

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FERHAT ABBAS - SETIF

جامعة فرحات عباس - سطيف

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

## **THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES**

### **OPTION BIOCHIMIE**

Présentée et soutenue publiquement par :

**Mme HAMADOUCHE Née ALLOUCHE LYNDA**

**Effet de l'intoxication chronique au plomb  
à faibles concentrations sur la qualité  
du sperme, les hormones gonadotrophines  
et la testostérone chez le rat**

Devant la commission d'examen composée de :

Président : **Pr. T. MADANI**, Université FERHAT ABBAS - Sétif

Promoteur : **Pr. A. TOUABTI**, Université FERHAT ABBAS - Sétif

Examineurs : **Dr. H. BELMAHI**, Université MENTOURI - Constantine

**Dr. N. DJEBLI**, Université de Mostaganem

**Dr. M. IGUEROUADA**, Université Abdérahmane MIRA-Bejaia

**Dr. S. KHENOUF**, Université FERHAT ABBAS - Sétif

Année universitaire 2008/2009

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

A mes parents

A mon mari

A mes enfants

A mes sœurs et frères

A toute ma famille

## Remerciements

Louange à *ALLAH*, seigneur de l'univers, le tout puissant et miséricordieux, qui m'a inspirée et comblée de bienfaits, je lui rends grâce.

Je remercie le Professeur Abderrezak TOUABTI, Médecin Chef du Laboratoire central du CHU de Sétif et Doyen de la Faculté de Médecine de l'Université FERHAT ABBAS de Sétif pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant de diriger cette étude.

J'adresse aussi mes vifs remerciements au Pr T. MADANI d'avoir accepté la présidence du jury malgré ses lourdes tâches au niveau du Département d'agronomie.

J'adresse également mes remerciements à tous les membres du jury qui n'ont pas hésité un instant pour juger mon travail:

- Dr S. KHENOUF, malgré ses lourdes tâches au niveau du Département de Biologie.
- Dr BELMAHI, toxicologue au CHU de Constantine, Dr M. IGUEROUADA, vétérinaire biologiste à l'université de Bejaia, ainsi que Dr. N. DJEBLI de l'université de Mostaganem qui en dépit de leur éloignement, ont tenu à faire partie du jury.

Je remercie l'A.N.D.R.S. (Agence Nationale pour le Développement de la Recherche en Santé) d'avoir financé cette recherche dans le cadre d'un projet de jeune chercheur.

Je remercie beaucoup le Pr D. BENACHOUR du département de génie des procédés de m'avoir ouvert les portes de son laboratoire afin de mener ma recherche.

Je remercie le Pr BOUNAKHAL du département de génie des procédés d'avoir mis ses moyens à ma disposition.

Je tiens à remercier tous mes collègues pour leur aide.

Je tiens à manifester ma gratitude à mon époux pour son aide et son soutien tout au long de la réalisation de ce travail de recherche.

Je tiens à remercier ma chère mère et ma petite sœur Amina qui ont veillé sur mes enfants pendant mon absence pour achever ce travail.

Enfin, que tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.

*A toutes ces personnes, Merci.*

## ABREVIATIONS UTILISEES DANS LE TEXTE

ABP : *androgen binding protein*

ACGIH : *American Conference of Government Industrial Hygienists*

AcPb : acétate de plomb

ADN : adénosine désoxyribonucléique

ALA : acide delta aminolévulinique

ALA-U : acide delta aminolévulinique urinaire

ARN : adénosine ribonucléique

ASP : abdomen sans préparation

ATP : adénine triphosphate

BGP : *bone gamma-carboxy-glutamic acid protein*

CCE : Commission des Communautés Européennes

CPK : protéine kinase C

ERO : espèces réactives de l'oxygène

FSH : *follicle stimulating hormone*

GABA : acide gamma-aminobutyrique

GH : *growth hormone*

GnRH : *gonadotropin releasing hormone*

GR : globules rouges

Hb : hémoglobine

HGB : hématies à granulations basophiles

HTA : hypertension artérielle

IgG : immunoglobuline G

IV : intraveineuse

IP : intrapéritonéale

LDH : lactate-déshydrogénase

LH : *luteizing hormone*

LTP : potentialisation à long terme

MGW : May Grue Wald

NFS : numération formule sanguine

NMDA : N- methyl -D-aspartate

OSHA : *Occupational Safety and Health Administration*

PKR : protéine kinase R

Pb : plomb

PbAc : acétate de plomb

PKC : voir CPK

PPM : part par million

PPZ : protoporphyrine zinc

PVC : polychlorure de vinyl

RBP : *retinol binding protein*

RNAm : adénosine ribonucléique messenger

RX : rayons X

SGOT : transaminase glutamique-oxaloacétique

SGPT : transaminase glutamique-pyruvique

TSH : *thyroid stimulating hormone*

UV : rayons ultraviolets

VDR : *Vitamine D Receptor*

VME : valeur moyenne d'exposition

## Liste des tableaux

	Page
<b>Tableau 1 :</b> Teneurs limites en plomb proposées en 1998 par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France .....	9
<b>Tableau 2 :</b> Synthèse de l'hème et effet de l'exposition au plomb .....	27
<b>Tableau 3 :</b> Produits utilisés.....	50
<b>Tableau 4 :</b> Gain de poids corporel et poids absolu et relatif des organes du système reproducteur .....	58
<b>Tableau 5 :</b> Siège des anomalies des spermatozoïdes (%).....	66

## Liste des figures

	Page
<b>Figure 1</b> : Appareil reproducteur mâle .....	42
<b>Figure 2</b> : Coupe d'un testicule .....	44
<b>Figure 3</b> : Mécanisme d'action de FSH, LH et testostérone .....	49
<b>Figure 4</b> : Schéma de la cellule de Malassez .....	54
<b>Figure 5</b> : Vitesse de progression des spermatozoïdes .....	59
<b>Figure 6</b> : Taux de mobilité des spermatozoïdes .....	59
<b>Figure 7</b> : Taux de spermatozoïdes progressifs rapides .....	60
<b>Figure 8</b> : Taux de spermatozoïdes progressifs moyens .....	61
<b>Figure 9</b> : Taux de spermatozoïdes non progressifs .....	61
<b>Figure 10</b> : Taux de spermatozoïdes immobiles.....	62
<b>Figure 11</b> : Numération des spermatozoïdes .....	63
<b>Figure 12</b> : Taux de mortalité des spermatozoïdes.....	63
<b>Figure 13</b> : Spermatozoïdes vivants d'un rat du groupe témoin .....	64
<b>Figure 14</b> : Spermatozoïde vivant (a) et Spermatozoïde mort (b) .....	64
<b>Figure 15</b> : Taux d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes.....	65
<b>Figure 16</b> : Spermatozoïde normal d'un rat du groupe témoin .....	67
<b>Figure 17</b> : Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête d'un rat exposé à 0,1% PbAc .....	67
<b>Figure 18</b> : Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête d'un rat exposé à 0,3% PbAc .....	68
<b>Figure 19</b> : Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête d'un rat exposé à 0,1% PbAc .....	68
<b>Figure 20</b> : Spermatozoïde mort présentant une anomalie de la queue d'un rat exposé à 0,1% PbAc .....	69
<b>Figure 21</b> : Spermatozoïde mort présentant une anomalie de la queue d'un rat exposé à 0,1% PbAc .....	69
<b>Figure 22</b> : Spermatozoïde mort présentant une anomalie de la queue .....	70
<b>Figure 23</b> : Spermatozoïde présentant une anomalie de la pièce intermédiaire ....	70
<b>Figure 24</b> : Spermatozoïde présentant une anomalie de la queue (a) et une anomalie de la pièce intermédiaire (b) .....	71
<b>Figure 25</b> : Spermatozoïde décapité avec seulement une queue.....	71



<b>Figure 26</b> : Spermatozoïde décapité avec une tête détachée d'un rat du groupe témoin.....	72
<b>Figure 27</b> : Taux de FSH sérique.....	73
<b>Figure 28</b> : Taux de LH sérique.....	73
<b>Figure 29</b> : Taux de testostérone sérique.....	74
<b>Figure 30</b> : Schéma de l'axe hypothalamo-hypophyséogonadique .....	87

# SOMMAIRE

	Page
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>3</b>
I.1. Propriétés physico-chimiques du plomb.....	3
I.2. Utilisations et sources d'exposition au plomb .....	4
I.2.1. Industrielles.....	4
I.2.1.1. Le Métal .....	4
I.2.1.2. Oxydes et hydroxydes de plomb .....	4
I.2.1.3. Sels de plomb .....	4
I.2.2. Agricoles.....	5
I.2.3. Médicamenteuses.....	5
I.2.4. Environnement .....	5
I.2.4.1. Air .....	5
I.2.4.2. Eau .....	7
I.2.4.3. Aliments .....	7
I.2.5. Tabac .....	8
I.2.6. Intoxications accidentelles .....	9
I.2.6.1. Récipients .....	9
I.2.6.2. Domestique .....	9
I.2.6.3. Alimentaires .....	9
I.2.6.4. Autres .....	10
I.3. Métabolisme du plomb .....	10
I.3.1. Absorption.....	10
I.3.1.1. Absorption digestive .....	11
I.3.1.2. Absorption pulmonaire .....	11
I.3.1.3. Absorption cutanée .....	12
I.3.2. Distribution.....	12
I.3.3. Excrétion.....	13
I.4. Toxicité du plomb .....	14
I.4.1. Forme hématologique .....	14
I.4.1.1. Anémie .....	14

I.4.1.2. Hématies à granulations basophiles .....	15
I.4.2. Forme digestive .....	15
I.4.2.1. Gastrite et oesophagite aiguës .....	15
I.4.2.2. Manifestations digestives non spécifiques .....	15
I.4.2.3. Colique de plomb .....	15
I.4.2.4. Le liseré de Burton et les tâches de Gubler .....	16
I.4.3. Forme neurologique .....	16
I.4.3.1. Encéphalopathie saturnine .....	16
I.4.3.2. La neuropathie périphérique .....	17
I.4.4. Formes rénales .....	17
I.4.4.1. Formes rénales subaiguës .....	17
I.4.4.2. Formes rénales chroniques .....	18
I.4.4.3. La goutte saturnine .....	18
I.4.5. Effets sur les os.....	18
I.4.6. Effet cancérogène.....	19
I.4.7. Effets sur la reproduction.....	20
I.4.7.1. Etudes chez l'homme .....	20
I.4.7.2. Etudes chez l'animal .....	21
I.4.8. Atteinte vasculaire.....	22
I.4.8.1. Hypertension artérielle .....	22
I.4.8.2. Les lésions rétiniennes de Sonkin .....	23
I.4.9. Effets cardiaques .....	23
I.4.10. Atteinte de la thyroïde .....	23
I.4.11. Altération des acquisitions .....	24
I.4.12. Action sur les mécanismes immunologiques .....	25
I.4.13. Action mutagène .....	25
I.4.14. Action génotoxique .....	26
I.4.15. Action sur diverses enzymes .....	26
I.4.16. Autres .....	26
I.5. Mécanisme d'action .....	26
I.5.1. Atteinte hématologique .....	27
I.5.1.1. Interférence avec la synthèse de l'hème .....	27

I.5.1.2. Altérations morphologiques des globules rouges dans la moelle osseuse .....	28
I.5.1.3. Effet sur les globules rouges circulants .....	28
I.5.2. Similarité du plomb libre ionisé (Pb <sup>++</sup> ) avec des cations divalents essentiels .....	29
I.5.2.1. Perturbation de la synthèse de l'hème .....	29
I.5.2.2. Protéines à haute affinité .....	29
I.5.2.3. Protéines à doigt de Zinc "Zinc finger proteins" .....	30
I.5.2.4. Perturbation de l'homéostasie calcique .....	30
I.5.3. Stress oxydatif .....	31
I.5.4. Susceptibilité génétique .....	31
I.6. Tests biologiques .....	32
I.6.1. Tests reflétant l'exposition .....	32
I.6.1.1. Plombémie .....	32
I.6.1.2. Plomburie .....	33
I.6.1.3. Plomburie provoquée .....	33
I.6.1.4. Plomb dans les cheveux .....	33
I.6.1.5. Plomb dans les os .....	34
I.6.2. Tests reflétant l'intoxication .....	34
I.6.2.1. NFS .....	34
I.6.2.2. Hématies à granulations basophiles .....	34
I.6.2.3. ALA-U .....	34
I.6.2.4. ALAD .....	35
I.6.2.5. PPZ .....	35
I.6.2.6. Coproporphyrinurie .....	36
I.6.2.7. Porphobilinogène urinaire .....	36
I.6.2.8. Pyrimidine 5'nucléotidase érythrocytaire .....	36
I.6.2.9. Urée sanguine .....	37
I.6.2.10. Erythropoïétine .....	37
I.7. Traitement .....	37
I.7.1. Traitement spécifique.....	37
I.7.1.1. E.D.T.A. (acide éthylènediaminetétraacétique) .....	37
I.7.1.2. DTPA (acide diéthylénetriaminepentaacétique) .....	38

I.7.1.3. Pénicillamine ( $\beta$ , $\beta$ -diméthylcystéine) .....	38
I.7.1.4. BAL (British anti-lewisite ou Dimercaprol) .....	38
I.7.1.5. DMSA (acide dimercaptosuccinique) .....	38
I.7.2. Traitement symptomatique.....	38
I.8. Prévention.....	39
I.8.1. En milieu professionnel .....	39
I.8.1.1. Prévention technique .....	39
I.8.1.2. Prévention médicale : surveillance médicale spéciale .....	40
I.8.1.3. Education du personnel .....	40
I.8.2. En milieu extraprofessionnel .....	40
I.9. Rappel sur le système reproducteur male.....	41
I. 9.1. Appareil génital male.....	41
I.9.1.1. Les testicules .....	42
I.9.1.2. Le scrotum .....	42
I.9.1.3. L'épididyme .....	43
I.9.1.4. Le canal déférent .....	43
I.9.1.5. L'urètre du mâle (canal uro-génital) .....	43
I.9.1.6. Les glandes annexes .....	43
I.9.2. Spermatogenèse.....	45
I.9.2.1. Stades du développement de la spermatogenèse .....	45
I.9.3. Régulation hormonale de la spermatogenèse.....	47
I.9.3.1. Contrôle par rétroaction des fonctions des testicules.....	47
I.9.3.2. Rôle de la testostérone et de FSH dans la spermatogenèse .....	48
<b>CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>50</b>
II.1. Produits utilisés.....	50
II.2. Protocole expérimental.....	51
II.3. Nécropsie et dosage des hormones .....	51
II.4. Poids corporel et le poids des organes sexuels.....	52
II.5. Etude de la qualité du sperme.....	52
II.5.1. Obtention des spermatozoïdes épидидymaires.....	52
II.5.2. Vitesse progressive des spermatozoïdes.....	53
II.5.3. Mobilité des spermatozoïdes.....	53
II.5.4. Classification de la mobilité des spermatozoïdes.....	54

II.5.5. Numération des spermatozoïdes.....	54
II.5.6. Etude de la viabilité et de la morphologie des spermatozoïdes.....	55
II.6. Analyse statistique.....	56
<b>CHAPITRE III : RESULTATS.....</b>	<b>57</b>
III.1. Signes cliniques et poids corporel des animaux .....	57
III.2. Étude du poids des organes sexuels.....	57
III.3. Vitesse de progression des spermatozoïdes.....	57
III.4. Mobilité des spermatozoïdes.....	57
III.5. Classification de la mobilité des spermatozoïdes.....	60
III.6. Numération des spermatozoïdes.....	62
III.7. Mortalité des spermatozoïdes.....	62
III.8. Anomalies morphologiques des spermatozoïdes.....	63
III.8.1. Anomalies totales.....	63
III.8.2. Types d'anomalies observées.....	64
III.9. Concentrations sériques des hormones FSH, LH et testostérone.....	72
III. 9.1. Concentrations de FSH.....	72
III. 9.2. Concentrations de LH.....	73
III. 9.3. Concentrations de testostérone.....	73
<b>CHAPITRE IV : DISCUSSION.....</b>	<b>75</b>
IV.1. Poids corporel et des organes sexuels.....	75
IV.2. Numération des spermatozoïdes.....	76
IV.3. Vitesse de progression des spermatozoïdes.....	78
IV.4. Mobilité des spermatozoïdes.....	78
IV.5. Morphologie des spermatozoïdes.....	79
IV.6. Fertilité.....	80
IV.7. Synthèse des études de l'impact du plomb sur la qualité du sperme chez l'homme .....	81
IV.8. Concentration de FSH, LH et testostérone.....	82
IV.9. Mécanisme d'action.....	85

**CONCLUSION ..... 89**

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**ANNEXES**

**PUBLICATION INTERNATIONALE**

**COMMUNICATIONS**

# ***Introduction***



## **INTRODUCTION**

Le plomb est un métal exploité depuis des millénaires, mais son usage s'est accentué avec la révolution industrielle.

Nous sommes tous exposés au plomb qui se trouve dans l'air, la terre, la poussière domestique, les aliments, l'eau potable et les divers produits de consommation. L'exposition humaine à ce toxique demeure un problème de santé publique.

L'augmentation des risques de pollution environnementale par le plomb est une cause légitime d'inquiétude ; il est indubitablement toxique aux doses élevées et ses effets aux concentrations plus modestes sont régulièrement mis en évidence.

L'utilisation du plomb dans certaines peintures en tant que pigment, puis dans l'essence après la découverte de ses propriétés antidétonantes a eu pour conséquence une diffusion encore plus large dans l'environnement. L'introduction de carburants sans plomb provoque un délaissement progressif de l'essence plombée. Néanmoins, vu les multiples sources d'exposition extra-professionnelle, le plomb constitue l'élément non essentiel le plus abondant dans l'organisme humain

Cette pollution, touchant l'ensemble de la planète, conduit à s'interroger maintenant sur les conséquences en termes de santé publique d'une exposition permanente au cours de la vie à des doses faibles ou moyennes.

Ce métal met tout particulièrement en danger la santé des jeunes enfants. Chez ceux-ci de très faibles quantités peuvent entraver leur développement cognitif et causer des problèmes d'attention. Le problème concernerait également les personnes âgées qui souffrent d'ostéoporose.

Le plomb peut également être responsable d'anomalies au niveau de la reproduction, chez la femme par les effets sur la grossesse (avortement, accouchement prématuré...) et chez l'homme par l'altération de la production des spermatozoïdes.

L'intoxication peut être aigue, donc résulter d'une exposition brève à des quantités

élevées de plomb, ou encore chronique, en raison d'une exposition répétée à de très faibles quantités de plomb.

La concentration maximale admissible dans l'eau de boisson recommandée par l'OMS, qui était de 50 µg/L, a été diminuée à 10 µg/l.

La qualité du sperme est un indicateur de fertilité chez le male ; plusieurs études sur l'effet du plomb sur le système reproducteur ont négligé l'évaluation de la vitalité, la vitesse et la mobilité des spermatozoïdes et les effets de l'exposition au plomb à faible concentration ne sont pas clairement élucidés.

**Le but de ce travail est :**

- d'étudier l'impact du plomb, administré par voie orale, sur la fonction reproductrice de rats adultes mâles à travers les paramètres de la qualité du sperme, ainsi que par la détermination des niveaux sériques des hormones FSH, LH et testostérone.

- de rechercher la relation entre l'apparition des éventuels effets et le degré d'exposition des rats au toxique.

***Analyse***

***Bibliographique***

## CHAPITRE I : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

### I.1. Propriétés physico-chimiques du plomb

Le plomb (Pb, poids atomique 207,2 ; masse volumique 11,34 g/cm<sup>3</sup> à 20 °C ; température de fusion 327 °C ; température d'ébullition 1740 °C) est un métal d'aspect argenté lorsqu'il vient d'être coupé, mais qui au contact de l'air devient rapidement gris-bleu et terne. Il résiste à l'acide sulfurique, il est rapidement dissous par l'acide nitrique et est solubilisé par les acides organiques (acide acétique, aliments acides) et par l'eau contenant des nitrates et des sels d'ammonium.

Le plomb est un métal lourd, mou, malléable et ductile représentant 0.002% de la croûte terrestre. Il est de plus imperméable, radio-opaque et doté d'une conductivité électrique. L'émission de vapeurs devient importante à partir de 500°C. Son principal minéral est la galène (PbS). Le plomb existe dans deux états de valence: divalent et tétravalent, les sels divalents étant plus stables.

De nombreux métaux forment des alliages avec le plomb fondu.

Les principaux dérivés du plomb sont :

- **Le monoxyde de plomb (PbO)** : il s'altère lentement à la lumière ; il peut être réduit par certains métaux (Ca, Al, Mg).
- **Le dioxyde de plomb (PbO<sub>2</sub>)** : il se décompose lentement à la lumière et se transforme en monoxyde à 290°C. Chauffé, c'est un oxydant puissant qui réagit (parfois de façon très brutale) avec un grand nombre de métaux.
- **Le chromate de plomb (PbCrO<sub>4</sub>)** : il réagit de façon explosive quand il est mélangé avec des oxydants forts, l'aluminium, le sodium, les colorants azoïques.
- **Le sulfate de plomb (PbSO<sub>4</sub>)** : il réagit de façon violente avec le potassium ; il peut être complètement réduit par l'hydrogène et, à chaud, par le fer, le zinc, l'aluminium.
- **L'acétate de plomb ((CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Pb)** (Bonnard *et al.*, 2006 ; Falcay *et al.*, 1998 ; Haguenoer *et al.*, 1982 ; Lauwerys *et al.*, 2007).

## I.2. Utilisations et sources d'exposition du plomb

### I.2.1. Industrielles

#### I.2.1.1. Le Métal

- métallurgie : fusion du plomb, nettoyage des fours et cuves, raffinage ;
- récupération de vieux métaux ;
- fabrication d'accumulateurs (batteries au plomb): plus de 70% de la consommation mondiale de plomb est utilisée pour la fabrication de batteries pour véhicules, le secteur de la communication et beaucoup d'autres applications ;
- gainage de câbles électriques ;
- tuyaux en plomb ;
- plombs de chasse et de pêche ;
- soudure (barres, baguettes, fils, pâtes, poudres) ;
- capsules de surbouchage pour bouteilles ;
- écrans anti-bruit, anti-vibration et anti-radiations ;
- matériel électronique.

#### I.2.1.2. Oxydes et hydroxydes de plomb

- Massicot ou litharge,  $PbO$  : fabrication de poteries, peintures sur verre et porcelaine, verres au plomb, certains vernis, garniture des plaques d'accumulateurs.
- Dioxyde,  $PbO_2$  : fabrication des plaques de batteries, agent oxydant dans la fabrication de colorants, surface d'ignition pour les allumettes, fabrication de pigments.
- Tétraoxyde,  $Pb_3O_4$ , ou « minium » : pigment rouge employé en peinture pour protéger le fer contre la corrosion.

#### I.2.1.3. Sels de plomb

- Antimoniate ou jaune de Naples,  $Pb_3(SbO_4)_2$  : pigment pour peintures.
- Azide,  $Pb(N_3)_2$  : fabrication d'explosifs.
- Chromate,  $PbCrO_4$  : pigment jaune à jaune orangé utilisé en fabrication de peintures.
- Nitrate,  $Pb(NO_3)_2$  : fabrication d'allumettes et d'explosifs, photographie.

- Stéarate : lubrifiant, stabilisant des matières plastiques.
- Sulfate,  $PbSO_4$  : pigment, fabrication de batteries avec le zinc.
- Sulfure,  $PbS$  : émaillage des poteries ([Haguenoer et al., 1982](#) ; [Lauwerys et al., 2007](#)).

### **I.2.2. Agricoles**

L'arséniate de plomb est utilisé comme insecticide ([Haguenoer et al., 1982](#)).

### **I.2.3. Médicamenteuses**

Utilisation de l'extrait de saturne (sous acétate) et de l'eau blanche à des fins d'autolyse ou dans un but abortif ([Haguenoer et al., 1982](#)).

### **I.2.4. Environnement**

L'intérêt toxicologique pour le plomb s'est accru suite à la prise de conscience de l'importance de ce métal comme agent polluant de l'environnement : d'abord polluant de l'atmosphère et du sol autour des entreprises produisant ou utilisant du plomb et aussi des centres urbains suite à sa présence dans les gaz d'échappement des automobiles ([Lauwerys et al., 2007](#)).

#### **I.2.4.1. Air**

Très peu mobile, le plomb déposé sur les sols demeure dans les couches superficielles où il reste accessible à l'homme, surtout aux enfants, et représente une source rémanente d'envol de poussières légères pénétrant l'habitat.

Chaque année, du fait de l'extraction et de l'utilisation de 3 millions de tonnes de plomb dans le monde, près de 200 000 tonnes de ce métal sont émises dans l'atmosphère, ce qui fait de ce toxique environnemental ubiquitaire une menace permanente pour la santé des populations ([INSERM, 2000](#)).

Selon l'OMS, la concentration atmosphérique moyenne est généralement inférieure à  $0,15 \mu\text{g}/\text{m}^3$  dans les sites ruraux et entre  $0,15$  et  $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$  dans la plupart des sites urbains ([WHO, 2000](#)). Dans les rues à circulation intense, elle peut atteindre  $3 \mu\text{g}/\text{m}^3$  et à

certains carrefours encombrés ou dans des tunnels, des concentrations de l'ordre de 20  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  ont été mesurées avant les années 70 (Bryce-Smith, 1971 ; Hirschle *et al.*, 1957).

Il n'est dès lors pas surprenant qu'on ait pu estimer qu'en 1985, 50% du plomb présent dans le sang d'enfants vivant en ville pouvait provenir du plomb ajouté à l'essence (Tera *et al.*, 1985). Ces observations, jointes à une suspicion d'une action toxique d'une exposition modérée au plomb sur le système nerveux des enfants, ont motivé une réduction progressive du contenu en plomb de l'essence. De nombreux pays ont progressivement éliminé le plomb de l'essence (Lauwerys *et al.*, 2007).

Le plomb est ajouté à l'essence depuis les années 1920, pour deux raisons. Il sert à lubrifier les soupapes des moteurs et surtout, a un rôle d'antidétonant, en évitant que le mélange air-essence n'explose trop tôt. Cette caractéristique est symbolisée par « l'indice d'octane ». Avec l'évolution des moteurs à essence, la demande en indice d'octane a augmenté et l'additif de plomb est devenu de plus en plus nécessaire. Le plomb représentait alors le tiers du poids des particules émises par les gaz d'échappement.

Les émissions de plomb ont été longtemps dominées par le transport automobile : en 1990, la part du trafic routier dans les émissions totales était encore de 90%. L'introduction de carburants sans plomb provoque un délaissement progressif de l'essence plombée. En 1997, le transport routier ne représente plus que 71% des émissions qui ont chuté en valeur absolue d'un facteur 3,5. Cette baisse devrait connaître un dénouement aussi brutal que proche puisque la vente de carburant plombé a été interdite à compter du 1er janvier 2000. C'est pourquoi le niveau des émissions estimées en 2002 présente une baisse importante d'un facteur 3 par rapport à 1997. On notera, qu'en dehors du transport routier, les principales sources sont constituées de l'incinération des déchets, de la métallurgie des métaux ferreux et non-ferreux et de quelques autres procédés industriels (Miquel, 2001).

Selon l'OMS, la concentration moyenne annuelle du plomb dans l'air ne devrait pas dépasser 0,5  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . La directive européenne 1999/30/CE a fixé la même valeur cible à partir de 2005. Néanmoins, vu les multiples sources d'exposition extra-professionnelle, le plomb constitue l'élément non essentiel le plus abondant dans l'organisme humain (WHO, 2000).

#### **I.2.4.2. Eau**

L'eau de distribution publique transitant par des réseaux incluant des tuyaux, raccords ou soudures comportant du plomb est une source classique d'apport en plomb, voire de saturnisme.

Le risque pouvant être accentué par l'acidité et la faible minéralisation de l'eau et parfois par un système de réservoirs à eau dans lesquelles l'eau stagne avant d'être consommée (le premier jet du premier puisage du matin est le plus contaminé).

L'eau provenant des fontaines peut contenir des niveaux plus élevés de plomb que l'eau des robinets à proximité parce qu'elle peut reposer dans la fontaine pendant une période de temps plus longue et qu'une longueur de tuyau donnée peut comprendre plus de joints brasés que la tuyauterie d'une maison.

La concentration maximale admissible dans l'eau de boisson recommandée par l'OMS, qui était de 50 µg/l, a été diminuée à 10 µg/l en 1994. En Europe la concentration maximale admissible en plomb dans l'eau est passée progressivement de 50 µg/l à 25µg/l fin 2003 et passera à 10µg/l fin 2013 ([Lauwerys et al., 2007](#)).

Comme les tuyaux de plomb sont progressivement remplacés, notamment par des tuyaux en PVC, se pose la question de la possibilité d'un largage du plomb utilisé comme stabilisant dans ces tuyaux. Une concentration de plomb dans l'eau de 0,8 mg/l a ainsi été mesurée après 14 jours d'exposition de tuyaux PVC non plastifié aux UV ([Al Malack et al., 2001](#)).

#### **I.2.4.3. Aliments**

La contamination des aliments par le plomb a deux origines : les retombées atmosphériques qui touchent en priorité les fruits et autres végétaux, et les procédés de transformation et de stockage impliquant un contact avec le plomb ou des alliages (conserves). Les aliments les plus contaminés sont ceux où des processus de concentration biologique ont lieu, comme les produits de la mer (mollusques et crustacés) ou certains abats animaux.



L'ingestion d'aliments contenant du plomb est une voie d'exposition au plomb :

- Les plantes contaminées par déposition de poussières ou par le sol.
- Les produits d'origine animale : contaminés par concentration dans les tissus ou les liquides (surtout les rognons et le foie).
- Les produits industriels contaminés lors de la production ou de la conservation des denrées (récipients au plomb) (INSERM, 2000).

Le plomb atmosphérique pollue le sol et les végétaux feuillus (Blokker, 1972 ; Day *et al.*, 1975 ; Lewis, 1966). Les végétaux consommés par les vaches augmentent la concentration du plomb dans le lait (Lauwerys *et al.*, 2007).

Les conséquences de la pollution atmosphérique au plomb sur les zones rurales et les plantes ne sont pas parfaitement établies. Le plomb se dépose surtout en surface, est peu biodisponible, et par conséquent affecte surtout les parties aériennes des plantes et très peu les racines. Pour simplifier, on peut dire qu'on peut cultiver des radis en bord d'autoroute, mais pas de salade.

Le risque en zone rurale est en revanche plus important pour les animaux susceptibles d'absorber le plomb en surface, dans l'herbe.

L'impact le moins contestable se situe en zone urbaine où le risque est double ; d'une part, le risque d'ingestion des poussières, en particulier par les enfants en bas âge ; d'autre part, l'inhalation de particules. Sauf cas exceptionnel, depuis que les mesures existent, les teneurs en plomb dans l'air n'ont jamais atteint des niveaux inacceptables (Miquel, 2001).

Le tableau 1 présente les teneurs maximales en plomb de certains aliments.

### **I.2.5. Tabac**

Les cigarettes contiennent également du plomb ; une plombémie légèrement plus élevée est classiquement mesurée chez les fumeurs. Pour 20 cigarettes par jour, l'inhalation serait de 1 à 5  $\mu\text{g}$  selon l'OMS (1978). Le tabagisme passif est également associé à une élévation de la plombémie (Mannino *et al.*, 2003, 2005).

**Tableau 1** : Teneurs limites en plomb proposées en 1998 par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (INSERM, 2000).

Aliment	Valeur limite ( $\mu$ /kg de poids frais)
Mollusques	2 000
Crustacés, abats (rein)	1 000
Abats (foie), poissons, céréales	500
Fruits et légumes	300
Bières et cidres, viandes (muscles)	250
Jus de fruits et nectars	100
Préparations pour nourrissons et enfants en bas âge	20

## I.2.6. Intoxications accidentelles

### I.2.6.1. Récipients

Les ustensiles de cuisine ont été également à l'origine d'intoxications accidentelles ; tels les couverts, les récipients type saladier en étain, les récipients de faïence recouverts d'émaux mal cuits ou mal vitrifiés, les bouchons verseurs de vinaigriers dont la bille d'arrêt est en plomb.

La vaisselle artisanale peut contenir des pigments et/ou glaçures plombifères ou encore des soudures contenant du plomb ; son emploi peut causer des imprégnations saturnines lors de la consommation de boissons ou aliments acides.

L'utilisation de certaines matières plastiques contenant du stéarate de plomb comme stabilisateur pour la conservation de produits acides, peut donner lieu à la formation de sels solubles, toxiques.

### **I.2.6.2. Domestique**

Les éclats de peinture à base de plomb peuvent constituer une menace pour les enfants si ceux-ci les ingèrent. Le décapage ou le sablage de la vieille peinture pendant des rénovations domiciliaires peut également produire des particules de plomb.

### **I.2.6.3. Alimentaires**

Les autres sources alimentaires sont variées et ont fait l'objet d'observations originales :

- farine provenant de blé écrasé par des meules où les trous avaient été réparés par du plomb fondu ;
- aliments grillés au feu de bois dont le bois provient de démolitions, peint avec des peintures à base de sels de plomb ;
- ingestion de gibiers contenant de nombreux plombs de chasse ;
- consommation de boissons acides dans des récipients en étain, comme par exemple le thé citronné, peuvent également être sources d'intoxication.

### **I.2.6.4. Autres**

Des intoxications parfois graves ont été observées et tenant à l'habitude de grignoter, de mâcher la peinture écaillée des lits, des meubles, des jouets, ou des rebords de fenêtres ; l'inhalation de poussières provenant de vieilles tapisseries ; la manipulation de craies colorées, de crayons de couleurs jaunes ou oranges au chromate de plomb.

La pratique du tir au stand peut être responsable d'imprégnation voir même d'intoxication par le plomb ([Gennart \*et al.\*, 1990](#) ; [Guadagnino \*et al.\*, 2000](#) ; [Haguenoer \*et al.\*, 1982](#) ; [Hight, 1996](#) ; [Bonnard \*et al.\*, 2006](#) ; [Lauwerys \*et al.\*, 2007](#)).

## **I.3. Métabolisme du plomb**

### **I.3.1. Absorption**

L'absorption du plomb dépend de l'espèce chimique, de la solubilité du composé dans le milieu biologique considéré, ainsi que de la granulométrie du composé.

### **I.3.1.1. Absorption digestive**

La principale voie d'absorption du plomb est digestive :

- Soit ingestion du plomb d'abord inhalé et ensuite transporté vers le naso-pharynx par les processus des clearances pulmonaires.
- Soit ingestion directe du plomb (main, aliments, cigarettes ou autres objets introduits en bouche et souillés de plomb).

Environ 10% de la quantité ingérée est absorbé chez l'adulte. Chez les enfants, l'absorption atteint 40% (Haguenoer *et al.*, 1982 ; Testud, 1999). L'absorption orale du plomb est plus élevée chez la femme que chez l'homme (Moor *et al.*, 1998).

L'absorption se fait dans la région duodénale de l'intestin grêle (Falcy *et al.*, 1998) et s'effectue à la fois par un mécanisme de diffusion passive et par un mécanisme de transport actif (Aungst et Fung, 1981).

Un régime carencé en Calcium ou en fer augmente l'absorption de plomb inorganique et la toxicité du plomb (Stellman, 2000).

### **I.3.1.2. Absorption pulmonaire**

Dépend notamment de la taille des particules chargées en plomb ; seule une faible partie des particules de diamètre moyen supérieur à 0,5  $\mu\text{m}$  est retenue dans les poumons ; la rétention des particules de diamètre inférieur à 0,5  $\mu\text{m}$  (environ 90% des particules de plomb de l'air ambiant) est inversement proportionnelle à leur taille. Chez l'animal, comme chez l'homme, environ la moitié du plomb retenu est absorbée au niveau du tractus respiratoire inférieur.

L'inhalation de poussières et de fumées plombifères constitue la cause principale d'exposition excessive au plomb en milieu professionnel (Lauwerys *et al.*, 2007).

Une partie du plomb est éliminé vers le tractus gastro-intestinal et l'autre partie passe dans la circulation générale (Haguenoer *et al.*, 1982).

Morrow *et al.* (1980) ont confirmé par des études sur des volontaires que le plomb présent dans l'environnement général qui s'est déposé dans les voies respiratoires est quasi complètement absorbé. Sur la base de leurs propres résultats et des données de la littérature, Chamberlain *et al.* (1975) ont estimé que l'inhalation continue de  $1\mu\text{g}/\text{m}^3$  de plomb (dimension des particules caractéristiques des aérosols provenant des moteurs à combustion interne) fait élever la plombémie de  $1\mu\text{g}/100\text{ml}$  de sang total.

### I.3.1.3. Absorption cutanée

L'absorption du plomb inorganique par voie cutanée est très faible contrairement à celle du plomb tétraéthyle (Bonnard *et al.*, 2006 ; Lauwerys *et al.*, 2007).

On a aussi démontré chez le rat que l'acétate de plomb était absorbé par voie cutanée dans la même proportion que le naphthénate de plomb (Rastogi *et al.*, 1976).

### I.3.2. Transport

Le plomb est transporté dans le sang principalement sous forme liée aux globules rouges (90%) (Castellino *et al.*, 1964, 1965) au niveau de la membrane et de l'hémoglobine, le reste diffuse dans le sérum (Falcu *et al.*, 1998).

Signalons que le plomb peut être transmis de la mère au fœtus (transport placentaire) (Lauwerys *et al.*, 1978) et plus tard à l'enfant via le lait maternel (Buchet *et al.*, 1979). Il est d'ailleurs possible de produire une encéphalopathie chez le rat nouveau-né par administration du plomb à la mère (Pentschew *et al.*, 1966 ; Thomas *et al.*, 1971).

### I.3.3. Distribution

La distribution du plomb est tri-compartimentale :

- Le premier compartiment où la demi-vie du plomb est de 35 jours est constitué par le pool sanguin. Il comprend trois parties: le plomb dans les globules rouges, le plomb plasmatique lié aux protéines et le plomb plasmatique libre. Ce compartiment est en contact direct avec le plomb absorbé via l'air et l'alimentation, le plomb urinaire et les 2 autres compartiments.

- Le deuxième compartiment est formé des tissus mous (foie, reins, muscles, peau), des système nerveux central et périphérique (Falczy *et al.*, 1998) où la demi-vie du plomb est d'environ 40 à 60 jours. Dans le système nerveux central, le plomb se concentre dans la substance grise et certains noyaux ; les plus fortes concentrations se retrouvent dans l'hippocampe suivi par le cervelet, le cortex cérébral et la moelle (Amdur *et al.*, 1995).
- Le troisième compartiment est constitué des tissus osseux où le plomb est stocké sous forme de trisulfate de plomb insoluble: la demi-vie du plomb stocké est alors de l'ordre de 5 à 20 ans chez l'homme et 60 à 100 jours chez le rat (Amdur *et al.*, 1996). Chez l'homme adulte, 95% de la charge corporelle est stockée dans les os, chez l'enfant plus de 70%.

Les techniques radioactives ont permis de connaître la répartition du toxique dans l'organisme, qui est variable en fonction du temps et se déroule en plusieurs phases. Une première phase voit le toxique s'accumuler dans les émonctoires naturels (foie, rein, système hystiocytaire) ; dans une deuxième phase, la partie non excrétée se concentre dans les os. La fixation se fait dans les travées osseuses dans la corticale de l'os. Le plomb osseux ne présente pas de toxicité particulière pour l'organisme, cependant son métabolisme présente certaines analogies avec celui du calcium.

En cas de mobilisation de ce dernier élément (médicaments ou eaux bicarbonatées, ostéoporose, grossesse, allaitement, hyperthyroïdie), le plomb peut passer dans le sang et atteindre les récepteurs cellulaires, ce qui explique l'apparition chez certains sujets de signes d'intoxication, alors même qu'ils ne sont plus exposés à l'absorption de ce produit (Berlin *et al.*, 1995 ; Goldman *et al.*, 1994 ; Manton, 1985 ; Thompson *et al.*, 1985).

La distribution corporelle du plomb est influencée par l'âge (le pourcentage retenu dans le cerveau est 8 fois plus élevé chez le rat non sevré que chez l'adulte) (Kasprzak *et al.*, 1985).

#### **I.3.4. Excrétion**

La voie d'élimination du plomb absorbé la plus intéressante demeure l'excrétion urinaire (80%) qui dépend directement de la fonction rénale. L'excrétion du plomb semble

répondre à un mécanisme physiologique semblable à celui du calcium, ce qui explique que l'excrétion soit sensible à toute réduction de la fonction rénale. Une lésion rénale, même minime, tendra à favoriser une accumulation tissulaire du toxique alors même que la plomburie reste normale ou sub-normale (IARC, 1980).

La voie digestive représente 90% environ du plomb ingéré. Les matières fécales en excrètent une quantité considérable, directement ou par voie biliaire (Kehoe, 1961).

La desquamation cutanée, des cheveux, des ongles peut également servir à l'élimination d'une petite quantité ; la voie salivaire présente une importance diagnostique.

Le plomb est également excrété dans la sueur (Haguenoer *et al.*, 1982) et dans le lait en raison de sa similarité avec le calcium (Bonnard *et al.*, 2006).

## **I.4. Toxicité du plomb**

### **I.4.1. Forme hématologique**

#### **I.4.1.1. Anémie**

L'effet principal est une anémie qui est d'abord normochrome et normocytaire puis qui devient microcytaire et hypochrome lorsque s'associe un déficit en fer. C'est parfois le premier témoin de l'intoxication au plomb, elle débute pour des plombémies de 50 µg/100 ml.

On l'observe chez un tiers des sujets ayant une plombémie supérieure à 80 µg/100 ml. Elle traduit l'action du plomb sur les enzymes de la synthèse de l'hémoglobine ; ainsi la perturbation de la pyrimidine-5'-nucléotidase commence pour une plombémie très basse même inférieure à 10 µg/100 ml. A l'hémogramme, on note généralement une réticulocytose.

Au cours des intoxications chroniques, il peut exister des formes sévères, d'allure aiguë, comportant une hémolyse intravasculaire qui traduit la fragilisation de la membrane des hématies (Bonnard *et al.*, 2006).

#### **I.4.1.2. Hématies à granulations basophiles**

Le comptage de ces hématies granuleuses peut se faire par rapport à 100 leucocytes, (méthode habituelle en France qui paraît plus exacte en raison de l'anémie fréquente), soit par rapport aux globules rouges (10.000, 100.000 ou 1.000.000). Selon les normes françaises, un taux de 10 hématies granuleuses pour 100 leucocytes correspond au stade de l'imprégnation ; à partir de 30 hématies granuleuses pour 100 leucocytes, l'intoxication clinique est proche ([Lauwerys, 2000](#)).

#### **I.4.2. Forme digestive**

##### **I.4.2.1. Gastrite et oesophagite aiguës**

Elles se manifestent par des vomissements et des douleurs épigastriques ([Falcy et al., 1998](#)).

**I.4.2.2. Manifestations digestives non spécifiques** d'inconfort, de perte d'appétit avec ballonnement, constipation et douleurs vagues ([Tolot et al., 1981](#)).

##### **I.4.2.3. Colique de plomb**

C'est un accident aigu qui est en fait une manifestation aiguë de l'intoxication chronique ou subaiguë au plomb. Souvent révélatrice de l'intoxication au plomb, la colique de plomb ou colique saturnine peut en imposer pour une urgence abdominale chirurgicale type occlusion.

Les crises douloureuses, paroxystiques, initialement péri-ombilicales puis diffuses, s'accompagnent de sueurs, pâleur, vomissements, constipation, et d'une poussée hypertensive. Il n'y a pas de fièvre, le ventre reste souple à la palpation. L'ASP est normal ou montre une distension colique purement aérienne. L'amylasémie peut être modérément augmentée.

Il existe en général une légère anémie témoin de l'exposition chronique ; chez les sujets fortement intoxiqués, l'anémie est marquée, avec une composante hémolytique (élévation de la bilirubine, hyperréticulocytose et haptoglobine effondrée).



Ces crises sont parfois provoquées par une infection ou la prise d'alcool (Bonnard *et al.*, 2006).

#### **I.4.2.4. Le liseré de Burton et les tâches de Gubler**

Le liseré de Burton est un liseré gingival bleu ardoisé localisé au collet des incisives et des canines dû à l'élimination salivaire du sulfure de plomb, causé par l'action de l'H<sub>2</sub>S sur les sels de plomb circulants. L'H<sub>2</sub>S est formé par les micro-organismes au niveau des muqueuses gingivales infectées.

Les tâches de Gubler sont des taches bleu ardoisé situées sur la face interne des joues de même mécanisme que le liseré de Burton.

Ces deux manifestations sont observées en cas de mauvaise hygiène bucco-dentaire (Ten Bruggentake *et al.*, 1975).

#### **I.4.3. Forme neurologique**

##### **I.4.3.1. Encéphalopathie saturnine**

L'encéphalopathie saturnine est rare chez l'adulte mais plus fréquente chez l'enfant. Le tableau aigu se voit au cours d'intoxication massive (plombémie > 7.2 µmol/l). Le début peut être marqué par des signes non spécifiques tels qu'irritabilité, troubles de la mémoire, difficulté de concentration, céphalées, etc. Puis s'installe un tableau d'hypertension intracrânienne non spécifique. La ponction lombaire montre parfois une augmentation du plomb dans le liquide céphalo-rachidien, une élévation des pressions et du nombre des éléments blancs (lymphocytes ou polynucléaires) (Tolot *et al.*, 1981).

Chez l'enfant l'encéphalopathie saturnine associe convulsions, hydrocéphalie, incoordination, troubles de la perception, idiotie (au stade infraclinique : troubles psychiques, de l'équilibre, du sommeil). Les tests psychomoteurs peuvent être altérés précocement (Testud, 1999).

Des niveaux de plombémie particulièrement bas (< 10 µg/100 mL) ont été associés à des effets neurocomportementaux et neurologiques chez les enfants (Canfield *et al.*, 2003,

2004 ; Needleman, 2004) et une relation inverse a été rapportée entre le quotient intellectuel et la plombémie chez les enfants dont la plombémie était inférieure à 10 µg/100 mL (Lanphear *et al.*, 2005).

#### **I.4.3.2. La neuropathie périphérique**

Les manifestations périphériques sont plus tardives ; ce sont des atteintes névritiques motrices pures.

- La forme habituelle est la paralysie anti-brachiale pseudo-radiale (C7, type REMAK) avec atteinte élective de l'extenseur commun (Desoille *et al.*, 1992).
- Des atteintes des membres inférieurs touchant surtout les muscles péroniers et les extenseurs des orteils, entraînant une chute du pied et des nerfs oculomoteurs ou laryngés sont également fréquents (Testud, 1999).

#### **I.4.4. Formes rénales**

##### **I.4.4.1. Formes rénales subaiguës**

La forme subaiguë est constituée par des manifestations discrètes, sans traduction clinique et partiellement réversibles (Tolot *et al.*, 1981). Il s'agit d'une tubulopathie proximale (syndrome du tube proximal) (Testud, 1999).

Dans les urines, la protéinurie est rare et minime. Le sédiment est normal. Dans le sang, l'urée et la créatinine sont franchement normales ou à la limite de la normale. L'uricémie est souvent discrètement élevée aussi (Tolot *et al.*, 1981).

Les clearances mettent en évidence une diminution fréquente du flux glomérulaire (Wedeen *et al.*, 1979).

Les signes les plus constants sont histologiques. Les glomérules sont normaux et les lésions essentielles siègent dans les tubes proximaux (Cramer *et al.*, 1974 ; Wedeen *et al.*, 1975, 1979).

Surtout, l'origine saturnine des lésions est affirmée par la présence d'inclusion intranucléaires et éosinophiles en microscopie photonique, denses en microscopie électronique, caractéristiques, faite d'un complexe de plomb et de protéines (Cramer *et al.*, 1974).

#### **I.4.4.2. Formes rénales chroniques**

L'atteinte rénale tardive s'observe après 10 à 15 ans de forte exposition. Il existe alors une insuffisance rénale modérée due à des lésions glomérulaires et tubulo-interstitielles (néphrite tubulo-interstitielle chronique) sans caractère spécifique (Testud, 1999).

Certaines études mettent en évidence une atteinte rénale précoce, dès 30 µg/dl qui peut être révélée par une enzymurie (N-acétyl-glucosaminidase) et l'émission de protéines de faible poids moléculaire (B2-microglobuline et RBP) (Falcy *et al.*, 1998).

#### **I.4.4.3. La goutte saturnine**

Elle est devenue assez exceptionnelle. Elle est directement liée à l'atteinte rénale, sans que l'on puisse déterminer précisément s'il s'agit d'une aggravation d'une symptomatologie goutteuse sur un terrain prédisposé, ou si cette goutte est une complication d'une tubulopathie rénale (Falcy *et al.*, 1998).

#### **I.4.5. Effets sur les os**

L'os est le principal lieu de stockage du plomb. Certains événements comme des fractures ou des traitements chélateurs mal réalisés, peuvent provoquer une mobilisation importante du métal provoquant des symptômes aigus parfois graves en relation avec l'élévation de la plombémie (Bonnard *et al.*, 2006).

Des études *in vitro* sur une lignée ostéoblastique suggère que le plomb stocké dans les os pourrait exercer un effet inhibiteur sur la production de trois importants constituants de la matrice osseuse (collagène, « *bone gamma-carboxy-glutamic acid protein - BGP* », phosphatase alcaline). Cette action pourrait exercer un rôle favorisant sur le développement de l'ostéoporose (Klein *et al.*, 1993).

#### I.4.6. Effet cancérigène

Le plomb est classé parmi les substances probablement carcinogènes (preuves suffisantes chez l'animal, insuffisantes chez l'homme).

Des lésions rénales néoplasiques ont été montrées chez le rat ou la souris (Boyland *et al.*, 1962 ; Goyer, 1971 ; Van Esch *et al.*, 1962 ; Zollinger, 1953). Cet effet n'apparaît que pour des doses néphrotoxiques (Amdur *et al.*, 1996).

D'autres types de tumeurs ont été rapportées : surrenales, testicules, prostate chez le rat, poumons et leucémies chez la souris (Blackley, 1987).

Si certains sels comme l'acétate de plomb ont un pouvoir cancérigène complet (tumeurs du rein et du cerveau), d'autres composés comme l'oxyde de plomb ont également démontré un pouvoir co-cancérigène lorsqu'ils étaient administrés en association avec un cancérigène de référence (INSERM, 2000).

Le potentiel cancérigène et/ou co-cancérigène du plomb chez le rat et la souris a été essentiellement évalué suite à l'administration d'acétate ou de subacétate de plomb par voie orale. Il faut souligner qu'une hyperplasie rénale est rapportée à partir de 50 ppm. Les tumeurs rénales peuvent se développer en l'absence de néphrotoxicité et longtemps après arrêt de l'exposition au plomb (Hervé-Bazin, 2004).

Chez l'homme, les études épidémiologiques ne montrent pas d'augmentation significative du risque cancérigène (Goyer, 1993 ; Fu, 1995). Toutefois, une faible augmentation de l'incidence de certains cancers a été retrouvée chez des sujets fortement exposés (poumon, estomac et de façon plus douteuse la vessie) (Beliles, 1994). Une conjonction de données indique qu'une exposition professionnelle au plomb et à ses composés inorganiques peut être associée à un risque accru de cancer bronchique ou rénal (pour des expositions de longue durée). Il n'existe cependant aucune étude ayant examiné cette relation dans la population générale (INSERM, 2000).

Concernant le cancer du poumon chez l'homme, on dispose de certains éléments suggérant un effet cancérigène des composés inorganiques du plomb, mais ils ne sont pas convaincants (Wild *et al.*, 2008).

La pertinence pour l'homme de l'induction de tumeurs rénales chez le rat mâle a été mise en question. Une interaction entre le plomb et l' $\alpha_2$ - globuline pourrait perturber l'expression génétique rénale normale, jouant ainsi un rôle dans l'association entre l'exposition au plomb et le cancer rénal (Beck, 1992 ; Goyer, 1993).

#### **I.4.7. Effets sur la reproduction**

De nombreuses études ont été réalisées chez l'animal (singe et rongeur) pour expliciter les effets du plomb sur l'appareil reproducteur du mâle. L'altération par le plomb de la spermatogenèse qui se déroule dans les tubes séminifères, peut résulter d'une toxicité directe aux niveaux du testicule, mais elle peut aussi être médiée par une perturbation du système neuro-endocrinien. Chez l'homme et l'animal, l'effet du plomb a été évalué sur la spermatogenèse par la numération, la motilité, la forme des spermatozoïdes et leur pouvoir fécondant *in vitro*, sur la fonction leydigienne (stéroïdogénèse) par la mesure des concentrations de testostérone et sur le système neuro-endocrinien (axe hypothalamo-hypophysaire) par la mesure des concentrations d'hormone lutéinisante (LH, luteinising hormone) et d'hormone folliculo stimulante (FSH, follicle stimulating hormone) (INSERM, 2000).

##### **I.4.7.1. Etudes chez l'homme**

Chez l'homme, les études suggèrent qu'une exposition à long terme au plomb de plusieurs années, de l'ordre de 6 à 10 ans (plombémie > 400  $\mu\text{g/l}$ ), provoque une réduction des spermatozoïdes et donc, un risque d'hypofertilité (Alexander *et al.*, 1996 ; Assemmato *et al.*, 1987). L'étude de Lin *et al.* (1996), réalisée sur plus de 4000 sujets exposés professionnellement a pu mettre en évidence une diminution significative du nombre des naissances par comparaison au groupe témoin (5000 personnes) dans toutes les catégories d'âge étudiées hormis le groupe de 51 à 55 ans.

Par ailleurs, le plomb perturbe la sécrétion d'hormones sexuelles. Ainsi, la

concentration de testostérone est diminuée chez l'homme pour des plombémies > 600 µg/l (Braunstein *et al.*, 1978 ; Rodamilans *et al.*, 1988).

Alexander *et al.* (1996) ont observé chez les travailleurs d'une fonderie ayant des taux de plombémie atteignant 40 µg par 100 ml et plus au moment de l'étude, une oligospermie mais pas de tératospermie ni de troubles de la motilité spermique, ni d'effets sur la concentration des hormones (testostérone, LH, FSH).

Pour des plombémies < 500 µg/l, aucune des deux études réalisées en milieu professionnel n'a pu mettre en évidence une diminution de la production, de la mortalité ou de la morphologie des spermatozoïdes (Aribarg et Suckcharoen, 1996 ; Kuo *et al.*, 1997).

Chez les femmes ayant une plombémie moyenne de 150 µg/l, plusieurs études n'ont montré aucune augmentation du risque d'avortement spontané comparativement à un groupe témoin (Alexander et Delves, 1981 ; Murphy *et al.*, 1990). Cependant une baisse de fécondité a pu être associée à un groupe de femmes qui présentait des plombémies comprises entre 290 et 500 µg/l (Sallmen *et al.*, 1995).

Par ailleurs, contrairement aux résultats d'une étude qui suggérait que le plomb entraînait une réduction du poids de naissance, des accouchements prématurés et une altération de la croissance et du développement fœtal (Bellinger *et al.*, 1985), une étude réalisée ultérieurement ne retrouve pas d'effet sur le poids de naissance ou la durée de la grossesse pour les mères dont les plombémies sont inférieures à 150 µg/l (Bellinger *et al.*, 1991). La comparaison de deux groupes de femmes avec des plombémies moyennes de 190 µg/l confirme l'absence de lien entre la durée de gestation, le poids à la naissance et l'exposition prénatale au plomb (Factor-Litvak *et al.*, 1991).

Selon un rapport d'expertise de l'INSERM, une exposition donnant des niveaux de plombémie supérieurs à 400 µg/l pourrait affecter la croissance fœtale et la durée de la gestation (INSERM, 2000).

Enfin des malformations du tube neural ont pu être associées à la consommation d'eau contenant 10 µg/l ou plus de plomb et à une déficience en acide folique et en zinc (Bound *et al.*, 1997).

### **I.4.7.2. Etudes chez l'animal**

Chez l'animal (singe, souris, rat), la spermatogenèse n'est pas altérée, mais on note des modifications de la qualité des spermatozoïdes. En effet, aucune modification des paramètres classiquement étudiés pour caractériser les spermatozoïdes (numération, motilité, morphologie) n'a été retrouvée dans deux groupes de singes traités chroniquement de la naissance à l'âge de 15 et 20 ans, ayant des plombémies respectives de 100 et 56 µg/l (Foster *et al.*, 1996).

C'est également le cas chez la souris male pour une intoxication par ingestion d'eau de boisson contenant 1 g/l de chlorure de plomb pendant 3 mois ou encore l'ingestion d'acétate de plomb (5 g/l d'eau) depuis le premier jour de la vie intra-utérine via la mère, jusqu'à l'âge de 60 jours (Johansson, 1989 ; Pinon-Lataillade *et al.*, 1995).

Par contre, des modifications ultrastructurales des spermatozoïdes ont pu être observées chez les souris pour des ingestions de plomb plus importantes (10 g/l) pendant 8 semaines (Eyden *et al.*, 1978) et également chez le singe (altération de la structure de la chromatine des spermatozoïdes (Foster *et al.*, 1996).

Chez la souris femelle, l'ingestion d'acétate de plomb conduisant à des plombémies moyennes comprises entre 220 et 560 µg/l affecte la croissance et le développement des follicules (Junaid *et al.*, 1997).

## **I.4.8. Atteinte vasculaire**

### **I.4.8.1. Hypertension artérielle**

Plusieurs études montrent qu'il existe une corrélation positive entre la plombémie et la pression artérielle, particulièrement après 40 ans (Beliles, 1994).

Cet effet pourrait être lié à une perturbation du métabolisme des catécholamines, à une anomalie de contraction des muscles lisses vasculaires ou à un effet rénal provoqué par le système rénine-angiotensine (Bonnard *et al.*, 2006).

L'action hypertensive du plomb est clairement démontrée en cas d'intoxication aiguë (crises d'hypertension artérielle paroxystique) et, dans le passé, chez certains travailleurs exposés pendant de longues années à des niveaux élevés de plomb (hypertension artérielle permanente). L'ensemble des études réalisées dans la population générale ne met pas formellement en évidence d'effet du plomb sur la tension artérielle (INSERM, 2000 ; Pocock *et al.*, 1984).

Staessen *et al.* (1994) et Nawrot *et al.* (2002) ont réalisé deux méta-analyses. Les auteurs concluent que les données suggèrent l'existence d'une association faible entre la pression sanguine et l'exposition au plomb.

#### **I.4.8.2. Les lésions rétiniennes de Sonkin**

Sous forme de taches grisâtres siégeant au pourtour de la macula, elles seraient caractéristiques et assez pathognomoniques du saturnisme (Haguenoer *et al.*, 1982).

#### **I.4.9. Effets cardiaques**

Le plomb a un effet arythmogène sur le myocarde et peut produire des modifications dégénératives au niveau cardiaque. Cet effet serait dû à sa capacité à former des complexes avec les macromolécules intracellulaires et à s'opposer au calcium (Amdur *et al.*, 1996).

#### **I.4.10. Atteinte de la thyroïde**

Un effet inhibiteur du plomb sur la captation de l'iode a été rapporté dans des populations professionnelles exposées à l'origine d'une hypothyroïdie (Sanstead *et al.*, 1969). Tuppurainem *et al.* (1988) ont noté l'existence d'une corrélation négative entre la durée d'exposition et le taux sérique de thyroxine totale et libre. Le taux de TSH était normal, suggérant une action du plomb sur l'axe hypothalamo-hypophysaire.

L'étude de Refowitz (1984) ne montre pas d'altération de la fonction thyroïdienne chez des sujets présentant une élévation modérée de longue durée de la plombémie.



Erfurth *et al.* (2001) n'ont pas relevé de différence dans les concentrations sériques en thyroxine entre les sujets exposés et non exposés.

Le plomb n'exercerait d'effet dépressif sur la glande thyroïde que pour des niveaux d'exposition élevés (plombémie > 600-700 µg/l) (Gennart *et al.*, 1992 ; INSERM, 2000).

#### **I.4.11. Altération des acquisitions**

Des difficultés scolaires et sociales sont observées dans le saturnisme chronique de l'enfant.

Les études épidémiologiques ont montré des associations entre l'exposition au plomb et des troubles du développement psychomoteur ou intellectuel et des troubles du comportement jusqu'à l'âge scolaire chez l'enfant. Les troubles mis en lien avec l'exposition sont l'hyperactivité, l'inattention, l'impulsivité.

Des niveaux croissants d'exposition sont corrélés à des scores décroissants pour les indices globaux du développement intellectuel, estimé par le quotient intellectuel (QI).

Chez l'adulte il existe une corrélation négative entre les performances neuro-comportementales et les taux cumulés de plomb dans l'organisme, les tests de dextérité motrice et de capacité de perception étant les plus affectés.

Des données chez des travailleurs suggèrent que l'exposition au plomb entraîne une activation de la protéine kinase C dans les érythrocytes et que cette activation serait associée à une diminution dans les scores des tests neurocomportementaux (Hwang *et al.* 2001, 2002).

Les études comportementales chez l'animal (singe, rat, poulet) permettent surtout de confirmer le rôle de l'imprégnation par le plomb à faibles doses dans la survenue ultérieure de troubles des apprentissages, de la mémoire spatiale et non spatiale ainsi que de défauts d'attention. Les dysfonctionnements des fonctions visuelles et auditives mises en évidence chez l'animal et chez l'enfant pourraient contribuer aux effets négatifs de faibles doses de plomb sur le développement cognitif (INSERM, 2000).

#### **I.4.12. Action sur les mécanismes immunologiques**

Le plomb agit sur les cellules myéloïdes par augmentation des précurseurs dans la moelle avec diminution consécutives des cellules matures. Il provoque aussi une altération de la reconnaissance immunitaire et peut inhiber la production de l'interleukine 2. Une dépression de la synthèse d'anticorps en particulier des IgG a été observée (Amdur *et al.*, 1996 ; Koller *et al.*, 1974).

Bingham *et al.*, (1968) ont observé que le nombre de macrophages pulmonaires était sévèrement réduit chez les rats inhalant un aérosol d'oxyde de plomb.

Une sensibilité accrue aux infections virales et bactériennes est notée chez des souris exposées à de faibles niveaux de plomb (Daytlov et Lawrence, 2002 ; Gupta *et al.*, 2002, 2003).

#### **I.4.13. Action mutagène**

In vitro, le plomb altère l'ADN : il réagit rapidement avec les groupements phosphates et les bases de l'ADN donnant naissance à des complexes stables (IARC, 1980).

Les tests de mutagénicité sur les bactéries sont négatifs. Les sels de plomb sont faiblement mutagènes pour les cellules de lymphomes de souris et les cellules CHO à des concentrations fortement toxiques et mutagènes à des concentrations non toxiques sur les cellules V79 (Zelikoff *et al.*, 1988). Des réponses contradictoires ont été obtenues pour les aberrations chromosomiques (Sharma *et al.*, 1987).

Les composés inorganiques ont des activités comutagènes avec d'autres agents mutagènes (UV, RX) (Hartwig, 1994).

In vivo, les résultats sont ambigus. Il n'y a pas d'induction de micronoyaux dans les cellules de la moelle osseuse de la souris mais chez le singe il y a apparition de lacunes et de fragments chromosomiques (Gerber *et al.*, 1980).

#### **I.4.14. Action génotoxique**

Des anomalies chromosomiques furent observées dans les leucocytes de souris soumises à un régime contenant 1% d'acétate de plomb (Muro *et al.*, 1969). Des altérations chromosomiques pourraient également être mises en évidence chez des travailleurs exposés au plomb (Deknudt *et al.*, 1973 ; Forni *et al.*, 1976, 1980 ; Nordenson *et al.*, 1978, 1982 ; Schwanitz *et al.*, 1970).

Un faisceau d'études démontre que l'ion Pb<sup>++</sup> exerce in vitro un effet génotoxique indirect en altérant une série de processus biologiques comprenant les systèmes de réparation de l'ADN, le maintien de la structure de l'ADN et l'expression de certaines kinases régulant le contrôle du cycle cellulaire (INSERM, 2000).

#### **I.4.15. Action sur diverses enzymes**

Tola *et al.* (1977) notent une augmentation des transaminases, SGOT et SGPT. Stavri *et al.* (1971) observent une élévation de l'aldolase et une diminution de la phosphatase alcaline dans le sérum. Le plomb peut d'ailleurs provoquer chez le cobaye suite à des lésions hépatiques certaines perturbations enzymatiques (Secchi *et al.*, 1971).

#### **I.4.16. Autres**

- Rhumatisme aigu (Desoille *et al.*, 1992).
- Action sur la coagulation (Haguenoer *et al.*, 1982).
- Inhibition de la néoglucogenèse (Amatruda *et al.*, 1977).
- Troubles hépatiques (Falcy *et al.*, 1998 ; Haguenoer *et al.*, 1982).
- Atteinte pancréatique (Desoille *et al.*, 1992 ; Falcy *et al.*, 1998).
- Troubles de l'état général (Nakao *et al.*, 1968).

### **I.5. Mécanismes d'action du plomb**

Le plomb, qui n'est pas un élément essentiel, interfère avec un grand nombre de processus biochimiques. Les divers mécanismes de son action toxique ne sont pas encore complètement élucidés.

### I.5.1. Atteinte hématologique

#### I.5.1.2. Interférence avec la synthèse de l'hème

De nombreux travaux montrent que le plomb exerce une action inhibitrice à différents niveaux lors de la synthèse de l'hémoglobine (tableau 2).

**Tableau 2 :** Synthèse de l'hème et effets de l'exposition au plomb (d'après Haguenoer *et al.*, 1982).

ENZYMES	METABOLITES	DOSAGES dans le Saturnisme
	<i>Succinyl Coenz A + glycine</i>	
<i>ALA synthétase</i> ----->	↓ <b>Ac Δ Amino lévulinique</b>	↑↑↑ urines ↓↓↓ activité de ALA D, sang
<i>ALA déshydratase</i> ----->	↓ Porphobilinogène	
<b>Porphobilinogène déaminase</b> ----->	↓ Uro porphyrinogène III	
<b>Uroporphyrinogène décarboxylase</b> ->	↓ Copro porphyrinogène III	↑↑↑ urines
<i>Copro porphyrinogène oxydase</i> ----->	↓ <i>Proto Porphyrinogène IX</i>	
<i>Proto Porphyrinogène oxydase</i> ----->	↓ <b>Proto Porphyrine IX</b>	↑↑↑ sang
<i>Hème synthétase (ferrochélatase)</i> ----->	↓ Hème	↓↓↓ (anémie)

*En italiques* : étapes mitochondriales ; en caractères normaux : étapes cytoplasmiques.

**En gras** : paramètres perturbés par l'action du plomb.

Deux inhibitions ont été particulièrement étudiées :

- le blocage de la delta ALA- déshydratase a pour conséquence une augmentation de l'excrétion urinaire du substrat non transformé,

- le blocage de l'hème-synthétase se manifeste par une élévation du taux de protoporphyrine érythrocytaire et une excrétion urinaire accrue des intermédiaires situés en amont (les coproporphyrines III), et par un trouble important du métabolisme du fer qui est dévié de sa voie normale ([tableau 3](#)).

D'autres systèmes enzymatiques de cette chaîne sont vraisemblablement perturbés, mais on ne possède pas de certitude à cet égard.

Le blocage des fonctions sulfhydriles ne semble pas pouvoir constituer l'explication biochimique exclusive des lésions du saturnisme. L'action directe du plomb sur l'ALA a été avancée également.

Il semble que le plomb puisse inhiber non seulement la synthèse de l'hème mais aussi de la globine ([Baxter et al., 1979](#) ; [Lauwerys et al., 2007](#)).

#### **I.5.1.3. Altérations morphologiques des globules rouges dans la moelle osseuse**

En cas d'imprégnation par le plomb, la ponction sternale peut mettre en évidence des mégaloblastes, des érythroblastes polypoïdes et des érythroblastes à ponctuations basophiles.

Ces ponctuations sont des amas d'acide ribonucléique (ribosomes ou ARN messager) ([Albahary et al., 1972](#)). Ces ponctuations pourraient résulter d'une inhibition de la pyrimidine-5-nucléotidase par le plomb ([Valentine et al., 1976](#)).

#### **I.5.1.4. Effet sur les globules rouges circulants**

Outre la diminution de l'érythropoïèse par inhibition de la synthèse de l'hème, le plomb possède aussi une toxicité directe sur les hématies circulantes et provoque une hémolyse.

Plusieurs mécanismes pourraient intervenir ([Haguenoer et al., 1982](#)):

- Inhibition de l'ATPase Na-K dépendante provoquant une perte intracellulaire de K.
- Action sur les groupements -SH.
- Fragilité osmotique.

- Déformations structurales.
- Mécanisme immunitaire.

Des enzymes intra-érythrocytaires sont aussi inhibées par le plomb : ALAD, pyrimidine -5- nucléotidase (Lauwerys *et al.*, 1974 ; Mohammed-Brahim *et al.*, 1985). L'inhibition de cette enzyme est responsable de la réduction de la dégradation de l'ARN dans les réticulocytes en voie de maturation et de la persistance de granulations basophiles (Paglia *et al.*, 1975).

### **I.5.2. Similarité du plomb libre ionisé ( $Pb^{++}$ ) avec des cations divalents essentiels**

Principalement le  $Ca^{++}$ , mais également le  $Zn^{++}$  et probablement le  $Mg^{++}$  ; sa capacité à interagir avec des protéines (enzymatiques ou non) constituent des aspects essentiels de la toxicité du plomb. Ces deux phénomènes, auront notamment pour conséquence la perturbation de l'homéostasie calcique et des processus cellulaires et moléculaires médiés par le calcium, une action inhibitrice sur les transporteurs membranaires (canaux ioniques et pompes ATPase- $Ca^{++}$  et ATPase- $Na^+/K^+$ ), l'inhibition de la synthèse protéique et de l'activité de nombreuses enzymatiques (Lauwerys *et al.*, 2007).

#### **I.5.2.1. Perturbation de la synthèse de l'hème**

Le  $Pb^{++}$  interfère avec la synthèse de l'hème dans les érythroblastes de la moelle osseuse en perturbant l'activité de plusieurs métallo-enzymes mitochondriales et cytoplasmiques (voir I.5.1. Atteinte hématologique).

#### **I.5.2.2. Protéines à haute affinité**

Des complexes formés par liaison du plomb à des protéines à haute affinité semblent avoir un rôle critique dans la biodisponibilité intracellulaire du plomb, modulant sa liaison à des enzymes telles la ALAD, son transport intranucléaire et sa liaison à la chromatine avec comme conséquence potentielle une altération de l'expression des gènes dans les cellules (Fowler, 1998).

La carence en hème induit l'activation de la protéine kinase R (PKR) conduisant à la phosphorylation de la sous-unité de l'un des facteurs d'initiation de la synthèse protéique, (eIF-2). Cette modification covalente inhibe très fortement la synthèse protéique ([INSERM, 2000](#)).

#### **I.5.2.3. Protéines à doigt de Zinc "Zinc finger proteins"**

Le zinc stabilise la structure d'une famille de protéines dont le rôle est de pénétrer dans la chaîne d'ADN à un endroit précis, au niveau d'un gène, pour ouvrir cette chaîne et permettre la lecture de ce gène par la RNA polymérase DNA dépendante. Le rôle du zinc dans les facteurs de transcription est donc essentiel, ce qui suggère qu'il a un rôle important dans la régulation de l'expression des gènes, la croissance et la différenciation cellulaire, la réparation de l'ADN.

Il a été notamment noté que le plomb pouvait interférer avec les liaisons à l'ADN aux facteurs de transcriptions probablement suite à son action au niveau du site de fixation du zinc. L'interférence du plomb au niveau de ces protéines est évoqué comme mécanisme intervenant dans la cancérogenèse et la neurotoxicité ([Zawia et al., 2000](#)).

#### **I.5.2.4. Perturbation de l'homéostasie calcique**

Des études *in vitro* ont montré que le  $Pb^{++}$  module l'activité des PKC-calcium dépendantes en interagissant avec de nombreux sites de ces enzymes ([Sun et al., 1999](#)). Cela peut induire une perturbation au niveau des micro-vaisseaux cérébraux en interférant avec la PKC ([Laterra et al., 1992](#)).

Le  $Pb^{++}$  semble avoir une affinité plus importante pour la calmoduline et la PKC que le  $Ca^{++}$ . En activant ces protéines, le plomb peut altérer les mécanismes de signalisation cellulaire. L'influence du plomb sur la protéine kinase C est invoquée pour expliquer les troubles d'apprentissage liés au plomb ([Bressler et al., 1999](#)).

Le  $Pb^{++}$  interfère aussi avec la capacitation et le stockage du  $Ca^{++}$  au niveau des mitochondries, organites intervenant également dans l'homéostasie calcique et essentiels au métabolisme énergétique de la cellule ([Lauwerys et al., 2007](#)).

Notons par ailleurs que la capacité du  $Pb^{++}$  à traverser la barrière hémato-encéphalique semble liée à sa capacité à se substituer au  $Ca^{++}$  (Bradbury et Deane, 1993).

### **I.5.3. Stress oxydatif**

L'implication d'un stress oxydatif dans certains aspects de la toxicité cellulaire du plomb est également suggérée: le plomb perturberait l'équilibre oxydant-antioxydant dans les cellules. Des données humaines et animales indiquent que l'exposition au plomb entraînerait la production d'espèces réactionnelles de l'oxygène (ERO) ainsi qu'une diminution des systèmes de défense antioxydant. Il a été montré que le  $Pb^{++}$  stimule la lipopéroxydation en modifiant les propriétés physiques des membranes cellulaires (Adonaylo et Oteiza, 1999 ; Hsu et Guo, 2002).

### **I.5.4. Susceptibilité génétique**

Il existe des différences marquées dans la susceptibilité individuelle à la toxicité du plomb qui pourrait être en partie attribuables à un polymorphisme génétique (Lauwerys *et al.*, 2007).

Au moins 2 gènes polymorphiques susceptibles d'influencer la toxicocinétique du plomb ont été identifiés: ALAD et VDR (Vitamine D Receptor) (Schwartz *et al.*, 2000 a ; Weaver *et al.*, 2003).

Le gène ALAD a deux allèles, ALAD1 et ALAD2 responsables de 3 isoenzymes: ALAD-1-1, ALAD1-2, ALAD2-2. L'isoenzyme ALAD2, ayant une charge électro-négative plus importante, semble lier le plomb plus efficacement que l'ALAD1 et il a été suggéré que le génotype ALAD influence la rétention du plomb dans les érythrocytes (Bergdahl *et al.*, 1997).

Le polymorphisme ALAD pourrait moduler les échanges entre le sang et les os. Tout en ayant des taux de plombémie plus élevés, les sujets ayant l'allèle de ALAD2 transfèrent moins de plomb vers les os que les homozygotes ALAD1-1 (Fleming *et al.*, 1998).



Chez les sujets ayant une exposition environnementale au plomb, une teneur en plomb dans l'os cortical plus élevée a été objectivée chez les homozygotes ALAD1-1 que chez les porteurs de l'allèle ALAD2 (Hu *et al.*, 1998). Par contre, d'autres chercheurs n'ont pas mis en évidence de lien entre le polymorphisme de l'ALAD et le plomb osseux (Schwartz *et al.*, 2000 b ; Theppeang *et al.*, 2004).

## I.6. Tests biologiques

Certains tests sont le témoin de l'exposition : plombémie, plomburie spontanée ou provoquée, plomb osseux. D'autres sont le témoin des répercussions sur l'organisme: acide delta aminolévulinique urinaire (ALA U), protoporphyrines intraérythrocytaires (PPE) en particulier sous forme de protoporphyrines zinc (PPZ) mais aussi de protoporphyrines libres, hémoglobine, hématies à granulations basophiles, coproporphyrinurie... (Bonnard *et al.*, 2006).

### I.6.1. Tests reflétant l'exposition

#### I.6.1.1. Plombémie

La plombémie est le meilleur indicateur d'exposition au plomb des semaines précédentes lorsque l'exposition est stable. Le moment du prélèvement est indifférent étant donné la demi-vie sanguine de plus de 30 jours. La relation plomb sanguin et concentration en plomb atmosphérique est linéaire. La plombémie témoigne de l'exposition récente ; elle ne mesure pas la charge en plomb de l'organisme. A distance de tout contact avec le plomb, elle sous-estime le pool de plomb ; dans les jours qui suivent une contamination massive, elle le surévalue. Elle s'élève dès le début de l'exposition (J1), elle varie en fonction des pics d'exposition pour atteindre un état d'équilibre trois mois après le début de l'exposition (quand cette dernière est stable) et diminue un mois après l'arrêt de l'exposition (Bonnard *et al.*, 2006).

**Avantages** : test spécifique.

**Inconvénients** : prélèvement délicat, facilement contaminé par le plomb, coûteux, sensible pour les expositions récentes uniquement.

**Valeur normale** : 300 µg/l (ACGIH).

400 µg/l chez l'homme et 300 µg/l chez la femme en age de procréer (OMS et OSHA).

Dans la population générale non exposée les valeurs de la plombémie sont inférieures à 90 µg/l chez l'homme et à 70 µg/l chez la femme (Bonnard *et al.*, 2006)

#### I.6.1.2. Plomburie

**Avantages** : test spécifique, ne nécessitant pas une prise de sang.

**Inconvénients** : varie selon l'alimentation, la fonction rénale, la charge en plomb de l'environnement et de l'eau de boisson.

**Valeur normale** : < 50 µg/ g de créatinine (Lauwerys, 2000).

#### I.6.1.3. Plomburie provoquée

La mobilisation du plomb s'effectue par administration d'un chélateur (EDTA calcique). Ce test, qui constitue le meilleur test d'imprégnation de l'organisme, est réalisé pour les cas douteux ou quand les sujets ne sont plus exposés au plomb depuis plusieurs mois, voire plusieurs années (Maitre, 2003).

**Avantages** : test spécifique et sensible. Reflète l'imprégnation de l'organisme.

**Inconvénients** : nécessite une hospitalisation d'une journée. Recueil rigoureux des urines.

**Valeur normale** : l'épreuve est considérée comme positive si la plomburie est supérieure à 3.8 µmol/l (800 µg/l) (Lauwerys, 2000 ; Testud, 1998).

#### I.6.1.4. Plomb dans les cheveux

Son intérêt est purement rétrospectif. A l'équilibre un taux de plomb sanguin de 60 µg/100 ml correspond à une concentration de 70 µg de plomb/g de cheveux (Lauwerys, 2000).

### I.6.1.5. Plomb dans les os

Une technique par fluorescence RX a été développée, permettant de doser le plomb dans les os in vivo (Ahlgren *et al.*, 1979, 1980). Chez l'adulte non exposé au plomb dont la plombémie est d'environ 10 µg/100 ml, la concentration du plomb dans le tibia est de l'ordre de 7.5 µg/g (poids mouillé).

### I.6.2. Tests reflétant l'intoxication

#### I.6.2.1. NFS

Anémie microcytaire, normochrome avec ou sans hypersidérémie.

#### I.6.2.2. Hématies à granulations basophiles

**Avantages** : test facile, de principe dans la lecture d'une lame lors de la NFS, peu coûteux. Sa positivité attire l'attention du clinicien qui ne pensait pas au saturnisme.

**Inconvénients** : test peu sensible et non spécifique. Faux positifs : thalassémies, splénectomie, autres anémies. Positivité tardive.

**Valeur normale** : 500 à 2000 HGB / 10<sup>6</sup> GR (Lauwerys, 2000).

#### I.6.2.3. ALA-U

L'acide delta-aminolévulinique (ALA) urinaire est le témoin des effets sur l'organisme après une exposition récente. Ce test se normalise rapidement (dans les 15 jours) à l'arrêt de l'exposition. En pratique ce n'est plus un indicateur suffisamment sensible pour être utile à la surveillance des travailleurs exposés au plomb quand leur plombémie est inférieure aux valeurs limites biologiques réglementaires (Bonnard *et al.*, 2006).

**Avantages** : bon test en milieu professionnel en cas d'exposition brève ou accidentelle. Il s'élève précocement dès la 2<sup>ème</sup> semaine et est bien corrélé à la plombémie quand celle-ci atteint 600 µg/l, test simple fréquemment utilisé pour la surveillance des sujets exposés.

**Inconvénients** : test peu spécifique. Faux positifs : différentes porphyries et hépatopathies, anémies après gastrectomie. Prélèvement sensible à la lumière. Sa

sensibilité est moyenne car il ne s'élève que lorsque la plombémie atteint 400 µg/l. Mal corrélé à la plombémie. Le taux s'élève en 15 jours, se normalise rapidement à l'arrêt de l'exposition.

**Valeur normale** : < 5 mg/g de créatinine.

4.5 mg/g de créatinine (Lauwerys, 2000 ; Testud, 1999).

4 mg/g de créatinine dans la population générale non exposée (Bonnard *et al.*, 2006).

#### I.6.2.4. ALAD

La diminution de l'activité ALAD érythrocytaire est la première conséquence mesurable d'une imprégnation saturnine excessive.

**Avantages** : test utilisable pour explorer les expositions anciennes.

**Inconvénients** : test peu spécifique. Faux positifs : alcoolisme, grandes variations inter-individuelles. Prélèvement sensible à la lumière. Test très (trop) sensible car l'enzyme est inhibée pour des taux faibles de plomb, très précocement (4 à 5 jours).

**Valeur normale** : 500 à 2500 µmoles de porphobilinogène par heure et par litre de globules rouges (Tolot *et al.*, 1981).

#### I.6.2.5. PPZ

Les protoporphyrines érythrocytaires dont 95% sont liées au zinc sont des indicateurs de l'exposition des mois précédents. Elles sont plus sensibles que le dosage d'ALA-U et fortement corrélées à la plombémie lorsque celle-ci est entre 350 et 800 µg/l. En cas d'exposition stable et prolongée, les PPZ sont de bons indicateurs du pool de plomb biologiquement actif. Elles s'élèvent plus tardivement que les ALA-U (de 2 à 10 semaines après le début de l'exposition) et les concentrations diminuent lentement (2 à 3 mois après l'arrêt de l'exposition).

Les protoporphyrines érythrocytaires (PPE) ou leur fraction liée au zinc (PPZ) (95% des protoporphyrines sont liées au zinc) sont des indicateurs de l'exposition des mois précédents. Les résultats devront toujours être exprimés en µg/g Hb.

**Avantages** : test moyennement sensible, facile, peu coûteux. Quelques gouttes de sang capillaire suffisent. Utilisable pour explorer les expositions anciennes permettant donc un diagnostic rétrospectif.

**Inconvénients** : test peu spécifique. Faux positifs : hépatopathies, hémopathies, infections aiguës fébriles, interférence avec la carence martiale qui augmente la PPZ. (Bonnard *et al.*, 2006).

**Valeur normale** : < 2.5 µg/g Hb (Lauwerys, 2000).

< 3 µg/g Hb dans la population générale (Bonnard *et al.*, 2006).

#### I.6.2.6. Coproporphyrinurie

**Avantages** : test moyennement sensible. Le taux s'élève en 15 jours.

**Inconvénients** : test peu spécifique. Faux positifs : nombreuses hépatopathies, hémopathies, infections, exposition au mercure ou au bismuth. Test peu sensible, moins que l'ALA urinaire.

**Valeur normale** : < 90 µg/l.

< 100 µg/g de créatinine (Lauwerys, 2000).

#### I.6.2.7. Porphobilinogène urinaire

Son augmentation est tardive. Sa détermination n'est donc utile que pour confirmer un diagnostic d'intoxication (Albahary, 1964 ; Gibson *et al.*, 1968).

#### I.6.2.8. Pyrimidine 5'nucléotidase érythrocytaire

Dans les globules rouges, cette enzyme déphosphoryle les nucléotides pyrimidine 5'-ribose monophosphates provenant de la dégradation de l'ARN ribosomique (Valentine *et al.*, 1976).

### **I.6.2.9. Urée sanguine**

Une réduction progressive de la filtration glomérulaire constitue une manifestation relativement précoce de l'imprégnation saturnine, entraînant une élévation de l'urée sanguine qui pourrait survenir pour des plombémies inférieures à 80 µg/100 ml ([Hammond, 1973](#)).

### **I.6.2.10. Erythropoïétine**

La synthèse d'érythropoïétine essentiellement par les cellules du tube contourné proximal serait déjà partiellement inhibée pour des expositions correspondant à des plombémies inférieures à 40 µg/100 ml. Cette action pourrait être responsable en partie de l'anémie saturnine ([Graziano et al., 1991](#)).

## **I.7. Traitement**

Il est actuellement bien codifié, après avoir été longtemps purement empirique. Il doit comporter d'une part l'élimination du plomb de l'organisme et d'autre part, un traitement symptomatique destiné à atténuer ou à guérir les accidents déclarés.

### **I.7.1. Traitement spécifique**

Il est fondé sur le principe de la fixation du plomb sous une forme non toxique et à son élimination sous contrôle méthodique. Pour réaliser une détoxification thérapeutique, on dispose de chélateurs capables de mobiliser le plomb fixé dans les tissus ([INSERM, 2000](#)).

#### **I.7.1.1. E.D.T.A. (acide éthylènediaminetétraacétique)**

C'est un chélateur capable de fixer le plomb, le calcium et d'autres cations pour former un complexe non ionisé. ([INSERM, 2000](#)).

Comme l'EDTA est toxique pour les reins, son administration se fera par prudence en présence d'affections rénales. Il semble cependant que si la dose de l'EDTA administrée par voie parentérale ne dépasse pas 1 g/24 h ([Tolot et al., 1978](#)) ou même 3 g/24 h ([Sehnert et al., 1984](#)), la néphrotoxicité est faible.

### **I.7.1.2. DTPA (acide diéthylénetriaminepentaacétique)**

Il semble légèrement plus efficace que l'EDTA ([Cavanagh et al., 1973](#)).

### **I.7.1.3. Pénicillamine ( $\beta$ , $\beta$ -diméthylcystéine)**

D'utilisation plus rare, elle a l'avantage d'être administrée *per os*, à raison de 600 mg par 24 heures pendant 3 à 5 jours.

Elle augmente l'absorption intestinale du plomb, elle est néphrotoxique et peut provoquer une anémie et une neuropathie ([Lauwerys et al., 2007](#)).

### **I.7.1.4. BAL (British anti-lewisite ou Dimercaprol)**

Il est administré exclusivement par voie intramusculaire et mobilise le plomb des tissus mous de façon préférentielle. C'est le traitement de référence des formes les plus sévères, notamment en cas d'atteinte neurologique ([INSERM, 2000](#)).

### **I.7.1.5. DMSA (acide dimercaptosuccinique)**

C'est un chélateur oral. Comme le BAL, il favorise préférentiellement l'excrétion du plomb à partir des tissus mous. La tolérance clinique est satisfaisante. Sa forte affinité pour le plomb explique que la fuite urinaire en oligo-éléments (calcium, cuivre, zinc) est moindre que celle induite par les autres chélateurs ([INSERM, 2000](#)).

## **I.7.2. Traitement symptomatique**

Il peut être de différents types :

- Dans la colique de plomb : antispasmodiques.
- Dans l'encéphalopathie saturnine :
  - Traitement des convulsions par barbituriques ;
  - Traitement de l'hypertension intracrânienne par l'administration intraveineuse de soluté hypertonique.
- Dans l'hypertension paroxystique : traitement hypotenseur.
- La dialyse péritonéale en cas d'atteinte rénale.

- En cas d'inhalation d'une concentration importante de poussières, éloigner le sujet de la zone polluée, le faire hospitaliser pour un examen médical et un traitement symptomatique.
- En cas d'ingestion, si le sujet est conscient, on pourra tenter de le faire vomir, puis de le faire hospitaliser pour une évacuation digestive et un traitement symptomatique.
- En cas de projection cutanée ou oculaire, laver à grande eau, montrer à un spécialiste si des signes d'irritation apparaissent (Bonnard *et al.*, 2006 ; Lauwerys *et al.*, 2007).

## I.8. Prévention

### I.8.1. En milieu professionnel

#### I.8.1.1. Prévention technique

- **Mesures collectives :**
  - Les travaux exposant au plomb doivent se faire en système clos et étanche.
  - En cas d'impossibilité, les emplacements de travail doivent être équipés de moyens efficaces assurant l'évacuation des poussières, des fumées ou des vapeurs de plomb.
  - Les travaux susceptibles de dégager des poussières doivent être effectués mécaniquement ou sur des matières humides.
  - Nettoyage quotidien des tables et du sol des ateliers.
  - Détermination régulière de la concentration en plomb dans l'air. VME : 150 mg/m<sup>3</sup> (CCE), 50 µg/m<sup>3</sup> (OSHA et ACGIH).
  - L'emploi de la céruse (hydrocarbonate de plomb), du sulfate de plomb est interdit dans tous les travaux de peinture.
  - Propreté générale des lieux de travail.
  - Equipement sanitaire permettant une hygiène personnelle adéquate : éviers, douches, armoires différentes pour vêtement de travail et de ville, réfectoire à l'écart des lieux de travail.
- **Mesures individuelles :**
  - Gants en matière imperméable aux produits manipulés.



- L'employeur fournit à chaque travailleur des vêtements de protection individuels ainsi qu'une coiffure et des bottes ou des chaussures de travail.
- Masques filtrants.
- Ne pas fumer, boire, manger ou mâcher du chewing-gum dans les ateliers.
- Hygiène personnelle.

#### **I.8.1.2. Prévention médicale : surveillance médicale spéciale**

- Avant l'affectation au risque, un bilan doit être réalisé. Il comprend outre un examen clinique, les examens complémentaires suivants : hémogramme, créatininémie, plombémie, ALA-U ou PPZ dans le sang.

Doivent être considérés comme inaptes les sujets porteurs :

- d'affections hématologiques,
- de lésions rénales et hépatiques,
- d'hypertension artérielle,
- de lésions nerveuses périphériques et centrales,
- de lésions cutanées chroniques,
- d'onychophagie,
- les femmes enceintes ou qui allaitent.
- Surveillance médicale périodique ([Haguenoer et al., 1982](#) ; [Lauwerys, 2000](#)).

#### **I.8.1.3. Education du personnel**

Le personnel sera informé des dangers présentés par le plomb et recevra une formation portant sur les moyens de prévention et les précautions élémentaires d'hygiène à suivre. Les femmes doivent être informées des risques encourus pour l'embryon, le fœtus ou l'enfant allaité, du fait de l'exposition de la mère ([Bonnard et al., 2006](#)).

#### **I.8.2. En milieu extraprofessionnel**

- Les femmes enceintes et les enfants ne devraient pas être exposés à la poussière pouvant contenir du plomb.

- Essuyer les planchers avec une vadrouille mouillée et passer un chiffon humide sur les meubles et les rebords des fenêtres pour enlever la poussière. Ne pas balayer avec un balai sec ni épousseter avec un chiffon.
- Laver fréquemment les objets que les enfants se mettent dans la bouche.
- Les potagers et les terrains de jeux pour enfants ne devraient pas être situés près des sources éventuelles de plomb.
- Toujours utiliser de l'eau froide du robinet pour boire et cuisiner.
- Rincer abondamment le système d'alimentation en eau avant de boire de l'eau ou de s'en servir pour la cuisine.
- N'utiliser que des brasures sans plomb lorsqu'on effectue des réparations ou qu'on installe des articles de plomberie.
- Prendre un régime équilibré comprenant un apport quotidien satisfaisant de fer et de calcium (Haguenoer *et al.*, 1982 ; Lauwerys, 2000).

## I.9. Rappel sur le système reproducteur male

### I.9.1. Appareil génital male

L'appareil génital mâle est formé par l'ensemble des organes chargés de l'élaboration du sperme et du dépôt de celui-ci dans les voies génitales de la femelle (figure 1).

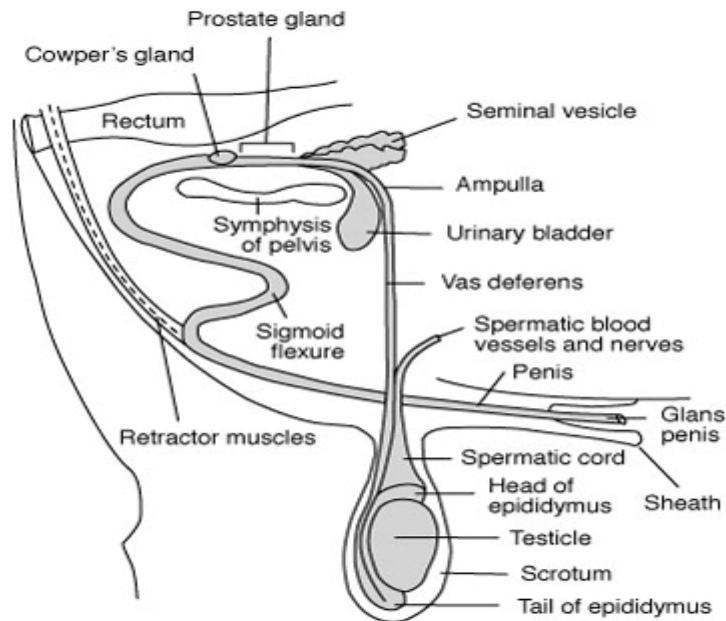
Chez les mammifères, il est constitué de :

**a. Deux gonades** : les testicules qui assument deux fonctions différentes :

- une fonction exocrine, gamétogenèse (production des spermatozoïdes ou spermatogenèse) ;
- une fonction endocrine, hormonogène (sécrétion des hormones qui tiennent sous leurs dépendances les caractères sexuels secondaires et l'activité sexuelle du mâle).

**b. Voies spermatiques ou canaux excréteurs** des gonades qui nourrissent, protègent grâce aux sécrétions des glandes annexes (épididyme, prostate, vésicules séminales...).

- c. **Appareil copulateur (pénis ou verge)** permettant, lors de l'accouplement ou coït, de déposer le sperme dans les voies génitales femelles.



**Figure 1 :** Appareil reproducteur mâle (Whittier, 1993)

### I.9.1.1. Les testicules

Ce sont les gonades génératrices mâles des animaux. Les mammifères possèdent des testicules jumelés dans une poche qui s'appelle le *scrotum* (figure 2).

Les spermatozoïdes passent des testicules au canal éjaculateur par l'urètre ; la prostate, par des contractions musculaires fait éjaculer les spermatozoïdes en les chassant dans un milieu fluide (le sperme), par le pénis. Le sperme est donc composé de spermatozoïdes et de liquide séminal. La taille du testicule varie selon la saison.

### I.9.1.2. Le scrotum

C'est en fait le scrotum qui est visible. Le scrotum (ou les bourses) est la poche musculaire et la petite enveloppe de peau qui contient les testicules.

Le testicule présente une position et une orientation dans le scrotum qui varient selon les espèces animales : verticale chez le taureau et le bélier, elle est davantage horizontale chez l'étalon et le verrat. La peau du scrotum présente des récepteurs thermiques qui ont notamment pour effet le cas échéant d'abaisser la température corporelle. Elle a aussi de nombreuses glandes sudoripares. Par ailleurs, le crémaster peut modifier la position plus ou moins haute du testicule : le testicule remonte et se trouve davantage en contact avec la paroi abdominale si l'environnement est froid, l'inverse se produit si la température extérieure augmente.

### **I.9.1.3. L'épididyme**

C'est un canal situé à la sortie de chaque testicule et constitué de 3 parties : la tête, le corps et la queue qui se continue par le canal déférent. Il permet le transport des spermatozoïdes qui se sont formés dans le testicule vers le canal déférent en vue de leur éjaculation. Les spermatozoïdes terminent leur maturation et acquièrent leur capacité à se propulser et leur pouvoir fécondant. Le rôle de l'épididyme consiste à enlever le surplus de sécrétions testiculaires et d'apporter des nutriments aux spermatozoïdes. Accessoirement, les spermatozoïdes peuvent séjourner pendant plusieurs mois dans l'épididyme avant d'être dégradés, s'il n'y a pas d'éjaculation ([figure 2](#)).

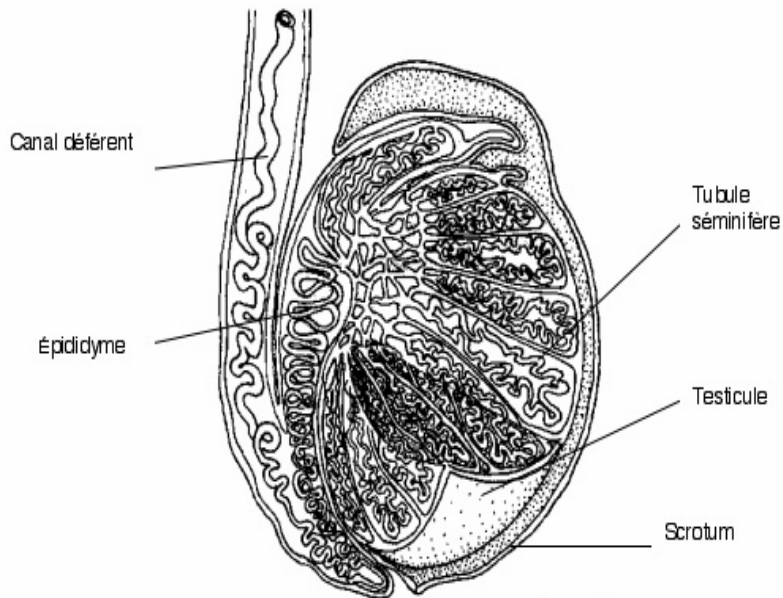
### **I.9.1.5. L'urètre du mâle (canal uro-génital)**

C'est un long conduit impair qui sert à l'excrétion de l'urine et le sperme.

### **I.9.1.6. Les glandes annexes**

Elles ajoutent leurs sécrétions au sperme.

**a- La prostate** : elle existe chez tous les mammifères. Elle déverse directement ses sécrétions dans l'urètre. Le liquide prostatique est laiteux. Il contient des protéines anticoagulantes et du citrate (nutriment destiné aux spermatozoïdes).



**Figure 2 :** Coupe d'un testicule.

**b- Les vésicules séminales :** ce sont les deux glandes débouchant dans la prostate pour se relier aux canaux déférents qui devient a ce niveau le canal éjaculateur. Elles produisent environ 60% du volume total du sperme. Le liquide provenant des vésicules séminales est visqueux, jaunâtre et alcalin. Il renferme du mucus (lubrifiant pour les conduits), du fructose (qui constitue des sources d'énergie pour les spermatozoïdes), de la séminogéline (protéine qui fait coaguler le sperme après sa sortie de l'urètre), de la fibrinolysine (protéine qui liquéfie le sperme coagulé, libérant ainsi les spermatozoïdes), de la relaxine (l'hormone qui augmente la motilité des spermatozoïdes), de l'acide ascorbique (antioxydant), de la séminalplasmine (substance antibiotique qui détruit certaines bactéries) et des prostaglandines (régulateurs locaux) qui liquéfient le mucus du col utérin et provoquent des contractions des muscles de l'utérus afin de faciliter la progression des spermatozoïdes.

Les facteurs de coagulation du sperme jouent un rôle de protection des spermatozoïdes dans le vagin (dont le pH est acide).

**c- Les glandes de Cowper ou glandes bulbo-urétrales** : ce sont des glandes situées de chaque côté de l'urètre et sécrètent le liquide pré-éjaculatoire qui sert à nettoyer l'urètre de toute trace d'urine nocive pour les spermatozoïdes (De Neil *et al.*, 2006 ; Vaissaire, 1977 ; Whittier, 1993).

### **I.9.2. Spermatogenèse**

C'est un mécanisme extrêmement complexe qui assure deux fonctions essentielles :

- multiplication perpétuelle des spermatogonies souches pour la production des spermatozoïdes ;
- renouvellement permanent de ces spermatogonies qui vont constituer le stock de «futurs» spermatozoïdes.

Juste avant la différenciation sexuelle de l'embryon, les cellules germinales primordiales migrent dans le testicule fœtal, puis se différencient en gonocytes qui sont situés dans les tubes séminifères. Ils se multiplient et, peu après la naissance, se transforment en spermatogonies qui restent dormantes jusqu'à la puberté où elles se transforment en spermatozoïdes.

La spermatogonie souche constitue, chez le mâle, le stock de renouvellement (estimé à plusieurs millions de cellules), elles sont essentiellement des cellules diploïdes (bélier  $2n = 54$  ; bouc  $2n = 60$ ) (Baril *et al.*, 1993 ; Jouannet, 2005).

#### **I.9.2.1. Stades du développement de la spermatogenèse**

Au cours de la spermatogenèse, les cellules germinales en voie de différenciation se déplacent entre les cellules de Sertoli adjacentes en direction de la lumière. Elles passent par les stades suivants du développement :

- Spermatogonie A
- Spermatogonie B
- Spermatoocyte primaire (= spermatoocyte de 1er ordre)
- Spermatoocyte secondaire (= spermatoocyte de 2e ordre)
- Spermatoïde

- Spermatozoïde

La spermatogenèse peut être répartie en deux étapes successives:

- La première étape comprend les cellules allant de la spermatogonie au spermatocyte secondaire inclus: elle est appelée **spermatocytogenèse**.
- La seconde étape comprend la différenciation/maturation des spermatozoïdes à partir du spermatide: elle est appelée **spermiogenèse**.

#### **a- La spermatocytogenèse**

Après une division mitotique des spermatogonies A, sont formées les spermatogonies de type B qui se divisent également par mitose pour donner les spermatocytes primaires (I).

- ▶ Les **spermatocytes primaires (I)** subissent alors une première division méiotique. Ils entament immédiatement la phase **préléptotène** de la méiose (dédoublent leur contenu en ADN). Après cette phase, ces cellules entament les stades complexes de la **prophase méiotique** et sont nettement visibles au microscope optique. Cette prophase peut être répartie en 5 stades:

- leptotène ;
- zygotène ;
- pachytène ;
- diplotène ;
- diacinèse.

Lors de la prophase chaque cellule germinale subit une recombinaison du matériel génétique hérité du père et de la mère. A cette longue prophase font suite rapidement une métaphase, une anaphase et une télophase. Chaque spermatocyte primaire donne deux spermatocytes secondaires.

- ▶ Les **spermatocytes secondaires (II)** abordent directement la deuxième division méiotique dont sont issus les spermatides. La division des chromatides d'un spermatocyte secondaire donne naissance à deux **spermatides** haploïdes qui ne possèdent plus que la moitié du contenu en ADN.

## b- Spermiogenèse

Les **spermatides** sont avec les spermatozoïdes les plus petites cellules de l'épithélium germinale. Ils sont activement transformés en spermatozoïdes au cours d'un processus nommé spermiogenèse dans les cellules de Sertoli.

La spermiogenèse consiste en :

- réorganisation du noyau: élongation nucléaire ;
- mise en place de l'acrosome et migration des vésicules golgiennes ;
- assemblage des structures de la queue.

### I.9.3. Régulation hormonale de la spermatogenèse

Les deux hormones gonadotropes de l'hypophyse antérieure, l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH), dont le nom provient de leur effet dans le sexe féminin, tiennent sous leur dépendance le fonctionnement des testicules.

#### I.9.3.1. Contrôle par rétroaction des fonctions des testicules

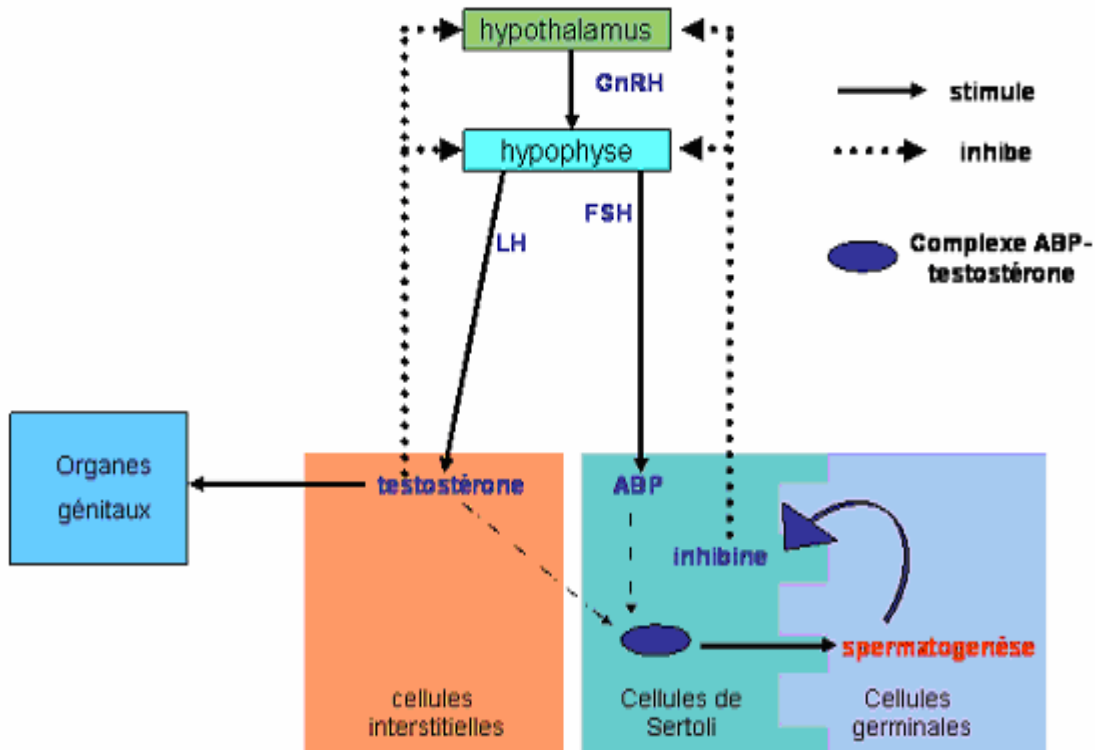
- La FSH et la LH agissent sur des constituants différents des testicules. La LH agit sur les cellules de Leydig dont elle contrôle la production de testostérone. La FSH agit sur les tubes séminifères particulièrement sur les cellules de Sertoli, ce qui a pour effet de favoriser la spermatogenèse.

- La sécrétion par l'hypophyse antérieure de LH et FSH est stimulée par une seule hormone, la **libérine** des hormones gonadotropes (**GnRH**).

- La **testostérone**, sécrétée par les cellules de Leydig stimulées par la LH, exerce une rétroaction négative de deux façons sur la sécrétion de celle-ci. Premièrement, elle réduit la sécrétion de GnRH par son action directe sur l'hypothalamus ce qui a pour effet de réduire la sécrétion de FSH et LH par l'hypophyse antérieure. Deuxièmement, elle réduit par un effet direct la réponse à la GnRH des cellules sécrétrices de LH de l'hypophyse antérieure. C'est pour cette raison que la testostérone s'oppose plus fortement à la sécrétion de LH qu'à celle de la FSH.



• L'**inhibine** est une hormone peptidique sécrétée par les cellules de Leydig qui s'oppose à la sécrétion de FSH probablement par un effet direct sur l'hypophyse antérieure. Ceci contribue au contrôle de la spermatogenèse qui est stimulée par l'action de FSH sur les cellules de Sertoli.



**Figure 3 :** Mécanisme d'action de la FSH, la LH et la testostérone.

### I.9.3.2. Rôle de la testostérone et de FSH dans la spermatogenèse

La FSH et la LH ont toutes deux un rôle crucial dans le contrôle de la spermatogenèse par leur action sur les cellules de Sertoli et elle est responsable du déclenchement de la puberté. La testostérone est cruciale aux étapes de la mitose et de la méiose des cellules germinales. La FSH est nécessaire à la spermiogenèse.

La FSH hypophysaire agit sur les cellules de Sertoli en provoquant la synthèse dans ces dernières d'une protéine liant la testostérone (**ABP** = androgen binding protein).

De cette façon, la testostérone peut être transportée par les cellules de Sertoli dans la zone luminale et y être concentrée. La testostérone est essentielle pour la spermatogenèse (De Martin et Barry, 2001).

***Matériels***  
***Et***  
***Méthodes***

## CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

### II.1. Produits utilisés

Les principaux produits ayant servi à l'accomplissement du travail expérimental sont présentés dans le [tableau 3](#).

**Tableau 3** : Produits utilisés.

Produits	Pureté (%)	Firme
Chlorure de Sodium (NaCl)	≥ 99.5	SIGMA -ALDRICH
Chlorure de potassium (KCl)	≥ 99.5	SIGMA -ALDRICH
Chlorure de Calcium (CaCl <sub>2</sub> )	≥ 99.0	SIGMA -ALDRICH
Sulfate de Magnésium (MgSO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O)	97	SIGMA -ALDRICH
Bicarbonate de Sodium (NaHCO <sub>3</sub> )	99.7	SIGMA -ALDRICH
Phosphate de Potassium monobasique (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	≥ 99.0	SIGMA -ALDRICH
Phosphate de Sodium dibasique (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	≥ 99	SIGMA
Acétate de Plomb trihydraté (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Pb.3H <sub>2</sub> O	> 99	SIGMA -ALDRICH
Acide chlorhydrique (HCl)	37	SIGMA -ALDRICH
Acide acétique (CH <sub>3</sub> COOH)	> 99.7	SIGMA -ALDRICH
Eosine Y (C <sub>20</sub> H <sub>6</sub> BrNaO <sub>5</sub> )		SIGMA -ALDRICH
Nigrosine		ALDRICH
HEPES	≥ 99.5	SIGMA
BSA (Bovin Sérum Albumine)	98	SIGMA
α- D Glucose	≥ 99.5	SIGMA
Formol (CH <sub>3</sub> OH)	37	PROLABO
Ether diéthylique (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> O	≥ 99	PROLABO

## II.2. Protocole expérimental

Des rats males adultes de souche *albinos wistar* provenant de l'Institut Pasteur d'Algérie sont laissés pendant une semaine pour adaptation et maintenus dans une chambre avec des conditions standards de température ( $23 \pm 2$  °C) et un cycle naturel de lumière/obscurité.

Après acclimatation, des rats âgés de 8 à 9 semaines avec un poids entre 225 et 241g sont répartis en cinq groupes (10 à 12 rats par groupe) y inclus le groupe témoin.

Les rats des groupes exposés (groupes 2 ; 3 ; 4 et 5) ont reçu une eau de boisson distillée contenant de l'acétate de plomb (AcPb) avec des concentrations respectivement de 0.025% ; 0.05% ; 0.1% ou 0.3% (poids/volume) et le groupe témoin (groupe 1) a reçu de l'eau contenant de l'acide acétique dont la concentration en acétate correspond à la plus haute exposition en plomb. Tous les flacons d'eau contiennent 1 ml d'acide chlorhydrique 5N afin de prévenir la précipitation des sels de plomb (Ronis *et al.*, 1998a) et même ceux du groupe témoin (Sokol et Berman, 1991).

Tous les animaux ont un accès libre à l'eau de boisson et à une diète "souris" approvisionnée de L'O.N.A.B. (Office National de l'Aliment du Bétail) de Béjaia, Algérie durant 24 semaines.

Les concentrations d'AcPb ont été choisies dans notre étude sur la base qu'elles regroupent la gamme des concentrations faibles et modérées (Sokol *et al.*, 2002).

## II.3. Nécropsie et dosage des hormones

Après 24 semaines de traitement, tous les animaux sont privés d'aliment la nuit précédant la dissection, les rats sont pesés puis sacrifiés par dislocation cervicale après une légère anesthésie à l'éther diéthylique.

Le sang est prélevé à partir du sinus rétro-arbitraire à l'aide d'un tube capillaire hépariné.

Après coagulation, le sang est centrifugé, le sérum est séparé et congelé jusqu'au

jour du dosage des hormones LH, FSH et testostérone.

Les dosages des hormones ont été réalisés par la méthode immunométrique chimiluminescence avec l'analyseur IMMULITE 1000. Du fait que tous les résultats de la LH ont montré des valeurs inférieures à 0,1 UI/L, un second dosage de la LH sérique a été effectué selon la technique radio-immunologique en utilisant les kits IMMUNOTECH par l'automate WIZARD 1470 (voir annexe).

## **II.4. Etude du poids corporel et du poids des organes sexuels**

Les poids corporels des animaux sont enregistrés au début et à la fin du traitement avec une balance Sauter SM 1000. Après dissection, un examen macroscopique des organes en place est effectué. Ces derniers sont ensuite retirés, nettoyés et débarrassés de la graisse, rincés à l'eau physiologique puis pesés avec une balance Sartorius ( $\pm 0,0001\text{g}$ ) et enfin conservés dans le formol à 10% pour une étude anatomopathologique ultérieure. Les organes concernés sont les testicules, les vésicules séminales, la prostate ventrale, le corps et la tête de l'épididyme. Les résultats sont exprimés en poids relatif par rapport au poids corporel du rat (%), calculé comme suit :

$$\text{Poids relatif} = (\text{poids absolu} / \text{poids corporel final}) \times 100.$$

## **II.5. Etude de la qualité du sperme**

### **II.5.1. Obtention des spermatozoïdes épидидymaires**

Les queues des deux épидидymes gauche et droit sont excisées. Les spermatozoïdes sont obtenus en réalisant 3 petites coupures avec des ciseaux sur la section distale de la queue des deux épидидymes proche du canal efférent.

Les queues coupées sont laissées baigner dans 2 ml de solution de Hank's (voir annexe) contenant 0,5% de BSA pré-chauffée à 37°C pendant 3 minutes pour une meilleure diffusion des spermatozoïdes (Kuriyama *et al*, 2005). Le sperme est mélangé par tourbillonnement et une deuxième dilution de 1/20<sup>ème</sup> est effectuée avec la même solution pour évaluer respectivement: la vitesse progressive, la mobilité, les différentes classes de

mobilité et la numération des spermatozoïdes. Tous ces paramètres sont estimés par une seule personne.

### II.5.2. Vitesse progressive des spermatozoïdes

Après 3 minutes d'incubation, une suspension de la dilution des spermatozoïdes est mise dans un hémocytomètre pré-chauffé et observée immédiatement sous microscope Leica DM 1000 au grossissement x100, plusieurs spermatozoïdes sont vus à la fois.

La distance rectiligne parcourue par le spermatozoïde progressif est mesurée à partir des dimensions connues des graduations de la cellule de l'hémocytomètre pendant une durée de temps jusqu'à déviation du trajet rectiligne. Le temps écoulé est mesuré en parallèle grâce à un chronomètre.

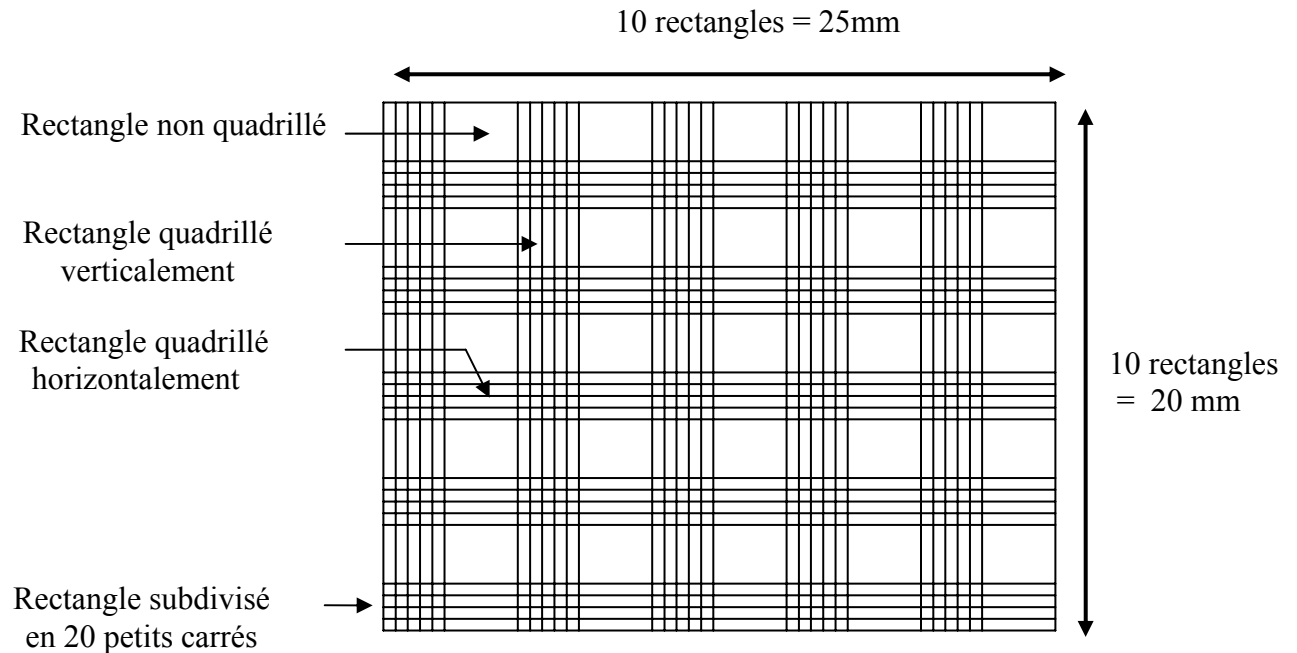
La vitesse est ainsi calculée pour 15 spermatozoïdes observés dans le champ et les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écartype des 10 spermatozoïdes les plus rapides (Das, 1985 changé).

### II.5.3. Mobilité des spermatozoïdes

Le nombre des spermatozoïdes mobiles progressifs est ensuite estimé en double lecture par un examen direct au microscope optique au grossissement x 100 dans au moins 10 carrées par côté de l'hémocytomètre (cellule de Malassez) (figure 4).

Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles progressifs est calculé par la formule suivante :

$$\text{Mobilité} = (\text{nombre total de spermatozoïdes} - \text{nombre de spermatozoïdes immobiles}) / \text{nombre total de spermatozoïdes} \times 100.$$



**Figure 4 :** Schéma de la cellule de Malassez.

#### II.5.4. Classification de la mobilité des spermatozoïdes

La même cellule d'hématocytomètre est observée au microscope optique au grossissement x 400 pour classer au moins 100 spermatozoïdes. Chaque spermatozoïde est classé selon 4 groupes de mobilité suivant le manuel de l'analyse du sperme ([NAFA et ESHRE-SIGA, 2002](#)) :

- mobilité rapide progressive ;
- mobilité moyenne progressive ;
- mobilité non progressive ;
- spermatozoïdes immobiles.

#### II.5.5. Numération des spermatozoïdes

Le nombre total des spermatozoïdes est estimé également en double lecture dans le même tube de dilution et dans au moins 10 carrées par côté d'hémocytomètre au microscope optique au grossissement x 400 après au moins 4 heures de temps de leurs obtentions.



### II.5.6. Etude de la viabilité et de la morphologie des spermatozoïdes

La viabilité et la morphologie des spermatozoïdes sont évaluées par la coloration éosine-nigrosine (WHO, 1999 modifié).

La coloration éosine-nigrosine est basée sur le principe que les spermatozoïdes morts se colorent en rouge, par contre les vivants resteront transparents. La nigrosine forme un arrière plan foncé, ce qui facilite la lecture microscopique.

Dans un eppendorf, 100 µl de la solution initiale de 2 ml de sperme-Hank's sont mélangés avec deux gouttes d'éosine 0.1% au lieu de 1% car la tête des spermatozoïdes des rats a une affinité envers l'éosine à des concentrations plus élevées par rapport au spermatozoïde humain. Après 30 secondes, trois gouttes de nigrosine 10% sont ajoutées et le tout est bien mélangé durant 30 secondes.

Une goutte du mélange sperme-colorant est étalée sur une lame et séchée à l'air.

Deux lames sont préparées pour chaque échantillon de sperme afin d'éviter tout artefact et avoir un nombre suffisant de spermatozoïdes pour lecture (Industrial Reproductive Toxicology Discussion Group, 2000).

Au moins 200 spermatozoïdes sont examinés par un microscope optique Leica DM 1000 au grossissement x 1000 à un champ lumineux après enduction de la lame d'huile d'immersion.

Les spermatozoïdes complètement ou partiellement colorés en rose sont considérés comme morts. Au contraire, ceux qui apparaissent incolores ou avec une très légère couleur limitée à la zone de la pièce intermédiaire des spermatozoïde sont considérés comme vivants (Björndahl *et al.*, 2003).

Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes sont évaluées sur les spermatozoïdes morts et vivants (Öztürkler *et al.*, 2001) et sont regroupées en 5 catégories comme décrit antérieurement (Industrial Reproductive Toxicology Discussion Group, 2000):

- spermatozoïdes avec tête détachée (sont comptés seulement si la tête et la queue sont observées ensemble) ;
- anomalie de la tête ;
- anomalie de la pièce intermédiaire ;
- anomalie de la queue ;
- plusieurs anomalies.

## II.6. Analyse statistique

Les résultats sont présentés en moyenne  $\pm$  écartype.

Le test de Levene est utilisé pour contrôler l'homogénéité des variances : quand elles sont homogènes ( $p > 0,05$ ), le test d'analyse des variances (ANOVA) est utilisé pour comparer les différents groupes.

Si une différence significative est retrouvée entre les groupes ( $p \leq 0,05$ ), le test de comparaison multiple de Dunnett est réalisé pour comparer chaque groupe traité avec le groupe témoin.

Lorsque les variances ne sont pas homogènes, le test de Kruskal-Wallis est utilisé, suivi par le test de Mann-Whitney U ;  $p \leq 0,05$  est considéré comme significatif.

Toutes ces opérations ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS, version 10.0.

# ***Résultats***

## **CHAPITRE III : RESULTATS**

### **III.1. Signes cliniques et poids corporel des animaux**

Nous n'avons enregistré aucun cas de mortalité ni de signes d'intoxication sévère cliniquement décelable aussi bien dans les groupes exposés au plomb que dans le groupe témoin, et ce tout au long de la durée d'intoxication.

Aucune différence statistiquement significative n'a été constatée entre les groupes exposés et le groupe témoin concernant le gain du poids corporel ([tableau 4](#)).

### **III.2. Étude du poids des organes sexuels**

Nous n'avons constaté aucune différence statistiquement significative concernant le poids moyen relatif ou absolu des testicules, des épидидymes (tête et queue) et des vésicules séminales entre les groupes exposés au plomb et le groupe témoin.

Une diminution du poids moyen des prostates ventrales est remarquée dans les groupes exposés à 0.05%, 0.1% et 0.3% d'AcPb par rapport au groupe témoin sans que les différences ne soient statistiquement significatives ([tableau 4](#)).

### **III.3. Vitesse de progression des spermatozoïdes**

Une baisse de la vitesse des spermatozoïdes a été observée dans tous les groupes exposés par rapport au groupe non exposé sans pour autant que les différences ne soient statistiquement significatives ([figure 5](#)).

### **III.4. Mobilité des spermatozoïdes**

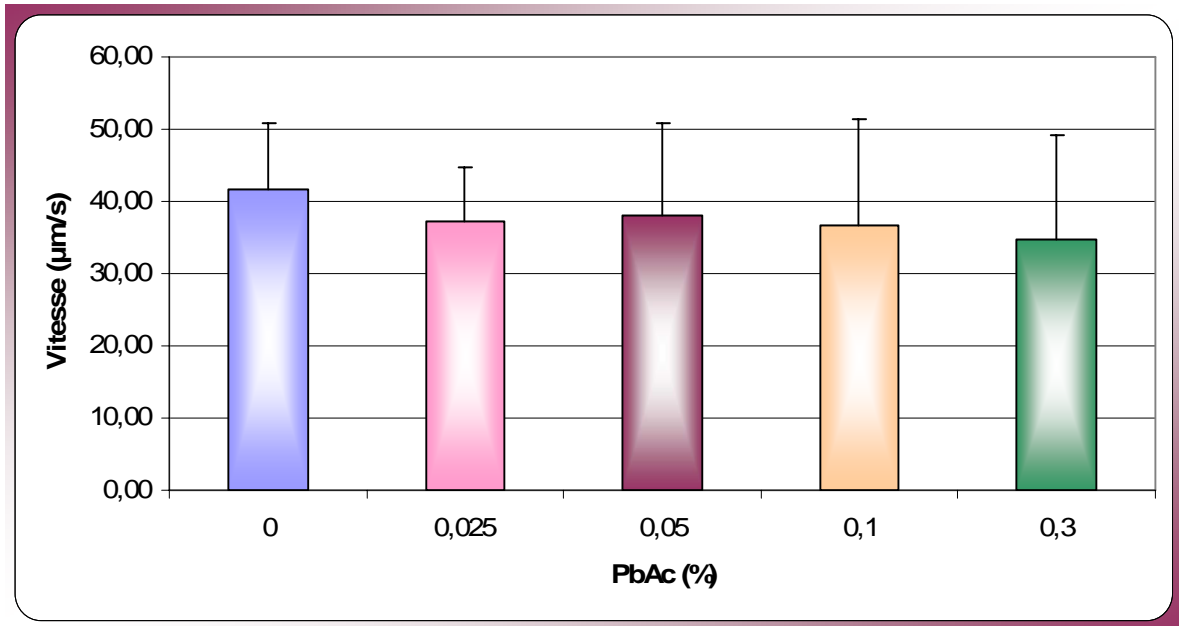
Le taux de mobilité des spermatozoïdes des rats exposés à l'acétate de plomb dans l'eau de boisson est inférieur à celui trouvé dans le groupe témoin. Les différences ne sont toutefois pas statistiquement significative ([figure 6](#)).

**Tableau 4:** Gain de poids corporel et poids absolu et relatif des organes du système reproducteur.

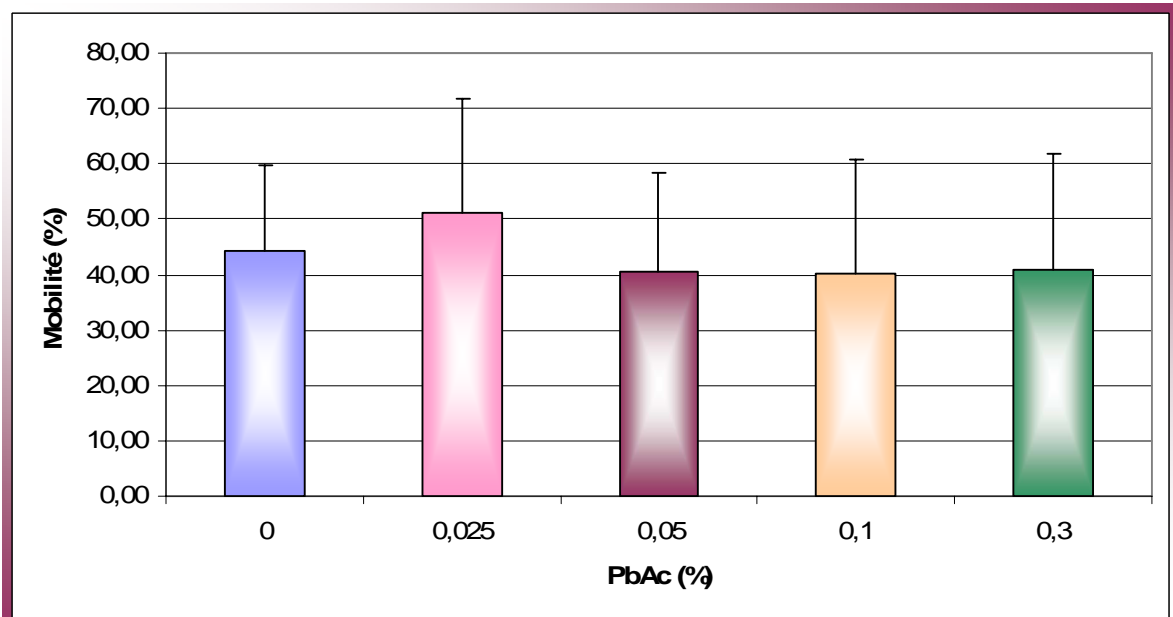
Groupes		Témoin	0.025%	0.05%	0.1%	0.3%
Gain du poids corporel (g)		218.53±26.08	194.25±32.93	192.76±35.79	191.13±27.11	216.49±36.66
Testicule	Absolu	3.4903±0.2811	3.4116±0.2248	3.5805±0.2151	3.5132±0.2686	3.4420±0.2538
	Relatif	0.83±0.07	0.83±0.07	0.86±0.07	0.83±0.07	0.83±0.07
Vésicules séminales	Absolu	1.9030±0.3162	1.8958±0.2750	1.7395±0.3088	1.8020±0.2531	1.6477±0.3243
	Relatif	0.45±0.09	0.46±0.06	0.42±0.07	0.43±0.07	0.40±0.09
Prostate	Absolu	0.5213±0.1027	0.4917±0.1248	0.4872±0.0615	0.5069±0.0784	0.5175±0.0754
	Relatif	0.12±0.03	0.12±0.03	0.12±0.02	0.12±0.02	0.12±0.02
Epididymes (tête et queue)	Absolu	0.8431±0.0926	0.8244±0.0634	0.8862±0.1901	0.8681±0.0699	0.8488±0.0822
	Relatif	0.20±0.02	0.20±0.02	0.21±0.05	0.21±0.02	0.20±0.03

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écartype de (10-12) animaux par groupe.

Le poids absolu des organes est exprimé en (g) et le poids relatif en (g/100g de poids corporel).



**Figure 5:** Vitesse de progression des spermatozoïdes.

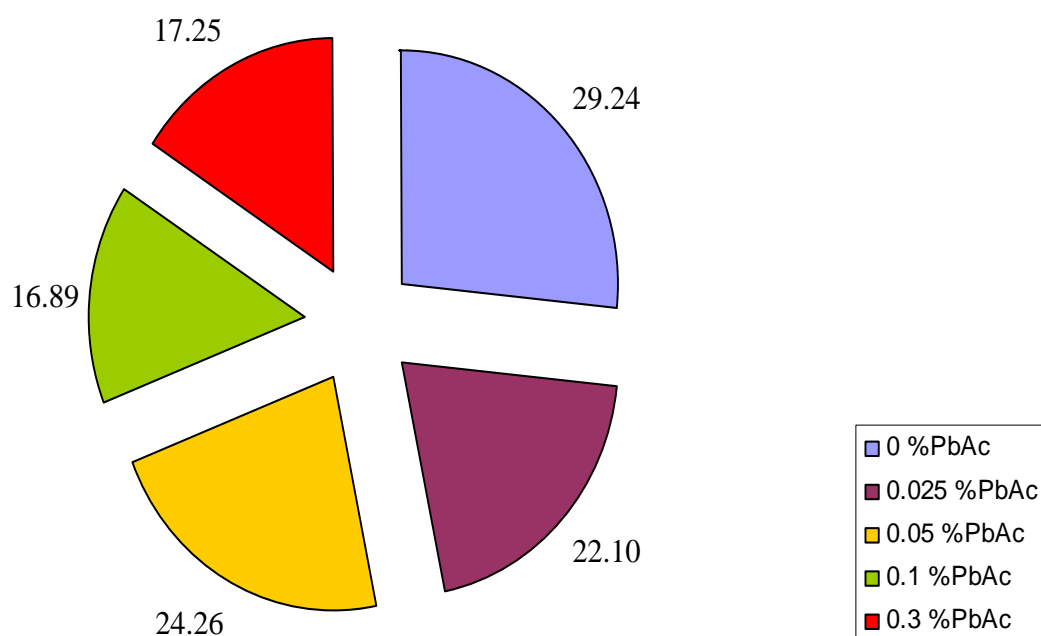


**Figure 6:** Taux de mobilité des spermatozoïdes.

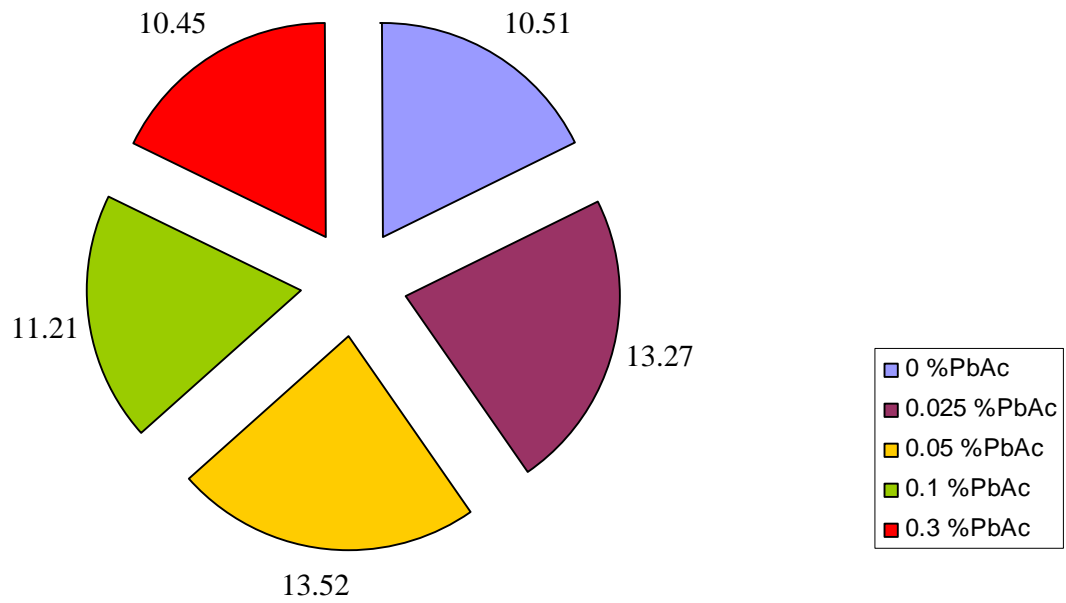
### III.5. Classification de la mobilité des spermatozoïdes

Le pourcentage des spermatozoïdes progressifs rapides a tendance à diminuer dans tous les groupes exposés au plomb comparativement au groupe témoin (figure 7) alors que le pourcentage des spermatozoïdes immobiles tend vers une augmentation sans pour autant que les différences n'atteignent les limites de la signification (figure 10).

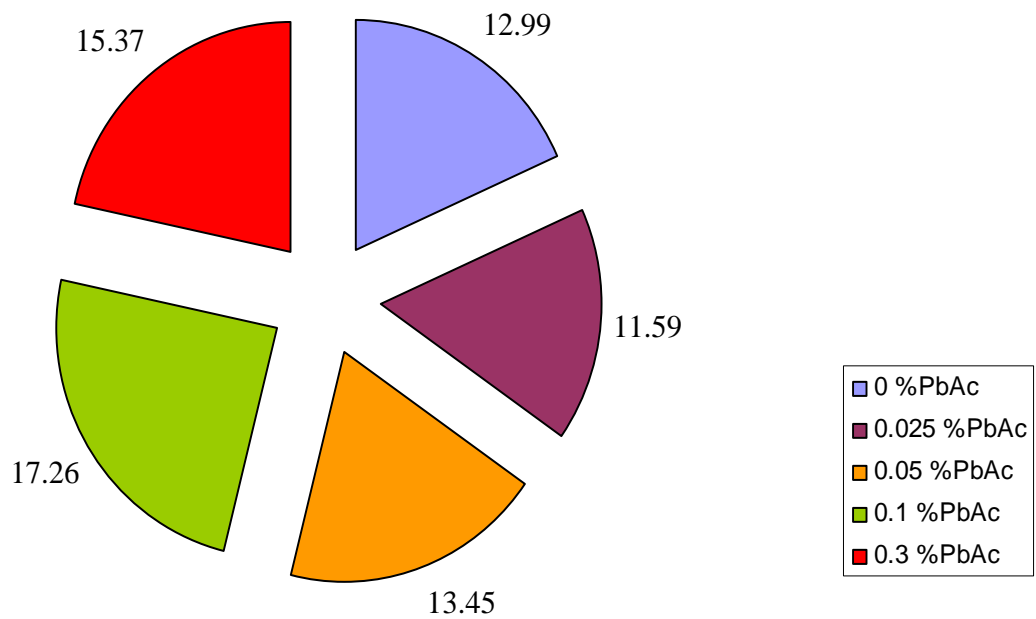
Les fréquences de mobilité progressive moyenne et non progressive des spermatozoïdes semblent similaires dans tous les groupes des animaux (figures 8 et 9).



**Figure 7:** Taux de spermatozoïdes progressifs rapides (%).

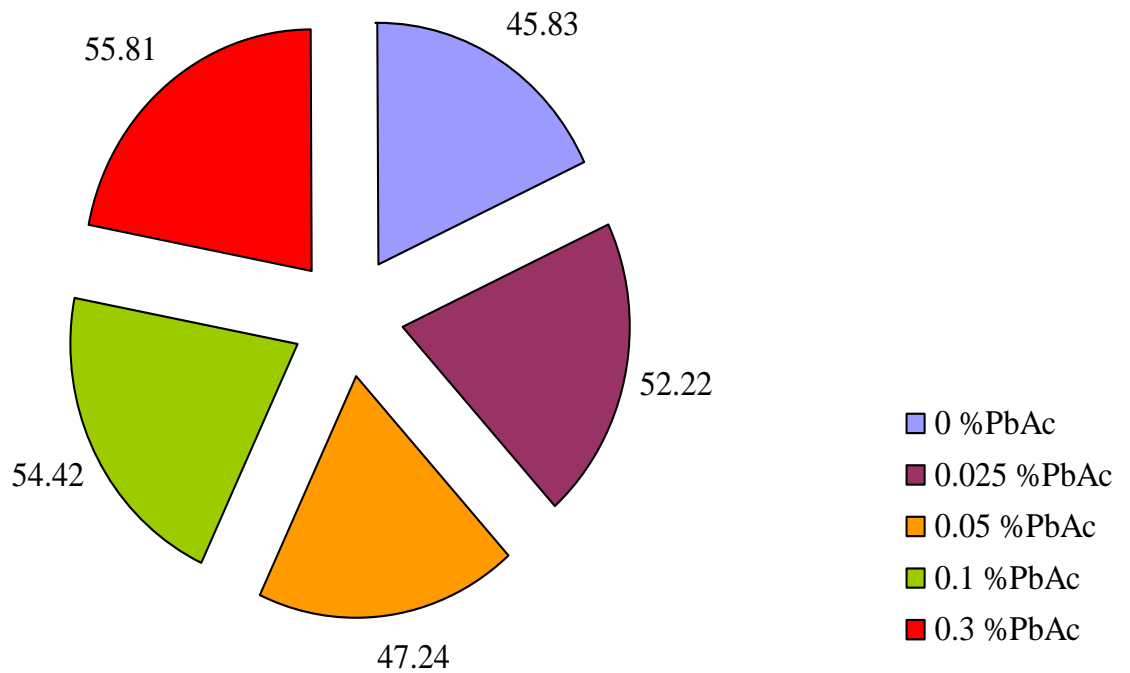


**Figure 8:** Taux de spermatozoïdes progressifs moyens (%).



**Figure 9:** Taux de spermatozoïdes non progressifs (%).





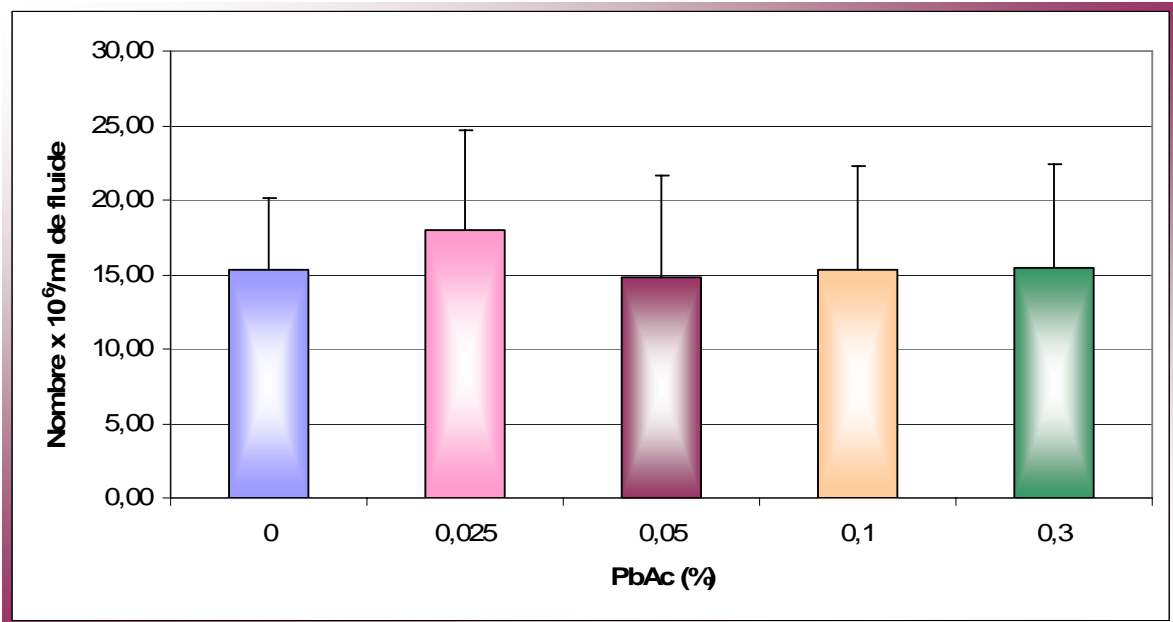
**Figure 10:** Taux de spermatozoïdes immobiles (%).

### III.6. Numération des spermatozoïdes

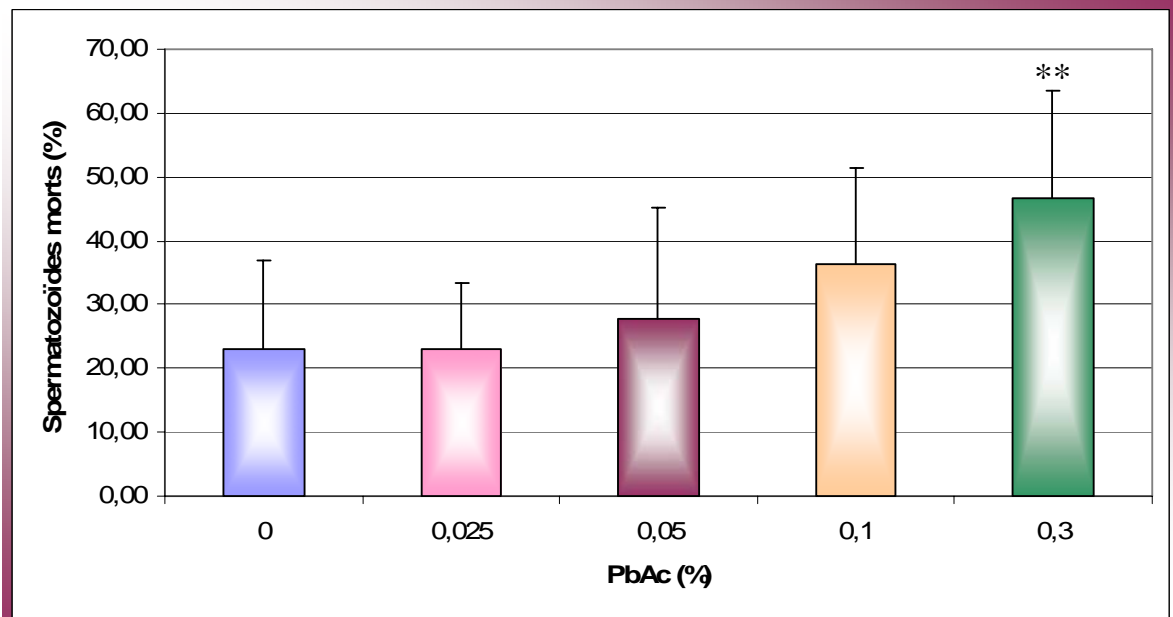
La numération des spermatozoïdes est similaire dans tous les groupes (figure 11).

### III.7. Mortalité des spermatozoïdes

Le pourcentage des spermatozoïdes morts est plus élevé dans tous les groupes exposés à l'AcPb comparativement au groupe non exposé avec une augmentation significative pour le groupe le plus fortement exposé au plomb ( $p < 0,01$ ) (figure 12).



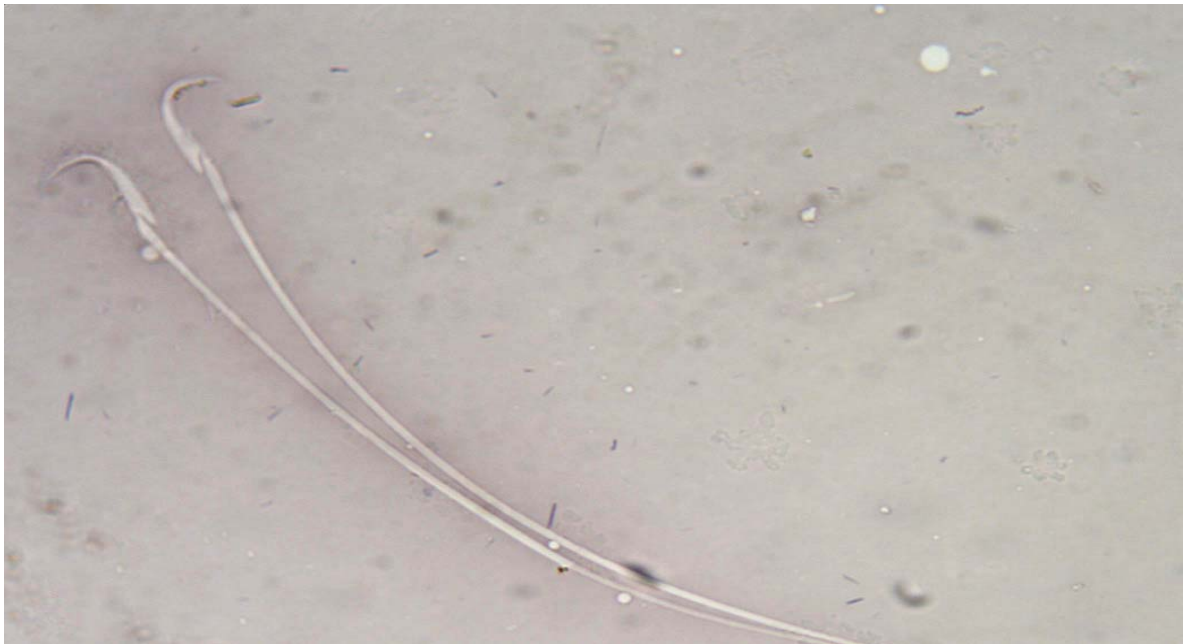
**Figure 11:** Numération des spermatozoïdes.



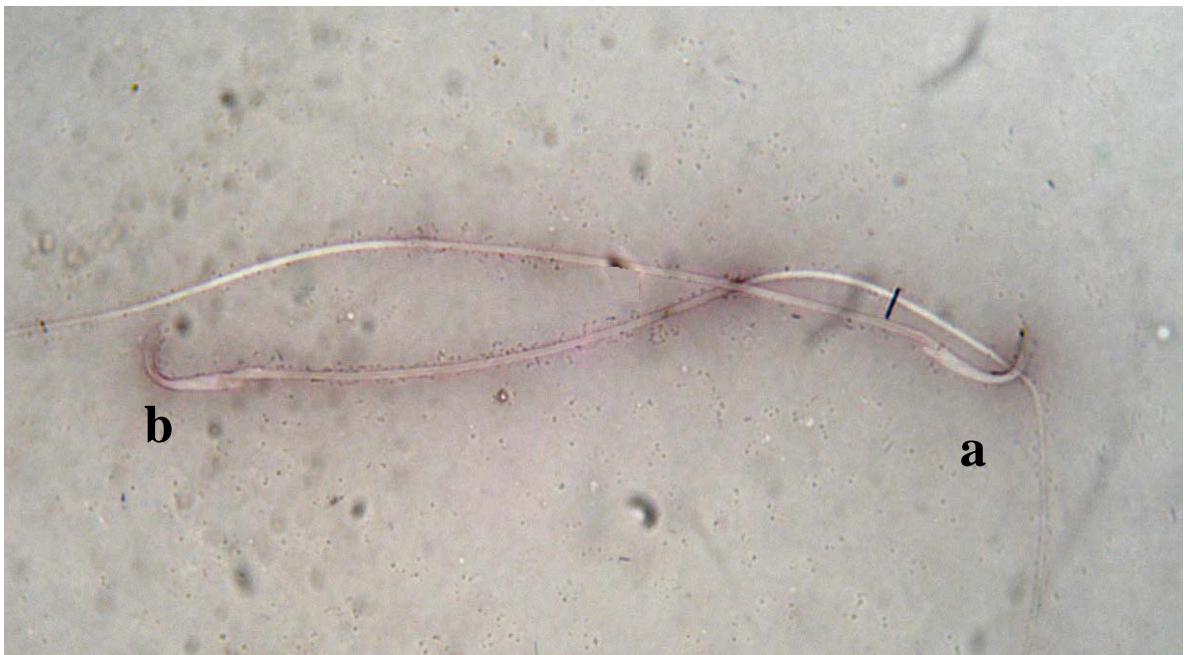
\*\* Différence significative par rapport au groupe témoin à  $p < 0.01$ .

**Figure 12:** Taux de mortalité des spermatozoïdes.

Les figures 13 et 14 montrent respectivement deux spermatozoïdes vivants et un spermatozoïde mort.



**Figure 13:** Spermatozoïdes vivants d'un rat du groupe témoin.

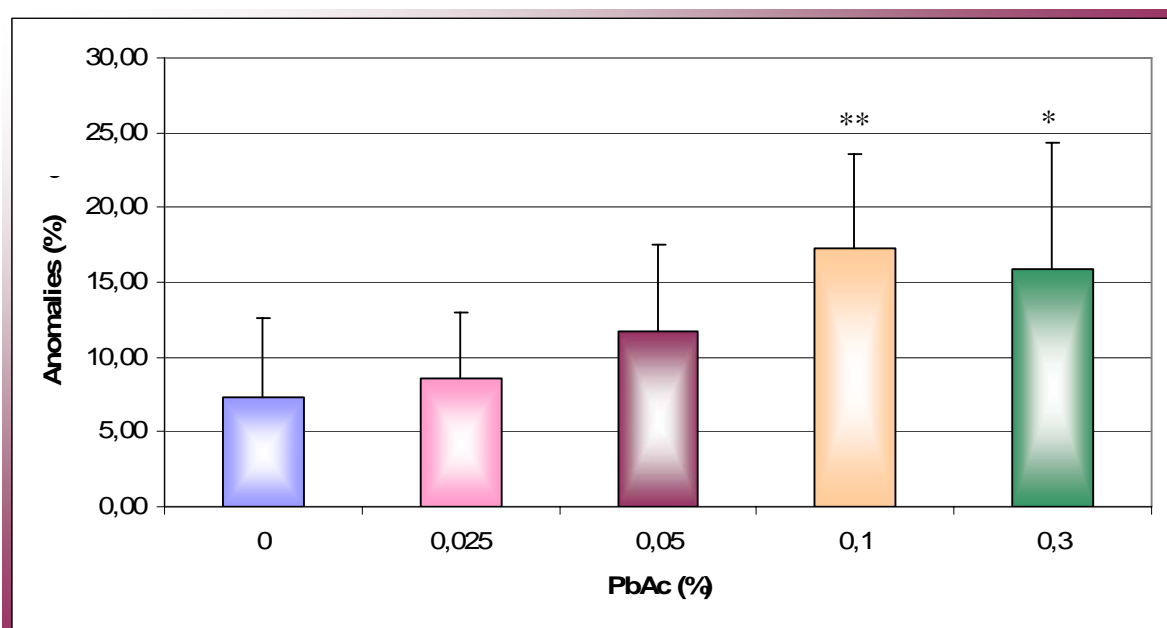


**Figure 14:** Spermatozoïde vivant (a) et spermatozoïde mort (b) d'un rat exposé à 0,3% AcPb.

### III.8. Anomalies morphologiques des spermatozoïdes

#### III.8.1. Anomalies totales

Les anomalies sont nettement moins fréquentes dans le groupe témoin ( $7.31 \pm 5.36\%$ ) comparativement aux groupes exposés :  $8.56 \pm 4.40\%$  (groupe 2);  $11.68 \pm 5.87\%$  (groupe 3);  $17.30 \pm 6.32\%$  (groupe 4) et  $15.85 \pm 8.54\%$  (groupe 5). Il y'a une augmentation significative supérieure à 100 % dans le pourcentage des anomalies totales dans les groupes traités avec 0,1% ( $p < 0,01$ ) et 0,3% d'AcPb ( $p < 0,05$ ) par rapport au groupe témoin (figure15).



\* Différence significative par rapport au groupe témoin à  $p < 0.05$ .

\*\* Différence significative par rapport au groupe témoin à  $p < 0.01$ .

**Figure 15 :** Taux d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes.

#### III.8.2. Types d'anomalies observées

Ces anomalies sont représentées essentiellement par des spermatozoïdes avec malformation de la queue: groupe 1 ( $4.86 \pm 4.54\%$ ); groupe 2 ( $5.21 \pm 3.69\%$ ); groupe 3 ( $8.57 \pm 5.77\%$ ); groupe 4 ( $11.96 \pm 4.80\%$ ) et groupe 5 ( $8.34 \pm 4.64\%$ ). Les anomalies multiples sont plus rares (tableau 5).

Les fréquences des anomalies de la tête et de la queue sont significativement élevées chez les rats exposés à 0,1 % d'AcPb ( $p < 0,01$ ), alors que celle de la pièce intermédiaire est significativement augmentée dans le groupe le plus fortement exposé (0,3% d'AcPb) (tableau 5).

**Tableau 5 : Sièges des anomalies des spermatozoïdes (%)**

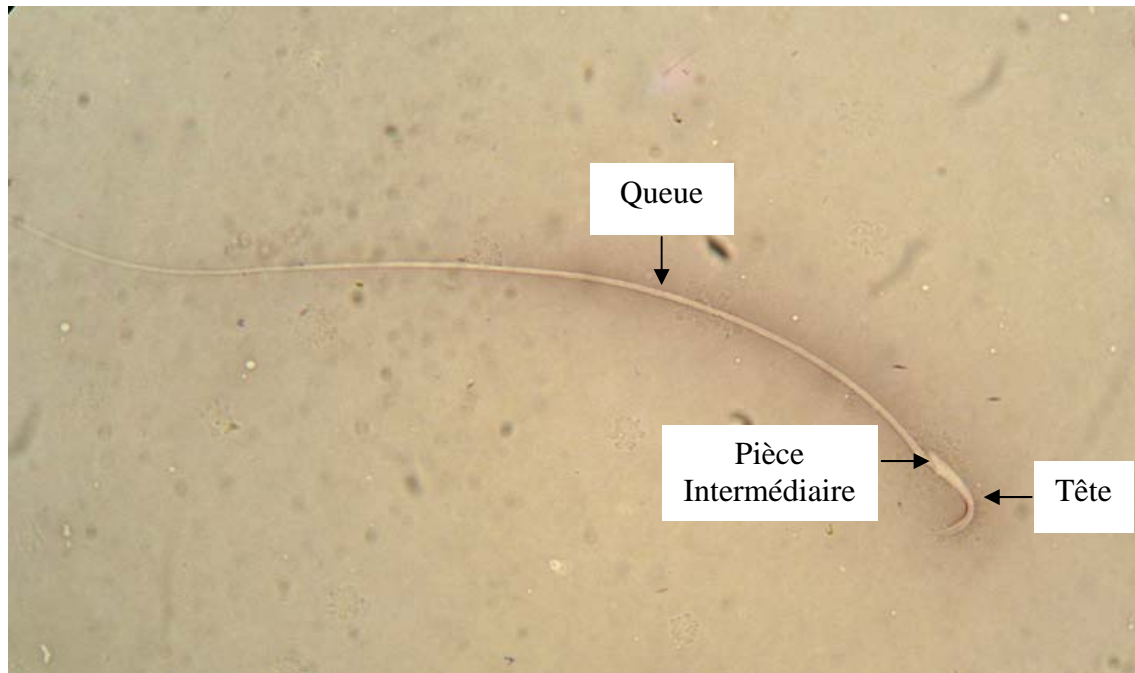
Groupes	Témoin	0.025%	0.05%	0.1%	0.3%
Spermatozoïdes décapités (%)	1.00±0.66	0.92±0.56	0.90±0.66	0.52±0.61	0.84±0.82
Anomalie de la tête (%)	1.00±0.53	1.50±0.87	1.25±0.93	2.72±1.26**	2.17±1.30
Anomalies de la pièce intermédiaire (%)	0.20±0.31	0.38±0.77	0.58±0.73	0.96±0.80	1.45±1.21**
Anomalie de la queue (%)	4.86±4.54	5.21±3.69	8.57±5.77	11.96±4.80**	8.34± 4.64
Anomalies multiples (%)	0.26±0.41	0.33±0.55	0.38±0.59	0.81±0.82	0.87±0.92

Les valeurs sont représentées par des fréquences moyennes des différents types d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes  $\pm$  écartype pour (10-12) animaux.

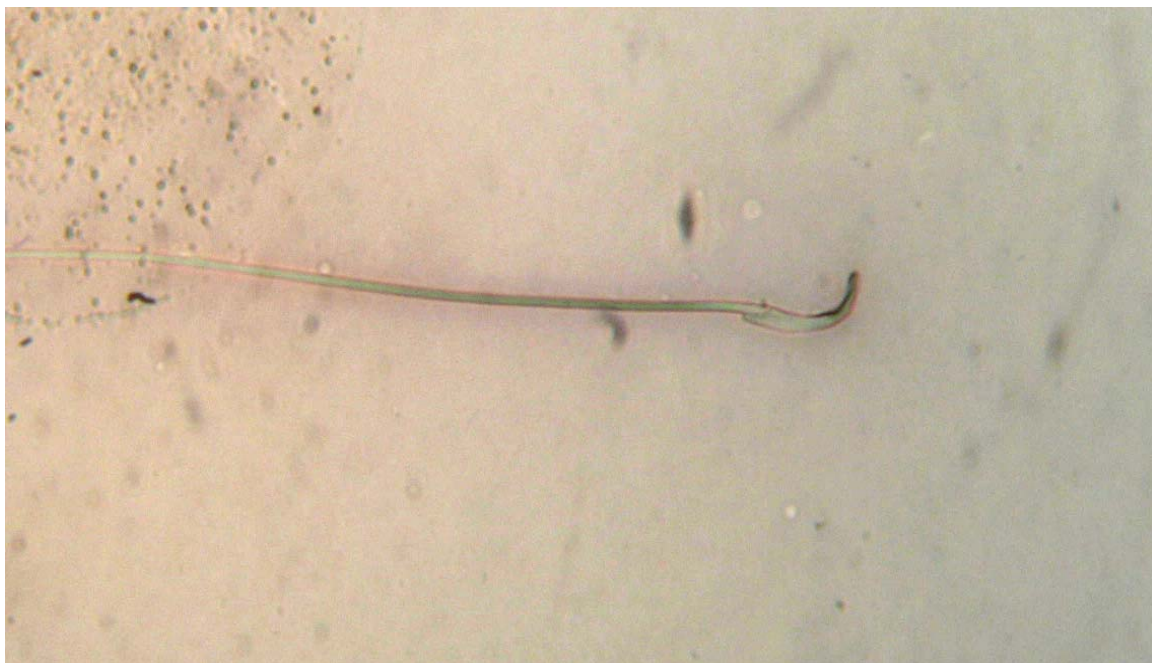
\* Différence significative par rapport au groupe témoin à  $p < 0.05$ .

\*\* Différence significative par rapport au groupe témoin à  $p < 0.01$ .

Les figures 16 à 26 montrent un spermatozoïde normal, ainsi que des spermatozoïdes présentant chaque type d'anomalies (tête, pièce intermédiaire, queue et spermatozoïde décapité) avec un grossissement x 1000.



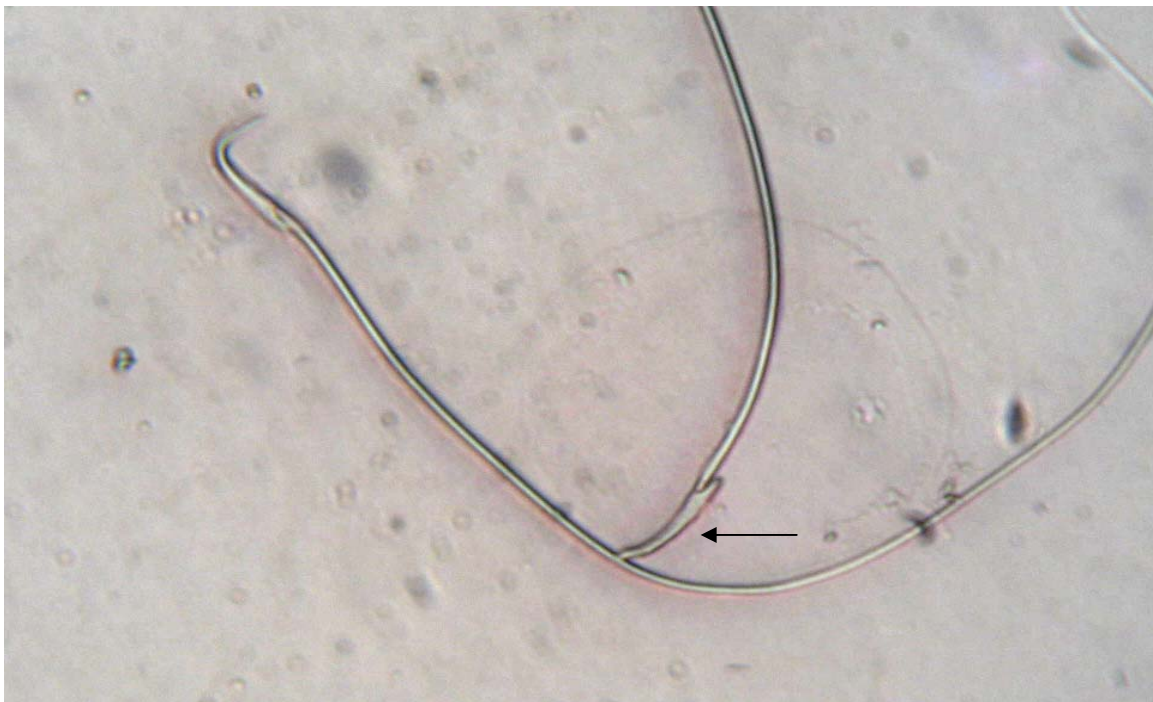
**Figure 16 :** Spermatozoïde normal d'un rat du groupe témoin.



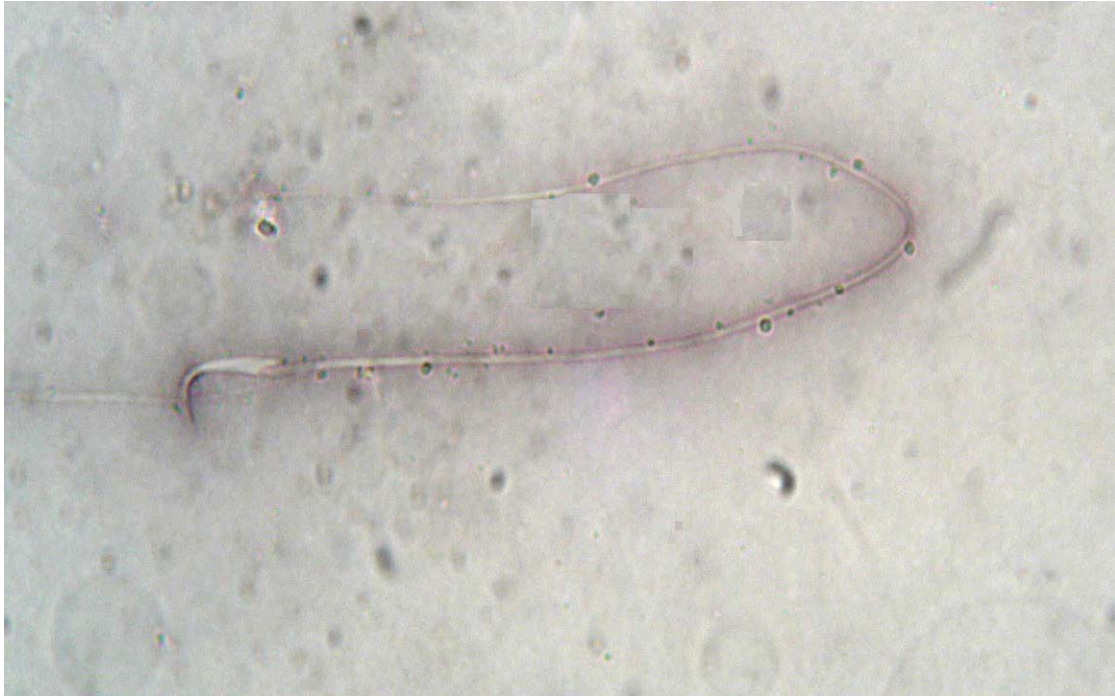
**Figure 17:** Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête d'un rat exposé à 0,1% AcPb.



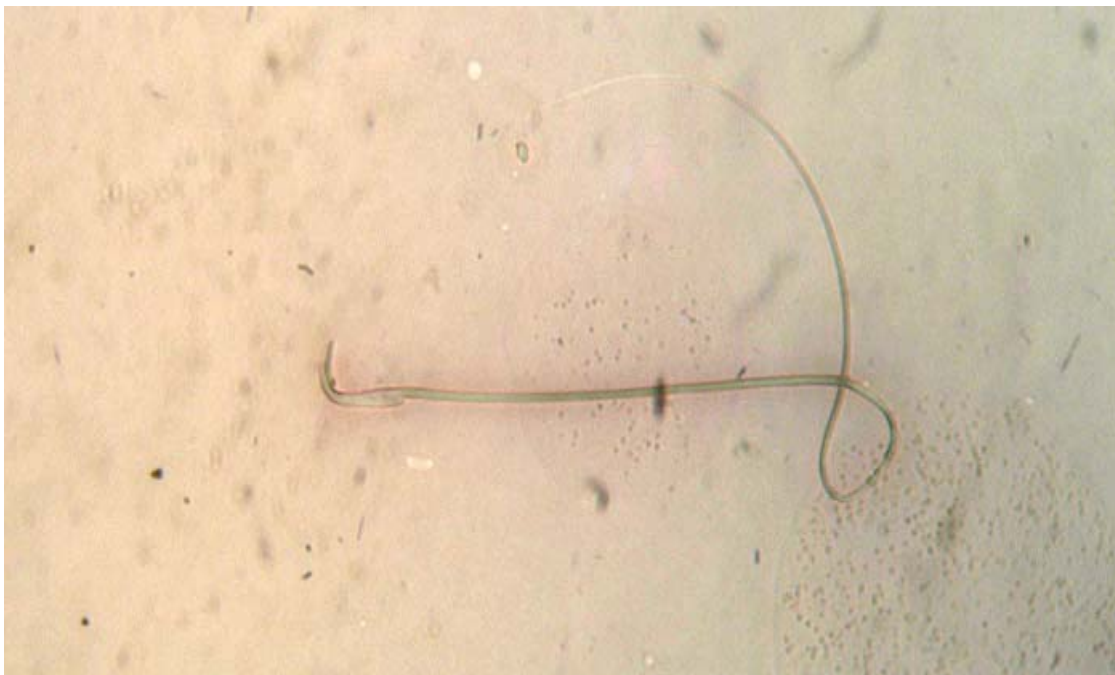
**Figure 18:** Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête d'un rat exposé à 0,3% AcPb.



**Figure 19:** Spermatozoïde présentant une anomalie de la tête d'un rat exposé à 0,1% AcPb.



**Figure 20:** Spermatozoïde mort présentant une anomalie de la queue d'un rat exposé à 0,1% AcPb.



**Figure 21:** Spermatozoïde mort présentant une anomalie de la queue d'un rat exposé à 0,1% AcPb.

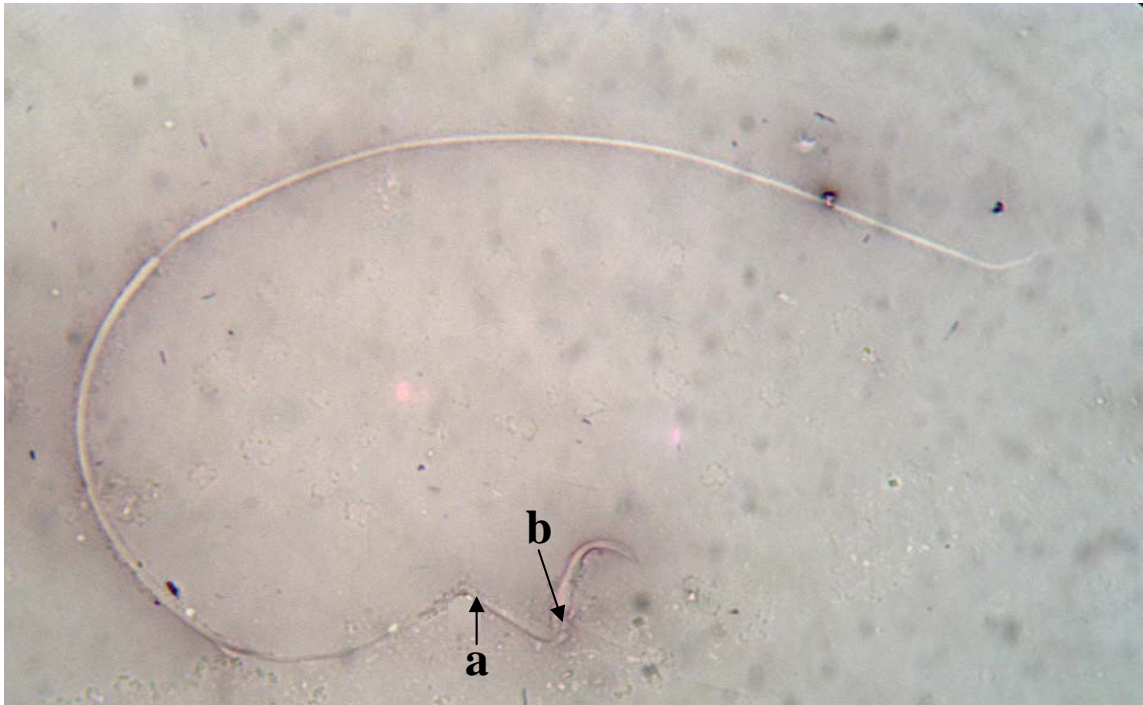




**Figure 22:** Spermatozoïde mort présentant une anomalie de la queue.



**Figure 23 :** Spermatozoïde présentant une anomalie de la pièce intermédiaire.



**Figure 24** : Spermatozoïde présentant une anomalie de la queue (a) et une anomalie de la pièce intermédiaire (b).



**Figure 25** : Spermatozoïde décapité avec seulement une queue d'un rat témoin.

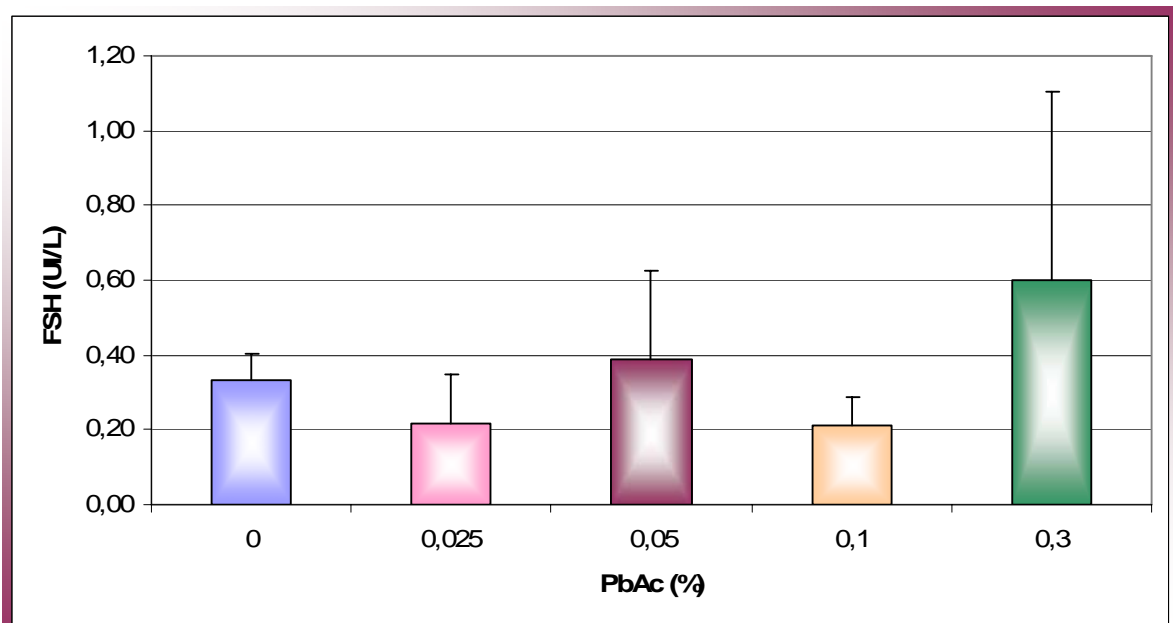


**Figure 26** : Spermatozoïde décapité avec une tête détachée d'un rat témoin.

### III.9. Concentrations sériques des hormones FSH, LH et testostérone

#### III. 9.1. Concentrations de FSH

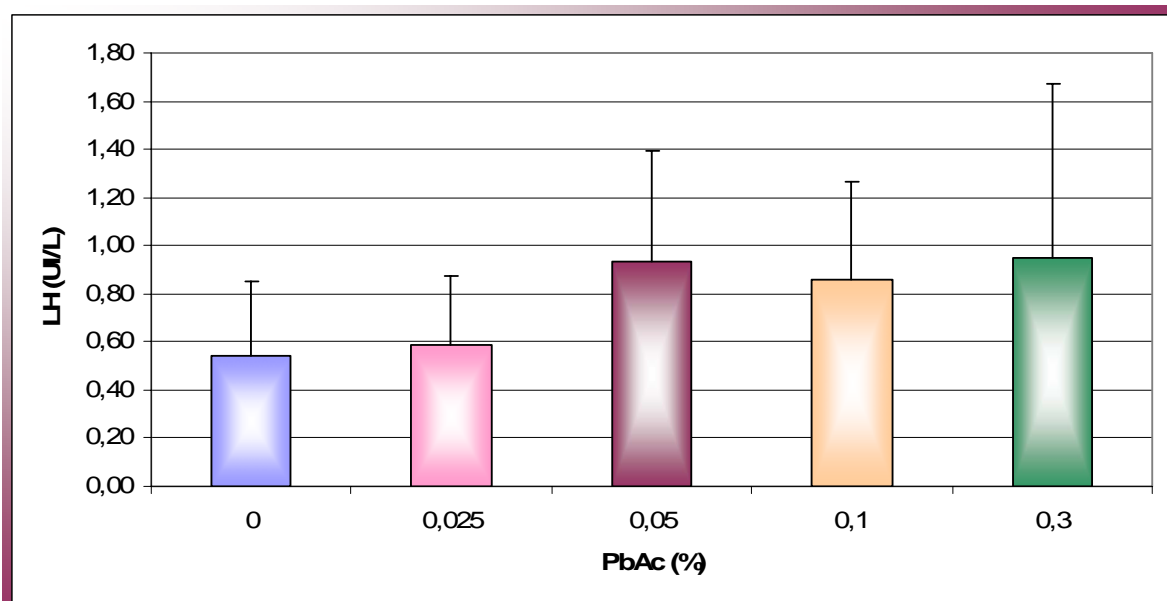
La concentration sérique en FSH est similaire dans tous les groupes (figure 27)



**Figure 27** : Taux de FSH sérique.

### III. 9.2. Concentrations de LH

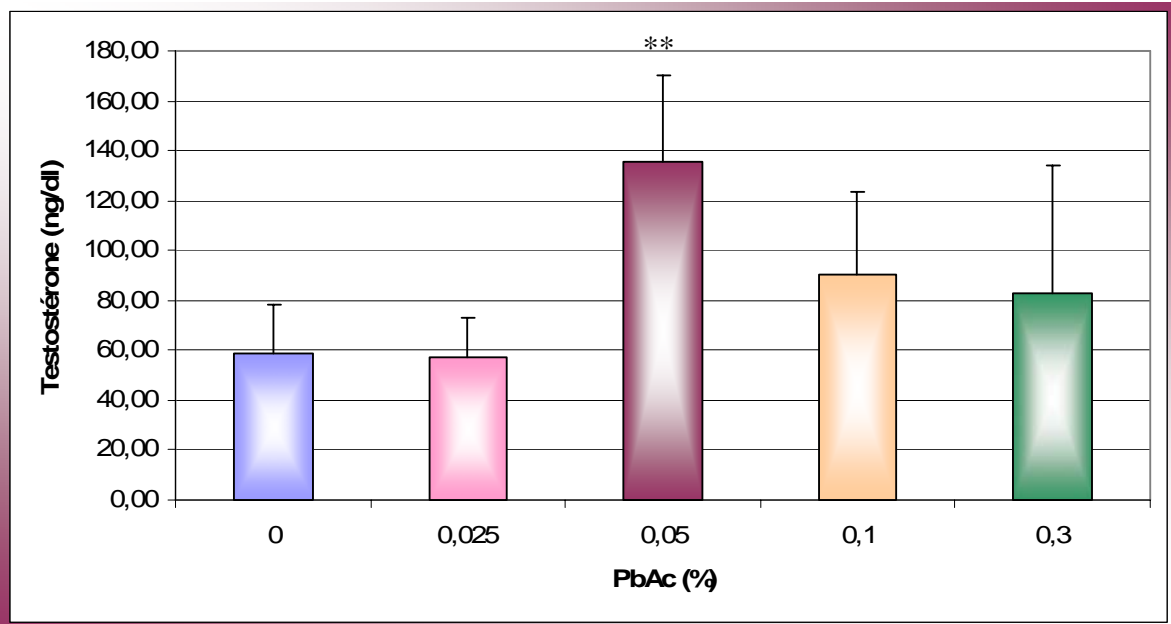
Une augmentation de la concentration sérique de la LH est notée dans tous les groupes intoxiqués par l'AcPb comparativement au groupe témoin sans que les différences ne soient statistiquement significatives (figure 28).



**Figure 28 :** Taux de LH sérique.

### III. 9.3. Concentrations de testostérone

Une augmentation du taux de testostérone est observée dans les trois groupes fortement exposés mais elle n'est significative que pour le groupe traité avec 0,05 % d'AcPb (figure 29).



\*\* Différence significative par rapport au groupe témoin à  $p < 0.01$ .

**Figure 29 :** Taux de testostérone sérique.

# ***Discussion***

## CHAPITRE IV : DISCUSSION

### IV.1. Poids corporel et des organes sexuels

Dans notre étude, nous n'avons pas retrouvé de différences significatives ni dans le poids corporel, ni dans le poids des organes sexuels étudiés. Des résultats similaires ont été rapportés par [Marchlewicz \*et al.\* \(2004\)](#) qui ont exposé des rats adultes à 1% d'AcPb dans l'eau de boisson pendant une période identique à celle de notre expérience.

[Nathan \*et al.\* \(1992\)](#) n'ont pas retrouvé également d'effet sur le poids corporel ou le poids des organes sexuels avec des concentrations similaires à celles utilisées dans notre étude mais pendant une durée plus courte (10 semaines).

Certains auteurs n'ont relevé aucune modification significative du poids des organes sexuels du rat adulte (testicules, prostate, épидидymes, vésicules séminales) après administration d'acétate de plomb dans l'eau de boisson : [Ronis \*et al.\* \(1996\)](#) à la concentration de 0.6% pendant 14 jours, [Pinon-Lataillade \*et al.\* \(1993\)](#) à la concentration de 0.3% pendant 70 jours et [Kempinas \*et al.\* \(1990\)](#) à la concentration de 0.0275%.

Cette absence d'effet a aussi été rapportée chez des rats intoxiqués durant la période de développement à la dose de 0.0125% dans l'eau de boisson par [Comoratto \*et al.\* \(1993\)](#), par [Coffigny \*et al.\* \(1994\)](#) à la concentration de 5 mg/m<sup>3</sup> et par [Ronis \*et al.\* \(1998 a\)](#) à la concentration de 0.6%.

Par contre, [Ronis \*et al.\* \(1996 et 1998 b\)](#) ont retrouvé une baisse du poids relatif de la prostate et des vésicules séminales chez des rats exposés pendant la période prépubertaire (0.6% ; du 24<sup>ème</sup> au 74<sup>ème</sup> jour) ou pendant la gestation et la période de développement (0.05 à 0.45%).

Une réduction significative concernant le poids absolu de la prostate et des vésicules séminales est aussi observée par [Sokol \(1990\)](#) chez des rats intoxiqués par le plomb pendant 60 jours.

[Wadi et Ahmad \(1999\)](#) ont retrouvé une diminution du poids de l'épididyme et des vésicules séminales à des concentrations élevées en plomb (0,5%).

Une baisse du poids des testicules et des vésicules séminales a été rapportée chez des rats adultes recevant de l'acétate de plomb à 0.1% dans l'eau de boisson pendant 12 semaines (Bataineh *et al.*, 1998).

Une baisse du poids des testicules a été retrouvée chez des rats exposés à une concentration d'acétate de plomb dans l'eau de boisson de 0.03% du premier jour de gestation jusqu'à la naissance mais pas chez ceux exposés à la même concentration de la naissance jusqu'à l'âge de 5 jours (Corpas *et al.*, 1995).

Chez des rats adultes *Sprague-Dawley* intoxiqués par inhalation ( $5 \text{ mg/m}^3$  pendant 70 jours), la baisse du poids ne concerne que les vésicules séminales (Pinon-Lataillade *et al.*, 1993).

Une élévation du poids de la prostate a été rapportée à l'âge de 160 jours dans un groupe de rats *Sprague-Dawley* exposés *in utero* (Mc Givern *et al.*, 1991) ainsi que dans un groupe de rats recevant du plomb par gavage à la dose de 0.013 mg/kg/j pendant 30 jours mais non chez ceux recevant 20 fois cette dose (Hilderbrand *et al.*, 1973).

Deux paramètres confondants, l'âge et le poids corporel de l'animal expliquent en partie l'hétérogénéité de l'effet du plomb sur le poids testiculaire (Wang *et al.*, 2008).

Deux groupes de rats de souche *Wistar* ont été intoxiqués par de l'acétate de plomb via l'eau de l'eau de boisson à deux concentrations : 3 et 6 mg/ml, le traitement a été administré pendant 15 ; 30 ; 45 ; 60 ou 90 jours. Une baisse significative des poids absolus et relatifs du testicule, de l'épididyme, des vésicules séminales et de la prostate est apparue à partir du 15<sup>ème</sup> jour pour le groupe 1 et à partir du 45<sup>ème</sup> jour pour le groupe 2. Ces baisses de poids ont disparu à partir du 60<sup>ème</sup> jour (Gorbel *et al.*, 2002).

La précocité et la chronicité de l'intoxication seraient déterminantes pour l'apparition d'un effet significatif.

## IV.2. Numération des spermatozoïdes

La numération des spermatozoïdes n'est pas affectée dans notre expérimentation.



L'absence d'effet significatif du plomb sur la numération des spermatozoïdes a aussi été rapportée par certains auteurs (Willems *et al.*, 1982 ; Johansson et Wide, 1986 ; Hernandez-Ochoa *et al.*, 2006). D'autres au contraire, ont retrouvé un effet négatif du plomb sur la numération des spermatozoïdes mais avec des concentrations en acétate de plomb plus élevées à celles utilisées dans notre expérimentation (Sokol, 1990 ; Alexander *et al.*, 1996), ou avec d'autres voies d'administration du toxique comme le gavage (Barratt *et al.*, 1989).

Dans une étude récente menée chez des rats de souche *Holtzman* âgés de 3 mois, intoxiqués par l'acétate de plomb par injection à des concentrations de 8 ; 16 et 24 mg/kg, une diminution du nombre de spermatozoïdes des groupes exposés par rapport au groupe témoin a été observée ( $p < 0.05$ ) (Rubio *et al.*, 2006).

Une diminution du nombre de spermatozoïdes a aussi été constatée chez des rats *Sprague-Dawley* exposés à l'acétate de plomb dans l'eau de boisson à une concentration de 0.1% qui est l'une des doses identiques à celle utilisée dans notre étude pour une durée d'intoxication de 70 à 160 jours (Mc Givern *et al.*, 1991).

Pinon-Lataillade *et al.* (1993) ont utilisé deux voies d'absorption : inhalation de 5 mg/m<sup>3</sup> ou ingestion d'acétate de plomb dans l'eau de boisson à une concentration de 0.3% pour une durée d'exposition de 70 jours chez les rats *Sprague-Dawley*, la baisse du nombre de spermatozoïdes n'a concerné que la voie respiratoire malgré que les plombémies soient voisines pour les deux voies.

Chez des rats *Sprague-Dawley* exposés à l'acétate de plomb depuis le 5<sup>ème</sup> jour de gestation jusqu'à l'âge de 85 jours à des doses voisines ou supérieures à celles utilisées dans notre expérimentation (0.05 ; 0.15 ou 0.45%) dans de l'eau de boisson, aucun effet significatif sur la numération des spermatozoïdes n'a été relevé (Ronis *et al.*, 1998 b).

Après administration d'acétate de plomb à des singes de l'âge de 300 jours à 10 ans, de la naissance jusqu'à l'âge de 400 jours, ou pendant toute la vie chez le singe, Foster *et al.* (1998) n'ont pas noté de modification concernant la numération des spermatozoïdes.

Fowler *et al.* (1980) ont rapporté l'absence d'effet du plomb sur le nombre de spermatozoïdes, pour une exposition durant la période de gestation, la lactation et jusqu'à l'âge de 9 mois à des concentrations en plomb dans l'eau de boisson de 0.0005 ; 0.005 ; 0.025 ou 0.25%. Les même auteurs ont observé une baisse du nombre de spermatozoïdes par gavage durant 9 semaines pour la dose de 0.19 mg/kg/jour alors qu'à la dose la plus élevée de 192 mg/kg/jour, la diminution n'est pas significative.

La voie d'intoxication pourrait avoir un rôle sur l'effet du plomb sur la numération totale des spermatozoïdes.

### **IV.3. Vitesse de progression des spermatozoïdes**

Une diminution de la vitesse des spermatozoïdes suite à l'exposition au plomb est observée dans notre étude.

Plusieurs auteurs ont étudié l'effet du plomb sur la qualité du sperme, mais l'impact du plomb sur la vitesse des spermatozoïdes aussi bien chez l'animal que chez l'homme demeure peu étudié.

Naha et Chowdhury (2005) ont retrouvé une diminution significative dans les deux populations de travailleurs d'une usine de peinture, l'une était faiblement exposée et l'autre fortement exposée au plomb. En revanche la vitesse des spermatozoïdes n'est pas altérée chez une population mexicaine exposée à des concentrations environnementales faibles en plomb (Hernandez-Ochoa *et al.*, 2005) ou chez des rats exposés à 1g/l de chlorure de plomb dans l'eau de boisson pendant 112 jours (Johansson, 1989).

### **IV.4. Mobilité des spermatozoïdes**

Nous avons révélé dans notre expérimentation une réduction de la mobilité notamment le taux de mobilité progressive rapide des spermatozoïdes.

Des résultats similaires ont été retrouvés par Rubio *et al.* (2006) qui ont noté une altération de la mobilité des spermatozoïdes chez des rats adultes Holtzman ayant ingéré

des concentrations de 8 ; 16 et 24 mg/kg d'acétate de plomb, mais sans aucune différence significative par rapport au groupe témoin.

Au contraire une diminution significative de la mobilité des spermatozoïdes est observée dans une étude effectuée sur des rats adultes *Sesco* pendant une durée d'exposition de 30 jours à une concentration de 30 µg/dl de plomb dans l'eau de boisson (Hilderbrand *et al.*, 1973) et chez des souris traitées avec 0,5% d'AcPb dans l'eau de boisson pendant 6 semaines (Wadi et Ahmed, 1999).

Une baisse significative de la motilité des spermatozoïdes est également notée chez des rats intoxiqués par gavage à la dose de 0,05 mg Pb/kg pendant 20 et 30 jours (Krasovskii *et al.*, 1979).

L'exposition *in utero* jusqu'à l'âge de 90 jours de rats *Sprague-Dawley* par inhalation de 5 mg/m<sup>3</sup> d'oxyde de plomb n'a provoqué aucun effet sur la mobilité des spermatozoïdes (Coffigny *et al.*, 1994).

Chez la souris mâle, intoxiquée à l'âge adulte par ingestion d'une eau de boisson contenant 1g/l de chlorure de plomb pendant 3 mois, ayant une plombémie moyenne de 320 µg/l, la motilité des spermatozoïdes épидидymaires n'a pas été affectée (Johansson et Wide, 1986 ; Johansson, 1989).

La mobilité des spermatozoïdes n'a pas été également atteinte après administration d'acétate de plomb chez le singe (Foster *et al.*, 1998).

A ce jour, il n'y a pas d'études qui ont recherché l'effet du plomb sur les différentes classes de mobilité des spermatozoïdes chez l'animal exposé au plomb.

#### **IV.5. Morphologie des spermatozoïdes**

Dans la présente étude, nous avons retrouvé une augmentation significative des anomalies morphologiques des spermatozoïdes chez les rats des 2 groupes les plus fortement exposés (0,1 et 0,3% d'AcPb), comparativement au groupe témoin.

Des auteurs ont rapporté un effet identique d'excès d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes de rats après 9 semaines d'exposition par gavage pour certaines doses : 300 mg/kg/j (Baratt *et al.*, 1989) et 192 mg/kg/jour (Kimmel *et al.*, 1980) ou après administration du plomb dans l'eau distillée (Wadi et Ahmed, 1999).

D'autres auteurs, au contraire n'ont pas constaté une atteinte de la morphologie des spermatozoïdes aux doses plus faibles par ingestion de 0.3 et 33 mg/kg/j par la voie de gavage (Barratt *et al.*, 1989), chez des rats exposés par inhalation de 5300 mg/m<sup>3</sup> d'oxyde de plomb de la gestation jusqu'à l'âge de 90 jours (Coffigny *et al.*, 1994), par ingestion d'acétate de plomb dans de l'eau de boisson (0.00005 à 0.025% d'acétate de plomb) pendant la période de gestation jusqu'à l'âge de 9 mois (Kimmel *et al.*, 1980) ou chez des rats *Sprague-Dawley*, intoxiqués de 1 à 2 mois, par l'acétate de plomb dans l'eau de boisson et ayant des plombémies de 350 à 1200 µg/l (Nathan *et al.*, 1992).

Chez le singe intoxiqué au plomb avec différentes doses, aucune augmentation des anomalies morphologiques des spermatozoïdes n'a été observée par rapport aux témoins (Foster *et al.*, 1998).

Les altérations morphologiques n'ont pas été rapportées aussi dans les études menées par Willems *et al.*, (1982) et par Pinon-Lataillade *et al.* (1993, 1995).

#### **IV.6. Fertilité**

Une atteinte de la fertilité a été observée chez des rats adultes recevant de l'acétate de plomb à la concentration de 0.1% pendant 12 semaines (Bataneh *et al.*, 1998), mais pas chez des rats exposés pendant leur développement aux concentrations de 0.0025 ou 0.025% (Gandley *et al.*, 1999).

Une fertilité normale a été retrouvée également chez des rats adultes *Sprague-Dawley* après exposition pendant 70 jours par ingestion (0.3% d'acétate de plomb dans l'eau de boisson) ou par inhalation de 5mg/m<sup>3</sup> d'oxyde de plomb (Pinon-Lataillade *et al.*, 1993).

Benoff *et al.* (2003) ont étudié l'effet du plomb du liquide séminal sur le taux de réussite de la fécondation in vitro (FIV) chez des donneurs sains sans aucune altération de la qualité des spermatozoïdes. Une corrélation négative a été relevée entre le niveau du plomb séminal et le taux de fertilisation des ovocytes récupérés des conjoints de ces donneurs.

Gennart *et al.* (1992 a) constatent que la fertilité des travailleurs est diminuée de façon significative durant les années d'exposition au plomb comparativement aux années précédant cette exposition.

Coste *et al.*, (1991) ne notent aucune association entre l'exposition au plomb et la fertilité.

#### **IV.7. Synthèse des études de l'impact du plomb sur la qualité du sperme chez l'homme**

Plusieurs études rapportent une altération de la qualité du sperme portant sur un ou plusieurs paramètres du spermogramme.

L'exposition professionnelle au plomb a été retrouvée associée à l'oligospermie, l'asthénospermie, la tératospermie et la baisse de la viabilité des spermatozoïdes (Rosa *et al.*, 2003 ; Telisman *et al.*, 2000 ; Lerda *et al.*, 1992) ; à l'oligospermie, l'asthénospermie et la tératospermie (Viskum *et al.*, 1999 ; Lancrangean *et al.*, 1975) ; à l'oligospermie et l'asthénospermie (Cullen *et al.*, 1984) ; à l'oligospermie seule (Bonde *et al.*, 1997 ; Fisherfishbein *et al.*, 1987 ; Assenato *et al.*, 1987 ; Alexander *et al.*, 1996 et 1998), à la tératospermie seule (Chowdhury *et al.*, 1986 ; Naha *et al.*, 2006 ; Roychowdhury *et al.*, 1995 ; Lancrangean *et al.*, 1975 ; Bonde et Kolstad, 1997 ; Robins *et al.*, 1997) ou à la baisse de la mobilité et de la viabilité des spermatozoïdes (Eibensteiner *et al.*, 2005).

Xu *et al.*, (1993) ne décèlent aucun lien entre la plombémie et la qualité du sperme.

Naha et Chowdhury (2005) ont étudié la qualité du sperme dans deux populations de travailleurs d'une usine de peinture, l'une est faiblement exposée alors que l'autre est fortement exposée au plomb. Une augmentation significative de la tératospermie est

décelée dans les deux groupes avec une augmentation particulière des malformations de la tête, de la pièce intermédiaire et de la queue des spermatozoïdes. Le pourcentage des spermatozoïdes progressifs est inversement proportionnel à la durée d'exposition des travailleurs alors que les taux de spermatozoïdes moyennement rapides, immobiles ou à déplacement circulaire sont proportionnels à la durée d'exposition professionnelle.

La concentration, la mobilité, la morphologie et la viabilité des spermatozoïdes sont négativement corrélées avec la teneur du sperme en plomb dans une population mexicaine exposée à des concentrations environnementales faibles en plomb (Hernandez-Ochoa *et al.*, 2005).

#### **IV.8. Concentration de FSH, LH et testostérone**

Les concentrations sériques en FSH et LH ne sont pas significativement altérées dans notre étude malgré l'augmentation du taux de LH observée dans tous les groupes intoxiqués au plomb. Cela suggère qu'il n'y a pas une atteinte évidente de la fonction hypothalamo-hypophysaire.

L'absence de changement du taux de FSH et LH est précédemment rapportée chez la souris ou le singe (Foster *et al.*, 1993 ; Foster *et al.*, 1998 ; Nathan *et al.*, 1992 ; Pinon-Lataillade *et al.*, 1993, 1995 ; Ronis *et al.*, 1998b ; Sokol, 1989, 1990 ; Wadi and Ahmad, 1999), alors qu'une diminution du taux de FSH et LH est récemment observé (Batra *et al.*, 2004 ; Biswas and Ghosh, 2004).

L'augmentation significative de la concentration sérique de la testostérone dans notre expérimentation est notée seulement chez les rats ayant reçu 0,05% d'AcPb, ceci pourrait être due soit à l'élévation de la LH, soit à l'altération de la fonction testiculaire probablement par effet du plomb sur le métabolisme des cellules de Leydig.

Au contraire, le taux de testostérone sérique est diminué après une exposition au plomb dans certaines études (Biswas and Ghosh, 2004 ; El-Nattat *et al.*, 2000 ; Ronis *et al.*, 1998 a, b ; Rubio *et al.*, 2006 ; Sokol, 1989 ; Thoreux-Manlay *et al.*, 1995), mais dans d'autres expérimentations, la concentration de testostérone demeure inchangée (Foster *et*

*al.*, 1993 ; Foster *et al.*, 1998 ; Johansson and Wide, 1986 ; Pinon-Lataillade *et al.*, 1993, 1995).

Kempinas *et al.* (1994) ont observé une augmentation de 20 fois le niveau de testostérone après 20 jours d'intoxication au plomb, suivie par une normalisation après 270 jours.

L'exposition de rats aux doses de 0,05% ; 0,15% et 0,45% d'acétate de plomb de la gestation jusqu'à la puberté (55 jours) a provoqué une diminution significative de la testostérone dans le groupe le plus fortement exposé, accompagnée par une diminution significative de LH plasmatique dans tous les groupes exposés (Ronis *et al.*, 1998 b).

Gorbel *et al.* (2002), au contraire, ont noté une réduction précoce de la testostérone chez des rats males intoxiqués à 3 g/l ou 6 g/l d'AcPb après 15 jours d'intoxication suivie par une augmentation tardive de cette hormone à 60 jours d'intoxication puis une normalisation de la concentration de testostérone malgré la continuation du traitement.

Ces constatations suggèrent un phénomène d'adaptation tel qu'évoqué antérieurement dans plusieurs études et qui pourrait expliquer l'effet léger du plomb noté dans la présente étude sur les hormones sexuelles.

Sokol *et al.* (1990) soutiennent l'hypothèse que l'adaptation à la toxicité du plomb survient avec l'exposition prolongée au toxique. Le taux de testostérone sérique n'est pas affecté par l'augmentation de la durée d'exposition au plomb chez les animaux qui sont intoxiqué à la puberté.

La capacité des rats males castrés et traités au plomb à réagir à la castration avec une augmentation de LH indique une adaptation de l'axe hypothalamo-hypophysaire à l'effet toxique du plomb (Sokol *et al.*, 1998).

Sokol *et al.* (2002) ont exposé des rats *Sprague-Dawley* à des doses similaires à celles de notre étude pendant différentes périodes de 1 ; 4 ; 8 et 16 semaines. Les taux sériques de GnRH et LH sont restés inchangés dans tous les groupes exposés et pendant toutes les périodes, alors qu'une augmentation de la concentration de RNAm GnRH dosé

dans l'hypothalamus est retrouvé chez tous les animaux traités au plomb et pendant les différentes durées, avec une atténuation de cette élévation observée seulement dans le groupe le plus fortement exposé pendant la durée maximale d'intoxication. Cela suggère que le rat mâle *Sprague-Dawley* s'adapte à l'effet toxique du plomb sur l'hypothalamus et l'augmentation moléculaire de RNAm GnRH n'est pas traduite par une augmentation de GnRH sérique.

Chez l'homme, les effets du plomb sur la sécrétion d'hormones sexuelles sont très variables. Certains auteurs ne rapportent aucune altération du niveau des hormones sexuelles après exposition au plomb (Alexander *et al.*, 1996 ; Alexander *et al.*, 1998 ; Assenato *et al.*, 1987 ; Benoff *et al.*, 2003 ; Gennart *et al.*, 1992 a, b ; Telisman *et al.*, 2000).

Telisman *et al.* (2007) observent une corrélation positive de la plombémie avec la testostérone plasmatique mais aucun lien n'a été objectivé avec la FSH ou la LH.

Sur 25 travailleurs sains d'une fonderie de plomb dont les taux de FSH, testostérone et prolactine ont été déterminés, seul celui de la FSH a été diminué (Gustafson, 1989).

Chez 23 travailleurs d'une fonderie et 20 témoins, la testostérone sérique est augmentée après 5 ans d'ancienneté, la LH est augmentée dans tous les groupes exposés et la FSH est restée inchangée (Rodamillans *et al.*, 1988).

Ng *et al.* (1991) notent une hausse de la FSH et de la LH, la testostérone étant restée normale, alors que Braunstein *et al.* (1978) retrouvent une baisse de la testostérone.

Sur 33 travailleurs d'une fonderie de plomb et de fabrication de batteries au plomb, il n'a pas été noté de différences significatives des taux de FSH et de testostérone par rapport au groupe témoin, mais une corrélation de ces hormones avec la plombémie a été tout de même mise en évidence (Kim *et al.*, 2001).

El-Zohairy *et al.* (1996) ont comparé les taux plasmatiques des hormones FSH, LH et testostérone de 30 travailleurs infertiles (15 exposés et 15 non exposés professionnellement au plomb) à 25 travailleurs fertiles (15 exposés et 10 non exposés



professionnellement au plomb). Une baisse de la LH a été observée dans le groupe de travailleurs fertiles exposés professionnellement, tandis qu'une augmentation de la LH et de la FSH a été observée dans les groupes de travailleurs infertiles. Aucune variation de la testostérone n'a été objectivée.

[Naha et Chowdhury \(2005\)](#) ont noté dans leur travail mené sur les employés d'une usine de peinture une infertilité due à une détérioration de la densité spermatique et morphologique associée à une hausse de la teneur en plomb dans le sang ou le sperme sans que les concentrations de FSH, LH et testostérone ne soient modifiées.

#### **IV.9. Mécanisme d'action**

Diverses études ont dressé le mécanisme de la toxicité du plomb sur la physiologie reproductive.

Il a été suggéré que le site majeur du plomb sur l'axe hypothalamo-hypophysogonadique chez le rat male se situe au niveau de l'hypothalamus. Ce point de vue est étayé par des observations sur des rats adultes males exposés au plomb qui ont présenté une altération de la libération de la LH hypophysaire en réponse à la stimulation hypothalamique avec le naloxone, une augmentation de la libération hypophysaire de la LH en réponse à une stimulation directe de l'hypophyse avec la LH-RH (« luteinizing hormone-releasing hormone »), une augmentation de la réponse testiculaire en réponse aux HCG (« human chorionique gonadotropin »), une augmentation de la réserve de la LH hypophysaire, une augmentation du GnRH mRNA dans l'hypothalamus ([Sokol , 1987 ; Klein et al., 1994](#)).

Au niveau de l'hypophyse, l'augmentation de la LH hypophysaire dose-dépendante observée a suggéré que les cations divalents comme le plomb pouvaient interférer avec les systèmes seconds messagers Ca-dépendant qui assurent la médiation de la sécrétion hormonale des granules de stockage ([Comoratto et al., 1993](#)).

La baisse de la testostérone plasmatique associée à une augmentation de la LH hypophysaire et une baisse de la LH plasmatique rapportée par [Ronis et al. \(1996, 1998 b\)](#)

et Sokol (1987) concordent avec le site d'action du plomb sur l'unité hypothalamo-hypophysaire.

Une évidence existe aussi sur des effets directs du plomb au niveau des gonades. Sokol (1990) a observé une baisse de plus de 50% de la testostérone circulante chez des rats exposés au plomb qui n'est accompagnée par aucun effet significatif sur la LH circulante. Une baisse du rapport testostérone / LH a aussi été rapportée chez des rats males exposés au plomb (Thoreux-Manley *et al.*, 1995). Le plomb agirait sur la concentration des récepteurs (diminution) LH testiculaires et sur la stéroïdogénèse par inhibition des enzymes stéroïdogéniques incluant les hydroxystéroïdes déshydrogénases et la stéroïde 5  $\alpha$ -réductase (Kempinas *et al.*, 1994 ; Wiebe *et al.*, 1982) (figure 30).

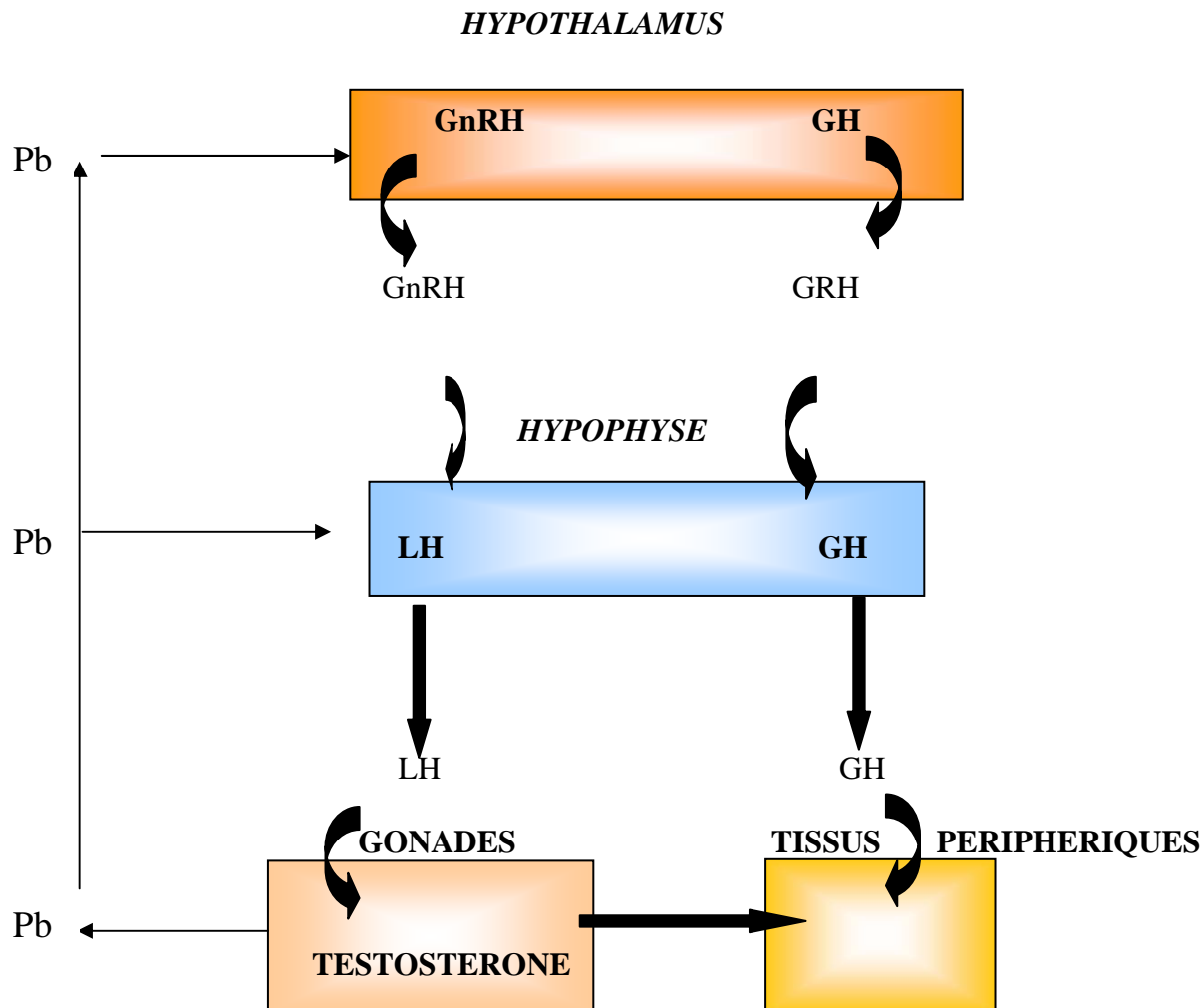
La pathogénie de la toxicité du plomb sur le sperme n'est pas encore complètement élucidée et plusieurs mécanismes d'action ont été proposés pour expliquer cet effet.

Les modifications dans la vitesse, la mobilité, la morphologie et la viabilité rapportées dans notre étude pourraient être liées au stress oxydatif (présence excessive de radicaux cytotoxiques) entraîné par le plomb au niveau des cellules gonadiques.

Des études récentes suggèrent que le plomb perturbe la balance oxydant/antioxydant et peut contribuer au moins partiellement à cette toxicité par altération des membranes, de l'ADN et des systèmes cellulaires antioxydants de défense (Hsu et Guo, 2002). En effet, une augmentation de la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) est observée après une exposition au plomb dans le sperme et les organes du système reproducteur aussi bien chez le rat (Acharya *et al.*, 2003 ; Hsu *et al.*, 1998 ; Hsu *et al.*, 1997 ; Marchlewicz *et al.*, 2007) que chez l'homme (Kasperczyk *et al.*, 2008).

Certaines études ont rapporté que le plomb induit la production des espèces réactives de l'oxygène qui est associée à une diminution de la numération des spermatozoïdes (Acharya *et al.*, 2003 ; Hsu *et al.*, 1998 ; Kasperczyk *et al.*, 2008), une diminution de la mobilité (Hsu *et al.*, 1997, 1998 ; Kasperczyk *et al.*, 2008) et une élévation des anomalies morphologiques (Acharya *et al.*, 2003). En plus, l'ajout d'antioxydants dans

l'aliment a réduit la production de ces espèces et prévient la diminution de la mobilité des spermatozoïdes chez des rats intoxiqués au plomb (Hsu *et al.*, 1998).



**Figure 30:** Schéma de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique (d'après RONIS *et al.*, 1996).

Le plomb pourrait altérer la chromatine du sperme en affectant la biodisponibilité du zinc dans le sperme (Hernández-Ochoa *et al.*, 2005). In vitro, le plomb induit également une diminution dose-dépendante de la liaison de la protamine HP2 (protéine zinc

dépendante) à l'ADN avec comme conséquence une altération de la chromatine du sperme (Quintanilla-Vega *et al.*, 2000).

Lefèvre (2004) a démontré que le plomb se lie efficacement à des enzymes intervenant dans le contrôle de la méiose, ce qui expliquerait ses effets potentiels sur la fertilité.

# ***Conclusion***

## **CONCLUSION**

Nous avons examiné dans cette présente étude, l'effet de l'exposition chronique au plomb à des doses modérées ou faibles sur le système reproducteur du rat mâle adulte.

Nos résultats révèlent que certains paramètres du sperme sont altérés aux faibles concentrations de plomb sans atteinte évidente de la fonction hypothalamo-hypophysaire.

L'augmentation du niveau de testostérone suggère que le plomb peut altérer la fonction testiculaire.

Un phénomène d'adaptation pourrait être la cause de l'effet modéré du plomb sur le système reproducteur mâle après une longue période d'intoxication. Des expériences sur des durées plus courtes utilisant des concentrations faibles du toxique devraient confirmer ou infirmer cette hypothèse.

Dans notre pays, le manque de moyens de dépistage biologique et d'évaluation de la pollution environnementale ne permet pas de nous renseigner avec exactitude sur l'ampleur du danger que représente l'exposition au plomb. Mais il est vraisemblable que celle-ci est considérable du fait du retard accumulé en matière de prévention aussi bien en milieu professionnel qu'extra professionnel.

Des taux exagérés de plomb dans l'alimentation associée à une exposition environnementale et dans l'eau de boisson qui est due principalement à la persistance des canalisations en plomb pourraient être responsables à long terme de divers troubles de la santé chez la population.

Les pays européens ont pris conscience de ce danger en s'engageant à réduire la norme admissible dans l'eau de boisson dans les quelques années à venir et toutes les mesures nécessaires sont prises en vue d'atteindre cet objectif.

Nous devons impérativement suivre cet exemple en toute urgence. Une stratégie de lutte globale doit être adoptée contre ce problème, ceci nécessite des moyens adéquats.

Des actions énergiques et courageuses telles que le remplacement des canalisations en plomb devraient être entreprises afin d'abaisser au plus bas niveau la teneur en plomb de l'eau de boisson. Les rejets de ce métal dans l'environnement par les industries et les véhicules doivent être limités.

***Références***

***Bibliographiques***



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ACHARYA U.R., RATHORE R.M., MISHRA M. (2003), Role of vitamin C on lead acetate induced spermatogenesis in Swiss mice, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13, p. 9-14.
2. ADONAYLO V.N., OTEIZA P.I. (1999), Lead intoxication: antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain, *Toxicology*, 135, p. 85-577.
3. AHLGREN L., HAEGER-ARONSON B., MATTSSON S. *et al.* (1980), In vivo determination of lead in skeleton after occupational exposure to lead, *Br. J. Ind. Med.*, 37, p.109.
4. AHLGREN L., MATTSSON S. (1979), An X-ray fluorescence technique for in vivo determination of lead concentration in a bone matrix, *Physiol. Biol.*, 24, p. 136.
5. AL MALACK M.H. (2001), Migration of lead from unplasticized polyvinyl chlorides pipes, *J. Hazard. Mater.*, 82 (3) , p. 74-263.
6. ALBAHARY C. (1964), Les troubles porphyriques dans le saturnisme. Etude comparative (à propos de 33 malades hospitalisés), *Arch. Mal. Prof.*, 25, p. 495-507.
7. ALBAHARY C. (1972), Lead and hemopoïesis. The mecanism and consequences of the erythropathy of occupational lead poisoning, *Am. J. Med.*, 52, p. 367-378.
8. ALEXANDER B H., CHECKOWAY H., COSTA-MALLEN P. *et al.* (1998), Interaction of Blood Lead and [ $\delta$ ]-Aminolevulinic Acid Dehydratase Genotype on Markers of Heme Synthesis and Sperm Production in Lead Smelter Workers, *Environ. Health Perspect.*, 106, p.213-216.
9. ALEXANDER B.H., CHECKOWAY H., VAN NETTEN C.H. *et al.* (1996), Semen quality of men employed at a lead smelter, *Occup. Environ. Med.*, 53, p. 411.
10. AMATRUDA J.M., STATON A.J., KIESOW L.A. (1977), Inhibition of carbon dioxide fixation by lead acetate in rat liver mitochondria, *Biochem. J.*, 166 (1), p. 75 -79.
11. AMDUR M.O., DOUL J., KLASSEN C.D. (1996), Lead, In Castarett and Doull's Toxicology, Mc Graw-hill, 5 éd., New York.
12. ARIBARG A, SUKCHAROEN N. (1996), Effects of occupational lead exposure on spermatogenesis, *J. Med. Assoc. Thai.*, 79, p. 91- 97.
13. ASSENATO G., PACI C., BASER M.E. *et al.* (1987), Sperm count suppression without endocrine dysfunction in lead-exposed men. *Arch. Environ.*, 42, p.124-127.
14. AUNGST B. J., FUNG H. L. (1981), Kinetic characterisation of in vitro lead transport across the rat small intestine, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 61, p. 39-47.
15. BARIL G., CHEMINEAU P., COGNIE Y. *et al.* (1993), Manuel de formation pour l'insémination artificielle chez les ovins et les caprins (FAO). Station de la

physiologie de la reproduction. Institut national de la recherche agronomique (INRA) Nouzilly, France.

16. BARRATT C.L., DAVIES A.G., BANSAL M.R. *et al.* (1989), The effects of lead on the male rat reproductive system, *Andrologia*, 21 (2), p. 161–166.
17. BATAINEH H., AL-HAMOOD M.H., ELBETIEHA A.M. (1998), Assessment of aggression, sexual behavior and fertility in adult male rat following long-term ingestion of four industrial metals salts, *Human Experimental Toxicology*, 17 (10), p. 570-576.
18. BATRA N., NEHRU B., BANSAL M.P. (2004), Reproductive potential of male Portan rats exposed to various levels of lead with regard to zinc status, *Br. J. Nutr.*, 91, 91-387.
19. BAXTER C.S., WEY H.E., CARDINA A.D. (1979), Evidence for specific lead -delta- aminolevunilate complex formation by carbon-13 nuclear magnetic resonance, *Spectroscopy Toxicol. Apply. Pharmacol.*, 47 (3), p. 477- 482.
20. BECK B.D. (1992), An update on exposure and effects of lead Fund, *Appl. Toxicol.*, 18, p. 1-16.
21. BELILES R.P. (1994), The metals, Patthy's Industrial Hygiene and Toxicology, IIC, John Wilay and sons, 4 éd., New York., p. 2065-2087.
22. BELLINGER D., LEVITON A., WATERNAUX C. *et al.* (1985), Methodological issues in modeling the relationship between low-level lead exposure and infant development: examples from the Boston Lead Study, *Environ. Res.*, 38(1), p.119-129.
23. BELLINGER D., SLOMAN J., LEVITON A. *et al.* (1991), Low-level lead exposure and children's cognitive function in the preschool years. *Pediatrics*, 872, p. 219-227.
24. BENOFF S., CENTOLA G.M., MILLAN C. *et al.* (2003), Increased seminal plasma lead levels adversely affect the fertility potential of sperm in IVF, *Hum. Reprod.*, 18 (2), p. 374-383.
25. BERGDAHL I.A., GRUBB A., SCHUTZ A. *et al.* (1997), Lead binding to delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) in human erythrocytes, *Pharmacol. Toxicol.*, 81(4), p. 8-153.
26. BERLIN K., GERARDSSON L., BORJESSON J. *et al.* (1995), Lead intoxication caused by skeletal disease, *Scand. J. Work Env. Health.*, 21(4), p. 296-300.
27. BINGHAM E., PFITZER E.A., BARKLEY W. *et al.* (1968), Alveolar macrophages, reduced number in rats after prolonged inhalation of lead sesquioxide, *Science*, 162 (859), p.1297- 1299.
28. BISWAS N.M., GHOSH P. (2004), Effect of lead on male gonadal activity in Albino Rats, *Kathmandu University Medical Journal*, 2, p. 6-43.
29. BJÖRND AHL L., SÖDERLUND I., KVIST U. (2003), Evaluation of the one-step eosin-nigrosin staining technique for human sperm vitality assessment, *Hum. Reprod.*, 18, p. 6-813.
30. BLACKLEY B.R. (1987), The effect of lead on chemical and viral induced tumor production in mice, *Toxicol. Apply. Pharmacol.*, 7, p. 167-172.

31. BLOKKER P.C. (1972). A literature survey on some health aspects of lead emissions from gasoline engines, *Atmos. Environ.*, 6 (1), p. 1-18.
32. BONDE J.P., JOFFE M., APOSTOLI P. *et al.* (2002), Sperm count and chromatin structure in men exposed to inorganic lead: lowest adverse effect levels, *Occup. Environ. Med.*, 59, p. 42-234.
33. BONDE JP et KOLSTAD H.(1997), Fertility of Danish battery workers exposed to lead, *Intern. J. Epid.*, 26, p. 1281-1288.
34. BONNARD N., FALCY M., HESBERT A. *et al.* (2006.), Plomb et composés minéraux. Fiche toxicologique FT 59, INRS.
35. BOUND J.P., HARVEY P.W., FRANCIS B.J. *et al.* (1997), Involvement of deprivation and environmental lead in neural tube defects: a matched case control study. *Arch. Dis. Child.*, 76(2), p.107-112.
36. BOYLAND E., DUKES C.E., GROVER P.L. *et al.* (1962), The induction of renal tumors by feeding lead acetate to rats, *Brit. J. Cancer*, 16, p. 283-288.
37. BRADBURY M.W., DEANE R. (1993), Permeability of the blood - brain barrier to lead, *Neurotoxicol.*, 14, p.131-136.
38. BRAUNSTEIN G.D., DAHLGREN J., LORIAUX D.L. *et al.* (1978), Hypogonadism in chronically lead-poisoned men, *Infertility*, 1(1), p. 33-51.
39. BRESSLER J., KIM K. A., CHAKRABORTI T. *et al.* (1999), Molecular mechanisms of lead neurotoxicity, *Neurochemical. Research.*, 24(4), p. 595-600.
40. BRYCE-SMITH D. (1971), Lead pollution: a growing hazard to public health, *Chem. Brit.*, 7, p. 54- 56.
41. BUCHET J.P., LAUWERYS R., HUBERMONT G. (1977), Mobilization of lead during pregnancy in rats, *Int. Arch. Occup. Env. Health*, 40, p. 33-36.
42. CANFIELD R.L., GENDLE M.H., CORY-SLECHTA D.A. (2004), Impaired neuropsychological functioning in lead-exposed children, *Dev. Neuropsychol.*, 26(1), p. 40-513.
43. CANFIELD R.L., HENDERSON C.R., CORY-SLECHTA D.A. *et al.* (2003), Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 microg per deciliter, *N. Engl. J. Med.*, 348(16), p. 26-1517.
44. CASTELLINO N., ALOJ S. (1964), Kinetics of the distribution and excretion of the lead in the rat, *Br. J. Ind. Med.*, 21, p. 308-314.
45. CAVANAGH J.B. (1973), Peripheral neuropathy caused by chemical agents, *Crit. Rev. Toxicol.*, 2, p. 365-417.
46. CHAMBERLAIN A.C., CLOUGH W.S., HEARD M.J. *et al.* (1975), Uptake of lead by inhalation of motor exhaust, *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 192 (1106), p. 77-110.
47. CHOWDHURY AR., CHINOY NJ., GAUTAM AK. *et al.* (1986), Effect of lead on human semen, *Adv. Contracept. Deliv. Syst.*, 2(2-3), p. 208-210.
48. COFFIGNY H., THOREUX-MANLAY A., LATAILLADE G. *et al.* (1994), Effects of lead poisoning of rats during pregnancy on the reproductive system and fertility of their offspring, *Hum. Exp. Toxicol.*, 13(4), p. 241-246.

49. COMORATTO A.M., WHITE L.M., LAU Y-S. *et al.*, (1993), Effects of exposure to low level lead on growth hormone release in rats, *Toxicology*, 83, p. 101-114.
50. CORPAS I., GASPAR I., MARTINEZ S., CODESAL J. *et al.* (1995), Testicular alterations in rats due to gestational and early lactation administration of lead, *Reprod. Toxicol.*, 9(3), p. 307-313.
51. COSTE J., MANDEREAU L., PESSIONE F. *et al.* (1991), Lead-exposed workmen and fertility: a cohort study on 354 subjects, *Eur. J. Epidemiol.*, 7(2), p. 154-158.
52. CRAMER A., GOYER R.A., JAGENBURG R. *et al.* (1974), Renal ultrastructure, renal function and parameters of lead toxicity in workers with different periods of lead exposure, *Brit. J. Ind. Med.*, 31 (2), p. 113-127
53. CULLEN MR., KAYNE RD., ROBINS JM. (1984), Endocrine and reproductive dysfunction in men associated with occupational inorganic lead intoxication, *Arch. Environ. Health.*, 39(6), p.431-440.
54. DAS R.P. (1985), Assessment of spermatozoal function, *J. Biosci.*, 7, p.245-255.
55. DAY J.P., HART M., ROBINSON M.S. (1975), Lead in urban street dust, *Nature*, 253, p. 343-345.
56. DE MARTIN H.J., BARRY J.E. (2001), Reproduction, De Boeck Université, p. 312.
57. DE NEIL A.C., JANE B.R., RICHARD M. (2006), Biologie, De Boeck Université, p. 1482.
58. DEKNUDT G.H., LEONARD A., IVANOV B. (1973), Chromosome aberrations observed in male workers occupationally exposed to lead, *Environ. Physiol. Biochem.*, 3, p. 132-138.
59. DESOILLE H., SCHERRER J., TRUHAUT R. (1992), Précis de médecine du travail, Masson, Paris, p. 1116.
60. DYATLOV V.A., LAWRENCE D.A. (2002), Neonatal lead exposure potentiates sickness behavior induced by *Listeria monocytogenes* infection of mice, *Brain Behav. Immun.*,16(4), p.477-492.
61. EIBENSTEINER L., SANZ A.D.C, FRUMKIN H. *et al.* (2005), Lead Exposure and semen quality among traffic police in Arequipa, Peru, *Int. J. Occup. Environ health*, 11, p.161-166.
62. EL-NATTAT W.S., AHMED W.M., SOLIMAN F.A. *et al.* (2000), Effect of chronic low dose exposure to lead on male reproduction in rabbits, *Egypt J. Vet. Sci.*, 34, p. 59-74.
63. EL-ZOHAIRY E.A., Youssef A.F., Abul-Nasr S.M. *et al.* (1996), Reproductive hazards of lead exposure among urban Egyptian men, *Reprod. Toxicol.*, 10(2), p. 145-151.
64. ERFURTH E.M., GERHARDSSON L., NILSSON A. *et al.* (2001), Effects of lead on the endocrine system in lead smelter workers. *Arch. Environ. Health*, 56(5), p. 449-455.

65. EYDEN B.P., MAISIN J.R., MATTELIN G. (1978), Long-term effects of dietary lead acetate on survival, body weight and seminal cytology in mice, *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, 19(3), p. 266-272.
66. FACTOR-LITVAK P., GRAZIANO J., SLAVKOVIC V. *et al.* (1991), Depressed serum erythropoietin in pregnant woman with elevated blood lead, *The Toxicologist*, 11, p. 81.
67. FALCY M., HESBERT A., JARGOT D. *et al.* (1998), *Cahiers de notes documentaires*, 170, p. 91-98.
68. FISHER-FISCHBEIN J., FISCHBEIN A., MELNICK HD. *et al.* (1987), Correlation between biochemical indicators of lead exposure and semen quality in a lead-poisoned firearms instructor, *JAMA*, 257, p.803-805.
69. FLEMING D.E., CHETTLE D.R., WETMUR J.G. *et al.* (1998), Effect of the delta-aminolevulinatase dehydratase polymorphism on the accumulation of lead in bone and blood in lead smelter workers, *Environ. Res.*, 77, p.49-61.
70. FORNI A., CAMBIAGHI G., SECCHI G.C. (1976), Initiated occupational exposure to lead. Chromosome and biochemical finding, *Arch. Environ. Health*, 31, p. 73-78.
71. FORNI A., SCIAME A., BERTAZZI P.A. *et al.* (1980), Chromosome and biochemical studies in women occupationally exposed to lead, *Arch. Environ. Health*, 35, p. 139-146.
72. FOSTER W.G., MCMAHON A. AND RICE D.C. (1996), Sperm chromatin structure is altered in cynomolgus monkeys with environmentally relevant blood lead levels. *Toxicol. Ind. Health*, 12(5), p.723-735.
73. FOSTER W.G., MCMAHON A., YOUNGLAI E.V. *et al.* (1993), Reproductive endocrine effects of chronic lead exposure in the male Cynomolgus monkey, *Reprod. Toxicol.*, 7, p. 203-209.
74. FOSTER W.G., SINGH A., MC MAHON A. *et al.* (1998), Chronic lead exposure effects in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) testis. *Ultrastruct. Pathol.*, 22(1), p. 63-71.
75. FOWLER B.A. (1998), Roles of lead-binding proteins in mediating lead bioavailability, *Environ. Health Perspect.*, 106 (6), p. 1585-1587.
76. FOWLER B.A., KIMMEL C.A., WOODS J.S. *et al.* (1980), Chronic low-level lead toxicity in the rat, 3. An integrated assessment of long-term toxicity with special reference to the kidney, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 56 (1), p. 59-77.
77. FU H., SOFFETA P. (1995), Cancer and occupational exposure to inorganic lead compounds, a metal-analysis of published data. *Occup. Environ. Med.*, 52, p. 73-81.
78. GENNART J.P.H., BEARNARD A., LAUWERYS R. (1992a), Assessment of thyroid, testes, kidney and autonomic nervous system function in lead exposed-workers, *Int. Arch. Occup. Env. Health*, 64, p. 49-57.
79. GENNART J.P.H., BUCHET J.P., ROELS H. *et al.* (1992b), Fertility of male workers exposed to cadmium, lead or manganese, *Am. J. Epidemiol.*, 135, p. 1208-1219.

80. GENNART J.P.H., LAUWERYS R., VAN DAMME J. (1990), Risque de saturnisme lors d'une activité de loisir, le tir en stand. *Louvain Méd.*, 109, p. 409.
81. GERBER G.B., LEONARD A., JACQUET P. (1980), Toxicity, mutagenicity and teratogenicity of lead, *Mutation Research*, 76, p. 115-141.
82. GIBSON S.L. M., MACKENZIE J.C, GOLDBERG A. (1968), The diagnosis of industrial lead poisoning, *Br. J. Ind. Med.*, 25, p. 40.
83. GOLDMAN R.H., WITHE R., KALES S. *et al.* (1994), Lead poisoning from mobilization of bone stores during thyrotoxicosis, *Am. J. Ind. Med.*, 25, p. 417-424.
84. GORBEL F., BOUJELBENE M., MAKNI-AYADI F. *et al.* (2002), Exploration des effets cytotoxiques du plomb sur la fonction sexuelle endocrine et exocrine chez le rat pubère mâle et femelle, *Biol.*, 325, p. 927-940.
85. GOYER R.A. (1971), Lead and the kidney, *Current Topics in Pathology*, 55, p. 147-176.
86. GOYER R.A. (1993), Lead toxicity. Current concerns, *Environ. Health Perspect.*, 100, p. 177-187.
87. GRAZIANO J.H., SLAVKOVIC V., FACTOR-LITVAK P. *et al.* (1991), Depressed serum erythropoietin in pregnant woman with elevated blood lead, *Arch. Environ. Health*, 46, p. 347-350.
88. GUADAGNINO E., GAMBARO M., GRAMICCIONI L. *et al.* (2000), Estimation of lead intake from crystalware under conditions of consumer use, *Food additives and contaminants*, 17(3), p. 205-218.
89. GUPTA P., HUSAIN M.M., SHANKAR R. *et al.* (2002), Lead exposure enhances virus multiplication and pathogenesis in mice, *Vet. Hum. Toxicol.*, 44, p. 205-210.
90. GUPTA P., HUSAIN M.M., SHANKAR R. *et al.* (2003), Exacerbation of soft tissue lesions in lead exposed virus infected mice, *Biomed. Environ. Sci.*, 16(4), p. 78-369.
91. GUSTAFSON A., HEDNER P., SCHUTZ A. *et al.* (1989), Occupational lead exposure and pituitary function, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 61(4), p. 277-281.
92. HAGUENOER J.M., FURON D. (1982), Toxicologie et Hygiène Industrielle II. Les dérivés minéraux, 2ème partie, Paris, éd. Technique et Documentation, p. 47-128
93. HAMMOND P.B. (1973), The relationship between inhibition of  $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase by lead and lead mobilisation by ethylene diamine tetraacetate (EDTA), *Toxicol. appl. pharmacol.*, 26, p. 466-475.
94. HARTWIG A. (1994), Role of DNA repair inhibition in lead and cadmium-induced genotoxicity, *Environ. Health Perspect.*, 102 (3), p. 45-50.
95. HERNÁNDEZ-OCHOA I., GARCÍA-VARGAS G., LÓPEZ-CARRILLO L. *et al.* (2005), Low lead environmental exposure alters semen quality and sperm chromatin condensation in northern Mexico. *Reprod. Toxicol.*, 20(2), p. 208-221.

96. HERNÁNDEZ-OCHOA I., SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ M., SOLÍS-HEREDIA M.J. *et al.* (2006), Spermatozoa nucleus takes up lead during the epididymal maturation altering chromatin condensation, *Reprod. Toxicol.*, 21, p. 171-178.
97. HERVE-BAZIN B. (2004), Le risque cancérigène du plomb: Evaluation en milieu professionnels, EDP Sciences, France, p. 356
98. HIGHT, S.C. (1996), Lead migration from lead crystal wine glasses. *Food Addit. Contam.*, 13, p. 765 -749.
99. HILDERBRAND D.C., DER R., GRIFFIN W.T. *et al.* (1973), Effect of lead acetate on reproduction. *Am. T. Obstet. Gynaecol.*, 115, p.1058-1065.
100. HIRSCHLER D.A., GILBERT L.F., LAMB F.W. *et al.* (1957), Particulate lead compounds in automobile exhaust gas, *Ind. Eng. Chem.*, 49(7), p. 1131-1142.
101. HSU P.C., GUO Y.L. (2002), Antioxidant nutrients and lead toxicity, *Toxicology*, 180, p. 33-44.
102. HSU P.C., LIU M.Y., HSU C.C. *et al.* (1998), Effects of vitamin E and/or C on reactive oxygen species-related lead toxicity in the rat sperm, *Toxicology*, 128, p.169-179.
103. HSU, P.C., LIU, M.Y., HSU, C.C. *et al.* (1997), Lead exposure causes generation of reactive oxygen species and functional impairment in rat sperm, *Toxicology*, 122, p.133-143.
104. HU H., RABINOWITZ M., SMITH D. (1998), Bone lead as a biological marker in epidemiologic studies of chronic toxicity: Conceptual Paradigms, *Environ. Health Perspect.*, 106 (1), p.1-8.
105. HWANG K.Y., SCHWARTZ B.S., LEE B.K. *et al.* (2001), Associations of lead exposure and dose measures with erythrocyte protein kinase C activity in 212 current Korean lead workers, *Toxicol. Sci.*, 6(2), p. 280-288.
106. HWANG K.Y., LEE B.K., BRESSLER J.P. *et al.* (2002), Protein kinase C activity and the relations between blood lead and neurobehavioral function in lead workers, *Environ. Health Perspect.*, 110(2), p. 133-138.
107. IARC (1980), Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemical to humans. Some metals and metallic compounds, Centre International de Recherche sur le Cancer, 23, Lyon, p. 325-415.
108. INDUSTRIAL REPRODUCTIVE TOXICOLOGY DISCUSSION GROUP (IRDG) (2000), Computer assisted sperm analysis (CASA) Group: Rat Sperm Morphological Assessment, Guideline document.
109. INSERM (1999), Plomb dans l'environnement, Synthèse et recommandations, p.149-169.
110. JOHANSSON L. (1989), Premature acrosome reaction in spermatozoa from lead exposed mice. *Toxicology*, 54, p.151-62.
111. JOUANNET P (2005), Cours du DESC d'Andrologie (Première Partie): Organisation et cinétique de la spermatogenèse – structure du spermatozoïde.
112. JUNAID M., CHOWDHURI D.K., NARAYAN R. *et al.* (1997), Lead induced changes in ovarian follicular development and maturation in mice. *J Toxicol Environ Health*, 50(1), p. 31-40.

113. KASPERCZYK A., KASPERCZYK S., HORAK S. (2008), Assessment of semen function and lipid peroxidation among lead exposed men. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 228, p. 378-384.
114. KASPRZAK K.S., HOOVER K.L., POIRIER L.A. (1985), Effects of dietary calcium acetate on lead subacetate carcinogenicity in kidneys of male Sprague-Dawley rats, *Carcinogenesis*, 6 (2), p. 279-282.
115. KEHOE R.A. (1961), The metabolism of lead in health and disease, *J. Roy. Inst. Publ. Health Hyg.*, 24, p. 81-203.
116. KEMPINAS W.G., FAVARETTO A.L., MELO V.R. *et al.* (1994), Time-dependent effects of lead on rat reproductive functions. *J. Appl. Toxicol.*, 14p. 427-433.
117. KEMPINAS W.G., MELO V.R., OLIVEIRA-FILHO R.M. *et al.* (1990), Saturnism in the male rat. Endocrine effects, *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, 23, p. 1176.
118. KIM H.S., CHANG S.H., LEE W.J. *et al.* (2001), Effect of Occupational Lead on Male Sex Hormones, *Korean J. Occup. Environ. Med.*, 13(1), p. 44-54.
119. KIMMEL C.A., GRANT L.D., SLOAN C.S. *et al.* (1980), Chronic low-level lead toxicity in the rat, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 56, p. 28-41.
120. KLEIN D., WAN Y.L., KAMYAB S. *et al.* (1994), Effects of toxic levels of lead on gene regulation in the male axis. Increase in messenger ribonucleic acids and intracellular stores of gonadotrophs within the central nervous system, *Biol. Reprod.*, 50, p. 802-811.
121. KOLLER L.D., KOVACIC S. (1974), Decreased antibody formation in mice exposed to lead, *Nature*, 250, p. 148-150.
122. KRASOVSKII G.N., VASUKOVICH L.Y., CHARIEV O.G. (1979), Experimental study of biological effects of lead and aluminum following oral administration, *Environ. Health Perspect.*, 30, p.47-51.
123. KUO H.W., WANG C.S., LAI J.S. (1997), Semen quality in workers with long-term lead exposure: a preliminary study in Taiwan, *Sci. Total Environ.*, 204, p.289-292.
124. KURIYAMA K., YOKOI R., KOBAYASHI K. *et al.* (2005), A time-course characterization of male reproductive toxicity in rats treated with methyl methanesulphonate (MMS), *J. Toxicol. Sci.*, 30, p. 91-102.
125. LANCRANJAN I., POPESCU H.I., GABVANESCU O. *et al.* (1975), Reproductive ability of work men occupationally exposed to lead. *Arch. Environ. Health*, 30, p. 396- 401.
126. LANPHEAR B.P., HORNING R., KHOURY J. *et al.* (2005), Low-level environmental lead exposure and children's intellectual function: an international pooled analysis, *Environ. Health Perspect.*, 113(7), p. 894-899.
127. LATERRA J., BRESSLER J.P., INDURTI R.R. *et al.* (1992), Inhibition of astroglia-induced endothelial differentiation by inorganic lead: a role for protein kinase C, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.*, 89 (22), p. 10748-10752.
128. LAUWERYS R. (2000), Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, Masson, Paris, p. 961.



129. LAUWERYS R., BUCHET J.P., ROELS H.A. *et al.* (1974), Relationship between urine delta-aminolevulinic acid excretion and the inhibition of red cell delta-aminolevulinic acid dehydratase by lead, *Clin. Toxicol.*, 7, p. 389.
130. LAUWERYS R., BUCHET J.P., ROELS H.A. *et al.* (1978), Placental transfer of lead, mercury, cadmium and carbon monoxide in women. I. Comparison of the frequency distributions of the biological indices in maternal and umbilical cord blood, *Environ. Res.*, 15, p. 278.
131. LAUWERYS R., HAUFROID V., HOET P. *et al.* (2007), Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, Masson, Paris, p.1252.
132. LERDA D. (1992), Study of sperm characteristics in persons occupationally exposed to lead, *Am. J. Ind. Med.*, 22, p. 567-571.
133. LEVEVRE B. (2004), Mécanisme de contrôle de la méiose par des enzymes sensibles au plomb, *J. Cell. Sci.* 117, p. 4969-4978.
134. LEWIS, K. H. (1966), The diet as a source of lead pollution. In: Symposium on Environmental Lead Contamination, Public Health Service (USA), Publication n° 1440, p. 17-20.
135. LIN S., HWANG S.A., MARSHALL E.G. *et al.* (1996), Fertility rates among lead workers and professional bus drivers: a comparative study, *Ann. Epidemiol.*, 6(3), p. 201-208.
136. MAITRE A. (2003), Risques spécifiques et prévention liés à l'exposition au plomb, Corpus Médical: Faculté de Médecine de Grenoble.
137. MANNINO D.M., ALBALAK R., GROSSE S *et al.* (2003), Second-hand smoke exposure and blood lead levels in U.S., *Children Epidemiology*, 14, p. 719-727.
138. MANNINO D.M., HOMA D.M., MATTE T. *et al.* (2005), Active and passive smoking and blood lead levels in U.S. adults: Data from the third national health and nutrition examination survey, *Nicotine Tob. Res.*, 7(4), p. 557-564.
139. MANTON W.I. (1985), Total contribution of airborn lead to blood lead, *Br. J. Ind. Med.*, 42, p. 168-172.
140. MARCHLEWICZ M., MICHALSKA T., WISZNIEWSKA B. (2004), Detection of lead-induced oxidative stress in the rat epididymis by chemiluminescence, *Chemosphere*, 57, p.1553-1562.
141. MARCHLEWICZ M., WISZNIEWSKA B., GONET B. *et al.* (2007), Increased lipid peroxidation and ascorbic acid utilization in testis and epididymis of rats chronically exposed to lead. *Bio. Metals*, 20, p.13-19.
142. MC GIVERN R.F., SOKOL R.Z., BERMAN N.G. (1991), Prenatal lead exposure in the rat during the third week of gestation, long-term behavioral, physiological, and anatomical effects associated with reproduction, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 110(2), p. 221.
143. MIQUEL G. M. (2001), Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport d'information de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, p. 261.
144. MOHAMMED-BRAHIM B., BUCHET J.P., LAUWERYS R. (1985), Erythrocyte Pyrimidine 5'-nucleotidase activity in workers exposed to lead, mercury or cadmium, *Int. Arch. Occup. Env. Health*, 20, p. 195-204.

145. MOORE M. R. ; ROBERTSON S. J. ; GILMOUR W. H. *et al.* (1998), Decline of maternal blood lead concentrations in Glasgow, *J. Epidemiol. Community Health*, 52(10), p. 672–673.
146. MORROW P.E., BETTER H., AMATO F. *et al.* (1980), Pulmonary retention of lead: An experimental study in man, *Environ. Res.*, 21(2), p. 373-384.
147. MURPHY M.J., GRAZIANO J.H., POPOVAC D. *et al.* (1990). Past pregnancy outcomes among women living in the vicinity of a lead smelter in Kosovo Yugoslavia. *Am. J. Public Health*, 80, p. 33-35.
148. NAFA and ESHRE-SIGA. (2002), Manual on Basic semen Analysis, Final version, p. 33.
149. NAHA N, CHOWDHURY AR. (2006), Inorganic lead exposure in battery and paint factory: effect on human sperm structure and functional activity, *J. UOEH*, 28, p.157–171.
150. NAHA N., CHOWDHURY AR. (2005), Toxic effect of lead on human spermatozoa: A study among pigment factory workers, *Int. J. Occup. Environ. Med.*, 9(3), p.118-123.
151. NAKAO K., WADO O., YANO Y. (1968),  $\delta$ -aminolevulinic acid deshydratase activity in erythrocytes for the evaluation of lead poisoning, *Clin. Chim. Acta*, 19, p. 319.
152. NATHAN E., HUANG H.F.S., POGACH L. *et al.* (1992), Lead acetate does not impair secretion of Sertoli cell function marker proteins in the adult Sprague-Dawley rat, *Arch. Environ. health*, 47, p. 370-375.
153. NAWROT T.S., THIJS L., DEN HOND E.M. *et al.* (2002), An epidemiological re-appraisal of the association between blood pressure and blood lead: a meta-analysis, *J. Hum. Hypertens.* 16(2), p. 123-131.
154. NEEDLEMAN H.L. (2004), Low level lead exposure and the development of children Southeast Asian, *J. Trop. Med. Public. Health.*, 35(2), p. 252-254.
155. NG T.P., GOH H.H., NG Y.L. *et al.* (1991), Male endocrine functions in workers with moderate exposure to lead, *Br. J. Ind. Med.*, 48, p. 485-491.
156. NORDENSON I., BECKMAN G., BECKMAN L. *et al.* (1978), Occupational and environmental risks in and around a smelter in northern Sweden. IV. Chromosomal aberrations in workers exposed to lead, *Hereditas*, 88, p. 263-267.
157. NORDENSON I., NORDENSTROM S, SWEINS A. *et al.* (1982), Chromosomal aberrations in lead- exposed workers, *Hereditas*, 96, p. 265-268.
158. ÖZTÜRKLER Y, BARAN A, EVECEN M. *et al.* (2001), Comparison of ovine spermatozoal morphological features after staining of fixation and assessment of morphological abnormalities in dead/live spermatozoa. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 25, 675-680.
159. PAGLIA D.E., VALENTINE W.N., DAHLGREEN J.O. (1975), Effect of low-level lead exposure on pyrimidine 5'-nucleotidase and other erythrocyte enzymes, *J. Clin. Invest.*, 56, p. 1164-1169.
160. PENTSCHEW A., GARRO F. (1966), Lead encephalomyopathy of the suckling rat and its implications on the porphyriopathic nervous disease, *Acta. Neuropathol.*, 6, p. 266-278.

161. PINON-LATAILLADE G., THOREUX-MANLAY A., COFFIGNY H. *et al.* (1993), Effect of ingestion and inhalation of lead on the reproductive system and fertility of adult male rats and their progeny, *Hum. Exp. Toxicol.*, 12 (2), p.165-172.
162. PINON-LATAILLADE G., THOREUX-MANLAY A., COFFIGNY H. *et al.* (1995), Reproductive toxicity of chronic lead exposure in male and female mice, *Hum. Exp. Toxicol.*, 14, p. 872-878.
163. POCOCK S.J., SHAPER A.G., ASHBY D. *et al.* (1984), Blood lead concentration, blood pressure and renal function, *Br. Med. J.*, 289, p. 872-874.
164. QUINTANILLA-VEGA B., HOOVER D., BAL W. *et al.* (2000), Lead effects on protamine-DNA binding, *Am. J. Ind. Med.*, 38 (3), p. 324-329.
165. RASTOGI S.C., CLAUSEN J. (1976), Absorption of lead through the skin, *Toxicology*, 6, p. 371-376.
166. REFOWITZ R. (1984), Thyroid function and lead, no clear relationship, *J. Occup. Med.*, 26, p. 579-582.
167. ROBINS TG., BORNMAN MS., EHRLICH RI. *et al.*(1997) , Semen quality and fertility of men employed in a South African lead acid battery plant. *Am J Ind Med.*, 32(4), p.369-376.
168. RODAMILANS M., MARTINEZ-OSABA M.J., TO-FIGUERAS J. *et al.* (1988), Inhibition of intratesticular testosterone synthesis by inorganic lead, *Toxicol. Lett.*, 42(3), p. 285-290.
169. RONIS M.J.J., BADGER T.M., SHEMA S.J. *et al.* (1996), Reproductive toxicity and growth effects in rats exposed to lead at different periods during development, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 136, p. 361-371.
170. RONIS M.J.J., BADGER T.M., SHEMA S.J. *et al.* (1998a), Effects on pubertal growth and reproduction in rats exposed to lead perinatally or continuously throughout development, *J. Toxicol. Environ. Health*, 53 (4), p. 327-341.
171. RONIS M.J.J., GANDY J., BADGER T. (1998b), Endocrine mechanisms underlying reproductive toxicity in the developing rat chronically exposed to dietary lead, *J. Toxicol. Environ. Health*, 54 (2), p. 77-99.
172. ROSA M.D., ZARRILLI S., PAESANO L. *et al.*(2003), Traffic pollutants affect fertility in men, *Hum. Reprod.*, 18(5), p. 1055-1061.
173. ROYCHOWDHURY A., GAUTAM A.K. (1995), Alteration of human sperm and other seminal constituents after lead exposure. *Ind. J. Physiol. All. Sci.*, 49, p.58-73.
174. RUBIO J., RIQUEROS M.I., GASCO M. *et al.* (2006), *Lepidium meyenii* (Maca) reversed the lead acetate induced damage on reproductive function in male rats. *Food. Chem. Toxicol.*, 44, p. 1114-1122.
175. SALLMEN M, LINDBOHM ML, ANTTILA A. *et al.* (1992), Paternal occupational lead exposure and congenital malformations, *J. Epidemiol. Comm. Health*, 46, p. 519- 522.
176. SCHWANITZ G., LEHNERT G., GEBHART E. (1970), Chromosomenschädigung bei beruflicher Bleibelastung, *Deut. Med. Wochenschr.*, 95, p. 1636.

177. SCHWARTZ B.S., LEE B.K., LEE G.S. *et al.* (2000a), Associations of blood pressure and hypertension with lead dose measures and polymorphisms in the vitamin D receptor and delta-aminolevulinic acid dehydratase genes, *Environ. Health. Perspect.*, 55(2), p. 85-92.
178. SCHWARTZ B.S., LEE B.K., LEE G.S. *et al.* (2000b), Associations of blood lead, dimercaptosuccinic acid-chelatable lead, and tibia lead with polymorphisms in the vitamin D receptor and [delta]-aminolevulinic acid dehydratase genes, *Environ. Health. Perspect.*, 108(10), p. 949-954.
179. SECCHI G.C., ALESSIO L., SPREAFICO F. (1971), Serum enzymatic activities in experimental lead poisoning, *Enzyme*, 12 (1), p. 63-69.
180. SEHNERT K.W., CLAGUE A.F., CHERASKIN E. (1984), The improvement in renal function following EDTA chelation and multivitamin-trace mineral therapy, a study in creatinine clearance, *Med. Hypotheses*, 15, p. 301-304.
181. SHARMA A., TALUKDER G. (1987), Effects of metals on chromosomes of higher organisms, *Environmental Mutagenesis*, 9, p. 191-226.
182. SILBERGELD E.K. *et al.* (1991), Lead in bone: implications for toxicology during pregnancy and lactation. *Environ. Health Perspect.*, 91, p. 63-70
183. SOKOL R.Z. (1987), Hormonal effect of lead acetate in the male rat. Mechanism of action, *Biol. Reprod.*, 37 (1), p. 135-138.
184. SOKOL R.Z. (1989), Reversibility of the toxic effect of lead on the male reproductive axis. *Reprod. Toxicol.*, 3, p.175-180
185. SOKOL R.Z. (1990), The effect of duration of exposure on the expression of lead toxicity on the male reproductive axis, *J. Androl.*, 11, p. 521-526.
186. SOKOL R.Z., BERMAN N. (1991), The effect of age of exposure on lead-induced testicular toxicity. *Toxicology*, 69, p. 269-278.
187. SOKOL R.Z., BERMAN N., OKUDA H. *et al.* (1998), Effects of Lead Exposure on GnRH and LH Secretion In Male Rats: Response to Castration and  $\alpha$ -methyl-p-tyrosine (AMPT) Challenge, *Reprod. Toxicol.*, 12(3), p.347-355.
188. SOKOL R.Z., WANG S., WAN Y.J. *et al.* (2002), Long-term, low-dose lead exposure alters the gonadotropin-releasing hormone system in the male rat. *Environ. Health Perspect.*, 110, p. 871-874.
189. STAESSEN J., BULPITT C., FAGARD R. *et al.* (1994), Hypertension caused by low-level exposure, myth or fact. *J. Cardiovasc. Risk*, 1, p. 87-97.
190. STAVRI G., SANDULESCO G., VASILIU A. (1971), Le comportement de quelques activités enzymatiques dans le saturnisme, *Lav. Umano.*, 23 (8), p. 229-239.
191. STELLMAN J.M. (2000), Encyclopédie de sécurité et de santé au travail, 3<sup>ème</sup> éd., International Labour Office, Genève, 1, p. 101.
192. SUN X., TIAN X., TOMSIG J.L. *et al.*, Analysis of differential effects of Pb<sup>2+</sup> on protein kinase C isozymes (1999), *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 156(1), p. 40-45.
193. TELISMAN S., COLAK B., PIZENT A. *et al.* (2007), Reproductive toxicity of low-level lead exposure in men, *Environ. Res.*, 105(2), p. 256-266.

194. TELISMAN S., CVITKOVIĆ P., JURASOVIĆ J. *et al.* (2000), Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men. *Environ. Health Perspect.*, 108(1), p. 45-53.
195. TEN BRUGGENKATE C.M., CARDAZO E.L., MAASKANT P. *et al.* (1975), Lead poisoning with pigmentation of the oral mucosa, Review of the literature and report of a case. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 39, p. 747-753.
196. TERA O., SCHWARTZMAN D.W., WATKINS T.R (1985), Identification of gasoline lead in children's blood using isotopic analysis, *Arch. Environ. Health*, 40 (2), p. 120-123.
197. TESTUD F. (1998), Pathologie toxique en milieu de travail, ESKA Lacassagne, 2ème éd., Paris, p. 447.
198. THEPPEANG K., SCHWARTZ B.S., LEE B.K. *et al.* (2004), Associations of Patella Lead With Polymorphisms in the Vitamin D Receptor, d-Aminolevulinic Acid Dehydratase and Endothelial Nitric Oxide Synthase Genes, *J. Occup. Environ. Med.*, 46(6), p.528-537.
199. THOMAS J.A., DALLENBACH F.D., THOMAS M. (1971), Consideration on the development of experimental lead encephalopathy, *Arch. Pathol. Anat.*, 352, p. 61-74.
200. THOMPSON G.N., ROBERTSON E.F., FITZGERALD S. (1985), Lead mobilization during pregnancy, *Med. J. Aust.*, 143 (4), p. 131.
201. THOREUX-MANLEY A., VELEZ DE LA CALLE J.F., OLIVIER M.F. *et al.* (1995), Impairment of testicular endocrine function after lead intoxication in the adult rat, *Toxicology*, 100, p. 101-109.
202. TOLA S., NORDMAN C.H. (1977), Serum creatinine concentrations SGOT and SGPT activities and lead exposure, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 39 (1), p. 37-44.
203. TOLOT F., PROST G., CONTASSO G.C.I. *et al.* (1981), Plomb, *Encycl. Med. Chir.*, Intoxications, 16007 A10, Paris, p. 10.
204. TOLOT F., PROST G., NEULAT G. (1978), Insuffisance rénale aiguë au cours d'un saturnisme, rôle de l'EDTA, *Nouv. Presse Méd.*, 7, p. 3252.
205. TUPPURAINEN M., WAGAR G., KURPA K. *et al.* (1988), Thyroid function as assessed by routine laboratory tests of workers with long-term lead exposure, *Scand. J. Work Env. Health*, 14, p. 175.
206. VAISSAIRE J.P. (1977), Sexualité et reproduction des mammifères. Maloine, Paris, p. 457.
207. VALENTINE W.H., PAGLIA D.E., FINK K. *et al.* (1976), Lead poisoning. Association with hemolytic anemia, basophilic stippling, erythrocyte pyrimidine 5' nucleotidase deficiency and intraerythrocytic accumulation of pyrimidines, *J. Clin. Invest.*, 58, p. 926.
208. VAN ESCH G.J., VAN GENDEREN H., VINK H.H. (1962), The indicator of renal tumors by feeding of basic lead acetate to rats, *Brit. J. Cancer*, 16, p. 289-297.

209. VISKUM S., RABJERG L., JORGENSEN PJ. *et al.* (1999), Improvement in semen quality associated with decreasing occupational lead exposure, *Am. J. Ind. Med.*, 35(3), p.257-263.
210. WADI S.A., AHMAD G. (1999), Effects of lead on the male reproductive system in mice. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 56, p. 513-521.
211. WANG L., XUN P., ZHAO Y. *et al.* (2008), Effects of lead exposure on sperm concentrations and testes weight in male rats: a meta-regression analysis, *J. Toxicol. Environ. Health A*, 71, p. 454-463.
212. WEAVER VM, SCHWARTZ BS, AHN K-D *et al.* (2003). Associations of renal function with polymorphisms in the delta aminolevulinic acid dehydratase, vitamin D receptor, and nitric oxide synthase genes in Korean lead workers, *Environ. Health. Perspect.*, 111, p. 1613-1619.
213. WEDEEN R.P., MAESAKA J.L., WEINER B. *et al.* (1975), Occupational lead nephropathy, *Am. J. Med.*, 59 (5), p. 630-641.
214. WEDEEN R.P., MALIK D.K., BATUMAN V. (1979), Detection and treatment of occupational lead nephropathy, *Arch. Int. Med.*, 139 (1), p. 53-57.
215. WHITTIER J.C. (1993), Reproductive Anatomy and Physiology of the Bull. Department of Animal Sciences, University of Missouri.
216. WIEBE J.P., BARR K.J., BUCKINGHAM K.D. (1982), Lead administration during pregnancy and lactation effects steroidogenesis and hormone receptors in the testis of offspring, *J. Toxicol. Environ. Health*, 10, p. 653-660.
217. WILD P., BOURGKARD E., PARIS C. (2008), Cancer du poumon et exposition professionnelle aux métaux : une revue des études épidémiologiques, *DMT*, 114, p. 201-219.
218. WILLEMS M.I., SCHEPPER G.G., WIBOWO A.A. *et al.* (1982), Absence of an effect of lead acetate on sperm morphology, sister chromatid exchanges or on micronuclei formation in rabbits, *Arch. Toxicol.*, 50, p. 149-157. Cited in Apostoli P, Kiss P, Porru S, Bonde JP, Vanhoorne M, and the ASCLEPIOS study group. Male reproductive toxicity of lead in animals and humans. *Occup. Environ. Med.*;55:364-74.
219. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (2000), Air quality guidelines for Europe, 2<sup>nd</sup> edition, WHO Regional Publications, European Series, 91, Copenhagen.
220. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (1999), Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interactions. 4<sup>th</sup> ed. Cambridge University Press, United Kingdom.
221. [WWW.INRS.fr/htm/plomb-au-travail.html](http://WWW.INRS.fr/htm/plomb-au-travail.html)
222. XU B., CHIA S.E., TSAKOK M. *et al.* (1993), Trace elements in blood and seminal plasma and their relationship to sperm quality. *Reprod. Toxicol.*, 7, p. 613-618.
223. ZAWIA N.H., CRUMPTON T., BRYDIE M. *et al.* (2000), Disruption of the zinc finger domain: a common target that underlies many of the effects of lead, *Neurotoxicology*, 21(6), p. 1069-1080.

224. ZELIKOFF J.T. *et al.* (1988), Genetic toxicology of lead compounds, *Carcinogenesis*, 9, p. 1727-1732.
225. ZOLLINGER H.U. (1953), Durch chronische bleivergiftung erzeugte nierenadome und carcinome bei ratten und ihre beziehungen zu den entsprechenden neubildungen des menschen Virshows, *Arch. Pathol. Anat.*, p. 232.

# ***Annexe***



## Composition de la solution de Hank's (mM)

- Na Cl..... 137
- KCl ..... 5.4
- MgSO<sub>4</sub>..... 0.8
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>..... .0.8
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ..... .0.4
- NaHCO<sub>3</sub>..... 4.2
- α- D Glucose ..... 5.5
- CaCl<sub>2</sub> ..... 1.5
- HEPES ..... 20

## **Préparation des colorants utilisés**

- Colorant d'éosine Y 0,1% dans l'eau distillée.
- Colorant de nigrosine 10% dans l'eau distillée.

# IMMULITE®

## Total Testosterone

For use on the IMMULITE®  
and IMMULITE® 1000 systems

**SIEMENS**  
Siemens Medical Solutions Diagnostics

(SST Plástico) = 0,96 (Suero Plástico) +  
4,0 ng/dl  
r = 0,976

Medias:

266 ng/dl (Heparina Na Plástico)

575 ng/dl (EDTA Plástico)

296 ng/dl (Suero Plástico)

288 ng/dl (SST Plástico)

**Comparación de los métodos:** El IMMULITE/IMMULITE 1000 de Testosterona Total ensayo se ha comparado con el IMMULITE 2000 de Testosterona Total sobre 345 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 20 a 1 400 ng/dl. Ver el gráfico). Por regresión lineal:

(IML) = 1,02 (IML 2000) + 5,2 ng/dl  
r = 0,987

Medias:

365 ng/dl (IMMULITE)

351 ng/dl (IMMULITE 2000)

## Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

El Sistema de Calidad de Siemens Medical Solutions Diagnostics está certificado por la ISO 13485:2003.

---

## Français

---

### IMMULITE/IMMULITE 1000 Testostérone Totale

**Domaine d'utilisation :** dosage quantitatif de la testostérone dans le sérum et le plasma hépariné. Ce test est réservé à un usage *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE ou de IMMULITE 1000 et constitue une aide au diagnostic dans les pathologies dont l'origine est due à un excès ou à une déficience de cet androgène.

Référence catalogue : LKTW1 (100 tests),  
LKTW5 (500 tests)

Code produit : TES

Code couleur : **vert foncé**

### Introduction

Chez l'homme, la testostérone est principalement synthétisée dans les cellules de Leydig du testicule et sa régulation est assurée par une hormone stimulante (ICSH) ou l'hormone

lutéinisante (LH) sécrétée par l'hypophyse (l'équivalent chez la femme de la ICSH). La testostérone est responsable du développement des caractères sexuels secondaires, tels que les organes sexuels secondaires comme la prostate, les vésicules séminales et le développement de la pilosité du visage et du pubis. Les dosages de testostérone ont été extrêmement utiles dans l'évaluation de l'hypogonadisme. Des taux augmentés de testostérone chez les hommes peuvent être trouvés dans des cas de résistance aux androgènes (féminisation).<sup>10</sup> Les causes les plus fréquentes d'une baisse du taux de testostérone chez les hommes sont : l'hypogonadisme, l'orchidectomie, les traitements oestrogéniques, le syndrome de Klinefelter, l'hypopituitarisme et la cirrhose hépatique.

Chez la femme, les taux de testostérone sont normalement beaucoup plus bas que ceux mesurés chez un homme sain. La testostérone chez la femme provient de trois origines principales. Elle est sécrétée en faible quantité à la fois par les glandes surrénales et les ovaires, et chez la femme en bonne santé 50 à 60% de la sécrétion journalière de testostérone s'effectue à partir du métabolisme périphérique de prohormones, principalement l'androsténone. Les causes les plus fréquentes d'une augmentation du taux de testostérone chez la femme comprennent le syndrome des ovaires polykystiques (syndrome de Stein-Leventhal), les tumeurs ovariennes, les tumeurs surrénales et les hyperplasies surrénales. La virilisation observée chez les patientes est associée à la prise d'androgènes et à une surproduction endogène de testostérone. Il existe une corrélation entre les taux de testostérone sériques et le degré de virilisation observé chez la patiente, bien qu'environ 25% des femmes présentant différents degrés de virilisation aient des taux de testostérone contenus dans le domaine de normalité de la méthode.

### Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 Testostérone Totale est une immunoenzymologie chimioluminescente compétitive à phase solide.

**Cycles d'incubation :** 1 × 60 minutes.

## Recueil des échantillons

Les tubes EDTA ne doivent pas être utilisés avec la méthode IMMULITE/IMMULITE 1000 Testostérone Totale.

Des échantillons lipémiques ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés. Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret Testostérone Totale IMMULITE/IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

**Volume nécessaire :** 20 µl de sérum. (L'unité-échantillon doit pouvoir contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.)

**Conservation:** 7 jours à +2°C/+8°C ou 2 mois à -20°C.<sup>9</sup>

## Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

**Réactifs :** Conserver les réactifs à +2°/+8 °C. Éliminer les déchets conformément aux lois en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement

infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

**Substrat chimiluminescent :** Éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

**Eau :** utiliser de l'eau distillée ou désionisée.

## Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à code-barre sont nécessaires au dosage.

### Tests unitaires Testostérone Totale (LTW1)

Chaque unité à code-barre contient une bille revêtue d'un anticorps polyclonal de lapin dirigé contre la testostérone. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption. **LKTW1:** 100 unités. **LKTW5:** 500 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

### Cartouche à réactif Testostérone Totale (LTW2)

Avec code-barres. 7,5 ml de testostérone marqué à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau) dans un tampon. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

**LKTW1:** 1 cartouche.  
**LKTW5:** 5 cartouches.

### Ajusteurs Testostérone Totale (LTWL, LTWH)

2 flacons d'ajusteurs (« bas » et « haut ») contenant chacun 4,0 ml de testostérone dans du sérum humain prétraité avec conservateur. Stable à +2/ +8 °C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

LKTW1: 1 jeu. LKTW5: 2 jeux.

### Composants du coffret fournis séparément

LSUBX : Substrat chimiluminescent

LPWS2 : Solution de lavage

LKPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LCHx-y : Supports pour godets échantillons (avec code-barre)

LSCP : Godets échantillons (à usage unique)

LSCC : Bouchons pour godets échantillons (optionnel)

CON6: contrôle à trois niveaux de concentration, à constituants multiples

Egalement requis

Pipettes de transfert à échantillon ; eau distillée ou désionisée ; Contrôle.

### Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

**Intervalle d'ajustement recommandé :**  
1 semaine.

**Echantillons pour le contrôle de qualité :**  
Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de testostérone totale.

### Valeurs de référence

Compte tenu de sa bonne corrélation avec le test IMMULITE 2000 Testostérone

Totale (voir comparaison de méthode), on peut attendre de ce test qu'il ait, globalement, les mêmes valeurs de références.

n	Médiane (ng/dl)	Centré à 95 %	Dom absolu
<b>Femmes</b>			
Menstruées			
41	24	ND - 80	ND - 81
Postménopausées			
27	20	ND - 62	ND - 74
<b>Hommes</b>			
20 - 49 ans			
68	630	262 - 1 593	245 -> 1 600
≥ 50 ans			
19	427	181 - 758	181 - 772

ND: non détectable.

Utiliser ces valeurs à titre *indicatif uniquement*. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

### Limites

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

### Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en ng/dl. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont

été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation.)

**Facteur de conversion :**  
ng/dl  $\times$  0,03467  $\rightarrow$  nmol/l

**Domaine de mesure :** 20 – 1 600 ng/dl  
(0,7 – 55 nmol/l).

**Sensibilité analytique :** 15 ng/dl  
(0,5 nmol/l).

**Précision :** les échantillons sont dosés sur une période qui s'étend sur 20 jours, avec deux séries par jours, soit 20 séries et 80 replicata au total. (Voir le tableau " Precision ".)

**Test de dilution :** Des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau " Linearity " pour des données représentatives.)

**Test de récupération :** des échantillons dosés ont été chargés dans une proportion de 1 à 19 avec trois solutions (2 000, 6 000 et 12 000 ng/dl) de Testostérone. (Voir le tableau " Recovery " pour des données représentatives.)

**Spécificité :** L'anticorps utilisé est hautement spécifique de testostérone (Voir le tableau " Specificity ".)

**Bilirubine :** La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 100 mg/l. (Voir le tableau " Bilirubin ".)

**Hémolyse :** La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 300 mg/dl. (Voir le tableau " Hemolysis ".)

**Lipémie :** La présence de triglycérides si la concentration supérieures à 1 000 mg/dl pourra interférer avec le dosage. (voir le tableau " Lipemia ").

**Autre type d'échantillon:** Afin de déterminer l'effet que peuvent avoir d'autres types de prélèvements du sang de 17 volontaires a été prélevé sur tubes sériques secs en plastique, sur tubes vacutainer héparinés en plastique, sur tubes vacutainer EDTA et sur tubes en plastique avec barrière de gel (SST<sup>®</sup>) provenant tous de chez Becton Dickinson. Chaque échantillon a été testé avec les

dosage IMMULITE 2000 Testostérone Totale.

(Na Héparine, plastique) = 0,89 (Sérum, plastique) + 2,3 ng/dl  
 $r = 0,977$

(EDTA, plastique) = 1,78 (Sérum, plastique) + 4,0 ng/dl  
 $r = 0,981$

(SST, plastique) = 0,96 (Sérum, plastique) + 4,0 ng/dl  
 $r = 0,976$

Moyennes :  
266 ng/dl (Na Héparine, plastique)  
575 ng/dl (EDTA, plastique)  
296 ng/dl (Sérum, plastique)  
288 ng/dl (SST, plastique)

**Comparaison de méthodes :** Le test IMMULITE/IMMULITE 1000 Testostérone Totale a été comparé au dosage IMMULITE 2000 Testostérone Totale sur 345 échantillons dont les concentrations en testostérone variaient de 20 à 1 400 ng/dl. (Voir graphique). Par régression linéaire :

(IML) = 1,02 (IML 2000) + 5,2 ng/dl  
 $r = 0,987$

Moyennes :  
365 ng/dl (IMMULITE)  
351 ng/dl (IMMULITE 2000)

## Assistance technique

Contactez votre distributeur national. En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Le Système Qualité de Siemens Medical Solutions Diagnostics est certifié ISO 13485:2003.

---

## Italiano

---

### Testosterone Totale IMMULITE/IMMULITE 1000

**Uso:** Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa del testosterone nel siero e nel plasma eparinizzato, quale ausilio nella diagnosi e nella gestione delle condizioni in cui esiste un eccesso o una deficienza di questo ormone androgeno.

Codice: **LKTW1** (100 test),  
**LKTW5** (500 test)

# IMMULITE®

## FSH

For use on the IMMULITE®  
and IMMULITE® 1000 systems

**SIEMENS**  
Siemens Medical Solutions Diagnostics



obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

### Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en mIU/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación).

**Intervalo de calibración:** hasta 170 mIU/ml (8,9 ng/ml). Estandarizado en términos de la WHO 2° IRP 78/549 [código interino de cambio 94/632].

**Sensibilidad:** 0,1 mIU/ml.

**Efecto de gancho a altas dosis:** Ninguno hasta 50 000 mIU/ml.

**Precisión:** Las muestras fueron analizadas por duplicado en 40 tandas para un total de 80 replicados. (Ver la tabla "Precision.")

**Linealidad:** las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linearity" para resultados representativos).

**Recuperación:** Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones de FSH (150, 600 y 1 800 mIU/ml). (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos).

**Especificidad:** El anticuerpo es altamente específico para FSH. (Véase la tabla "Specificity").

**Bilirrubina:** La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

**Hemólisis:** La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 600 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

**Lipemia:** La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3 000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en

lo correspondiente a la precisión del ensayo.

**Tipo de Muestra Alternativa:** Para evaluar el efecto de los tipos de muestra alternativos, se extrajo sangre a 24 voluntarios en tubos de plástico Becton Dickinson secos, con heparina, con EDTA y tubos SST vacutainer. Todas las muestras fueron analizadas con el ensayo de FSH IMMULITE.

(Heparina) = 1,10 (Suero) + 0,65 mIU/ml

(SST) = 0,94 (tubos simples) + 0,12 mIU/ml

(EDTA) = 0,88 (Suero) + 0,57 mIU/ml

Medias:

11,7 mIU/ml (Suero)

13,5 mIU/ml (Heparina)

11,5 mIU/ml (SST)

10,8 mIU/ml (EDTA)

El plasma con EDTA no debería ser usado como muestra.

**Comparación de los métodos:** El procedimiento de IMMULITE FSH mono/mono ensayo se ha comparado con el IMMULITE FSH mono/poli en 431 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,7 a 130 mIU/ml. Ver la gráfico). Por regresión lineal:

(IML m/m) = 0,90 (IML m/p) + 0,35 mIU/ml  
 $r = 0,990$

Medias:

31,4 mIU/ml (IMMULITE mono/mono)

34,5 mIU/ml (IMMULITE mono/poli)

### Asistencia técnica

Contáctese con su Distribuidor Nacional.

El Sistema de Calidad de Siemens Medical Solutions Diagnostics Limited está certificado por la ISO 13485:2003.

---

## Français

---

### IMMULITE FSH

**Domaine d'utilisation :** Pour le dosage quantitatif de l'hormone folliculostimulante (FSH) dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE ou de IMMULITE 1000 et constitue une aide au diagnostic et au traitement des troubles hypophysaires et gonadiques.

Ce réactif est enregistré auprès de l'AFSSAPS.

Référence catalogue : LKFS1 (100 tests), LKFS5 (500 tests)

Code produit : FSH.

Code couleur : gris clair.

## Introduction

L'hormone folliculostimulante (FSH) est sécrétée par les cellules  $\beta$  de l'antéhypophyse sous le rétrocontrôle de l'hormone gonadotrophine releasing (GnRH) produite par l'hypothalamus. La FSH facilite le développement et le fonctionnement du tissu gonadique, lequel synthétise et sécrète les hormones stéroïdiennes. Le taux circulant de FSH est régulé par un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus déclenché par les hormones stéroïdiennes. La FSH et la LH sont nécessaires au fonctionnement sexuel normal à la fois chez l'homme et chez la femme, mais les modalités sécrétoires sont différentes suivant le sexe.

Chez la femme mature, la FSH est à l'origine du développement des follicules ovariens. Pendant l'ovulation, le follicule est rompu, il évolue vers le corps jaune en sécrétant l'estradiol et la progestérone lesquels contrôlent le taux circulant de FSH par un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus. Au cours de la ménopause, il y a diminution de la fonction ovarienne, il en résulte une diminution de la sécrétion d'estradiol. Une baisse du rétrocontrôle négatif initié par la diminution de la concentration d'estradiol entraîne une augmentation significative du taux de FSH circulant.

Chez l'homme mature, la FSH est associée à la stimulation et au maintien de la spermatogenèse. La testostérone et l'estradiol sont à l'origine du rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et contrôlent ainsi la sécrétion de FSH. La stérilité masculine peut être due à un hypogonadisme lié à une insuffisance testiculaire. L'insuffisance testiculaire peut être liée soit à une insuffisance fonctionnelle acquise ou être le résultat d'une infection microbienne. Quelle que soit son étiologie, l'insuffisance testiculaire a une incidence très nette sur les taux circulants de FSH qui sont augmentés de

façon spectaculaire en raison de l'absence de rétrocontrôle négatif.

## Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 FSH est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 x 30 minutes.

## Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

Les échantillons ne doivent pas être des plasmas EDTA.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret FSH IMMULITE/IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

**Volume nécessaire :** 50  $\mu$ l sérum.  
(L'unité-échantillon doit contenir au moins 100  $\mu$ l de plus que le volume total nécessaire.)

**Conditions de conservation :** 7 jours à +2°C/+8°C ou 2 mois à -20°C.

## Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

**Réactifs** : conserver les réactifs à +2°/+8 °C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

**Substrat chimiluminescent** : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

**Eau** : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

## Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

### Tests unitaires FSH (LFS1)

Avec code-barre. Chaque unité-test contient une bille revêtue d'anticorps monoclonaux murin anti-FSH. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption. LKFS1 : 100 unités. LKFS5 : 500 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

### Cartouche à réactif FSH (LFS2)

Avec code-barres. 7,5 ml de phosphatase alcaline (intestins de veau) conjuguée à un anticorps monoclonal murin anti-FSH dans un tampon, avec conservateur. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours

qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

LKFS1 : 1 cartouche.

LKFS5 : 5 cartouches.

### Ajusteurs FSH (LFSL, LFSH)

2 flacons ("haut" et "bas"), 3 ml chacun, de FSH dans une matrice de sérum non humain, avec conservateur. Stable à +2/+8 C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

LKFS1 : 1 jeu. LKFS5 : 2 jeux.

## Composants du coffret fournis séparément

### Diluant échantillon FSH (LFSZ)

Pour la dilution manuelle des échantillons patients. Un flacon contenant 25 ml d'une matrice sérique non-humaine sans FSH avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

LSUBX : Substrat chimiluminescent

LPWSM : Solution de lavage

LKPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LCHx-y : Supports pour unités échantillons (avec code-barre)

LSCP : unités échantillons (à usage unique)

LSCC : Bouchons pour unités échantillons (optionnel)

CON6 : Contrôle multiparamétrique à trois niveaux

Egalement requis

Pipettes pour le transfert des échantillons ; eau distillée ou désionisée ; contrôles.

## Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

**Intervalle d'ajustement recommandé :**  
4 semaines.

**Echantillons pour le contrôle de qualité :**  
Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de FSH.

### Valeurs de référence

Les valeurs de référence ont été déterminées en utilisant le test IMMULITE FSH (mono/poly) dans une étude internationale incluant des femmes apparemment en bonne santé (âge : 16 – 44 ans), volontaires pour un prélèvement de sang journalier pendant un cycle ovulatoire complet. (Voir graphique "Cycle menstruel" graphique.)

Cycle ovulatoire	n*	FSH, mUI/ml	
		Médiane	Centré à 95%
Phase folliculaire	54 (762)	6,2	2,8 – 11,3
Phase folliculaire, 54 (108) Jours 2 à 3		6,6	3,0 – 14,4
Milieu de cycle	54 (54)	13,6	5,8 – 21
Phase lutéale	54 (604)	3,4	1,2 – 9,0

\*Nombre de sujets (total des résultats).

Le tableau ci-dessous résume les résultats d'une étude réalisée avec le test IMMULITE FSH (mono/poly) sur des hommes adultes et des femmes postménopausées non traitées. Les domaines pour les femmes sous contraception orale et les femmes postménopausées sous ERT ont été établis sur la corrélation entre le dosage IMMULITE FSH et le dosage Coat-A-Count FSH IRMA.

Groupe	n	FSH, mUI/mL	
		Médiane	Centré à 95%
Hommes (adultes)	135	3,8	0,7 – 11,1
Femmes (adultes)			
postménopausées *	76	90,5	21,7 – 153
postménopausées (ERT)	16	27	9,7 – 111
Sous contraception orale	12	1,7	ND – 4,9

\*Préliminaires

ND: non détectable

Une étude en pédiatrie sur les valeurs de fertilité, réalisée avec le test IMMULITE

FSH (mono/poly) dans une clinique du sud ouest des Etats-Unis, a donné les résultats suivants.

Groupe	Âge (année)	n	FSH, mUI/mL	
			Médiane	Centré à 95%
Filles	Cordon	30	ND	
	0,1 – 3	57	2,3	0,11 – 13
	4 – 9	28	0,8	0,11 – 1,6
Garçons	Cordon	37	0,24	ND – 1,2
	0,1 – 3	72	0,6	ND – 5,5
	4 – 9	31	0,23	ND – 1,9
Total	Cordon	67	0,11	ND – 1,1
	0,1 – 3	129	1,1	ND – 10
	4 – 9	59	0,5	ND – 1,8

ND: non détectable

Utiliser ces valeurs à titre indicatif uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

### Limites

Dans certains cas de stérilité, le traitement avec des gonadotrophines humaines pose des problèmes pour la mesure du taux exact de FSH. La FSH qui est administrée peut entraîner la production par l'organisme d'anticorps anti-FSH qui interfèrent dans le dosage.

Du fait de la sécrétion pulsatile, des échantillons de sérums prélevés le même jour chez une même patiente, peuvent fluctuer largement à l'intérieur du domaine de référence, reflétant ainsi les variations physiologiques plus qu'une erreur technique ou méthodologique.

L'EDTA étant susceptible d'avoir un impact significatif sur les résultats, il ne devrait pas être utilisé comme anti-coagulant.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant

potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des rares sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

### Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en mUI/ml. (En l'absence de précision supplémentaire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques prélevés sur tubes sans gel, ni activateur de la coagulation).

**Domaine de mesure :** jusqu'à 170 mUI/ml (8,9 ng/ml). Conforme aux normes de la 2ème IRP 78/549 de l'O.M.S. [code de remplacement intermédiaire 94/632].

**Sensibilité analytique :** 0,1 mUI/ml

**Effet-crochet aux doses élevées :** aucun jusqu'à 50 000 mUI/ml.

**Précision :** Les échantillons ont été dosés en double essai lors de 40 séries soit un total de 80 résultats. (Voir le tableau « Precision ».)

**Linéarité :** les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau "Linearity" pour des données représentatives.)

**Récupération :** les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions de FSH (150, 600 et 1 800 mUI/ml). (Voir le tableau "Recovery" pour des données représentatives.)

**Spécificité :** l'anticorps est hautement spécifique de la FSH (Voir le tableau "Specificity").

**Bilirubine :** La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

**Hémolyse :** La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 600 mg/dl.

**Lipémie :** La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

**Autres types d'échantillons :** Afin de déterminer l'incidence d'autres types d'échantillons, des prélèvements sur 24 volontaires ont été effectués sur tubes sériques secs en plastique Becton Dickinson, sur tubes de hépariné, sur tubes EDTA et sur tubes vacutainers SST®. Tous les échantillons ont été dosés avec la procédure IMMULITE FSH.

(Héparine) = 1,10 (Sérum) + 0,65 mUI/ml

(SST) = 0,94 (tubes ordinaires) + 0,12 mUI/ml

(EDTA) = 0,88 (Suero) + 0,57 mUI/ml

Moyennes :

11,7 mUI/ml (Sérum)

13,5 mUI/ml (Héparine)

11,5 mUI/ml (SST)

10,8 mUI/ml (EDTA)

Les échantillons ne doivent pas être des plasmas EDTA.

**Comparaison de méthodes :** le test IMMULITE FSH mono/mo a été comparé au dosage IMMULITE FSH mono/poly sur 431 échantillons (intervalle de concentrations : 0,7 à 130 mUI/ml environ. Voir graphique). Par régression linéaire :

(IML m/m) = 0,90 (IML m/p) + 0,35 mUI/ml  
r = 0,990

Moyennes :

31,4 mUI/ml (IMMULITE mono/mo)

34,5 mUI/ml (IMMULITE mono/poly)

### Assistance technique

En France distribué par DPC France 90  
bd National 92257 La Garenne-Colombes

Le Système Qualité de Siemens Medical  
Solutions Diagnostics Limited est certifié  
ISO 13485:2003.

---

## Italiano

---

### FSH

**Uso:** Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per per la misurazione quantitativa dell'ormone follicolo stimolante, FSH, nel siero, quale ausilio

IVD

LH IRMA KIT

REF

IM1381 - IM3302

ISO 9001  
13485  
certified

**TROUSSE IMMUNORADIOMETRIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO  
DE L'HORMONE LUTEINISANTE DANS LE SERUM ET LE PLASMA HUMAIN**



**1. PRINCIPE DU DOSAGE**

Le dosage radioimmunologique de l'hormone lutéinisante (LH) est un dosage de type sandwich. La trousse utilise des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre deux épitopes différents de la molécule et réagissant sans compétition. Dans des tubes recouverts d'un premier anticorps monoclonal, les échantillons ou les calibrateurs sont incubés en présence d'un second anticorps monoclonal marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu des tubes est vidé par aspiration, les tubes sont rincés pour éliminer les anticorps marqués non fixés et la radioactivité liée est mesurée. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de la courbe standard. La quantité de radioactivité est directement proportionnelle à la concentration de LH de l'échantillon.

**2. REACTIFS FOURNIS**

Tous les réactifs de la trousse conservés à 2-8°C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousse. Les conditions de conservation des réactifs après reconstitution ou dilution, sont indiquées dans le paragraphe Mode Opérateur.

**2.1 Trousse LH IRMA 100 tubes (Réf. 1381)**

**2.1.1 Tubes revêtus d'anticorps anti-LH : 2 x 50 tubes** (prêts à l'emploi)

**2.1.2 Anticorps monoclonal marqué à l'iode 125 : 1 flacon de 5,5 mL** (prêt à l'emploi)  
Le flacon contient 370 kBq, en début de lot, d'immunoglobulines marquées sous forme liquide avec de l'albumine sérique bovine, de l'azide de sodium (<0,1%; voir § Précautions) et un colorant.

**2.1.3 Calibrateurs : 6 flacons** (lyophilisés)

Les flacons de calibrateurs contiennent entre 0 à 180 UI/L de LH dans du sérum de cheval en présence d'azide de sodium (<0,1%; voir § Précautions). La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon. Les calibrateurs ont été calibrés par rapport au standard international WHO 2nd IS 80/552.

**2.1.4 Sérum de contrôle : 1 flacon** (lyophilisé)

Le flacon contient de la LH humaine lyophilisée dans du sérum humain (voir § Précautions). Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentrations indiquée sur une feuille séparée.

**2.1.5 Solution de lavage (20x) : 1 flacon de 50 mL**

Solution concentrée, à diluer avant usage.

**2.2 Trousse LH IRMA 400 tubes (Réf. 3302)**

**2.2.1 Tubes revêtus d'anticorps monoclonal anti-LH : 8 x 50 tubes** (prêts à l'emploi)

**2.2.2 Anticorps monoclonal marqué à l'iode 125 : 4 flacons de 5,5 mL** (prêts à l'emploi)

**2.2.3 Calibrateurs : 6 flacons** (lyophilisés)

**2.2.4 Sérum de contrôle : 1 flacon** (lyophilisé)

**2.2.5 Solution de lavage (20x) : 2 flacons de 50 mL**

Remarque: Les températures et dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons, concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousse. Ne pas en tenir compte.

**3. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI**

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipette de précision (100 µL).
- pipettes semi-automatiques (50 µL; 2 mL).
- mélangeur de type vortex.
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal.
- système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode 125.

**4. PRECAUTIONS**

**4.1 Précautions générales**

- Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Le bon réglage de l'agitateur est une condition importante pour la reproductibilité du dosage.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

**4.2 Protection contre les rayonnements ionisants**

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur.

L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié, éloigné de tout passage.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.
- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

**4.3 Azide de sodium**

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le lait, et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

**4.4 Sérum humain**

Les produits d'origine humaine contenus dans les réactifs de cette trousse ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1, et VIH 2, les anticorps VHC, et l'antigène de surface HBs, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux. En effet, aucune méthode connue ne peut assurer l'absence complète de virus, c'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions lors de leur manipulation.

Tous les échantillons de sérum ou de plasma doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA et les déchets doivent éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

**5. PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS**

- Recueillir le sang dans des tubes secs avec ou sans additif.
- Séparer le sérum ou le plasma des cellules par centrifugation.
- Les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être conservés à 2-8°C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (<-18°C) et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives.
- Si l'échantillon analysé a une concentration supérieure au calibrateur le plus élevé de la gamme, le diluer dans le calibrateur zéro.

**6. MODE OPERATOIRE**

**6.1 Préparation des réactifs**

Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire.

**6.1.1 Préparation des calibrateurs et du sérum de contrôle**

Prendre par le volume d'eau distillée indiqué sur les étiquettes des flacons. Attendre 30 min après reconstitution et agiter doucement en évitant la formation de mousse avant de répartir dans les tubes. Les flacons reconstitués peuvent être conservés une semaine à 2-8°C. Au-delà il est préférable de les conserver congelés à une température inférieure à -18°C jusqu'à la date d'expiration de la trousse.

**6.1.2 Préparation de la solution de lavage**

Verser le contenu du flacon dans 950 mL d'eau distillée. Homogénéiser. La solution diluée peut être conservée à 2-8°C jusqu'à la date de péremption de la trousse.

**6.2 Mode opératoire du dosage (voir tableau page suivante)**

**7. RÉSULTATS**

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de LH de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

## 7.1 Courbe standard

Les résultats présentés dans cette notice ont été calculés en employant un mode de tracé linéaire pour la gamme standard avec en ordonnée le rapport B/T (%) ou B/B<sub>max</sub> (%) et en abscisse les concentrations en LH des calibrateurs (UI/L). L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 132 073 cpm				
Calibrateurs	LH (UI/L)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B <sub>max</sub> (%)
0	0	32	0,02	0,07
1	0,5	243	0,18	0,49
2	3	1 248	0,94	2,53
3	28	10 314	7,81	20,9
4	75	27 227	20,6	55,1
5	184	49 373	37,4	100

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs)

## 7.2 Échantillons

Pour chaque échantillon ou contrôle, repérer le rapport B/T (%) ou B/B<sub>max</sub> (%) sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard. En déduire la concentration en LH de l'échantillon par lecture sur l'axe horizontal, en UI/L. Les concentrations pour les échantillons dilués doivent tenir compte du facteur de dilution.

## 8. CONTROLE DE QUALITE

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter :

Beckman Coulter France Tel 01 49 90 90 00 ou notre service Support Technique :  
Tel : 04 91 17 27 27, Fax : 04 91 17 27 25,  
E-mail, [immuno-techsup@beckmancoulter.com](mailto:immuno-techsup@beckmancoulter.com)

## 9. VALEURS ATTENDUES

Il est conseillé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de références. A titre indicatif, les résultats cliniques donnent les valeurs de référence ci-dessous:

Adultes	n	LH (UI/L)				
		Min.	5 <sup>ème</sup> percentile	Médiane	95 <sup>ème</sup> percentile	Max.
Hommes	167	0,5	1,8	4,2	8,4	10
Femmes						
Phase folliculaire	121	0,8	3,0	6,6	18,6	27,1
Phase périovulatoire	46	9,6	12,4	37	88,7	155
Phase lutéale	81	0,7	1,1	5,7	11,8	24,5
Ménopause	20	13,5	16	31	66	96

Enfants	LH (UI/L)			
	Filles		Garçons	
	Min.	Max.	Min.	Max.
- Prépubères		<0,19		<0,6
- Stade pubertèrePII PIII, PIV, PV	0,32	2,7	0,24	5,9

## 10. CARACTERISTIQUES DU DOSAGE

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

### 10.1 Sensibilité

10.1.1 Sensibilité analytique : 0,2 UI/L

10.1.2 Sensibilité fonctionnelle : 0,4 UI/L

### 10.2 Spécificité

L'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique de la LH. Des réactivités croisées extrêmement basses ont été obtenues vis à vis de nombreuses molécules apparentées (hTSH, hFSH, hCG).

### 10.3 Précision

#### 10.3.1 Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 10 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 6,7 %.

#### 10.3.2 Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 10 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus sont inférieurs ou égaux à 3,7 %.

### 10.4 Exactitude

#### 10.4.1 Epreuve de dilution

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués dans le calibrateur zéro de la trousse. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 83 % et 113 %.

#### 10.4.2 Epreuve de surcharge

Des quantités connues de LH ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 100 % et 126 %.

### 10.5 Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) :

0,2 – 180 UI/L.

## 11. LIMITATIONS DE LA METHODE

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats.

Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données des tests additionnels et toute autre information appropriée.

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques. Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

## 6.2 MODE OPERATOIRE

Etape 1 Répartition *	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
<p>Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 100 µL de calibrateur ou d'échantillon biologique et</li> <li>- 50 µL de traceur.</li> </ul> <p>Agiter.</p>	<p>Incuber 90 minutes à 18-25°C avec agitation (&gt;350 rpm).</p>	<p>Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes «cpm totaux»).</p> <p>Laver 2 fois avec 2 mL de solution de lavage.</p> <p>Compter les cpm liés (B) et cpm totaux (T) pendant 1 min.</p>

\* Ajouter 50 µL de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.



IMMUNOTECH a.s. - Radiová 1 - 102 27 Prague 10 - Czech Republic - Phone. +420-272017444 – Fax : +420-272017385

PI-1381-2008-10-06

***Publication***

***Internationale***



## Chronic effects of low lead levels on sperm quality, gonadotropins and testosterone in albino rats

Lynda Allouche<sup>a,\*</sup>, Mohamed Hamadouche<sup>b,c</sup>, Abderrezek Touabti<sup>b,d</sup>

<sup>a</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Setif, Algeria

<sup>b</sup>Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Setif, Algeria

<sup>c</sup>Department of Occupational Medicine, University Hospital, Setif, Algeria

<sup>d</sup>Laboratory of Medical Analysis, University Hospital, Setif, Algeria

Received 14 August 2008; accepted 15 December 2008

### Abstract

The current study evaluates the impact of low or moderate levels of lead acetate (PbAc) on sperm parameters, gonadotropins (FSH, LH) and testosterone. Adult albino wistar male rats were allocated to five groups and given 0%, 0.025%, 0.05%, 0.1% and 0.3% PbAc in distilled drinking water for 24 weeks.

There was no change in body weight gain and in absolute or relative weight of testes, epididymides and seminal vesicles. The ventral prostate weight was decreased in groups exposed to 0.05%, 0.1% and 0.3% PbAc without statistically significant differences.

Sperm velocity was decreased in all treated groups while reduction of sperm motility was observed in rats exposed to 0.05%, 0.1% and 0.3% PbAc without statistically significant differences compared to the control group. However, there was a significant increase greater than 100% in the total percentage of abnormal sperm in groups treated with 0.1% ( $p < 0.01$ ) and 0.3% PbAc ( $p < 0.05$ ). The frequency of dead sperm was significantly increased only in the 0.3% PbAc group ( $p < 0.01$ ). Significant increases in frequencies of amorphous head sperm ( $p < 0.01$ ) and abnormal tails ( $p < 0.01$ ) were found in the group exposed to 0.1% PbAc, while the frequency of neck abnormalities was increased in the high-lead-exposed group ( $p < 0.01$ ).

The levels of LH and FSH were not significantly affected after lead treatment and significant increase in serum testosterone level was noted only in animals administered 0.05% PbAc ( $p < 0.01$ ).

In conclusion, our results reveal that some sperm parameters were altered at low or moderate lead concentrations with no obvious alteration of hypothalamic–pituitary function. The increase of testosterone level observed suggests that lead may target testicular function.

© 2008 Elsevier GmbH. All rights reserved.

**Keywords:** Rat; Lead acetate; Spermatozoa; FSH; LH; Testosterone

### Introduction

Human exposure to lead remains a serious public health problem. The increase of the risks of environmental pollution by lead is a legitimate cause for worry;

\*Corresponding author. Tel.: +213 3683 6626;  
fax: +213 3692 5122.

E-mail address: [lyhamadouche@yahoo.fr](mailto:lyhamadouche@yahoo.fr) (L. Allouche).

it is undoubtedly toxic at high doses and the effects of modest levels are regularly discovered.

Sperm quality is a fertility indicator in male; most reports about the effect of lead acetate (PbAc) on the reproductive system of male rats neglect to assess vitality, velocity and motility of sperm and the reproductive effects of lead exposure at weak concentrations have not been well recognized. In the present study, principal sperm parameters were evaluated in rats intoxicated with low to moderate PbAc concentrations in drinking water, and serum FSH, LH and testosterone levels were also measured.

## Materials and methods

### Chemicals

Lead acetate (ACS reagents, grade > 99% pure), acetic acid and hydrochloric acid (ACS reagents) and all other chemicals used were of reagent grade and were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

### Experimental design

Healthy male albino wistar rats were purchased from Pasteur Institute (Algiers, Algeria) and kept 2 weeks for acclimation. The animals were maintained under standard conditions of temperature ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) and natural light–dark cycle.

After acclimatization, 8–9-week-old rats weighing between 225 and 241 g were divided into five groups (10–12 per group) including the control group. Four groups were given PbAc in distilled drinking water at concentrations of 0.025%, 0.05%, 0.1% and 0.3% (w/v). The control group was given acetic acid solution containing an equivalent amount of acetate to the highest lead dose (0% lead). One milliliter of 5 N HCl was added to each liter of solution to preclude precipitation of insoluble lead salts (Ronis et al., 1998a) and even in solution of the control group (Sokol and Berman, 1991).

All animals were allowed free access to drinking water and rat pellet diet (O.N.A.B. Bejaia, Algeria) for 24 weeks.

The concentrations of PbAc in our study were chosen on the basis that they regroup low to moderate concentrations (Sokol et al., 2002).

### Necropsy

At the end of experience, all the animals were fasted overnight, weighed and sacrificed by cervical dislocation after a light anaesthesia with diethyl ether. Blood was collected via the retro-orbital sinus and was allowed to

clot, then centrifuged. The serum was removed, and frozen until LH, FSH and testosterone hormones dosage.

### Body and organ weights

Body weights of animals were recorded at the beginning and at the end of the treatment period. The animals were dissected and organs of the reproductive tract such as testes, seminal vesicles, ventral prostate, epididymides (caput and corpus) were excised, cleared of adhering fat and weighed.

### Sperm examination

The right and left cauda epididymides were placed immediately in 2 ml of Hank's solution containing 0.5% BSA pre-warmed at  $37^\circ\text{C}$  (Kuriyama et al., 2005). Hank's solution was freshly prepared in our laboratory with 137 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 0.8 mM  $\text{MgSO}_4$ , 0.8 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.4 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 4.2 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 5.5 mM glucose, 1.5 mM  $\text{CaCl}_2$  and 20 mM HEPES.

Spermatozoa were obtained by making three small cuts into distal cauda epididymides with a pair of scissors. After 3 min of incubation at  $37^\circ\text{C}$ , the sperm sample was mixed by gentle swirling and an aliquot was diluted 20 folds with the same medium to evaluate respectively, forward progression velocity, motility, categorization of velocity and sperm content. All sperm parameters were assessed manually by one person.

### Forward progression velocity and motility

After dilution, sperm suspension was gently mixed and placed immediately on both sides of a hemocytometer. The straight-line distance traversed by spermatozoa was measured using known dimensions of a gradation hemocytometer cell under microscope (Leica DM 1000) at  $10 \times$  magnification. The time is recorded in parallel using a stopwatch. The procedure is repeated for at least 15 rapid spermatozoa and the results of forward velocity are expressed as mean  $\pm$  SD for the 10 most rapid spermatozoa (Das, 1985 changed).

The percentage of forward motility is then assessed in duplicate in at least 10 squares per side of a hemocytometer and was calculated according to the following formulation:  $(\text{total sperm} - \text{immotile sperm}) \times 100 / \text{total sperm}$ .

### Motility categorization and sperm count

The same cell is viewed at  $400 \times$  magnification to classify at least 100 spermatozoa. Each spermatozoa was categorised into one of four groups of motility (rapid progressive, slow progressive, non-progressive and

immotile) according to the Manual on basic semen analysis (NAFA and ESHRE-SIGA, 2002). Spermatozoa were counted in duplicate in at least 10 squares per side 4–5 h after obtaining them.

### Sperm viability and morphology

Sperm viability and morphology were performed by the eosin nigrosin staining (WHO, 1999 modified). A total of 100 µl of non-diluted sperm suspension was mixed with two drops of 0.1% eosin Y in place of 1% because the head of rat spermatozoa had an affinity for eosin at high concentration than human spermatozoa. After 30 s, three drops of 10% nigrosin were added and well mixed for 30 s. A thin smear on a clean slide was made from sperm suspension–stain mixture and allowed to air dry. Two slides were prepared from each sample sperm to confirm any preparation artefact or if sperm number was low per one slide (Industrial Reproductive Toxicology Discussion Group, 2000). At least 200 spermatozoa were examined a by bright-field microscope under oil immersion at 1000 × magnification.

Spermatozoa completely or partly pink stained were recorded as dead. On the other hand, those unstained or with slight pink appearance restricted to the neck region were recorded as alive (Björndahl et al., 2003).

Sperm morphological abnormalities were evaluated in live and dead spermatozoa (Öztürkler et al., 2001) and classified into five groups as described in Industrial Reproductive Toxicology Discussion Group (2000): (1) headless sperm (only when the head and tail were seen together are counted), (2) amorphous head sperm, (3) sperm with neck abnormalities, (4) coiled or abnormal tails and (5) multiple abnormalities.

### Hormonal assay

Serum levels of FSH, LH and testosterone were measured by chemiluminescent enzyme immunometric assay (Immulate 1000; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA). The detection limits are 0.1 IU/l for FSH and LH, 15 ng/dl for testosterone.

All LH data have shown values <0.1 IU/l; therefore serum LH was assayed again by an IRMA Kit (Immunotech, Marseille, France) with a sensitivity of 0.2 IU/l using a 1470 Wizard Automatic Gamma Counter (Perkin Elmer, USA).

### Statistical analysis

Levene's test was used to evaluate the equality of variances; when they were homogeneous ( $p > 0.05$ ), ANOVA was used to compare different groups. If significant differences were found ( $p \leq 0.05$ ), Dunnett's multiple comparison test was performed to compare treated groups with the control group. If variances were not equal, the Kruskal–Wallis test was conducted followed by the Mann–Whitney *U*-test,  $p \leq 0.05$  was considered as significant.

All statistical analyses were performed using the SPSS package program, version 10.0.

## Results

### Clinical signs, body and organ weights

There were neither death recorded nor evidence of gross toxicity that was identifiable by clinical observations in any of the lead-treated groups during the study period. Data for body weight gain, absolute and relative

**Table 1.** Body weight gain, absolute and relative weights of reproductive organs.

Groups	Control	0.025%	0.05%	0.1%	0.3%
Body weight gain (g)	218.53 ± 26.08	194.25 ± 32.93	192.76 ± 35.79	191.13 ± 27.11	216.49 ± 36.66
<i>Testes</i>					
Absolute	3.4903 ± 0.2811	3.4116 ± 0.2248	3.5805 ± 0.2151	3.5132 ± 0.2686	3.4420 ± 0.2538
Relative	0.83 ± 0.07	0.83 ± 0.07	0.86 ± 0.07	0.83 ± 0.07	0.83 ± 0.07
<i>Seminal vesicles</i>					
Absolute	1.9030 ± 0.3162	1.8958 ± 0.2750	1.7395 ± 0.3088	1.8020 ± 0.2531	1.6477 ± 0.3243
Relative	0.45 ± 0.09	0.46 ± 0.06	0.42 ± 0.07	0.43 ± 0.07	0.40 ± 0.09
<i>Ventral prostate</i>					
Absolute	0.5213 ± 0.1027	0.4917 ± 0.1248	0.4872 ± 0.0615	0.5069 ± 0.0784	0.5175 ± 0.0754
Relative	0.12 ± 0.03	0.12 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.12 ± 0.02
<i>Epididymis (caput and corpus)</i>					
Absolute	0.8431 ± 0.0926	0.8244 ± 0.0634	0.8862 ± 0.1901	0.8681 ± 0.0699	0.8488 ± 0.0822
Relative	0.20 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.21 ± 0.05	0.21 ± 0.02	0.20 ± 0.03

Data are expressed as mean ± SD of 10–12 animals per group.

Absolute organ weights are in g and relative organ weights are in g/100 g body weight.

organ weights are summarized in Table 1. No significant differences were observed in the body weight gain or in the absolute and relative weight of testes, epididymides (caput and corpus) and seminal vesicles in any treated groups. The mean absolute and relative weights of ventral prostate were decreased in groups exposed to 0.05%, 0.1% and 0.3% PbAc without statistically significant differences compared to the control group.

### Forward velocity, motility and sperm concentration

Velocity, motility and sperm count data are presented in Table 2. Velocity sperm was lower in all treated groups and the percentage of total motility was decreased in rats given 0.05%, 0.1% and 0.3% PbAc comparatively to the control group, albeit these evident reductions are not statistically significant.

The percentage of rapid progressive motility sperm tended towards reduction with increase of immotile sperm percentage in all lead-treated animals when compared with the control group, but the differences were not statistically significant. Sperm count was not affected in this experiment.

### Sperm mortality and morphology

Table 3 shows the total percentage and different types of spermatozoa abnormalities of the control and treated animals.

The percentages of dead and total sperm abnormalities were elevated in all lead-exposed groups as compared to control animals. There was a significant increase greater than 100% in the total percentage of abnormal sperm in the groups treated with 0.1% ( $p < 0.01$ ) and 0.3% PbAc ( $p < 0.05$ ) when compared with the control group, while the frequency of dead sperm increased significantly only in animals exposed to the highest PbAc concentration ( $p < 0.01$ ).

The frequencies of amorphous head sperm and abnormal tails were significantly elevated in rats treated with 0.1% PbAc ( $p < 0.01$ ), while neck abnormality frequency was significantly higher in the group exposed to 0.3% PbAc ( $p < 0.01$ ).

### Serum FSH, LH and testosterone concentrations

There were no significant changes in FSH and LH concentration despite the increase of serum LH concentration observed in all lead-treated groups (Figs. 1 and 2).

An increase of testosterone level was noted in the groups exposed to the three highest lead doses but the difference was statistically significant ( $p < 0.01$ ) only in the group treated with 0.05% PbAc (Fig. 3).

**Table 2.** Sperm count, velocity, motility and categorization of motility following administration of lead acetate.

Groups	Control	0.025%	0.05%	0.1%	0.3%
Sperm count $\times 10^6$ /ml fluid	15.32 $\pm$ 4.79	17.98 $\pm$ 6.66	14.87 $\pm$ 6.80	15.30 $\pm$ 7.02	15.49 $\pm$ 6.96
Velocity ( $\mu$ m/s)	41.73 $\pm$ 9.22	37.28 $\pm$ 7.49	37.95 $\pm$ 12.83	36.67 $\pm$ 14.83	34.82 $\pm$ 14.31
Motility (%)	44.44 $\pm$ 15.20	51.24 $\pm$ 20.62	40.41 $\pm$ 17.99	40.23 $\pm$ 20.63	40.98 $\pm$ 20.78
Rapid progressive motility (%)	29.24 $\pm$ 10.91	22.10 $\pm$ 8.81	24.26 $\pm$ 9.45	16.89 $\pm$ 13.79	17.25 $\pm$ 14.02
Slow progressive motility (%)	10.51 $\pm$ 4.42	13.27 $\pm$ 5.85	13.52 $\pm$ 7.22	11.21 $\pm$ 6.31	10.45 $\pm$ 2.87
Non progressive motility (%)	12.99 $\pm$ 7.43	11.59 $\pm$ 6.99	13.45 $\pm$ 10.09	17.26 $\pm$ 11.08	15.37 $\pm$ 12.34
Immotility (%)	45.83 $\pm$ 14.80	52.22 $\pm$ 12.17	47.24 $\pm$ 18.44	54.42 $\pm$ 15.63	55.81 $\pm$ 16.18

Values are mean  $\pm$  SD for 10–12 animals.

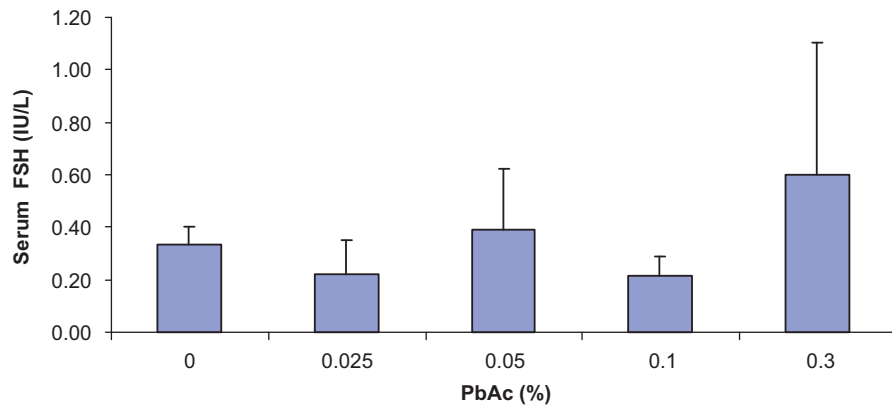
**Table 3.** Frequencies of morphologically abnormal sperm and types of sperm abnormalities.

Groups	Control	0.025%	0.05%	0.1%	0.3%
Total abnormal sperm (%)	7.31 $\pm$ 5.36	8.56 $\pm$ 4.40	11.68 $\pm$ 5.87	17.30 $\pm$ 6.32**	15.85 $\pm$ 8.54*
Headless sperm (%)	1.00 $\pm$ 0.66	0.92 $\pm$ 0.56	0.90 $\pm$ 0.66	0.52 $\pm$ 0.61	0.84 $\pm$ 0.82
Amorphous head (%)	1.00 $\pm$ 0.53	1.50 $\pm$ 0.87	1.25 $\pm$ 0.93	2.72 $\pm$ 1.26**	2.17 $\pm$ 1.30
Neck abnormalities (%)	0.20 $\pm$ 0.31	0.38 $\pm$ 0.77	0.58 $\pm$ 0.73	0.96 $\pm$ 0.80	1.45 $\pm$ 1.21**
Tail abnormalities (%)	4.86 $\pm$ 4.54	5.21 $\pm$ 3.69	8.57 $\pm$ 5.77	11.96 $\pm$ 4.80**	8.34 $\pm$ 4.64
Multiple abnormalities (%)	0.26 $\pm$ 0.41	0.33 $\pm$ 0.55	0.38 $\pm$ 0.59	0.81 $\pm$ 0.82	0.87 $\pm$ 0.92
Dead sperm (%)	23.07 $\pm$ 13.80	23.11 $\pm$ 10.36	27.82 $\pm$ 17.23	36.28 $\pm$ 15.00	46.81 $\pm$ 16.67**

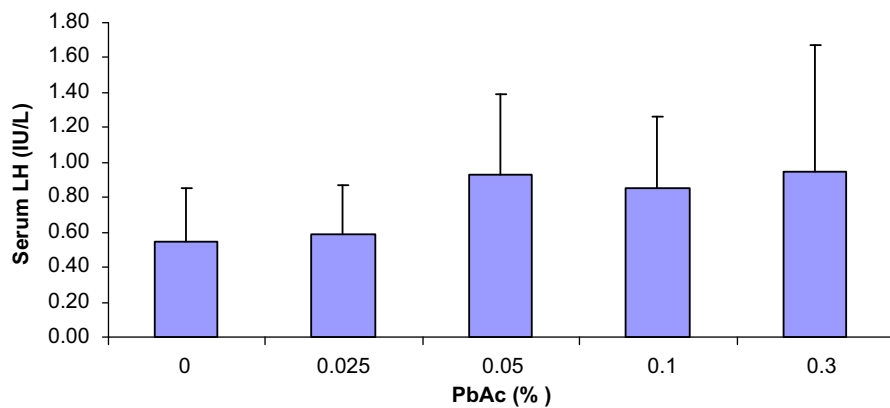
Values are mean percent sperm parameters  $\pm$  SD for 10–12 animals.

\*Significantly different from the control value at  $p < 0.05$ .

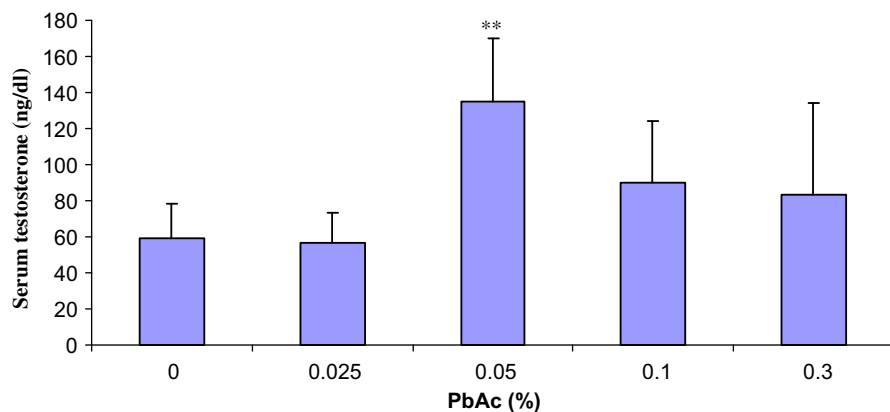
\*\*Significantly different from the control value at  $p < 0.01$ .



**Fig. 1.** Serum FSH level in lead-treated and control groups. Values are mean  $\pm$  SD for five animals.



**Fig. 2.** Serum LH level in lead-treated and control groups. Values are mean  $\pm$  SD for five animals.



**Fig. 3.** Serum testosterone level in lead-treated and control groups. Values are mean  $\pm$  SD for five animals. \*\* $p < 0.01$  against the control group.

## Discussion

In the present study, no significant differences in body and reproductive organs weights were found in lead-exposed rats. Similar results were reported by Marchlewicz et al. (2004) who exposed adult rats to 1% PbAc during an identical period that is used in our

experience and Nathan et al. (1992) with similar lead concentrations as ours for only 10 weeks. Foster et al. (1998) did not find any effect on body weight of monkeys in chronic low-level lead exposure. On the contrary, a significant reduction in absolute prostate and seminal vesicles weights in lead-treated rats after 60 days was observed by Sokol (1990) and a significant

decrease in epididymis and seminal vesicles weights was also found by Wadi and Ahmad (1999) at high lead dose (0.5%).

Two confounders, age and body weight, explained part of the observed heterogeneity of lead effect on weight testes (Wang et al., 2008).

Sperm concentration was unaffected in our experimentation. These findings are consistent with the data reported by some authors (Willems et al., 1982; Johansson and Wide, 1986; Hernández-Ochoa et al., 2006). In contrast, other authors reported that lead exposition diminished sperm count, but with higher PbAc concentrations than that used in our experiment (Sokol, 1990), or via other routes of lead administration (Barratt et al., 1989; Rubio et al., 2006).

Our experimental study reveals a reduction of forward velocity and sperm motility, particularly rapid progressive motility, but the differences were not statistically significant. Similarly, an alteration of motility sperm without statistically significant differences in adult rats exposed to different lead concentrations was also reported by Rubio et al. (2006). The percentage of motile sperm was significantly diminished in rats after a gavage administration of 0.05 mg Pb/kg for 20 and 30 days (Krasovskii et al., 1979) and in mice treated with 0.5% PbAc in drinking water for 6 weeks (Wadi and Ahmad, 1999); however, sperm motility and swimming speed were not changed in rats exposed to 1 g/l of lead chloride for 112 days (Johansson, 1989).

Abnormal morphology sperm were significantly increased in the highest lead-exposed groups (0.1% and 0.3% PbAc). Exposure to lead has been shown to cause an augmentation in percentage of morphologically abnormal rat sperm as well as via drinking water (Kimmel et al. 1980; Wadi and Ahmad, 1999) as by gavage (Barratt et al., 1989). However, this distortion of sperm morphology was not found in other researches (Willems et al., 1982; Pinon-Lataillade et al., 1993, 1995).

Likewise, numerous studies in human showed an alteration of sperm quality following occupational lead exposure (Lancranjan et al., 1975; Chowdhury et al., 1986; Assenato et al., 1987; Alexander et al., 1998; Telisman et al., 2000; Bonde et al., 2002; Naha and Chowdhury, 2005; Naha and Chowdhury, 2006), but other authors did not find this effect (Xu et al., 1993; Aribarg and Sukcharoen, 1996; Kuo et al., 1997).

The pathogeny of lead toxicity on sperm function is not fully elucidated and multiple mechanisms of action are provided to explain this effect. Recent studies suggest that lead poisoning disrupts the prooxidant/antioxidant balance and could contribute at least partially to this element toxicity by affecting membranes, DNA and antioxidant defense systems of cells (Hsu and Guo, 2002). Indeed, an increase of reactive oxygen species (ROS) production was observed after

lead exposure in sperm or in the reproductive system organs as well as in rat (Hsu et al., 1997; Hsu et al., 1998; Acharya et al., 2003; Marchlewicz et al., 2007) as in human (Kasperczyk et al., 2008). This lead-induced ROS was associated with sperm count decrease (Hsu et al., 1998; Acharya et al., 2003; Kasperczyk et al., 2008), fall of sperm motility (Hsu et al., 1997, 1998; Kasperczyk et al., 2008) and elevation of abnormal sperm (Acharya et al., 2003). Furthermore, the supplementation with antioxidant nutrients reduced ROS production and prevented loss of motility in lead-exposed rats (Hsu et al., 1998).

LH and FSH levels were not significantly affected after lead treatment despite the increase of LH level observed in all lead-treated groups; this suggests that there was no obvious alteration of hypothalamic–pituitary function. No changes in serum LH and FSH levels were previously reported in rats, mice or monkeys (Sokol, 1989, 1990; Nathan et al., 1992; Foster et al., 1993; Pinon-Lataillade et al., 1993, 1995; Ronis et al., 1998b; Foster et al., 1998; Wadi and Ahmad, 1999), while a decrease in serum FSH and LH concentrations was recently noted (Batra et al., 2004; Biswas and Ghosh, 2004).

The significant increase of serum testosterone level noted only in animals administered 0.05% PbAc may be due either to an elevated LH level, or to an impairment of testicular function probably by lead effect on Leydig cell's metabolism.

In contrast, serum testosterone level was decreased after lead exposure in some studies (Sokol, 1989; Thoreux-Manlay et al., 1995; Ronis et al., 1998a, b; El-Nattat et al., 2000; Biswas and Ghosh, 2004; Rubio et al., 2006), but in others, the serum testosterone level was unaffected (Johansson and Wide, 1986; Foster et al., 1993; Pinon-Lataillade et al., 1993, 1995; Foster et al., 1998).

Kempinas et al. (1994) observed an increase of testosterone concentration after 20 days of lead exposure, followed by normalization after 270 days; Gorbil et al. (2002), on the contrary, noted a premature reduction of testosterone level followed by a late increase of this hormone. Those statements suggest an adaptation phenomenon like evoked earlier (Sokol et al., 2002) and might explain the slight effect of lead on sex hormones observed in our experience.

## Conclusion

In conclusion, we examined in the present experiment the effect of chronic exposure to low or moderate lead concentrations on the reproductive system of adult male rat. Our results reveal the alteration of sperm quality with no obvious disturbance in hypothalamic–pituitary

function. The increase of testosterone level observed suggests that lead may target testicular function.

An adaptation phenomenon could be the cause of the relatively slight effect of lead on the male reproductive system after the long period of exposure.

## Acknowledgement

The research was supported by the ANDRS (National Agency for the Development of Health Research) as a Solicited Project 03/01/00/04/133 from 2006 to 2008.

## References

- Acharya UR, Rathore RM, Mishra M. Role of vitamin C on lead acetate induced spermatogenesis in swiss mice. *Environ Toxicol Pharmacol* 2003;13:9–14.
- Alexander BH, Checkoway H, Costa-Mallen P, Faustman EM, Woods JS, Kelsey KT, et al. Interaction of blood lead and delta-aminolevulinic acid dehydratase genotype on markers of heme synthesis and sperm production in lead smelter workers. *Environ Health Perspect* 1998;106:213–6.
- Aribarg A, Sukcharoen N. Effects of occupational lead exposure on spermatogenesis. *J Med Assoc Thailand* 1996;79:91–7.
- Assenato G, Paci C, Baser M, Molini R. Sperm count suppression without endocrine dysfunction in lead exposed men. *Arch Environ Health* 1987;42:124–7.
- Barratt CL, Davies AG, Bansal MR, Williams ME. The effects of lead on the male rat reproductive system. *Andrologia* 1989;21:161–5 [Cited in Apostoli P, Kiss P, Porru S, Bonde JP, Vanhoorne M, and the ASCLEPIOS study group. Male reproductive toxicity of lead in animals and humans. *Occup Environ Med* 1998;55:364–74.].
- Batra N, Nehru B, Bansal MP. Reproductive potential of male Portan rats exposed to various levels of lead with regard to zinc status. *Br J Nutr* 2004;91:387–91.
- Biswas NM, Ghosh P. Effect of lead on male gonadal activity in Albino rats. *Kathmandu Univ Med J* 2004;2:43–6.
- Björndahl L, Söderlund I, Kvist U. Evaluation of the one-step eosin–nigrosin staining technique for human sperm vitality assessment. *Hum Reprod* 2003;18:813–6.
- Bonde JP, Joffe M, Apostoli P, Dale A, Kiss P, Spano M, et al. Sperm count and chromatin structure in men exposed to inorganic lead: lowest adverse effect levels. *Occup Environ Med* 2002;59:234–42.
- Chowdhury AR, Chinoy NJ, Gautam AK, Rao RV, Parikh DJ, Shah GM, et al. Effect of lead on human semen. *Adv Contracept Deliv Syst* 1986;2:208–10.
- Das RP. Assessment of spermatozoal function. *J Biosci* 1985;7:245–55.
- El-Nattat WS, Ahmed WM, Soliman FA, El-Tohamy MM, Younis M. Effect of chronic low dose exposure to lead on male reproduction in rabbits. *Egypt J Vet Sci* 2000;34:59–74.
- Foster WG, McMahon A, YoungLai EV, Hughes EG, Rice DC. Reproductive endocrine effects of chronic lead exposure in the male cynomolgus monkey. *Reprod Toxicol* 1993;7:203–9.
- Foster WG, Singh A, McMahon A, Rice DC. Chronic lead exposure effects in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) testis. *Ultrastruct Pathol* 1998;22:63–71.
- Gorbel F, Boujelbene M, Makni-Ayadi F, Guermazi F, Croute F, Soleilhavoup JP, et al. Cytotoxic effects of lead on the endocrine and exocrine sexual function of pubescent male and female rats. Determination of apoptotic activity. *C R Biol* 2002;325:927–40.
- Hernández-Ochoa I, Sánchez-Gutiérrez M, Solís-Heredia MJ, Quintanilla-Vega B. Spermatozoa nucleus takes up lead during the epididymal maturation altering chromatin condensation. *Reprod Toxicol* 2006;21:171–8.
- Hsu PC, Guo YL. Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology* 2002;180:33–44.
- Hsu PC, Liu MY, Hsu CC, Chen LY, Guo YL. Effects of vitamin E and/or C on reactive oxygen species-related lead toxicity in the rat sperm. *Toxicology* 1998;128:169–79.
- Hsu P-C, Liu M-Y, Hsu C-C, Chen L-Y, Guo Y-L. Lead exposure causes generation of reactive oxygen species and functional impairment in rat sperm. *Toxicology* 1997;122:133–43.
- Industrial Reproductive Toxicology Discussion Group (IRDG). Computer assisted sperm analysis (CASA) Group. Rat Sperm Morphological Assessment. Guideline document, 2000.
- Johansson L, Wide M. Long-term exposure of the male mouse to lead: effects on fertility. *Environ Res* 1986;41:481–7 [Cited in Apostoli P, Kiss P, Porru S, Bonde JP, Vanhoorne M, and the ASCLEPIOS study group. Male reproductive toxicity of lead in animals and humans. *Occup Environ Med* 1998;55:364–74.].
- Johansson L. Premature acrosome reaction in spermatozoa from lead-exposed mice. *Toxicology* 1989;54:151–62.
- Kasperczyk A, Kasperczyk S, Horak S, Ostalowska A, Grucka-Mamczar E, Romuk E, et al. Assessment of semen function and lipid peroxidation among lead exposed men. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008;228:378–84.
- Kempinas WG, Favaretto AL, Melo VR, Carvalho TL, Petenusci SO, Oliveira-Filho RM. Time-dependent effects of lead on rat reproductive functions. *J Appl Toxicol* 1994;14:427–33.
- Kimmel CA, Grant LD, Sloan CS, Gladen BC. Chronic low-level lead toxicity in the rat. I. Maternal toxicity and perinatal effects. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980;56:28–41.
- Krasovskii GN, Vasukovich LY, Chariev OG. Experimental study of biological effects of lead and aluminum following oral administration. *Environ Health Perspect* 1979;30:47–51.
- Kuo HW, Wang CS, Lai JS. Semen quality in workers with long-term lead exposure: a preliminary study in Taiwan. *Sci Total Environ* 1997;204:289–92.
- Kuriyama K, Yokoi R, Kobayashi K, Suda S, Hayashi M, Ozawa S, et al. A time-course characterization of male reproductive toxicity in rats treated with methyl methane-sulphonate (MMS). *J Toxicol Sci* 2005;30:91–102.
- Lancranjan I, Popescu HI, GAvănescu O, Klepsch I, Serbănescu M. Reproductive ability of workmen occupationally

- exposed to lead. *Arch Environ Health* 1975;30:396–401.
- Marchlewicz M, Wiszniewska B, Gonet B, Baranowska-Bosiacka I, Safranow K, Kolasa A, et al. Increased lipid peroxidation and ascorbic acid utilization in testis and epididymis of rats chronically exposed to lead. *BioMetals* 2007;20:13–9.
- Marchlewicz M, Michalska T, Wiszniewska B. Detection of lead-induced oxidative stress in the rat epididymis by chemiluminescence. *Chemosphere* 2004;57:1553–62.
- NAFA and ESHRE-SIGA. Manual on basic semen analysis, 2002.
- Naha N, Chowdhury AR. Inorganic lead exposure in battery and paint factory: effect on human sperm structure and functional activity. *J UOEH* 2006;28:157–71.
- Naha N, Chowdhury AR. Toxic effect of lead on human spermatozoa: a study among pigment factory workers. *Int J Occup Environ Med* 2005;9:118–23.
- Nathan E, Huang HFS, Pogach L, Giglio W, Bogden JD, Seebode J. Lead acetate does not impair secretion of sertoli cell function marker proteins in the adult Sprague Dawley rat. *Arch Environ Health* 1992;47:370–5.
- Öztürkler Y, Baran A, Evecen M, Kemal AK, Ülerü ÜK. Comparison of ovine spermatozoal morphological features after staining of fixation and assessment of morphological abnormalities in dead/live spermatozoa. *Turk J Vet Anim Sci* 2001;25:675–80.
- Pinon-Lataillade G, Thoreux-Manlay A, Coffigny H, Masse R, Soufir JC. Reproductive toxicity of chronic lead exposure in male and female mice. *Hum Exp Toxicol* 1995;14:872–8.
- Pinon-Lataillade G, Thoreux-Manlay A, Coffigny H, Monchaux G, Masse R, Soufir JC. Effect of ingestion and inhalation of lead on the reproductive system and fertility of adult male rats and their progeny. *Hum Exp Toxicol* 1993;12:165–72.
- Ronis MJ, Badger TM, Shema SJ, Roberson PK, Shaikh F. Effects on pubertal growth and reproduction in rats exposed to lead perinatally or continuously throughout development. *J Toxicol Environ Health A* 1998a;53:327–41.
- Ronis MJ, Gandy J, Badger T. Endocrine mechanisms underlying reproductive toxicity in the developing rat chronically exposed to dietary lead. *J Toxicol Environ Health A* 1998b;54:77–99.
- Rubio J, Riqueros MI, Gasco M, Yucra S, Miranda S, Gonzales GF. *Lepidium meyenii* (Maca) reversed the lead acetate induced—damage on reproductive function in male rats. *Food Chem Toxicol* 2006;44:1114–22.
- Sokol RZ, Berman N. The effect of age of exposure on lead-induced testicular toxicity. *Toxicology* 1991;69:269–78.
- Sokol RZ, Wang S, Wan YJ, Stanczyk FZ, Gentschein E, Chapin RE. Long-term, low-dose lead exposure alters the gonadotropin-releasing hormone system in the male rat. *Environ Health Perspect* 2002;110:871–4.
- Sokol RZ. Reversibility of the toxic effect of lead on the male reproductive axis. *Reprod Toxicol* 1989;3:175–80.
- Sokol RZ. The effect of duration of exposure on the expression of lead toxicity on the male reproductive axis. *J Androl* 1990;11:521–6.
- Telisman S, Cvitković P, Jurasović J, Pizent A, Gavella M, Rocić B. Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men. *Environ Health Perspect* 2000;108:45–53.
- Thoreux-Manlay A, Vélez de la Calle JF, Olivier MF, Soufir JC, Masse R, Pinon-Lataillade G. Impairment of testicular endocrine function after lead intoxication in the adult rat. *Toxicology* 1995;100:101–9.
- Wadi SA, Ahmad G. Effects of lead on the male reproductive system in mice. *J Toxicol Environ Health A* 1999;56:513–21.
- Wang L, Xun P, Zhao Y, Wang X, Qian L, Chen F. Effects of lead exposure on sperm concentrations and testes weight in male rats: a meta-regression analysis. *J Toxicol Environ Health A* 2008;71:454–63.
- Willems MI, de Schepper GG, Wibowo AA, Immel HR, Dietrich AJ, Zielhuis RL. Absence of an effect of lead acetate on sperm morphology, sister chromatid exchanges or on micronuclei formation in rabbits. *Arch Toxicol* 1982;50:149–57 [Cited in Apostoli P, Kiss P, Porru S, Bonde JP, Vanhoorne M, and the ASCLEPIOS study group. Male reproductive toxicity of lead in animals and humans. *Occup Environ Med* 1998;55:364–74.].
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm–cervical mucus interactions, 4th ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 1999.
- Xu B, Chia SE, Tsakok M, Ong CN. Trace elements in blood and seminal plasma and their relationship to sperm quality. *Reprod Toxicol* 1993;7:613–8.



# ***Communications***

---

## **Communication orale**

Présentée lors du 7<sup>ème</sup> Congrès Maghrébin de Santé au Travail. Alger, du 26 au 29 novembre 2007

**Titre: Effet d'une intoxication expérimentale au plomb sur le système reproducteur male**

**Auteurs : ALLOUCHE L. (1) ; HAMADOUCHE M. (2) ; TOUABTI A. (3)**

(1) : Département de Génie des procédés, Faculté des Sciences de l'ingénieur, Université FERHAT ABBAS - Sétif. E-mail : lyhamadouche@yahoo.fr

(2) : Service de Médecine du Travail, CHU de Sétif.

(3) : Laboratoire de Biochimie, CHU de Sétif.

### **Résumé :**

Plusieurs toxiques (solvants, pesticides, métaux lourds...) sont suspectés d'être responsables de la diminution de la fertilité masculine observée au cours de ce dernier siècle.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet chronique du plomb, administré par voie orale, sur l'appareil reproducteur de rats adultes mâles.

Des rats de souche *Wistar* ont été abreuvés durant 16 semaines avec de l'eau distillée seule (groupe 1 ou groupe témoin) ou contenant de l'acétate de plomb hydraté, à quatre concentrations différentes: 0.025% (groupe 2) ; 0.05 % (groupe 3) ; 0.1% (groupe 4) ou 0.3% (groupe 5).

Une baisse du nombre de spermatozoïdes est observée dans tous les groupes exposés avec une différence significative pour le groupe 3 ( $p=0.05$ ).

La mobilité des spermatozoïdes est diminuée dans tous les groupes exposés avec une différence significative pour les groupes 4 ( $p=0.001$ ) et 5 ( $p=0.01$ ).

La vitesse de progression des spermatozoïdes est réduite dans tous les groupes exposés sans pour autant que les différences ne soient statistiquement significatives.

Aucun effet n'est relevé concernant le poids relatif moyen des testicules, des vésicules séminales, du corps et de la tête de l'épididyme. En revanche, le poids relatif de la prostate est plus bas dans les groupes 2 ; 3 et 4 ( $p=0.001$ ).

Les effets constatés sur la qualité du sperme suite à l'exposition chronique au plomb pourrait entraîner une altération de la fertilité.

**Mots clés :** plomb, appareil reproducteur male, intoxication expérimentale.

## **Communication affichée**

Présentée lors des XVI<sup>èmes</sup> Journées Nationales de Médecine du Travail Annaba, du 17 au 19 Juin 2008.

**Titre : Etude de la qualité du sperme et des hormones sexuelles lors d'une intoxication chronique expérimentale.**

**Auteurs**: ALLOUCHE L<sup>(1)</sup>; HAMADOUCHE M.<sup>(2)</sup>; TOUABTI A.<sup>(3)</sup>; AGGOUNE A.<sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> : Département de Génie des procédés, Faculté des Sciences de l'ingénieur, Université FERHAT ABBAS - Sétif. E-mail : lyhamadouche@yahoo.fr

<sup>(2)</sup> : Service de Médecine du Travail, CHU de Sétif.

<sup>(3)</sup> : Laboratoire Central, CHU de Sétif.

<sup>(4)</sup> : Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université FERHAT ABBAS-Sétif.

### **Résumé**:

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet chronique du plomb administré par voie orale sur la qualité du sperme et les hormones sexuelles.

Des rats mâles adultes de souche *Wistar* âgés de 7 semaines ont reçu durant 24 semaines de l'eau distillée seule (groupe témoin ou groupe Pb 0) ou contenant de l'acétate de plomb hydraté à quatre concentrations différentes: 0.025% (groupe Pb 0,025) ; 0.05 % (groupe Pb 0,05) ; 0.1% (groupe Pb 0,1) ou 0.3% (groupe Pb 0,3).

La numération des spermatozoïdes n'a pas été modifiée chez les rats des groupes exposés par rapport au groupe témoin ; la vitesse de progression et la mobilité des spermatozoïdes sont diminuées dans les 3 groupes fortement exposés au toxique, néanmoins la différence n'est pas statistiquement significative.

Une augmentation significative est notée concernant la mortalité des spermatozoïdes dans le groupe le plus fortement exposé qui est de 46,81% (p=0.003) et le taux de spermatozoïdes anormaux dans le groupe Pb 0,1 qui est de 17.29% (p=0.003) et le groupe Pb 0,3 qui est de 15.85% (p=0.01). Les taux de mortalité et d'anomalies des spermatozoïdes dans le groupe témoin sont respectivement de 23.07% et 7.30 %. Certaines types d'anomalies sont plus élevées de manière significative dans les 2 groupes exposés aux fortes concentrations de plomb dans l'eau, ces anomalies concernent la tête pour les groupes Pb 0,1 (p=0.002) et Pb 0,3 (p=0.05), la pièce intermédiaire pour le groupe Pb 0,3 (p=0.006) et le flagelle pour le groupe Pb 0,1 (p=0.007).

Une diminution non significative du gain du poids corporel est observée dans tous les groupes exposés. Les poids absolus et relatifs des testicules, vésicules séminales, prostate et épидидymes n'ont pas été affectés par l'exposition au plomb.

Le niveau sérique de testostérone est resté inchangé, celui de la FSH est abaissé dans les groupes 0,025 (p=0.01) et 0,1 (p=0.002), enfin le niveau de la LH est plus élevé dans tous les groupes exposés, mais sans atteindre le seuil de signification.

Les effets constatés sur la qualité du sperme et sur les hormones sexuelles suite à l'exposition chronique au plomb pourraient engendrer un effet délétère sur la fertilité.

**Mots clés** : plomb, intoxication expérimentale, sperme, FSH, LH, testostérone.

## **Communication affichée**

Présentée lors des XVI<sup>èmes</sup> Journées Nationales de Médecine du Travail Annaba, du 17 au 19 Juin 2008.

**Titre : Incidence d'une exposition chronique au plomb sur la croissance du rat.**

**Auteurs** : ALLOUCHE L. <sup>(1)</sup> ; HAMADOUCHE M. <sup>(2)</sup> ; TOUABTI A. <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> : Département de Génie des procédés, Faculté des Sciences de l'ingénieur, Université FERHAT ABBAS - Sétif. E-mail : lyhamadouche@yahoo.fr

<sup>(2)</sup> : Service de Médecine du Travail, CHU de Sétif.

<sup>(3)</sup> : Laboratoire Central, CHU de Sétif.

### **Résumé**:

La présente étude a pour but d'évaluer l'impact du plomb sur le poids du corps et de certains organes du rat « Wistar » exposé au plomb pendant une durée de 300 jours.

De l'acétate de plomb a été administré aux rats des groupes exposés par l'intermédiaire de l'eau de boisson à des concentrations de 0,025 % (groupe Pb 0,025) ; 0,05 % (groupe Pb 0,05) ; 0,1 % (groupe Pb 0,1) et 0,3 % (groupe Pb 0,3). Un cinquième groupe (groupe Pb 0) a servi de groupe témoin.

A l'issue de l'expérimentation les animaux ont été sacrifiés par dislocation cervicale après une légère anesthésie.

La variation du poids des rats ne diffère pas de manière significative entre le groupe témoin et les groupes intoxiqués.

Une hausse des poids absolus et relatifs des reins est observée dans tous les groupes exposés avec une différence statistiquement significative pour les groupes ayant reçu les 3 concentrations les plus élevées du toxique.

Le poids absolu et relatif du foie est augmenté dans tous les groupes exposés sans pour autant que les différences ne soient statistiquement significatives.

Une baisse statistiquement significative des poids absolus des testicules est observée dans le groupe Pb 0,1 (p=0,01).

Aucune modification statistiquement significative n'est constatée en ce qui concerne le poids de la rate, des vésicules séminales, des épидидymes, du cerveau et de l'estomac.

Le poids absolu des poumons est abaissé de façon statistiquement significative dans le groupe Pb 0,3 (p=0,01).

Le poids relatif du coeur est augmenté de façon statistiquement significative dans le groupe Pb 0,3 (p=0,02).

**Mots clés** : plomb, poids, organes, rat.

## **Abstract: Chronic effects of low lead levels on sperm quality, gonadotropins and testosterone in albino rats.**

The current study evaluates the impact of low levels of lead acetate (PbAc) on sperm parameters, gonadotropins (FSH, LH) and testosterone. Adult albino wistar male rats were allocated to 5 groups and given 0%, 0.025%, 0.05%, 0.1% and 0.3% PbAc in distilled water for 24 weeks. There was no change in body weight gain and in absolute and relative weight of testes, epididymis and seminal vesicles. The ventral prostate weight was decreased in groups exposed to 0.05%, 0.1% and 0.3% PbAc without statistically significant differences. Sperm velocity was decreased in all treated groups while reduction of sperm motility was observed in rats exposed to 0.05%, 0.1% and 0.3% PbAc without statistically significant differences compared to control group. However, there was a significant increase greater than 100% in the total percentage of abnormal sperm in group treated with 0.1% ( $p<0.01$ ) and 0.3% PbAc ( $p<0.05$ ). The frequency of dead sperm was significantly increased only in the 0.3% PbAc group ( $p<0.01$ ). Significant increases in frequencies of amorphous head sperm ( $p<0.01$ ) and abnormal tails ( $p<0.01$ ) were found in the group exposed to 0.1 % PbAc, while the frequency of neck abnormalities was increased in the high-lead exposed group ( $p<0.01$ ). The levels of LH and FSH were not significantly affected after lead treatment and significant increase in serum testosterone level was noted only in animals administered 0.05% PbAc. In conclusion, our results reveal that some sperm parameters were altered at low lead concentrations with no obvious alteration of hypothalamic-pituitary function. The increase of testosterone level observed suggests that lead may target testicular function.

**Keywords:** rat; lead acetate; spermatozoa; FSH; LH; testosterone

## **Résumé: Effet de l'intoxication chronique au plomb à faibles concentrations sur la qualité du sperme, les hormones gonadotrophines et la testostérone chez le rat.**

La présente étude évalue l'impact de faibles doses d'acétate de plomb (AcPb) sur la qualité du sperme, les gonadotrophines (FSH, LH) et la testostérone. Des rats mâles adultes de souche *Albinos wistar* sont répartis en 5 groupes avec un accès libre à l'eau de boisson contenant 0%, 0.025%, 0.05%, 0.1% et 0.3% d'AcPb pendant 24 semaines. Aucune modification du gain de poids corporel ni du poids absolu ou relatif des testicules, des épидидymes et des vésicules séminales n'est relevée. Le poids de la prostate ventrale est plus faible dans les groupes exposés à la concentration de 0.05%, 0.1% et 0.3% d'AcPb sans que les différences ne soit statistiquement significatives. La vitesse de progression des spermatozoïdes est diminuée dans tous les groupes traités alors qu'une réduction de la mobilité des spermatozoïdes est observée chez les rats exposés aux concentrations de 0.05%, 0.1% et 0.3% d'AcPb, mais aucune différence statistiquement significative par rapport au groupe témoin n'est notée. Par contre, il existe une augmentation dépassant les 100% dans le pourcentage total des spermatozoïdes anormaux dans le groupe traité avec 0.1% ( $p<0.01$ ) et 0.3% d'AcPb ( $p<0.05$ ); le taux de mortalité des spermatozoïdes est significativement augmenté uniquement dans le groupe 0.3 % AcPb ( $p<0.01$ ). Une hausse significative des fréquences des spermatozoïdes décapités ( $p<0.01$ ) et des anomalies du flagelle ( $p<0.01$ ) est retrouvé dans le groupe exposé à 0.1% d'AcPb alors que la fréquence des anomalies de la tête sont augmentées dans le groupe exposé à la plus forte concentration en plomb ( $p<0.01$ ). Les niveaux de LH et FSH ne sont pas affectés suite au traitement par le plomb tandis qu'une élévation significative du niveau sérique de la testostérone est notée uniquement chez les animaux ayant reçu 0.05% d'AcPb. En conclusion, nos résultats révèlent que certains paramètres du sperme sont altérés aux faibles concentrations de plomb sans atteinte évidente de la fonction hypothalamo-hypophysaire. L'augmentation du niveau de testostérone suggère que le plomb peut altérer la fonction testiculaire.

**Mots clés :** rat ; acétate de plomb ; spermatozoïde ; FSH ; LH ; testostérone

## **ملخص : التأثير المزمن لتراكيز ضعيفة من الرصاص على نوعية المنى و تراكيز الهرمونات المغذية للمناسل وهرمون التستوستيرون لدى الجرذ.**

تهتم هذه الدراسة بتأثير الجرعات المنخفضة من الرصاص على نوعية الحيوانات المنوية و تراكيز الهرمونات المغذية للمناسل (LH و FSH) وهرمون التستوستيرون. قسمت جرذان ذكور إلى 5 أفواج، كل فوج يحصل على تراكيز مختلفة من AcPb في ماء الشرب (0% ، 0.025% ، 0.05% ، 0.1% ، 0.3%) و ذلك لمدة 24 أسبوعاً. لم يطرأ أي تغيير خلال مدة المعالجة على وزن الحيوان و لا على الوزن المطلق و النسبي للخصي و البربخ و الحويصلات المنوية. بينما سجل انخفاضاً غير معنوي في وزن غدة البروستات لدى المجموعات المعاملة ب 0.05% ، 0.1% و 0.3% من AcPb. كما سجل انخفاضاً غير معنوي في سرعة تطور الحيوانات المنوية لدى المجموعات المعاملة بينما لوحظ انخفاضاً في حركة الحيوانات المنوية لدى المجموعات المعاملة ب 0.05% ، 0.1% و 0.3% ، على العكس من ذلك سجل ارتفاعاً في نسبة الحيوانات المنوية غير الطبيعية فاق 100% عند الحيوانات المعاملة بتركيز 0.1% AcPb ( $P<0.01$ ) و بتركيز 0.3% AcPb ( $P<0.05$ ). بينما ارتفع معدل موت الحيوانات المنوية لدى الحيوانات المعاملة بتركيز 0.3% فقط ( $P<0.01$ ). سجل ارتفاعاً في نسبة الحيوانات المنوية بدون رأس و ذات سوط غير عادي لدى المجموعة المعاملة لتركيز 0.1% من AcPb ، بينما سجل ارتفاعاً في نسبة الحيوانات المنوية ذات الرأس الغير الطبيعي لدى الحيوانات المعاملة للتركيز العالي من الرصاص. لم يتأثر تركيز هرموني FSH و LH بواسطة المعاملة بالرصاص، في حين سجل ارتفاعاً معنوي في تركيز هرمون التستوستيرون لدى الحيوانات المعاملة بتركيز 0.05% من AcPb. نستخلص من هذه الدراسة أن المعاملة بتركيز منخفض من الرصاص أثرت على بعض المؤشرات على مستوى الحيوان المنوي دون التأثير على وظيفة المحور تحت السرير البصري الغدة النخامية. وقد يعني الارتفاع في مستويات هرمون التستوستيرون إلى تأثر وظيفة الخصية بالمعاملة بالرصاص.

**الكلمات الدالة:** الحيوانات المنوية، جرذ، FSH، LH، تستوستيرون.