

Action du DDT sur le peuplement en gonocytes des ébauches gonadiques de l'embryon de Poulet agé de 6 jours

Le dichloro-diphényl-dichloréthane, pesticide organochloré connu sous le nom de DDT, utilisé sous l'une de ses formes commerciales, a un effet tératogène marqué sur l'embryon de Poulet^{1,2}. Il agit plus particulièrement sur l'appareil génital, en provoquant des anomalies sérieuses au niveau des gonades et des canaux de Müller. Au 17^e jour de l'incubation, les testicules présentent une hypertrophie du tissu interstitiel et de l'albuginé ainsi qu'un nombre réduit de tubules. Ces derniers sont pauvres en cellules germinales. L'ovaire, examiné au même stade, possède un cortex étroit et vacuolaire, sa médulla est au contraire compacte et non régressée. Quant à la glande droite, elle est dans 60% des cas plus massive que celle des témoins et souvent pourvue de nodules corticaux faisant saillie en surface. A ce stade tardif de l'incubation, on distingue dans les gonades mâles et femelles des gonocytes hypertrophiés en voie de pycnose et de nombreuses cellules nécrosées au sein des tubules. Cette dégénérescence est-elle responsable du faible nombre de cellules germinales observé au 17^e jour, ou bien la diminution s'amorce-t-elle déjà à un stade plus précoce du développement ?

Matériel et méthodes. Les œufs de Poule de la race Hubbard sont immergés, au stade non incubé, pendant 30 sec, dans une solution aqueuse de DDT commercial dosé à 50% de substance active. Les concentrations en DDT employées sont de 2, 3, 5 et 10 g par litre d'eau; les trois premières étant conformes à celles préconisées par le fabricant.

A titre de témoins, des œufs sont simplement plongés dans de l'eau pure, avant la mise en incubation.

Les embryons sont prélevés au 6^e jour, soit au stade 29 selon la table de développement de HAMBURGER et HAMILTON³. A ce moment, les cellules germinales ont toutes gagné les crêtes génitales. Pour procéder au comptage des gonocytes, les gonades des embryons sont fixées au liquide de Bouin, coupées à 10 µm puis colorées à l'hématoxyline de Groat et à l'érythrosine. Pour chaque série expérimentale, nous calculons le nombre moyen de cellules germinales contenues dans les deux gonades, l'erreur standard et l'intervalle de confiance avec un coefficient de sécurité de 90%.

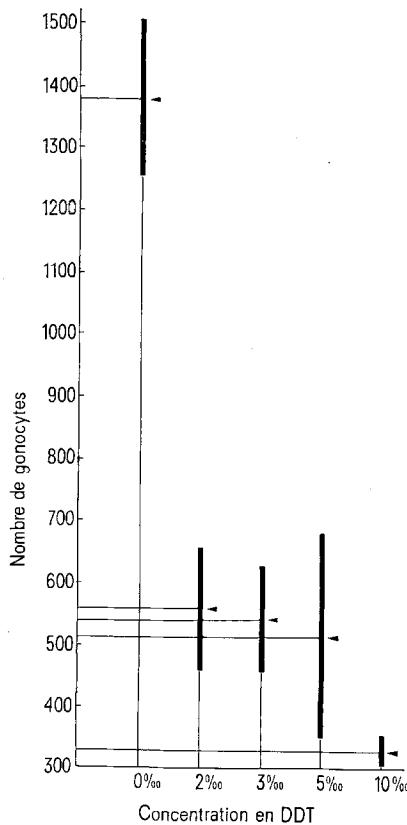
Résultats. Sur les 148 œufs analysés, 24 embryons sont morts en cours d'incubation; ce qui donne un pourcentage de mortalité de 22% chez les traités par le DDT et de 5% chez les témoins. Si l'on compare ces pourcentages à ceux obtenus lors de l'ouverture d'œufs plus âgés¹, on constate que le taux moyen de mortalité au 6^e jour est sensiblement le même qu'au 17^e jour. La létalité du pesticide augmente proportionnellement à la concentration, mais dans une faible mesure.

Dénombrement des gonocytes dans les crêtes génitales d'embryons de Poulet de 6 jours issus d'œufs témoins (0%) et d'œufs traités au DDT

Concentra- tions en DDT (%)	Nbre de cas	Nbre moyen de gonocytes	Erreur standard	Intervalle de confiance/Coeff. de sécurité à 90%
0	41	1380	63	1254-1506
2	19	558	47	460-656
3	20	540	41	455-625
5	23	513	75	350-676
10	21	329	11	305-353

La différence de taille entre les embryons traités et les embryons témoins notée au 17^e jour, se remarque déjà au 6^e jour, mais à un degré moindre. Si l'on s'en réfère à la table de développement de HAMBURGER et HAMILTON³, on constate que malgré leur taille réduite, les embryons traités atteignent cependant le stade 29 comme les embryons témoins.

Par contre, on note une nette différence en ce qui concerne le nombre des gonocytes. Le Tableau donne la récapitulation des résultats du dénombrement de ces cellules dans les diverses séries expérimentales. Le nombre moyen de gonocytes présents dans les gonades des embryons de Poulet témoins s'élève à 1380 avec une erreur standard de 63. Après traitement au DDT, cette moyenne tombe à 558 avec la plus faible concentration (2%), à 540 avec 3%, à 513 avec 5% et seulement à 329 avec la plus forte dose (10%). Sur la Figure, l'intervalle de confiance obtenu pour chaque concentration en DDT est représenté par une bande continue. L'écart important entre la population gonocytaire des embryons témoins et celle des embryons traités apparaît nettement.



Représentation graphique de l'intervalle de confiance (bande continue) et du nombre moyen de gonocytes (flèches) en fonction de la concentration en DDT.

¹ D. DAVID et Y. LUTZ-OSTERTAG, C.r. Acad. Sci. Paris, Série D, 275, 2171 (1972).

² Y. LUTZ-OSTERTAG et D. DAVID, C.r. Acad. Sci. Paris, Série D 276, 1213 (1973).

³ V. HAMBURGER et H. L. HAMILTON, J. Morph. 88, 49 (1951).

Le calcul du rapport:

$$\frac{G^T - G^{DDT}}{G^T} \times 100$$

où G^T correspond au nombre moyen de gonocytes chez l'embryon témoin et G^{DDT} au nombre moyen chez l'embryon traité au DDT, donne le pourcentage de stérilité des embryons issus d'œufs traités au DDT. Celui-ci est de 60% à la concentration de 2%, de 61% à 3%, de 63% à 5% et de 76% à 10%.

Il existe une grande disproportion entre le nombre de cellules germinales contenues dans la gonade gauche et celui de la gonade droite. Et ceci, aussi bien chez les témoins que chez les traités. Ainsi, le nombre moyen de gonocytes de la gonade droite témoin est d'environ 200 (pour 1200 dans la gonade gauche); après traitement au DDT, on ne dénombre plus que 10 à 50 cellules germinales dans la glande droite de la majorité des embryons.

L'examen histologique révèle la présence de gonocytes hypertrophiés, en dégénérescence. Ces cellules pycnotiques, en très faible nombre chez les embryons témoins (0,2% environ), sont plus fréquentes chez les embryons traités. Elles représentent 2,5% du nombre total des gonocytes à la concentration de 2%, 3% à 3 et 5% à 3,5% à 10%.

Discussion et conclusions. Le DDT, employé sous l'une de ses formes commerciales, provoque une baisse importante de la population germinale des gonades des embryons de Poulet de 6 jours. Cette diminution est déjà forte aux faibles concentrations. Ainsi, le DDT à 2% est responsable d'une chute de 60% du nombre des cellules germinales. Aux concentrations de 3 et 5%, le taux de stérilité des gonades s'élève encore par rapport au résultat précédent, mais dans de faibles proportions (60 et 63%). Ainsi, le DDT employé aux concentrations préconisées par le fabricant provoque une stérilisation importante quoique

partielle des embryons de Poulet. La concentration nettement plus forte de 10% n'est que légèrement plus létale que les précédentes, mais elle accentue encore la chute de la population gonocytaire (76%).

Si l'on compare la taille des gonades des deux types d'embryons, on constate que dans la plupart des cas celle des embryons traités au DDT est inférieure. Parfois, les gonocytes ne sont pas tous localisés dans la gonade, ils forment de petits amas dispersés dans le mésentère, certains sont en dégénérescence. Dans d'autres cas, les gonades sont au contraire de taille sensiblement normale mais pauvres en cellules germinales.

Cette chute du nombre des gonocytes mise en évidence au 6^e jour de l'incubation, suggère plusieurs hypothèses: 1. Le DDT provoquerait l'hypertrophie puis la pycnose progressive des gonocytes déjà en place dans les gonades. 2. Cette chute serait la conséquence d'une dégénérescence précoce du matériel germinal, antérieure au stade de sa migration. 3. Enfin, le DDT s'opposerait à une migration normale, en inhibant partiellement le pouvoir attractif des crêtes génitales, ou bien en atténuant la capacité amoïde des cellules germinales primordiales.

Un comptage des gonocytes dans le croissant germinal et à des stades intermédiaires de leur migration, devrait nous permettre de résoudre ce problème.

Summary. A brief immersion of chick eggs in a DDT aqueous solution, before the incubation, provokes a strong reduction of the number of germ cells in the gonads, when the embryos are 6 days old. Some hypertrophied gonocytes are pycnotic. Hypotheses are proposed in order to explain the mechanism of DDT action.

D. DAVID

*Laboratoire de Biologie Animale,
Université de Clermont, B.P. 45,
F-63170 Aubière (France), 10 janvier 1973.*

Inhibition of Post-Decapitation Convulsions by Reserpine

Decapitation of rats in the cervical region, but not at lower spinal segments, is regularly followed by generalized clonic convulsions. Previous treatment with high reserpine doses prevents almost completely the post-decapitation seizures.

Methods. 386 male Wistar rats (medium weight 200 g) were sacrificed by rapid transsection of the mid cervical spine with well sharpened scissors. Control group: untreated animals. Test groups: 1. a) Reserpine 5 mg/kg i.p., b) Reserpine 5 mg/kg on 2 successive days, i.p. Sacrifice in a) and b) 24 h after last i.p. injection, c) Reserpine 10 mg/kg i.p., 30 min before sacrifice. d) 2 days treatment with reserpine (like in b). 30 min before sacrifice, 0.5 mg/kg of noradrenaline i.p. e) I.p. injection of dibenzylamine 10 mg/kg; propranolol 10 mg/kg, pentobarbital sodium 40 mg/kg, choralhydrate 300 mg/kg, respectively, 30 min before sacrifice. 2. Determination of the LD₅₀ of convulsive drugs (Strychnine sulfate, Picrotoxin, Pentylenetetrazol in normal rats and after 2 days treatment with reserpine 5 mg/kg i.p.¹ 3. Neuromuscular transmission and direct muscle excitability was tested in the sciatic gastrocnemius preparation of 6 normal and 6 reserpinized rats (2 days treatment).

Results. The inhibition of post-decapitation convulsions by reserpine was complete after a 2 days' treatment and only partial after a 1 day treatment with 5 mg/kg a day. Refilling the reserpine depleted catecholamine stores

with noradrenaline (0.5 mg/kg i.p.), 30 min before sacrifice did not abolish the anticonvulsive effect of reserpine (2 days treatment). The i.p. injection of high doses of reserpine or of the sympathetic blockers dibenzylamine or propranolol, when given 30 min before sacrifice, did not reduce either intensity or duration of postdecapitation seizures. Pentobarbital sodium and choralhydrate weakened but did not totally abolish agonal convulsions in the deeply anesthetized animals. (Table I). Drug-induced convulsions, by strychnine sulfate, picrotoxin, pentylenetetrazol, were not inhibited by previous reserpinization (2 days treatment). The LD₅₀ of picrotoxin dropped to half its value, after reserpinization, but remained unchanged with strychnine and pentylenetetrazol. Only in the case of pentylenetetrazol did reserpine treatment prolong the duration of convulsions and postpone time of death from 7.0 ± 1.6 min to 30.3 to ± 5.6 min. In addition, there was also a change in the type of convulsions: the incidence of clonic convulsions was greatly diminished and more strychnine-like extension seizures used to appear. The increase of pulmonary weight, produced by all these convulsant drugs, was normalized by reserpine treatment (Table II).

Discussion. Decapitation of rats in the cervical medulla triggers generalized convulsions lasting up to 30 sec.

¹ W. S. CARROL, Biometrics 8, 249 (1952).