

## 7

## Effets sur l'appareil reproducteur

L'interférence du plomb à forte dose avec la reproduction a été rapportée il y a plus d'un siècle, principalement chez la femme exposée en milieu professionnel. Une forte exposition au plomb est associée à un risque d'infertilité, de naissance d'enfants mort-nés, d'avortements spontanés ou de malformations. Le plomb à forte dose peut également affecter l'appareil reproducteur du mâle. Cependant, les effets semblent faibles pour des doses modérées, même si peu d'études ont été effectuées. En revanche, de nombreuses études ont été réalisées chez l'animal (singe et rongeur) pour expliciter les effets du plomb sur l'appareil reproducteur du mâle. La connaissance des mécanismes d'action demeure incomplète. L'altération par le plomb de la spermatogenèse, qui se déroule dans les tubes séminifères, peut résulter d'une toxicité directe au niveau du testicule, mais elle peut aussi être médiée par une perturbation du système neuroendocrinien.

Chez l'homme et l'animal, l'effet du plomb a été évalué sur la spermatogenèse par la numération, la motilité, la forme des spermatozoïdes et leur pouvoir fécondant *in vitro*, sur la fonction leydigienne (stéroïdogénèse) par la mesure des concentrations de testostérone et sur le système neuroendocrinien (axe hypothalamo-hypophysaire) par la mesure des concentrations d'hormone lutéinisante (LH, *luteinizing hormone*) et d'hormone folliculo stimulante (FSH, *follicle stimulating hormone*).

Les effets du plomb sur l'ovulation, la fécondation et la gestation ont été surtout examinés chez l'animal à travers les études de fertilité. Chez la femme, les études épidémiologiques ont principalement porté sur le déroulement de la grossesse (mise en évidence d'avortement spontané), le développement et les malformations fœtales.

### Effet du plomb sur la production et la qualité des spermatozoïdes

Les études concernant les effets du plomb sur la production de spermatozoïdes chez l'homme sont peu nombreuses et présentent souvent une méthodologie critiquable. Elles sont consacrées à des hommes exposés au plomb en milieu

professionnel et portent le plus souvent sur de petits effectifs, en raison de la réticence de ces hommes à donner leur sperme. Cette analyse ne prend en compte que les études comportant un groupe témoin.

## Données chez l'homme

Les études concernant les effets du plomb sur la production de spermatozoïdes sont rassemblées dans le tableau 7.1.

**Tableau 7.1 : Effets du plomb sur l'appareil reproducteur chez l'homme.**

| Auteurs                           | Population<br>Exposition<br>Pays<br>N    | Plombémie (µg/l)<br>Durée d'exposition   | Conséquences                                                                                                                |
|-----------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Lancranjan et coll.<br>(1975)     | Batteries<br>Roumanie<br>100             | 410 à 745<br>8,5 ans                     | Tératospermie dose dépendante<br>Oligospermie et asthénospermie                                                             |
| Braunstein et coll.<br>(1978)     | Fonderie<br>USA<br>10                    | > 800<br>8 ans                           | 2 oligospermies < 10 <sup>6</sup> sperm/ml<br>Testostérone ↘<br>LH stimulée ↘ pour les plus fortes<br>plombémies            |
| Assennato et coll.<br>(1987)      | Batteries<br>Italie<br>18                | 610                                      | Nombre spermatozoïdes ↘ de 38 %<br>Testostérone, LH, FSH inchangées                                                         |
| Rodamilans et coll.<br>(1988b)    | Fonderie<br>Espagne<br>18                | 660 à 760<br>< 1 an ; > 5 ans            | Testostérone ↘ à partir de 5 ans<br>LH ↗ pour tous                                                                          |
| Mc Gregor et coll.<br>(1990)      | Industrie du Pb<br>UK<br>90              | 460 (170 à 770)<br>11,5 ans (1 à 45 ans) | Testostérone inchangée, LH ↘,<br>FSH ↗ pour plombémie > 470                                                                 |
| Gennart et coll.<br>(1992a)       | Batteries<br>Belgique<br>98              | 400 à 750<br>> 1 an                      | LH, FSH inchangées                                                                                                          |
| Alexander et coll.<br>(1996)      | Fonderie,<br>Raffinerie<br>Canada<br>119 | 224 à 580<br># 10 ans                    | Pour plombémie > 400 vs 150<br>Nombre spermatozoïdes ↘ de 50 %<br>↗ risque oligospermie<br>Testostérone, LH, FSH inchangées |
| Aribag et<br>Sukcharoen<br>(1996) | Batteries<br>Thaïlande<br>27             | 270-450<br>1 an                          | Production de sperme inchangée<br>Testostérone, LH, FSH, prolactine nor-<br>males                                           |
| Weyandt et coll.<br>(1996)        | Artilleurs<br>USA<br>30                  | 41                                       | Testostérone LH, FSH inchangées<br>Test de pénétration des ovocytes <i>in vitro</i><br>normal                               |
| Kuo et coll.<br>(1997)            | Batteries<br>Taiwan<br>5                 | 436                                      | Pas de modification du sperme                                                                                               |

L'étude de Braunstein et coll. (1978) est consacrée à 10 hommes âgés de 38 ans en moyenne, travaillant dans une fonderie aux Etats-Unis, et dont les plombémies ont pour certains dépassé 800 µg/l. Six d'entre eux, désignés « intoxiqués », présentent des signes de saturnisme et ont subi une ou plusieurs chélations par l'EDTA (*ethylene diamine tetraacetic acid*) calcique. Ils ont une plombémie de  $387 \pm 30$  µg/l au moment de l'examen. Quatre hommes « exposés » ne présentent pas de signe de saturnisme et leur plombémie est de  $290 \pm 50$  µg/l au moment de l'examen. Le groupe témoin est constitué de 9 hommes âgés en moyenne de 29 ans travaillant dans la même usine mais non exposés, leur plombémie est de  $161 \pm 17$  µg/l. La production de spermatozoïdes pour les deux groupes « intoxiqués » et « exposés » a varié de normale à sévère oligospermie (inférieure à  $10^6$  spermatozoïdes par ml) pour un sujet de chaque groupe, mais aucune différence dans le volume de l'éjaculat, la motilité et le pourcentage de formes anormales des spermatozoïdes n'a été observée comparativement au groupe témoin. Les biopsies testiculaires réalisées chez les deux patients les plus atteints ont montré un épaississement de la membrane basale des tubes séminifères et une diminution de la spermatogénèse, ce qui explique l'oligospermie observée.

Lancranjan et coll. (1975) ont étudié en Roumanie 100 hommes exposés au plomb dans une usine de batteries pendant 8,5 ans en moyenne et un groupe de 50 témoins travaillant dans la même usine depuis 6 ans en moyenne, en environnement légèrement pollué pour 23 d'entre eux. L'âge moyen était de 38,5 ans. Les sujets exposés ont été classés en sous-groupes selon leur plombémie moyenne : 745 µg/l ( $n = 23$ ), 528 µg/l ( $n = 42$ ), 410 µg/l ( $n = 35$ ). La plombémie du groupe témoin était de 230 µg/l. Dans le groupe ayant la plus forte plombémie, la principale anomalie observée est l'accroissement du pourcentage des formes anormales (tératospermie) chez 86 % des sujets ( $p < 0,001$ ) ; une oligospermie et une asthénospermie (diminution de la motilité des spermatozoïdes) sont observées pour 50 % des sujets, ce qui est significativement différent du pourcentage observé chez les témoins ( $p < 0,001$ ). Seule la tératospermie apparaît liée à l'augmentation de la plombémie ; elle n'apparaît que chez 58 % des hommes pour une plombémie de 528 µg/l ( $p < 0,01$ ) et n'est plus significative pour une plombémie de 410 µg/l. En revanche, les pourcentages d'oligospermie et d'asthénospermie restent significativement élevés par rapport aux témoins ( $p < 0,01$ ) dans les trois groupes. Selon les auteurs, en considérant les critères internationaux pour l'estimation de l'hypofertilité, 75 % des sujets du groupe de plombémie 745 µg/l sont hypofertiles.

Assennato et coll. (1987) comparent la production spermatique de 18 ouvriers d'une usine de batteries en Italie, âgés de 41 ans, présentant une moyenne de plombémies de  $610 \pm 200$  µg/l à celle de 18 ouvriers d'une cimenterie âgés de 40 ans et non exposés au plomb (plombémie  $180 \pm 5$  µg/l). Les facteurs de confusion, consommation de tabac, vin et café étaient identiques dans les deux groupes mais la durée de l'exposition n'est pas précisée.

L'examen des fréquences cumulées des comptages spermatiques des deux populations a montré une valeur médiane de  $45,2 \times 10^6$  spermatozoïdes par ml pour les ouvriers exposés au plomb significativement diminuée ( $p < 0,025$ ) comparativement à la valeur de  $73 \times 10^6$  pour les témoins. De plus la prévalence d'oligospermie (nombre de spermatozoïdes  $< 20 \times 10^6$ /ml) dans le groupe exposé est de 16,7 % contre 5,5 % dans le groupe témoin.

Plus récemment, une étude transversale a été réalisée dans une fonderie et une raffinerie de plomb au Canada (Alexander et coll., 1996). Sur 929 ouvriers qui ont répondu à un questionnaire, 152 ont accepté de donner un échantillon de sang et 119 de donner leur sperme. Les plombémies pour les donneurs de sperme se sont étalées jusqu'à 580  $\mu\text{g/l}$ . Les participants ont été classés en quatre groupes en fonction de leur plombémie courante :  $< 150 \mu\text{g/l}$  ( $n = 32$ ) ; 150-240  $\mu\text{g/l}$  ( $n = 46$ ) ; 250-390  $\mu\text{g/l}$  ( $n = 29$ ) et  $> 400 \mu\text{g/l}$  ( $n = 12$ ). L'âge moyen était semblable dans les différents groupes. La valeur moyenne de la concentration des spermatozoïdes exprimée en million de cellules pour chacun des groupes a été respectivement de 79,1 ; 56,5 ; 62,5 et 44,4 et celle du nombre total de spermatozoïdes par éjaculat de 186 ; 153 ; 137 et 89,1 ( $p < 0,04$ ). Les travailleurs qui ont une plombémie de 400  $\mu\text{g/l}$  ou plus ont un risque accru (odds ratio (OR) 8,2 ; IC à 95 % : 1,2-57,9) d'avoir une concentration spermatique inférieure à la norme fixée par l'OMS ( $20 \cdot 10^6$  cellules/ml), et un nombre total de spermatozoïdes également inférieur (OR 2,6 ; IC 95 % 0,4-15,7) à la normale ( $40 \cdot 10^6$  cellules). La prise en compte des facteurs de confusion : consommation d'alcool, de tabac, présence d'autres métaux dans le sang ; période d'abstinence avant la collecte du sperme, utilisation de saunas, infection de l'appareil reproducteur n'a pas modifié les résultats. Lorsque les travailleurs ayant une plombémie  $< 400 \mu\text{g/l}$  sont classés en fonction de leur plombémie moyenne sur les dix dernières années de travail, la même tendance dans la diminution de production des spermatozoïdes est observée en fonction de l'accroissement de la plombémie, ce qui montre que la durée de l'exposition indépendamment de la plombémie courante est à prendre en compte dans l'effet du plomb sur la production spermatique. Par ailleurs aucune modification de la morphologie ou de la motilité des spermatozoïdes n'a été observée. Ces auteurs concluent à un effet du plomb sur la spermatogenèse même pour des plombémies inférieures à celle de 600  $\mu\text{g/l}$  impliquant le retrait du poste de travail.

Pour des plombémies ne dépassant pas 450  $\mu\text{g/l}$ , aucune diminution de la production, de la motilité ou de la morphologie des spermatozoïdes n'a été observée dans deux études portant sur des ouvriers de fabrique de batteries. Cependant les effectifs réduits, la durée d'exposition non mentionnée ou courte (1 an) limitent le poids de ces études. L'une d'elle réalisée à Taiwan concerne 5 ouvriers de plombémie moyenne 436  $\mu\text{g/l}$  et 8 témoins non exposés (Kuo et coll., 1997). L'autre, réalisée en Thaïlande, concerne 27 ouvriers de plombémies comprises entre 270 et 450  $\mu\text{g/l}$  (Aribag et Sukcharoen, 1996). Dans cette dernière étude les ouvriers sont leur propre témoin ; ils ont

été soumis à des prélèvements sanguins et de sperme à leur entrée dans l'entreprise et ont été suivis pendant leur première année de travail. Le fait qu'aucune modification spermatique ne soit décelable a permis à ces auteurs d'affirmer que les effets du plomb sur la spermatogenèse, s'ils existent pour les plombémies impliquées, ne sont pas immédiats.

Le dosage du plomb dans le sperme a montré des concentrations voisines ou inférieures à celles observées dans le sang total (Assennato et coll., 1987 ; Aribag et Sukcharoen, 1996 ; Kuo et coll., 1997). Ainsi en Allemagne, dans le sperme de 172 hommes infertiles, non exposés professionnellement au plomb on a trouvé du plomb en quantité plus grande que dans celui de 18 hommes fertiles (11,2 *versus* 5,6 µg/l) ; la concentration mesurée à nouveau deux ans plus tard chez 18 de ces hommes infertiles après l'introduction de l'essence sans plomb avait diminué de 17,31 à 6,94 µg/l. Cependant aucune corrélation entre les paramètres du sperme : numération, motilité, morphologie et la concentration en plomb n'a pu être observée (Jockenhövel et coll., 1990).

En résumé, ces études suggèrent qu'une exposition chronique au plomb de plusieurs années, 6 à 10 ans, entraînant une plombémie supérieure à 400 µg/l provoque une réduction de la production des spermatozoïdes qui accroit, chez les sujets exposés, le risque de devenir hypofertile. La motilité des spermatozoïdes ne semble pas affectée et l'augmentation des formes anormales pour les fortes plombémies n'est pas trouvée dans toutes les études. Pour les plombémies inférieures à 400 µg/l l'effet du plomb sur la production spermatique paraît faible ou inexistant et non immédiat.

### Expérimentation animale

Les études expérimentales destinées à clarifier les effets du plomb chez l'homme sur la fonction de reproduction ont été réalisées principalement chez la souris, le rat, et plus récemment chez le singe. Le plomb a été administré de manière chronique sous forme de sel (chlorure ou acétate) le plus souvent par ingestion dans l'eau de boisson ou en gélule mais aussi par voie intrapéritonéale. Les études sont rassemblées dans les tableaux 7.II et 7.III.

Les expériences réalisées chez le singe ont eu pour but d'étudier l'effet d'une intoxication chronique entraînant une plombémie modérée voisine de 400 µg/l sur la fonction de reproduction. Dans l'étude de Singh et coll. (1993) le plomb a affecté l'ultrastructure du testicule, après une intoxication de la naissance à l'âge de 9 ans ou de l'âge de 300 jours à 9 ans (plombémie de 190 à 260 µg/l) ou de la naissance à l'âge de 400 jours. Un épaississement de la membrane basale des tubes séminifères et de l'épithélium séminifère, similaire pour les trois groupes, a été observé ainsi qu'un nombre accru de gouttelettes lipidiques et de lysosomes dans les cellules de Sertoli pouvant refléter une phagocytose accrue de cellules en dégénérescence. Dans l'étude de Foster et coll. (1996a), aucune modification des paramètres classiquement étudiés pour

**Tableau 7.II : Effets du plomb sur l'appareil reproducteur du singe de la souris et du rat mâle adulte.**

| Auteurs                          | Animal            | Plombémie (µg/l)<br>Durée d'exposition | Conséquences                                                                                                                                                                     |
|----------------------------------|-------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Foster et coll. (1993)           | Singe             | 190-260<br>9 ans                       | Grande variabilité des réponses hormonales, modeste modification de la fonction leydigienne et sertolienne, altération du fonctionnement de l'hypophyse : ↘ LH stimulée          |
| Singh et coll. (1993)            | Singe             | 190-260<br>9 ans                       | Modifications dans l'ultrastructure du testicule                                                                                                                                 |
| Foster et coll. (1996a)          | Singe             | 100 et 560<br>15 à 20 ans              | Production spermatique normale, altération de la chromatine dose dépendante ; testostérone inchangée                                                                             |
| Johansson et Wide (1986)         | Souris            | 320<br>3 mois                          | Production spermatique normale, testostérone normale, nombre de femelles gravides ↘                                                                                              |
| Johansson et coll. (1987)        | Souris            | 420<br>4 mois                          | Pouvoir fécondant des spermatozoïdes <i>in vitro</i> ↘                                                                                                                           |
| Johansson et Pellicciari (1988)  | Souris            | 420<br>4 mois                          | Stabilité de la chromatine accrue                                                                                                                                                |
| Rodamilans et coll. (1988a)      | Souris            | 600<br>6 mois                          | Altération de la biosynthèse de la testostérone dans le testicule                                                                                                                |
| Johansson (1989)                 | Souris            | 420<br>4 mois                          | Aptitude des spermatozoïdes à pénétrer la zone pellucide ↘                                                                                                                       |
| Pinon-Lataillade et coll. (1995) | Souris            | 1 320<br><i>in utero</i> + 60 jours    | Production spermatique et hormonale inchangées, fertilité normale                                                                                                                |
| Sokol et coll. (1985)            | Rat<br>(52 jours) | 300 et 600<br>30 jours                 | ↘ de la production de spermatozoïdes dans le testicule et de la testostérone en corrélation avec la plombémie                                                                    |
| Nathan et coll. (1992)           | Rat               | 400 à 1 200<br>10 semaines             | Pas de modification hormonale ou histologique, pour plombémie 1 200, poids des vésicules séminales ↘                                                                             |
| Pinon-Lataillade et coll. (1993) | Rat               | 580<br>70 jours                        | Production spermatique, hormonale et fertilité inchangées                                                                                                                        |
| Marechlewicz et coll. (1993)     | Rat               | 1 200<br>9 mois                        | ↘ spermatozoïdes épididymaires, effet possible du Pb sur les spermatozoïdes dans l'épididyme                                                                                     |
| Thoreux-Manlay et coll. (1995a)  | Rat               | 17 000<br>35 jours                     | Production spermatique inchangée<br>Testostérone ↘ (- 80 %), LH ↘ (-32 %), LH stimulée ↘ (-37 %).<br>FSH inchangée. Fertilité inchangée. Poids prostate et vésicules séminales ↘ |
| Thoreux-Manlay et coll. (1995c)  | Rat               | 17 000<br>35 jours                     | Effet direct du plomb sur la stéroïdogénèse                                                                                                                                      |
| Wenda-Rozewicka et coll. (1996)  | Rat               | 1 200<br>9 mois                        | Ultrastructure du testicule inchangée                                                                                                                                            |
| Piasecka et coll. (1996)         | Rat               | 1 200<br>9 mois                        | Modification ultrastructurale des spermatozoïdes épididymaires                                                                                                                   |
| Ronis et coll. (1996)            | Rat               | 313<br>2 semaines                      | Testostérone ↘, LH sérique, hypophysaire ↘                                                                                                                                       |
| Piasecka et coll. (1997)         | Rat               | 1 200<br>9 mois                        | ↘ activité enzymes mitochondriales des spermatozoïdes                                                                                                                            |
| Hsu et coll. (1997)              | Rat               | 320-480<br>6 ou 9 semaines             | Espèces réactives de l'oxygène ↗ dans les spermatozoïdes épididymaires en corrélation négative avec l'aptitude des spermatozoïdes à pénétrer les ovocytes <i>in vitro</i>        |

**Tableau 7.III : Effets du plomb sur l'appareil reproducteur du rat mâle intoxiqué avant la puberté.**

| Auteurs                            | Animal           | Plombémie (µg/l)<br>Durée d'exposition                                          | Conséquences                                                                                            |
|------------------------------------|------------------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Wiebe et coll. (1982)              | Rat              | 63<br>du 9 <sup>ème</sup> jour <i>in utero</i> à<br>21 jours <i>post partum</i> | Synthèse des stéroïdes ↘                                                                                |
| Boscolo et coll. (1988)            | Rat<br>prépubère | 167<br>18 mois                                                                  | Spermatogenèse normale                                                                                  |
| Mc Givern et coll. (1991)          | Rat              | 640 à la naissance<br>3 <sup>ème</sup> semaine de gesta-<br>tion                | Production ↘ de spermatozoïdes (-20 %), pul-<br>sativité de LH et FSH modifiée chez quelques<br>animaux |
| Coffigny et coll. (1994)           | Rat              | 832 à la naissance<br><i>in utero</i>                                           | Production spermatique et hormonale normale<br>Fertilité normale                                        |
| Thoreux-Manlay<br>et coll. (1995b) | Rat              | 1 360<br><i>in utero</i><br>2 420<br>lactation                                  | Production spermatique ↘ de 20 %, production<br>hormonale et fertilité normales                         |
| Ronis et coll. (1996)              | Rat              | 2 500 à 3 000<br>du 5 <sup>ème</sup> jour de gestation<br>à 85 jours            | Testostérone ↘ (-65 %), LH hypophysaire ↗<br>LH sérique inchangée                                       |
|                                    | Rat              | 570<br>de 24 à 74 jours                                                         | Testostérone ↘ (-35 %), LH sérique ↘ (-30 %),<br>LH hypophysaire ↗                                      |

LH : hormone lutéinisante ; FSH : hormone folliculo-stimulante.

caractériser les spermatozoïdes (numération, motilité, morphologie) n'a été trouvée dans deux groupes de singes traités chroniquement de la naissance à l'âge de 15 à 20 ans, ayant des plombémies respectives de  $100T \pm 30 \mu\text{g/l}$  et  $560 \pm 490 \mu\text{g/l}$ . En revanche, une altération de la structure de la chromatine des spermatozoïdes a été observée dans les deux groupes, cette altération mesurée par cytométrie en flux augmentait avec la plombémie.

Chez la souris mâle, intoxiquée à l'âge adulte par ingestion d'une eau de boisson contenant 1 g/l de chlorure de plomb pendant 3 mois, ayant une plombémie moyenne de  $320 \mu\text{g/l}$ , aucun effet n'a été détecté sur le nombre ou la motilité des spermatozoïdes épидидymaires (Johansson et Wide, 1986 ; Johansson, 1989). De même, l'intoxication de mâles, depuis le premier jour de vie intra-utérine *via* la mère, jusqu'à l'âge de 60 jours par ingestion d'eau contaminée par 5 g/l d'acétate de plomb, conduisant à une plombémie moyenne de  $1\,320 \mu\text{g/l}$ , n'a pas entraîné de diminution significative de la production de spermatozoïdes ni d'augmentation du pourcentage de formes anormales (Pinon-Lataillade et coll., 1995). En revanche, une augmentation des formes anormales existe pour des ingestions de plomb plus importantes (10 g/l d'eau) pendant 8 semaines affectant la santé des animaux (Eyden et coll., 1978). Les expériences réalisées chez la souris ont permis d'observer une concentration du plomb dans les différents organes de l'appareil reproducteur

en particulier au niveau de l'épididyme ( $67 \pm 11 \mu\text{g/g}$ ) où se réalise la maturation spermatique, de l'hypothalamus ( $56 \pm 7 \mu\text{g/g}$ ) qui régule les sécrétions de LH et FSH et au niveau de la prostate ; les concentrations en plomb du testicule ( $11 \pm 4 \mu\text{g/g}$ ) et des vésicules séminales ont été plus faibles, ce qui suggère que le testicule ne serait pas la cible principale du plomb (Johansson et Wide, 1986).

Chez le rat adulte Sprague-Dawley, des intoxications de 1 à 2 mois, par ingestion d'acétate de plomb dans l'eau de boisson conduisant à des plombémies de 350 à 1 200  $\mu\text{g/l}$ , n'ont pas modifié l'histologie testiculaire en microscopie photonique, ni le nombre, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes épидидymaires (Nathan et coll., 1992 ; Pinon-Lataillade et coll., 1993). Même pour une plombémie moyenne de 17 000  $\mu\text{g/l}$  résultant d'injection ip de 8 mg/kg sur une période de 5 semaines, le nombre des spermatozoïdes n'a pas été modifié ; seul un retard dans la libération de quelques uns d'entre eux est observé dans l'épithélium séminifère, ce qui pourrait refléter une atteinte par le plomb de la fonction sertolienne (Thoreux-Manlay et coll., 1995a). Une seule expérience réalisée chez le rat Wistar jeune adulte de 52 jours intoxiqué pendant 30 jours par ingestion d'acétate conduisant à des plombémies moyennes de 300 et 600  $\mu\text{g/l}$  a rapporté une diminution du nombre des spermatozoïdes dans le testicule corrélée négativement ( $r = -0,807$   $p < 0,001$ ) avec l'accroissement de la plombémie de 100 à 700  $\mu\text{g/l}$  (Sokol et coll., 1985). Ce résultat pourrait refléter une plus grande sensibilité au plomb de la spermatogenèse des rats de cet âge comparativement aux rats adultes. Le plomb pourrait également agir au niveau épидидymaire où se produit une réduction du volume du liquide épидидymaire par absorption d'eau et mouvement d'ions, ce qui conduit à une augmentation de la concentration en spermatozoïdes. En effet, dans certaines études une réduction de l'ordre de 10 % (Sokol et coll., 1994) ou une augmentation du même ordre (Kempinas et coll., 1988) du nombre des spermatozoïdes épидидymaires a été notée sans qu'il y ait modification de la morphologie des spermatozoïdes ou de la spermatogenèse selon une observation classique en microscopie photonique. Comme chez la souris, l'accroissement du pourcentage de spermatozoïdes anormaux n'a été observé chez le rat Wistar que pour une forte intoxication (ingestion de 300 mg/kg d'acétate pendant 9 semaines) affectant la santé des animaux (Barratt et coll., 1989).

Dans une étude récente réalisée chez le rat Wistar adulte intoxiqué pendant 9 mois et ayant une plombémie voisine de 1 200  $\mu\text{g/l}$ , l'examen histologique du testicule n'a pas montré d'anomalies tant en microscopie photonique qu'électronique ; les éléments de la barrière hémato-testiculaire étaient bien conservés et le plomb n'a été identifié par micro-analyse aux rayons X que dans les macrophages (Wenda-Rozewicka et coll., 1996). Cependant, chez ces animaux, l'examen de coupes sériées au niveau de la tête et de la queue de l'épididyme a montré une diminution du nombre des spermatozoïdes dans la lumière du canal épидидymaire, l'épithélium épидидymaire n'apparaissant pas

modifié. Le plomb pourrait affecter les spermatozoïdes au niveau de l'épididyme (Marchlewicz et coll., 1993). Les spermatozoïdes de la queue de l'épididyme ont présenté des modifications ultrastructurales dans la pièce intermédiaire et la pièce principale, en particulier au niveau des mitochondries, des fibres denses et de l'axonème (Piasecka et coll., 1996). En revanche pour une plombémie plus faible de 350 µg/l obtenue chez des rats intoxiqués de 14 à 60 jours, aucune modification ultrastructurale n'a été observée dans les spermatozoïdes (Sokol et coll., 1994). Concernant le mécanisme, l'activité d'enzymes mitochondriales (isocitrate, malate et succinate déshydrogénases) était réduite ce qui pourrait entraîner une déficience du métabolisme énergétique et conduire à une perturbation des fonctions du spermatozoïde requérant de l'énergie, comme la motilité ou la réaction acrosomale qui précède la fécondation de l'ovocyte (Piasecka et coll., 1997). D'autre part, une étude a montré que le plomb activait la production d'espèces réactives de l'oxygène dans les spermatozoïdes épидидymaires de rats intoxiqués pendant 6 ou 9 semaines ayant une plombémie moyenne de 320 ou 480 µg/l ; cette production était négativement corrélée à l'aptitude des spermatozoïdes à pénétrer les ovocytes ( $p < 0,001$ ). Chez l'homme, ces espèces réactives de l'oxygène sont associées à une altération du pouvoir fécondant des spermatozoïdes (Hsu et coll., 1997). Une augmentation de la concentration en plomb dans les différents organes de l'appareil génital est également observée chez le rat, mais comme chez la souris elle est plus faible dans le testicule que dans l'épididyme, ou dans les glandes annexes : prostate et vésicules séminales (Thoreux-Manlay et coll., 1995a).

L'effet de l'âge au moment de l'intoxication a également été étudié. Concernant la production spermatique à l'âge adulte des animaux intoxiqués avant le sevrage, les modifications sont restées modestes. Chez le rat intoxiqué à partir du sevrage pendant 18 mois et dont la plombémie atteignait 167 µg/l, l'étude histologique du testicule en microscopie photonique et électronique n'a pas révélé d'anomalies excepté une augmentation de la taille des lysosomes des cellules de Sertoli (Boscolo et coll., 1988). La concentration du plomb dans les testicules de ces animaux a été négligeable comparativement à celle trouvée dans le cerveau, les reins ou le sang. L'intoxication au plomb après le sevrage a réduit la croissance des animaux ainsi que le poids des testicules, des épидидymes et des glandes annexes (Ronis et coll., 1996).

Le plomb est présent dans le lait maternel de la femelle intoxiquée et est donc susceptible de contaminer les nouveau-nés pendant l'allaitement. De même, il traverse la barrière placentaire pouvant ainsi contaminer le fœtus pendant la vie intra-utérine. A l'âge adulte, l'histologie des testicules des rats intoxiqués pendant la vie intra-utérine (plombémie 1 360 µg/l) ou la lactation (plombémie 2 420 µg/l) ne montrent pas d'anomalies. Seul le nombre des spermatozoïdes épидидymaires est réduit, non significativement, d'environ 20 % (Thoreux-Manlay et coll., 1995b) ou inchangé (Coffigny et coll., 1994). Une intoxication pendant la dernière semaine de gestation a conduit à la

même réduction (McGivern et coll., 1991) qui pourrait résulter de modifications irréversibles par le plomb au cours de l'établissement de la spermatogénèse.

Dans la nature, les poissons et les oiseaux peuvent également être intoxiqués par le plomb. Les poissons ont leur reproduction affectée en raison de l'abaissement du pH des eaux, dû en particulier aux pluies acides, pouvant favoriser la solubilité du plomb. Dans les conditions naturelles, les vairons (*Pimephales promelas*) se reproduisent pendant une brève période à la fin du printemps, début de l'été, et les alevins grandissent pendant l'été. Un court retard dans cette reproduction pourrait nuire à la survie de la population. L'intoxication en aquarium de ces vairons pendant 4 semaines dans une eau contenant 500 µg/l de plomb a montré que les effets apparaissaient en quelques jours. Chez ces vairons mâles, le plomb a diminué les caractères sexuels secondaires, s'est accumulé dans les testicules où la concentration moyenne était de 84 µg/g. Il a réduit le développement des testicules, en particulier le nombre de spermatocytes a été diminué. Le plomb a modifié également le comportement des mâles au cours de la période de reproduction, de façon variable avec l'âge d'exposition, les mâles ayant les caractères sexuels secondaires les plus développés étant les moins affectés (Weber, 1993).

Les oiseaux peuvent être contaminés par le plomb dans leur alimentation, l'eau, l'air et aussi par les plombs de chasse dispersés dans la nature ou introduits dans leur corps sans entraîner la mort immédiate. L'importance pour les écosystèmes est le maintien d'une population stable, or le plomb peut altérer la reproduction des oiseaux. Chez des oiseaux contaminés en laboratoire, il a été observé une réduction du poids des testicules et de la production des spermatozoïdes chez les mâles (Burger, 1995).

En résumé, les résultats de toutes ces études ont montré que chez l'animal adulte la production des spermatozoïdes était peu altérée même pour des plombémies de l'ordre de 1 200 µg/l. En revanche des modifications de la qualité des spermatozoïdes non détectables par examen des paramètres classiques (motilité et morphologie) ont été observées pour une plombémie moyenne de 100 µg/l chez le singe, 320 µg/l chez la souris, 320 et 1 200 µg/l chez le rat, ce qui pourrait affecter leur aptitude à féconder les ovocytes. Enfin il semblerait que le plomb réduise la spermatogénèse chez les poissons et les oiseaux mais les résultats trop peu nombreux demandent à être confirmer.

## **Effet du plomb sur les sécrétions d'hormones sexuelles chez le mâle**

Les effets d'une exposition au plomb sur les sécrétions d'hormones sexuelles, testostérone, LH, FSH, prolactine, ont été variables. Généralement les concentrations de testostérone ou de LH sont inchangées ou diminuées, celles de FSH et prolactine restant inchangées (tableaux 7.I, 7.II et 7.III).

## Données chez l'homme

Dans l'étude de Braunstein et coll. (1978), les patients ayant eu une plombémie de 880 µg/l ont une concentration de testostérone basale significativement diminuée comparativement au groupe témoin ( $p < 0,001$ ), de même que ceux ayant eu une plombémie de 800 µg/l ( $p < 0,05$ ). Les concentrations de LH, FSH et prolactine étaient inchangées mais après stimulation de l'hypophyse par le GnRH (*gonadotrophine releasing hormone*), seul le groupe possédant la plus forte plombémie a eu une sécrétion de LH inférieure à celle des témoins ( $p < 0,05$ ), la sécrétion de FSH étant normalement augmentée. Ceci reflète donc un défaut de la régulation de LH au niveau hypophysaire ou hypothalamique.

Dans une étude réalisée dans une fonderie de plomb en Espagne (Rodamilans et coll., 1988b), 18 ouvriers ont été classés selon leur durée d'exposition :  $< 1$  an, plombémie moyenne 660 µg/l ( $n = 5$ ) ; de 1 à 5 ans, 730 µg/l ( $n = 8$ ) et  $> 5$  ans, 760 µg/l ( $n = 10$ ). Le groupe témoin non exposé avait une plombémie moyenne de 143 µg/l. Comparativement aux témoins, les ouvriers exposés depuis plus de 5 ans ont présenté une diminution significative de la concentration sérique de testostérone ( $p < 0,01$ ) et de l'index de testostérone libre : ITL = concentration sérique de la protéine de liaison à la dihydrotestostérone/concentration sérique de testostérone ( $p < 0,001$ ), alors que pour une exposition de 1 à 5 ans seul l'ITL était réduit ( $p < 0,05$ ) ce qui suggère une corrélation entre la réduction de la stéroïdogenèse et la durée de l'exposition. La concentration de LH a été augmentée pour la plus courte exposition ( $p < 0,001$ ) et est restée au même niveau par la suite.

Pour des plombémies plus faibles ne dépassant pas 600 µg/l la concentration de testostérone a été inchangée (Assennato et coll., 1987 ; Mc Gregor et Masson, 1990, Alexander et coll., 1996 ; Aribarg et Sukcharoen 1996). Les concentrations plasmatiques ou sériques de LH ou FSH restent le plus souvent inchangées (Alexander et coll., 1996 ; Assennato et coll., 1987 ; Aribag et Sukcharoen, 1996 ; Gennart et coll., 1992a ; Weyandt et coll., 1996). Cependant dans une étude réalisée en Grande Bretagne (Mc Gregor et Masson, 1990) sur 90 ouvriers exposés ayant des plombémies de 170 à 770 µg/l (moyenne 460 µg/l) la LH a été diminuée et la FSH augmentée pour une plombémie supérieure à 470 µg/l. La prolactine quand elle a été dosée dans ces études n'était pas modifiée (Assennato et coll., 1987) ou légèrement augmentée transitoirement (Aribag et Sukcharoen, 1996). Ces résultats témoignent d'un effet complexe du plomb sur le système endocrinien probablement par l'intervention de son action au niveau hypothalamo-hypophysaire.

En résumé, il apparaît que chez l'homme la concentration de testostérone est diminuée pour des intoxications prolongées provoquant des plombémies élevées  $> 600$  µg/l. Cette diminution est probablement associée à une perturbation du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire. Pour des plombémies  $< 400$  µg/l le système endocrinien semble peu ou pas affecté, seule une augmentation transitoire de LH a été observée.

## Expérimentation animale

Les expériences réalisées par Foster et coll. (1993), chez le singe intoxiqué chroniquement par le plomb jusqu'à l'âge de 9 ans (plombémie 190 à 260 µg/l) ont montré une grande variabilité dans les réponses individuelles concernant les sécrétions d'hormones sexuelles mais des modifications, qui restent faibles cependant, sont apparues au niveau hypophysaire et testiculaire. Les concentrations basales de LH, FSH et testostérone n'ont pas été affectées par le traitement mais on a pu observer une réduction par rapport aux témoins des rapports des concentrations sériques de testostérone/LH et inhibine/FSH ( $p < 0,05$ ) reflétant des modifications des fonctions leydigienne et sertolienne, notamment chez les animaux intoxiqués à partir de l'adolescence ou durant la vie entière. Le fonctionnement de l'hypophyse paraît également affecté notamment chez les animaux exposés durant la vie entière, en raison de la diminution de la sécrétion de LH après une stimulation par le GnRH ( $p < 0,05$ ) comparativement aux animaux témoins. Les sécrétions de FSH et de testostérone n'ont pas été affectées après cette stimulation. Après une intoxication de 15 à 20 ans aucune modification de la concentration de testostérone sérique n'a été trouvée (Foster et coll., 1996a).

Les expériences réalisées pendant 3 mois chez la souris adulte (plombémie 320 µg/l) ou pendant la vie entière (plombémie 1 320 µg/l) ont montré que les concentrations plasmatiques des hormones gonadotropes LH et FSH n'étaient pas modifiées (Pinon-Lataillade et coll., 1995) de même que les concentrations plasmatiques de testostérone (Johansson et Wide, 1986 ; Pinon-Lataillade et coll., 1995). Cependant, dans une étude où la plombémie des animaux était voisine de 600 µg/l, une diminution de la concentration de testostérone et d'androstènedione testiculaire a été observée après respectivement 30 et 150 jours d'intoxication suggérant une atteinte par le plomb de certaines enzymes de la stéroïdogenèse (Rodamilans et coll., 1988a).

Chez le rat intoxiqué après la puberté, les concentrations plasmatiques ou sériques de testostérone ont été soit inchangées par rapport aux témoins pour des plombémies de 350 à 1 200 µg/l (Nathan et coll., 1992 ; Pinon-Lataillade et coll., 1993) soit diminuées de 35 à 70 % pour des plombémies de 600 à 17 000 µg/l (Sokol et coll., 1985 ; Thoreux-Manlay et coll., 1995a et c ; Ronis et coll., 1996). Les concentrations de FSH sont le plus souvent restées inchangées alors que celles de LH ont été soit inchangées pour des plombémies de 600 à 1 200 µg/l (Sokol et coll., 1985 ; Nathan et coll., 1992 ; Pinon-Lataillade et coll., 1993) soit significativement réduites pour des plombémies de 300 et 17 000 µg/l (Thoreux-Manlay et coll., 1995a et c ; Ronis et coll., 1996). Le fait qu'une réduction de 35 à 70 % de la concentration de testostérone n'entraîne pas une augmentation de la concentration de LH laisse supposer que le rétrocontrôle négatif de la testostérone au niveau hypothalamo-hypophysaire est perturbé par le plomb. Afin de vérifier cette hypothèse Klein et coll. (1994) ont déterminé les quantités d'ARN messager de GnRH et de LH, respectivement dans l'hypothalamus et l'hypophyse de

rats intoxiqués par le plomb de plombémie moyenne de 420, 550 et 1 000  $\mu\text{g/l}$ . La quantité de ces ARN augmente jusqu'à atteindre un facteur 2 à 3 pour la plombémie de 550  $\mu\text{g/l}$  puis se stabilise ensuite pour LH ou continue d'augmenter pour GnRH. La concentration de LH hypophysaire est également augmentée dans les mêmes proportions, ce qui a conduit ces auteurs à émettre l'hypothèse de l'interférence du plomb avec le relargage des hormones hypophysaires. Ces modifications pourraient selon ces auteurs résulter d'une compétition du plomb avec le cation  $\text{Zn}^{2+}$  qui est présent sur les récepteurs à doigt de zinc des stéroïdes.

Cette action du plomb au niveau hypothalamo-hypophysaire, si elle entraîne une diminution des concentrations de LH circulante, peut indirectement diminuer la production de testostérone par les cellules de Leydig. D'autre part, l'action inhibitrice directe du plomb sur la stéroïdogenèse a été montrée *in vitro* et *in vivo* sur des animaux fortement exposés pour amplifier les effets du plomb. *In vitro*, pour des concentrations comprises entre 100 et 500  $\mu\text{M}$ , l'acétate de plomb inhibe de façon dose dépendante la synthèse de progestérone et de testostérone par les cellules de Leydig isolées de rats adultes. *Ex vivo*, la production de testostérone par des cellules de Leydig isolées de testicules de rats fortement intoxiqués par le plomb (plombémie 17 000  $\mu\text{g/l}$ ), stimulées ou non par hCG, était également significativement réduite ( $p < 0,01$ ) ce qui confirme qu'à forte dose le plomb peut avoir une action directe sur la cellule de Leydig (Thoreux-Manlay et coll., 1995c). *In vivo*, par immunohistochimie chez des animaux fortement intoxiqués il a été montré que les effets négatifs du plomb sur la production de progestérone et de testostérone étaient dûs principalement à la diminution de l'expression de l'enzyme cytochrome P450c17(CYP17) qui catalyse l'hydroxylation en 17 $\alpha$  de la progestérone puis sa transformation en androstènedione précurseur immédiat de la testostérone. L'expression de l'enzyme cytochrome P450sc (CYP11A1), qui coupe la chaîne latérale du cholestérol était également réduite mais plus faiblement ainsi que celle de la 3 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (3- $\beta$ HSD) qui catalyse la conversion de la prègnénolone en progestérone (Thoreux-Manlay et coll., 1995c).

Chez le rat contaminé pendant la dernière semaine de gestation et examiné à l'âge adulte, la pulsatilité (fréquence et amplitude des pics) de la LH et de la FSH a été modifiée chez 3 animaux sur 13 suggérant une altération persistante de l'axe hypothalamo-hypophysaire qui, compte tenu du faible effectif d'animaux, nécessite d'être vérifiée (Mc Givern et coll., 1991). Ce résultat peut suggérer l'importance de la susceptibilité individuelle au plomb. Dans une autre expérience, des rats intoxiqués soit *in utero* (plombémie à la naissance 830 ou 1 360  $\mu\text{g/l}$ ) soit pendant la lactation (plombémie au sevrage 2 420  $\mu\text{g/l}$ ) n'ont pas présenté d'anomalie du point de vue des concentrations plasmatiques des hormones sexuelles à l'âge adulte (Coffigny et coll., 1994 ; Thoreux-Manlay et coll., 1995b). Il a cependant été montré que la synthèse des stéroïdes, indispensables à l'établissement de la spermatogenèse, ainsi que

la liaison de la FSH à ses récepteurs sur les cellules de Sertoli étaient diminuées dans les testicules de rats âgés de 21 jours et intoxiqués par le plomb depuis le 9<sup>ème</sup> jour de vie *in utero* jusqu'à 21 jours post-partum (Wiebe et coll., 1982, ce qui pourrait éventuellement perturber l'établissement de la spermatogenèse et justifier les diminutions de l'ordre de 20 % de la production des spermatozoïdes observées parfois à l'âge adulte chez les animaux exposés *in utero* ou pendant la lactation. Un retard d'environ 2 jours dans la descente des testicules après une exposition pendant la lactation a également été observé, qui pourrait refléter un effet du plomb sur l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire (Yu et coll., 1996).

Lorsque l'intoxication a eu lieu du 5<sup>ème</sup> jour de vie intra-utérine jusqu'à l'âge de 85 jours (plombémie de 2 500 à 3 000 µg/l) les concentrations sériques de testostérone ont été réduites de 65 % sans modification de celles de LH, ce qui reflète un effet direct du plomb au niveau testiculaire sur la stéroïdogénèse dans la cellule de Leydig, mais en raison d'une augmentation de la quantité de LH hypophysaire de 65 % sans modification de son ARN messenger, un effet du plomb au niveau hypophysaire pourrait aussi exister (Ronis et coll., 1996). Lorsque l'exposition a lieu du sevrage à 74 jours (plombémies 570 µg/l) les mêmes tendances dans les modifications hormonales sont observées : la testostérone est diminuée de 40 %, la LH sérique est abaissée de 30 % ( $p < 0,005$ ) et la LH hypophysaire augmentée de 63 % tout comme l'ARN messenger correspondant ( $p < 0,05$ ). Il semble que l'allongement de l'intoxication sur la vie de l'animal a surtout pour effet de réduire la production de testostérone (Ronis et coll., 1996).

La prostate et les vésicules séminales, qui concentrent le plomb et dont le poids est souvent réduit après intoxication, pourraient également être un site d'action de ce métal. Le développement et la maintenance de ces organes étant sous la dépendance des androgènes, l'action du plomb pourrait être indirecte *via* la diminution de la concentration de testostérone, ou directe, le plomb inhibant la liaison des androgènes à leurs récepteurs par compétition ionique (Barratt et coll., 1989 ; Nathan et coll., 1992 ; Thoreux-Manlay et coll., 1995a).

En résumé, l'intoxication chronique du singe entraînant une plombémie  $< 300$  µg/l a montré une grande variabilité dans les réponses individuelles concernant la sécrétion des hormones sexuelles. Cependant une altération modeste des fonction leydigienne, sertolienne et hypophysaire semble exister. Chez le rat ou la souris, la concentration de testostérone circulante est diminuée surtout pour des fortes plombémies mais parfois aussi pour des plombémies de 300 µg/l. La concentration de LH est également diminuée. Une intoxication *in utero* ou pendant la lactation n'a pas ou peu affecté la sécrétion des hormones sexuelles à l'âge adulte : certaines études rapportent une modification de la pulsatilité des hormones gonadotropes ou un retard dans la descente des testicules. Le prolongement de l'intoxication *in utero* après la naissance a pour effet de diminuer la concentration de testostérone et

de perturber la concentration de LH sérique ou hypophysaire traduisant une action du plomb sur le testicule et l'axe hypothalamo-hypophysaire.

## Effet du plomb sur la fertilité du mâle

Les effets du plomb sur la fertilité ont été peu étudiés chez les travailleurs exposés (tableau 7.IV).

**Tableau 7.IV : Effets du plomb sur la fertilité masculine.**

| Auteurs                 | Population<br>Exposition<br>Pays<br>N                         | Plombémie (µg/l)<br>Durée d'exposition | Conséquences                                                                                 |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Coste et coll. (1991)   | Batteries<br>France<br>229                                    | < 400 à > 600<br>4 ans                 | Nombre de naissances comparable chez exposés et témoins                                      |
| Gennart et coll. (1992) | Batteries<br>Belgique<br>74                                   | 463<br>10,7 ans                        | ↘ naissances chez les exposés                                                                |
| Lin et coll. (1996)     | Industrie du Pb<br><i>Heavy Metal Registry</i> , USA<br>4 256 | 372<br>11 ans                          | ↘ naissances chez les exposés, accentuée par la chronicité de l'exposition à partir de 5 ans |

## Données chez l'homme

L'étude de Coste et coll. (1991) réalisée dans une fabrique de batteries française montre que le nombre de naissances observées pendant quatre ans, chez 229 sujets exposés dont les plombémies s'évaluaient de moins de 400 à plus de 600 µg/l a été comparable à celui des témoins. En revanche, pour une plombémie moyenne semblable, de 463 µg/l, une étude menée pendant deux ans sur 74 ouvriers d'une fabrique de batterie en Belgique, a conduit à l'observation de la diminution de leur fertilité comparativement à un groupe témoin de 138 hommes (Gennart et coll., 1992b).

L'étude la plus importante a été réalisée dans l'Etat de New-York (Lin et coll., 1996). Elle a comparé la fertilité de 4 256 ouvriers de l'industrie du plomb répertoriés dans le « *Heavy Metal Registry* » à celle de 5 148 témoins conducteurs d'autobus de l'état de New-York. La plombémie moyenne était de 372 µg/l et l'étude a porté sur une durée de 11 ans. Cette étude a montré que le nombre des naissances dans le groupe des ouvriers exposés était inférieur à celui attendu comparativement au groupe de référence (ratio de fertilité standardisé : SFR = 0,88, intervalle de confiance à 95 %, IC 95 % 0,81-0,95). L'existence d'une relation dose effet entre la plombémie moyenne

et la fertilité n'a pas été trouvée mais cette étude montre un effet chronique de l'exposition au plomb sur la fertilité : les ouvriers ayant la plus longue exposition > 5 ans ont le SFR le plus faible (SFR = 0,43, IC 95 % 0,31-0,59). Même après ajustement pour l'âge, la race, l'éducation, la résidence, les travailleurs exposés depuis plus de 5 ans ont une probabilité de paternité plus faible que ceux exposés moins longtemps : risque relatif 0,38 ; IC 95 % 0,23-0,61. Cependant, les auteurs mentionnent qu'ils n'ont pas eu la possibilité de contrôler les facteurs de confusion tels que le statut marital ou l'utilisation de contraceptifs.

Une exposition paternelle au plomb semble être associée à une petite augmentation du risque d'avortement spontané dans deux études où les plombémies moyennes étaient voisines de 500 à 600 µg/l. Ce risque augmenterait avec la plombémie et serait aussi accru par la consommation d'alcool du père et de tabac de la mère (Anttila et Sallmen, 1995). En revanche l'association de malformations congénitales avec l'exposition paternelle au plomb n'apparaît pas nettement, les avortements spontanés se produisant sans doute prioritairement (Sallmen et coll., 1992 ; Cordier et Goujard, 1994).

L'effet génotoxique du plomb n'est pas clairement démontré. Un des mécanismes possibles pour sa génotoxicité pourrait être une action indirecte résultant de son interférence avec les processus de réparation de l'ADN, par une action sur les protéines de réparation (Winder et Bonin, 1993). Une étude réalisée chez 9 témoins et 20 imprimeurs soit fumeurs (n = 6) soit soumis à une pollution par le plomb (n = 7) soit exposés au plomb et fumeurs (n = 7) a montré que le plomb augmentait moins la fréquence des échanges de chromatides sœurs dans les lymphocytes que le tabac ; l'association plomb tabac a donné les mêmes résultats que le tabac seul : elle inhibe les mitoses des lymphocytes (Rajah et Ahuja, 1995).

### Expérimentation animale

Chez l'animal, les études (tableaux 7.II et 7.III) ont montré que la fertilité des souris mâles intoxiquées à l'âge adulte a été soit inchangée comparativement à un groupe témoin (Pinon-Lataillade et coll., 1995) soit diminuée ce qui s'est traduit par une diminution du nombre des femelles gravides (Johansson et Wide, 1986). Aucune augmentation des malformations chez les fœtus n'a été observée. Les études réalisées sur le pouvoir fécondant *in vitro* des spermatozoïdes de ces mâles ont montré qu'ils avaient une capacité réduite à féconder les ovocytes de souris, associée probablement à une diminution de la survie des œufs fécondés au moment de l'implantation (Johansson et coll., 1987). D'autre part ces auteurs ont montré que l'exposition au plomb augmentait la stabilisation de la chromatine des spermatozoïdes du canal déférent ce qui pouvait entraîner un retard dans la décondensation de leur noyau après la fécondation de l'ovocyte et par suite interférer avec la fertilité de la souris (Johansson et Pelliciani, 1988). La réduction de fertilité des mâles après exposition au plomb pourrait donc être due à une interaction perturbée du

spermatozoïde avec l'ovocyte (Johansson, 1989). Des pertes post-implantatoires peuvent s'ajouter aux pertes préimplantatoires. Elles ont été observées à la suite d'une forte intoxication des mâles à partir du sevrage par ingestion d'oxyde de plomb (50 mg/kg) pendant 35 jours (Al-Hakkak et coll., 1988).

La fertilité des rats mâles intoxiqués modérément par l'acétate de plomb à l'âge adulte pendant des périodes de 60 à 130 jours, ou pendant 35 jours à forte dose n'a pas été affectée contrairement à certaines observations chez la souris (Zirkin et coll., 1985 ; Pinon-Lataillade et coll., 1993 ; Thoreux-Manlay et coll., 1995a). Seuls des mâles exposés au plomb, par ingestion d'aliments contenant 1 % d'acétate de plomb, depuis le premier jour de vie intra-utérine jusqu'à l'âge adulte ont engendré des portées dont la taille étaient réduite de 15 %. Le poids des nouveau-nés était réduit de 12 % et la survie à l'âge du sevrage réduite de 18 % par rapport aux témoins (Stowe et Goyer, 1971). Cependant, une expérience a montré une altération du pouvoir fécondant *in vitro* des spermatozoïdes épидидymaires de rats exposés au plomb par ingestion d'acétate pendant 14, 30 ou 60 jours et ayant une plombémie moyenne de 350 µg/l. Leur aptitude à pénétrer des ovocytes *in vitro* était significativement réduite d'environ 20 % ainsi que leur aptitude à les féconder, et ceci indépendamment du temps d'intoxication (Sokol et coll., 1994).

L'intoxication *in utero* ou pendant la lactation de rats mâles n'a eu aucun effet sur leur fertilité, en particulier après accouplement avec des femelles ayant subi la même intoxication, la taille des portées, le poids des nouveau-nés et le sex-ratio (nombre de fœtus mâles / nombre total de fœtus) étaient comparables à ceux observés chez des rats témoins (Coffigny et coll., 1994 ; Thoreux-Manlay et coll., 1995b). Ces résultats montrent que, chez le rat, malgré une plombémie > 1 000 µg/l, une intoxication limitée à la période *in utero* ou à la lactation ne provoque pas de dommages irréversibles susceptibles d'affecter la fertilité.

Afin de tester l'hypothèse d'un effet génotoxique du plomb sur les cellules germinales mâles la fréquence de mutations létales dominantes a été étudiée après traitement de souris mâles par le chlorure de plomb seul pendant 6 semaines (plombémie de 400 à 600 µg/l) ou par le chlorure de plomb plus une injection de cyclophosphamide de 120 mg/kg 7 jours avant l'accouplement, ou par le cyclophosphamide seul. Le cyclophosphamide est connu comme étant un agent mutagène des spermatides allongées et des spermatozoïdes. Les animaux traités ont été accouplés avec des femelles non traitées. Pour les mâles traités par le plomb seul, aucune différence n'a été observée concernant le nombre d'implant ou de pertes post-implantatoires (résorptions fœtales). Chez les mâles traités par le cyclophosphamide seul, une diminution significative ( $p < 0,005$ ) de la taille des portées, du nombre d'implants vivants et une augmentation des résorptions fœtales ont été observées qui ne différaient pas de celles observées chez les animaux traités par le plomb plus le

cyclophosphamide. Les auteurs ont conclu à la non influence par le plomb de la mutagénicité du cyclophosphamide dans le test de dominance létale (Kristensen et coll., 1993).

En résumé, les études portant sur la fertilité des souris ou des rats mâles intoxiqués par le plomb ont montré que ce métal pouvait réduire la taille des portées, surtout pour des expositions vie entière chez le rat. *In vitro*, une réduction du pouvoir fécondant des spermatozoïdes a été observée.

## **Effets du plomb sur l'ovaire et le développement des follicules**

Les seules études réalisées (tableau 7.V) l'ont été chez l'animal. Chez la souris, l'intoxication de la femelle par différentes doses d'acétate de plomb administrées par gavage conduisant à des plombémies moyennes respectives de 223, 410 et 565  $\mu\text{g/l}$  a montré que le développement et la maturation des follicules pouvait être affectés. Une diminution significative du nombre des petits follicules et des follicules intermédiaires même pour la plus faible plombémie a été observée, les grands follicules étant principalement affectés pour la plus forte plombémie. L'atrésie folliculaire est accrue pour les follicules intermédiaires et elle augmente avec la plombémie. Pour la plus forte plombémie les grands follicules montrent également différents degrés d'atrésie (Junaid et coll., 1997). De même, chez de jeunes rates de 22 jours, nées de mère ayant reçu une alimentation contenant 1 % d'acétate de plomb avant, pendant et après la gestation, l'examen des ovaires a montré un nombre réduit de follicules en développement, comparativement aux animaux témoins (Stowe et Goyer, 1971).

En résumé, l'intoxication par le plomb à l'âge adulte, entraînant des plombémies de 200  $\mu\text{g/l}$  ou plus, a affecté la croissance et le développement des follicules chez la souris. Cette même altération est observée chez de jeunes rates intoxiquées *in utero* et pendant la lactation par l'intermédiaire de leurs mères.

## **Effets du plomb sur les sécrétions d'hormones sexuelles chez la femelle**

Les résultats des différentes études réalisées chez l'animal sont résumés dans le tableau 7.V. Chez le singe femelle après une exposition prolongée au plomb (10 ans), pour une plombémie de 350  $\mu\text{g/l}$  tolérée en exposition professionnelle humaine, une diminution des concentrations plasmatiques des pics de LH, FSH et d'œstradiol a été observée pendant la phase folliculaire, mais l'ovulation a été maintenue. Dans ces conditions aucune modification de la sécrétion de progestérone n'a été décelée (Foster et coll., 1992). En revanche pour des expositions de 15 à 20 ans une diminution d'environ 40 %

**Tableau 7.V : Effets du plomb sur l'appareil reproducteur de la femelle chez le singe, la souris et le rat.**

| Auteurs                             | Animal | Plombémie (µg/l)<br>Durée d'exposition                                                 | Conséquences                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------|--------|----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Franks et coll.<br>(1989)           | Singe  | 700<br>33 mois                                                                         | Progestérone ↓, ovulation maintenue                                                                                                                                                            |
| Foster et coll.<br>(1992)           | Singe  | 350<br>10 ans                                                                          | LH, FSH, œstradiol ↓, ovulation maintenue                                                                                                                                                      |
| Foster et coll.<br>(1996b)          | Singe  | 100-150<br>15-20 ans                                                                   | Pas d'effet détecté                                                                                                                                                                            |
|                                     |        | 250-300                                                                                | Progestérone ↓                                                                                                                                                                                 |
| Jacquet et coll.<br>(1975)          | Souris | Alimentation avec 0,5 % Pb<br>Toute la gestation                                       | Pertes préimplantatoires, morts fœtales<br>↓ poids des nouveau-nés                                                                                                                             |
|                                     |        | Alimentation avec 0,25 %Pb                                                             | Pas de mort fœtale                                                                                                                                                                             |
| Pinon-Lataillade et<br>coll. (1995) | Souris | #1 000<br><i>in utero</i> + 60 jours                                                   | Fertilité ↓, pertes préimplantatoires                                                                                                                                                          |
| Junaid et coll.<br>(1997)           | Souris | 223<br>60 jours                                                                        | ↓ développement et de la maturation<br>des follicules petits et moyens                                                                                                                         |
|                                     |        | 410 et 565                                                                             | Mêmes observations et altération des<br>grands follicules                                                                                                                                      |
| Stowe et Goyer<br>(1971)            | Rat    | Alimentation avec 1 % d'acétate de plomb<br>Gestation + vie                            | Taille des portées ↓ par pertes préim-<br>plantatoires. Poids nouveau-né ↓<br>(-26 %), survie ↓ (-45 %)                                                                                        |
| Mc Givern et coll.<br>(1991)        | Rat    | de 520 à 920<br>dernière semaine de gestation                                          | Poids des ovaires réduit, cycles œs-<br>triens perturbés pour 50 % des femel-<br>les, pulsatilité de LH, FSH perturbée<br>chez certains animaux, retard de<br>l'ouverture vaginale (+ 2 jours) |
| Thoreux-Manlay et<br>coll. (1995b)  | Rat    | 1 300<br>toute la gestation                                                            | Pas d'effet détecté                                                                                                                                                                            |
|                                     |        | 2 400<br>lactation                                                                     |                                                                                                                                                                                                |
| Ronis et coll.<br>(1996)            | Rat    | Eau de boisson 6 g/l d'acétate de Pb<br>A partir du 5 <sup>ème</sup> jour de gestation | Morts fœtales, réduction du poids des<br>nouveau-nés (-26 %) à J + 5                                                                                                                           |
|                                     | Rat    | 500<br>2 semaines entre 60 et 85 jours                                                 | Pas d'effet détecté                                                                                                                                                                            |
|                                     | Rat    | 632<br>24 à 74 jours                                                                   | Retard dans l'ouverture vaginale (+ 2 j)                                                                                                                                                       |
|                                     | Rat    | 2 640<br>du 5 <sup>ème</sup> jour de vie <i>in utero</i> à 85 jours                    | LH sérique et hypophysaire ↓ (-25 et<br>- 60 %), œstradiol - 50 %<br>Ouverture vaginale retardée (+ 20 j)<br>Cycles œstriens anormaux                                                          |

LH : hormone lutéinisante ; FSH : hormone folliculo-stimulante

( $p < 0,04$ ) des concentrations plasmatiques de progestérone a été observée pendant la phase lutéale pour une plombémie de 250 à 300 µg/l alors 163

qu'aucune modification n'est observée pour une plombémie de 100-150 µg/l (Foster et coll., 1996b). Ce résultat confirme la diminution de la sécrétion de progestérone de 40 % observée pour une exposition de 33 mois ayant entraîné une plombémie plus élevée de 700 µg/l chez le singe Rhésus. Chez ces femelles l'ovulation était également maintenue (Franks et coll., 1989).

Chez la rate adulte intoxiquée de l'âge de 60 à 85 jours par ingestion d'une eau contaminée conduisant à une plombémie moyenne de 500 µg/l aucune modification des sécrétions d'œstradiol ou de LH n'a été observée, de même lorsque l'exposition a eu lieu du sevrage (24 jours) à 74 jours *post partum* (plombémie 632 µg/l). En revanche lorsque de fortes anomalies ont été observées l'exposition a commencé au 5<sup>ème</sup> jour de gestation et a été poursuivie jusqu'à l'âge de 85 jours (plombémie 2 640 µg/l) ce qui suggère que le plomb pendant la vie *in utero* et la lactation cause des dommages qui seront conservés voire amplifiés si l'exposition à ce polluant persiste durant la vie. Une diminution significative ( $p < 0,005$ ) de la LH sérique (25 %) et hypophysaire (60 %) a été observée ainsi qu'une réduction des concentrations d'œstradiol de 50 % ( $p < 0,06$ ). Dans ces deux dernières expériences commencées *in utero* ou après le sevrage, l'ouverture vaginale a été retardée ; ce retard de quelques jours pour l'exposition commencée après le sevrage a pu atteindre 20 jours pour l'exposition commencée *in utero*, de plus, pour 89 % des femelles les cycles œstriens étaient anormaux mais la fertilité de ces femelles n'a pas été testée (Ronis et coll., 1996). Lorsque l'exposition a été limitée à la dernière semaine de gestation (McGivern et coll., 1991) ou à la période de lactation, un retard dans l'ouverture vaginale de l'ordre de 2 jours a aussi été observé (Yu et coll., 1996). Ce retard dans l'expérience de Mc Givern et coll. (1991) pourrait être imputable à une modification de la pulsatilité des hormones gonadotropes observées chez 30 % des animaux à l'âge adulte mais ce résultat demande à être confirmé compte tenu du petit nombre (6) de femelles intoxiquées testées. Néanmoins tous ces résultats sont compatibles avec une action du plomb au niveau hypothalamo-hypophysaire doublée d'une action directe au niveau de la stéroïdogénèse dans la gonade.

En résumé, l'intoxication chronique chez le singe pendant 10 à 20 ans, entraînant une plombémie modérée voisine de 300 µg/l, pourrait affecter l'ovaire et modifier la sécrétion d'œstradiol et de progestérone ainsi que l'axe hypothalamo-hypophysaire en perturbant les sécrétions des hormones gonadotropes. Les résultats observés chez la rate confirment ceux observés chez le singe mais seulement lorsque l'intoxication « vie entière » a commencé *in utero* ce qui montre la toxicité du plomb pendant la période prénatale.

## Effets du plomb sur la gestation, le fœtus et la fertilité

Chez la femme enceinte les effets délétères du plomb résultant d'une forte intoxication professionnelle ont été décrits depuis près d'un siècle : avortement, mort fœtale, enfant mort-né, microcéphalie. Il a été clairement montré

que le placenta n'est pas une barrière au passage du plomb et la plombémie du sang du fœtus (cordon ombilical) est souvent comparable à celle de la mère, mais on ignore si la perméabilité du placenta au plomb est constante pendant toute la gestation. Le transfert placentaire du plomb est commencé dès la 14<sup>ème</sup> semaine de gestation chez la femme et le plomb s'accumule ensuite dans les tissus du fœtus, principalement le squelette et les reins, tout au long de la gestation (Bentur et Koren, 1991). Pendant la grossesse, le plomb stocké dans le squelette de la mère peut être mobilisé et transféré au fœtus. Cette mobilisation pourra être accrue par une déficience en fer et en calcium. Ainsi la dose fœtale reflète non seulement le transfert du plomb dérivé de la mère au fœtus, associé avec l'exposition de la mère pendant la grossesse, mais aussi le transfert du plomb stocké par la mère dans ses os avant la grossesse. Le plomb osseux est donc une source de contamination pour le fœtus mais aussi pour le nouveau-né pendant l'allaitement, car le plomb est aussi présent dans le lait maternel à des concentrations supérieures à celles trouvées dans le plasma au même moment, et la cinétique du plomb dans l'os suit celle du calcium pendant la gestation et la lactation (Silbergeld, 1991).

### Données chez la femme

Ces dernières années les études ont été consacrées à l'effet des expositions chroniques à faibles doses, autres que celles d'origine professionnelles afin de vérifier si des doses inférieures à la limite admise pouvaient être dommageables pour le fœtus. Les données sont rassemblées dans le tableau 7.VI.

**Tableau 7.VI : Effet du plomb sur la gestation chez la femme.**

| Auteurs                   | Exposition                                           | Conséquences                                                                 |
|---------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Bentur et Koren (1991)    | Forte dose de plomb avant et/ou pendant la grossesse | Avortement, mort fœtale, malformation, troubles neurologiques                |
| Murphy et coll. (1990)    | Kosovo, plombémie moyenne : 155 µg/l                 | Pas de risque accru d'avortement spontané comparativement à un groupe témoin |
| Bellinger et coll. (1991) | Boston (USA), plombémie < 150 µg/l                   | Poids de naissance normal, durée de gestation normale                        |

Bellinger et coll. (1991) ont étudié la relation entre l'exposition prénatale à faible dose, la croissance fœtale ou la durée de la gestation sur un échantillon de 4 354 femmes enceintes qui ont accouché dans un hôpital de Boston (USA). L'association a été estimée par analyse de régression multiple. Des ajustements pour de nombreux facteurs ont été effectués (âge de la mère, éducation, race, statut marital, consommation de tabac, de vin, d'alcool, de café...). En fonction de la plombémie du sang du cordon ombilical, les

nouveau-nés ont été classés en 4 groupes 0-49, 50-99, 100-149 et  $\geq 150 \mu\text{g/l}$ . Le poids de naissance moyen normal a été établi à 3 311,9 g et la durée moyenne de gestation à 39,7 semaines. Un accouchement avant la 37<sup>ème</sup> semaine est considéré comme prématuré et un poids de naissance inférieur à 2 500 g est considéré comme « faible ». Les résultats de l'analyse montrent que si on compare les enfants ayant une plombémie  $\leq 150 \mu\text{g/l}$  à ceux ayant une plombémie  $\leq 50 \mu\text{g/l}$  ils n'ont pas un risque accru d'avoir une croissance fœtale affectée par le plomb. Pour des plombémies  $\geq 150 \mu\text{g/l}$  un risque modeste peut exister : la moyenne ajustée du poids de naissance était inférieure de 80 à 100 g à celle des autres groupes.

Une étude réalisée chez 304 femmes du Kosovo habitant près d'une fonderie de plomb et ayant une plombémie moyenne de  $155 \mu\text{g/l}$  n'a pas montré d'augmentation du risque d'avortement spontané, comparativement à un groupe témoin de 335 femmes (Murphy et coll., 1990) et contrairement à ce qui a été observé pour des plombémies plus élevées voisines de  $500 \mu\text{g/l}$  (Winder, 1993).

En ce qui concerne les malformations congénitales associées à l'exposition maternelle, elles se manifestent le plus souvent par des troubles neurologiques qui pourraient intervenir pour des faibles doses. Une étude récente effectuée dans le Nord-ouest de la Grande Bretagne rapporte que des malformations du tube neural pourraient être associées à la consommation d'eau contenant  $10 \mu\text{g/l}$ , ou plus, de plomb et à une déficience en acide folique et en zinc (Bound et coll., 1997).

D'autre part, d'après une étude préliminaire, les femmes ayant eu une intoxication au plomb dans leur enfance présenteraient un risque accru d'avoir des avortements spontanés ou des enfants mort-nés ou encore des enfants présentant un handicap dans l'apprentissage de la lecture (Hu, 1991).

### Données expérimentales

Le plomb administré à forte dose, chroniquement ou en dose unique, pendant la gestation chez la souris ou le rat a entraîné des morts fœtales et des malformations (tableau 7.V). En fait d'après les travaux de McClain et Becker (1975) rapportés par Kelman et Walter (1980), le plomb produit des malformations à des périodes spécifiques de la gestation. Chez le rat, une dose intraveineuse de  $35 \text{ mg/kg}$  de nitrate de plomb au 9<sup>ème</sup> jour de gestation produit des malformations. Du 10 au 15<sup>ème</sup> jour de gestation le nitrate de plomb est embryotoxique mais pas tératogène. Les lésions du système nerveux se produisent au 16<sup>ème</sup> jour de gestation pour une dose aussi faible que  $15 \text{ mg/kg}$ . Après le 16<sup>ème</sup> jour la toxicité fœtale diminue. Pour des intoxications modérées pendant la gestation les morts fœtales ne sont pas toujours observées ; la durée de la gestation n'est pas modifiée par rapport aux témoins ni le sex-ratio des nouveau-nés, mais leur poids à la naissance et leur survie sont significativement réduits.

Une expérience récente a en effet montré que le plomb était potentiellement tératogène chez le rat. Des embryons de rats exposés au plomb *in vivo* au 9,5<sup>ème</sup> jour de gestation par injection ip à la mère d'une forte dose d'acétate de plomb (50 mg/kg) puis explantés 24 h plus tard et cultivés *in vitro* pendant 24 h ont présenté une croissance réduite par rapport aux témoins et des malformations, comme l'ouverture du tube neural. Lorsque des embryons de rats de 9,5 jours ont été cultivés pendant 48 h *in vitro* dans un milieu contenant des concentrations fortes et croissantes de plomb de 30,68 mg/l à 86,64 mg/l ils ont présenté une croissance réduite, une inhibition du développement des somites et des bourgeons des membres, une diminution de la synthèse des protéines et d'ADN ainsi que des malformations dans le cerveau et le cœur. Ces effets augmentaient avec la dose de plomb (Zhao et coll., 1997).

Chez la souris adulte gravide recevant une forte dose de plomb par injection ip, des morts fœtales et des anomalies du squelette ont été rapportées par Winder (1993). Ces malformations étaient exacerbées par une déficience en calcium. De même chez des souris recevant une alimentation contenant 0,5 % de plomb à partir du 1<sup>er</sup> jour de gestation on a observé une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) du nombre de morts fœtales ainsi qu'une diminution du poids des fœtus à la fin de la gestation. De telles anomalies n'ont pas été observées quand la dose de plomb était de 0,25 % (Jacquet et coll., 1975).

L'intoxication de la souris gravide pendant toute la gestation par absorption d'eau contenant 5 g/l d'acétate de plomb n'a pas eu d'influence sur la durée de la gestation ou la taille des portées comparativement à un groupe témoin mais le poids des nouveau-nés était significativement réduit de 11 %. Le nombre de morts postnatales a été significativement augmenté chez ces nouveau-nés jusqu'à l'âge du sevrage à 23 jours : 20 % *versus* 1,8 % (Pinon-Lataillade et coll., 1995).

La fertilité des femelles souris intoxiquées par ingestion d'eau contenant 5 g/l d'acétate de plomb depuis le premier jour de vie intra-utérine jusqu'à l'âge de 60 jours a été significativement modifiée. Lors de leur accouplement avec des mâles normaux : la taille des portées et le nombre de points d'implantations dans l'utérus ont été réduits de 23 et 18 % respectivement ( $p < 0,05$ ) par rapport aux témoins, alors que la fertilité des mâles soumis au même traitement n'a pas été modifiée. Aucune différence significative par rapport au groupe témoin n'a été notée dans le nombre des pertes post-implantatoires ou des grosses malformations (Pinon-Lataillade et coll., 1995).

Chez la rate gravide intoxiquée pendant la gestation à partir du 5<sup>ème</sup> jour de gestation par ingestion d'une eau de boisson contenant 6 g/l d'acétate de plomb une augmentation significative du nombre de fœtus mort-nés (19 % *versus* 2 %) et une réduction du poids des nouveau-nés de 28 % à l'âge de 5 jours ont été observées (Ronis et coll., 1996). Dans une étude plus ancienne (Stowe et Goyer, 1971) les rates intoxiquées par une alimentation contenant 1 % d'acétate de plomb depuis le premier jour de vie intra-utérine jusqu'à

l'âge adulte, accouplées à des mâles normaux, ont eu des portées dont la taille était réduite de 26 % (alors qu'une réduction de 15 % a été observée chez les mâles) résultant d'une diminution du nombre d'embryons implantés. Le poids des nouveau-nés était réduit de 26 % et leur survie au sevrage réduite de 45 %.

Le plomb peut également affecter la fonction de reproduction des femelles chez les poissons et les oiseaux. Une étude a montré que la quantité d'œufs pondus par les femelles vairons vivant dans une eau contaminée par 500 µg/l de plomb était réduite comparativement à celle des femelles témoins, moins d'œufs fécondés étaient viables, les intervalles de pontes étaient allongés et moins de femelles pondaient. L'examen des ovaires des femelles intoxiquées a montré que le développement des ovocytes était moins avancé que chez les témoins. La concentration en plomb des ovaires était importante de l'ordre de 40 µg/g. Les effets observés sur les œufs peuvent résulter de l'effet du plomb *via* la mère et/ou de l'effet direct du plomb dans l'eau qui peut pénétrer dans l'œuf et s'accumuler dans le liquide périvitellin (Weber, 1993).

Chez l'oiselle l'allongement de l'intervalle entre les périodes de ponte a été observé comme précédemment chez les poissons ainsi que la réduction de l'épaisseur de la coquille des œufs. Une décroissance du nombre des éclosions et du poids des embryons a aussi été observée. Chez le poulet intoxiqué on a trouvé des embryons anormaux d'une part et d'autre part après injection de nitrate de plomb dans des embryons de poulets sains on a clairement observé que ce métal affectait leur développement en terme de mortalité et de malformations (anomalie crânienne, hydrocéphalie, méningocèle, paralysie des membres). Tous ces facteurs peuvent réduire la réussite de la reproduction chez les oiseaux et diminuer la taille des futures générations. Cependant l'auteur mentionne qu'il conviendrait de vérifier dans la nature les effets observés en laboratoire (Burger, 1995).

En résumé, chez le rat ou la souris, de fortes intoxications au plomb pendant toute la gestation entraînent l'apparition de morts fœtales et de malformations. Des intoxications plus modérées et prolongées sur la vie de l'animal ont pour effet de réduire la taille des portées, principalement par diminution du nombre de points d'implantations, comparativement aux témoins. Ces résultats comparés à ceux obtenus après intoxication des mâles mettent en évidence une plus grande sensibilité au plomb de la femelle concernant sa fertilité. Dans la majorité des intoxications, le poids des nouveau-nés a été réduit ainsi que leur survie au sevrage. Les résultats obtenus dans les études réalisées chez les poissons et les oiseaux confirment l'effet délétère du plomb sur les ovaires et le développement des ovocytes observé chez les rongeurs ainsi que la possible détection de malformations dans les embryons.

**En conclusion**, le plomb peut affecter le testicule, l'ovaire et l'axe hypothalamo-hypophysaire. Son effet diminue avec la plombémie mais des perturbations persistent en dessous d'une plombémie de 400 µg/l chez le mâle

comme chez la femelle. Des études supplémentaires portant sur des expositions chroniques à faible dose seraient nécessaires pour examiner la possibilité d'une plombémie seuil.

Des expositions chroniques chez l'homme avec une plombémie forte (de 400 à 800 µg/l) entraînent une diminution de la production de spermatozoïdes, ce qui augmente le risque de devenir hypofertiles pour les hommes concernés. Pour des plombémies > 600 µg/l, la concentration de testostérone circulante a été diminuée et associée à une perturbation du fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire concernant la sécrétion de LH. Pour des plombémies < 400 µg/l, il n'a pas été observé d'effet immédiat du plomb sur la production spermatique, de même que sur la production des hormones sexuelles, mais un risque de diminution de fertilité existe pour une exposition chronique de plusieurs années. Chez les femmes intoxiquées pendant la grossesse, le plomb entraîne une réduction du poids de naissance et une altération de la croissance et du développement fœtal.

L'expérimentation animale a permis d'aborder l'étude des mécanismes de l'action du plomb sur l'appareil reproducteur. Pour une intoxication prolongée (9 mois, plombémie 1 200 µg/l), des modifications de l'ultrastructure et une diminution de l'activité d'enzymes mitochondriales des spermatozoïdes épididymaires sont observées. Le plomb pourrait affecter les spermatozoïdes dans l'épididyme, la concentration du plomb dans cet organe étant nettement supérieure à celle du testicule. Pour des intoxications conduisant à des plombémies modérées voisines de 300 à 500 µg/l chez le rat ou la souris adultes, les effets sont non détectables sur la production spermatique en utilisant les techniques courantes (numération, motilité, forme) mais l'étude de l'aptitude des spermatozoïdes à pénétrer les ovocytes et à les féconder *in vitro* a souvent montré qu'elle était diminuée comparativement à des témoins. De plus une augmentation des espèces réactives de l'oxygène a été trouvée dans les spermatozoïdes épididymaires corrélée négativement à leur pouvoir fécondant *in vitro*. Pour des expositions chroniques sur des périodes de 9 à 20 ans, conduisant à des plombémies < 400 µg/l chez le singe, une altération de la chromatine des spermatozoïdes dépendante de la plombémie a été observée.

## BIBLIOGRAPHIE

- ALEXANDER BH, CHECKOWAY H, VAN NETTEN C, MULLER CH, EWERS TG et coll. Semen quality of men employed at a lead smelter. *Occup Environ Med* 1996, **53** : 411-416
- AL-HAKKAK ZS, ZAHID ZR, IBRAHIM DK, AL-JUMAILY IS, BAZZAZ AA. Effects of ingestion of lead monoxide alloy on male mouse reproduction. *Arch Toxicol* 1988, **62** : 97-100
- ANTTILA A, SALLMEN M. Effects of parental occupational exposure to lead and other metals on spontaneous abortion. *J Occup Environ Med* 1995, **37** : 915-921

ARIBARG A, SUKCHAROEN N. Effects of occupational lead exposure on spermatogenesis. *J Med Assoc Thai* 1996, **79** : 91-97

ASSENNATO G, PACI C, BASER ME, MOLINI R, GAGLIANO CANDELA R et coll. Sperm count suppression without endocrine dysfunction in lead-exposed men. *Arch Environ Health* 1987, **47** : 124-127

BARRATT CLR, DAVIES AG, BANSAL MR, WILLIAMS ME. The effect of lead on the male rat reproductive system. *Andrologia* 1989, **21** : 161-166

BELLINGER D, LEVITON A, RABINOWITZ M, ALLRED E, NEEDLEMAN H, SCHOENBAUM S. Weight gain and maturity in fetuses exposed to low levels of lead. *Environ Res* 1991, **54** : 151-158

BENTUR Y, KOREN G. The three most common occupational exposures reported by pregnant women : an update. *Am J Obstet Gynecol* 1991, **165** : 429-437

BOSCOLO P, CARMIGNANI M, SACCHETTONI-LOGROSCINO G, RANNELLETTI FO et coll. Ultrastructure of the testis in rats with blood hypertension induced by long-term exposure. *Toxicol Lett* 1988, **41** : 129-137

BOUND JP, HARVEY PW, FRANCIS BJ, AWWAD F, GATRELL AC. Involvement of deprivation and environmental lead in neural tube defects : a matched case-control study. *Arch Dis Child* 1997, **76** : 107-112

BRAUNSTEIN GD, DAHLGREN J, LORIAUX DL. Hypogonadism in chronically lead-poisoned men. *Infertility* 1978, **1** : 33-51

BURGER J. A risk assessment for lead in birds. *J Toxicol Environ Health* 1995, **45** : 369-396

COFFIGNY H, THOREUX-MANLAY A, PINON-LATAILLADE G, MONCHAUX G, MASSE R, SOUFIR JC. Effects of lead poisoning of rats during pregnancy on the reproductive system and fertility of their offspring. *Hum Exper Toxicol* 1994, **13** : 241-246

CORDIER S, GOUJARD J. Occupational exposure to chemical substances and congenital anomalies : state of the art. *Rev Epidemiol Sante Publique* 1994, **42** : 144-159

COSTE J, MANDEREAU L, PESSIONE F, BREGU M, FAYE C, HEMON D, SPIRA A. Lead-exposed workmen and fertility : a cohort study on 254 subjects. *Eur J Epidemiol* 1991, **7** : 154-158

EYDEN BP, MAISIN JR, MATTELIN G. Long-term effects of dietary lead acetate on survival, body weight and seminal cytology in mice. *Bull Environ Contam Toxicol* 1978, **19** : 266-272

FOSTER WG. Reproductive toxicology of chronic lead exposure in the female cynomolgus monkey. *Reprod Toxicol* 1992, **6** : 123-131

FOSTER WG, MCMAHON A, YOUNGLAI EV, HUGHES EG, RICE DC. Reproductive endocrine effects of chronic lead exposure in the male cynomolgus monkey. *Reprod Toxicol* 1993, **7** : 203-209

FOSTER WG, MCMAHON A, RICE DC. Sperm chromatin structure is altered in cynomolgus monkeys with environmentally relevant blood lead levels. *Toxicol Ind Health* 1996a, **12** : 723-735

170 FOSTER WG, MCMAHON A, RICE DC. Subclinical changes in luteal function in cynomolgus monkeys with moderate blood lead levels. *J Appl Toxicol* 1996b, **16** : 159-163

FRANKS PA, LAUGHLIN NK, DIERSCHKE DJ, BOWMAN RE, MELLER PA. Effect of lead on luteal function in Rhesus Monkeys. *Biol Reprod* 1989, **41** : 1055-1062

GENNART JP, BERNARD A, LAUWERYS R. Assessment of thyroid, testes, kidney and autonomic nervous system function in lead-exposed workers. *Int Arch Occup Environ Health* 1992a, **64** : 49-57

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* 1992b, **135** : 1208-1219

HSU PC, LIU MY, HSU CC, CHEN LY, LEON GUO Y. Lead exposure causes generation of reactive oxygen species and functional impairment in rat sperm. *Toxicology* 1997, **122** : 133-143

HU H. Knowledge of diagnosis and reproductive history among survivors of childhood plumbism. *Am J Public Health* 1991, **81** : 1070-1072

JACQUET P, LEONARD A, GERBER GB. Embryonic death in mouse due to lead exposure. *Experientia* 1975, **11** : 1312-1313

JOCKENHOVEL F, BALS-PRATSCH M, BERTRAM HP, NIESCHLAG E. Seminal lead and copper in fertile and infertile men. *Andrologia* 1990, **22** : 503-511

JOHANSSON L, WIDE M. Long – term exposure of the male mouse to lead : effects on fertility. *Environ Res* 1986, **41** : 481-487

JOHANSSON L, SJOBLUM P, WIDE M. Effects of lead on the male mouse as investigated by in vitro fertilization and blastocyte culture. *Environ Res* 1987, **42** : 140-148

JOHANSSON L, PELLICIARI CE. Lead induced changes in the stabilization of the mouse sperm chromatin. *Toxicology* 1988, **51** : 11-24

JOHANSSON L. Premature acrosome reaction in spermatozoa from lead-exposed mice. *Toxicology* 1989, **54** : 151-162

JUNAID M, CHOWDHURI DK, NARAYAN R, SHANKER R, SAXENA DK. Lead-induced changes in ovarian follicular development and maturation in mice. *J Toxicol Environ Health* 1997, **50** : 31-40

KELMAN BJ, WALTER BK. Transplacental movements of inorganic lead from mother to fetus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1980, **163** : 278-282

KEMPINAS WG, LAMANO-CARVALHO TL, PETENUSCI SO, LOPES RA, AZOUBEL R. Morphometric and stereological analysis of rat testes and epididymis in an early phase of saturnism. *Exp Biol* 1988, **48** : 51-56

KLEIN D, WAN YY, KAMYAB S, OKUDA H, SOKOL RZ. Effects of toxic levels of lead on gene regulation in the male axis : increase in messenger ribonucleic acids and intracellular stores of gonadotrophs within the central nervous system. *Biol Reprod* 1994, **50** : 802-811

KRISTENSEN P, EILERTSEN E, EINARSDOTTIR E, OVREBO S, HAUGEN A. Effect modification by inorganic lead in the dominant lethal assay. *Mutat Res* 1993, **302** : 33-38

KUO HW, WANG CS, LAI JS. Semen quality in workers with long-term lead exposure : a preliminary study in Taiwan. *Sci Total Environ* 1997, **204** : 289-292

LANCRANJAN I, POPESCU HI, GAVANESCU O, KLEPSCH I, SERBANESCU M. Reproductive ability of workmen occupationally exposed to lead. *Arch Environ Health* 1975, **30** : 396-401

LIN S, HWANG SA, MARSHALL EG, STONE R, CHEN J. Fertility rates among lead workers and professional bus drivers : a comparative study. *Ann Epidemiol* 1996, **6** : 201-208

MARCHLEWICZ M, PROTASOWICKI M, ROZEWICKA L, PIASECKA M, LASZCZYNSKA M. Effect of long-term exposure to lead on testis and epididymis in rats. *Folia Histochem Cytobiol* 1993, **31** : 55-62

MURPHY MJ, GRAZIANO JH, POPOVAC D, KLINE JK, MEHMETI A et coll. Past pregnancy outcomes among women living in the vicinity of a lead smelter in Kosovo Yugoslavia. *Am J Public Health* 1990, **80** : 33-35

MCCLAIN RM, BECKER BA. Teratogenicity, fetal toxicity and placental transfer of lead nitrate in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1975, **31** : 72-82

MCGIVERN RF, SOKOL RZ, BERMAN NG. Prenatal lead exposure in the rat during the third week of gestation : long-term behavioral, physiological, and anatomical effects associated with reproduction. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991, **110** : 206-215

MCGREGOR AJ, MASON HJ. Chronic occupational lead exposure and testicular endocrine function. *Hum Exper Toxicol* 1990, **9** : 371-376

NATHAN E, HUANG HFS, POGACH L, GIGLIO W, BOGDEN JD, SEEDODE J. Lead acetate does not impair secretion of Sertoli cell function marker proteins in the adult Sprague Dawley rat. *Arch Environ Health* 1992, **47** : 370-375

PIASECKA M, BARCEW-WISZNIEWSKA B, MARCHLEWICZ M, WENDA-ROZEWICKA L. Ultrastructure of spermatozoa from the cauda epididymis in rat chronically treated with lead acetate [Pb(II)]. *Pol J Pathol* 1996, **47** : 65-71

PIASECKA M, WENDA-ROZEWICKA L, KRAM A. Computerized analysis of cytochemical reactions of spermatozoa in rats chronically treated with lead acetate [Pb(II)]. *Folia Histochem Cytobiol* 1997, **35** : 129-131

PINON-LATAILLADE G, THOREUX-MANLAY A, COFFIGNY H, MONCHAUX G, MASSE R, SOUFIR JC. Effect of ingestion and inhalation of lead on the reproductive system and fertility of adult male rats and their progeny. *Hum Exp Toxicol* 1993, **12** : 165-172

PINON-LATAILLADE G, THOREUX-MANLAY A, COFFIGNY H, MASSE R, SOUFIR JC. Reproductive toxicity of lead exposure in male and female mice. *Hum Exp Toxicol* 1995, **14** : 872-878

RAJAH T, AHUJA YR. In vivo genotoxic effects of smoking and occupational lead exposure in printing press workers. *Toxicol Lett* 1995, **76** : 71-75

RODAMILANS M, OSABAMJ, TO-FIGUERAS J, RIVERA-FILLAT F, TORRA M et coll. Inhibition of intratesticular testosterone synthesis by inorganic lead. *Toxicol Lett* 1988a, **42** : 285-290

RODAMILANS M, OSABAMJ, TO-FIGUERAS J, RIVERA-FILLAT F, MARQUES JM et coll. Lead toxicity on endocrine testicular function in an occupationally exposed population. *Hum Toxicol* 1988b, **7** : 125-128

RONIS MJ, BADGER TM, SHEMA SJ, ROBERSON PK, SHAIKH F. Reproductive toxicity and growth effects in rats exposed to lead at different periods during development. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996, **136** : 361-371

SALLMEN M, LINDBOHN ML, ANTTILA A, TASKINEN H, HEMMINKI K. Paternal occupational lead exposure and congenital malformations. *J Epidemiol Comm Health* 1992, **46** : 519-522

SILBERGELD EK. Lead in bone : implications for toxicology during pregnancy and lactation. *Environ Health Perspect* 1991, **91** : 63-70

SINGH A, CULLEN C, DYKEMAN A, RICE D, FOSTER W. Chronic lead exposure induces ultrastructural alterations in the monkey testis. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1993, **25** : 479-486

SOKOL RZ, MADDING CE, SWERDLOFF RS. Lead toxicology and the hypothalamic - pituitary-testicular axis. *Biol Reprod* 1985, **33** : 722-778

SOKOL RZ, OKUDA H, NAGLER HM, BERMAN N. Lead exposure in vivo alters the fertility potential of sperm in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994, **124** : 310-316

STOWE HD, GOYER RA. The reproductive ability and progeny of F1 lead-toxic rats. *Fertil Steril* 1971, **22** : 755-760

THOREUX-MANLAY A, VELEZ DE LA CALLE JF, OLIVIER MF, SOUFIR JC, MASSE R, PINON-LATAILLADE G. Impairment of testicular endocrine function after lead intoxication in the adult rat. *Toxicology* 1995a, **100** : 101-109

THOREUX-MANLAY A, PINON-LATAILLADE G, COFFIGNY H, SOUFIR JC, MASSE R. Prenatal or lactational exposure of male rats to lead acetate. Effect on reproductive function. *Bull Environ Contam Toxicol* 1995b, **54** : 266-272

THOREUX-MANLAY A, LE-GOASCOGNE C, SEGRETAİN D, JEGOU B, PINON-LATAILLADE G. Lead affects steroidogenesis in rat Leydig cells in vivo and in vitro. *Toxicology* 1995c, **103** : 53-62

WEBER DN. Exposure to sublethal levels of waterborne lead alters reproductive behavior patterns in fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Neurotoxicology* 1993, **14** : 347-358

WENDA-ROZEWICKA L, MARCHLEWICZ M, BARCEW-WISZNIEWSKA B, PIASECKA M. The ultrastructure of the testis in rats after long-term treatment with lead acetate. *Andrologia* 1996, **28** : 97-102

WEYANDT TB, SCHRADER SM, TURNER TW, SIMON SD. Semen analysis of military personnel associated with military duty assignments. *Reprod Toxicol* 1996, **10** : 521-528

WIEBE JP, BARR KJ, BUCKINGHAM KD. Lead administration during pregnancy and lactation affects steroidogenesis and hormone receptors in testes of offspring. *J Toxicol Environ Health* 1982, **10** : 653-666

WINDER C. Lead, reproduction and development. *Neurotoxicology* 1993, **14** : 303-317

WINDER C, BONIN T. The genotoxicity of lead. *Mutat Res* 1993, **285** : 117-124

YU SY, MIZINGA KM, NONAVINAKERE VK, SOLIMAN KF. Decreased endurance to cold water swimming and delayed sexual maturity in the rat following neonatal lead exposure. *Toxicol Lett* 1996, **85** : 135-141

ZHAO SF, ZHANG XC, ZHANG LF, ZHOU SS, ZHANG F et coll. The evaluation of developmental toxicity of chemicals exposed occupationally using whole embryo culture. *Int J Dev Biol* 1997, 41 : 275-282

ZIRKIN BR, GROSS R, EWING LL. Effects of lead acetate on male rat reproduction. *Concepts Toxicol* 1985, 3 : 138-145