Zeitschrift: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

Herausgeber: Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Band: 22 (1966)

Artikel: Réaction provoquées chez l'embryon par deux antimétabolites chimiquement voisins

Autor: Tuchmann-Duplessis, H. / Mercier-Parot, L.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-307644

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 01.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

C.D.: 616.012:615.7:591.39:599.735

Laboratoire d'Embryologie, Faculté de Médecine, Paris

Réactions provoquées chez l'embryon par deux antimétabolites chimiquement voisins

H. Tuchmann-Duplessis et L. Mercier-Parot

La plupart des substances utilisées dans le traitement des tumeurs malignes, en particulier les antimétabolites, sont nocives pour l'embryon. Elles peuvent le tuer ou déterminer des malformations.

Bien que le mécanisme d'action des antitumoraux sur la division cellulaire reste encore controversé: inhibition compétitive à l'égard d'un constituant normal, modification d'une réaction enzymatique, arrêt ou ralentissement de la synthèse des acides nucléiques, on admet généralement que l'effet tératogène est lié aux propriétés antitumorales.

Les observations que nous venons de faire avec deux antagonistes des purines, la 6-mercaptopurine et l'azathioprine montrent que les propriétés antitumorales et tératogènes peuvent être dissociées.

Nous examinerons d'abord les résultats obtenus d'une part avec la 6-mercaptopurine, d'autre part avec l'azathioprine et analyserons ensuite les expériences faites en vue d'inhiber l'action tératogène de ce dernier corps.

Matériel et technique

Pour le Rat nous avons utilisé des animaux Wistar primipares, d'un poids moyen de 220 g, pour les Souris des animaux de lignée Swiss albinos également primipares pesant en moyenne 22 g. Les Lapins, qui provenaient d'élevages que nous suivons depuis plusieurs années, pesaient de 3 à 3,5 kg.

Les Rats et les Souris furent maintenus à une température de 22° et alimentés avec des comprimés du commerce Piètrement supplémentés 1 fois par semaine de déchets de viande et de verdure. Les Lapins maintenus à une température de 18° furent également nourris avec des comprimés Piètrement auxquels on ajouta 2 fois par semaine des carottes et de la verdure.

Pour les trois espèces l'accouplement a été vérifié par frottis vaginal. La découverte des spermatozoïdes a été considérée comme le premier jour de la gestation. Pour les Rattes et les Souris, l'évolution de la gestation a été suivie au moyen de frottis vaginaux quotidiens, pour les Lapins des pesées hebdomadaires ont été faites.

La 6-mercaptopurine fut injectée par voie sous-cutanée; l'azathioprine, mise en suspension dans une solution de gomme adragante, a été donnée par sonde gastrique[1].

[1] La 6-mercaptopurine et l'azathioprine nous ont été gracieusement fournies par les Laboratoires Burroughs Wellcome. Nous leur exprimons notre très vive gratitude.

Les doses et les durées de traitement sont indiquées dans les tableaux. Les fœtus ont été prélevés à la fin de la gestation en sacrifiant les mères. L'examen des fœtus a été fait au moment du prélèvement et 48 h plus tard, après fixation dans le liquide de Bouin. Pour un certain nombre d'entre eux, nous avons fait des coupes sériées de la tête en vue de l'étude microscopique des anomalies oculaires.

Résultats

1. Mercaptopurine

La 6-mercaptopurine (v. fig. 6) est un antitumoral bien connu, mais dont l'usage thérapeutique se trouve limité par sa toxicité générale. THIERSCH (1954) expérimentant sur le Rat, découvrit son action tératogène. Nous avons pour notre part constaté que lorsque les injections sont faites dans la première moitié de la gestation, cet antimétabolite est surtout embryotoxique et faiblement tératogène (H. TUCHMANN-DUPLESSIS et L. MERCIER-PAROT 1959).

Chez le Rat, des doses de 75 mg/kg administrées entre le 6e et le 12 jour déterminent 80% de résorptions. Parmi les fœtus survivants, 12% présentent des anomalies. Celles-ci intéressent surtout l'œil (microphtalmies ou anophtalmies) et le système nerveux. Des doses dépassant 1 mg/kg déterminent des résorptions chez tous les animaux.

Les effets nocifs pour l'embryon se manifestent pour des doses comprises entre $^1/_{500}$ et le $^1/_{250}$ de la DL 50 maternelle.

MURPHY (1960) par contre en donnant la 6-mercaptopurine seulement le 12e jour de la gestation obtint jusqu'à 90% de malformations.

L'effet tératogène se manifeste alors pour des doses situées entre 60 et 120 mg/kg, ce qui représente le $^1/_4$ ou la $^1/_2$ de la DL 50 maternelle.

Tableau 1

Influence de la 6-mercaptopurine sur la gestation

Espèces	Doses (mg/kg)	Dates du traitement (jour de gestation)	Résorptions (%)	Nombre moyen de fœtus par portée	Anomalies (%)
Témoin		—	0	10.1	0
Rat	0.50	6–12	20	5.5	14
	0.75	6–12	80	8.0	12
	1.25	6–12	100	—	—
Témoin		—	15	9.2	0
Souris	0.50	6–8	36	5.3	4.2
	1	6–8	25	7.2	3.7
Témoin		—	10	8.7	0
Lapin	1	6–8	50	2.5	20
	1	6–9	40	4.3	69
	1.5	7–9	100	—	—

Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus chez le Rat sous l'action de la 6-mercaptopurine aux observations faites avec d'autres antitumoraux, nous avons étendu nos expériences. Des injections précoces, commencées à partir du 6e jour de la gestation furent faites à des Souris et à des Lapins.

La Souris réagit comme le Rat, mais le taux des résorptions et des malformations est plus faible (tab. 1). En raison de la précocité du traitement, furent observées surtout des anomalies de l'œil, du système nerveux et plus rarement des viscères (fig. 1).

Le Lapin est également très sensible à la 6-mercaptopurine. Avec des doses de 1 mg/kg, 40 à 50% des embryons sont résorbés et parmi les fœtus survivants plus de la moitié sont anormaux. Ils présentent des malformations du système nerveux, encéphalocèle, spina bifida et des raccourcissements de l'extrémité inférieure du corps pouvant s'accompagner d'anourie.

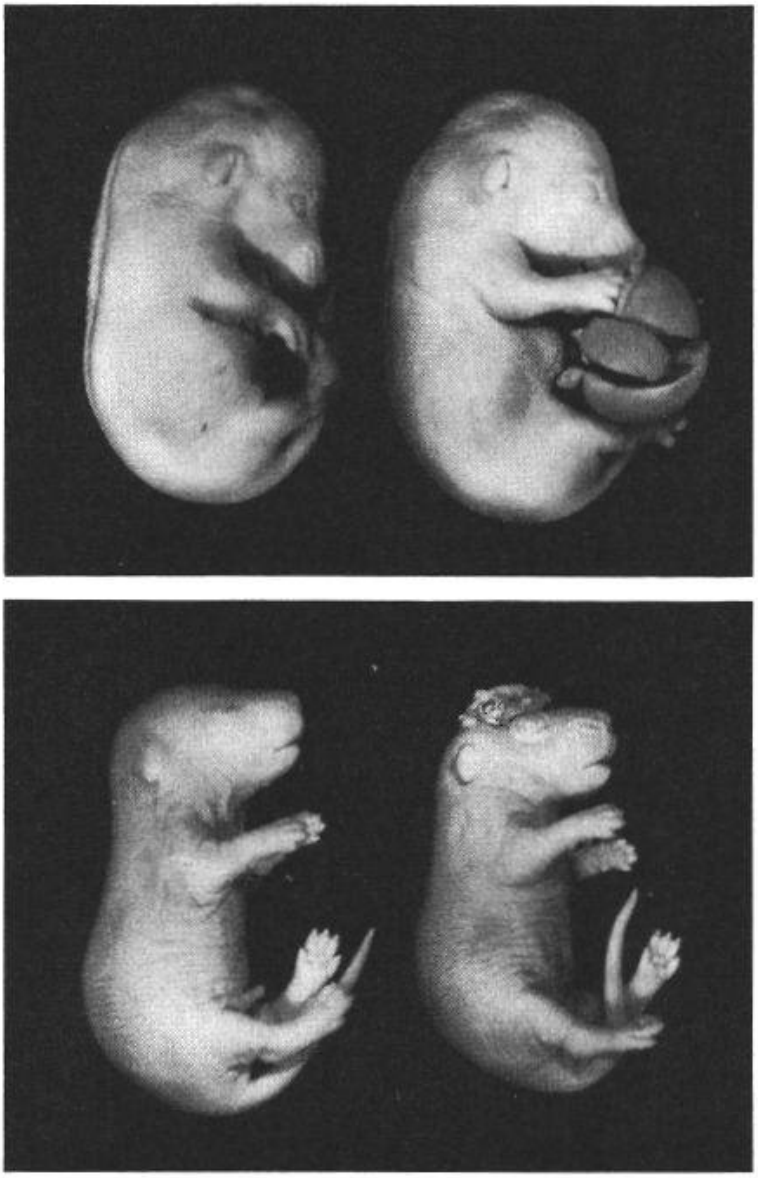


Fig. 1. Action de la 6-mercaptopurine sur le développement embryonnaire de la Souris. – En haut, témoin à gauche; à droite cœlosomie. En bas, témoin à gauche, à droite anencéphalie.

Fig. 2. Action de la 6-mercaptopurine sur le développement embryonnaire du Lapin. – A gauche, fœtus témoin, les autres sont malformés et de taille réduite, à droite, fœtus anoure avec deux spina bifida.

Fig. 3. Action de la 6-mercaptopurine sur le développement embryonnaire du Lapin. – Anourie et trois spina superposées.

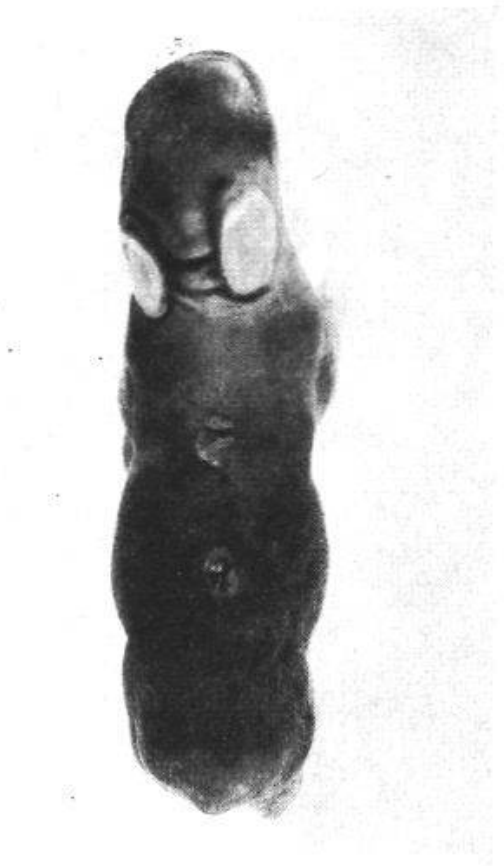


Fig. 4. Action de la 6-mercaptopurine sur le développement embryonnaire du Lapin. – Nouveau-né présentant deux spina bifida.

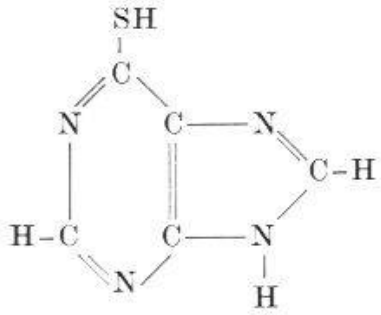
Si le traitement est fait, plus tardivement, du 10e au 14e jour, on observe un fort pourcentage de malformations graves des membres; syndactylie, ectromélies et plus rarement des phocomélies et des amélies.

2. Azathioprine ou Imuran

L'azathioprine (6-[1-méthyl-4-nitro-5-imidazolyl] thiopurine) est une thiopurine masquée, métaboliquement active. Elle diffère de la 6-mercaptopurine par la présence d'un noyau imidazole nitré et méthylé en remplacement de l'hydrogène du groupement sulfhydrile (fig. 5).

Les travaux d'Elion et coll. (1960, 1961) ont révélé que l'azathioprine est très active contre diverses tumeurs malignes et possède aussi des propriétés inhibitrices sur la formation des anticorps. Son index chimiothérapeutique est supérieur à celui des autres thiopurines, elle est préconisée dans le traitement des leucémies, dans celui des maladies auto-immunes et dans la prévention des réactions immunologiques de la greffe rénale.

Contrairement à ce que l'on pouvait prévoir, l'azathioprine, administrée au début de la morphogénèse comme la mercaptopurine, n'a déterminé aucune malformation ni chez le Rat, ni chez la Souris (tab. 2). L'effet tératogène fut recherché en faisant varier les doses et les durées de traitement. Selon les lots, le taux de résorptions varia de 20 à 100%, mais aucune anomalie ne fut décelée (Tuchmann-Duplessis et Mercier-Parot 1964).



6-mercaptopurine

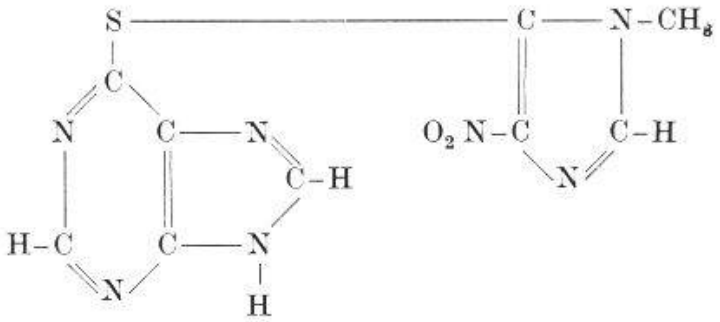


Fig. 5. Azathioprine (Imuran)

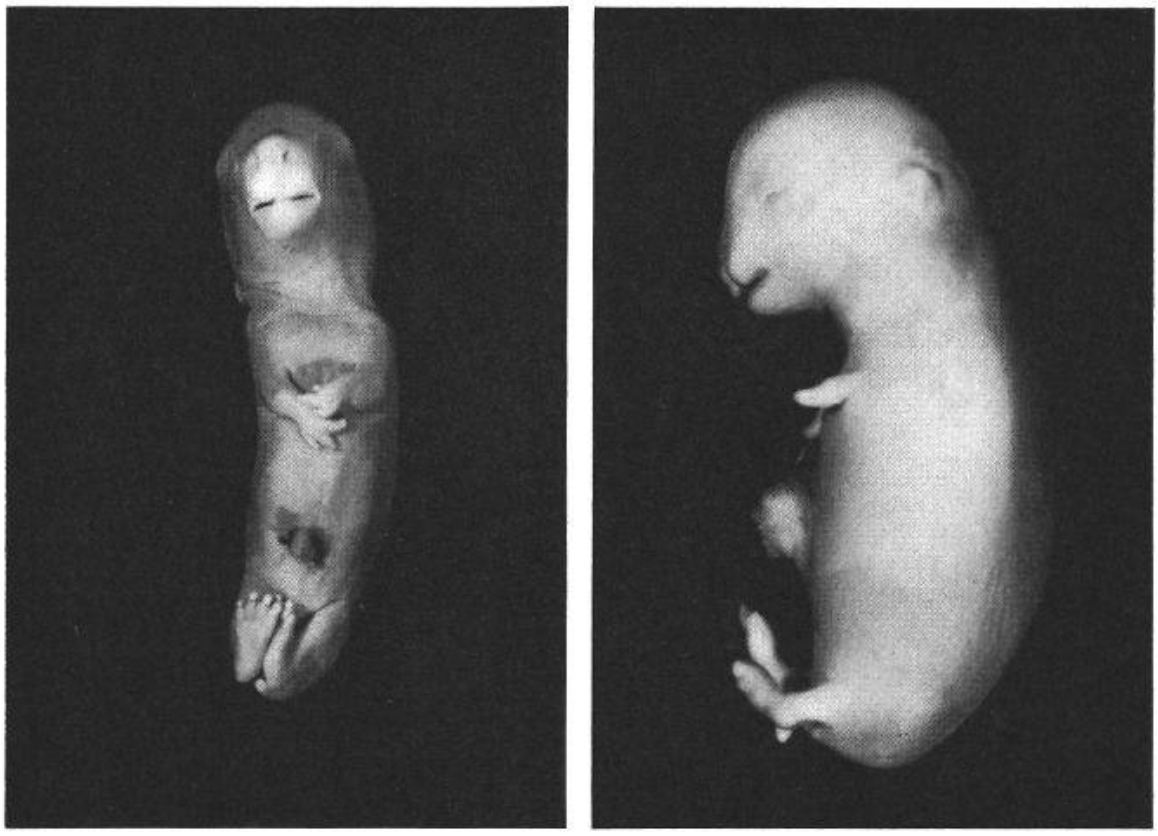


Fig. 6. Action de l'azathioprine sur le développement embryonnaire du Lapin. – A gauche, syndactylie des membres supérieurs, à droite phocomélie des membres supérieur et syndactylie des membres inférieurs.

Tableau 2

Influence de l'azathioprine sur la gestation

Espèces	Doses (mg/kg)	Dates du traitement (jour de gestation)	Résorptions (%)	Nombre moyen de fœtus par portée	Anomalies (%)
Témoin		—	0	9,6	0
Rat	2,5	3–12	40	8,3	0
		6–12	20	6,5	0
		8–10	0	7,0	0
	5	6–8	30	5,5	0
		6–9	30	9,0	0
	10	6–8	100	—	—
		6–9	80	2,0	0
		8–10	100	—	—
Témoin		—	12	10,8	0
Souris	10	1–12	100	—	—
		6–12	40	9,0	0
		8–10	20	5,0	0
	15	4–12	20	6,7	0
		6–12	25	9,0	0
	20	6–12	22	7,5	0
Témoin		—	10	9,6	0,7
Lapin	5	6–14	0	6,0	44
	10	6–14	16	3,2	43
		8–14	0	8,1	57
	15	8–10	0	6,3	52

Chez la troisième espèce par contre, l'azathioprine s'avéra très tératogène et seulement légèrement embryotoxique. Des doses variant de 5 à 15 mg/kg déterminèrent chez le Lapin plus de 50% de malformations apparentes[2].

Les malformations présentent une certaine homogénéité. Elles intéressent surtout le squelette, polydactylie, syndactylie, raccourcissement et torsion des membres, phocomélies et amélies (fig. 6). Ces anomalies sont fréquemment associées à des fentes du palais, à des becs-de-lièvre, à des cataractes et à des colobomes. Les atteintes du système nerveux sont très rares[2].

En comparant les résultats obtenus chez les trois espèces examinées avec ces deux antipurines chimiquement voisines, on constate que leur action sur les embryons de Rat, de Souris et de Lapin est nettement différente. Cela paraît d'autant plus étonnant que l'on sait par des études métaboliques que l'azathioprine est rapidement absorbée au niveau de l'intestin et ensuite convertie en 6-mercaptopurine et en son produit d'oxydation l'acide-6-thio-urique (Breswick 1959; Elion et coll. 1961).

[2] Le Docteur O. Long, Directeur des Etudes cliniques des Laboratoires Wellcome, vient de nous communiquer deux observations de femmes traitées pendant la grossesse par l'azathioprine. Leurs enfants étaient normaux.

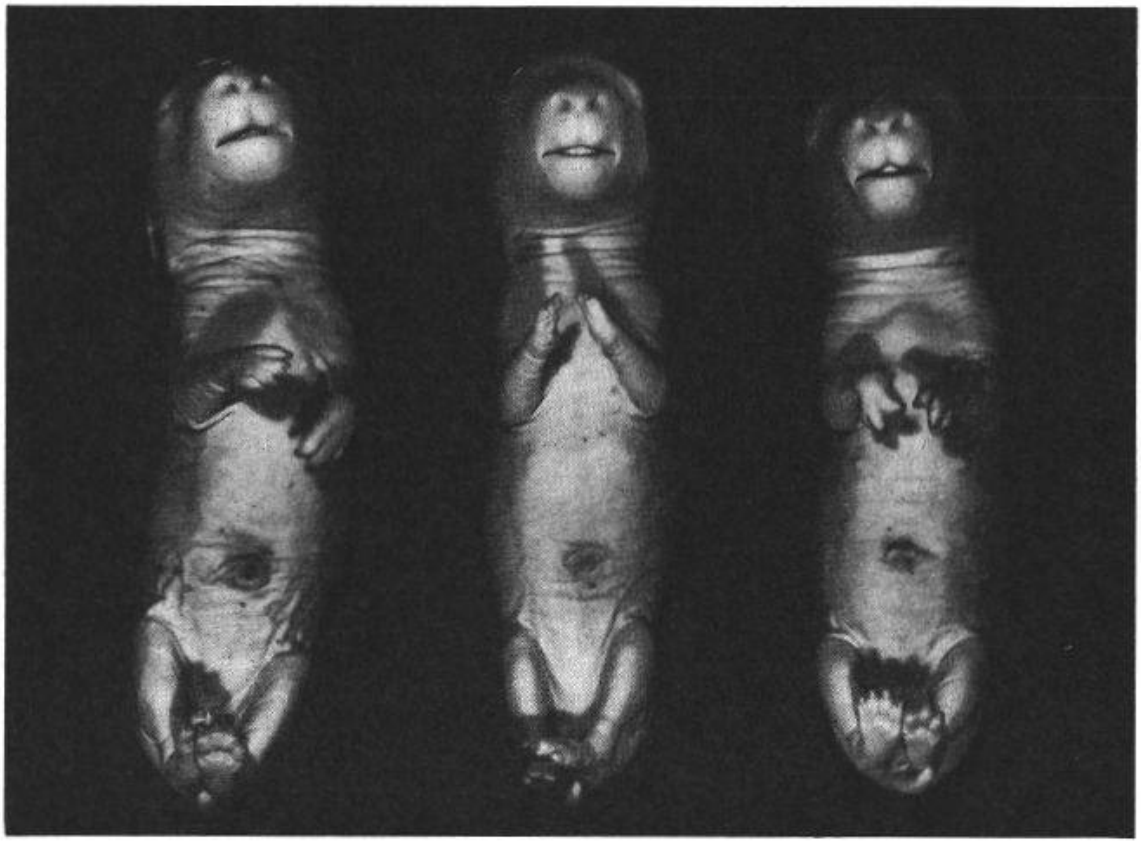


Fig. 7. Action d'un traitement simultané de glutathion et d'azathioprine. – Fœtus de lapins avec syndactylies et raccourcissement des membres supérieurs.

On pouvait donc supposer que les actions de l'azathioprine seraient calquées sur celles de son principal métabolite, la 6-mercaptopurine. Mais en fait, l'azathioprine a des propriétés pharmacologiques distinctes, qui ont pu être mises en évidence chez l'adulte en faisant agir l'azathioprine en présence de composés soufrés.

Tableau 3

Influence du glutathion et de la cystéine sur l'action tératogène de l'azathioprine

	Dates du traitement (jour de gestation)	Résorptions (%)	Nombre moyen de fœtus par portée	Anomalies (%)
Azathioprine 10 mg/kg	6–14	30	6,5	23
+ glutathion 30 mg/kg	8–14	0	8,0	21
Azathioprine 10 mg/kg	6–14	25	5,5	20
+ cystéine 50 mg/kg	8–14	0	6,3	15
Azathioprine 10 mg/kg	6–14	12	4,0	35
+ cystéine 100 mg/kg	8–14	37	6,6	10

Lorsque du glutathion ou de la cystéine sont donnés avant l'administration de ces deux antimétabolites, on constate que les propriétés antitumorales et anti-immunes de l'azathioprine se trouvent inhibées alors que celles de la mercaptopurine ne sont pas modifiées.

Aussi dans une deuxième série d'expériences, nous avons essayé de voir si les propriétés tératogènes de l'azathioprine pouvaient être supprimées comme ses actions anti-immunes et antitumorales par des traitements préalables avec du glutathion ou de la cystéine. Le premier produit a été administré à la dose de 30 mg/kg par voie intramusculaire 3 h avant le traitement par l'azathioprine. La cystéine a été donnée par voie buccale à 2 doses, 50 et 100 mg/kg, 2 h avant l'azathioprine. Comme dans les expériences précédentes, l'azathioprine a été administrée dans tous les lots par sonde gastrique à la dose de 10 mg/kg.

Le traitement par ces deux dérivés soufrés s'est avéré incapable d'abolir l'action tératogène de l'azathioprine, comme l'indique le tableau 3.

Dans tous les groupes traités, 20 à 35% des fœtus présentent des anomalies apparentes (fig. 7–8). Leur aspect est semblable à celui des anomalies trouvées après traitement par l'azathioprine seule. On note une prédominance très marquée des anomalies des membres et du squelette. Les colobomes et les cataractes sont également fréquents, alors que les spina bifida sont rares.

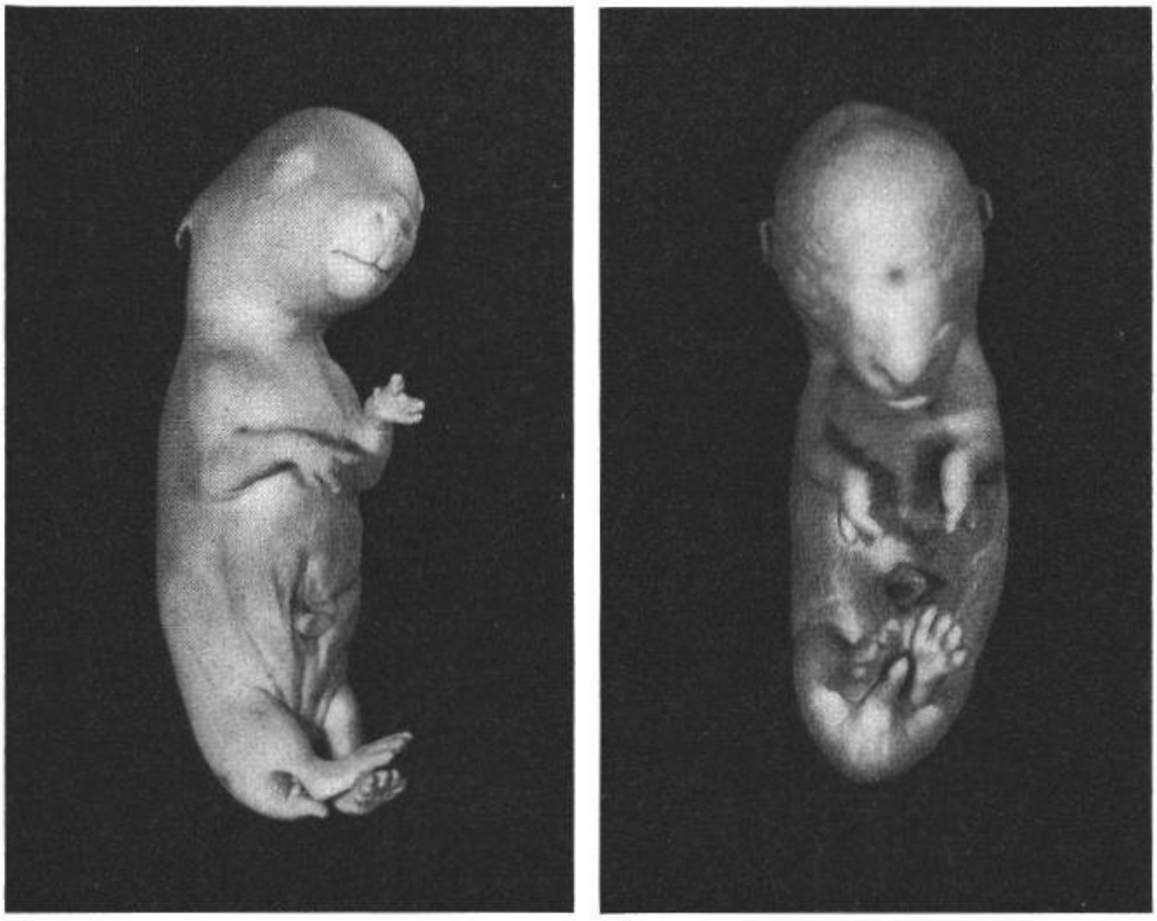


Fig. 8. Action d'un traitement simultané de cystéine et d'azathioprine chez le Lapin. – Syndactylie, raccourcissement et torsion des membres supérieurs.

Fig. 9. Action d'un traitement simultané de cystéine et d'azathioprine chez le Lapin. – Malformations graves des membres supérieurs et inférieurs; chez le fœtus de droite, ils sont réduits à des moignons.

Ainsi, aucun des deux dérivés soufrés n'a protégé l'embryon de Lapin contre les effets tératogènes. Il ne semble donc pas que les activités antitumorales et tératogènes soient directement liées, du moins en ce qui concerne cet antimétabolite.

Conclusion

L'existence d'une dissociation entre les effets tératogènes et antitumoraux, qui a été mise en évidence par l'azathioprine, offre de nouvelles possibilités dans l'étude si complexe de la tératogénèse médicamenteuse.

Les réactions embryonnaires observées chez différentes espèces montrent combien il est difficile sinon impossible de prévoir les effets sur la progéniture d'une substance médicamenteuse. Ni la structure chimique ni les propriétés pharmacologiques ne permettent de prévoir les retentissements sur la progéniture.

De très légères différences chimiques peuvent se traduire par des actions nettement distinctes comme dans le cas de ces deux antipurines.

Ces faits suggèrent que chez l'embryon, plus encore que chez l'adulte, il existe des différences et des particularités métaboliques très subtiles selon l'espèce considérée, qui conditionnent vraisemblablement le mode d'action des médicaments.

C'est seulement, lorsque les connaissances de la physiologie prénatale seront plus avancées que l'étude du mécanisme d'action tératogène pourra être entreprise avec de meilleures chances de succès.

Résumé

Les observations faites sur le Rat, la Souris et le Lapin avec deux antagonistes des purines, la 6-mercaptopurine et l'azathioprine, révèlent deux ordres de faits: une dissociation entre les propriétés tératogènes et antitumorales de l'azathioprine, une différence d'action de ces deux substances chimiquement voisines sur diverses espèces.

Des dérivés soufrés comme le glutathion et la cystéine, qui abolissent les propriétés antitumorale et anti-immune de l'azathioprine, s'avèrent incapables de protéger le Lapin contre les effets tératogènes de l'azathioprine.

Environ 30% des fœtus présentent des anomalies apparentes: raccourcissement et torsion des membres, syndactylie et amélie.

Alors que la 6-mercaptopurine s'avère tératogène chez la Souris, le Rat, et le Lapin, l'azathioprine, dont le principal métabolite est la 6-mercaptopurine, provoque seulement des malformations chez le Lapin.

De très légères différences chimiques peuvent se traduire par des actions sur l'embryon nettement distinctes.

Il est donc difficile de prévoir les retentissements des médicaments sur la progéniture, car ils paraissent conditionnés par les activités métaboliques du foetus, variables selon l'espèce considérée.

Zusammenfassung

Die an Ratten, Mäusen und Kaninchen gemachten Beobachtungen mit zwei Purin-Antagonisten, dem 6-Mercaptopurin und dem Azathioprin, zeigen zweierlei Gegebenheiten auf: eine Dissoziation zwischen den teratogenen und den antitumoralen Eigenschaften des Azathioprin einerseits und einen Unterschied in der Wirkung dieser beiden chemisch verwandten Substanzen auf verschiedene Species andererseits.

Schwefelderivate, wie das Glutathion und das Cystein, welche die antitumoralen und anti-immunen Eigenschaften des Azathioprin vernichten, erweisen sich als unfähig, das Kaninchen gegen die teratogene Wirkung des Azathioprin zu schützen.

Ungefähr bei 30% der Foeten treten offensichtliche Anomalien auf: Verkürzung und Torsion der Glieder, Syndactylie und Amelie.

Während sich das 6-Mercaptopurin bei der Maus, der Ratte und dem Kaninchen als teratogen erweist, ruft das Azathioprin, dessen hauptsächlicher Metabolit das 6-Mercaptopurin ist, nur beim Kaninchen Mißbildungen hervor.

Sehr geringfügige chemische Unterschiede können auf den Embryo vollkommen andersartige Wirkungen ausüben.

Es ist deshalb schwierig, die Rückwirkungen der Medikamente auf die Nachkommenschaft vorauszusehen, denn diese sind von der Stoffwechseltätigkeit des Foetus abhängig und zeigen sich je nach Species variabel.

Riassunto

Le osservazioni fatte sui ratti, i topi ed il coniglio con la 6-mercaptopurina e l'azatioprina (due antagonisti delle purine) ci mostrano due fatti: una dissociazione fra le proprietà teratogenetiche ed antitumorali dell'azatioprina come pure una differenza d'azione sulle differenti speci da parte di queste sostanze chimicamente simili. Dei composti solforati come il glutatione e la cisteina, i quali aboliscono le proprietà antitumorali ed antiimmuni dell'azatioprina, sono incapaci di proteggere il coniglio contro gli effetti teratogenetici dell'azatioprina.

Circa 30% dei feti presentano delle anomalie apparenti: raccorciamento o torsione delle membra, sindattilia ed amelia. Mentre la mercaptopurina ha un effetto teratogenetico sul topo, il ratto et il coniglio, l'azatioprina, il cui metabolita principale è la 6-mercaptopurina, provoca solamente malformazioni nel coniglio.

Minime differenze nella struttura chimica possono provocare azioni nettamente differenti nell'embrione. E dunque molto difficile prevedere gli effetti dei medicamenti sulla discendenza per il fatto che dipendono dalle attività metaboliche del feto, variabili a seconda della specie.

Summary

Observations made on the rat, mouse and rabbit with two antagonists of purine: 6-mercaptopurine and azathioprine, show two groups of facts: —a dissociation between the properties both teratogenic and antitumoral of azathioprine; a difference of action of these two substances, which are chemically close, upon diverse species.

Certain derivatives, such as glutathion and cysteine, which abolish the antitumoral and anti-immunal properties of azathioprine, were found to be incapable of protecting the rabbit against the teratogenic effects of azathioprine.

About 30% of the foetus showed apparent anomalies: shrinkage and torsion of membranes, syndactylia and amelia.

While mercaptopurine causes teratogeny in the mouse, rat and rabbit, azathioprine, of which the principal metabolite is 6-mercaptopurine, only causes malformations in the rabbit.

Some very slight chemical differences are expressed by actions on the embryo which are entirely distinct.

It is therefore difficult to prejudge the action of medicaments on the progeniture, since these seem to be conditioned by the metabolic activities of the foetus and thus to vary considerably between species.

Breswick E.: The metabolism in vitro of antitumor imidazolyl derivatives of mercaptopurines. Fed. Proc. *18*, 371 (1959).

Elion G. B., Bieber S. et Hitchings G. H.: A summary of investigations with 2 amino-6 (1-methyl-4-nitro-5-imidazolyl) thiopurine (B. W. 57322) in animals. Cancer Chemother. Rep. *8*, 36 (1960).

Elion G. B., Bieber S., Hitchings G. H. et Rundles R. W.: A summary of investigations with 6 (1-methyl-4-nitro-5-imidazolyl) thiopurine (B. W. 57322). Cancer Chemother. Rep. *14*, 93 (1961).

Murphy M. L.: Teratogenic effects of tumor inhibiting chemicals in the foetal rat. Ciba Foundation Symposium on Congenital Malformations. Churchill Edit., Londres 1960.

Tiersch J. B.: The effect of 6-mercaptopurine on the rat fetus and on reproduction of the rat. Ann. N. Y. Acad. Sci. *60*, 220 (1954).

Tuchmann-Duplessis H. et Mercier-Parot L.: L'action antimitotique et caryoclasique de substances chimiques. Coll. Int. du C. N. R. S. Montpellier 17–21 mai 1959. C. N. R. S. Edit., Paris (1960).

Tuchmann-Duplessis H. et Mercier-Parot L.: Production de malformations des membres chez le Lapin par administration d'un antimétabolite: l'azathioprine. C. R. Acad. Sci. (Paris) *259*, 3648 (1964).

Tuchmann-Duplessis H. et Mercier-Parot L.: Considérations sur les tests tératogènes. Différences de réaction de trois espèces animales à l'égard d'un antitumoral. C. R. Soc. Biol. (Paris) *158*, 1984 (1964).

Adresse: Prof. H. Tuchmann-Duplessis et Madame L. Mercier-Parot, Laboratoire d'Embryologie, 45, rue des Saints-Pères, Paris 6e.

F. K. Köhler: Frankfurt am Main

Experimentelle Erzeugung spezieller Typen von Gliedmaßenfehlbildungen durch 2-Desoxy-5-fluor-cytidin

Manuskript nicht erhalten