



**HAL**  
open science

# Potentialisation par le pimozide des effets du LHRH-A sur la secretion gonadotrope hypophysaire, l'ovulation et la spermutation chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*)

Roland Billard, K. Alagarswami, R.E. Peter, Bernard Breton

## ► To cite this version:

Roland Billard, K. Alagarswami, R.E. Peter, Bernard Breton. Potentialisation par le pimozide des effets du LHRH-A sur la secretion gonadotrope hypophysaire, l'ovulation et la spermutation chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*). Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série III, Sciences de la vie, 1983, 296, pp.181-184. hal-02728480

**HAL Id: hal-02728480**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02728480>**

Submitted on 2 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

**PHYSIOLOGIE ANIMALE.** — *Potentialisation par le pimozide des effets du LHRH-A sur la sécrétion gonadotrope hypophysaire, l'ovulation et la spermiation chez la Carpe commune (Cyprinus carpio).* Note (\*) de **Roland Billard, Karuppan Alagarwami, Richard E. Peter et Bernard Breton**, présentée par Maurice Fontaine.

Un analogue de LHRH (LHRH-A = D-Trp<sup>6</sup>EA-LHRH) a été administré seul (50 µg/kg) ou en association avec un inhibiteur de la dopamine, le pimozide, (10 mg/kg) à des Carpes mâles et femelles adultes en août durant la période de reproduction. Le LHRH-A entraîne une élévation significative de la gonadotropine circulante, forte chez le mâle, mais plus faible chez la femelle. Il y a stimulation de la spermiation chez le mâle et maturation ovocytaire chez la femelle mais pas ovulation. L'injection de pimozide puis de LHRH-A 6 h plus tard a significativement amplifié la sécrétion de c-GTH et la spermiation par rapport au LHRH-A et a induit des ovulations chez les femelles.

**ANIMAL PHYSIOLOGY.** — *The Use of Pimozide to Potentialize the Effects of LHRH-A on Pituitary Gonadotropin Secretion: Ovulation and Spermiation in Common Carp (Cyprinus carpio).*

*During the reproductive season in August, we administered to adult male and female Carp an LHRH analog (LHRH-A = D-trp<sup>6</sup>EA-LHRH) (50 µg/kg) alone or in association with pimozide, a dopamine inhibitor (10 mg/kg). LHRH-A caused the circulating portal level of gonadotropin to rise significantly in males and less in females. Spermiation was stimulated in the males and oocyte maturation in females but there was no ovulation. An injection of pimozide and then of LHRH-A 6 h later significantly increased c-GTH secretion and spermiation more than LHRH-A given alone, and induced ovulation in the females.*

Dans les élevages piscicoles, on a souvent recours à des suppléments hormonaux pour stimuler, induire, avancer ou synchroniser la libération des gamètes (ovulation et spermiation). Cette technique dite d'hypophysation fait le plus généralement appel à des préparations gonadotropes hypophysaires pisciaires brutes ou plus ou moins purifiées [1], à des hormones gonadotrope mammaliennes comme HCG [2], ou à des stéroïdes sexuels comme la 17 $\alpha$ -hydroxy-20  $\beta$ -dihydroprogesterone seule ou en association avec des gonadotropines ([3]-[4]). L'usage de ces hormones pose un certain nombre de problèmes : rareté et spécificité zoologique pour les gonadotropines hypophysaires, spécificité zoologique et développement d'anticorps pour HCG, tandis que l'usage des progestagènes, surtout pratiqué sur les Salmonidés jusqu'à présent, se limite à une synchronisation des ovulations au cours de la période normale de reproduction [4] et ne permet pas d'avancer les ovulations [3]. Le facteur hypothalamique mammalien de libération des gonadotropines, LHRH (ou son analogue LHRH-A), a été utilisé avec succès sur quelques espèces de téléostéens : Poissons phytophages en Chine [5], certains salmonidés ([6]-[7]), la Carpe commune [8], la Tanche [9] et le Loup [10]. Cependant les doses nécessaires sont beaucoup plus élevées que chez les Mammifères et peuvent dépasser 50 µg/kg de poids corporel. La découverte d'une inhibition de l'action du LHRH sur la sécrétion de la gonadotropine hypophysaire par la dopamine chez le Poisson rouge [11] a conduit à employer un inhibiteur de la dopamine, le pimozide et à potentialiser ainsi les effets du LHRH-A injecté à des Poissons rouges [12]. Nous avons voulu, dans le présent travail, vérifier si une telle action pouvait se retrouver chez un cyprinidé domestique, la Carpe commune, en se référant à la sécrétion gonadotrope hypophysaire et à la libération des gamètes, ovulation et spermiation.

**MATÉRIEL ET MÉTHODES.** — Les animaux utilisés proviennent de l'élevage du laboratoire de Jouy-en-Josas; l'origine et l'élevage ont déjà été décrits [13]. L'expérimentation s'est déroulée en août 1982 et la température de l'eau a varié entre 16 et 19°C.

Les animaux n'ont pas été nourris pendant la durée de l'expérience. Quatre lots de 10 mâles et 4 lots de 6-7 femelles sont constitués et reçoivent un traitement séquentiel, espacé de 6 h (1<sup>re</sup> injection à 11 h 00, 2<sup>e</sup> injection à 17 h 00) et comportant l'administration intra-péritonéale d'abord du pimozide (Janssen — 10 mg/kg de poids) ou de son solvant (solution de NaCl à 6p. mille acidifiée par addition de 200 µl d'acide acétique par litre). Le

LHRH-A (D-Trp<sup>6</sup>EA-LHRH) ou le solvant (solution saline à 6p. mille non acidifiée) est ensuite administré (voir tableaux I et II).

Chez les femelles, une biopsie ovarienne est pratiquée à l'aide d'un cathéter introduit par l'oviducte et la position de la vésicule germinative (V.G.) est vérifiée individuellement après fixation dans le liquide de Serra; 24 h après la 2<sup>e</sup> injection, les femelles sont examinées périodiquement (environ toutes les 12 h). La position de la V.G. et l'état d'avancement de la maturation ovocytaire sont vérifiés sur les femelles non ovulées. Chez les mâles, le sperme est prélevé 1 jour avant l'injection ( $J_{-1}$ ), le jour de l'injection ( $J_0$ ) et 1, 2, 3, et 5 jours plus tard. Le volume du sperme est mesuré et la concentration en spermatozoïdes de la laitance est mesurée par transmission dans un photomètre  $\lambda=410$  nm [14]. Un prélèvement quotidien de sang est pratiqué dans la vasculature caudale et le plasma est stocké à  $-20^{\circ}\text{C}$  avant dosage de la gonadotropine c-GTH par radioimmunologie [15]. Les valeurs sont données avec la déviation standard (DS) et les comparaisons sont faites par analyse de variance.

**RÉSULTATS.** — Chez les femelles, seul le traitement pimozide + LHRH-A a provoqué des ovulations, le traitement avec le LHRH-A ne provoquant que la maturation. Aucun

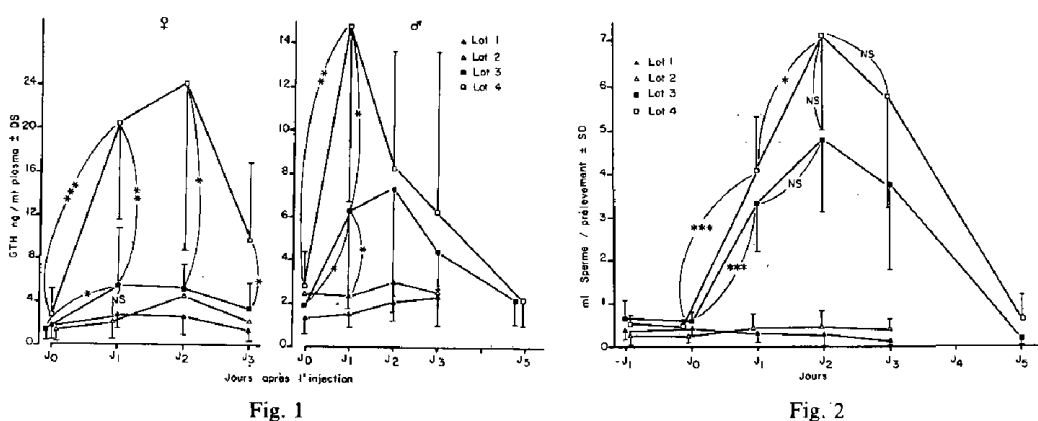


Fig. 1. — Évolution des teneurs plasmatiques en c-GTH après injection de solvant (lot 1), de pimozide (lot 2), de LHRH-A (lot 3) et de pimozide + LHRH-A (lot 4) à des Carpes communes femelles (à gauche) et mâles (à droite). N.S. non significatif, (\*\*\*) :  $P < 0,001$ , (\*\*) :  $P < 0,01$ , (\*) :  $P < 0,05$ . A noter que l'échelle des ordonnées des mâles est différente de celle des femelles.

Fig. 1. — Changes in plasma GTH after injection of saline (lot 1), pimozide (lot 2), LHRH-A (lot 3) and pimozide + LHRH-A (lot 4) to female (left) and male (right) common Carp. The ordinate scale is different for males and females.

Fig. 2. — Évolution des volumes de laitance récoltée 1 jour avant l'administration du traitement ( $J_{-1}$ ), le jour du traitement ( $J_0$ ) et les jours suivants  $J_1, J_2, J_3, J_5$ . Le détail des traitements est donné dans la légende de la figure 1 et des tableaux. Les sigles statistiques sont définis dans la légende de la figure 1.

Fig. 2. — Changes in the volume of milt collected 1 day before treatment ( $J_{-1}$ ), the day of treatment ( $J_0$ ), and the following days  $J_1, J_2, J_3, J_5$ . Same caption as figure 1 and table I.

changement n'est décelable dans les lots traités au pimozide seul ou recevant le solvant (tableau I). La c-GTH plasmatique ne varie pas significativement dans ces deux groupes (fig. 1). Le LHRH-A ne provoque qu'une augmentation légère de la c-GTH circulante, mais significative à 5 %. Par contre la combinaison pimozide + LHRH-A provoque une très forte augmentation de la c-GTH ( $P < 0,001$ ) qui reste significativement plus élevée que dans le lot LHRH-A seul pendant 2 jours.

Chez les mâles il y a une élévation très importante et hautement significative ( $P < 0,001$ ) des volumes de sperme recueillis au cours des 2 premiers jours dans les lots 3 et 4 (fig. 2). L'augmentation est moins marquée dans le lot ne recevant que le LHRH-A mais les différences entre les lots 3 et 4 ne sont pas significatives. Par contre, lorsque les productions des jours 1, 2 et 3 sont rassemblées, elles sont significativement plus élevées dans le lot 4 traité au pimozide + LHRH-A que dans le lot 3 ne recevant que le LHRH-A seul (tableau II). Les teneurs plasmatiques en c-GTH augmentent très fortement et

significativement ( $P < 0,001$  pour le lot 4 et  $P < 0,05$  pour le lot 3) 24 h après le traitement (fig 1). Cette élévation à  $J_1$  est significativement plus forte dans le lot 4 que dans le lot 3 ( $P < 0,05$ ), mais les niveaux atteints dans le lot 3 à  $J_1$  ne sont pas significativement différents des niveaux des lots témoins 1 et 2.

DISCUSSION. — L'élévation de la sécrétion gonadotrope hypophysaire faisant suite à une injection de LHRH-A ou de LHRH a déjà été observée chez la Carpe et le Carassin ([16]-[17]-[18]). Le présent travail montre que cette élévation est amplifiée significativement par l'administration de pimozide à la dose de 10 mg/kg, 6 h avant l'injection de LHRH-

TABLEAU I  
Nombre de femelles ovulées et quantité d'ovules recueillis  
après traitement combiné pimozide-LHRH-A.  
*Number of ovulated females and weight of egg collected.*

Lot	Traitements (dose par kg)	n	Poids	n maturation ovocytaire	Ovulations	
					n	g d'ovules
1	Solvant- solvant	6	2524 ± 590	0	0	--
2	Pimozide (10 mg)- solvant	6	1991 ± 711	0	0	---
3	Solvant- LHRH-4 (50 µg)	6	2274 ± 546	6	0	--
4	Pimozide (10 mg)- LHRH-A (50 µg)	7	2978 ± 908	3	3 + 1 <sup>(a)</sup>	207 ± 102 <sup>(b)</sup>

<sup>(a)</sup> Une femelle n'a ovulé que très partiellement (10 g d'ovules).

<sup>(b)</sup> Cette moyenne ne comprend pas la femelle ayant produit 10 g d'ovules.

<sup>(c)</sup> One female has yielded only 10 g of egg which are not included in the average <sup>(b)</sup>.

TABLEAU II

Volume total de sperme et nombre de spermatozoïdes collectés dans les quatre lots au cours de la période de prélèvement allant de  $J_1$  à  $J_3$ .  
<sup>(a)</sup> comparaison du nombre de spermatozoïdes collectés entre les lots 3 et 4 à la limite de la signification; analyse de variance :  $F = 4,26$  DL 1/18, NS = non significatif, (\*)  $P < 0,05$ , (\*\*\*)  $P < 0,001$ .

Total volume of milt and number spermatozoa collected in the 4 groups ( $J_1 + J_2 + J_3$ ). <sup>(a)</sup> The number of spermatozoa in groups 3 and 4 approach  $P \pm 0.05$ .

Lot	Traitements	n	Poids moyen (g)	Volume sperme	% poids corps	Nombre total de spermatozoïdes	
						10 <sup>9</sup> /mâle	10 <sup>6</sup> /g poids corps
1	Solvant-solvant	10	1284 ± 282	1,03 ± 1,02	0,08	35,046 ± 38,8	27,29
2	Pimozide-solvant	10	1324 ± 213	1,40 ± 10,2	0,11	42,794 ± 33,27	32,32
3	Solvant-LHRH-A	10	1324 ± 255	11,82 ± 6,44	0,89	325,94 ± 175,2 <sup>(a)</sup>	246,18
4	Pimozide-LHRH-A	10	1501 ± 191	19,11 ± 6,48 <sup>(*)</sup>			
Comparaison par analyse de variance			NS	(***)		(***)	

A. Chez la femelle, l'élévation due au LHRH-A seul reste faible et ne permet d'obtenir que des maturations ovocytaires mais pas d'ovulation. L'association pimozide-LHRH-A permet d'obtenir quatre ovulations (dont une très partielle) sur 7 femelles. Chez le mâle, l'élévation de la c-GTH est moindre que chez la femelle après traitement pimozide LHRH-A, alors qu'elle est plus forte après injection de LHRH-A seul. Les différences dans la réponse biologique qui en résulte (spermiation) apparaissent faibles entre les deux lots, bien que significatives si l'on cumule les volumes collectés au cours des 3 premiers jours (tableau I). Par contre le pimozide seul ne stimule pas la sécrétion gonadotrope hypophysaire. On retrouve ainsi chez la Carpe des résultats obtenus chez le Poisson

rouge [12]. Il semblerait donc, que chez la Carpe, comme chez le Poisson rouge, la dopamine soit impliquée dans un système inhibiteur de la sécrétion gonadotrope [18] dont l'existence est suggérée par ailleurs par des expériences de lésions hypothalamiques [8]. On peut supposer que la décharge gonadotrope ovulante soit due à la levée d'un tel système inhibiteur sous l'influence de divers facteurs de l'environnement. La possibilité de lever expérimentalement cette inhibition dans les espèces où elle existe, ouvre de nouvelles perspectives à la technique d'hypophysation. De nouvelles recherches restent nécessaires pour améliorer l'efficacité de la méthode éprouvée ici, en particulier en réduisant les doses de pimozide et de LHRH-A mises en œuvre.

(\*) Remise le 29 novembre 1982, acceptée le 20 décembre 1982.

- [1] R. J. HARVEY et W. S. HOAR, *Int. Dev. Res. Center Ottawa*, TS21, 1979, 47 p.  
 [2] H. GORDIN et Z. ZOHAR, *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18, 1978, p. 985-990.  
 [3] B. JALABERT, B. BRETON et A. FOSTIER, *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18, 1978, p. 977-984.  
 [4] C. BRY, *Aquaculture*, 24, 1981, p. 153-160.  
 [5] Conference on application of hormones to economic fish, Transl. FMS 4186 from *Chinese Xerus Tong-Bao*, 20, 1975, p. 43-48, *Sci. Sin.*, 20, 1977, p. 469-474.  
 [6] E. M. DONALDSON, G. A. HUNTER et H. M. DYE, *Aquaculture*, 26, 1981, p. 126-141.  
 [7] L. W. CRIM, D. M. EVANS et B. H. VICKERY, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1983, in press; C. WEIL et L. W. CRIM, *Aquaculture*, 1983, in press.  
 [8] K. BIENIARZ, L. W. CRIM, R. E. PETER et R. BILLARD, données non publiées.  
 [9] J. KOURIL, T. BARTH et Bul. VURN, *Vodnany*, 1, 1981, p. 13-18.  
 [10] G. BARNABE et R. BILLARD, données non publiées.  
 [11] R. E. PETER, J. P. CHANG et A. F. COOK, *9th Intern. Symp. Comp. Endocrinol.*, Hong-Kong, 1981, p. 64.  
 [12] J. P. CHANG et R. E. PETER, *Proceeding Intern. Symp. Repr. Physiol. Fish*, Wageningen, 1982, p. 51.  
 [13] C. WEIL, *Thèse Doctorat d'Etat*, Univ. Paris-VI, 1981, 250 p.  
 [14] R. BILLARD, J. P. CHOISIS et P. REINAUD, *Aquaculture*, 1983 (sous presse).  
 [15] B. BRETON, G. KANN, E. BURZAWA-GERARD et R. BILLARD, *Comptes rendus*, 272, série D, 1971, p. 1515.  
 [16] F. TAKASHIMA, C. WEIL, R. BILLARD, L. W. CRIM et A. FOSTIER, *Jap. J. Sci. Soc. Fish*, 1983, in press.  
 [17] R. E. PETER, *Can. J. Zool.*, 58, 1980, p. 1100-1104.  
 [18] R. E. PETER et C. R. PAULENCU, *Neuroendocrinology*, 31, 1980, p. 133-141.  
 [19] Ce travail a bénéficié de l'assistance de P. Reinaud et E. Sambroni. Le financement en a été assuré par une A.T.P. C.N.R.S.-CNEXO. K.A. a bénéficié d'une bourse F.A.O. et R.E.P. d'une bourse I.N.R.A. Le pimozide a été aimablement fourni par Janssen-Lebrun.

R. B. et B. B. : I.N.R.A., Laboratoire de Physiologie des Poissons,  
Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cedex, France;

K. A. : Central Marine Fisheries Research Institute,  
Post Bag 1912, Cochin 682018, Inde;

R. E. P. : Department of Zoology, University of Alberta,  
Edmonton, Alberta T6G 2E9, Canada.