

Modifications des caractéristiques d'atténuation du système visuel provoquées par le diméthyle de mercure ((CH₃)₂Hg) chez le rat^{1,2}

R. Gramoni et P. Rey

Institut de médecine sociale et préventive de l'Université de Genève (Directeur: Prof. O. Jeanneret)

Résumé

Ce travail a pour but de vérifier si les modifications des caractéristiques d'atténuation du système visuel à la lumière intermittente peuvent devenir un indicateur utile d'un faible degré d'intoxication dû à une substance introduite dans l'organisme à des doses minimales et agissant sur le système visuel. Ces caractéristiques peuvent s'exprimer de deux manières: soit par les seuils de fusion des stimuli lumineux à différentes fréquences et à différents pourcentages de modulation (courbe de De Lange), soit par l'amplitude (élevée au carré) de l'onde b de l'électrorétinogramme (ERG) et du potentiel évoqué visuel (PEV) enregistrés à différentes fréquences (courbe d'atténuation). Par comparaison avec des rats témoins, les rats soumis à une dose de 0,55 mg/kg/jour de diméthyle de mercure ont présenté des courbes d'atténuation caractérisées par une amplification de la région des basses et des moyennes fréquences, alors que la région des hautes fréquences et la fréquence critique de fusion (CFF) restaient pratiquement inchangées. Les animaux ne montraient aucun signe apparent d'intoxication. Il semble donc que les modifications des caractéristiques d'atténuation permettent de détecter une perturbation légère du système visuel avant que des troubles fonctionnels n'apparaissent.

Introduction

La mise en évidence d'effets fonctionnels infracliniques dus à des doses minimales de substances toxiques (ou potentiellement toxiques) fait partie des préoccupations actuelles majeures des scientifiques qui s'intéressent à l'écologie humaine.

Dans ce domaine, la contribution de notre groupe de recherche s'est orientée vers la détection d'altérations fonctionnelles, à la fois légères et objectivables, du système nerveux visuel. On peut considérer cette contribution comme complémentaire de deux autres approches: le dosage des mêmes toxiques dans les tissus, les compartiments liquidiens et les excréta, d'une part, et l'exa-

men morphologique des altérations organiques provoquées par des doses supérieures et/ou l'administration plus prolongée de ces toxiques. Cette détection s'effectue à l'aide de l'enregistrement des caractéristiques d'atténuation du système visuel. Quant aux substances toxiques, nous avons porté notre choix sur le diméthyle de mercure. Ce choix se justifie par le fait de l'intérêt récent porté aux organomercurels en tant que contaminants de l'environnement [9] et illustré par les effets massifs du méthyle de mercure chez les Japonais consommateurs de poissons et crustacés contaminés par des effluents industriels.

De Lange [2] a, le premier, décrit les caractéristiques d'atténuation du système visuel. Si l'on augmente la fréquence d'une stimulation lumineuse sinusoïdale dont l'amplitude de modulation est de 100%, la perception de papillotement fait place à une sensation de lumière stable: la fréquence à laquelle se situe ce seuil s'appelle la fréquence critique de fusion (CFF). Pour toute fréquence inférieure à la CFF, le passage entre les deux sensations peut cependant s'obtenir en ajustant la valeur d'amplitude de la modulation. En procédant ainsi, De Lange a montré que la CFF n'est qu'une valeur particulière d'un ensemble de valeurs définissant les caractéristiques d'atténuation du système visuel. En plaçant les valeurs des seuils sur une double échelle logarithmique en fonction des fréquences, on s'aperçoit que le système visuel atténue peu les basses fréquences, encore moins les fréquences moyennes, mais qu'il déprime beaucoup les fréquences élevées. La courbe reliant les seuils s'appelle «courbe de De Lange»; elle exprime la sensibilité du système visuel à la lumière intermittente. Babel et al. [1] et Rey et al. [13] ont montré que cette courbe se modifiait différemment selon l'étendue des lésions rétinienne ou du nerf optique et que des déficits faibles du champ visuel étaient mis en

¹ Travail réalisé grâce à l'aide du Fonds national suisse pour la recherche scientifique (crédit de recherche no 4032).

² Basé sur une présentation lors de la Journée d'exposés scientifiques de la Société suisse de médecine sociale et préventive, Berne, 27 juin 1973.

évidence en présence de la lumière intermittente alors que les examens cliniques de routine ne révélèrent encore rien d'anormal. Meyer et al. [8] ont trouvé un type de courbe caractéristique chez des traumatisés crâniens souffrant d'un syndrome psycho-organique mais sans autres signes cliniques.

On peut, en outre, mesurer les caractéristiques d'atténuation du système visuel chez l'animal à l'aide de deux autres techniques: en construisant une courbe à l'aide des amplitudes de l'onde b de l'électrorétinogramme (ERG) de papillotement en fonction de la fréquence de stimulation, ou à l'aide des amplitudes pointe-pointe du potentiel évoqué visuel (PEV) enregistré à fréquence croissante de stimulation. En plaçant les valeurs sur une double échelle logarithmique on obtient «la courbe d'atténuation» qui a la même allure que la courbe de De Lange chez l'homme. Dans ce cas aussi, des lésions sélectives de la rétine entraînent des changements caractéristiques de la courbe d'atténuation chez les rats que nous avons étudiés [7, 11, 12].

Nous vérifierons, dans cette étude préliminaire, si des doses très faibles de diméthyle de mercure, qui est supposé agir sur le cortex visuel [4], produisent des changements de la réponse électrorétinographique ou corticale chez l'animal. Chez l'homme, nous avons enregistré des courbes de De Lange avant et après l'ingestion de médicaments anti-inflammatoires; les résultats feront l'objet d'une autre publication.

Matériel et méthode

Nous avons utilisé 10 rats femelles Wistar pesant de 200 à 270 g au début du traitement et 4 rats témoins. Cinq rats recevaient le diméthyle de mercure par injection sous-cutanée, les cinq autres dans la nourriture. La dose était de 0,55 mg/kg/jour, ce qui correspond à environ 3% de la LD₅₀ pour le

chlorure de méthyle de mercure chez la souris [5]. Les rats témoins étaient injectés avec du sérum physiologique. Après un certain nombre de jours, variant de 21 à 49, les animaux étaient examinés. La technique d'enregistrement des ERG a été décrite en détail par Meyer [7]. Rappelons que le stimulus lumineux a une forme rectangulaire et une durée de 10 ms et que les réponses sont moyennées par un Biomat 1000 (Data Laboratories). Les enregistrements ont été exécutés pour des ambiances lumineuses de 3, 20 et 50 lux afin de voir quelles conditions étaient les plus adéquates.

Nous avons mesuré l'amplitude de l'onde b de l'ERG à différentes fréquences (fig. 1)

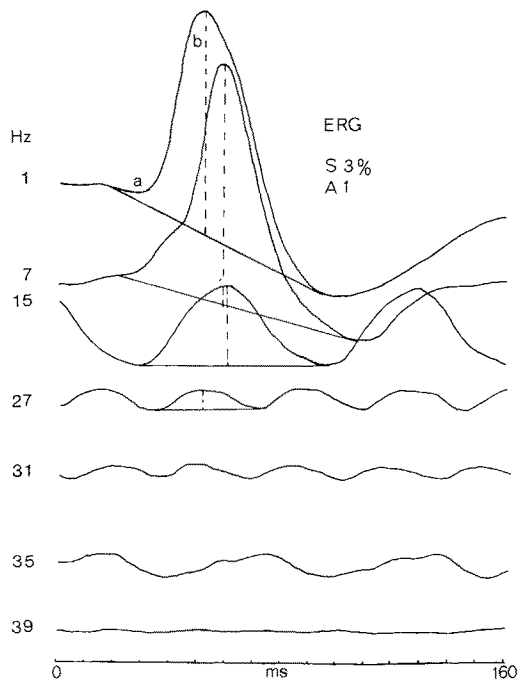


Fig. 1 Electrorétinogrammes (ERG) d'un rat témoin, dans les conditions expérimentales suivantes: Stimulus de 3%, ambiance lumineuse de 3 lux, fréquence de stimulation croissante en Hz, échelle du temps en ms

puis nous l'avons élevée au carré afin d'obtenir une approximation du contenu en énergie de la réponse; en effet, à mesure que s'élève la fréquence de la stimulation, la réponse prend de plus en plus la forme d'une sinusoïde. Les amplitudes ont ensuite été placées en fonction de la fréquence sur une double échelle logarithmique.

Les potentiels évoqués visuels (PEV) ont été recueillis, simultanément avec les ERG, par une électrode d'argent vissée dans le crâne à 3 mm en avant du lambda et à 4 mm à gauche de la suture médiane [3]. L'amplitude de la déflexion maximum précoce du PEV (fig. 2) a été élevée au carré et placée en fonction de la fréquence de stimulation, de la même façon que pour l'ERG de papillotement. La constante de temps du préamplificateur Tektronix 122 était de 250 ms à 0,2 ms.

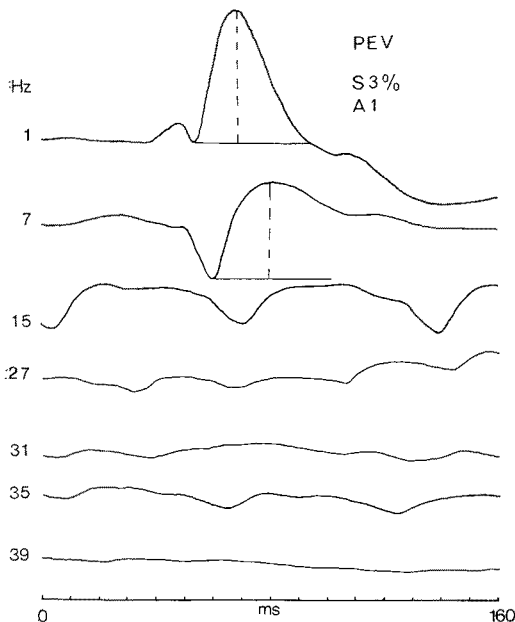


Fig. 2. Potentiels évoqués visuels (PEV) d'un rat témoin dans les mêmes conditions qu'à la fig. 1.

Résultats

Les courbes d'atténuation ont été établies chez le rat à partir des moyennes: on ne peut donc voir l'évolution des réponses au cours du traitement. Considérons tout d'abord les courbes des rats traités par injection sous-cutanée. Les fig. 3a, b montrent les courbes d'atténuation de l'ERG et du PEV des rats témoins et traités pour une ambiance lumineuse de 3 lux. Pour l'ERG, on voit que pour toutes les intensités du stimulus, les réponses aux basses et moyennes fréquences sont amplifiées chez les animaux traités par rapport aux témoins. On remarque aussi, aux alentours de 31 à 35 Hz, une oscillation de la courbe pour les deux lots d'animaux.

Les courbes d'atténuation du PEV enregistrées dans les mêmes conditions que l'ERG montrent aussi une amplification des basses et des moyennes fréquences. On trouve de plus une oscillation autour de 23 Hz. Quand l'ambiance lumineuse passe de 3 lux à 20 lux (fig. 4a, b), il se produit un étalement des courbes d'atténuation de l'ERG et du PEV qui rend moins visible le phénomène d'amplification. Celui-ci est plutôt notable quand l'intensité du stimulus est de 10 et 25%. Aux fig. 5a, b (ambiance de 50 lux), l'étalement des courbes est encore plus manifeste. Cependant, prises individuellement, les courbes des rats traités sont, en toute circonstance, supérieures dans les basses et moyennes fréquences à celles des rats témoins. Pour les courbes d'atténuation du PEV cette différence est moins nette. La fréquence critique de fusion ne semble pas différer d'un lot à l'autre.

Les courbes des rats traités par voie orale ne diffèrent guère de celles obtenues chez les rats témoins. Ceci est vraisemblablement dû à ce que la dose réellement prise a été très faible; en effet, le produit avait le temps de se volatiliser en partie avant que les animaux n'ingèrent leur nourriture.

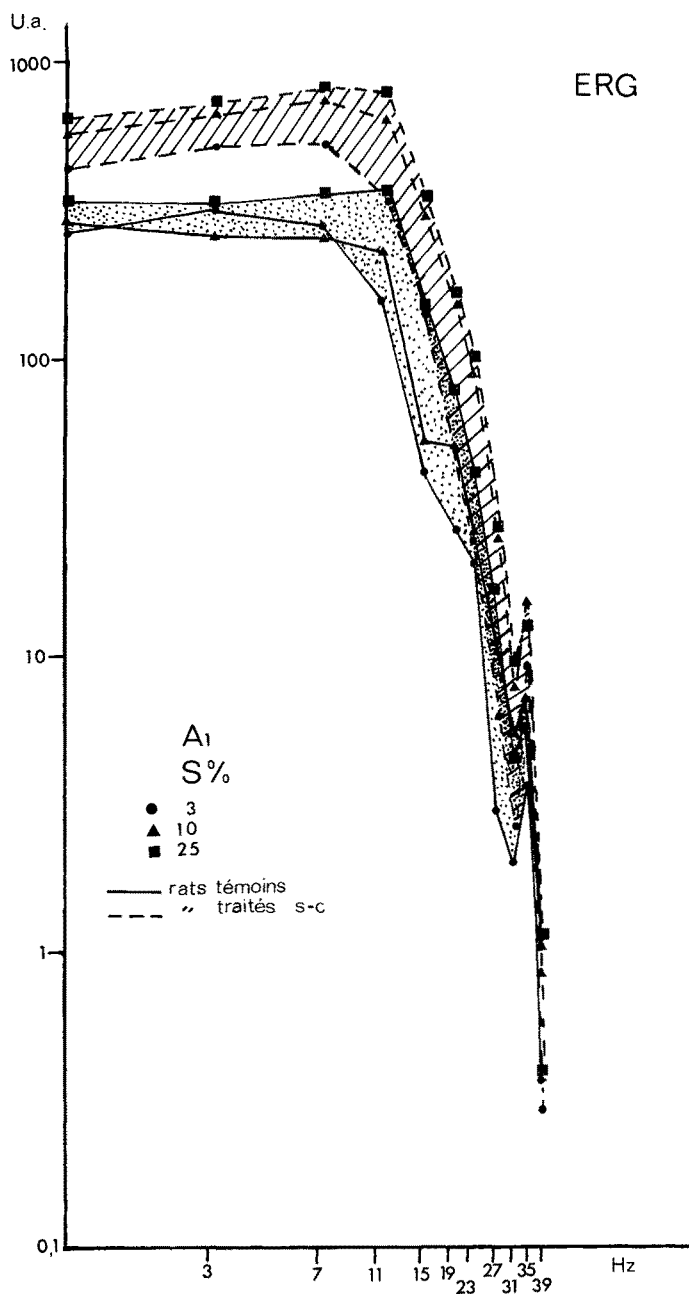


Fig. 3a, b Courbes d'atténuation de l'ERG et du PEV pour des stimuli de 3, 10, 25 % et une ambiance lumineuse de 3 lux. En abscisse la fréquence de stimulation en Hz, en ordonnée l'amplitude élevée au carré en unités arbitraires. Les courbes des rats témoins sont en traits pleins, celles des rats traités au diméthyle de mercure par voie sous-cutanée en traitillés. Les surfaces pointillées groupent les courbes des rats témoins, les surfaces hachurées celles des rats traités.

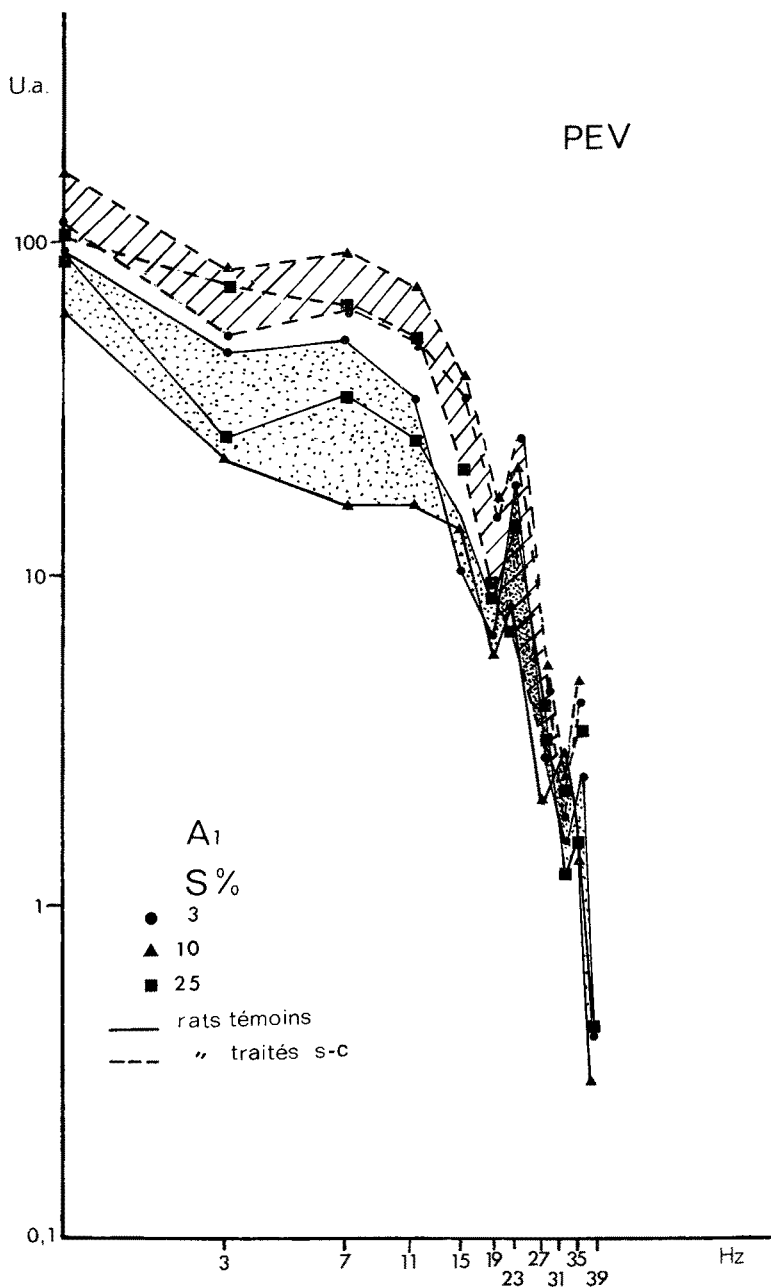


Fig. 3a, b Courbes d'atténuation de l'ERG et du PEV pour des stimuli de 3, 10, 25% et une ambiance lumineuse de 3 lux. En abscisse la fréquence de stimulation en Hz, en ordonnée l'amplitude élevée au carré en unités arbitraires. Les courbes des rats témoins sont en traits pleins, celles des rats traités au diméthyle de mercure par voie sous-cutanée en traitillés. Les surfaces pointillées groupent les courbes des rats témoins, les surfaces hachurées celles des rats traités.

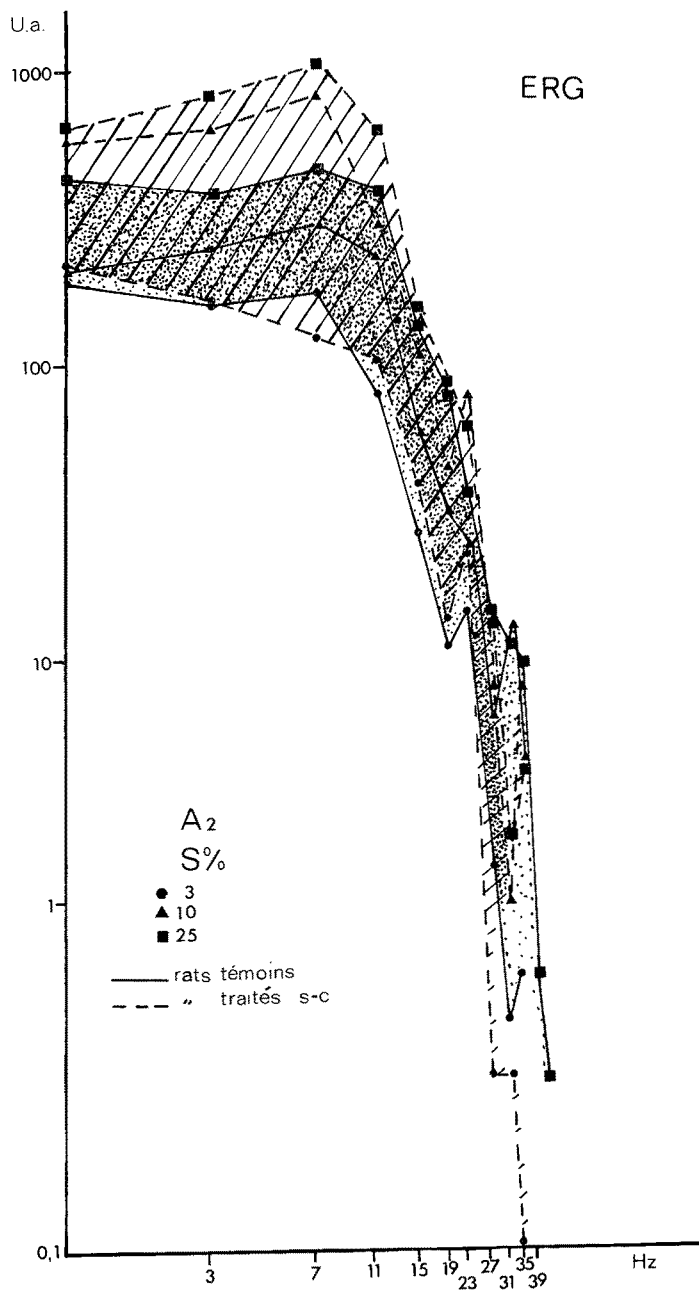


Fig. 4a, b Mêmes courbes avec les mêmes axes que dans les fig. 3a, b, mais en présence d'une ambiance lumineuse de 20 lux.

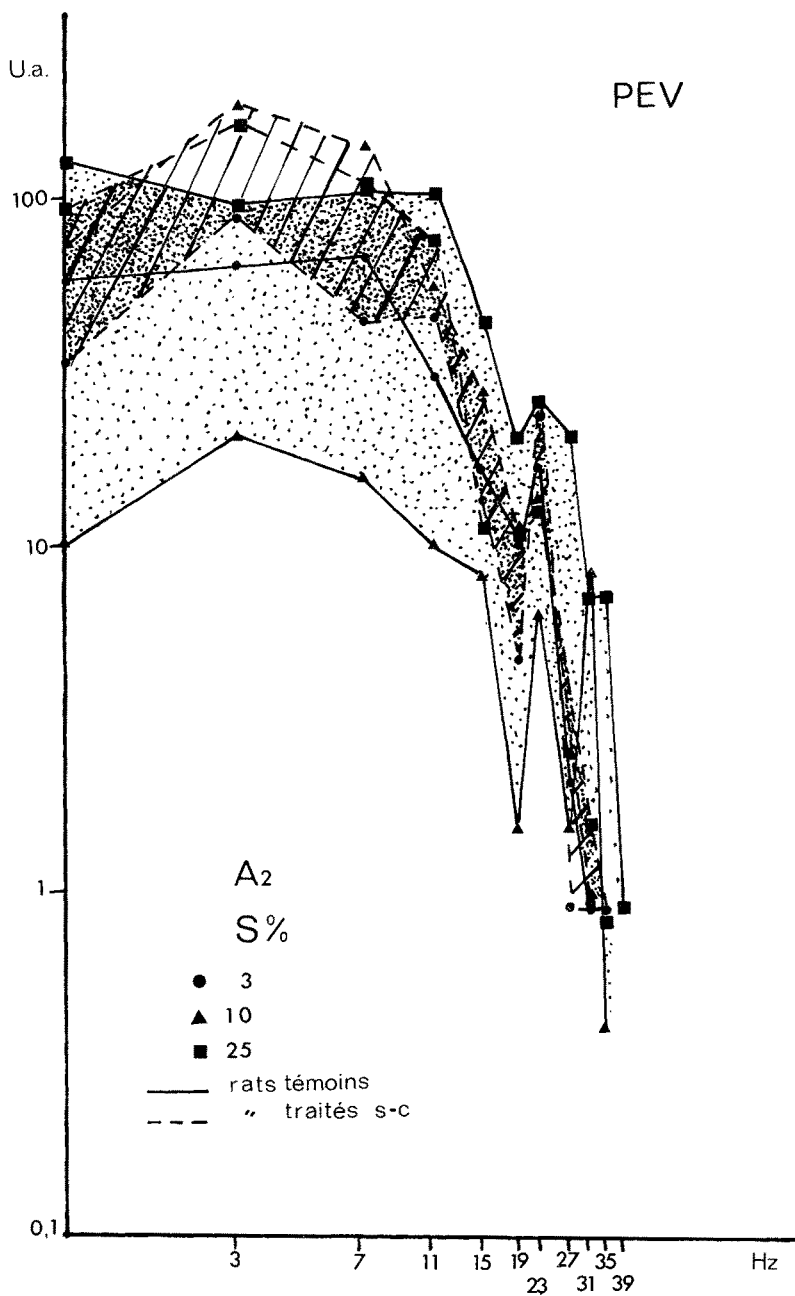


Fig. 4a, b Mêmes courbes avec les mêmes axes que dans les fig. 3a, b, mais en présence d'une ambiance lumineuse de 20 lux.

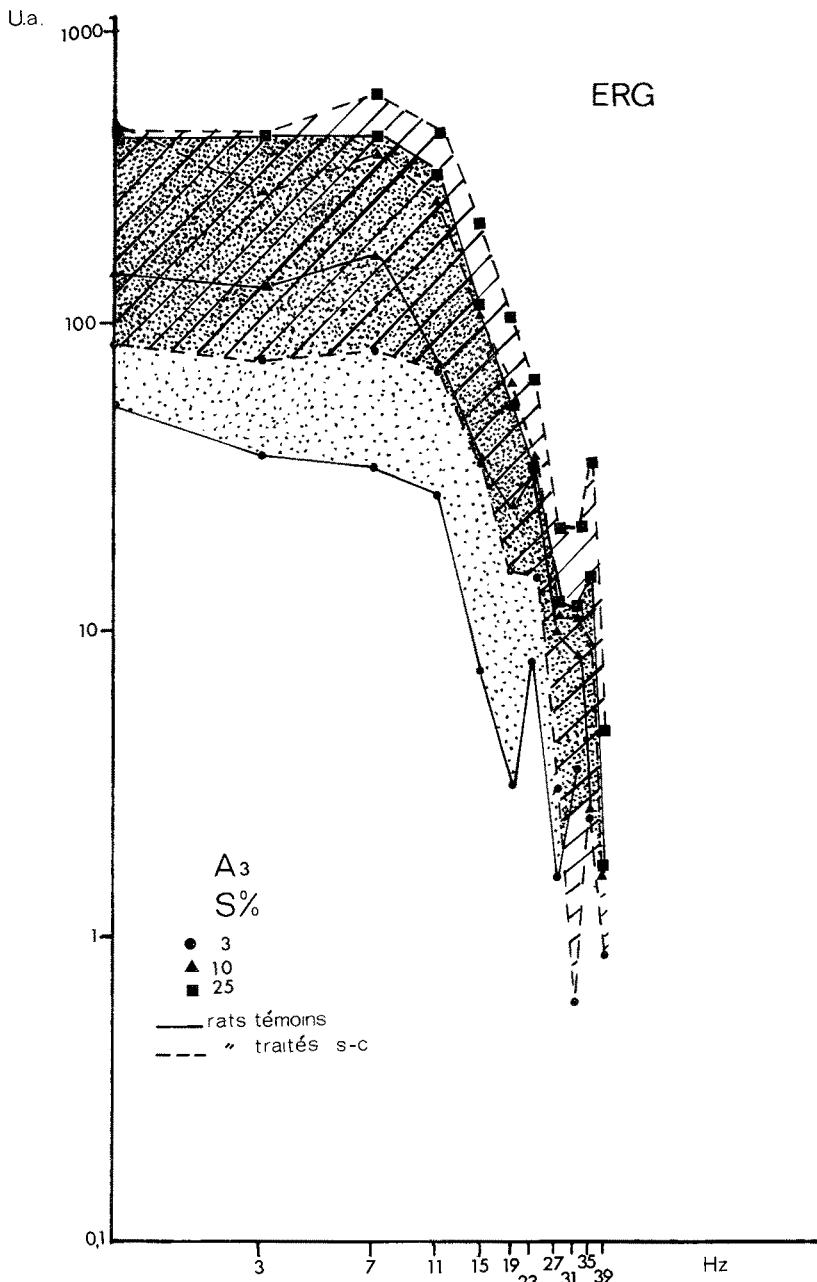


Fig. 5a, b Mêmes courbes avec les mêmes axes que dans les fig. 3a, b, mais en présence d'une ambiance lumineuse de 50 lux.

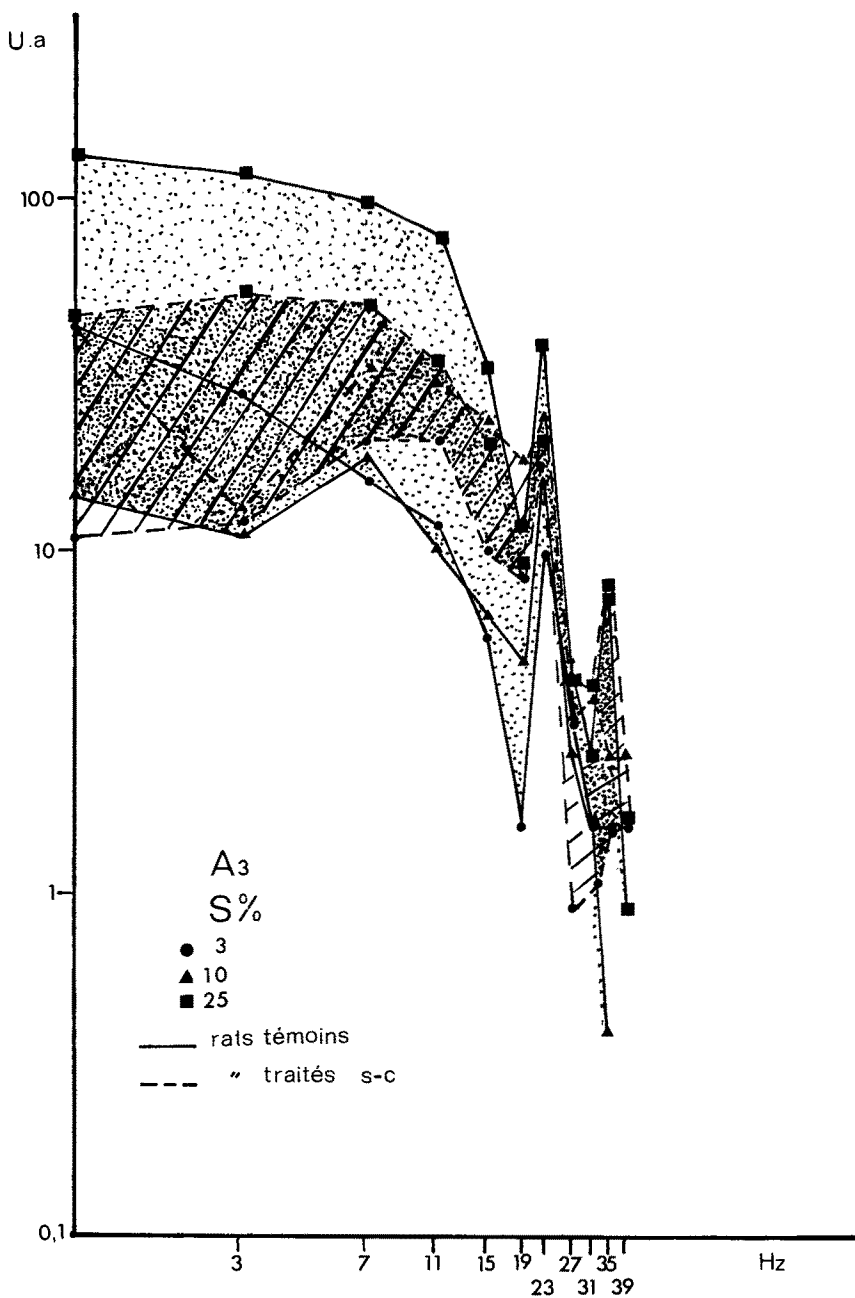


Fig. 5a, b Mêmes courbes avec les mêmes axes que dans les fig. 3a, b, mais en présence d'une ambiance lumineuse de 50 lux.

Discussion

Il semble bien que la courbe d'atténuation puisse être l'expression d'une certaine perturbation du système visuel par une quantité relativement faible d'une substance agissant sur le système nerveux visuel, entre autre. Au stade actuel de notre recherche nous ne saurions dire à quel niveau agit le diméthyle de mercure pour modifier ainsi les caractéristiques d'atténuation. Nous avons souligné la déflexion de la courbe d'atténuation de l'ERG aux alentours de 31 à 35 Hz. Or chez les rats traités au glutamate de sodium, qui élimine la couche interne de la rétine, cette déflexion disparaît. On peut dire que, aux doses utilisées, ce mécanisme n'est pas affecté par le diméthyle de mercure.

Dans la région des fréquences basses et moyennes, tout se passe comme si on se trouvait en présence d'une levée d'inhibition; celle-ci doit avoir lieu dans la rétine puisque la courbe électrorétinographique est perturbée. L'effet d'amplification se produit aussi pour le PEV mais dans ce cas nous ignorons s'il s'agit d'un effet primaire ou secondaire; des études complémentaires seront nécessaires pour éclaircir ce point. Nous ne sommes pas les premiers à faire l'observation d'une levée d'inhibition. Utilisant les réflexes conditionnés, *Lehotzky* et *Bordas* [6] ont noté chez le rat que des doses de 2 mg/kg/jour de chlorure de méthoxyéthyle de mercure (MEMC) exercent une action inhibitrice précoce sur l'activité nerveuse centrale qui se manifeste par une augmentation du temps de latence des réflexes. Cependant, l'administration de doses faibles de 0,2 mg/kg/jour provoque une amélioration passagère de la performance qui se traduit par une diminution de la latence des réflexes, résultant selon ces auteurs de «l'inhibition de centres inhibiteurs non encore définis». Dans notre expérience, nous utilisons une dose plus grande, mais en fait nous ne

savons pas quelle est la fraction active réelle. Si, pour les rats, les mécanismes sont semblables à ceux de la souris, une très faible dose a dû agir; en effet, *Östlund* [10] a montré chez la souris que 80 à 90% du diméthyle de mercure, injecté par voie intraveineuse, étaient exhalés rapidement; 16 heures après l'injection, on ne trouvait plus trace de diméthyle de mercure dans le corps; 24 heures après l'injection, on détectait un métabolite avec une distribution semblable au monométhyle de mercure et se comportant comme tel à la chromatographie en couche mince.

De toute manière, aucun des rats que nous avons examinés n'a montré les signes habituels d'intoxication au mercure (perte de poids, diarrhée, ataxie, tremblements, etc.) pendant toute la période du traitement. Pourtant la courbe d'atténuation semble avoir été assez sensible pour révéler une certaine perturbation du système visuel. Si nous avions mesuré la CFF seulement, l'amplification des réponses nous aurait échappé. Précisons, d'autre part, qu'il est indispensable de trouver des conditions de stimulation adéquates pour bien mettre en évidence ce phénomène. Dans nos conditions, il s'agit d'un stimulus d'intensité moyenne et d'une ambiance faible. Enfin, la simplicité d'obtention de la courbe d'atténuation présente un avantage certain par rapport aux autres tests fonctionnels utilisés tels que les réflexes conditionnés par exemple.

Zusammenfassung

In dieser Arbeit stellt sich die Frage, ob Änderungen in den Frequenzcharakteristika des visuellen Systems als Indikator einer leichten chemischen Vergiftung gebraucht werden könnten. Die Frequenzcharakteristika können auf zwei Arten beschrieben werden: entweder durch die De-Lange-Kurve, das heißt durch Verschmelzungsgrenzen bei flimmerndem Licht von verschiedener Frequenz und Amplitude, oder durch die ins Quadrat erhobene Amplitude des Netzhaut- und Cortex-

potentials bei verschiedenen Flimmerfrequenzen (Abdämpfungskurve). Verglichen mit normalen Ratten, zeigten Ratten, die Dimethyl-Quecksilber (0,55 mg/kg/Tag) bekommen hatten, Abdämpfungskurven, in denen das Gebiet der niedrigen und mittleren Frequenzen erhöht war, während das Gebiet der höheren Frequenzen nicht verändert war. Bei den Tieren äußerten sich keine Vergiftungszeichen. Darum scheint es, daß die normale Erregung des visuellen Systems mit flimmerndem Licht sehr früh verändert wird, obwohl die Vergiftung noch keine funktionellen Störungen produziert hat.

Summary

In this study the question was raised whether attenuation characteristics of the visual system could indicate the amount of disturbance produced on the visual system by toxic chemicals. The attenuation characteristics of the visual system can be described in two ways: on one hand, by the De Lange curve, in which fusion thresholds are plotted versus the frequency of the modulated light, or by the attenuation curve of the ERG or VER amplitudes for an increasing frequency of the light. Dimethyl mercury, at the dosis of .55 mg/kg/day, was used in these experiments. Intoxicated rats showed attenuation curves in which the low and middle frequency region was more enhanced than normally, while the high frequency region was not changed. Meanwhile, the animals did not exhibit any external sign of intoxication. It seems thus, that attenuation characteristics could be helpful in detecting a mild toxic effect before any functional disturbance would be seen.

Remerciements

Ils s'adressent au Professeur J.L. Brown, directeur du Center for visual science de l'Université de Rochester (USA), pour ses utiles suggestions.

Références

- [1] Babel J., Rey P., Stangos N., Meyer J.-J. and Gugenheim P.: The functional examination of the macular and perimacular region with the aid of flicker-fusion thresholds. *Doc. Ophthalmol.* 26, 248—256 (1969).
- [2] De Lange H.: Research into the dynamic nature of

the human fovea-cortex system with intermittent and modulated light. I. Attenuation characteristics with white and colored light. *J. Opt. Soc. Amer.* 48, 380—389 (1958a).

- [3] Fields C.: Visual stimuli and evoked responses in the rat. *Science* 165, 1377—1379 (1969).
- [4] Friberg L. and Vostal J.: Mercury in the environment. An epidemiological and toxicological appraisal. CRC Press, the Chemical Rubber Co., Cleveland 1972, 215 p.
- [5] Hagen U.: Toxikologie organischer Quecksilberverbindungen. Cité par Skerfving S., in: Mercury and the environment. An epidemiological and toxicological appraisal. Eds.: Friberg L. and Vostal J. CRC Press, the Chemical Rubber Co., Cleveland 1972, p. 156.
- [6] Lehotzky K. and Bordas S.: Study on the subacute neurotoxic effect of methoxy-aethyl mercury chloride (MEMC) in rats. *Med. Lavoro* 59, 241—249 (1968).
- [7] Meyer J.-J.: Exploration de la fonction visuelle à l'aide de la lumière intermittente: courbe d'atténuation perceptive et électrorétinogramme de papillotement. Thèse no 1574 de la Faculté des Sciences, Université de Genève 1972, 125 p.
- [8] Meyer J.-J., Rey P., Thorens B. et Beaumanoir A.: Examen de sujets atteints d'un traumatisme cranio-cérébral par un test de perception visuelle: courbe de De Lange. *Arch. Suisses Neurol., Neurochir., Psychiatrie* 108, 213—221 (1971).
- [9] Organisation mondiale de la Santé: Risques pour la santé du fait de l'environnement. Genève 1972, p. 195—199.
- [10] Östlund K.: Studies on the metabolism of methyl mercury and dimethyl mercury in mice. *Acta pharmacol.* 27, Suppl. 1, 1—132 (1969b).
- [11] Rey P., Meyer J.-J., Thorens B. and Stangos N.: The attenuation characteristics of the rat's retina under normal and pathological conditions. *Proc. 7th Symposium of ISCERG, Istanbul 1969*, p. 251—261 (1971).
- [12] Rey P., Meyer J.-J., Thorens B. and Stangos N.: Energy response of the retina in normal and treated rats. *Proc. 8th Symposium of ISCERG, Pisa 1970*, p. 407—426 (1972).
- [13] Rey P., Meyer J.-J. and Brown J.L.: à publier.

Adresse des auteurs:

R. Gramoni, biologiste, et Prof. P. Rey, médecin, Institut de médecine sociale et préventive, 20, quai Ecole-de-Médecine, 1205 Genève.