

# **Impact de l'exposition chronique aux gaz d'échappement d'origine automobile sur certains biomarqueurs touchant la fonction hormonale sexuelle mâle, la fonction rénale et l'hémogramme chez le rat**

## **Impact of chronic exposure to gasoline automotive exhaust gases on some biomarkers affecting the hormonal sexual function, the kidney function and blood parameters, in the rat**

Maha SMAOUI\*, Fatma GHORBEL\*, Manel BOUJELBENE\*,  
Fatma MAKNI-AYADI\*\*, Abdelfattah EI FEKI\*

### **Résumé**

Les gaz d'échappement des véhicules automobiles constituent une importante source de pollution urbaine. L'objectif de cette étude est de mettre en évidence, chez le rat, les effets en fonction du temps, d'expositions répétitives aux gaz d'échappement d'un moteur à essence, sur la variation de certains biomarqueurs touchant la fonction hormonale sexuelle mâle, la fonction rénale et l'hémogramme.

Deux cents jeunes rats inhalant un mélange d'air et de gaz d'échappement (10/1 v/v) d'automobile à essence super plombée, sont répartis en quatre groupes subissant le traitement durant 15, 30, 45 et 60 jours. Ils sont comparés à des témoins non traités.

Les résultats montrent une baisse du taux de la testostérone sérique chez les rats exposés aux gaz d'échappement. Cette baisse est à l'origine d'une stérilité masculine déjà démontrée dans notre laboratoire au cours d'un travail antérieur (histologie testiculaire et expériences d'accouplement). Cette stérilité est réversible parce que les rats pollués retrouvent leur activité sexuelle normale deux mois après arrêt du traitement polluant. Une augmentation du taux de monoxyde de carbone sanguin, avec accumulation du plomb au niveau du sang et de la queue est signalée chez ces rats. Les analyses biochimiques montrent que la glycémie, la créatinémie et l'urée sanguine augmentent chez les rats traités. La créatininurie baisse. Ceci témoigne d'une atteinte rénale. Elles montrent de même chez les rats traités, par comparaison aux témoins, une augmentation du nombre des globules rouges, de l'hématocrite, du taux sanguin d'hémoglobine et du VGM, et une baisse de la CGMH. Le monoxyde de carbone et le plomb détectés dans le sang de ces animaux sont à l'origine de ces perturbations hématologiques.

En conclusion, nos résultats montrent que les gaz d'échappement d'automobile à essence induisent chez le rat une baisse du taux de testostérone sérique. Le monoxyde de carbone et le plomb présents dans les gaz d'échappement, et détectés au niveau du sang et de la queue des animaux exposés à ces polluants, sont à l'origine de perturbations sexuelles, rénales et hématologiques.

\* Laboratoire d'Écophysiologie animale, Faculté des Sciences, Sfax 3018, Tunisie, BP 802.

\*\* Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine, Sfax, Tunisie.

### Abstract

The automotive exhaust gases constitute an important source of urban pollution. The objective of this study is to explore, in the rat, the effects of repetitive exposure to gasoline automotive exhaust gases on the level variations of serum testosterone, blood lead, bone lead, blood carbon monoxide, on the kidney function and blood parameters.

200 rats inhaling a mixture of air and automotive exhaust gas (10/1, v/v), are distributed in 4 groups treated during 15, 30, 45 and 60 days. They are compared to non treated controls.

Our results show a decrease of serum testosterone level. This result is the origin of a masculine sterility already demonstrated in our laboratory. This sterility seems to be reversible because polluted rats regain their sexual activity, 2 months after stopping of the pollutant treatment. An increase of the blood carbon monoxide level with a lead accumulation in blood and in the tail is noticed. Biochemical analyses show that glycaemia, urea, and creatininaemia increase in treated animals. The urinary rate of creatinine decreases. These results indicate kidney deficiency. Our results show also in treated animals an increase of the number of red blood corpuscles, of hematocrit, of the blood level of haemoglobin and of the VGM, and a decrease of the CGMH. The carbon monoxide and the lead detected in blood of the treated animals are the origin of these perturbations.

In conclusion, our results show that gasoline automotive exhaust gas induces, in the rat, a decrease of serum testosterone level. The carbon monoxide and the lead present in the exhaust gas, and detected in blood and in the tail of the treated animals, are the origin of sexual, kidney and blood parameters perturbations.

### Introduction

La pollution atmosphérique pose actuellement un problème de santé à ne pas nier. Les sources des contaminants atmosphériques proviennent des activités industrielles, du transport et de l'utilisation de combustibles fossiles à des fins énergétiques. Ces polluants sont concentrés essentiellement en milieu urbain et sont susceptibles d'affecter la santé et de diminuer la qualité de vie des citoyens [1, 2]. L'organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 70 % des citoyens à travers le monde respirent un air malsain, du moins à certains moments, tandis que 10 % inhalent un air dont la qualité est à la limite de l'insalubrité.

Beaucoup d'études indiquent aussi une baisse du nombre et de la qualité des spermatozoïdes humains au cours des 20 dernières années. Il semble par ailleurs que la pathologie de l'appareil reproducteur mâle se multiplie [3, 4]. D'une manière concomitante, de nombreuses études expérimentales ont suggéré l'effet nocif, sur la fonction sexuelle, de nombreux facteurs toxiques présents dans notre environnement, on peut citer notamment le cadmium [5], le nickel [6], le vanadium [7], le manganèse [8], le plomb [9], le tabac [10], les pesticides [4], etc.

Au cours de travaux antérieurs [11-18], nous avons aussi montré que l'inhalation d'un air pollué par des gaz d'échappement d'origine automobile par de jeunes rats mâles et femelles induit une baisse de la croissance corporelle, une hypertrophie surrénalienne et cardiaque, et une augmentation de l'hématocrite dans les deux sexes. Une infertilité masculine caractérisée par une atrophie des testicules, des épидидymes, des vésicules séminales et de la prostate est signalée. L'histologie de ces testicules atrophiés a montré une azoospermie avec rétraction des tubes séminifères. Chez les rates, l'activité sexuelle n'a pas

montré de variation. Les poids relatifs des ovaires et de l'utérus, ainsi que les stades sexuels déterminés par frottis vaginaux restent inchangés chez les rates traitées par rapport aux témoins. L'infertilité masculine a été vérifiée par des accouplements réciproques entre rats mâles et rates traités ou non. La nature du ou des produits actifs présents dans les gaz d'échappement et qui sont responsables de ces perturbations, ainsi que leur mécanisme physiologique d'action ne sont pas encore clairs. Le monoxyde de carbone et le plomb présents dans le gaz d'échappement pourraient être à l'origine de ces perturbations [19-21].

L'objectif de cette étude est d'éclaircir ces problèmes. Nous nous sommes intéressés à certains biomarqueurs tels que la testostérone sérique, la plombémie, le plomb osseux, le monoxyde de carbone, et à certains paramètres biochimiques sanguins et urinaires chez des jeunes rats mâles et femelles soumis aux gaz d'échappement.

### Matériel et méthode

#### Animaux

Nous avons utilisé 200 rats mâles et femelles de souche *Wistar* de  $43 \pm 3$  g, impubères et âgés de 20 jours. L'animalerie, maintenue à presque 22 °C, est munie d'un système électrique contrôlant les périodes d'obscurité (10 h) et de lumière (14 h). Les animaux ont accès ad libitum à l'eau et à la nourriture (bouchons à 1 % de protéines, SICO, Sfax, Tunisie).

#### Agent toxique

Nous avons réparti les animaux en témoins (T) et traités aux gaz d'échappement (GE) durant 15, 30, 45 et 60 jours. Ces derniers sont exposés chaque

matin et durant 30 minutes à un mélange d'air et de gaz d'échappement émanant d'un moteur de voiture à essence plombée (puissance 5 chevaux, âgée de 10 ans, régime 844 tours/min). Pour cela ils sont introduits dans un dessiccateur en verre transparent de 10 litres de volume, avec un disque à porcelaine émaillée à petits trous sur lequel sont mis les animaux, et un couvercle rodé à plat muni d'un robinet. Un litre de gaz d'échappement récolté dans un ballon approprié est introduit par le robinet. Pendant l'exposition, les rats s'agitent au début puis entrent en somnolence avec accélération du rythme respiratoire. L'analyse de ces gaz d'échappement réalisée par le service des mines de Sfax a montré la composition suivante : hydrocarbures : 409 ppm, dioxyde de carbone : 7,58 %, monoxyde de carbone : 1,09 %, oxygène : 0,14 %.

À l'intérieur du dessiccateur, la teneur en monoxyde de carbone est déterminée au début de l'expérience (0,12 %, soit 1 200 ppm) et à la fin, c'est-à-dire 30 minutes après (120 ppm).

L'atmosphère utilisée pour cette étude est un gaz d'échappement dilué presque 10 fois.

### Prélèvement des échantillons

Les prélèvements sanguins se font soit par ponction cardiaque sur EDTA pour la détermination de l'hémogramme, soit par décapitation rapide et le sang artérioveineux est recueilli, soit sans anticoagulant puis centrifugé, pour la détermination des taux de testostérone et de créatinine sériques ; soit sur héparine, pour le dosage du plomb et du monoxyde de carbone sanguins, soit sur EDTA puis centrifugé, pour la mesure des taux de glucose et d'urée plasmatiques. Tous les prélèvements se font entre 8 h et 10 h du matin pour éviter les variations dues au rythme nycthéral. Les témoins sont sacrifiés les premiers, les rats traités 20 minutes après l'exposition au gaz d'échappement.

Juste avant le sacrifice, les urines sont collectées sur papier aluminium, pour la détermination de la créatininurie. Tous les échantillons sont stockés à - 20 °C en attendant les dosages.

Les queues des animaux sacrifiés sont coupées puis maintenues pendant 48 h dans une étuve à 80 °C. Elles sont destinées à la minéralisation et au dosage du plomb accumulé.

### Dosages hormonaux et biochimiques

#### Testostérone sérique

Le taux de testostérone sérique est déterminé par la technique immuno-enzymatique ELISA, qui est basée sur le principe de la compétition. L'antigène à doser (testostérone de l'échantillon) et l'antigène marqué par une enzyme (testostérone marquée à la POD) sont ajoutés simultanément à une quantité donnée d'anticorps (antitestostérone marquée à la biotine) fixée à la streptavidine, elle-même préalablement fixée à la paroi interne des tubes. Après

homogénéisation et incubation, la fraction libre est séparée par lavage. La fraction liée, fixée à la paroi des tubes, est colorée par un substrat chromogène puis mesurée par un lecteur photométrique. La quantité de la fraction liée est inversement proportionnelle à la concentration de la fraction non marquée libre ajoutée, c'est-à-dire la testostérone de l'échantillon à doser. La détermination de cette concentration est faite en se référant à une courbe d'étalonnage préparée parallèlement avec des solutions connues de testostérone.

#### Plomb au niveau du sang et de la queue

Il est déterminé après minéralisation liquide par spectrophotométrie d'absorption atomique à effet Zeeman Z-6100 (Hitachi) à une longueur d'onde de 283,8 nm. La minéralisation est faite dans des ballons Kjeldahl à l'aide d'une rampe à fourche, et en présence d'un mélange nitro-perchlorique (2v/1v). La détermination du taux de plomb est faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage à partir de solutions titrées de plomb. Les réactifs et les matériels utilisés au cours de ce protocole expérimental sont testés à l'aide d'échantillons « blancs » subissant les mêmes étapes de traitement.

#### Glucose plasmatique

Il est déterminé par méthode enzymatique à la glucose oxydase (Kit Bio Maghreb, lot n° D51).

#### Urée plasmatique

Le dosage de l'urée est effectué par méthode enzymatique à l'uréase (Kit Bio Maghreb, réf. 2011, lot n° 601).

#### Créatinine sérique et créatinine urinaire

Le principe est basé sur la réaction de Jaffé. Après déprotéinisation sulfotungstique, la créatinine réagit avec le picrate en milieu alcalin pour donner une coloration jaune orangé, évaluée au spectrophotomètre à 510 nm (Coffrets Merck, A 022812 et 024846).

#### Monoxyde de carbone sanguin

Le monoxyde de carbone est dosé sur 2 ml de sang total selon la technique colorimétrique de Conway (1950) utilisant des cuves à microdiffusion (Stolman et Stewart, 1960). Le palladium est réduit par le CO sanguin libéré par l'acide sulfurique puis dosé à 500 nm en présence d'iodure de potassium.

#### Hémogramme

L'hémogramme est réalisé le jour même du prélèvement à l'aide d'automates électroniques : Coulter type 5880 et Coulter Maxem. L'hémogramme comporte la numération globulaire (globules rouges et blancs, et plaquettes), le dosage de l'hémoglobine sanguine, la détermination de l'hématocrite et des constantes érythrocytaires, c'est-à-dire le VGM (volume globulaire moyen), la CGMH (concentration globulaire moyenne)

en hémoglobine), et la TGMH (teneur globulaire moyenne en hémoglobine).

#### Exploitation des résultats

L'exploitation des résultats est effectuée à l'aide du test *t* de Student-Fischer [22].

### Résultats

#### Variation du taux de testostérone sérique

La figure 1 montre une diminution statistiquement significative du taux de testostérone sérique chez les rats traités par rapport aux témoins. Cette diminution est signalée à partir du 30<sup>e</sup> jour de traitement. Ces résultats montrent que la fonction endocrine testiculaire est touchée par notre polluant au même titre que la fonction exocrine déjà signalée précédemment [11-18]. Reste à vérifier si le gaz d'échappement agit directement sur les cellules interstitielles testiculaires responsables de la sécrétion de la testostérone ou bien par l'intermédiaire des gonadostimulines hypophysaires et des releasing factors centraux.

Deux mois après arrêt du traitement chronique, le taux de testostérone sérique remonte pour rejoindre celui des témoins. La défaillance hormonale testiculaire induite par l'intoxication aux gaz d'échappement est réversible (Tableau 1, ci-contre).

#### Variation de la plombémie

D'après nos résultats (Figure 2, ci-contre), l'exposition chronique aux gaz d'échappement pendant 15, 30, 45 et 60 jours induit une augmentation statistiquement significative de la plombémie dans les deux sexes.

#### Accumulation du plomb au niveau de la queue

La figure 3 indique que le taux de plomb au niveau de la queue augmente de façon significative après 60 jours d'exposition aux gaz d'échappement. La queue, chez le rat, semble permettre un test fidèle, biomarqueur pour la pollution aux gaz d'échappement. En effet, cet organe est formé de trois parties : os, peau et poils, compartiments essentiels du stockage du plomb.

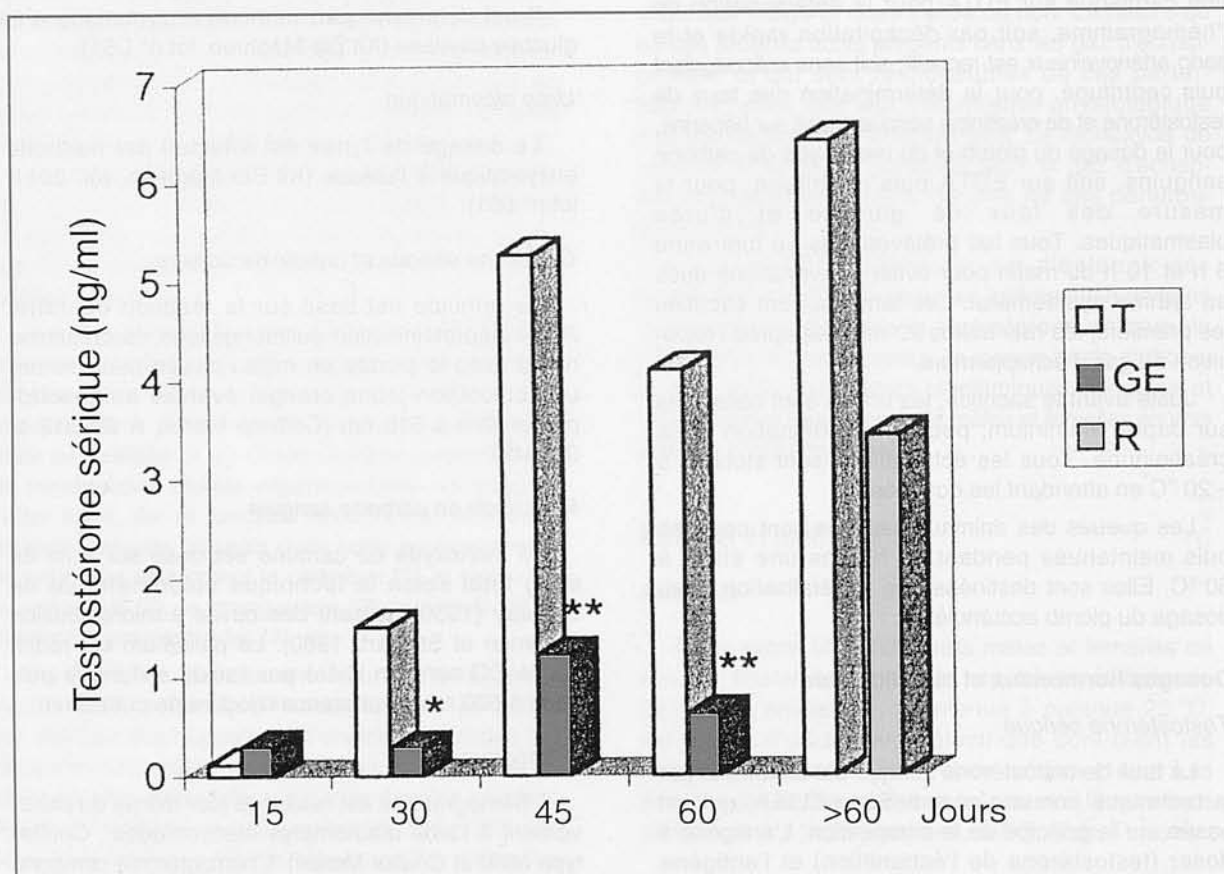


Figure 1.  
Évolution du taux de testostérone sérique (ng/ml) chez des rats mâles traités (GE) ou non (T) aux gaz d'échappement pendant 15, 30, 45 et 60 jours, et chez des rats après 2 mois d'arrêt du traitement (R).

Variation of serum testosterone level (ng.ml<sup>-1</sup>).

Tableau 1.  
Évolution du taux de testostérone sérique (ng/ml) chez des rats mâles traités (GE) ou non (T) aux gaz d'échappement pendant 15, 30, 45 et 60 jours, et chez des rats après 2 mois d'arrêt du traitement (R).

Effects of repetitive exposure to gasoline automotive exhaust gases  
on the level variations of serum testosterone (ng.ml<sup>-1</sup>).

| Traitement | 15 j                  | 30 j                   | 45 j                    | 60 j                    | Arrêt du traitement |                       |
|------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|-----------------------|
|            |                       |                        |                         |                         | Après 60 j          |                       |
| T          | 0,118 ± 0,059<br>(13) | 1,497 ± 0,367<br>(19)  | 5,268 ± 0,788<br>(18)   | 4,102 ± 0,933<br>(15)   | T                   | 6,403 ± 2,537<br>(15) |
| GE         | 0,292 ± 0,167<br>(12) | 0,275 ± 0,036*<br>(15) | 1,211 ± 0,425**<br>(17) | 0,615 ± 0,144**<br>(16) | R                   | 3,425 ± 0,988<br>(15) |

Les valeurs représentent les moyennes ± SEM.

\* :  $p \leq 0,05$  par comparaison avec les rats témoins non traités (T).

\*\* :  $p \leq 0,01$  par comparaison avec les rats témoins non traités (T).

(n) : nombre de déterminations.

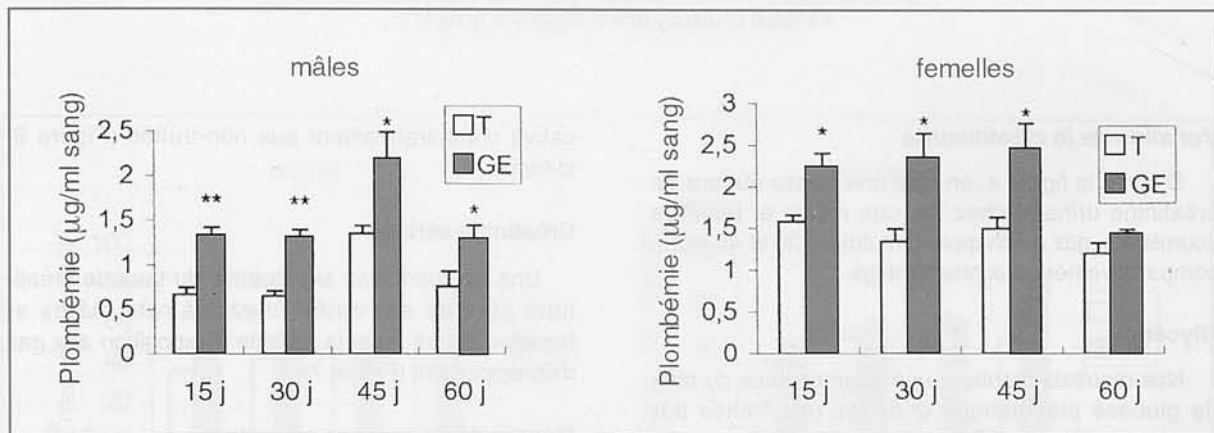


Figure 2.

Évolution de la plombémie (en µg/ml de sang) en fonction de la durée du traitement aux gaz d'échappement (15, 30, 45 et 60 jours) chez des rats mâles et femelles. (T : témoins ; GE : traités aux gaz d'échappement).

Variation of blood lead level (µg.ml<sup>-1</sup>).

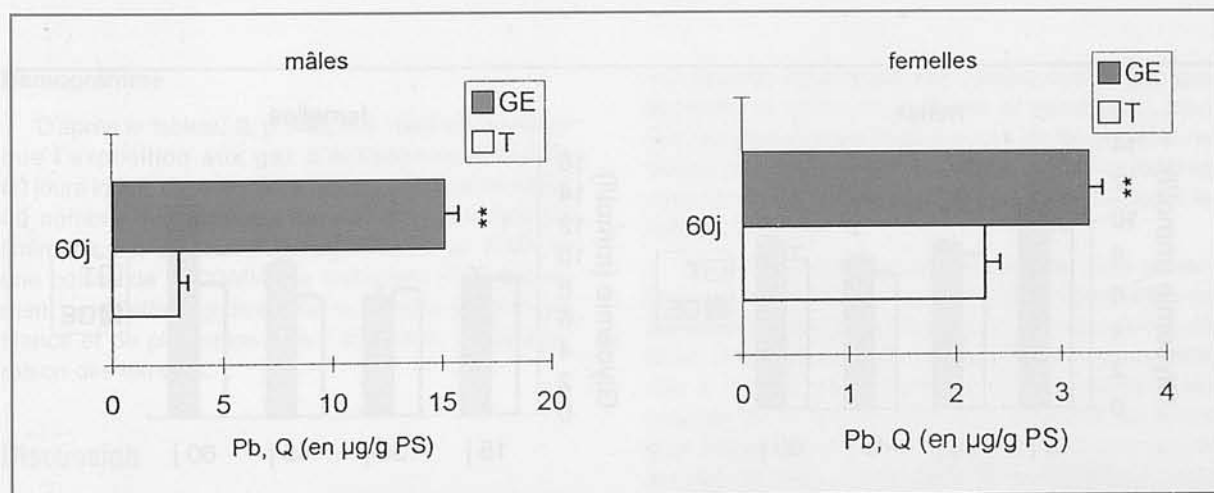


Figure 3.

Taux du plomb de la queue [en µg/g de poids sec (PS)] chez des rats témoins (T) mâles et femelles, et des rats traités (GE) aux gaz d'échappement pendant 60 j.

Lead accumulation in the tail (µg.g<sup>-1</sup>).

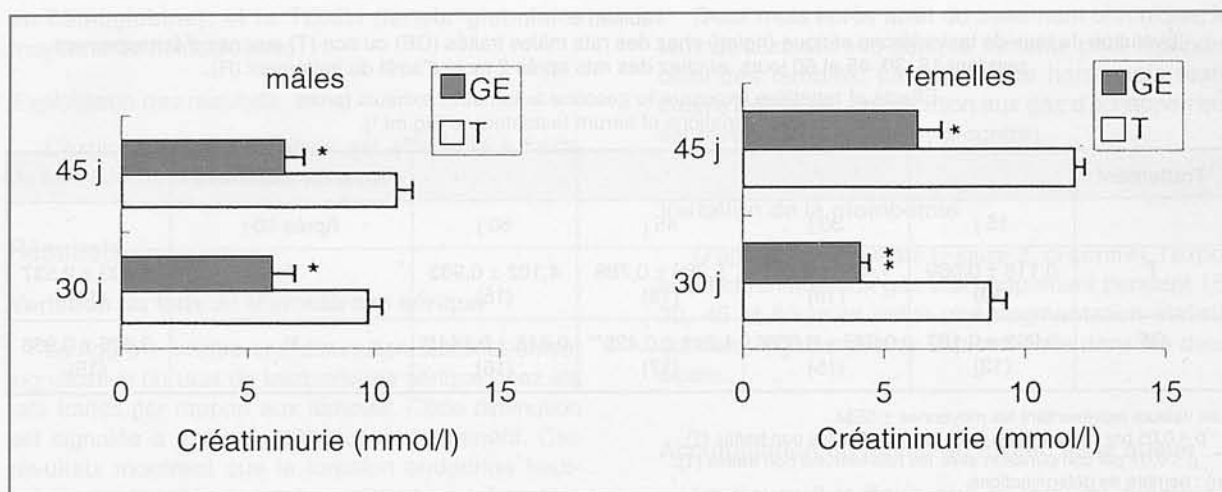


Figure 4.  
Créatininurie (en mmol/l d'urine) chez des rats mâles et femelles traités (GE)  
ou non (T) aux gaz d'échappement durant 30 et 45 Jours.

Variation of urinary rate of creatinine (mmol.l<sup>-1</sup>).

#### Variation de la créatininurie

D'après la figure 4, on note une baisse du taux de créatinine urinaire chez les rats mâles et femelles soumis aux gaz d'échappement durant 30 et 45 jours, comparativement aux rats témoins.

#### Glycémie

Nos résultats montrent une augmentation du taux de glucose plasmatique chez les rats traités par rapport aux témoins (Figure 5).

#### Urée plasmatique

On note également une augmentation du taux d'urée plasmatique après traitement chronique aux gaz d'échappement. Cette augmentation est signifi-

cative comparativement aux non-traités (Figure 6, ci-contre).

#### Créatinine sérique

Une augmentation significative du taux de créatinine sérique est notée chez les rats mâles et femelles durant toute la période d'exposition aux gaz d'échappement (Figure 7).

#### Monoxyde de carbone sanguin

On note la présence de cet élément chez les animaux exposés au gaz d'échappement durant 60 jours (99 ml/l chez les mâles ; 90 ± 11,5 ml/l chez les femelles). Chez les animaux témoins, le CO est totalement absent.

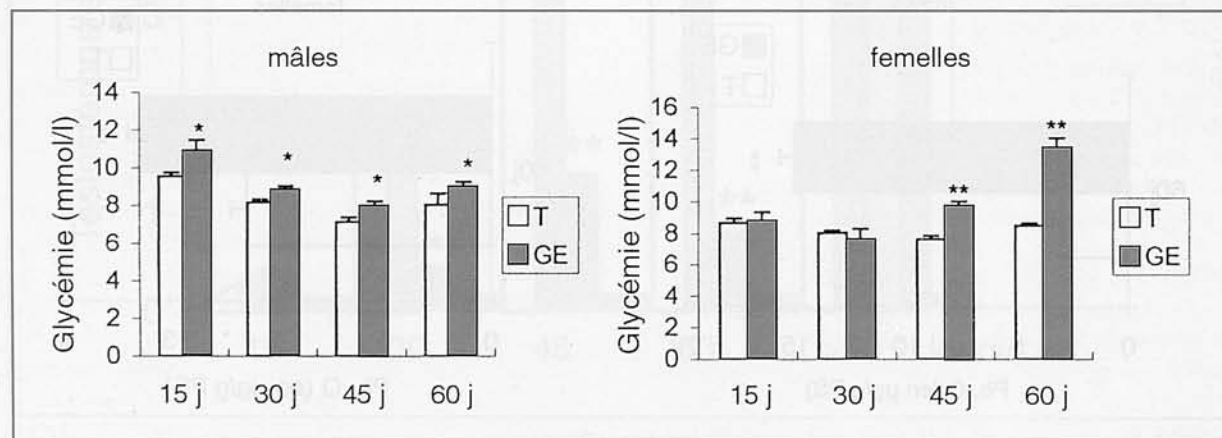


Figure 5.  
Évolution du taux de glycémie (en mmol/l) chez des rats mâles et femelles traités (GE)  
ou non (T) aux gaz d'échappement pendant 15, 30, 45 et 60 jours.

Variation of glycaemia (mmol.l<sup>-1</sup>).

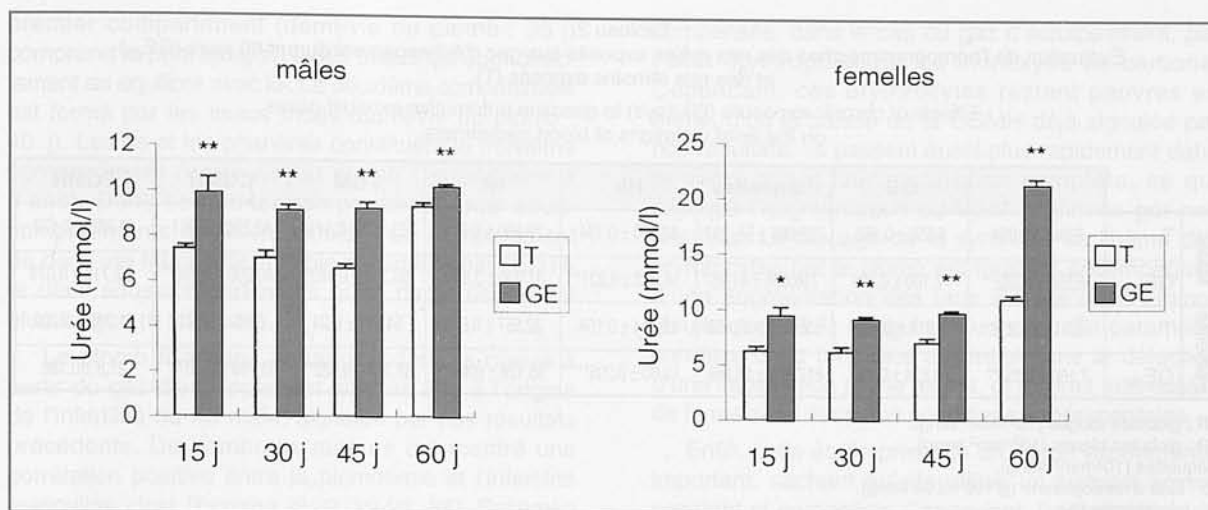


Figure 6.  
Évolution du taux d'urée plasmatique (en mmol/l) chez des rats mâles et femelles traités (GE) ou non (T) aux gaz d'échappement pendant 15, 30, 45 et 60 jours.  
Variation of plasma urea level (mmol.l<sup>-1</sup>).

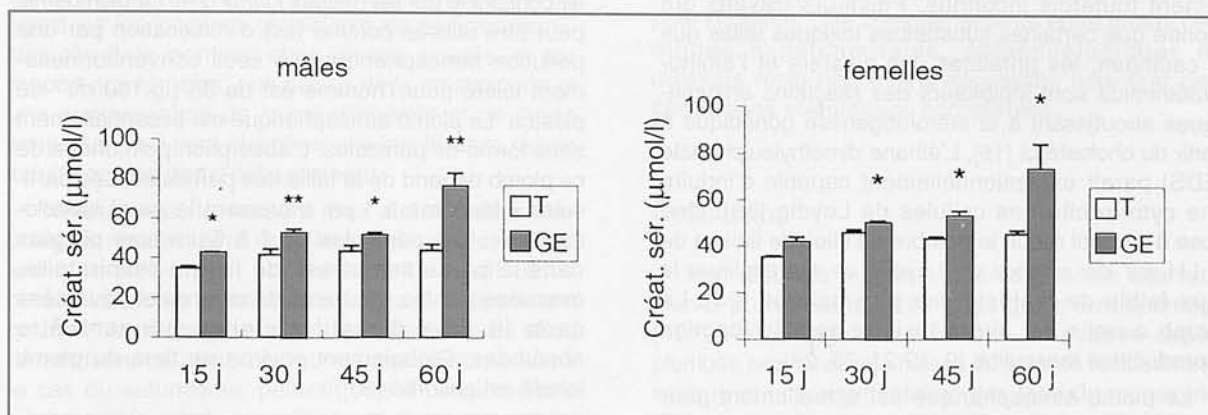


Figure 7.  
Taux de créatinine sérique (en µmol/l) chez des rats mâles et femelles traités (GE) ou non (T) aux gaz d'échappement pendant 15, 30, 45 et 60 jours.  
Variation of creatininaemia (µmol.l<sup>-1</sup>).

### Hémogramme

D'après le tableau 2, p. 446, nos résultats montrent que l'exposition aux gaz d'échappement durant 60 jours induit, dans les deux sexes, une augmentation du nombre des globules rouges, une élévation de l'hématocrite, du taux d'hémoglobine et du VGM, et une baisse de la CGMH. Ce traitement n'a pratiquement pas d'effet significatif sur le nombre de globules blancs et de plaquettes et sur la TGMH, en comparaison des témoins.

### Discussion

Chez les mammifères, le processus de la reproduction est très sensible aux perturbations de l'organisme par des agents exogènes. Plusieurs composés étrangers incluant les pesticides, les médicaments,

les solvants organiques, les métaux lourds tels que le plomb, le cadmium, le nickel, le vanadium... bien que les mécanismes biochimiques de leur toxicité ne soient pas encore bien compris, sont considérés comme de véritables agents toxiques touchant la fertilité [1-10, 23].

Dans nos conditions expérimentales, nous remarquons une diminution statistiquement significative du taux de testostérone sérique chez les rats soumis de façon chronique aux gaz d'échappement. Ceci pourrait être à l'origine de l'atrophie du tractus génital et du blocage de la spermatogenèse observés au cours d'un travail antérieur réalisé dans notre laboratoire sur des rats mâles traités de la même manière [11-15]. Le gaz d'échappement semble toucher les deux fonctions, exocrine et endocrine, des testicules. La nature de l'élément actif qui est présent dans le gaz d'échappement et qui est responsable de cette infer-

Tableau 2.  
Évaluation de l'hémogramme chez des rats mâles exposés aux gaz d'échappement durant 60 jours (GE<sub>60</sub>)  
et des rats témoins exposés (T).

Effects of chronic exposure (60 days) to gasoline automotive exhaust gases  
on the level variations of blood parameters.

|          |                  | GR              | GB            | Plaquettes        | Hb               | Ht               | VGM              | CGMH             | TGMH           |
|----------|------------------|-----------------|---------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|
| Mâles    | T                | 5,945 ± 0,094   | 6,550 ± 0,352 | 722,666 ± 54, 297 | 12,500 ± 0,134   | 29,800 ± 0,704   | 53,900 ± 0,141   | 43,250 ± 0,361   | 21,983 ± 0,470 |
|          | GE <sub>60</sub> | 6,550 ± 0,082** | 7,100 ± 0,709 | 756,666 ± 41,957  | 14,933 ± 0,221** | 37,000 ± 0,559** | 56,350 ± 0,183** | 40,200 ± 0,280** | 22,716 ± 0,079 |
| Femelles | T                | 6,317 ± 0,212   | 5,014 ± 0,508 | 535,428 ± 33,458  | 12,414 ± 0,154   | 32,557 ± 0,866   | 54,671 ± 0,24    | 36,5 ± 1,123     | 21,085 ± 0,209 |
|          | GE <sub>60</sub> | 7,160 ± 0,158** | 3,814 ± 0,64  | 617,571 ± 28,866  | 13,60 ± 0,205**  | 35,128 ± 0,487*  | 55,714 ± 0,222** | 33,788 ± 0,607** | 21,8 ± 0,196   |

GR : globules rouges (10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup> sang).

GB : globules blancs (10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup> sang).

Plaquettes (10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup> sang).

Hb : taux d'hémoglobine (g/100 ml de sang).

Ht : hématocrite (%).

VGM : volume globulaire moyen (μm<sup>3</sup>).

CGMH : concentration globulaire moyenne en hémoglobine (g/100 ml de globules rouges).

TGMH : teneur globulaire moyenne en hémoglobine (pg/globule rouge).

tilité masculine, ainsi que son mécanisme d'action, restent toutefois inconnus. Plusieurs travaux ont montré que certaines substances toxiques telles que le cadmium, les phtalates, les diesters et l'aminoglutéthimide sont inhibiteurs des réactions enzymatiques aboutissant à la stéroïdogénèse gonadique à partir du cholestérol [16]. L'éthane diméthylsulphonate (EDS) paraît exceptionnellement capable d'induire une cytotoxicité des cellules de Leydig [16]. Une dose d'éthanol réduit le nombre de sites de liaison de la LH sur les cellules de Leydig, ce qui explique le taux faible de testostérone plasmatique [24]. Le plomb aussi s'est avéré toxique pour la fonction reproductrice masculine [9, 19-21, 25, 26].

Le plomb atmosphérique est actuellement pour 80 % d'origine anthropique. Les grands responsables de cette pollution sont les rejets industriels et les déchets des carburants automobiles. On a communément recours à l'addition du plomb tétraméthyle dans les carburants à essence afin d'améliorer le rendement du moteur. À la sortie des pots d'échappement des voitures, les composés du plomb qui sont incriminés sont le bromure de plomb, les oxydes de plomb et les composés organiques de plomb. Ces composés sont de véritables toxiques pour les êtres vivants.

D'après nos résultats, des rats mâles et femelles soumis aux gaz d'échappement d'une façon chronique montrent une augmentation de la plombémie et du taux de plomb au niveau de la queue, organe essentiel dans le stockage du plomb. Plusieurs études ont montré que dans les grandes villes à trafic routier très dense, les quantités de plomb émises dans les rues sont extrêmement élevées. Divers groupes professionnels peuvent également être soumis à une exposition au plomb d'origine atmosphérique tels que les policiers, les coursiers des grandes villes, les chauffeurs de taxi, les garagistes... [27, 28]. D'autres études ont trouvé une corrélation entre la densité du trafic routier et la plombémie des pigeons

des villes, pouvant être un indicateur biologique d'un air contaminé par les métaux lourds [29]. La plombémie peut être utilisée comme test d'intoxication par une pollution atmosphérique. Le seuil conventionnellement toléré pour l'homme est de 35 μg.100 ml<sup>-1</sup> de plasma. Le plomb atmosphérique est essentiellement sous forme de particules. L'absorption pulmonaire de ce plomb dépend de la taille des particules. Les particules inférieures à 1 μm traversent la paroi alvéolo-capillaire. Les particules de 1 à 5 μm sont piégées dans la partie supérieure de l'arbre respiratoire, évacuées par les mouvements ciliaires et déversées dans le tube digestif où elles peuvent être absorbées. Globalement environ un tiers du plomb inhalé est absorbé [30].

La plombémie n'est cependant qu'un indicateur de l'exposition récente, précise Steenhout [31], et montre la teneur dans le sang à un moment donné : si elle est élevée, elle prouve qu'il y a absorption de plomb mais elle ne donne pas la mesure réelle du danger. Le plomb sanguin reflète l'état momentané de l'équilibre entre le plomb absorbé et les tissus où il se dépose. Des manifestations cliniques peuvent apparaître malgré une plombémie basse [32]. En 1980, Desoille et coll. [33] ont pensé à la détermination de la plomburie. Ils ont constaté qu'elle ne donnait qu'une idée imparfaite de la teneur en plomb de l'organisme. Malgré les faibles quantités détectées au niveau du sang et de l'urine, il peut y avoir une imprégnation dangereuse de l'organisme par ce métal.

Nos résultats montrent effectivement une accumulation du plomb au niveau de la queue chez les rats exposés durant deux mois aux gaz d'échappement. La queue, formée d'os, de peau et de poils, organes essentiels dans le stockage du plomb, pourrait servir de « test biologique » ou de « biomarqueur » pour l'intoxication par une pollution. De nombreux auteurs ont montré que le plomb est distribué dans plusieurs compartiments de l'organisme [34, 35] : le

premier compartiment (demi-vie du plomb : 35 j) comprend le pool sanguin et les tissus qui sont directement en équilibre avec lui. Le deuxième compartiment est formé par les tissus mous (demi-vie du plomb : 40 j). Les os et les phanères constituent le troisième compartiment (demi-vie du plomb : supérieure à 5 ans). Dans ce dernier compartiment, trois sous-compartiments semblent exister : un compartiment de demi-vie relativement faible chélatable par l'EDTA et deux sous-compartiments où la durée de vie est plus longue (6 à 20 ans).

Le plomb fixé dans le sang et dans la queue à partir du gaz d'échappement pourrait être à l'origine de l'infertilité du rat mâle, signalée par nos résultats précédents. De nombreux auteurs ont montré une corrélation positive entre la plombémie et l'infertilité masculine chez l'homme [8, 9, 19-21, 36]. Sallemen et coll. [37] ont montré chez des travailleurs hommes et femmes exposés au plomb que les hommes sont plus sensibles que les femmes à ce polluant.

Les paramètres biochimiques sont d'une nécessité primordiale pour apprécier de nombreuses pathologies. Ils permettent d'évaluer l'éventuel effet toxique d'un agent sur les fonctions physiologiques de l'organisme. Nos résultats montrent chez les rats pollués, et par rapport aux témoins, une baisse de la créatininurie et une augmentation de la créatininémie et de l'urée sanguine. Ceci peut objectiver une insuffisance rénale induite par les gaz d'échappement.

Néanmoins, la mesure des clairances métaboliques rénales, ainsi que l'histologie rénale, restent indispensables pour confirmer cette insuffisance rénale. Le plomb présent dans le gaz d'échappement pourrait être à l'origine de ces perturbations. En effet, de nombreux auteurs ont montré que le plomb, dans le cas du saturnisme, pourrait être à l'origine d'une néphropathie tubulo-interstitielle et d'une augmentation de l'urée et de la créatinine sanguines [38]. Notre étude montre aussi une augmentation du taux du monoxyde de carbone sanguin après exposition au gaz d'échappement durant 60 jours. Parallèlement, on note une augmentation du nombre de globules rouges, de l'hématocrite, du taux d'hémoglobine et du VGM. Cette augmentation résulte probablement de la stimulation de l'érythropoïèse par l'hypoxie. En effet, le gaz d'échappement contient, d'après nos dosages, une fraction non négligeable de monoxyde de carbone qui, par inhalation, passe des alvéoles pulmonaires au sang. Il se fixe sur l'hémoglobine pour donner la carboxyhémoglobine (HbCO) impropre à la respiration [39-40]. La place réservée à l'oxygène sur les globules rouges se trouve donc réduite par le monoxyde de carbone, et des signes d'hypoxie avec augmentation de l'érythropoïèse s'installent. Toutefois, le plomb pourrait inhiber la synthèse de l'hème des globules rouges [41] et provoquer des signes d'anémie. Ces signes sont

compensés, dans le cas du gaz d'échappement, par l'effet érythropoïétique du monoxyde de carbone. Cependant, ces érythrocytes restent pauvres en hème, d'où la baisse de la CGMH déjà signalée par nos résultats. Ils passent aussi plus rapidement dans le sang, avant leur maturation complète, ce qui explique l'augmentation du VGM confirmée par nos résultats. Le blocage de la synthèse de l'hème des érythrocytes par le plomb est toujours accompagnée d'une augmentation des taux d'acide delta-amino-lévulinique (ALA) sanguin et urinaire. Ce paramètre constitue donc un indice essentiel dans la détection d'une intoxication par le plomb, et il serait intéressant de le mesurer dans nos conditions expérimentales.

Enfin, cette étude présente un intérêt expérimental important, sachant qu'elle utilise un support animal constant et homogène. Cependant, l'extrapolation de ces résultats à l'homme reste difficile. Ce qui est observé à des doses élevées chez l'animal n'est pas transposable à l'homme qui est exposé à des doses plus faibles. Le contrôle de sujets exposés au cours de leur travail ou dans leur habitation par des études épidémiologiques et cliniques serait plus contributif pour l'homme. Une complémentarité entre toutes ces études expérimentales, épidémiologiques et cliniques reste néanmoins nécessaire pour tirer des conclusions scientifiques acceptables.

## Conclusion

Nos résultats montrent que l'exposition des rats jeunes à un mélange d'air et de gaz d'échappement (10/1 v/v) d'origine automobile à essence super plombée provoque une baisse du taux de testostérone sérique et une augmentation des taux de monoxyde de carbone sanguin, de plomb sanguin et de plomb osseux. Les analyses biochimiques montrent, par rapport aux rats témoins, une augmentation de la glycémie, de la créatininémie et de l'urémie. Au contraire, la créatininurie montre une baisse. Ces paramètres témoignent d'une atteinte sexuelle et rénale provoquée par le polluant utilisé. Une augmentation du nombre des globules rouges, de l'hématocrite, du taux sanguin d'hémoglobine et du VGM, et une baisse de la CGMH sont signalées chez les animaux traités. Le monoxyde de carbone détecté dans le sang de ces animaux, ainsi que le plomb, pourraient être à l'origine de ces perturbations hématologiques.

## Remerciements

Les auteurs remercient M. Monaem Kallel et le personnel de LARSEN à l'ENIS, à Sfax, pour leur contribution au dosage du plomb.

**Mots clés**

Fertilité. Fonction rénale. Gaz d'échappement d'origine automobile. Hémogramme. Monoxyde de carbone. Plomb. Rat.

**Keywords**

Automotive exhaust gas. Fertility. Kidney function. Lead. Rat.

**Références**

1. Sram JR. Impact of air pollution on reproductive health. *Environ Health Perspect* 1999 ; 107 (11) : A542-3.
2. Barregard L, Svaldander C, Scütz A, Westberg G, Sallsten G, Blohme I, Mölne J, Attman PO, Haglinds P. Cadmium, mercury and lead in kidney cortex of the general Swedish population. *Environ Health Perspect* 1999 ; 107 (11) : 867-71.
3. Telisman S, Cvitkovic, Jurasovic J, Pizent A, Gavella M, Rocic B. Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc and copper in men. *Environ Health Perspect* 2000 ; 108 (1) : 45-53.
4. Jegou B. Les hommes deviennent-ils moins fertiles ? Moins de spermatozoïdes et de qualité moindre ? L'environnement en question. *La Recherche* 1996 ; 288 : 60-5.
5. Ono H, Fun Akoshi T, Shimada H, Kojima S. Comparative effects of disulfiram and diethyl dithiocarbamate against testicular toxicity in rats caused by acute exposure to cadmium. *J Toxicol Environ Health* 1997 ; 50 (4) : 389-99.
6. Xie. Effects of chelating agents on testicular toxicity in mice caused by acute exposure to nickel. *Toxicology* 1995 ; 103 (3) : 17-155.
7. Domingo JL. Vanadium : a review of the reproductive and developmental toxicity. *Rep Toxicol* 1996 ; 10 (3) : 175-82.
8. Gennart JP, Buchet JP, Roels H, Ghyselen P, Ceulemans E, Lauwerys R. Fertility of male workers exposed to cadmium, lead or manganese. *Am J Epidemiol* 1992 ; 135 (11) : 1208-19.
9. Foster WG, MC Mahon A, Rice DC. Sperm Chromatin structure is altered in cynomolgus monkeys with environmentally relevant blood lead levels. *Toxicol and Health* 1996 ; 12 (5) : 723-35.
10. Tuomaa TE. The adverse effects of tobacco smoking on reproduction and health : a review from the literature. *Nurth Health* 1995 ; 10 (2) : 105-20.
11. El Feki A, Gribaa S, Charbi-Lasseram N, Kammoun A. Taux de catabolisme hépatique de la corticostérone chez le rats soumis à diverses agressions. *J Physiol Paris* 1981 ; 77 : 17 A.
12. El Feki A, Sakly M, Kammoun A. Incidence du gaz d'échappement sur l'activité corticosurrénalienne, la croissance générale et la variation de certains métabolismes intermédiaires chez le rat mâle en période de croissance. *Arch Int Physiol Biochim* 1984 ; 92 : 167-77.
13. El Feki A, Sakly M, Kammoun A. Incidence de différentes agressions aiguës et chroniques sur la croissance générale et l'activité corticosurrénalienne chez le rat. *Ann Endocrinol* 1985 ; 46 : 107-11.
14. El Feki A, Hjaiej L, Kammoun A. Incidence de la pollution atmosphérique (gaz d'échappement) sur l'activité sexuelle du rat. 9<sup>es</sup> Journées Biologiques de la SSNT, Tunis. 1996 : 48.
15. El Feki A, Ghorbel F, Smaoui M, Makni-Ayadi F, Kammoun A. Effets de plomb d'origine automobile sur la croissance générale et l'activité sexuelle du rat. *Gynécol Obst Fertil* 2000 ; 28 : 51-9.
16. Smaoui M, Rebaï T, El Feki A. Incidence en fonction du temps des émissions d'origine automobile sur la croissance générale, la fertilité et la variation de certains paramètres biochimiques chez le rat. 8<sup>e</sup> Congrès Arabe de Biologie, Amman, Jordanie, 1997 ; 134-5.
17. Smaoui M, Makni-Ayadi F, El Feki A. Étude de l'effet du gaz d'échappement d'origine automobile sur la croissance générale et l'activité sexuelle chez le jeune rat. 10<sup>es</sup> J Biologiques. ATSB, Monastir 1999 : 62.

18. Smaoui M, Makni-Ayadi F, Kallel M, El Feki A. Impact d'une exposition chronique au gaz d'échappement d'origine automobile sur l'activité rénale : cas du rat. Séminaire : La pollution atmosphérique : sources, traitements, impacts sur l'environnement, SCT, Sfax 1999 : 15-6.
19. Ghorbel F, Makni-Ayadi F, El Feki A. Effects of chronic lead exposition on the fertility of pubescent rats. 10<sup>es</sup> J. Nationales de Biologie. SSNT, Hammamet 1998 : 7.
20. Ghorbel F, Makni-Ayadi F, El Feki A. Insuffisance rénale provoquée par le plomb et lieu de stockage de ce métal. 10<sup>es</sup> J. Biologiques ATSB, Monastir 1999 : C61.
21. Ghorbel F, Makni-Ayadi F, Guermazi F, Azri C, El Feki A. Mise en évidence de biomarqueurs d'intoxication plombée chez le rat. Séminaire : La pollution atmosphérique : sources, traitements, impacts sur l'environnement, SCT, Sfax 1999 : 17-9.
22. Lison L. Statistique appliquée à la biologie expérimentale, la planification de l'expérience et l'analyse des résultats, Gauthier Villars Paris, 1958.
23. Tebourbi O, Ben Rhouma K, Sakly M. Toxicité subaiguë du DDT chez le rat. Sciences et Environnement. Premier Colloque 6-8 Novembre, Bizerte, Tunisie 1997 : 17.
24. Gangolly SD, Philips JC. Assessing chemical injury to the reproductive system. *Experimental Toxicology* 1993 : 376-404.
25. Jockenhovel F, Bals-Pratsch M, Bertram HP, Nieschilage E. Seminal lead and copper in fertile and infertile men. *Andrologia* 1990 ; 22 (6) : 503-11.
26. Sokol RZ, Okuda H, Nagles HM, Berman N. Lead exposure in vivo alters the fertility potential of sperm in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994 ; 124 (2) : 310-16.
27. Biava PM, Audisio R, Centonze A, Barbieri A, Bistani L, Duca G. An epidemiological study of the health conditions of Milan traffic police with respect to pollution from vehicular traffic. *Med* 1992 ; 83 (3) : 249-58.
28. Zagury E, Momas I, Le Moullec Y, Festy B. Enquête auprès des chauffeurs de taxi artisans parisiens : Perception de la pollution d'origine automobile. *Pollution Atmosphérique Janvier-Mars* 1998 : 61-70.
29. Pauline AELS, Jurian AH, Frederik-Jan VS, Lou MM, Edwin JCM, Bertil JHVO, Joop HVW, Jos CSK. Possible relevance of pigeons as an indicator species for Monitoring Air pollution. *Environ Health Perspect* 1997 ; 105 (3) : 322-30.
30. Winship KA. Toxicity of lead : a review. *Adv Drug React* 1989 ; 8 : 117-52.
31. Steenhout A. Panorama de l'exposition urbaine au plomb. Évolution temporelle des sources domestiques et du plomb auto, polarisation du risque selon l'âge et l'habitat. *J Toxicol Clin Exp* 1998 ; 8 (3) : 171-91.
32. Duc M, Kaminsky P, Klein M. Intoxication par le plomb et ses sels. Éditions techniques. *Encycl Med Chir Paris, France* 1994 : 10.
33. Desoille H, Scherrer J, Truhaut R. Précis de Médecine du Travail 1980 : 545.
34. Caplun E, Petit D, Piccioto E. Le plomb dans l'essence. *La Recherche* 1984 ; 152 : 270-80.
35. Pounds JG, Long GJ, Rosen JF. Cellular and molecular toxicity of lead in bone. *Environ Health Perspect* 1991 ; 91 : 17-32.
36. Godowicz B, Gals J. Toxic effect of lead on fertility of inbred strain mice. *Folia Biol (Krakow)* 1992 ; 40 (1, 2) : 73-8.
37. Sallemen M, Antilla A, Lindbohm ML, Kyyronen P, Taskinen H, Hemminki D. Time to pregnancy among women occupationally exposed to lead. *J Occup Environ Med* 1995 ; 37 (8) : 931-34.
38. Stengel B. Maladies rénales d'origine toxique professionnelle. *Méd Chir, Elsevier, Paris. Toxicologie – Pathologie* 1996 : 8.
39. Lee PS, Schreck RM, Hare BA, MC Grath JJ. Biomedical application of tunable diode laser spectroscopy : correlation between breath, carbon monoxide and low level blood carboxyhemoglobin saturation. *Ann Biomed Eng* 1994 ; 22 (1) : 120-5.
40. Gourdeau P, Parent M, Soulard A. Carbon monoxide exposure in automobile garages : evaluation of mechanics. *Can J Public Health* 1995 ; 86 (6) : 414-7.
41. Bottomley SS, Muller-Eberhard U. Pathophysiology of heme synthesis. *Semin Hematol* 1998 ; 25 : 282-303.

