

République Algérienne Démocratique et Populaire

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida -1-**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et Organismes**

**Mémoire de Fin d'Etude En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Biologie**

Option : Reproduction animale

Thème :

*Effet de la toxicité sub-chronique par le plomb
sur l'appareil génital mal
des souris*

Présenté par :

le 15 /06/2016

Mlle AISSAT Nadjet

Devant les jurys:

Mr Bessad M.A.

MCB

UB1

Président

Mme Kanane. A

MAA

UB1

Examinatrice

Mme Ben Azouz F.

MAA

UB1

Promotrice

Mme Neguab I.

Ingénieure de labo

Pharmacotoxico (SAIDAL)

Co- promotrice

Promotion : 2015- 2016

Remerciements

Je remercie tout d'abord le bon Dieu qui ma a donné la force et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Je m'adresse mes remerciements les plus chaleureux à Madame Ben Azouz Fella, directrice de ce mémoire, qui ma a guidé tout au long de ce travail. Je la remercie particulièrement pour ses conseils éclairés dans l'orientation des travaux, ses nombreuses idées, ainsi que pour son soutien moral. Je la remercie de m'avoir fait confiance pour réaliser ce travail et d'avoir largement participé à ma formation scientifique.

Je remercie vivement Madame Imane Neguab, ma Co-promotrice, le chef de département de pharmacotoxycologie de l'unité antibiotical SAIDAL de Médéa, qui a très généreusement accepté d'apporter son aide et pour que ce travail puisse être achevé et soutenu dans les meilleures conditions.

Je la remercie également pour son aide technique au cours de la réalisation de ce travail.

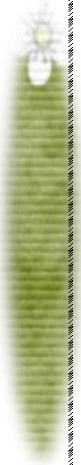
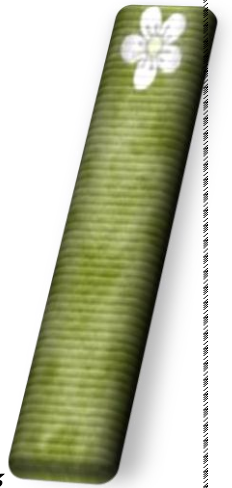
Je remercie vivement Monsieur BESSAD Mohamed Amine d'avoir accepter de présider le jury de ce mémoire.

Mon gratitude va également à Mme Kanane d'avoir accepter d'examiner ce travail.

Je tient à remercier particulièrement docteur SOUNA Nadjet spécialiste en anatomie et cytologie pathologique au service d'anatomie t cytologie pathologique à d'hôpital de Médéa d'avoir accepter de gérer l'analyse histologique .

Un Merci de tout cœur à Monsieur BAILICHE Mohamed chef de service de laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique de l'hôpital de Médéa pour son accueil chaleureux et son aide à l'élaboration de ce travail.

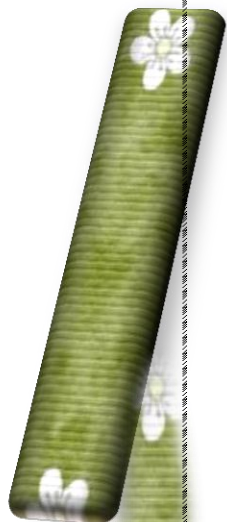
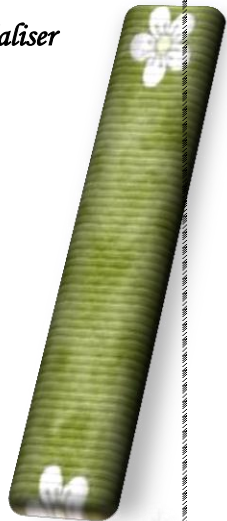
*Un merci chaleureux qui va à Mr Bessad Amine, chef d'option reproduction animale au département BPO à l'université de Blida 1, faculté des sciences de la nature et de la vie
Pour son soutien et son aide tout au long de mon cursus.*



Mes remerciements s'adressent aussi a Asma biologiste a hôpital de Médéa et Kfira biologiste au laboratoire d'analyse médicale pour leurs patience , leurs soutiens et leurs aide pour réaliser ce travail.

Un merci spécial à : NIHAD .Guers ; Mohamed .Messaoufi et Fouzia Aissat ; pour leurs aide et leurs soutiens à la progression et la réalisation de ce travail.

Enfin, que tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de ma profonde sympathie.



Dédicace

Pour l'esprit de *mon père* immaculé

Pour *ma cher mère* qui ma soutien tous au long de ma vie

Pour mes parents spirituel : *Ríma et Hassan*

Pour mes chers frères: *Aíssa, Karím, Rchíd, Nadjib*

Mohamed, Ahmed et Aíssa

Pour mes chers sœurs : *Fatíha, Fouzia, Badría et Zohra*

Pour mes *neveux* et mes *nièces*

À Rahímouuuuuuuuu

A tous les membres de la famille

Pour vous mes amis, collègues.....

Pour vous mes amis, copines

Pour Dr Daidí ; Dr Hadjou et Dr Trad

A ma très chère Nihad

A: Nina, Fadhíla , Nahla , Amina , Asma , Imane , Nesrine , Lobaba, Khadídja , Hanaa , Nariman , Amel , Salíma , Hamída , Lamía , Anis , Habíba , Ríma , Karíma , Nayel.

«La réussite ne se trouve pas dans la meilleure des places, la plus haute ou la plus payante, mais dans le maximum qu'on peut tirer de soi-même.»

Renaud Tremblay

Résumé

De nombreux xénobiotiques (solvants, pesticides, métaux lourds...) sont suspectés d'être responsables de la baisse de la fertilité masculine et féminine observée au cours de ce dernier siècle.

Dans ce cadre, nous proposons d'étudier l'impact du plomb, administré par voie orale, sur la fonction reproductrice des souris mâles de souche «Albinos Swiss race ».

L'exposition chronique à ce métal a induit, chez les souris mâles, une baisse des poids absolus du testicule qui disparaît à la fin du traitement.

Les croisements entre femelles témoins et les souris traitées ont mis en évidence une baisse du nombre moyen de pénétration.

L'étude histologique des testicules a montré que les différents stades de la spermatogénèse étaient fortement perturbés pour le groupe 2 ; les tubes séminifères apparaissaient vides et atrophiés et une diminution du taux des spermatozoïdes. Aussi la membrane basale était épaisse hyalinisée. La paroi séminifère montrait une présence de cellules de Leydig et Sertolie en amas et présence de calcification intra-canalair.

Pour le groupe 3 nos résultats ont montré une atrophie partielle et minimale ; certains tubes sont atrophiés et d'autres renferment des spermatozoïdes dans leur lumière. Les cellules de Leydig sont rares et quelques-unes sont dégénérées ; certaines cellules de Sertolie sont dégénérées par contre les cellules germinales sont de morphologie normale.

Le dosage hormonal de la testostérone sérique a montré chez les souris traitées une chute importante du taux de cette hormone pour le groupe 2 alors que chez le groupe 3 le taux de testostérone était dans les normes et comparable au taux de cette hormone chez les souris témoins qui suggèrent la mise en place d'un phénomène d'adaptation, faisant intervenir des systèmes de rétrocontrôle hypophysaires.

L'intoxication chronique au plomb est un problème d'une importance considérable et qui n'est pas encore résolu. En effet, l'augmentation de l'évidence épidémiologique et expérimentale a prouvé que le plomb exerce des effets défavorables même à des faibles niveaux d'exposition.

Mots clés : fertilité / testostérone / spermatogénèse.

Abstract

A lot of xenobiotics (solvents, pesticides, heavy metals) are suspected of being responsible for the decline in male and female fertility observed during the past century.

In this context, we proposed to study the impact of lead, administered orally, on the reproductive function of male mice «Albinos Swiss race ».

Chronic exposure to this metal induced in male mice, a decrease in absolute weight of the testicle that disappears at the end of treatment.

Crossing between female telltale and treated mice showed a decrease in the average number of implantations.

Histological examination of the testes showed that the different stages of spermatogenesis were strongly disrupted for group 2; seminiferous tubules appeared empty and atrophied a decrease in sperm rates in light for those which contain only some sperm.

Also the basal membrane was hyalinized and thick. The wall seminiferous indicates presence of Leydig and sertolie cells in clusters and presence of intraductal calcification.

For group 3 our results showed a partial and minimal atrophy; some tubules are atrophied and others contain sperm in their light. Leydig cells are rare and some are degenerate; some of Sertolie cells are degenerate and germ cells are of normal morphology.

The hormonal dosage of serum testosterone showed in treated mice a significant drop in the levels of this hormone for group 2; however, in Group 3 testosterone levels are comparable in norms with the levels of this hormone in mice telltales that suggest the establishment of an adaptation phenomenon, making Intervene feedback systems of pituitary.

Chronic lead poisoning is an issue of considerable importance and that is not yet resolved. Indeed, increasing epidemiological evidence is experimentally proved that lead exerts adverse effects even at low levels of exposure

Keywords: fertility / testosterone / spermatogenesis

المخلص:

تعتبر العديد من (المذيبات والمبيدات الحشرية والمعادن الثقيلة ...) العامل الأكثر مسؤولية عن تراجع الخصوبة لدى الذكور و الإناث لوحظ خلال القرن الماضي.

في هذا السياق، اقترحنا دراسة تأثير الرصاص ، عن طريق الفم، على وظيفة الإنجاب من ذكور الفئران سلالة "ألبينوس".

التعرض المزمن لهذا المعدن يتسبب لدى ذكور الفئران في انخفاض في الوزن المطلق للخصية التي اختفت في نهاية العلاج.

أظهر التصالب بين إناث فئران سليمة والفئران التي عولجت بالرصاص انخفاض في متوسط عدد الاتصالات الجنسية و كذا اضطرابات واضحة في سلوكيات الفئران التناسلية.

وكما أظهر الفحص النسيجي للخصية أن مختلف المراحل المسؤولة عن تشكيل الحيوانات المنوية تعطلت بشدة و خاصة للمجموعة 2 حيث ظهرت الأنابيب المنوية في بعض المستويات خالية أو شبه خالية من الحيوانات المنوية و لوحظ أيضا انخفاض في ضوء الأنابيب المنوية التي تحتوي فقط على بعض الحيوانات المنوية معظمها ضامرة.

كما أمكنت الدراسة النسيجية من ملاحظة الغشاء القاعدي الذي ظهر سميكًا و كذا الجدار الذي يحتوي على خلايا سيرتولي و لا يديغ بشكل مجموعات أو لمات مع وجود تكلس واضح.

بالنسبة للمجموعة الثالثة أظهرت النتائج ضمور جزئي و ادني ، بعض الأنابيب أصبحت عديمة الشكل و البعض الآخر يحتوي على منويات في اللمعة. خلايا لا يديغ و سيرتولي قليلة جدا ومعظمها هدم. بينما الخلايا المنوية فكانت طبيعية.

أظهرت الجرعة الهرمونية في مصل الفئران التي عولجت أن هناك انخفاض كبير في مستويات هرمون التستوسترون عند المجموعة 2 بينما في المجموعة 3 كانت مستويات هذا الهرمون ضمن المعايير وقابلة لمقارنة مستويات هذا الهرمون عند الفئران الطبيعية و هذا راجع إلى ظاهرة التكيف، التي تنطوي على نظم التغذية المترددة النخامية.

التسمم بالرصاص المزمن هو مسألة ذات أهمية كبيرة والتي لم يتم حلها بعد. في الواقع، أظهرت الزيادة في الأدلة الوبائية والتجريبية اثبتت أن الرصاص يؤثر سلبيا حتى في مستويات التعرض المنخفضة.

الكلمات الرئيسية : الخصوبة/التستوسترون/الحيوانات المنوية

Liste des abréviations

HG : Le mercure

Pb : Le plomb

Cd : le cadmium

As: Arsenic

Spz: Spermatozoïde

LH: Hormone lutéinisante

FSH: Hormone folliculo-stimulante

Liste des tableaux

Tableau n° I : Les formes d'intoxication	06
Tableau n° II : Propriétés physicochimiques du plomb.....	10
Tableau n° III : Matériel animal issue de l'animalerie	17
Tableau n° IV : Résultat de croisement du souris	25
Tableau n° V : Résultat de poids moyen des testicules	25
Tableau n° VI : Résultat moyen de dosage des hormones sexuel.....	26

Liste des figures

Figure n° 01: Tableau périodique.....	(Annexe)
Figure n°02 : Gavage des souris par l'acétate de plomb	(Annexe)
Figure n°03 : Prélèvement du sang	(Annexe)
Figure n°04: Les étapes de dissections	(Annexe)
Figure n°05 : Prélèvement des testicules	(Annexe)
Figure n°06 : Mesure pondéral des testicules	(Annexe)
Figure n°07 : Les étapes de la macroscopie.....	(Annexe)
Figure n°08 : Les étapes de l'inclusion.....	(Annexe)
Figure n°09 : Les étapes de la microtomie.....	(Annexe)
Figure n°10 : Coloration et observation microscopique.....	(Annexe)
Figure n°11-12 : Observation microscopique des testicules des souris témoins.....	27
Figure n°13-14-15-16-17 : Observation microscopique des testicules des souris de groupe d'essai numéro 1 à 250 mg /l.....	28-29
Figure n°18-19-20-21-22: Observation microscopique des testicules des souris de groupe d'essai numéro 2 à 500 mg /l.....	30-31
Figure n°23 : Outil de laboratoire.....	(Annexe)
Figure n°24 : Appareil de laboratoire	(Annexe)
Figure n°25 : Accouplement des souris	(Annexe)

Sommaire

Introduction	01
---------------------------	----

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités

I-1-1- Historique.....	03
I-1-2- La reproduction animale	04
I-1-3- Notion de toxicité.....	04
I-1-4- Effet de l'exposition aux xénobiotique sur la reproduction.....	07
I-2- Le plomb	
I-2-1- Historique.....	08
I-2-2- Nocivité	08
I-2-3- Propriété physicochimique.....	10
I-2-4- Source d'exposition par le plomb.....	11
I-2-5- Métabolisme du plomb.....	13
I-2-6- Toxicité du plomb et effet sur l'appareil génital mal.....	15

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1- Matériel

II-1-1- Matériel biologique.....	17
II-1-1-1-Animaux.....	17
II-1-2-Matériel non biologique.....	18

II-2-Méthodes

II-2-1- L'exposition des cobayes au plomb (intoxication subchronique).....	18
II-2-2- Test de croisement.....	18
II-2-3- Prélèvements Sanguins	18

II-2-4-1-Prélèvement des testicules.....	19
II- 2-4-2- Mesure pondérale des testicules	19
II-2-4-3- Etude histologique.....	19

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1- Le test de croisement	21
III-2- Mesure pondérale des testicules	21
III-3- Dosage hormonal.....	21
III- 4- Etude histologique	23
Conclusion.....	30

- Références bibliographiques.

- Annexes.

Introduction

L'augmentation des effets néfastes des polluants «métaux toxiques» dans l'environnement est un problème dans le monde vivant.

Les intoxications massives aiguës et chroniques par le plomb ont été bien documentées en milieu professionnel. Le plomb est également un polluant environnemental, surtout dans les sols et l'atmosphère, au voisinage de sites industriels, et dans les zones de fort trafic automobile, en particulier sur l'essence plombée. Les poussières et les peintures des habitats anciens et dégradés. (Flora et al., 2012).

Il pénètre essentiellement dans l'organisme par voie digestive et pulmonaire. La voie pulmonaire est surtout importante pour les personnes exposées en milieu professionnel, qui inhalent le plomb sous forme particulaire. (Mathee et al., 2013)

Le plomb pourrait endommager entièrement la membrane par inactivation des groupements thiols. La neurotoxicité résulte par une perturbation du métabolisme, et en provoquant plus particulièrement un stress oxydatif. Il a été montré que le plomb est un composé pro-oxydant qui induit une peroxydation lipidique et une production de radicaux libres. Cette peroxydation peut être déterminée par l'activation de la catalase et d'autres enzymes anti-oxydantes (supéroxyde dismutase, glutathion peroxydase) (Gomma, 2002).

Et conduit à une désorganisation cellulaire et à l'apoptose par les activités caspase (Flora et al, 2007 b ; Xu et al, 2006) et des dommages de l'ADN.

Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies : athérosclérose, diabète de type 2, maladies neurodégénératives.

La pollution de l'environnement est incriminée en grande partie dans l'infertilité ; faisant partie d'un problème réel : l'impact de l'environnement sur la santé humaine. Grâce aux recherches menées sur le sujet depuis de nombreuses années, les effets de certaines pollutions environnementales commencent à être scientifiquement identifiés (Meeker, J.D et al, 2008).

La pollution affecte la fertilité de l'homme : la qualité du sperme diminue lorsque l'homme est exposé longtemps et quotidiennement aux polluants. (El Feki .A et al, 2000) . Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer l'effet reprotoxique du plomb sur la reproduction du souris mâle.

Chapitre I

Recherche bibliographique

I-1- Généralité

I-1-1- Historique

La reproduction peut être définie comme l'ensemble des processus biologiques par lesquels une espèce se perpétue en permettant la naissance de nouveaux individus. C'est une propriété fondamentale et obligatoire du monde vivant ; toute espèce vivante doit disposer d'un mécanisme efficace de reproduction sous peine de disparaître rapidement (**Joëlle Cohen-Tannoudji, et al, 2015**).

➤ il existe deux types de reproduction :

❖ La reproduction asexuée :

Elle date de 3.8 milliards d'années dont une cellule mère aboutit à deux cellules filles identiques; elle se fait par : la mitose simple, la mitose multiple (schizogonie), le bourgeonnement et la strobilation (est une [segmentation](#) spontanée et transversale du corps chez les [cnidaires](#)).

❖ la reproduction sexuée :

Chez les plantes ; les animaux et dans l'espèce humaine. Ce mode de reproduction consiste en la rencontre de deux individus de type sexuel différent, mâle et femelle qui va conduire à la formation d'un troisième organisme génétiquement différent des deux premiers.

La reproduction est d'un point de vue biologique un mécanisme infiniment complexe, il est important de bien comprendre que cette complexité n'est pas arrivée d'un seul coup. Elle est en effet le fruit d'une très longue histoire évolutive (3.5 milliards d'années) qui a permis aux organismes vivants, relativement simples au départ, de se complexifier progressivement, de s'affranchir de certaines contraintes du milieu, d'acquérir de nouvelles capacités tout en continuant à transmettre leurs gènes à leur descendance

La reproduction sexuée est un brassage systématique des caractères héréditaires à chaque génération ; elle se fait par l'intermédiaire de cellule spécialisé : les cellules sexuelles, dite germinale ou gamète. (**Joëlle Cohen-Tannoudji, et a l 2015**).

I-1-2- La reproduction animale

La reproduction sexuée est quasiment la seule observée dans le monde animale. Elle fait intervenir **deux individus de sexes différents** : un mâle et une femelle. Une fois qu'elles se sont rencontrées, le spermatozoïde « **fusionne** » avec l'ovule pour former la cellule œuf : c'est ce qu'on appelle la **fécondation**.

➤ Les différents types de fécondation :

- **Fécondation interne**

La fécondation est également interne, l'union des deux cellules reproductrices a lieu dans l'appareil reproducteur de la femelle. Dans ce cas, un accouplement est indispensable comme chez de nombreux animaux, escargots, papillons, et l'être humain.

- **Fécondation externe**

Le mâle libère les gamètes mâles dans le milieu, la femelle libère les gamètes femelles également dans le milieu, la rencontre des gamètes se fait dans l'eau. La fécondation est donc externe à l'appareil reproducteur femelle. (**Charles Thibault, Marie-Claire Levasseur, 2001**)

I-1-3- Notion de toxicité

Un poison, ou toxique, est une substance capable de perturber le fonctionnement normal d'un organisme vivant ; Il peut être de source naturelle (ex. : poussières, pollen) ou artificielle (ex. : urée forme aldéhyde), ou de nature chimique (ex. : acétone) ou biologique (ex. : aflatoxines, anthrax). (**Commission de la santé et de la sécurité du travail ,Québec, 2004**).

Fabre et Truhaut considèrent que :

« Une substance est un poison quand après pénétration dans l'organisme à une dose relativement élevée en une ou plusieurs fois très rapprochées ou par petites doses longtemps répétées, elle provoque de façon passagère ou durable des troubles d'une ou de plusieurs fonctions, troubles pouvant aller jusqu' à l'annihilation complète et amener la mort ».

(**Pr Samir Ben Youssef et al, (2013-2014)**).

➤ **Classification des toxiques**

Parmi les nombreuses classifications proposées, les plus importantes sont celles qui se basent sur la nature chimique du produit, leur mécanisme d'action toxique ou leur usage ou enfin la nature du danger.

Selon la nature chimique

• **Les toxiques gazeux :**

Oxyde de carbone CO, ammoniac NH₃, anhydride sulfureux...

• **Les toxiques minéraux :**

Métalloïdes (arsenic, phosphore), métaux (mercure, plomb, cadmium)...

• **Les toxiques organiques :**

Alcools, phénols, composés hétérocycliques, alcaloïdes, hétérosides...

➤ **Pénétration des toxiques**

- **Voie digestive**
- **Voie respiratoire**
- **Voie cutanée**
- **Autres voies:** résorption de médicaments ; La projection de liquides concentrés dans les yeux ; l'irrigation utérine avec des solutions antiseptiques trop concentrées.

(Pr Samir Ben Youssef et al, (2013-2014).

➤ **L'excrétion des toxiques**

Ce processus consiste à rejeter le produit inchangé ou ses métabolites à l'extérieur de l'organisme. L'**excrétion** peut se faire par voie rénale (l'urine), gastro-intestinale (les selles), pulmonaire (l'air expiré), cutanée (la sueur) ou lactée (le lait). (**Commission de la santé et de la sécurité du travail ,Québec .2004).**

➤ **Les formes de toxicité**

- **Toxicité aiguë**

Elle résulte de l'administration d'une dose unique ou de fractions de doses réparties sur 24 h. Elle entraîne la mort ou une anomalie particulière comme les troubles nerveux, une altération de la formule sanguine.

- **Toxicité sub-aiguë et sub-chronique**

Elle résulte de l'administration d'une substance pendant une période allant de 14 jours à 3 mois (expositions répétées pendant un temps limité). Il y a des organes cibles.

- **Toxicité CHRONIQUE (à long terme)**

Elle résulte d'expositions répétées et fréquentes à de très faibles quantités de toxiques, réparties sur une période de quelques mois à plusieurs années. L'intoxication apparaît soit par accumulation des toxiques dans l'organisme, c'est le cas du plomb, soit par addition des effets comme pour les produits cancérigènes. (Commission de la santé et de la sécurité du travail, Québec .2004).

Tableau I : Les formes d'intoxication

FORME D'INTOXICATION	FRÉQUENCE D'ADMINISTRATION	DURÉE DE L'EXPOSITION
AIGUË	Unique	< 24 heures
SUBAIGUË	Répétée	≤ 1 mois
SUBCHRONIQUE	Répétée	de 1 à 3 mois
CHRONIQUE	Répétée	> 3 mois

(Commission de la santé et de la sécurité du travail, Québec .2004).

I-1-4- Effet de l'exposition aux xénobiotique sur la reproduction

L'effet d'agents toxiques sur la reproduction a été défini comme la survenue d'effets secondaires néfastes pour le système reproducteur pouvant résulter d'une exposition à des agents liés à l'environnement. Cette toxicité peut s'exprimer par des modifications des organes génitaux ou du système endocrinien correspondant et se manifester par:

- des troubles du comportement sexuel
- une diminution de la fécondité des issues néfastes de la grossesse
- Des modifications d'autres fonctions dépendant de l'intégrité du système reproducteur

Aujourd'hui les chercheurs s'interrogent sur l'hypothèse selon laquelle une exposition à des substances exogènes possédant des effets sur le système endocrinien, pourrait être à l'origine d'une grande variété d'effets délétères sur l'organisme tels des cancers (du sein, de la prostate et des testicules), des atteintes de la fonction reproductrice (problèmes de fertilité masculine, malformations de l'appareil génital masculin). Plusieurs études se sont intéressées aux effets des xénobiotique sur la reproduction, en particulier sur la fertilité masculine. elles peuvent agir au niveau de la spermatogénèse via des altérations des hormones ou des effets génotoxiques. Une étude a montré une baisse significative du nombre et de la qualité des spermatozoïdes. De plus, des études de type cas-témoins chez des hommes consultant pour infécondité du couple montrent que l'exposition aux xénobiotique constitue un facteur de risque significatif pour la qualité du sperme. Une association entre le risque de cryptorchidie, une des manifestations potentielles de la perturbation endocrinienne et l'utilisation de pesticides, en particulier par la mère, a été montrée dans certaines études. Une récente étude souligne l'importance de l'exposition paternelle dans la transmission des altérations des cellules germinales à l'enfant. Cette étude indique que des modifications géniques telles que des mutations entraînant une instabilité génétique ou une suppression de l'apoptose des cellules germinales, peuvent être transmises à partir du père dans le fluide séminal et montre ainsi l'impact de l'exposition paternelle dans l'apparition des pathologies sur le développement in utero de l'enfant mais également de son système endocrinien et reproductif (Merhi Maysaloun ,2008).

I-2- Le plomb

I -2-1- Historique

Parmi les métaux lourds, on distingue principalement trois ; d'entre eux: le Hg, le Pb et le Cd. Les biochimistes ont distingué ces trois métaux en raison de leur affinité avec le soufre ; ils ont aussi quelques caractéristiques physico-chimiques communes: ils ont une conductivité électrique élevée, ce qui explique leur utilisation dans de nombreuses industries. Ils sont tous des éléments toxiques qui n'accomplissent aucune fonction physiologique utile chez l'homme et ont la capacité de s'accumuler dans la chaîne alimentaire. (**Florkin, 1956**).

L'utilisation du Pb a traversé les âges depuis la haute antiquité en dépit de sa toxicité déjà décrite deux siècles avant JC par Nicander (**Grandjean, 1975**). Des travaux archéologiques récents ont mis en évidence des sites de production à partir de la galène (PbS) en Asie centrale datant d'environ 6 500 ans avant notre ère (**Wittmers *et al*, 2002**) et le développement d'une chimie du Pb en Égypte ancienne vers 3 000 avant JC essentiellement liée à l'élaboration de cosmétiques (**Walter *et al.*, 1999**). La Rome antique a fait grand usage de ce métal et de ses alliages pour manufacturer une multitude d'objets de la vie courante comprenant des ustensiles de cuisine, des jarres, des coffres et des canalisations. (**Greenwood et Earnshaw, 1984**).

I -2-2- Nocivité

Les principaux produits nocifs du Pb sont:

- Les oxydes de Pb (PbO); (litharge, massicot, minium, oxyde puce)
- les sels de Pb qui sont le plus souvent colorés ; chlorure ou jaune de Turner, antimoniante ou jaune de Naples, chromate ou jaune de chrome, sulfate blanc ou blanc de Mulhouse, sous carbonate ou céruse (**Bodek *et al* ; 1988**).
- d'autres sels tels que les arséniates ($Pb_3(AsO_4)_2$), les stéarates ($Pb(C_{17}H_{35}COO)_2$) et les acétates ($Pb(CH_3COO)_2$) qui sont employés en agriculture, en industrie chimique ou pharmaceutique (**CIRC, 2006**).

D'autres formes communes de Pb sont le tétraéthyle et tétraméthyle. Ce sont des composés organiques de Pb hautement toxiques qui ont été largement utilisés comme additifs à essence, jusqu'à l'interdiction de leur utilisation aux Etats-Unis en 1986 puis dans l'Union européenne en l'an 2000 (**Lincoln, 2005**).

Bien que ce type d'exposition ait grandement diminué, la toxicité chronique reste un problème majeur de santé publique partout dans le monde, affectant des millions d'enfants et d'adultes (**Todd *et al.*, 1996; Bogden *et al.*, 1997**).

En milieu industrielle l'intoxication aiguë ne se rencontre que très rarement. Cependant, l'intoxication chronique peut toucher de nombreuses fonctions vitales (**Boeckx, 1986**).

Un certain nombre d'études menées sur l'animal ont montré que l'exposition à des sels de Pb est capable d'induire le cancer (**Azar *et al*, 1973; Kobayashi et Okamoto, 1974; Poirier *et al*, 1984; Koller *et al*, 1986; Mikalsen, 1990; Waalkes *et al*, 1995**). ainsi des études environnementales suggèrent que le Pb, même à des niveaux faibles, pourrait exercer un effet délétère sur la fonction rénale.

Rapportés il y a plus d'un siècle en milieu professionnel, les effets de l'exposition au Pb sur la reproduction se manifestent par une infertilité, la naissance d'enfants morts nés, des avortements spontanés ou des malformations. Les effets du Pb sur l'ovulation, la fécondation et la gestation ont été très largement examinés chez l'animal. Les effets sur l'appareil reproducteur mâle concernent la spermatogénèse, la fonction leydigienne et le système neuro-endocrinien. Le temps d'exposition semble jouer un rôle important dans l'apparition de ces effets. (**Chantal Grellier et Florence Lesecq, INSERM SC 14**).

Les Etats Unis, Canada et la Russie sont les principaux producteurs du Pb au monde Plusieurs applications anciennes sont maintenant restreintes (caractères d'imprimeries) désuètes dans les pays occidentaux (jouets, médicaments et pesticides) ou interdites, comme les peintures des maisons et des canalisations d'eau potable (**Seddik Leila, mai 2014**).

I-2-3 Propriété physicochimique

Tableau II : Propriétés physicochimiques du plomb

Propriétés	Valeurs
Symbole	Pb
Pression de vapeur	4,21x10 ⁻⁷ Pa à 327,6 °C
Solubilité dans l'eau	Non soluble à 20 °C
Masse molaire (Poids-atomique)	207,2 g/mol
N °atomique	82
Densité	11,34

Tiré de J.K. Barbalace inc., 2012

Ce Métal est dense paradoxal, d'une couleur grise argentée, mou, malléable, flexible et facile à laminier, il se ternit à l'eau, facile à tréfiler tant qu'il est sous forme de gros fils. (Seddik Leila, mai 2014) ; avec un nombre atomique Z : 82 ,M : 207.21 (figure 01 -annexe).

Il se représente comme un mélange des isotopes : Pb 206, Pb 207 et Pb 208 qu'ils sont respectivement les résultats de la décomposition radioactive de l'uranium, l'actinium et thorium.

Le Pb se fond à 327 °C ; il met des vapeurs vers 500 °C ; qui s'oxydent facilement au contact de l'air, il en est de même des poussières (Budvari et al, 1996 ; Hernberg, 2000).

I-2-3-1 Corrosion du plomb

La corrosion chimique du Pb est très lente. Lorsque le Pb est en contact avec de l'air humide, Une fine couche d'oxyde de plomb (PbO) se forme à la surface du métal. Lorsque de l'eau et de l'oxygène sont tous les deux présents, le Pb métallique est converti en hydroxyde de plomb (Pb (OH)₂). (Boulkrah Hafida, 2008).

I-2-3-2 Solubilité du plomb et des composés de plomb

Le Pb élémentaire ne se dissout pas dans l'eau sous les conditions normales (20°C , et pression = 1 bar). Le Pb se lie fréquemment au soufre sous forme de sulfure (S²⁻), ou au phosphore sous forme de phosphate (PO₄³⁻). Sous ces formes, le Pb est extrêmement insoluble, et est alors immobilisé dans l'environnement.

Le Pb est résistant à l'acide sulfurique. Il est par contre rapidement dissout par l'acide nitrique et solubilisé par les acides organiques (acide acétique, aliments acides) de même que par l'eau, surtout si elle contient des nitrates ou des sels d'ammonium. Par contre, la présence dans l'eau de sels calcaires peut empêcher sa solubilisation. (**Lauwerys .R ,1990**).

I-2-4 Sources d'intoxication par le plomb

Le Pb est un polluant environnemental, on le trouve surtout dans les sols et l'atmosphère au voisinage de sites industriels (fonderies, usines de fabrication et de recyclage de batteries) et dans les zones de fort trafic automobile, les poussières et les peintures des habitats anciens et dégradés, aussi l'eau de boisson et à un degré moindre ; l'alimentation ; sont des sources rémanentes, souvent insidieuses, d'exposition des populations au Pb (**Seddik Leila, mai 2014**).

➤ Les sources naturelles

Le Pb est présent dans la croûte terrestre et dans tous les compartiments de la biosphère. La concentration moyenne en Pb de la croûte terrestre serait de l'ordre de 13 à 16 mg/kg. Dans l'air, les émissions de Pb provenant de poussières volcaniques véhiculées par le vent sont estimées entre 540 et 6 000 tonnes/an [**AFNOR, sept 1988**]. D'autres processus naturels, comme la dégradation et l'érosion du sol (contenant entre 50 et 75 mg de Pb par kg de sol) et les feux de forêt, contribuent de façon significative à la libération de Pb. Mais généralement, ces processus naturels ne conduisent que rarement à des concentrations élevées de Pb dans l'environnement.

➤ Milieu aquatique

Les eaux de surface constituent des bassins d'accumulation pour les dérivés du Pb qui sont insolubles s'accumulent au fond de l'eau, se fixant sur les sédiments ou sur des matières en suspension ; Les plantes aquatiques accumulent également le Pb (**OMS, 1995**).

Le Pb présente un risque pour les eaux souterraines en cas de contamination par des dérivés solubles dans l'eau ; à titre d'exemple le chlorure et nitrate de plomb.

Cependant, il est notoire que l'eau potable présente de fortes concentrations de Pb lorsqu'elle est transportée dans des conduites en Pb et peut être un risque surtout pour les enfants.

le risque d'origine hydrique est préoccupant (**Seddik Leila, mai 2014**).

➤ **Atmosphère**

De grandes quantités de Pb parviennent dans l'atmosphère à la suite de processus de combustion. En fonction de la vitesse et de la direction des vents, de l'importance des précipitations et de l'humidité de l'air, les dérivés du Pb peuvent être transportés sur de longues distances. Cependant, la plus grande partie du Pb présent dans l'atmosphère se dépose directement ou est lessivée par les précipitations.

Le Pb se fixe sur les petites particules de poussière en suspension dans l'air, lesquelles se déposent sur la végétation et sur le sol. Le Pb émanant des gaz d'échappement des véhicules s'accumule aux abords immédiats des axes routiers (**Seddik Leila, mai 2014**).

➤ **Sols**

Le taux d'absorption est fonction des propriétés du sol. Ainsi, le Pb présente une grande affinité pour les substances humiques. Le pH, en particulier, joue un rôle important dans la disponibilité de Pb à partir de dérivés. Plus le pH est faible, plus le degré de désorption dans la solution du sol est fort, le Pb étant très immobile plus que le cadmium par exemple, il demeure dans les horizons supérieurs et n'est pas absorbé dans les mêmes proportions par les plantes. Ainsi, les sols constituent un milieu d'accumulation important pour les dérivés du Pb (**Seddik Leila, mai 2014**). Une contamination complémentaire se produit à la suite de l'épandage de boues d'épuration plombifères sur les terres agricoles. Un danger pour les eaux souterraines n'existe que si les taux de contamination sont très élevés (**Holmes, 1995**).

➤ **Dans les végétaux**

Certains métaux sont indispensables à la croissance des végétaux comme : Zn, Fe, Cu, Mg etc..... D'autres, comme le Pb, Hg, As n'ont pas de fonctions biologiques reconnues pour les plantes que se soient indispensables ou sans rôles connus, une accumulation excessive de ces éléments est phytotoxique. Les végétaux peuvent se contaminer par leurs racines ou par leurs parties aériennes lors de retombées atmosphériques de poussières émises par l'activité industrielle ou d'envols de particules de terre polluée (**Miquel, 2001**).

L'accumulation dans les végétaux est variable en fonction de l'espèce et au sein d'une même espèce, selon la variété considérée (**Morel et Schwartz, 1999**).

De plus pour une plante donnée, la teneur en Pb n'est pas homogène. Elle varie d'un organe à l'autre. Elle peut donc être différente dans les racines, les tiges ou les feuilles. Toute fois il s'accumule préférentiellement dans les racines (**Nriagu et Moore, 1984**).

➤ **Chaîne alimentaire**

En raison de sa propagation ubiquitaire, le Pb est présent dans tous les produits alimentaires et fourragers. En général, les aliments d'origine végétale contiennent plus de Pb que ceux d'origine animale. Ceci s'explique par le fait qu'ils sont particulièrement exposés. Les sédiments de poussières contaminés par du Pb se fixent à la surface des plantes et sont consommés en même temps que les aliments. Dans les organismes supérieurs, les concentrations maximales sont observées dans les organes internes tels que le foie et les reins. Dans les milieux aquatiques, la concentration augmente comme suit:

Eau < plancton < poissons < sédiments (**OMS, 1995**).

Une enquête internationale menée par l'OMS a retrouvé des concentrations élevées en Pb dans certains aliments tels que des épices et Aromates (275mg/kg), des boissons conditionnées (250mg/l) , des coquillages (250mg/kg), des conserves (230mg/kg), des poissons (150mg/l) , des céréales (60mg/kg), des fruits (50mg/kg) et des légumes (40mg/l). (**Galal-Gorchev,1993**).

I-2-5- Métabolisme du Plomb

Sachant les ions Ca^{2+} joue un rôle principal dans la régulation de nombreuses fonctions cellulaires ; accumulation du Pb dans le compartiment mitochondrial est lié avec les ruptures du métabolisme intracellulaire de calcium (**Bressler et Goldstein, 1991**). Le calcium intracellulaire accru le dégagement des neurotransmetteurs excitatrices et de l'effort oxydant des cellules de systèmes nerveux central principalement. (**Seddik Leila, mai 2014**).

I-2-5-1 Absorption et toxicité

Le Pb peut être absorbé par l'organisme par inhalation, ingestion ou contact cutané principalement lors d'une exposition professionnelle (**Moore et al, 1980**) et par transmission à travers le placenta (**Angell et al, 1982**).

Le Pb est absorbé par les poumons et le tractus gastro-intestinal. L'absorption cutanée est généralement faible. Chez l'animal comme chez l'homme, environ la moitié du Pb retenu est absorbée au niveau du tractus respiratoire inférieur (**Seddik Leila, mai 2014**). L'absorption diminue avec l'âge; de 83% pour un rat de 16 jour et 16% pour un rat de 89 jour (IARC, 1987), de 30 à 40% chez l'enfant et 5 à 15% chez l'homme adulte (**Amdur et al, 1996 ; Gulson et al, 1997**).

L'absorption par voie aérienne dépend de la taille des particules et de leur solubilité (**Taylor, 1986; Winship, 1989**). Les particules inférieures à 1µm traversent la paroi alvéolocapillaire. Les particules de 5à10µm sont piégées dans la partie supérieure de l'arbre respiratoire. Elles sont évacuées par les mouvements ciliaires et déversées dans le tube digestif ou elles peuvent être absorbées.

Globalement, on estime qu'environ un Tiers du Pb inhale est absorbé (**Winship, 1989; Gerhardsson et al, 1995, Seddik Leila, mai 2014**).

Le Pb modifie la biologie de la cellule en perturbant de nombreuses voies métaboliques et différents processus physiologiques ; il constitue par ailleurs un poison du système nerveux et peut provoquer des dommages irréversibles dans le développement de l'enfant (**Roeckx, 1986**). Cette neurotoxicité est due à la perturbation des mécanismes de libération de neurotransmetteurs, régulés par le Ca (**Godwin, 2001**). Les conséquences sont surtout marquées au cours de deux périodes critiques: la petite enfance car l'absorption de Pb est beaucoup plus importante qu'à l'âge adulte, et la vieillesse, car le Pb fixé dans les os est alors relargué dans le sang. Chez l'enfant, le Pb est à l'origine du saturnisme, maladie qui provoque des troubles de comportement avec un retard de développement mental et physique (**Chanel et al, 1999**).

Chez l'adulte, environ 10% du Pb ingéré est absorbé par l'organisme (USEPA, 1986) ; une fois dans le sang, le métal est rapidement mobilisé à plus de 95 % par les érythrocytes puis distribué dans tous les organes mous. il s'accumule ainsi dans le foie, les reins, le cerveau, le cœur et seuls 3% environ restent dans le plasma (Moore *et al.* 1977). En absence de voie d'excrétion significative, il se dépose à raison de 90% dans les os sous la forme de phosphates insolubles où il s'insère dans le réseau cristallin de L'hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}_2)$), le principal constituant du tissu osseux (Rabinowitz *et al.* 1976; Moore *et al.* 1977; Barry, 1978).

C'est d'abord l'existence d'intoxications massives chez les travailleurs professionnellement exposés au Pb qui a attiré l'attention sur ses effets délétères sur l'organisme humain et sur ses conséquences neuropsychiques (Bradbury et Deane, 1993). La nocivité du Pb et de ses composés dépend en grande partie de la concentration, mais aussi de la solubilité du produit (Mushak *et al.* 1998).

I-2-6- Toxicité du plomb et effet sur l'appareil génital mal

L'exposition au Pb peut entraîner des effets nocifs sérieux sur la santé, et peut même être mortelle à de fortes doses. Le plomb peut s'accumuler dans le corps, et son exposition, même à de très faibles doses, peut s'avérer dangereuse.

L'exposition chronique à ce métal a induit, chez les rats mâles, une baisse significative des poids absolus et relatifs du testicule, de l'épididyme, des vésicules séminales et de la prostate. Les accouplements entre mâles exposés au Pb pendant 90 j et femelles témoins ont fait apparaître une baisse du nombre moyen d'implantations. L'étude histologique des testicules a montré que les différents stades de la spermatogenèse étaient fortement perturbés. Les tubes séminifères apparaissaient vides et atrophiés et étaient séparés par des espaces interstitiels larges. La paroi séminifère montrait des zones sans cellules de Sertoli. (F. Gorbel *et al.*, 2002).

Parmi les perturbations signalées aussi dans l'histologie du testicule présence de lacunes ou méats au sein de la paroi de la gonade et la dégénérescence des cellules de Sertoli et atrophie du tissu interstitiel entre les tubes séminifères (absence des cellules de Leydig) ce qui signifie absence totale de la spermatogenèse . (Ait Hamadouche *et al.*, 2010).

Le Pb perturbe la spermatogénèse. Dans les populations humaines exposées ; une diminution du volume des éjaculats, la production de spermatozoïdes pour les groupes intoxiqués au plomb a varié de normale à sévère oligospermie (inférieure à 10^6 spz par ml) la motilité et le pourcentage de formes anormales des spermatozoïdes a été observée comparativement au groupe témoin.

Aussi lors d'une exposition chronique des rats au plomb révèlent une diminution importante et hautement significative du nombre des spermatozoïdes testiculaire une azoospermie (absence totale des spermatozoïdes) et une oligospermie (présence de spermatozoïdes en quantité anormalement faible) ont été observés chez les groupes d'expériences par rapport aux rats témoins. Ces anomalies semblent réversibles à l'arrêt de l'exposition. (**Ait Hamadouche et al, 2010**)

Le dosage radio-immunologique de la testostérone sérique a montré chez les rats traités une chute importante (60–80%) du taux de cette hormone, la concentration de testostérone a augmenté, pour finalement dépasser celle des témoins. Ce pic d'augmentation a ensuite disparu. (**F. Gorbel et al.,2002**).

Chapitre II

Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée durant 3 mois et s'est déroulée au niveau :

-Du laboratoire de Pharmacotoxicologie de l'unité ANBIOTICAL (SAIDAL de Médéa), pour l'admission journalière de l'acétate de plomb (250 mg/l group 2 et 500 mg/l group 3 pendant 3 mois) au souris mal et pour le prélèvement sanguin et les testicules.

-Du laboratoire de l'anatomie et cytologie pathologique de la Wilaya de Médéa pour l'étude histologique.

-Du laboratoire d'analyse médicales de la Wilaya de Médéa pour le dosage hormonal.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Animaux :

Les animaux utilisés proviennent de l'animalerie du laboratoire de pharmacologie toxicologie du complexe ANTIBIOTICAL (SAIDAL de Médéa), ayant libre accès à l'eau et la nourriture et acclimatés aux conditions d'élevage. Les animaux sont consignés dans le (**Tableau III**) en dessous :

Tableau III : Matériel animal issue de l'animalerie du groupe SAIDAL de Médéa

Animal	Souche	Nombre	Sexe	Poids	Alimentation
Souris	Albinos Swiss race N.M.R.I.	30 divisés en 3 lots	mâle.	Entre 20 et 25 g	Granules à base de maïs

(Saidal)

Pour réaliser les activités biologiques suivantes :

-le test de croisement des souris

-le dosage des hormones sexuel (LH-FSH-TESTOSTERONE)

-l'étude histologique des testicules

II.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique englobe toute la verrerie de laboratoire et les réactifs chimiques utilisés au sein de l'étude expérimentale et illustré dans (**Tableau VII / Annexe**).

II.2. Méthodes

II.2.1. L'exposition des cobayes au plomb (intoxication subchronique)

Les souris mal on été divisé en trois groupes ; chaque lot contient 10 souris

Groupes 1 : constitue le lot de témoins (T) reçoit de l'eau de physiologique.

Groupes 2: constitue le lot des souris exposés au plomb, reçoit chaque jour par gavage de l'acétate de plomb ($C_4H_6Pb_2H_2O$) solubilisé dans de l'eau de boisson (1ml/J) à raison de 250mg/l durant les 12 semaines.

Groupes 3 : constitue le lot des souris exposés au plomb, reçoit chaque jour par gavage de l'acétate de plomb ($C_4H_6Pb_2H_2O$) solubilisé dans de l'eau de boisson (1ml/J) à raison de 500mg/l durant 12 semaines (**figure 02-annexe**)

A la 12ème semaine d'expérimentation, les souris ont subi un test de croisement, a la fin de ce test un prélèvement sanguin a été réalisé après les animaux sont sacrifiés et les testicules prélevés, destinés pour l'étude histologique classique sont fixés dans le formol à 10%.

II.2.2. Test de croisement

Pour mettre en évidence les changements physiologiques acquis dans le pouvoir d'accouplement et le comportement sexuel des souris testés nous avons isolé les souris males des lots d'essai avec des femelles saines (sachant que les souris males ont été isolé et même les femelles témoin et n'ont aucun accouplement avant la réalisation du test) et nous avons suivi ainsi le nombre d'implantations et le temps nécessaire pour le premier rapprochement.

II.2.3. Prélèvements Sanguins

Des prélèvements sanguins ont été effectués après induction de la toxicité subchronique pour mettre en évidence un éventuel déséquilibre hormonal des hormones sexuel (LH- FSH – Testostérone) (**figure 03 –annexe**).

II.2.4.1. prélèvement des testicules

Après les sacrifices des cobayes par translocation cervicales et suivant les étapes de dissection (**figure 04-annexe**) ; un prélèvement des testicules était réalisé :

- Fixation de l'animal sur le dos à l'aide de 5 épingles enfoncées dans les pattes.
- A l'aide de la pince fine et des ciseaux, on a fait une boutonnière dans la peau de l'abdomen, un peu en avant de l'orifice urinaire, en coupant suivant l'axe proximo-distal.
- Engager la sonde cannelée dans la boutonnière, juste sous la peau, et, inciser le tégument suivant la ligne médiane jusqu'au voisinage de la bouche.
- Rabattre les volets cutanés vers l'extérieur et fixer l'ensemble à l'aide d'épingles.
- Réaliser une seconde boutonnière dans ta paroi musculaire de l'abdomen et inciser cette paroi suivant la ligne médiane.
- Prélèvement des testicules. (**figure 05-annexe**)

II.2.4.2. mesure pondérale des testicules

Après le prélèvement des testicules et avant les mettre dans le formol ; on les pesé à l'aide d'une balance électronique pour voir si la toxicité de plomb perturbe le poids de ces dernier. (**figure 06-annexe**)

II.2.4.3. Etude histologique

Afin d'étudier l'effet du plomb sur l'anato-morphologie des testicules on a réalisé une étude histologique dont on a suivi les étapes classiques de l'histologie

❖ Etape 1 : La macroscopie

Sous l'hotte ; au début on mesurée la taille de chaque testicules avant de divisé chacun deux on 2 et les placé dans des cassettes nommé après on les mettre dans l'appareil de déshydratation pendant 24 h qui comporte : * 7 bain d'alcool de 55% à 100% pour retiré l'eau du tissu * 2 bain de xylène pour remplacé l'eau * 2 bain de paraffine liquide (**figure 07-annexe**).

❖ Etape 2: Inclusion

Après 24 h, on dépose les cassettes dans une chambre chaude de paraffine après on mit le paraffine dans des blocs et on mit notre fragment a intérieure de ces bloc et les placés dans le congélateur (**figure 08-annexe**).

❖ Etape 3: Microtomie ou coupe histologique

Des que les blocs sont congelés on les démoule et on les découpe au moyen d'un microtome ; la mise au point et le dégrossissement pour débarrassage tous ce qui est paraffine jusqu'à l'obtention des rubans qui contient le prélèvement de 5 à 6 Mm.

- étalement des rubans sur la lame avec de l'eau distillé et séchage de ces derniers sur la plaque chauffante pendant 1 heure.

-mettre de tous les lames dans un panier (porte lame) et les mettre dans automate pour la coloration (**figure 09-annexe**).

❖ Etape 4 : La coloration

Pour la coloration, nous avons utilisé la technique à l'hématoxyline-éosine (HE), comportant

- Trois (3) bain de xylène 3 min pour chacun « le déparaffinage »
- Trois (3) bain d'alcool 3 min pour chacun « la réhydratation »
- Rinçage a l'eau distillé
- Le 1^{er} colorant Hématoxyline pendant 6 min pou coloré les noyau
- Rinçage a l'eau de robinet 2 à 3 min « rinçage du colorant »
- Passage bref a HCL 1% pendant 2 seconds
- Bain d'alcool pur pendant 2 min
- Carbonate de lithium 1% pendant de min
- Rinçage a l'eau de robinet
- 2em colorant Eosine pendant 12 min
- Rinçage a l'eau courant
- Rinçage dans 2 bains d'alcool pur pendant 2 min
- Nettoyage des lames par 3 bain de xylène 2 min pour chacun

age et observation microscopique (**figure 10-annexe**).

Chapitre III

Résultats et discussion

Remarque

A notes que les travaux de références de ce travail ont été réalisé sur des rats de souche wistar et nous par manque de moyen et de cobayes au lieux de stage nous avons effectué les tests sur des cobayes souris de souche Albinos Swiss race.

III.1. Le test de croisement

Le croisement entre les souris mal soumet à différents dose de plomb 250 mg et 500 mg chez le group 2 et 3 respectivement et les femelles saines a révélé les résultats suivants :

	Group 1: témoin	Group 2 : 250mg	Group 3 : 500mg
Le temps pour le 1 ^{er} rapprochement et accouplement	-5 seconds 1ers rapprochements -2 min 1 ^{er} implantation - plusieurs accouplements	- 7 min 1 ^{er} rapprochement -8 min 1 ^{er} implantation -au bout de 10 min il a fait 5 implantations	-10 min un seul rapprochement -aucun implantation ni accouplement remarquable

Tableau IV : Résultat de croisement des souris

Notre résultat a montré une baisse de pouvoir d'accouplement des deux groupes d'essai 1 et 2 par rapport au souris de lot témoin. Cette notion est conforme a l'étude De **F. Gorbel et al. (2002)** qui ont trouvé que croisements entre rats traités et femelles témoins ont mis en évidence une baisse du nombre moyen d'implantations par portée.

III.2. Mesure pondérale des testicules

Les poids des organes sexuels des deux groupes d'essai 1 et 2 ont retrouvé des valeurs normales, comparables à celles des souris témoins, suggérant qu'un processus d'adaptation s'est mis en place ; ces résultats sont identiques à celle de **F. Gorbel et al. (2002)**.

Les résultats sont représentés dans le **Tableau V** en dessous

	Group 1: témoin	Group 2 : 250mg	Group 3 : 500mg
Poids des testicules moyenne	13.53	13.77	12.70

III.3. Dosage hormonal

Les analyses des plasmas des échantillons sanguins ont été effectuées au niveau de laboratoire d'analyse médicale par l'automate.

Nous avons réalisé les prélèvements sanguin pour mettre en évidence les paramètres des hormones sexuelles des souris des trois lots (lot témoin et lot d'essai 1 et lot d'essai 2).

L'analyse a montrée que

- les souris témoins ont un dosage hormonal normal.
- L'administration de l'acétate de plomb a raison de 250 mg/l pendant 3 mois a provoqué une diminution du taux des hormones sexuelle (LH) et une chute de taux de Testostérone chez le lot d'essai 1.
- L'administration de l'acétate de plomb a raison de 500 mg pendant 3 mois a provoqué une diminution légère du taux des hormones sexuelles (LH et le Testostérone) chez le lot d'essai 2.

Les résultats sont représentés dans le **Tableau VI** suivant :

	LH (moyenne)	FSH (moyenne)	TESTOSTERONE (moyenne)
Souris du Lot témoin	0.394 UI/L	<0.100 UI/L	3.87 ng/ml
souris du lot d'essai1	0.374 UI/L	<0.100 UI/L	0.343 ng/ml
souris du lot d'essai2	0.375 UI/L	<0.100 UI/L	3.62 ng/ml

L'injection de l'acétate de plomb a provoqué une diminution des paramètres des hormones sexuelles et plus précisément une baisse du taux de testostérone chez le groupe d'essai 1 à 250mg/3 mois

Nos résultats sont proches de ceux de **F. Gorbel et al. (2002)/Ait Hamadouche et al. (2010)** qui ont observé que le dosage radio-immunologique de la testostérone sérique a montré chez les rats traités une chute importante (60–80%) du taux de cette hormone au cours des 45 premiers jours du traitement. Ensuite, malgré le traitement plombé, la concentration de testostérone a augmenté, pour finalement dépasser celle des témoins. Ce pic d'augmentation, plus précoce chez les rats de groupe d'essai 1, a ensuite disparu. Ces variations suggèrent la mise en place d'un phénomène d'adaptation, faisant intervenir des systèmes de rétrocontrôle hypophysaires. Une faible concentration de testostérone stimulant la production de LH par l'hypophyse (et donc celle de testostérone). Cette hypothèse est confirmée par le fait que les rats exposés à la plus faible concentration de Pb sérique montrent, au 90e jour de traitement, une tendance au retour à la normale des valeurs sériques de testostérone. Or, on sait qu'un excès de testostérone inhibe la production de gonadolibérine hypothalamique (GnRH) et donc celle de FSH et LH (et par conséquent la production de testostérone). Une adaptation des fonctions hormonales lors d'expositions de longues durées au Pb semble donc probable.

D'autant plus que nous avons observé que les organes sexuels retrouvaient un poids normal en fin de traitement de la même façon que pour le poids corporel, qui a montré une correction.

III.4. Etude histologique

L'étude histologique réalisée au niveau du testicule révèle une architecture normale chez les animaux témoins (groupe 1) ; des tubes séminifères serrés et des espaces interstitiels faibles avec une lumière remplie de spermatozoïdes ainsi qu'une succession cellulaire représentant une évolution normale de la spermatogenèse.

Nous observons les différents stades de la spermatogenèse qui se déroulent d'une façon centripète au niveau de la paroi des tubes. Les spermatogonies de petites tailles sont situées à proximité de la membrane basale. Les spermatocytes I et II de plus grandes tailles sont à noyaux volumineux et parfois en phase de division. Les spermatides plus petites sont situées vers l'intérieur des tubes. Les spermatozoïdes mûrs remplissent la totalité de la lumière des tubes séminifères par leurs flagelles.

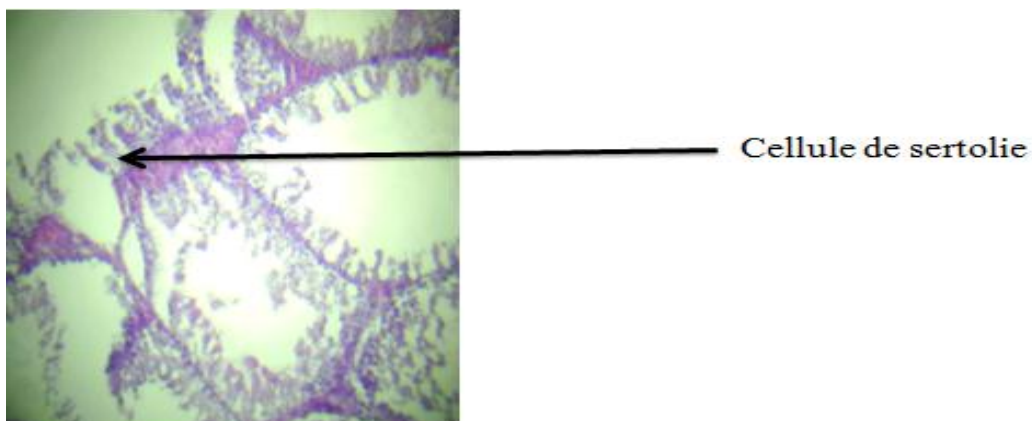


Figure 11: HE GX10: Aspect histologique d'un testicule normal témoin

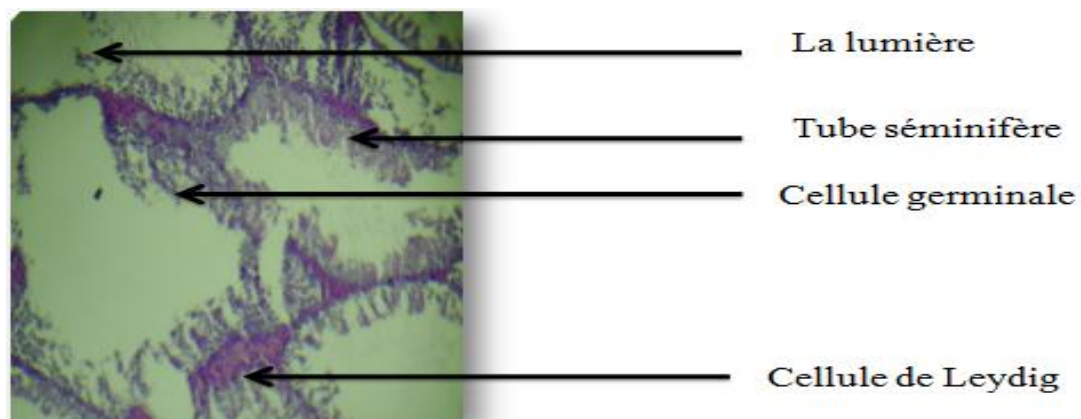


Figure 12: HE GX20: Aspect histologique d'un testicule normal témoin

L'analyse des coupes histologiques des testicules de souris intoxiquées au plomb montre :

- les perturbations signalées Chez les souris traitées à 250 mg/l
- Les différents stades de spermatogénèse sont touchés l'histologie du testicule montre une diminution du taux des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères qui ne contient que de quelques spermatozoïdes.
- Atrophie subtotal des tubes séminifères.
- Membrane basal épaisse hyalinisé.

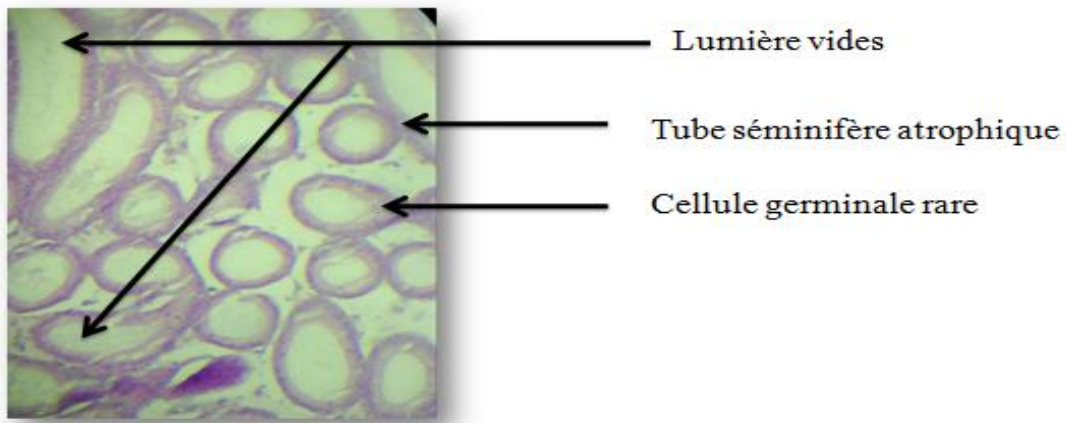


Figure 13: HE GX10: Atrophie testiculaire subtotale/ groupe 2:250mg

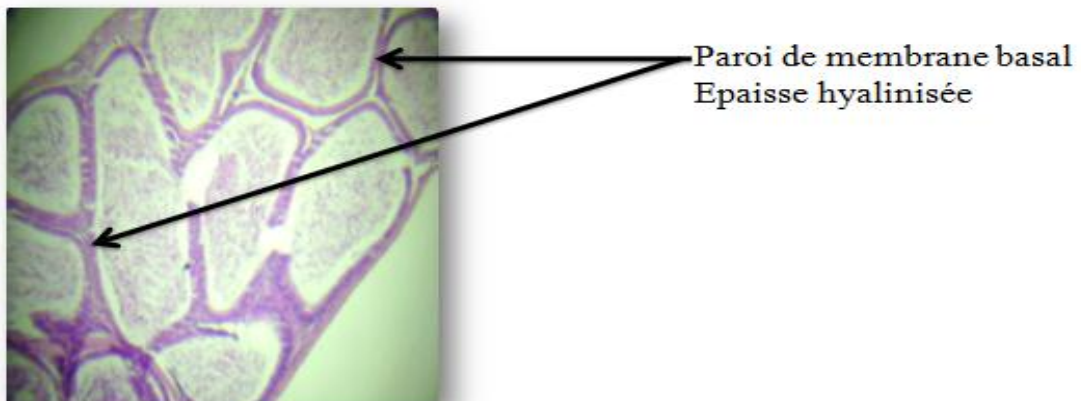


Figure 14: HE GX10: Atrophie testiculaire totale/ groupe 2:250mg

- Présence de calcification intra-canaulaire

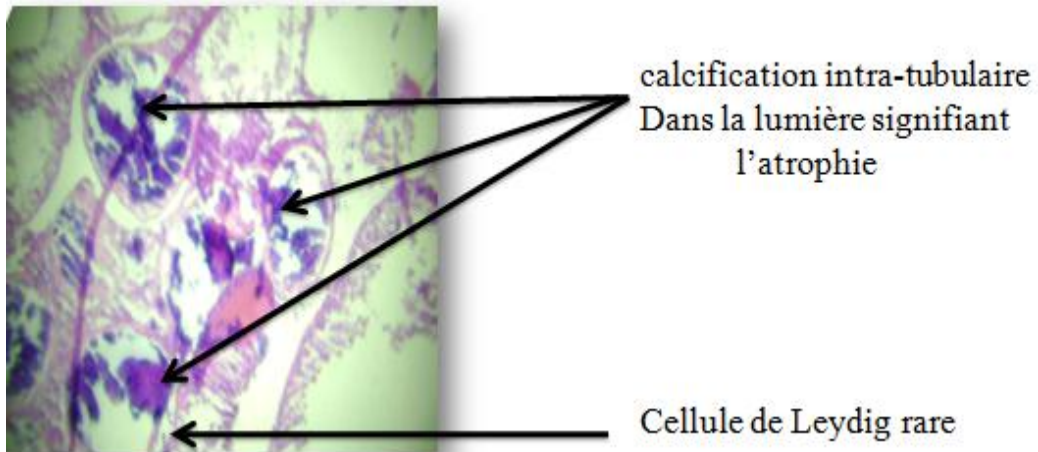


Figure 15: HE GX20: Atrophie testiculaire totale/ groupe 2:250mg

- Présence de cellules de Leydig et sertolie en amas

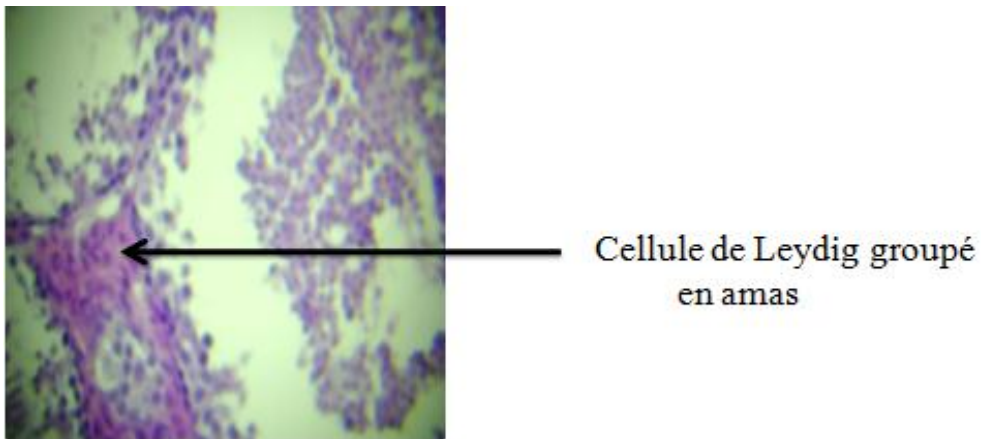


Figure 16: HE GX40: Atrophie testiculaire subtotale/ groupe 2:250mg

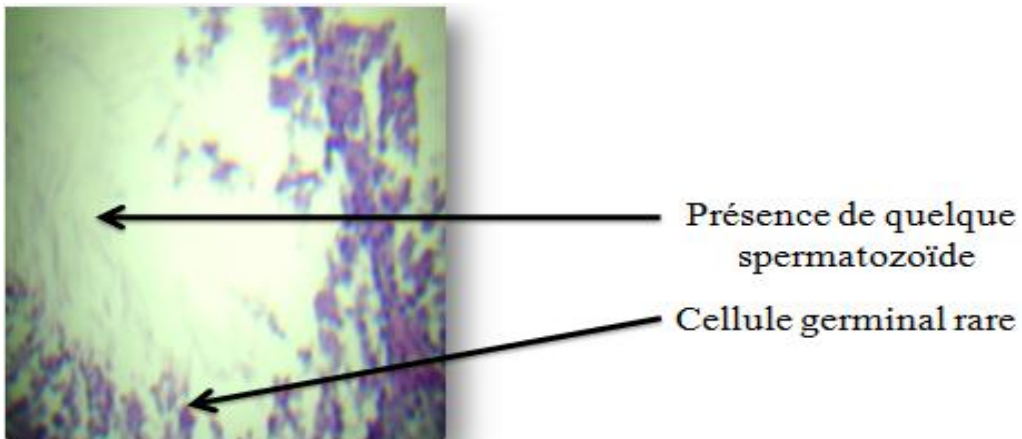


Figure 17: HE GX40: Atrophie testiculaire subtotale/ groupe 2:250mg

- les perturbations signalées Chez les souris traitées à 500 mg/l
- Nous observant une atrophie partielle et minime ; certaine tubes sont atrophié et d'autre renferme de spermatozoïde dans leur lumière.

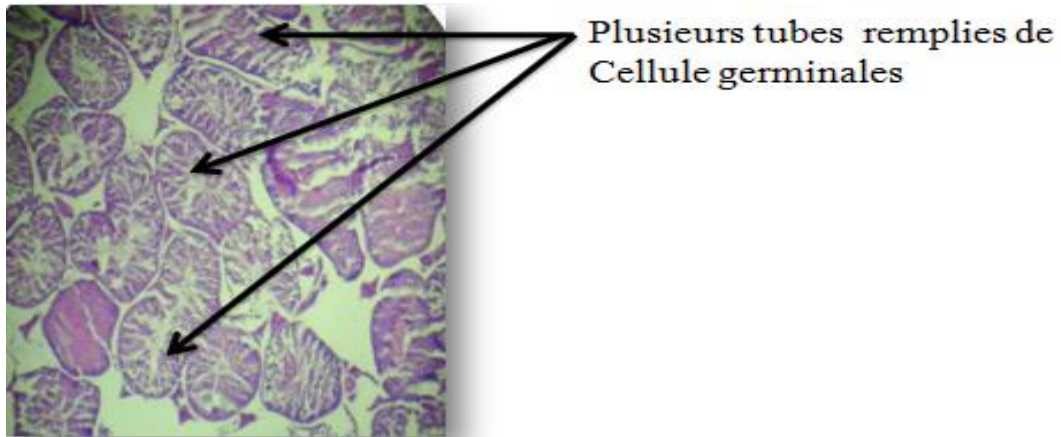


Figure 18: HE GX10: Testicule sub-normale / group 3: 500mg

- les cellules de Leydig sont rare et quelque sont dégénérés

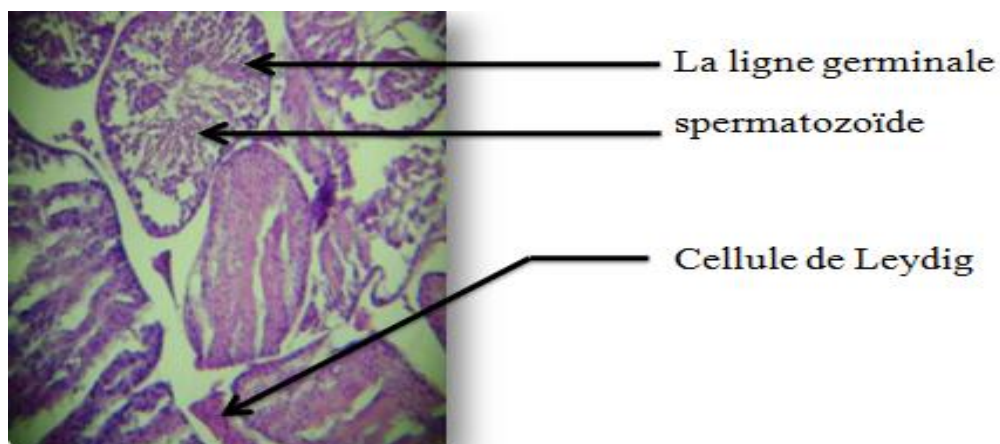
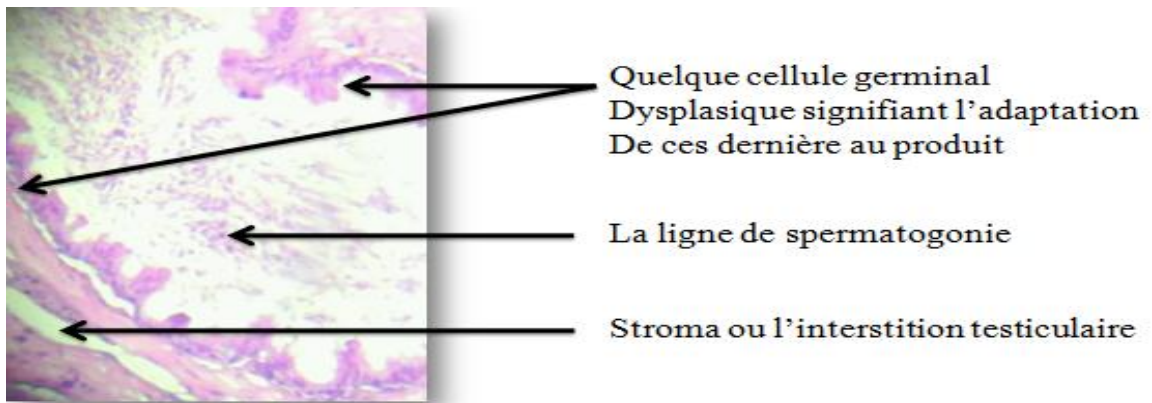


Figure 19: HE GX10: Testicule sub-normale / group 3: 500mg

- Certaine cellule de sertolie sont dégénérés

- Les cellules germinales de morphologie normale



**Figure 20: HE GX40: Testicule sub-normale – adaptation au produit/
group 3: 500mg**

- Absence de calcification

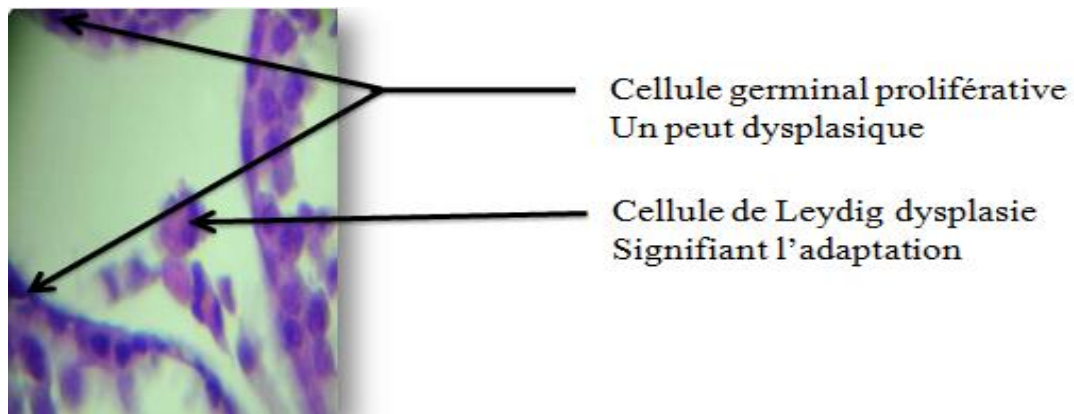


Figure 21: HE GX40: Testicule sub-normale / group 3: 500mg

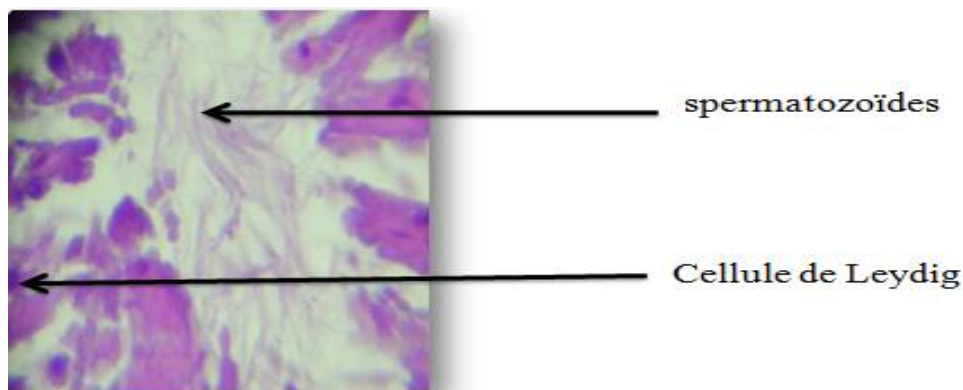


Figure 22: HE GX40: Testicule sub-normale / group 3: 500mg

Nos résultats obtenus sont pareil à ceux de **F.Gorbel et al. (2002)/ Ait Hamadouche et al. (2010)** qui ont trouvés que les testicules témoins sont constitués de tubes séminifères serrés, avec des espaces interstitiels étroits. Chez les animaux traités ces espaces sont plus larges et la moitié des tubes séminifères apparaissent vides et de diamètre réduit.

Au niveau de l'épithélium des tubes séminifères témoins , on observe les différents stades de la spermatogenèse, qui s'y déroule d'une façon centripète, avec des spermatogonies de petite taille en périphérie, des spermatocytes I et II de plus grande taille, avec des noyaux volumineux parfois en mitose, des spermatides plus petites, situées vers l'intérieur des tubes et, enfin, des spermatozoïdes mûrs, dont les flagelles remplissent la presque totalité de la lumière des tubes. Chez les animaux traités les différents stades de la spermatogenèse apparaissent fortement perturbés après 15 j de traitement pour groupe 3 et 45 j pour groupe 2. Parmi les perturbations observées, on note des spermatozoïdes sans flagelles ou une absence totale de spermatozoïdes et/ou des anomalies de structure de la paroi des tubes séminifères. Ces perturbations semblent persister jusqu'au 90e jour du traitement, malgré la correction hormonale signalée vers cette date. Toutefois, on note une amélioration histologique, mais qui reste partielle.

Adhikari et al (2000) ont observé in vitro que le Pb entraînait le détachement des cellules de Sertoli, des cellules germinales en co-culture, et pensent que cette action pourrait être à l'origine des perturbations de la spermatogenèse que l'on peut observer in vivo.

Parallèlement au blocage de la spermatogenèse, ils ont observé la présence de cellules de type apoptotique dès le 30e jour du traitement et jusqu'à la fin (90e jour) ; ces cellules sont caractérisées par un noyau à chromatine condensée et fragmentée. L'élimination des cellules germinales par apoptose intervient spontanément dans des conditions physiologiques normales, mais elle est augmentée lors d'altérations des testicules induites par des toxiques chimiques **Richburg J.H, (2000)** et sans doute par le Pb, comme le suggèrent nos premières observations.

Le mécanisme d'action du plomb sur les cellules interstitielles de Leydig sécrétrices de la testostérone n'est pas clairement établi. On peut supposer un effet cytotoxique du Pb, entraînant une chute de l'activité métabolique de ces cellules. **Thoreux et al (1995).**

et montré, in vitro et in vivo, que le Pb inhibait l'expression de certaines enzymes impliquées dans la biosynthèse des hormones stéroïdes.

- On note que 40% de population du chaque groupes d'essai 1 et 2 ont décédé au cours du période d'expérimentation a cause de l'effet toxique du plomb ce qui rend cette matière toxique une menace pour la vie des êtres vivant a des concentrations élevés.

Conclusion

La présente étude a porté l'évaluation des effets toxique du plomb sur l'appareil génital mal des souris.

Nos résultats montrent que le plomb administré d'une façon chronique par gavage chez les souris provoque des perturbations sexuelles caractérisées : diminution de pouvoir d'accouplement ; une perturbation de taux de concentration sérique de testostérone ; des anomalies au niveau de la plupart des tubes séminifères et un arrêt de la spermiogénèse qui vont être régulier a la fin de l'expérience a cause de rétrocontrôle hypophysaire.

Ce travail montre que, chez des souris adultes, une exposition chronique au Pb diminue la fertilité des souris et inhibe la maturation des cellules de la lignée germinale mâle.

les résultats sont en faveur d'un effet cytotoxique du Pb sur les cellules de Sertolie et Leydig.

D'après nos résultats, il semble donc que le plomb est à l'origine d'une double perturbation testiculaire. L'une est fonctionnelle, hormonale, elle est corrigée à la fin du traitement, alors que l'autre est organique, touche directement l'histologie testiculaire, et la cause directe de l'altération de certaines cellules de Sertoli et du blocage des derniers stades de la spermatogenèse, avec apparition de phénomène d'apoptose, et qui n'est pas corrigée.

Enfin, nous pouvons dire que l'acétate de plomb à un effet toxique en raison de ses effets délétères particuliers sur le système nerveux central. Il convient de réduire au maximum toutes les sources de pollution, tant au niveau de l'air que des apports alimentaires ; Il est souhaitable de limiter la teneur de cet élément dans les denrées alimentaires.

Références bibliographiques

- **A** -

- 1/ Adhikari .N , N. Sinha, D.K. Saxena, (2000).**Effect of lead on Sertoli-germ cell coculture of rat, *Toxicol. Lett.* 116 (2000) 45–49.
- 2/ AFNOR, (1988).**Prélèvement et dosage du plomb dans les aérosols. Paris-La Défense.
- 3/ Ait Hamadouche, Slimani .M, Aoues .AEK ,(2010).** 6^{ème} édition des Journées Interdisciplinaires de la Qualité de l'Air. Département de Biologie, Faculté des Science, Université Es Sénia Oran, Algérie.
- 4/Amdur .M.O, Doull .J ,Klaassen C.D. (1996) -** Lead. Casarett and Doull's Toxicology. New York, Mc Grawhill. 5th Ed.
- 5/Angell .N, Lavery. J, (1982).** The relationship of blood lead levels to obstetric outcome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 142 : 40-46.
- 6/Azar A, Trochimowicz H, Maxfield M, (1973).** Review of lead studies in animals carried out at Haskell Laboratory two year feeding study and response to hemorrhage study. In: **Barth D, Berlin, A, Engle, R, Recht, P, Smeets, J, (1972).** Environmental Health Aspects of Lead. Proceedings of an International Symposium, Amsterdam, The Netherlands.

- **B** -

- 7/ Barry. P, (1978).** Distribution and storage of lead in human tissues. in: *The biogeochemistry of lead in the environment.* pp. 97.
- 8/Bodek, I., Lyman, W. J., Reehl, W. F., and D.H. Rosenblatt, (1988).** *Environmental Inorganic Chemistry: Properties, Processes, and Estimation Methods.* SETAC Special Publication Series, B.T. Walton and R.A. Conway, editors. Pergamon Press. New York.
- 9/Boeckx R. 1986.** Lead poisoning in children. *Anal. Chem.* 58 : 275-285.
- 10/Bogden J, Oleske J, Louria D,(1997).** Lead poisoning one approach to a problem that won't go away. *Environ. Health. Perspect.* 105 : 1284-1287.
- 11/Boulkrah Hafida,(2008)** .étude comparative de l'adsorption des ions plomb sur différents adsorbants. Skikda
- 12/ Budvari, S., (1996).** The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologics. 12th Edn., Merck and Co. Inc., Whitehouse Station, New Jersey

13/Bradbury M, Deane R, (1993). Permeability of the blood-brain barrier to lead.

Neurotoxicol. 4: 131-136.

14/Bressler . J.P , Goldstein. G.W , (1991). Mechanisms of lead neurotoxicity. Biochem

Pharmacol 41, 479-484.

- C -

15/Carrier.P , Legros .R , Le Sidaner.A , Morel .A , Harry .P , Moesch .C , Sautereau .

D , Ly .KH, Loustaud-Ratti .V,(2012) .lead poisoning by fishing sinker ingestion Rev Med Interne : S0248-8663(13)00674-1.

16/Chanel .O, Dollus .C, Haguenoer J-M, Hartemann .P, Huel .G, Larroque .B, Lison .

D , Marret . S, Pinon-lataillade.G, Premont .J, De verneuil .H, Zmirou .D,(1999).Plomb dans l'environnement : quels risque pour la sante ; groupement de recherche en économie quantitative d'aix-marseille (greqam), cnrs umr 6579, marseille.

17/Chantal GRELLIER et Florence LESECQ, INSERM SC 14).

18/ Charles Thibault, Marie-Claire Levasseur, (2001). La reproduction chez les mammifères et l'homme

19/ CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer. (2006). Évaluation des risques de cancérogénicité pour l'Homme. Dérivés inorganiques et organiques du plomb. 87 : 5-12.

20/Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec(2004). Deuxième édition revue et augmentée Dépôt légal – Bibliothèque nationale du Québec, ISBN 2-551-22538-8.

- E -

21/El Feki .A, Ghorbel .F, Smaoui .M, Makni-ayadi. F, Kammoun. A,(2000). Effets du

plomb d'origine automobiles sur la croissance générale et l'activité sexuelle du rat. Gynécol Obstet Fertil 2000; **28**: 51-9.

- *F* -

- 22/ F. Gorbel , Manel Boujelbenea, Fatma Makni-Ayadib, Fadhel Guermazic, D.Françoise Croutee, Jean Pierre Soleilhavoue, Abdelfettah El Fekia,(2002). *Biologies* 325 927–940. © Académie des sciences / Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS.**
- 23/Flora .S.J , Kannan .G.M, Pant .B.P, Jaiswal .D.K, (2002). Combined administration of oxalic acid, succimer and its analogue for the reversal of gallium arsenide- induce oxidative stress in rats. *Arch Toxicol*; 76 (5-6): 269-76.**
- 24/ Florkin M, (1956). Aspects biochimiques communs aux êtres vivants: introduction à la biochimie générale des organismes. Masson, Paris pp.141.**

- *G* -

- 25/Galal-Gorchev. H, (1993). Dietary intake levels in food and esimated intake of lead, cadiumim and mercury. *Food additives and contaminants* 10 (1), 115-128.**
- 26/Gerhardsson .L , Englyst. V, Lundstrom .N.G, Nordberg. G, Sandberg .S, Steinvall .F, (1995) - Lead in tissues of deceased lead smelter workers. *J Trace Elem Med Biol*, 9, 3, 136-143.**
- 27/ Godwin .H, (2001). Synaptotagmin lis a Molecular Target for Lead. *Curr.Opin. Chem. Biol.* 5: 223-227.**
- 28/Gulson .B.L., Jameson C.W, Mahaffey. K.R , Mizon .K.J, Korsch. M.J, Vimpani G. (1997) - Pregnancy increases mobilization of lead from maternal skeleton. *J Lab Clin Med*, 130, 1, 51-62.**
- 29/Grandjean. P,(1975). Lead concentration in single hairs as a monitor of occupational lead exposure. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 42 : 69-81.**
- 30/Greenwood N, Earnshaw A, (1984). *Chemistry of the elements.* Pergamon Press, Oxford. pp. 248.**

- *H* -

- 31/ Hernberg .S, (2000) Lead poisoning in a Historical Perspective. *American journal of industrial medicine* 38:244-254**
- 32/ Holmes .MC,(1995). Identifying lead sources by x-ray fluorescence spectrum analysis. *J Tennessee Med Ass* 88: 191-192.**

- *J* -

33 /Jamie-Lincoln kitman, (2005).histoire secrète du plomb. France.

34/J.K. Barbalace, inc,(2012). EnvironmentalChemistry.com: Environmental, Chemistry & Hazardous Materials News, Careers & Resources, [En ligne].

<http://environmentalchemistry.com/yogi/periodic> (Page consultée le 14 janvier 2012).

35/ Joëlle Cohen-Tannoudji, Yves Combarous ; Florian Guillou, Frédérique Clément, Olivier Kah,(2015). GDR 3606 REPRO Production et équipe de direction.

- *K* -

36/Kobayashi N, Okamoto T, (1974). Effects of lead oxide on the induction of lung tumors in Syrian hamster. J. Natl. Cancer Inst. S2 : 160S-161 O.

37/Koller L, Kerkvliet N, Exon 1,(1986). Neoplasia induced in male rats fed lead acetate, ethyl urea and sodium nitrate. Toxicol. Pathol. 13 : 50-57.

- *L* -

38/Lauwerys. R, (1990). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, 3e édition,

Masson, Paris.

39/Larrabee.G.J .(1998).somatic malingering on the MMPI and MMPI-2 in personal injury litigants .7 clinical neuropsychologist,12,179-188.

- *M* -

40/Mathee.A, Khan .T , Naicker .N, Kootbodien .T , Naidoo .S, Becker .P,(2013).Lead exposure in young school children in south African subsistence fishing communities . pii : S00139351 (13)00107-2. Doi : 10.1016/j.envers.2013.05.009.

41/Meecker. J.D, Rossano. M.G, Protas .B, Diamond. M.P, Puscheck. E, Dal. D, Paneth. N, Wirth .J.J, 2008. Cadmium, Lead, and Other Metals in Relation to Semen Quality: Human Evidence for Molybdenum as a Mal. Environmental Health perspective ; **116:** 1473-1479.

42/Merhi Maysaloun ,(2008). Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. L'université de Toulouse.

43/Mikalsen S, (1990). Effects of heavy metal ions on intercellular communication in Syrian hamster embryo cells. Carcino. II : 1621-1626.

44/Miquel, M. G, (2001). Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, Rapport 261, Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques, 365p/

45/Moore .R, Campbell B, Goldberg A,(1977). The Chemical Environment. Academic Press. New York. 6 : 64.

46/Moore.M.R, Meredith.P.A, Watson.W.S., Sumner, D.J, Taylor.M.K, Goldberg. A,(1980). The percutaneous absorption of lead-203 in humans from cosmetic preparations containing lead acetate, as assessed by whole-body counting and other techniques. Food Cosmet. Toxicol., 18: 399 .

47/Morel .J.L , Schwartz .C, (1999). Qualité et gestion des sols des jardins familiaux .

C.r Acad . Agric .Fr.,85,2,p. 103-104.

48/Mushak .P, Crocetti .A, (1998). Methods for reducing lead exposure in young children and other risk groups. pp. 125-135.

- *N* -

49/Nriagu. J.O , Moore .P.B, 1984. Phosphate minerals Springer –Verlag, New-York.

- *O* -

50/OMS, 1995 (Organisation mondiale de la Santé).

- P -

51/Poirier L, Theiss J, Arnold L, Shinkin M, (1984). Inhibition by magnesium and calcium acetate of lead subacetate-and nickel acetate-induced lung tumors in strain A mice. *Cano Res.* 44 : 1520-1522.

- U -

52/USEPA : United States Environmental Protection Agency. 1986. Air quality criteria for lead. Research Triangle Park, North Carolina, Office of Research and Development, Office of Health and Environmental Assessment. Environmental Criteria and Assessment. Report No. EPA 600/8-83-028F.

- R -

53/ Rabinowitz .M, Wetherill .G, Kopple J (1976). Kinetic analysis of lead metabolism in healthy humans. *1. Clin. Invest.* 58: 260-270.

54/ Richburg. J.H, (2000) .The relevance of spontaneous and chemically-induced alterations in testicular germ cell apoptosis to toxicology, *Toxicol. Lett.* 112–113 (2000) 79–86.

55/Roy.A, D.Bellinger, H. Hu, J.Schwartz, A.S.Ettinger, R.O.Wright, M.Bouchard, k.Palaniappan, k. Balakrishnan, (2009). Lead exposure and behavior among young children in Chennai, India. *Environ Health Perspect*117:1607-1611.

- S -

56/Seddik Leila,(mai 2014).Evaluation de l'effet protecteur de l'extrait de feuilles d'olive (*Olea europea*) Chez les rats intoxiqués à l'acétate de plomb au niveau cérébral et du cartilage osseux. Approche neurocomportementale, biochimique et immunohistochimique .Oran.

57/Pr Samir Ben Youssef ; Dr Jamel Belguith, (2013-2014). Ecole national de médecine vétérinaire Sidi Thabet.

- *T* -

58/Taylor. A (1986) . Metabolism and toxicology of lead. Rev Environ Health; 6: 1–83.

59/ Thoreux-Manlay.A, J.-F. Vélez De La Calle, M.-F. Olivier, J.-C. Soufir, R. Masse, G ,(1995) Pinon-Lataillade, Impairment of testicular endocrine function after lead intoxication in the adult rat, Toxicology 100 101–109.

60/Todd A, Wetmur J, Moline J, Godbold J, Levin S., Landrigan P,(1996). Unraveling the chronic toxicity of lead: an essential priority for environmental health. Environ. Health. Perspect. **104**: 141-146.

- *W* -

61/Waalkes M, Diwan B, Ward J, Devor D, Goyer R. 1995. Renal tubular tumors and atypical hyperplasias in B6C3F1 mice exposed to lead acetate during gestation and lactation occur with minima! chronic nephropathy. Cancer.Res. 55 : 5265-5271.

62/Walter P, Martinetto G, Tsoucaris R, Breniaux M, Lefebvre A, Richard G, Talabot J, Dooryhee E, (1999). Making make-up in Ancient Egypt. Nature. 397 : 483-484.

63/Winship. KA, (1989).Toxicity of lead: a review. Adv Drug React; 8: 117–152.

64/Wittmers L, Aufderheide A, Rapp G, Alich A, (2002). Archaeological contributions of skeletal lead analysis. Acc. Chem. Res. 35 : 669.

Annexes

Annexes

Annexe I : Appareillage, verrerie, accessoires, réactifs...

Tableau VII : Matériel non biologique

<p>I. Appareillage:</p> <ul style="list-style-type: none">• Appareil de déshydratation• Automate.• Balance électrique.• Congélateur.• Distributeur de paraffine.• Hotte.• Microscope.• Microtome.• Plaque chauffante.	<p>II. Outils de laboratoire :</p> <ul style="list-style-type: none">• les aiguilles.• les blocs.• les cassettes.• les ciseaux : forts, fins et ophtalmique.• les épingles.• Gants.• les lames.• Panier (porte lame)• les pinces : fortes et fines.• la sonde cannelée.• Sondes de gavage.• Tubes à essais
<p>III. Réactifs et produits chimiques :</p> <ul style="list-style-type: none">• Acétate de plomb.• Alcool pur.• Carbonate de lithium.• Paraffine.• Eau distillée H₂O.• Ether et méthanol.• Hcl.• Hématoxyline.• Xylène.	

Annexe II : Résultats d'analyse de dosage hormonal

		LH	FSH	Testostérone
Lot témoin	Cobaye 1	0.419 UI/L	<0.100 UI/L	4.11 ng/ml
	Cobaye 2	0.390 UI/L	<0.100 UI/L	3.96 ng/ml
	Cobaye 3	0.373 UI/L	<0.100 UI/L	3.54 ng/ml
Lot d'essai 1 à 250 mg	Cobaye 1	0.379 UI/L	<0.100 UI/L	0.296 ng/ml
	Cobaye 2	0.381 UI/L	<0.100 UI/L	0.361 ng/ml
	Cobaye 3	0.362 UI/L	<0.100 UI/L	0.372 ng/ml
Lot d'essai 2 à 500 mg	Cobaye 1	0.395 UI/L	<0.100 UI/L	3.77 ng/ml
	Cobaye 2	0.372 UI/L	<0.100 UI/L	3.90 ng/ml
	Cobaye 3	0.358 UI/L	<0.100 UI/L	3.19 ng/ml

Annexe III : Résultats de mesure pondérale

Les lots		Poids des testicules (x 10) en mg
Lot témoin	Cobaye 1	13.65
	Cobaye 2	13.41
Lot d'essai 1 à 250 mg	Cobaye 1	13.90
	Cobaye 2	13.64
Lot d'essai 2 à 500 mg	Cobaye 1	13.02
	Cobaye 2	12.38

Figure01 : tableau périodique

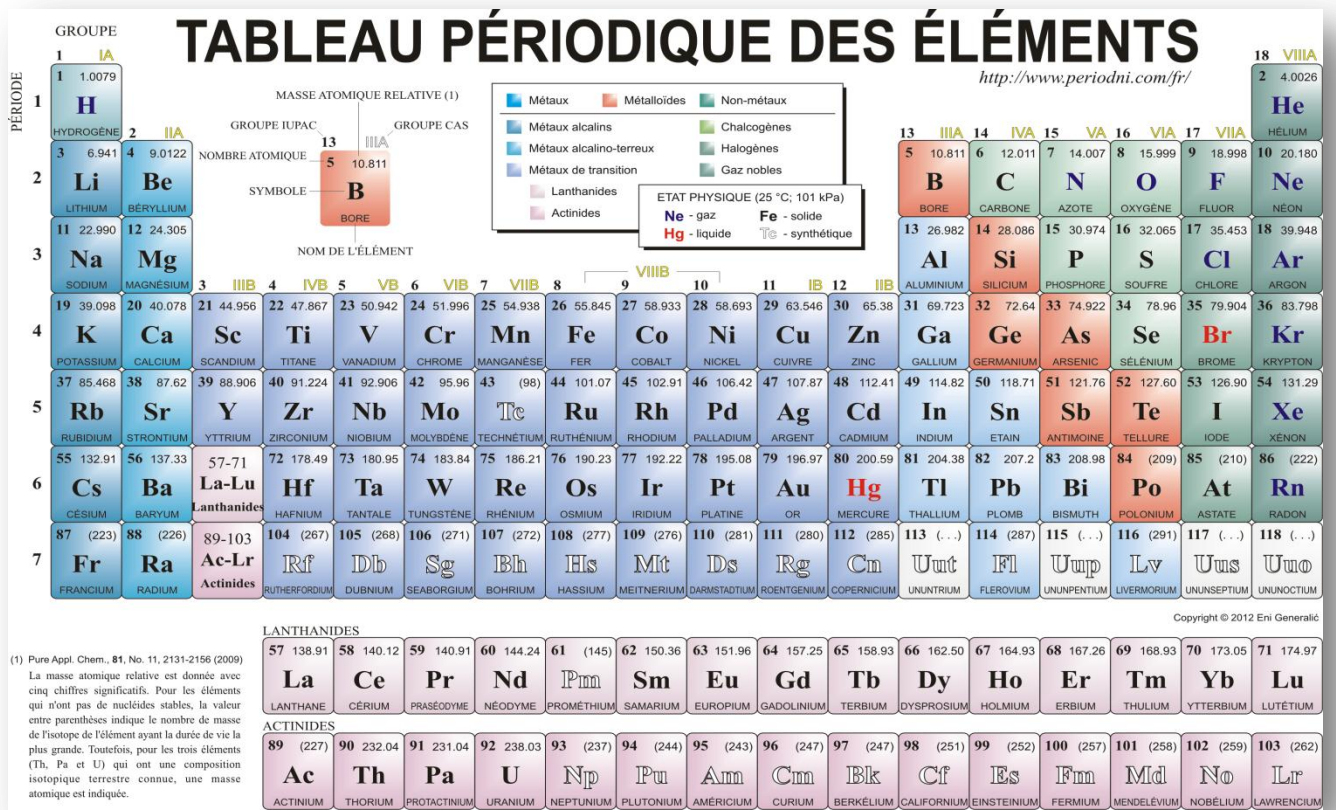


Figure 02: gavage des souris par l'acétate de plomb



Figure 03 :prélèvement du sang



Prélèvement du sang par ponction rétrobulbaire

Figure 04 :les étapes de dissection



figure 05 :prélèvement des testicule

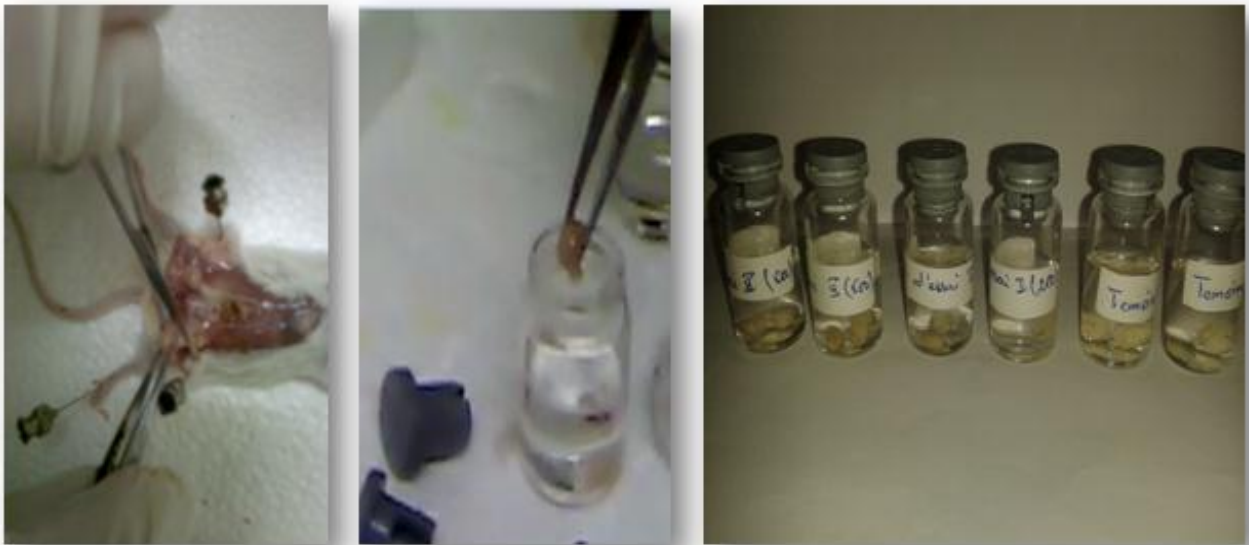


figure06 : mesure pondérale des testicules

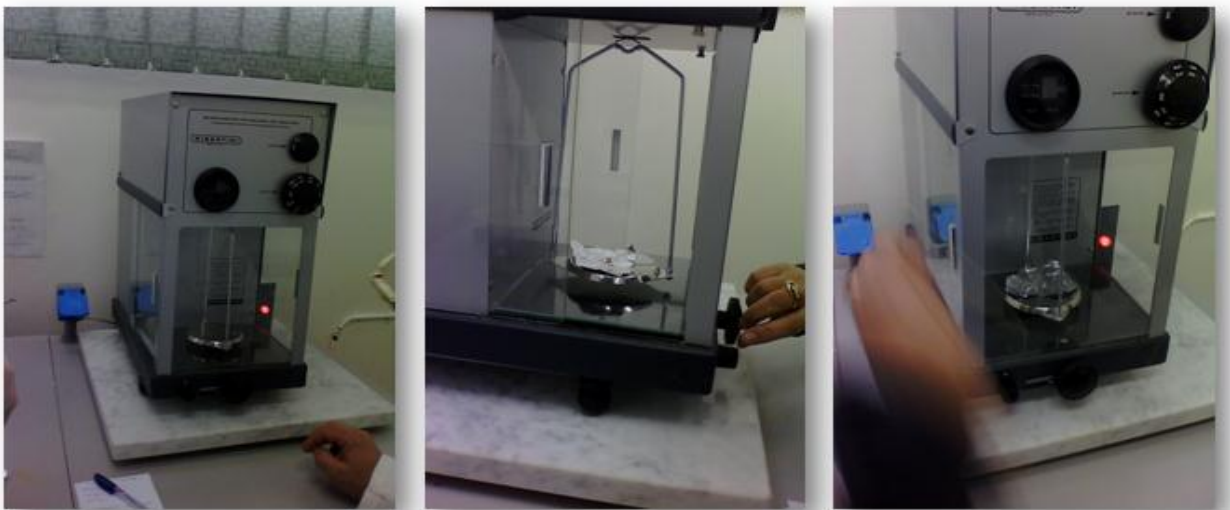
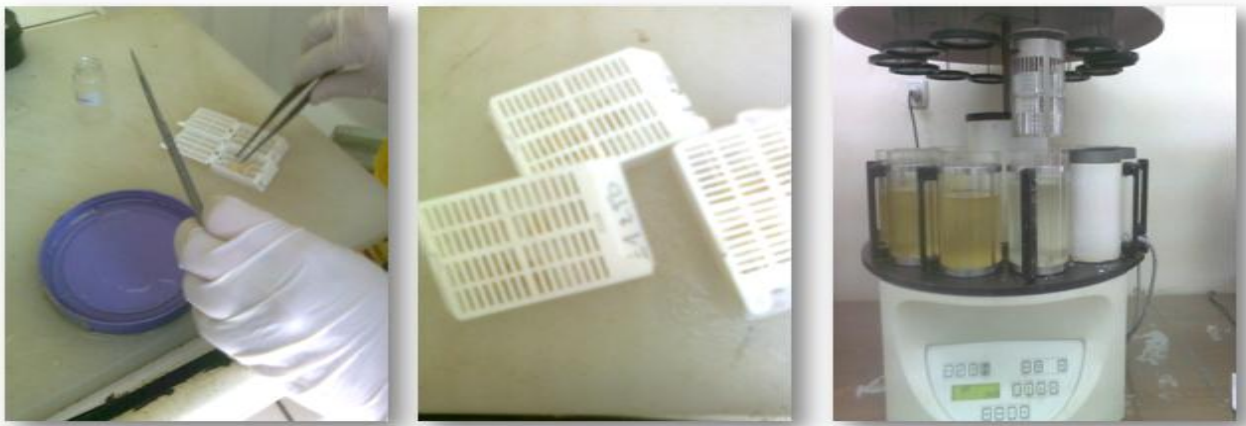


figure 07 : les étapes de la macroscopie



Les différents étapes de la macroscopie

figure 08 :les étapes de l'inclusion



Les différents étapes de l'inclusion

figure 09 :les étapes de la microtomie



figure 10 :coloration et observation

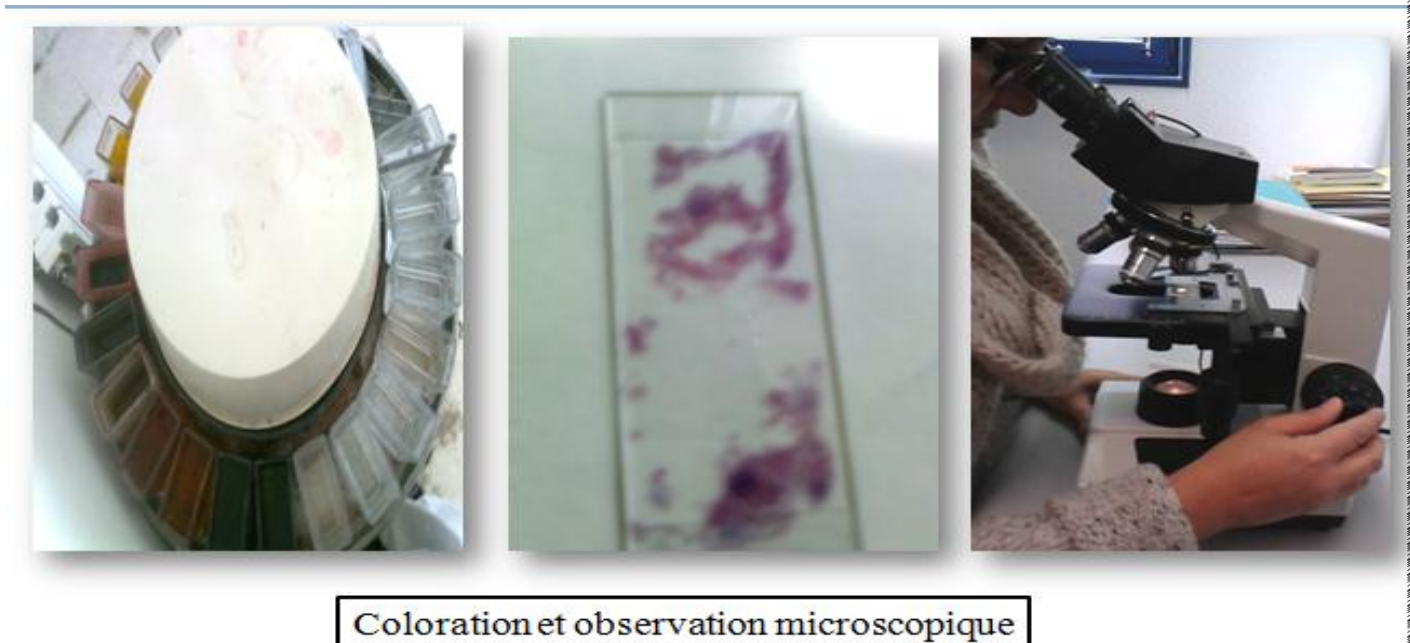


Figure 23: Outil de laboratoire



Sonde de gavage



Matériel de dissection

Figure 24: appareil de laboratoire



Automate de coloration



microtome



Appareil de déshydratation

Figure 25: Accouplement des souris



Accouplement des souris témoins après la 7^{ème} seconde



Accouplement des souris de lot a 250 mg après la 7^{ème} minute