vertébrés tels que la souris et l'homme. Ceux-ci possèdent des complexes de gènes Hox extrêmement similaires à ceux de la drosophile dans le nombre et la disposition. "Que les gènes mettant en place le corps d'un être humain puissent être les mêmes que ceux installant le corps d'une mouche, voilà qui était proprement impensable ! Impensable que des processus aussi différents que ceux intervenant dans le développement de ces deux organismes fussent sous-tendus par une même armature génétique !" (F. Jacob, 1997). Deux grandes catégories de gènes de développement ont été identifiés par criblages génétiques chez la drosophile, le xénope, la souris, etc. La première correspond à des régulateurs transcriptionnels : protéines à homéoboîte, à doigt de zinc, à motif hélice-boucle-hélice, récepteurs nucléaires aux stéroïdes, etc. La seconde correspond aux signaux intercellulaires comme des facteurs de croissance tels que la famille du TGF- β , des facteurs de transduction ou des récepteurs membranaires. La "forme" n'est pas codée, mais il existe des réseaux très anciens au plan évolutif : "un ensemble d'interactions géniques et de systèmes d'information conduisant à la mise en route de programmes cellulaires spécifiques au bon emplacement et au bon moment". "Comment peut-on générer tant de diversité avec les mêmes éléments ?" est également discuté par A. Adoutte.

"Il semble beaucoup plus aisé, au plan moléculaire, de jouer sur la régulation de l'expression d'un gène, en modifiant discrètement son promoteur que de changer sa partie codante".

Le développement spatio-temporel de l'embryon ovin est illustré par les photos en microscopie électronique à balayage du 12^e au 23^e jour de gestation, durant la période péri-implantatoire. Le bouton embryonnaire est clairement visible, ainsi que la ligne primitive, la gouttière neurale, les arcs viscéraux séparés par des fentes assimilées en embryologie comparée aux fentes branchiales des poissons. L' "origine" aquatique des mammifères est retrouvée dans la vie aquatique de l'embryon entouré par l'amnios : "l'ontogénie récapitule la phylogénie", du moins grossièrement. Les courbures de l'embryon sur son axe antéro-postérieur, les somites, les bourgeons des membres antérieurs et postérieurs peuvent être observés, etc.

Les mécanismes de l'embryogenèse : la formation du derme et des muscles squelettiques des vertébrés sont étudiés par la méthode de chimères souris-poulet. La greffe dans l'œuf de poulet fournit un environnement convenable au développement des cellules de souris. Les systèmes de signalisation apparaissent clairement communs aux deux espèces.

L'origine des cellules de l'encéphale a pu être recherchée par l'analyse du mosaïcisme d'un gène associé à une maladie neurodégénérative, la chorée d'Huntington. Cette approche moléculaire a démontré l'origine commune des neurones et des cellules gliales du cerveau. Une approche originale des *mécanismes moléculaires de la mise en place de l'épiderme et du follicule pileux dans l'embryon* est apportée par l'étude d'un allèle du gène "hairless". Ce gène code pour un facteur de transcription à doigt de zinc, exprimé dans les follicules pileux, dans l'épiderme et dans le cerveau. Il existe une remarquable conservation de ce gène (85 %) au cours de l'évolution entre le rat et l'humain. Les différentes formes alléliques chez la souris présentent des différences morphologiques non négligeables. La formation de milliers de placodes en quelques jours au niveau de l'épiderme embryonnaire suggère un contrôle moléculaire et cellulaire précis. Dans ce type de modèle, on peut réaliser des transfections de gènes par un canon à gènes, comme chez les végétaux. On peut ainsi tester de multiples constructions de facteurs de régulation potentiels.

Dans une troisième partie, la physiologie et l'immunologie de la relation mère-embryon sont approfondies.

Le dialogue mère-embryon correspond aux interactions immunoendocrines entre l'embryon et la mère. De multiples messages interviennent à des phases critiques précises. Les phases clés de mortalité embryonnaire et fœtale sont analysées. L'endocrinologie comparée des diverses stratégies des *mécanismes de reconnaissance maternelle de la gestation* est décrite chez la femme et dans de nombreuses espèces. La diversité de ces mécanismes d'adaptation à la gestation est étonnante. De nombreuses hormones sont impliquées : d'abord la progestérone qui est indispensable à toute gestation, ensuite la balance des prostaglandines lutéolytique-F2 α et lutéotrophique E2, les hormones hypophysaires LH et prolactine, les hormones placentaires CG, PL, des hormones ovariennes, l'œstradiol, l'ocytocine d'origine lutéale ou endométriale (selon les espèces), des facteurs embryonnaires comme les oestrogènes, les prostaglandines, les interférons (IFN). L'IFN- τ , signal de reconnaissance de la gestation, est particulièrement détaillé en raison de sa valeur exemplaire à bien des égards.

Le paradoxe immunologique du non rejet du conceptus, en dépit de sa nature de semi-allogreffe, est examiné à la lumière des diverses théories immunologiques successives, mais non exclusives : la barrière neutre, l'équilibre Th1/Th2, les NK, les lymphocytes T CD4 et CD8, les cytokines d'origine endométriale et trophoblastique. Le contrôle de la tolérance materno-fœtale fait appel à de nombreux mécanismes cellulaires et moléculaires qui