République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université d'Oran 1 (Ahmed Ben bella)
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie



Laboratoire de Bio-Toxicologie Expérimentale, Bio-Dépollution et Phytorémédiation



Thèse en vue de l'obtention de diplôme de Doctorat LMD en Biologie,
Option : Biochimie Appliquée.

Présenté Par :

Mme GUELLIL HAYET

Intitulé

EFFETS BENEFIQUES DE L'EXTRAIT DU THE VERT SUR LA FONCTION REPRODUCTRICE CHEZ LES RATS MALES WISTAR

Devant le jury composé de :

Président :	**AOUES. A**	Professeur, Université d'Oran 1, Ahmed Ben Bella.
Examinateur :	**BENDAHMANE. M**	Professeur, Université de Sidi Bel Abbes.
Examinateur :	**BENALI. M**	Professeur, Université de Sidi Bel Abbes.
Examinateur :	**BOUDERBALA. S**	Professeur, Université d'Oran 1, Ahmed Ben bella.
Examinateur :	**SAHRAOUI. T**	Professeur, Université d'Oran 1, Ahmed Ben bella.
Directeur de thèse :	**AIT HAMADOUCHE. N**	Professeur, Université d'Oran 1, Ahmed Ben bella.

Année Universitaire : 2016/2017

Dédicace

A mon cher père qui n'a cessé de m'inculquer l'importance du savoir et de l'instruction, qu'il trouve ici ma reconnaissance à travers ce modeste travail

A ma très chère mère, sans qui, je n'aurai jamais gouté au succès

A mes beaux parents pour leurs encouragements

A mon époux, mon accompagnateur et mon ami, qui m'a soutenu sans cesse durant tout mon parcours scientifique

A ma petite princesse Basma qui ma donnée la source d'énergie
A mon adorable sœur, et à mes frères complices

A mes tantes et oncles de m'avoir soutenue à plus d'un titre au cours de ces longues études. Merci d'être toujours présents

A tous ceux qui me sont chers…

Remerciements

Je remercie le tout puissant ***« ALLAH »*** *de m'avoir donné la santé, le courage, la force, la volonté et la patience pour surmonter les épreuves, que j'ai vécues tout au long de la réalisation de ma thèse et enfin de réaliser mon rêve le plus cher et celui de mes très chers parents que dieu les protège.*

Mes vifs remercîment à notre Professeur ***AOUES ABDELKADER*** *Responsable du laboratoire de Bio-Toxicologie Expérimental Bio-Dépollution et Phyto-Remédiation et Président du jury qui m'a donné une occasion pour découvrir le monde de la recherche, qui m'a fait bénéficier de ces connaissances durant toute la période de la formation et qui m'a honoré en acceptant de présider de ce jury.*

Je tiens à remercier infiniment et très sincèrement Professeur ***KHAROUBI Omar****, le responsable de notre formation doctorat LMD biochimie appliquée, qui s'est toujours montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de cette thèse, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer pour la recherche. Je le remercie pour sa confiance, sa gentillesse, sa disponibilité. Qu'il soit assuré de toute ma gratitude et mon respect.*

Je tiens aussi à exprimer ma reconnaissance et mes sincères remercîment à ma directrice de thèse Professeur ***AIT HAMADOUCHE NADIA****, pour son aide, ses conseils, son soutien et sa disponibilité tout le long de la réalisation de ce travail sans qui, cette thèse n'aurait jamais vu le jour, de m'avoir aidé à avancer dans mon travail de recherche.*
Je lui suis particulièrement reconnaissante pour la confiance qu'elle m'a témoignée et l'expérience dont elle m'a fait bénéficier ainsi que ses précieux conseils ayant contribué à l'aboutissement de ce travail. Qu'elle soit assurée de ma profonde reconnaissance. Mes sincères remerciements ainsi que mon plus profond respect.

Je remercie vivement les membres de jury d'avoir accepté de juger mon travail de thèse qu'ils trouvent ici mon profond respect :

- ✓ *Pr* ***BENDAHMANE MALIKA*** *d'avoir accepté d'être examinateur de ce travail de thèse.*
- ✓ ***Pr BENALI MOHAMED*** *de m'avoir honoré et accepté de jugé mon travail de recherche.*

- ✓ ***Pr SAHRAOUI TAWFIK*** *d'avoir accepté de nous faire profiter de son expérience en acceptant d'examiner ce travail malgré ses nombreuses occupations.*
- ✓ *Pr* ***BOUDERBALA SHERAZED*** *m'honorer par sa présence à ce jury, comme examinatrice de ma thèse de doctorat.*

Je remercie ***Dr DIDA NAWAL*** *pour l'orientation et le temps qu'elle a consacré pour la rédaction de ma thèse, Merci cher professeur pour vos conseils et l'aide apportés à tout moment.*

Mes remerciements au Professeur ***TOUMI*** *responsable de la pharmacologie a l'hôpital EHU D'Oran, Qui été à l'écoute dans les moments de la réalisation de la partie expérimental. Je le remercie pour sa confiance, sa gentillesse, sa disponibilité. Qu'il soit assuré de toute ma gratitude et mon respect.*

Je remercie aussi ***Dr. CORSO*** *ainsi que toute l'équipe de laboratoire de cytologie et d'anatomo-pathologie situé au centre de la wilaya d'Oran qui m'a ouvert ses portes pour réaliser l'étude histologiques de différents échantillons. Merci pour leur dignité scientifique et collaboration.*

Je vais maintenant remercier toutes les personnes ayant participé à la thèse de près ou de loin. Un énorme merci à tous sans citer de nom pour n'oublier personne ; à toute l'équipe de notre laboratoire ***de Bio-Toxicologie Expérimental Bio-Dépollution et Phyto-Remédiation.*** *Merci pour tout et surtout pour votre énorme disponibilité.*

Table des matières

INTRODUCTION **01**
CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE **03**
Partie I : Le Plomb **03**
1. Généralités sur le plomb **04**
2. Propriétés physico-chimiques du plomb **05**
3. Sources d'exposition au plomb **05**
4. Toxicité du plomb **07**
4.1. Intoxication aiguë **07**
4.2. Toxicité chroniques **07**
5. Toxicocinétique du plomb **07**
5.1. Absorption **07**
5.1.1. Absorption pulmonaire **07**
5.1.2. L'absorption digestive **09**
5.1.3. Absorption cutané **09**
5.2. Distribution **10**
5.2.1. Transport sanguin **10**
5.2.2. Transfert aux organes **10**
5.2.3. Elimination **11**
6. Principe effets toxiques du plomb sur la santé **12**
6.1. Mode d'action du plomb **12**
6.2. Effets hématologiques **12**
6.3. Effets cardiovasculaires **13**
6.4. Effets neurologiques **13**
6.5. Effets génotoxiques **14**
6.6. Effets sur le système immunitaire **14**
6.7. Effets sur la reproduction et le développement **15**
7. Le stresse oxydant **17**
7.1. Effets du stress sur la fonction reproductrice **18**
Partie II : Le thé vert *Camellia sinensis* **20**
1. Le thé vert *Camellia sinensis* **21**
2. Classification **23**
3. Les composants bioactifs du thé vert **24**
3.1. Les polyphénols du thé vert **24**

3.1.1. Les catéchines du thé vert **24**
3.1.1.1. L'Epicatechine..... **25**
3.1.1.2. L'Epigallocatechine..... **25**
3.1.1.3. L'Epicatechine-3-gallate **25**
3.1.1.4. L'Epigallocatéchine-3-gallate **26**
4. L'effet bénéfique de l'EGCG du thé vert **26**
4.1. La prévention contre le cancer **26**
4.2. La prévention contre les maladies neurologiques **27**
4.3. Effet sur les maladies cardiovasculaires..... **27**
4.4. Effets sur les métaux **29**
4.5. Effets sur l'infertilité **29**
4.6. Effet sur la fonction reproductrice..... **30**
5. Toxicité du thé vert **31**
CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODE **33**
I. Matériel végétal..... **33**
1. Préparation de l'extrait aqueux de thé vert..... **33**
1.1. Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de thé vert..... **33**
1.2. Etudes phytochimiques **35**
1.2.1. Phytochimie qualitative **35**
1.2.1.1. Chélation du plomb **35**
1.2.1.2. Les saponines **35**
1.2.1.3 Les Stéroïdes **35**
1.2.1.4. Les alcaloïdes **36**
1.2.1.5. Les polyphénols..... **36**
1.2.1.6 Les tanins..... **36**
1.2.1.7 Les flavonoïdes **36**
1.2.2. Phytochimie quantitative..... **36**
1.2.2.1. Dosage des composés phénoliques..... **36**
1..2.2.1.1. Polyphénols totaux **36**
1.2.2.1.2. Tannins..... **36**
1.2.2.1.3 Flavonoïdes **37**
1.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante **37**
1.2.3.1. Mesure de l'activité des antioxydants totaux **38**

1.2.3.2 Méthode de FRAP **38**
1.2.3.3. Le test du Piégeage du radical 2,2-diphénil-1-pycrylhydrazyl (DPPH) **38**
1.2.4. Activité de chélation de métaux **39**
II. Animaux et traitement **39**
1. Sacrifice des rats et prélèvement du sang et des organes **40**
2. Etude du spermogramme **43**
2.1. Test de mobilité **43**
2.2. Détermination du pourcentage **43**
2.3. Evaluation de la qualité **44**
2.3.1. Détermination de la viabilité **44**
2.3.2. Détarmination des anomalies **44**
3. Test de génotoxicité **45**
4. Dosage du plomb dans le sang total (Plombémie) **47**
5. Analyses biochimiques au niveau sérique **47**
5.1. Dosage du Fer **47**
5.2. Dosage des hormones sexuelles (testostérone, FSH et LH) **47**
6. Analyse biochimique au niveau tissulaire **47**
6.1. Teneurs tissulaires en protéines totales **47**
6.2. Dosage de l'activité de lactate déshydrogénase (LDH) testiculaire **48**
6.3. Dosage de Phosphatase alcaline (ALP) **48**
7. Dosage des marqueurs de stress oxydatif **48**
7.1. Détermination de la peroxydation lipidique (TBARS) **48**
7.2. Activité des enzymes antioxydants **49**
7.2.1. Dosage de la Superoxydes dismutase (SOD) **49**
7.2.2. Dosage de la Catalase (Cat) **50**
7.2.3. Antioxydants Totaux **50**
8. Etude Histologique des testicules **50**
III. Analyse statistique des résultats **51**
CHAPITRE III. RESULTATS… **53**
1. Etude phytochimique **53**
1.1. Phytochimie qualitative **53**
1.2. Phytochimie quantitative **56**

1.2.1. Dosage des composés phénoliques **56**
1.3. Evaluation de l'activité antioxydante **56**
1.3.1. Activité des antioxydants totaux et méthode de FRAP **57**
1.3.2 Test de DPPH **57**
1.3.3. Activité de chélation de métaux **58**
2. Effets de l'EAT sur le développement pondéral, le poids relatif et absolu **59**
3. Effets sur la morphologie et la taille des testicules **60**
4. Etudes du spermogramme **61**
4.1 Effet de l'EAT sur le nombre, la mobilité et le taux des SPZ **61**
4.2. Effet du plomb sur l'analyse morphologique des spermatozoïdes **62**
5. Test de génotoxicité **64**
6. Dosage du plomb dans le sang total **66**
7. Effets de l'EAT sur les paramètres biochimiques au niveau sérique **66**
7.1. La teneur en Fer **66**
7.2. Le taux des hormones sexuelles (FSH, LH et testostérone) **67**
8. Effets de l'EAT sur les paramètres biochimiques au niveau testiculaire **68**
8.1. Protéines totales **68**
8.2. L'activité de lactate déshydrogénase (LDH) **69**
8.3. Activité de la phosphatase alcaline **69**
9. Effet de l'EAT sur les marqueurs du stress oxydatif au niveau testiculaire **70**
9.1. Teneurs en TBARS testiculaires **70**
9.2.1. Activité du Superoxyde dismutase (SOD) **71**
9.2.2. Activité de la Catalase **72**
9.2. 3. Activité des antioxydants totaux **73**
10. Etude Histologique **74**
CHAPITRE IV DISCUSSION **76**
1. Etude phytochimique **76**
1.1. Evaluation de l'activité antioxydante de l'EAT **76**
1.2. Les antioxydants totaux et méthode de FRAP **76**
1.3. Activité de chélation des métaux **77**
2. Effet de l'EAT sur la croissance pondéral et poids relatives des testicules **77**

Table des matières

3. Etude du spermogramme **79**
4. Test de génotoxicité **81**
5. Effets de l'EAT sur la plombémie..... **83**
6. Effets de l'EAT sur les paramètres biochimiques au niveau sérique **84**
6.1. La teneur en Fer **84**
6.2. Le taux des hormones sexuelles (FSH, LH et testostérone)..... **84**
7. Effets de l'EAT sur les paramètres biochimiques au niveau tissulaire **86**
7.1. Protéines totales..... **85**
7.2. L'activité de la LDH..... **86**
7.3. L'activité de la phosphatase alcaline..... **87**
8. Effets de l'EAT sur les marqueurs du stress oxydatif au niveau testiculaire **88**
8.1. Teneurs en TBARS **88**
8.2. Effets de l'EAT sur l'activité des enzymes antioxydants..... **88**
9. Effets de l'EAT sur l'histologie des testicules **91**
CONCLUSION **92**
REFERENCES BIOBLIOGRAPHIQUES..... **94**
ANNEXES **133**

Les abréviations

Aas	Acide ascorbique
ABS	Absorbance
ALP	Alkaline Phosphatase
ADN	Acide désoxyribonucléique
AlCl3	Trichlorure d'aluminium
As	Arsenic
ALA-D	Acide aminolévulinique déshydratas
ATB	Acide tiobarbiturique
ATP	Adénosine triphosphate
BCl2	B-cell lymphoma-2
BHT	Barrière hémato-testiculaire
C	Catéchine
C3G	Catéchine-3-gallate
Cd	Cadmium
CG	Cellules germinales
CL	Cellules de Leydig
CNS	Système nerveux central
CSP	la concentration Sanguin en Plomb
Ca^{2+}	Les ions de Calcium
Cat	Catalase
DPPH	2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl
EC	Epicatéchine
ECG	Epicatéchine-3-gallate
EGC	Epigallocatéchine
EGCG	Epigallocatéchine-3-gallate
EAT	Extrait aqueux de thé vert
EAL	Extrait aqueux lyophilisé de thé vert
ETMs	Eléments traces métalliques
EGCG	Epigallocatéchingallate
EROS	Espèces Réactive de l'Oxygène
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra Acétique
$FeCl_3$	Chlorure ferrique
Fe 3+	Fer ferrique
Fe2+	Fer ferreux
FeCl3	Trichlorure Ferrique. (Le chlorure de fer(III))

Les abréviations

FRAP	Ferring reducing antioxidant power
FeSO4	Sulfate ferreux
FSH	Hormone folliculo-stimulante
H2O2	peroxide d' Hydrogène
H&E	Hématoxyline-éosine
HCG	Hormone chorionique de croissance
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
HCl	Acide chlorhydrique
H2SO4	Acide Sulfurique
KCl	Chlorure de potassium
LDH	lactate déshydrogénase
LH	Hormone lutéotrope
Mg EQ	Milligramme équivalent
LH-RH	LH-Releasing Hormone
MDA	molondialdéhyde
NADH	le nicotinamide adénine dinucléotide réduite
NAD^+	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADH :	Nicotinamide adénine dinucléotide
NaHCO	Bicarbonate de sodium
NaNO2	Nitrite de sodium
NaOH	Soude
O2	Dioxygène
O2•-	Anion superoxyde
OH•	Radical hydroxyle
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
O_2^-	anion superoxyde
OH	Radical hydroxyle
ONAB	Office National de l'Alimentation de Bétail
Pb	Plomb
$ROO^·$	Radicaux peroyles
R·	Radical alkyle
ROOH	Peroxyde
ROS	Radicaux libre d'oxygènes
ROS	Reactive Oxygene Species.
SE	Spécialisation éctoplasmique

Les abréviations

SPZ	Spermatozoïdes
SDS	Sodium dodécyl sulfate
BSA	Serum Albumin Bovine
S.A.A	Spectroscopie d'Absorption Atomique.
SOD	Superoxyde Dismutase
TBARS	Thiobarbituric acid-reactive substances
TBA	Acide thiobarbiturique
TCA	Acide trichloracétique
TNF	Tumor Necrosis Factor
Tris-HCl	Tris(hydroxyméthyl)-Aminométhane Chlorhydrate
U	Unité internationale.
Zn2+	Zinc

Liste des tableaux

Tableau 01. Propriétés physico-chimiques du plomb et ses dérivés **05**
Tableau 02. Effets de la concentration Sanguin en Plomb " CSP **16**
Tableau 03. Composition du régime d'entretien ONAB **40**
Tableau 04. Batterie de coloration de PAPANICOLAOU **46**
Tableau 05. Résultats des tests qualitatifs sur EAT et EALT **54**
Tableau 06. Contenu en composés phénoliques **56**
Tableau 07. L'activité antioxydante des deux extraits **57**
Tableau 08. Evaluation des paramètres pondéraux **59**
Tableau 09. La taille des testicules chez les différents groupes **60**
Tableau 10. Le nombre, la mobilité et le taux des spermatozoïdes vivants **61**
Tableau 11. Le taux des hormones sexuelles (FSH, LH et Testostérone) **68**
Tableau 12. La concentration du superoxyde dismutase (SOD) **72**
Tableau 13. Le taux des antioxydants totaux dans les testicules **73**

Listes des figures

Figure 01. Les voies de pénétration du plomb **08**
Figure 02. Effet du plomb sur la biosynthèse de l'hème **13**
Figure 03. . La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants **17**
Figure 04. Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène **18**
Figure 05. Sources du stress oxydatif et de leur impact sur la reproduction **19**
Figure 06. La plante de *Camellia sinensis* **22**
Figure 07. Les principales étapes du traitement des feuilles de théiers après récolte **23**
Figure 08. Polyphénols principaux de la catéchine dans le thé vert **26**
Figure 09. Les mécanismes proposés par le thé vert **28**
Figure 10. Mécanisme antioxydant des EGCG du thé vert **29**
Figure 11. Rôle de l'extrait de thé vert sur la fonction reproductrice **32**
Figure 12. Préparation de l'extrait aqueux du thé vert **34**
Figure 13. L'appareil génital d'un rat mâle après sacrifice **41**
Figure 14. Organogramme récapitulant le protocole expérimental **42**
Figure 15. Activité antioxydante de l'extrait aqueux du thé vert **58**
Figure 16. Activité de chélation des métaux **58**
Figure 17. Morphologie brute du testicule **60**
Figure 18. Anomalie de la tête chez le groupe intoxiqué par l'acétate de plomb **63**
Figure 19. Anomalie du flagelle chez le groupe intoxiquée par l'acétate de plomb **63**
Figure 20. Structure des chromosomes de rat dans la métaphase **65**
Figure 21. Concentration du plomb au niveau sanguin **66**
Figure 22. Teneur en Fer sérique **66**
Figure 23. Teneurs tissulaires en protéines totales **68**
Figure 24. L'activité de la LDH **69**
Figure 25. Concentration de la phosphatase alcaline (PAL) **70**
Figure 26. Teneurs en TBARS testiculaires **71**
Figure 27. L'Activité de la catalase testiculaire **72**
Figure 28. Structure histologique des testicules **74**

Résumé

Divers accidents de contaminations toxiques ont mis en évidence de façon indiscutable l'influence de l'environnement sur l'organisme humain. Les métaux lourds tels que le plomb sont susceptibles de générer un stress oxydant et d'altérer les fonctions sexuelles et reproductrices mâles. L'apport d'antioxydants dans la nourriture semble être un moyen de limiter les effets cytotoxiques du stress oxydant.

L'objectif de la présente étude est de mettre en évidence les effets bénéfiques de l'extrait aqueux de ***Camellia sinensis*** sur la fonction reproductrice chez les rats intoxiqués par le plomb. Les rats mâles adultes n=10 ont été exposés pendant 4 semaines à l'acétate de plomb à raison de **3 g/l** dans l'eau de boisson, après cette période les rats ont été traités par l'extrait aqueux du thé vert **(6,6%)** par voie orale, pendant 4 semaines.

L'analyse phytochimique réalisée sur les deux extraits, aqueux et lyophilisé de *Camellia sinensis* a montré leur richesse en composés phénoliques tels que les tanins et les flavonoïdes. Par ailleurs, l'effet contre les radicaux libres à révélé une activité antioxydante dépendante de la concentration des deux extraits de thé vert.

Durant les 4 semaines d'expérimentation, une baisse très significative du poids corporel est observée chez les rats intoxiqués. L'exposition au plomb induit également une diminution très significative de poids absolu et relatif et la taille des testicules. Parallèlement, des anomalies et une diminution de la viabilité et du nombre des spermatozoïdes ont été observées. De plus la cytologie des testicules montre une réduction dans l'épaisseur de la couche germinale des tubes séminifères des rats intoxiqués ce qui témoigne d'une dégénérescence des cellules de Sertoli et donc l'atteinte profonde de la spermatogenèse. L'analyse d'aberrations chromosomiques a montré l'effet génotoxique du plomb sur les cellules de la moelle osseuse, le nombre de ces aberrations est plus important chez les rats intoxiqués. En revanche, les résultats des dosages biochimiques ont montré que le plomb a induit une surcharge en fer sérique, une carence en protéines testiculaire, une diminution de l'activité de LDH et une augmentation de l'activité de l'ALP, et une augmentation du plomb dans le sang (plombémie). Parallèlement, nos résultats ont montré une diminution très significative de la concentration plasmatique des hormones sexuelles (FSH, LH, Testostérone,). Ainsi l'acétate de plomb a provoqué une diminution dans les concentrations des antioxydants qui a été accompagnée par une augmentation dans les taux de la peroxydation lipidique.

Il faut cependant noter que la plupart de ces perturbations morphologiques, biochimiques et cytogénétiques, sont partiellement réduits après l'administration de l'extrait aqueux du thé vert. Nos résultats sont en faveur d'un effet thérapeutique du ***Camellia sinensis*** pris par voie orale vis à vis du plomb. Le thé vert est riche en polyphénols qui peuvent chélater le plomb et former des complexes insolubles. Ce qui pourrait expliquer la diminution et/ou la disparition des effets nocifs de ce métal en présence de l'extrait aqueux du thé vert.

Mots clés : *Camellia sinensis*, antioxydants, phytothérapie, phytochimie, Acétate de plomb, reprotoxicité, stress oxydatif.

Abstract

Various accidents of toxic contamination have made to bear undoubtedly the influence of the environment on the human organism. Heavy metals such as Lead (Pb) are likely to generate oxidative stress and impair male sexual and reproductive functions. Food diets rich in antioxidants appears to have the influence of limiting the cytotoxic effects of oxidative stress.

The objective of this study is to demonstrate the beneficial effects of the aqueous extract of Camellia sinensis on reproductive function of Lead poisoned rats. Adult male rats (n = 10) were exposed to Lead Acetate/drinking water concentration of 3 g/l for 4 weeks, after which the rats were treated through dispensing orally the aqueous extract of green tea (6.6%) for 4 weeks.

The Phytochemical analysis carried out on the aqueous and lyophilized extracts of Camellia sinensis showed their richness in Phenolic compounds such as Tannins and Flavonoids. Furthermore, the effect against free radicals uncovered an antioxidant activity which dependents on the concentration of the two green tea extracts.

During a for 4 weeks experimental trial, it was observed that intoxicated rats had incurred significant loss in body weight. In addition, exposure to Lead had caused a significant decrease in absolute and relative weight and size of rats' testis. At the same time, abnormalities and a decrease in the viability and number of spermatozoa were observed. Moreover, the Cytology of the testicles specimen shows a reduction in the thickness of the germinal layer of the seminiferous tubules of intoxicated rats, leading to a degeneration of the Sertoli cells and thus to a impact of the spermatogenesis. Further analysis of chromosomal aberrations has shown the genotoxic effect of Lead on bone marrow cells, with intoxicated rats having greater abnormalities. On the other hand, biochemical tests showed that Lead induced serum iron overload, testicular protein deficiency, decrease in LDH activity and an increase~~d~~ in ALP activity, and an increase of Lead in blood (blood lead). At the same time, the results showed a very significant reduction in the plasma concentration of sex hormones (FSH, LH, Testosterone), causing a decrease in antioxidant concentrations which in turn was accompanied by an increase in the levels of lipid peroxidation.

It should be noted, however, that most of these morphological, biochemical and cytogenetic perturbations are partially reduced after administering aqueous extract of green tea. The results support favourably a therapeutic effect of taking orally Camellia sinensis against Lead intoxication. Green tea is rich in polyphenols that can chelate Lead and form insoluble complexes. This could explain the decrease in and / or disappearance of harmful effects of the metal in the presence of the aqueous extract of green tea.

Key words: Camellia sinensis, antioxidants, phytotherapy, phytochemistry, lead acetate, reprotoxicity, oxidative stress.

الملخص

اظهرت دراسات تلوث البيئة تأثيرها على صحة الانسان. تعتبر المعادن الثقيلة كالرصاص اهم الاسباب المولدة للأكسدة التي تؤثر على عملية التكاثر و خاصة الجهاز التناسلي الذكري .

الهدف من هذه الدراسة هو تسليط الضوء على الآثار المفيدة من المستخلص المائي للشاي الاخضر *Camellia sinensis* 6,6 % على الوظيفة الجنسية لذكور الجرذان المسممة بالرصاص (3غ/ل) لمدة اربع اسابيع .

اظهر التحليل الكيميائي النباتي للمستخلصين المائي و المجفف بالتجميد ل *Camellia sinensis* تركيز عالي من متعدد الفينول مثل التانين ,الفلافونيدات بالإضافة إلى ذلك , كشف الاختبار على وجود مضادات أكسدة بكمية جد معتبرة في مستخلص الشاي الأخضر المائى .

بعد اربع اسابيع من التجربة لوحظ انخفاض كبير في وزن الجرذان المسممة و التعرض الحاد للرصاص ادى أيضا إلى انخفاض كبيرة في وزن وحجم الخصيتين . وفي الوقت نفسه، لوحظ وجود خلل و انخفاض عدد الحيوانات المنوية. أظهرت الدراسة انخفاض في سمك الخصيتين و تخريب للأنابيب المنوية عند الجرذان المسممة بالرصاص كما لوحظ وجود خلل في الفحوصات الكيميائية.

توضح النتائج انه عند شرب المستخلص المائى للشاي الاخضر بكمية 6,6% الذي يعتبر كمصدر لمادة البوليفنول قد خفض نسبة الاكسدة التي سببها الرصاص كما انه قام بتنشيط الحيوانات المنوية وقام بتعديل الفحوصات الهرمونية(FSH LH Testostérone) و الكيميائية (LDH PAL Fer Protéine) كما توضح النتائج ايضا على ان الشاي الاخضر ساهم في تحسين الدفاع ضد الجذور الحرة دلك عن طريق زيادة الانزيمات المضادة للأكسدة (CAT SOD Antioxydants totaux) .

تشير النتائج الى ان معظم الاضطرابات التي سببها الرصاص اختفت نسبيا عند شرب الشاي الاخضر مما يمثل دورا استراتيجيا هاما في القضاء على الاثار الضارة للرصاص.

الكلمات المفتاحية : *Camellia sinensis* , *الشاي الاخضر*, *الرصاص*, التحليل الكيميائي النباتي, *العلاج بالنباتات*, الانزيمات المضادة للأكسدة , *تسمم الجهاز التناسلي الذكري*.

INTRODUCTION GENERALE

L'infertilité masculine est l'un des sujets les plus importants qui pose actuellement un grand problème **(Meeker *et al.*, 2007 ; Fisher *et al.*, 2007; Castellini *et al.*, 2009)** la réduction de la fertilité a été expliquée par l'exposition de plusieurs produits chimiques, parmi eux le plomb. L'interférence du plomb avec la reproduction a été rapportée il y a plus d'un siècle, principalement chez l'homme exposé en milieu professionnel (**Patra *et al.*, 2009** ; **Sallmen *et al.*, 2001**. Une forte exposition au plomb est associée à un risque d'infertilité voire de stérilité (**Karadeniz *et al.*, 2009** ; **Meeker *et al.*, 2008** ; **Allouche *et al.*, 2009).** La reprotoxicité chez l'homme se manifeste par la diminution de nombre et la mobilité des spermatozoïdes ainsi l'augmentation des anomalies des spermatozoïdes, le plomb aussi provoque un déséquilibre entre la génération d'espèces réactives d'oxygène et la capacité de balayage des antioxydants dans le tractus reproducteur **Chowdhury, 2009 ;Tahir *et al.*, 2015).** Le traitement de saturnisme qui est l'intoxication par le plomb repose éventuellement sur l'administration des agents chélateurs qui sont des molécules destinées à fixer le plomb *in vivo*, à le mobiliser puis à faciliter son élimination de l'organisme. Ce traitement plus ses effets secondaires indésirables, reste encore incapable d'éliminer la totalité de plomb ingéré du corps. **(Khalaf *et al.*, 2012).**

Les plantes médicinales constituent une richesse naturelle très importante. Ces propriétés sont attribuées aux agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. Les remèdes à base d'herbe ont été utilisés largement autour du monde **(Mekkiou, 2005**). La recherche de nouvelles substances est un événement très important qui a été développé de plus en plus ces dernières années, ainsi la phytothérapie représente le domaine le plus exploité à fin de trouver de nouvelles molécules qui sembles être prometteuses dans le traitement des effets néfastes dus à l'intoxication précoce au plomb. Le rôle joué par les antioxydants naturels dans la prévention contre le stress oxydatif généré par les métaux lourds a été clairement établit par différentes études **(Manach *et al.*, 2004).** Aujourd'hui, le thé vert est considéré comme une source de constituants alimentaires doté d'activités biologiques et pharmacologiques avec des avantages potentiels pour la santé humaine. L'intérêt croissant dans les propriétés de l'extrait de thé vert et ses principaux polyphénols ainsi que les catéchines ont conduit à une augmentation significative dans la recherche scientifique pour la prévention thérapeutiques dans plusieurs maladies (**Mandel *et al.*, 2004 ; Ostrowska *et al.*, 2004; Gomikawa et al., 2008; Oluranti, 2017)**.

C'est un modulateur très efficace des effets toxiques surtout cancérigènes et mutagènes liés l'exposition aux produits toxiques **(Tang et al., 2008; Oluranti, 2017).** Bien

qu'il soit très riche en polyphénols, l'activité antioxydante que ces substances lui confèrent, a été supposée d'être responsable de ses effets bénéfiques contre la toxicité et le stresse oxydatif chez les animaux de laboratoire (**Yang *et al.*, 2009 ; Schramm, 2013 ; Li et al., 2014 ; Rahmani *et al*., 2015; Roychoudhury *et al.*, 2017).**

C'est dans cette optique que se situe notre travail il s'agit d'évaluer « **l'effet bénéfique de l'extrait aqueux de thé vert sur La fonction reproductrice mâle chez les rat wistar intoxiqué par le plomb »**

Afin d'atteindre cet objectif, nous avons envisagé une série d'expérience qui comporte deux volet:

Le premier volet s'intéresse à étudier la plante (*Camellia sinensis*) par une étude phytochimique de tout en déterminant la présence ou l'absence de certains composés bioactifs (polyphénols, flavonoïdes, tannins ….etc) ainsi que le dosage quantitatif de ces mêmes composés. Détermination de l'activité antioxydante de l'extrait aqueux de (Camellia sinensis) en utilisant différents méthodes : pouvoir réducteur, activité des antioxydants totaux, test de DPPH et enfin déterminer l'activité de chélation des métaux.

Le deuxième volet s'intéresse à étudier les effets de l'extrait aqueux du thé vert (Camellia sinensis) chez les rats intoxiqués par l'acétate de plomb :

- ✓ Approche biochimique: le dosage de certains paramètres biochimiques, dosage des hormones sexuelles et la détermination de la plombémie.
- ✓ Approche sur la balance antioxydants: dosage de la catalase, superoxyde dismutase, antioxydants totaux ainsi que la peroxydation lipidique (TBARS).
- ✓ Approche histologique : observer au niveau cellulaire les perturbations causées par le plomb et l'effet du traitement par le thé vert (Camellia sinensis) au niveau testiculaire.
- ✓ Approche sur la génotoxicité : Analyse des aberrations chromosomiques.

CHAPITRE I :
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Partie I : Le Plomb

Les éléments traces métalliques (ETMs) ou « métaux lourds » sont des composants essentiels des écosystèmes terrestres car ils participent aux cycles biogéochimiques. Ils sont pour certains d'entre eux essentiels au bon fonctionnement de la biosphère **(Fahr, 2014)**. A faible dose, certains métaux comme le fer, le zinc, le chrome, le cuivre,... sont indispensables à la survie des formes vivantes. Cependant, à forte dose, ils sont toxiques et peuvent être à l'origine de disfonctionnements physiologiques majeurs et de maladies graves **(Borovik, 1990).** Par ailleurs, d'autres métaux qui n'ont pas de fonctions biologiques, sont classés parmi les polluants dits "polluants atmosphériques dangereux". Il s'agit en particulier du plomb (Pb), du mercure (Hg), de l'arsenic (As) et du cadmium (Cd). En absence d'activités humaines, les métaux lourds, par nature non biodégradables **(Traunfeld et Clement, 2001)** sont relâchés dans l'environnement au rythme de l'érosion ou des activités biologiques **(Gadd, 2010)**. Cependant, ce rythme est considérablement perturbé par l'anthropisation. Depuis le siècle dernier, les activités industrielles ont connu un développement considérable et ont entrainé une accélération de l'industrie minière. Après l'arrêt des activités et la fermeture des sites miniers, la plupart des déchets sont laissés à l'abandon. Ces déblais fortement chargés en métaux lourds sont alors facilement érodés. Ces activités extractives très polluantes engendrent des perturbations des cycles biogéochimiques modifiant ainsi la dynamique et le fonctionnement des écosystèmes avec des conséquences parfois irréversibles sur la biodiversité et peuvent aller jusqu'à des changements climatiques **(Sala *et al*., 2000)**.

1. Généralités sur le plomb

Le plomb a été utilisé depuis l'antiquité pour la fabrication de monnaies et des vêtements étanches où s'apparition date 4000 ans AV J-C **(Leyral et Vierling, 2007)**.Cet élément chimique est décrit comme un métal lourd qui n'est pas trouvé dans la nature sous forme métallique, ainsi il est obtenu à partir des minerais : la galène **(Lansdown *et al*., 1986; Russel et Lattau, 1990).** Vu ses propriétés antidétonantes, le plomb était largement utilisé dans divers industries, notamment dans la production des carburants. En 1923, cette utilisation est devenue interdite dans les pays industrialisés à cause de la toxicité de ce métal, mais celui–ci reste prédominant dans les pays en voie de développement. La littérature sur le plomb est énorme et il représente ainsi l'agent toxique le mieux étudié **(Nriagu, 1996)** dont l'intoxication par ce métal était reconnue chez les adultes pour la première fois par Hippocrate (370 A-C).

2. Propriétés physico-chimiques du plomb

Le plomb, du latin *plombum* est un métal mou, gris, habituellement trouvé en petite quantité dans la croûte terrestre. Il n'a ni goût ni odeur caractéristique. Il appartient au groupe IVb de la classification périodique des éléments. De configuration électronique **[Xe] $4f^{14}$ $5d^{10}$ $6s^2$ $6p^2$**, il possède 2 électrons non appariés sur la dernière couche. Cette configuration électronique autorise les degrés d'oxydation (+2) et (+4), en plus de la forme métal (0). Le cation Pb^{2+} est un acide au sens de Lewis, c'est-à-dire qu'il est susceptible d'accepter un doublet d'électrons venant d'une base, pour former une liaison covalente. Mais c'est également une espèce chargée susceptible d'interactions électrostatiques avec des ions de signes contraires, pour former une liaison ionique **(Sposito, 1982)** (**Tableau 01)**.

Tableau 01 : Propriétés physico-chimiques du plomb et ses dérivés **(Miquel, 2001).**

Symbole	Pb
Numéro atomique	82
Masse atomique	270 g. mol-1
Masse volumique	11,35 g/cm3
Point de fusion	327 C°
Point d'ébullition	1740 C°
Valences	0, +2, +4
Minerai d'origine	Galène

3. Source d'exposition

L'exposition chez les humains se fait par l'une des sources suivantes :

3.1. Alimentation

L'exposition se fait principalement par l'ingestion des aliments (végétaux) contaminés au plomb à travers le sol, l'air, les pluies et les procédures de préparations industrielles **(Center for Disease Control, 1991)**. Les produits d'origine animale eux mêmes représentent un risque potentiel vu le taux élevé du plomb retrouvé dans les tissus et les organes (rognons et foie). Ainsi les procédures industrielles de préparation des aliments et d'emballage dans des récipients métalliques peuvent augmenter le taux de ce métal dans les aliments **(INERIS, 2003).**

3.2. Eau

Le taux de plomb dans l'eau de surface et profonde est faible mais lorsque cette eau rentre dans les systèmes de distribution, la concentration de ce métal peut augmenter; ainsi le plomb contenu dans l'eau est absorbé plus complètement que celui dans l'alimentation: 35 à 50 % chez les adultes et 50% chez les enfants **(ATSDR, 1998; INERIS, 2003).**

3.3. Poussières

L'inhalation de poussières fines émises dans l'atmosphère à partir des sources générant de plomb (éruption volcanique et combustion des carburants) constitue une source très redoutable d'exposition quotidienne. Ainsi les poussières peuvent être transportées du lieu de travail vers la maison à travers les vêtements, les chasseurs et les mains sales, cependant cette dernière action (activité main-bouche) représente la source privilégiée de contamination des enfants par ce métal **(Renberg *et al*., 2000)**.

3.4. Activité professionnelle

Les secteurs industriels présentent une source de contamination très importante et qui touche beaucoup plus les travailleurs des mines, de fabrication et la récupération d'accumulateurs, certaines opérations de soudage, de sablages et de décapages **(ATSDR, 2007).** Il faut noter que seule la peinture peut contenir de 5 à 40 % de plomb.

3.5. Activités et loisirs

Les loisirs qui peuvent entrainer une exposition accrue au plomb sont : la poterie, brulage et les veilles peintures. Certains cas d'intoxication saturne ont été associés à des poteries artisanales, des ustensiles de cuisine en plomb, soit avec soudeur en plomb, ou bien coloré par une peinture à base de ce métal. D'autres sources d'exposition à cet élément chimique non négligeable sont représentées par certains remèdes médicaux et cosmétiques traditionnels (Khôls), plomb de pêches, de chasse et bijoux de fantaisie. **(INERIS, 2003).** Certains enfants présentent le syndrome d'ingestion compulsive des substances non alimentaire, dans ce cas ils seront intoxiqués par le plomb en mâchant la peinture ou les particules de sols contenants ce métal lourd **(Lissauer et Clayden, 1998)**. L'exposition au plomb même à faible dose peut avoir des conséquences très graves sur la santé telle que l'apparition des troubles neurologiques surtous chez les enfants, donc on peut conclure que les populations en risque regroupent plus particulièrement les personnes de professions exposées au plomb et les enfants de bas âges **(Stellman, 2000 ; Zimmer, 2008).**

4. La toxicité du plomb

Le plomb est considéré comme un danger pour la santé publique et l'environnement. Il ne joue aucun rôle physiologique au sein de l'organisme, au contraire il perturbe la vie cellulaire ainsi que différentes voies et processus métaboliques, il inhibe divers enzymes par déplacement d'autres métaux comme le calcium, zinc, fer et il peut avoir des effets toxiques sur l'ensemble des systèmes de l'organisme. On distingue deux types d'intoxication, l'intoxication aigue et l'intoxication chronique.

4.1. Intoxication aiguë

L'intoxication aiguë au plomb se manifeste différemment selon qu'elle survient chez l'enfant ou chez l'adulte. Chez l'enfant, l'intoxication aiguë au plomb est caractérisée par l'anorexie, les vomissements, l'irritabilité et les troubles de comportement **(Sebbah *et al*., 2004 ; Vaubourdolle, 2007)**, alors que chez l'adulte elle se manifeste cliniquement par un goût métallique, des douleurs abdominales (coliques) et la constipation. Ces symptômes se manifestent généralement lorsque la plombémie atteint 30 à 50 µg/dl (1,44 à 2,4 µmol/l) (**California Environmental Protection Agency, 1997**). Par ailleurs, une intoxication plus sévère peut provoquer des convulsions, le coma et parfois même la mort et ce, tant chez l'enfant que chez l'adulte.

4.2. Toxicité chronique

Si l'exposition par ingestion prédomine dans la population générale, et l'inhalation en milieu professionnel, ces deux voies sont le plus souvent indiscernables l'une de l'autre. Pour pallier la difficulté qui consiste à identifier ces différentes voies et sources d'exposition, les effets du plomb sur l'homme sont identifiés à partir de la dose interne de plomb mesurée dans le sang **(Vaubourdolle, 2007)**.

5. Toxico-cinétique du plomb

Il est important de connaitre les différentes phases de l'absorption à l'élimination en passant par les mécanismes de transfert dans les différents tissus et le stockage dans certains organes **(Fig. 1)**.

5.1. Absorption

5.1.1. Absorption pulmonaire

Elle joue un rôle important pour les personnes exposées en milieu industriel ou qui vivent sous les rejets atmosphériques, dans l'environnement des entreprises polluantes. Les mécanismes et facteurs d'efficacité de l'absorption mis en jeu lors de l'inhalation d'un air contaminé par le plomb ont été envisagés par **Friberg *et al*., 1986.** Le plomb atmosphérique

peut exister sous forme de vapeurs, de gaz ou de particules. Les vapeurs et gaz des composés métalliques étant peu solubles dans l'eau, ils migrent jusqu'aux alvéoles pulmonaires où ils passent dans le sang. Le taux de déposition des particules inhalées est de l'ordre de 30 à 50% et dépend de la taille et de la ventilation pulmonaire. (**Friberg *et al.*, 1986**). Les particules métalliques se déposent sur les muqueuses des différents segments de l'appareil respiratoire en fonction de leur taille. Les résultats de l'étude de **Thompson *et al* (1985)** ont montré que 20 à 30% du plomb inhalé étaient absorbés. Un individu qui respire 1 µg Pb/m^3 d'aire voit son taux sanguin de plomb augmenter de 3 à 20 µg /L (**Azar *et al.*, 1975**). Indépendamment de la taille et de la solubilité des particules, la spéciation du plomb semble favoriser son absorption (les oxydes de plomb seraient plus absorbés que les sulfures) **(Wang *et al.*, 2007**).

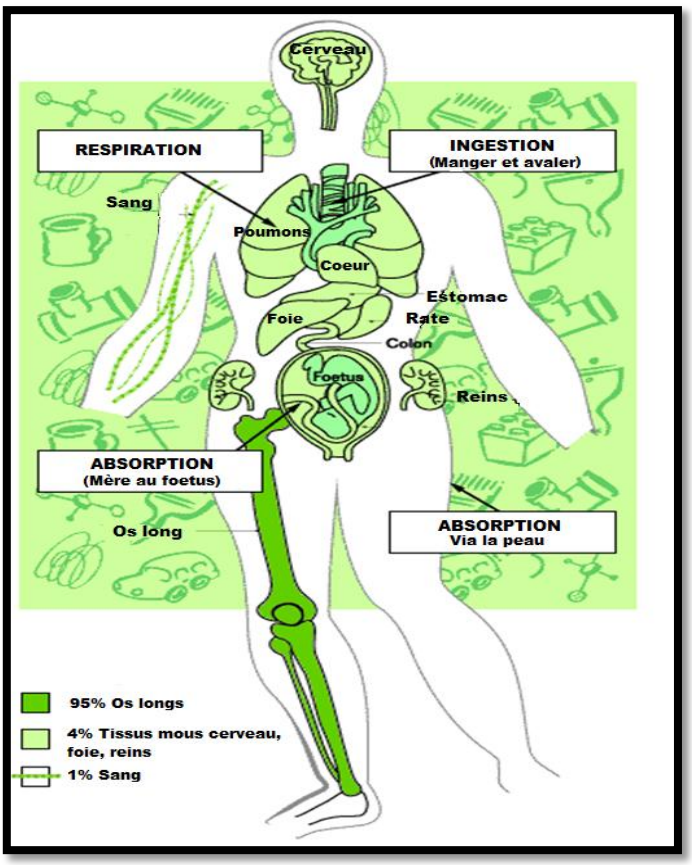


Fig.1. Les voies de pénétration du plomb (Sabbar, 2013)

5.1.2. L'absorption digestive

Les sources de plomb peuvent également être constituées par les aliments contaminés, le lait, les boissons et l'eau du robinet, de même que les écailles de peinture, les poussières domestiques ou les sols. La biodisponibilité du plomb dépend de sa solubilité dans le tractus gastro-intestinal. Le pH des muqueuses digestives est très variable : de très acide au niveau de l'estomac, il devient faiblement acide dans le jéjunum et neutre ou légèrement alcalin dans le duodénum. Le plomb doit être solubilisé pour être absorbé. Or l'acide chlorhydrique, même concentré, l'attaque difficilement. Ainsi, le plomb métallique ne serait assimilable au maximum qu'à 20% **(Botta *et al*., 1976).** Par ailleurs, la formation d'ions complexes du type $PbOH^+$, $PbCI^+$ ou $PbNO^{3+}$ augmenterait la biodisponibilité du plomb à des pH supérieurs au pH stomacal ***(*Simon, 1986**). Les travaux d'**Ito *et al*., (1987)** ont mis en évidences la présence de deux mécanismes de transport gastro-duodénal **:**

- Passif, qui nécessite une solubilité dans les lipides et une ionisation permettant sa liaison à des macromolécules; cette situation est rare dans le cas du plomb.
- Actif, beaucoup plus important, qui emprunte les voies d'absorption du calcium, du magnésium et du fer. Cette composante est saturable, comme le prouve la baisse du taux d'absorption quand la quantité de plomb présente dans l'estomac augmente.

De nombreux facteurs peuvent favoriser l'absorption du plomb **:**

- Composition du régime alimentaire en acides organiques **(Ito *et al*., 1987)**: citrate de sodium des agrumes, acide ascorbique (vitamine C), acides aminés et protéines, graisses, lactose.
- Carences en fer, calcium, magnésium entraînant une diminution de la compétition avec le plomb.
- carences en vitamine B1 et en fibres végétales **(Ito *et al*., 1987).**
- Le facteur le plus important est le mécanisme de compétition avec le calcium. Toute carence ou tout besoin supplémentaires en Ca^{2+} favorise l'absorption du plomb.

5.1.3. Absorption cutanée

L'absorption cutanée est négligeable, sauf pour le plomb organique qui est très liposoluble (**Botta *et al*., 1976**). Des tests *in vitro* réalisé sur de la peau humaine ont permis de classer différents composés de plomb selon leur taux d'absorption par ordre décroissant: tétrabutyl de plomb>naphtalène de plomb>acétate de plomb>oxyde de plomb. Après une application de crème ou de solution contenant de l'acétate de plomb (9 nmol/Kg ou 6 nmol/L)

pendant 12 heures chez 8 volontaires sains, les travaux de **Moore *et al.*, (1980**) ont montré que le taux d'absorption de l'acétate de plomb était compris entre 0 et 0,3% (**Craft *et al.*, 2004**).

5.2. Distribution

5.2.1. Transport sanguin

Après absorption pulmonaire ou digestive, le plomb passe dans le sang où il se répartit entre forme fixée aux hématies (95%) non diffusible et une forme plasmatique qui sera stockée dans les tissus ou éliminée dans les urines (**Ong et Lee, 1980 ; INERIS, 2003**). Le plomb sanguin représente environ 2% du pool total de l'organisme et sa demi-vie chez l'adulte est en moyenne de 20 à 30 jours (**Nillson *et al.*, 1991**). Il correspond à un équilibre entre le plomb absorbé, le plomb stocké et le plomb éliminé par voie urinaire (**Cezard et Haguenoer, 1992**).

Ceci explique en moins en partie, que la demi-vie du plomb sanguin a été estimée à des 10 mois chez des enfants exposés à un risque important d'intoxication ou par ingestion (**Mushak, 1993**). En utilisant le dosage des isotopes stables du plomb, une étude a montré chez l'homme faiblement exposé (10 à 60 µg/l) et avec des taux osseux faibles (0,6 à 7µg Pb/g), que le squelette contribue pour 40 à 70% du plomb sanguin (**Smith, 1989**).

5.2.2. Transfert aux organes

Les sels de plomb se fixent dans les différents tissus et en particulier au niveau de l'os où entrant en compétition avec les ions calcium (Ca^{2+}) ils sont majoritairement stockés (80 à 90% du plomb total) (**Wedeen, 1988**). Cela peut représenter un total de 40à 50 mg pour un individu soumis à une exposition environnementale, et plus de 200 mg dans le cas d'expositions professionnelles (**Wittmers *et al.*, 1988**). Indépendamment de l'activité professionnelle, les quantités de plomb accumulées sont en moyenne plus élevées chez l'homme que chez la femme (**Yoshinaga *et al* ., 1989** ; **Kurttio *et al.*, 2005**). La demi-vie du plomb osseux est très différente selon qu'il est présent dans l'os trabéculaire (2,4 ans) ou l'os cortical (en moyenne 9,5 ans et très variable selon les os (**Christofferson *et al.*, 1986 ; Miller *et al.*, 2001**). Les échanges avec le plomb fixé sur les tissus mous (rein, molle osseuse, foie, rate et cerveau) sont plus rapides, et sa demi-vie y est d'environ 40à 60 jours. Par ingestion, l'absorption du plomb au niveau du foie et des reins est trois fois plus importantes que par inhalation (**Barthelemy *et al.*, 1975** ; **Taulan *et al.*, 2004**).

Les autopsies réalisées sur des travailleurs ont révélé une accumulation du plomb, par ordre décroissant, dans le foie >les reins >les poumons > le cerveau. De plus, l'accumulation

sélective du plomb notamment dans certaines zones du cerveau et des reins (cortex) a pu être observée chez l'homme (**Amdur *et al*., 1996; Paquet *et al*., 2005).**

Le plomb s'accumule également dans les dents, les ongles et les cheveux. L'utilisation des dents de lait comme marqueurs rétrospectifs de l'exposition cumulée au plomb a progressivement été abandonnée dans les enquêtes épidémiologiques. Les derniers travaux semblent montrer que le plomb présent dans la dentine est d'avantage lié aux expositions précédant la chute de la dent de lait, et seul le taux sanguin à 57 mois peut être corrélé au taux de plomb da la dentine *(***Rabinowitz *et al*., 1993** ; **Phillipon, 2000**).

Le plomb passe facilement la barrière placentaire par simple diffusion et l'exposition prénatale constitue un risque important d'imprégnation du plomb par les tés jeunes enfants. Plusieurs études ont en effet montré qu'à la naissance, les plombémies maternelles et fœtales sont fortement corrélées (**Goyer *et al*., 2001; Seregin *et al*., 2004**). De même, les teneurs dans le lait maternel sont supérieures à celles du plasma de la mère, probablement en raison d'une mobilisation du plomb dans les os liés aux besoins augmentés en calcium (**Gulson *et al*., 1997 ; Lestaevel, 2005**).

5.3. Elimination

La principale voie d'excrétion du plomb est urinaire, au moins 75% du plomb absorbé sont éliminés par cette voie (**Haguenenoer et Furon., 1982 ; Orloff *et al*., 2004**). Le plomb se retrouve dans les urines à partir de l'ingestion quotidienne d'au moins 1 mg d'acétate de plomb, essentiellement sous forme ionisée libre lorsque les plombémies sont dans des limites normales (**Kehoe, 1987**). Pour des expositions modérées observées en milieu professionnel les taux de plomb urinaire sont compris entre 0,05 et 0,2 mg/L (**Robinson, 1974**). La cinétique d'excrétion urinaire serait bien plus lente chez l'enfant que chez l'adulte (***Who, 2004***). Le plomb non absorbé par le tractus gastro-intestinal est éliminé par les fèces. Pus de 85% du plomb ingéré dans l'eau de boisson par des adultes volontaires (0,3 à 3 mg de plomb/j/16 à 28 semaines) sont excrétés et ce majoritairement dans les fèces (90%) (**Kehoe, 1987**). Le plomb peut également s'éliminer par la salive, la sueur, les cheveux et les ongles. Négligeable dans des conditions normale, l'exposition à la chaleur peut entraîner chez l'homme une excrétion sudorale supérieure à l'élimination urinaire (**Asayama *et al*., 1975*;* Piechalak *et al*., 2008**).

6. Principaux effets toxiques du plomb sur la santé

6.1. Mode d'action du plomb

Le plomb à une grande affinité pour les groupements thiols (-SH) et d'autres ligands organiques présents dans les protéines ***(*Vallee et Ulmer, *1972)*.** Les caractéristiques moléculaires du plomb sont très semblables à celles du calcium, de sorte que la dynamique du calcium influe fortement sur la cinétique du plomb. L'apport alimentaire en calcium agit sur l'absorption gastro-intestinale du plomb et que les adultes et les enfants dont le régime alimentaire est faible en calcium absorbent plus de plomb ***(*Blake et Mann, 1983; Mahaffey *et al*., 1986)**. Le plomb peut se substituer au calcium (et peut-être à d'autres métaux essentiels), ce phénomène peut intervient également dans son mode d'action ***(*Zawia *et al*., 1998; Hanas *et al*., 1999; ATSDR, 2007; AESA, 2010)**. Tout comme le calcium, le plomb s'accumule dans les os. Il peut, de manière opportuniste, traverser les membranes cellulaires par les canaux calciques dépendants du voltage ou par le biais du système de transport actif, comme l'activité Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase **(Simons, 1988).** En conséquence, les effets sur la santé associés au plomb se produisent selon des modes d'action courants, comme la capacité du plomb d'imiter d'autres métaux biologiques essentiels (calcium, fer et zinc), le plus notable étant le calcium **(Saka *et al.*, 2011).**

6.2. Effets hématologiques

Le plomb entrave l'activité d'enzymes clés dans la synthèse de l'hème, un composant essentiel de l'hémoglobine, et a un effet nocif sur la morphologie des érythrocytes et la longévité **(Klaassen, 2008; AESA, 2010)**. C'est l'inhibition de l'acide aminolévulinique deshydratase (ALA-D), en plus d'autres enzymes nécessaires à la synthèse de l'hème, qui entraîne la production accrue de la protoporphyrine-zinc (détectable dans le sang et l'urine) et, en dernier ressort, la diminution de la quantité d'hémoglobine dans les globules rouges (figure 3). L'effet principal est une anémie qui est d'abord normochrome et normocytaire puis qui devient microcytaire et hypochrome lorsque s'associe un déficit en fer **(Goering, 1993 ; Falcy *et al*., 1998) (Fig.2).**

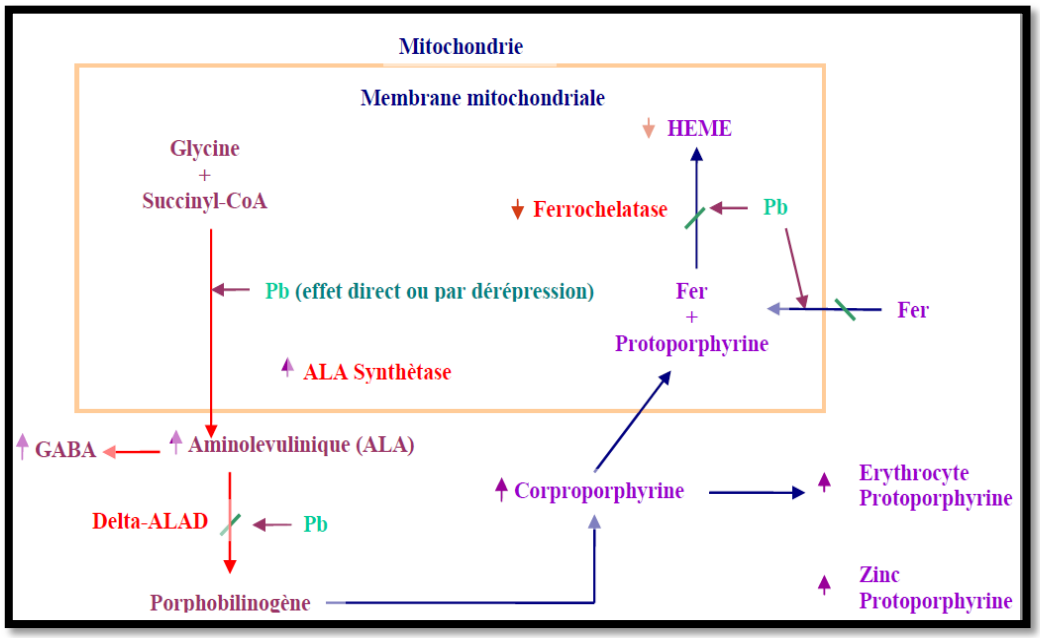


Fig.2. Effet du plomb sur la biosynthèse de l'hème (Needlman et al., 2004)

6.3. Effets cardio-vasculaires

Dans le système cardiovasculaire, l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire déclenchée par la présence de plomb (entre autres effets) accroît le tonus musculaire lisse vasculaire, ce qui entraîne un accroissement de la résistance microcirculatoire et, donc, une hausse de la tension artérielle **(Hwang *et al.*, 2001).** La cardiotoxicité (effets inotropes et chronotropes) et l'artériopathie périphérique, et il a été démontré que plusieurs de ces effets étaient associés à des CSP de <10 µg/dl **(Schober *et al.*, 2006 ; Navas-Acien *et al.*, 2008)**. Les hausses de la tension artérielle induites par le plomb, en particulier la tension artérielle systolique (TAS) ou le risque d'hypertension, constituent les paramètres qui ont été le plus étudiés et pour lesquels le poids de la preuve d'une relation causale est le plus solide **(Cheng *et al.*, 2001).**

6.4. Effets neurologiques

Dans le système nerveux central et périphérique, les réactions dépendantes du calcium et les perturbations de l'homéostasie du calcium constitueraient les plus importantes voies menant à une toxicité apparente **(AESA, 2010).** Le plomb a des effets sur la transmission neuro-excitatrice glutamatergique, la croissance, la différenciation et la survie des neurones pourraient également être indirectement altérées, du fait d'effets toxiques du Pb sur les cellules gliales **(Falcy *et al.*, 1998).** Des études épidémiologiques font état d'une association, après ajustement des facteurs confusionnels, entre l'exposition infantile au plomb et des effets

nocifs sur le développement en regard de divers paramètres neurologiques, neurophysiologiques, cognitifs et comportementaux, dont : la fonction neuromotrice **(Ris *et al*., 2004; Després *et al*., 2005; Fraser *et al*., 2006),** le comportement délinquant ou antisocial **(Dietrich *et al*., 2001)**, la fonction auditive **(Osman *et al*.,1999)** et la fonction visuelle **(Laughlin *et al*., 2008).**

6.5. Effets génotoxiques

Le mécanisme de l'effet mutagène et clastogène du plomb n'est pas clair. L'ensemble des réponses semble suggérer un mécanisme indirect (dérèglement enzymatique) plutôt qu'une lésion directe du matériel génétique **(Falcy *et al*., 1998).** L'ensemble des résultats obtenus in vitro et in vivo ne permet pas de tirer des conclusions quant à l'effet génotoxique du plomb. In vitro, le plomb altère l'ADN : sous forme d'ion divalent, il réagit rapidement avec les groupements phosphates et les bases de l'ADN donnant naissance à des complexes stables **(IARC, 1980).** Les composés du plomb inorganiques ont des activités comutagènes en combinaison avec d'autres agents mutagènes (UV, Nméthyl- N-nitro-N'-nitrosoguanidine, rayons X). Ces effets pourraient être dus à une inhibition par le plomb de l'étape de polymérisation ou de liaison de l'ADN **(Hartwig, 1994).** Des aberrations chromosomiques sévères sont induites, dans des conditions particulières (régime pauvre en calcium par exemple) chez le singe et la souris **(Gerber *et al*., 1980).** Des réponses contradictoires ont été obtenues pour les aberrations chromosomiques et les échanges entre chromatides sœurs sur cellules de mammifères ou lymphocytes humains en culture **(García-Lestón *et al*., 2010).**

6.6. Effets sur le système immunitaire

Les effets du plomb sur le système immunitaire plus précisément sur l'immunité à médiation cellulaire se manifestent par une diminution du pourcentage des lymphocytes T chez les sujets ayant des plombémies supérieurs à 250 µg /l **(Undeger *et al*., 1996).** Concernant l'immunité à médiation humorale, cet élément chimique induit une diminution de résistance aux germes pathogènes par l'altération de la reconnaissance immunitaire et aussi par l'inhibition de la production de l'interleukine 2 (IL2) **(Amdur *et al*., 1996)**.

6.7. Effets sur la reproduction et le développement

Les principaux effets sur la reproduction observés chez des femmes exposées à de faibles concentrations de plomb incluent des retards de la maturation sexuelle, le risque de fausse couche et un faible poids des nouveau-nés ou des naissances prématurées. **(Wang *et al*., 2008).** Chez les hommes, la plupart des effets signalés sur l'appareil reproducteur ont été observés à des CSP de >10 µg/dL; ces effets incluent une diminution du nombre de spermatozoïdes, des aberrations morphologiques et un risque accru de stérilité **(Alexander *et al* ., 1996; Sallmen *et al*., 2000; Bonde *et al*., 2002).** Toutefois, les auteurs d'une étude menée dans la Fédération de Russie font état d'une association entre des CSP aussi basses que 3 µg/dL et une croissance moindre ainsi que des écarts dans le début de la puberté chez des garçons périadolescents (**Hauser *et al*., 2008**). Par ailleurs, le plomb perturbe la sécrétion d'hormones sexuelles. Ainsi, la concentration de testostérone est diminuée chez l'homme pour des plombémies supérieures à 600 µg/l **(Rodamilans *et al*., 1988** ; **Parenteau, 2007; Ait Hamadouche *et al*., 2009) (Tableau 02).**

Tableau 02 : Effets de la concentration Sanguin en Plomb " **CSP** " (µg/dL) sur la reproduction (**Santé Canada, 2013)**

Type d'étude	**Effet**	**CSP lié à l'effet (µg/dL)**
Les humains	Puberté tardive, filles	3
	Puberté tardive, garçons	3
	Aucun risque accru de fausse couche	3,8
	Risque accru de fausse couche	5
	Réduction de la durée de la gestation et risque accru de naissance prématurée	7,2
	Risque relatif accru de stérilité	10-15
	Diminution de la concentration spermatique	15-24
Les animaux	Puberté tardive, souris femelles	0,7
	Altération de la structure des cellules de Sertoli et des spermatides, rats mâles	7
	Réduction du nombre de spermatozoïdes, rats mâles	7
	Augmentation des malformations externes	10
	Puberté tardive, souris femelles	8-13
	Puberté tardive et altération de l'axe de la gonadotrophine hypophysaire, rats femelles	14
	Dommages structuraux aux tubules séminifères et diminution du nombre de pro-spermatogonies, rats mâles	14

7. Le stress oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les systèmes antioxydants et les systèmes prooxydants en faveur de ces derniers impliquant la production d'espèces réactives de l'oxygène, source d'effets toxiques potentiels (**Aït-Aïssa *et al.*, 2003) (Fig.3).** Le terme d'espèces réactives de l'oxygène (communément appelées ERO, ou ROS en anglais) inclut les différentes formes actives de l'oxygène (comme le radical hydroxyle (OH°) ou l'anion superoxyde ($O2^{\circ}$-)) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), ainsi que les espèces radicalaires qui peuvent en être les initiateurs. Leur réactivité peut être à l'origine d'effets biologiques néfastes.

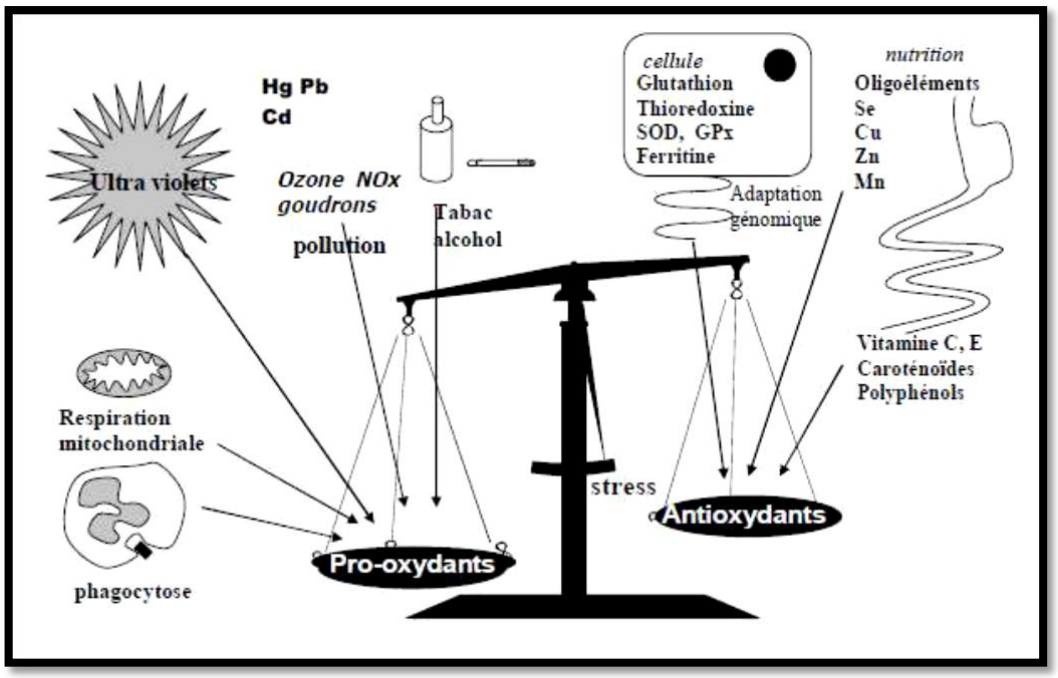


Fig. 03. La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants (Favier, 2006)

Il peut se produire en raison de la surproduction d'oxydants, la diminution de la défense antioxydante ou une combinaison de ces deux facteurs **(Prior et Cao, 1999) (Fig.4).** Les protéines ainsi que les lipides sont les cibles principales des ERO **(Serdar *et al.*, 2006)**. Ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN **(Deaton et Marlin, 2002),** provoquant ainsi le développement de plusieurs maladie tel que le cancer, le diabète, et les maladies neuro-dégénératives **(Ratnam *et al.*, 2006) (Fig.4).** L'organisme humain a développé des systèmes de défense pour traiter ce phénomène (stress

oxydant) et lutter contre les espèces réactives qui sont préjudiciables à la vie humaine **(Laguerre *et al*., 2007).**

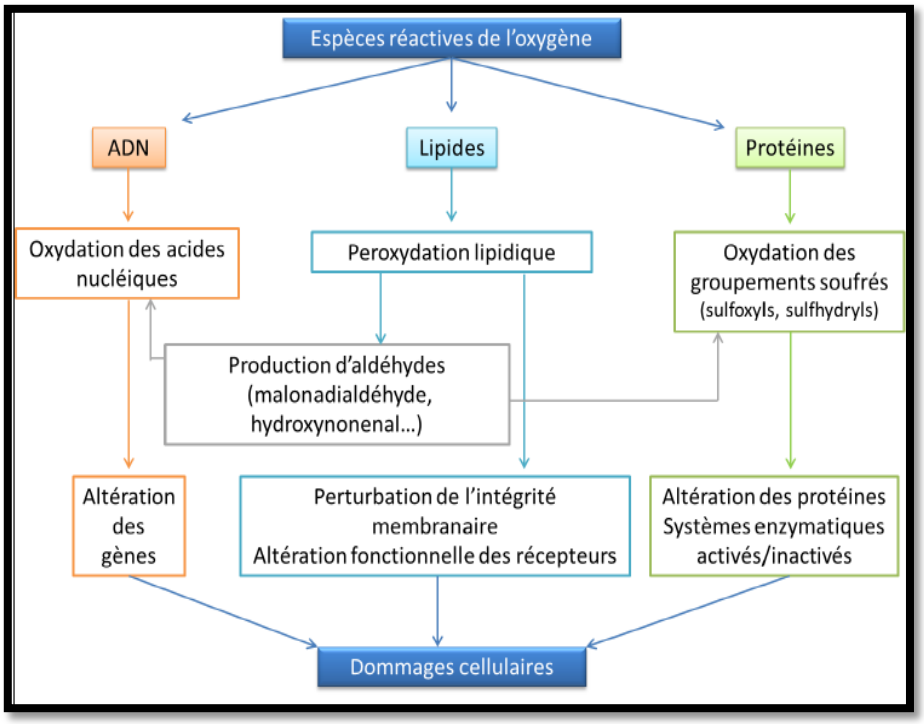


Figure 04: Les différentes cibles des Espèces Réactives de l'Oxygène (Poisson, 2013)

7.1. L'effet du stress oxydatif induit par le plomb sur la fonction reproductrice

Les lésions causées par le plomb des organes de la reproduction peuvent entraîner deux types d'effets : la mort cellulaire, avec une diminution transitoire ou définitive de la fertilité (réductions du nombre, mobilités, viabilités des SPZ), ou des mutations dans les cellules germinales pouvant être transmises lors de la fécondation et se manifester en tant que désordre héréditaire chez les descendants de l'individu exposé **(Aziz *et al*., 2004, Lackner *et al*., 2010, Pasqualotto *et al*., 2000).** Certaines études font état de dommages chromosomiques sur les spermatogonies de rongeurs exposés à l'acétate de plomb. En effet, l'induction d'aberrations chromosomiques dans les cellules germinales a également été observée chez des souris mâles exposées par injection intra testiculaire (**Calmet *et al*., 2003**). Dans les gonades, les lésions peuvent conduire à une mutagénèse accrue, à une altération des fonctions hormonales ou de la fertilité (**Gonzalez-Fernandez *et al*., 2017**) (**Fig.5**).

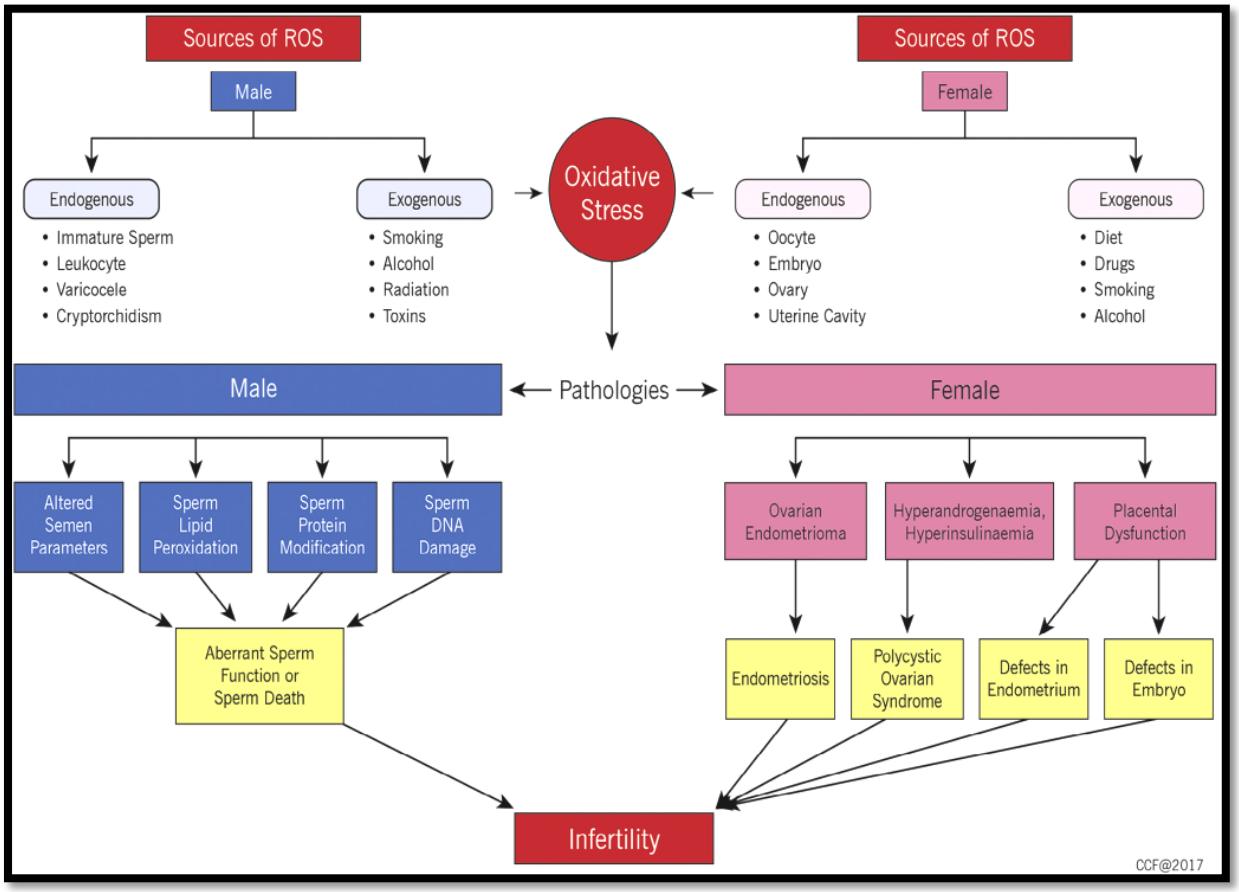


Fig.5. Sources du stress oxydatif et de leur impact sur la reproduction et la fertilité (Roychoudhury *et al*., 2017)

Partie II : Le Thé vert *Camellia sinensis*

La connaissance de l'homme de l'utilisation des plantes, qu'il s'agisse de plantes alimentaires, médicinales ou toxiques, est très ancienne **(Sévenet et Tortora , 1994).** Depuis l'antiquité, l'homme a pu développer son utilisation des plantes, non seulement pour se nourrir, mais aussi pour se soigner. Après avoir vécu plusieurs expériences et accidents avec les plantes au cours des siècles, l'homme a acquis la capacité de faire la distinction entre plantes comestibles et plantes toxiques, ainsi que d'autres constatations qui lui ont permis de sélectionner des plantes pour soigner telle ou telle des maladie. Ces connaissances empiriques accumulées ont permis aux différentes civilisations de prendre les plantes comme source essentielle de médicaments, jusqu'au début du XXème siècle, ou presque toutes les thérapies étaient de base végétale **(Mekkiou, 2005).** Actuellement des études ont démontré que l'utilisation des plantes ayant des pouvoirs antioxydant peut contribuer de manière efficace contre les dommages induits par l'exposition aux métaux lourds, plus particulièrement en luttant contre le stress oxydant **(Geetha *et al*. 2003).** De nos jours, il existe également un intérêt croissant pour les effets bénéfiques du thé vert sur la prévention des maladies **(Neves *et al*., 2010).** Ses composants actifs présentent plusieurs propriétés biologiques, y compris la chimioprévention du cancer, l'inhibition de la croissance des cellules tumorales, les activités antivirales et anti-inflammatoires **(Yang *et al*., 2000)** et l'activité antioxydante **(Morel *et al*., 1993; Guo et al., 1996).**

1. Le thé vert (*Camellia sinensis)*

Le thé est obtenu à partir de *Camellia sinensis*, une plante appartenant à la famille des Theaceae. Elle est originaire de la chine, du sud et du sud-est de l'Asie, bien qu'elle soit cultivée partout dans le monde surtout dans les régions tropicales et subtropicales**.** Avec un degré de consommation toujours en augmentation, Le thé vert est le trésor de la nature pour l'humanité c'est la boisson la plus consommée dans monde après l'eau, le plus souvent sous forme d'infusion ou de décoction **(Namita *et al*., 2012 ;Oluranti.,2017).** A l'état sauvage, le théier (*Camellia sinensis*) est un arbuste de cinq à dix mètres d'hauteur, bien qu'il soit taillé à environ 1,20 m dans les plantations pour faciliter la cueillette des feuilles **(Fig.6).** Les jeunes feuilles à l'extrémité des branches donnent les meilleurs thés, alors que les quatre ou cinq feuilles suivantes servent à la production courante. Les facteurs environnementaux comme le climat, le type de sol et l'altitude contribuent à la teneur en composés bioactifs présents dans le thé **(Nkhili , 2009)**.Après leur récolte, les feuilles du théier, appelées par abus de langage « feuilles de thé », sont commercialisées en trois grandes variétés : les thés noirs, les thés verts et les thés Oolongs. En fait, l'origine de ces variétés est la même (les feuilles de *Camellia*

sinensis), mais la différence se produit lors des traitements subis par les feuilles fraîchement cueillies. Pour le thé vert plus consommé en Chine, les feuilles sont simplement roulées et séchées après la cueillette, alors que le thé noir, plus consommé en Europe, est obtenu après une phase d'oxydation totale des polyphénols présents dans les feuilles par les enzymes polyphénoloxydases. Le thé Oolong ne subit que partiellement, cette phase d'oxydation **(Mossion, 2007).**



Fig.6. la plante de *Camellia sinensis.*

Lors des procédés de la manufacture, le thé vert est obtenu par stabilisation des feuilles de thé sous la chaleur humide ou sèche. Cette opération a pour effet de détruire les polyphénols-oxydases pour inhiber l'oxydation des polyphénols. Par contraste, dans le cas des thés noirs et oolongs, les feuilles sont roulées dans des machines spécialement conçues pour briser les parois cellulaires sans détruire la feuille (thé oolong), ou complètement écraser les feuilles entre deux rouleaux tournant en sens inverse (thé noir). Ce traitement permet l'oxydation des polyphénols après avoir induire des dommages tissulaires facilitant le contact entre ces derniers et les enzymes qui les oxydent, et permettant ainsi une amélioration du goût de thé **(Mossion, 2007) (Fig.7).**

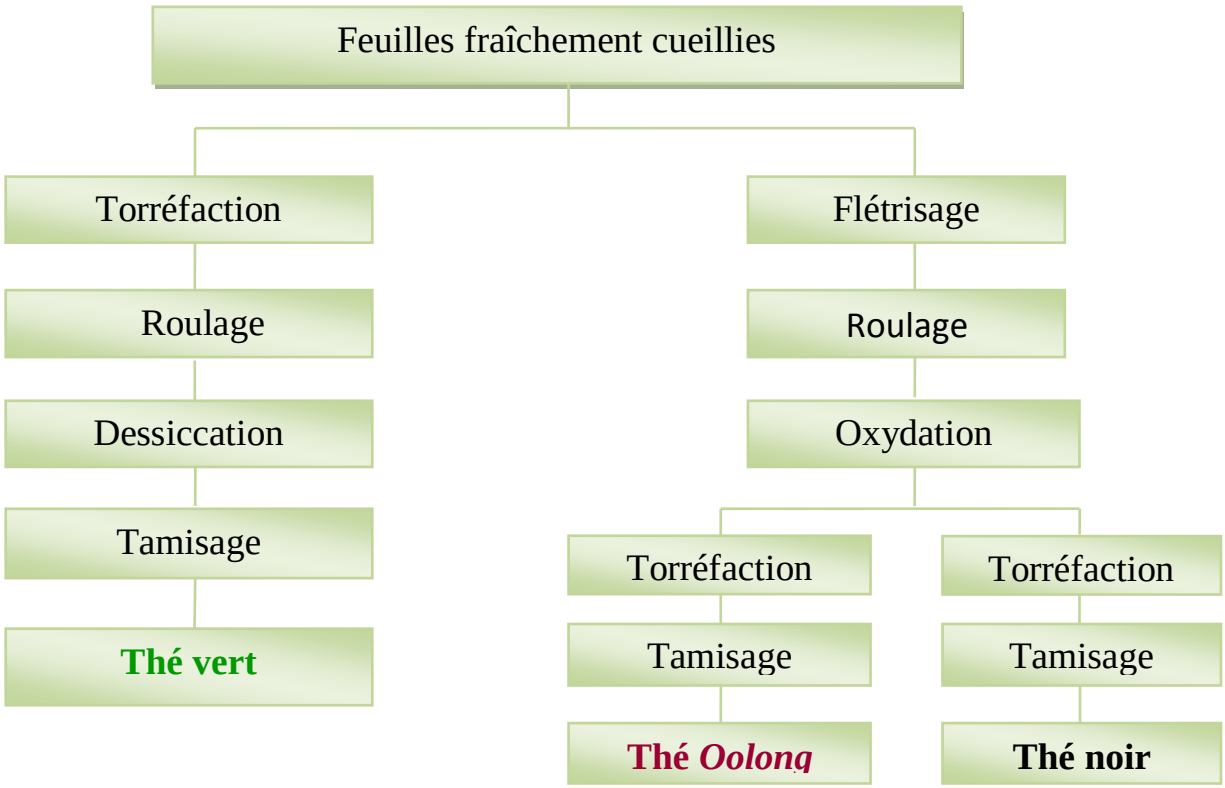


Fig.7. Les principales étapes du traitement des feuilles de théiers après récolte (Graham, 1992)

2. Classification

Selon **Cronquist (1981)** le thé vert a été classé comme suit :

- **Règne : Plantae**
- **Division :** magnoliophyta
- **Classe :** magnoliopsida
- **Ordre :** Théales
- **Famille :** Théaceae
- **Genre :** Camellia
- **Espèce :** *sinensis*
- **Non binomial :** *Camellia sinensis* (L.) O. (Kuntze 1887)

3. Les composants bioactifs du thé vert et ses effets bénéfiques

Une simple tasse de thé est un mélange complexe de plus de 500 substances actives. Peu de gens savent que le thé n'est pas uniquement une façon de terminer un bon repas en buvant un liquide chaud, le thé est aussi une plante qui renferme différentes substances actives utilisées en phytothérapie, Outre les différences liées à la nature du thé, la durée d'infusion et la température de l'eau entraînent une variabilité extrême de la composition de la boisson. Selon des données de chromatographie liquide à haute performance (HPLC), les feuilles du thé contiennent : 26% de fibres, 15% de protéines, 2-7% de lipides et 5% de vitamines et des minéraux. Ils contiennent aussi des métabolites comme pigments (1-2%), polyphénols (30-40%), dont au moins 80% sont les flavonoïdes et les méthylxanthines (3-4%) **(Cabrera *et al*., 2003, 2006; Graham, 1992)**. Les polyphénols présents dans le thé sont pou la plupart des flavonoïdes, des composés phénoliques dont les effets bénéfiques de la consommation de thé leur sont attribuables **(Awoniyi *et al*., 2012; Cabrera *et al*., 2006).** Il est à signaler que ces avantages concernent plus particulièrement le thé vert qui a gardé sa composition phénolique quasiment intacte lors de la manufacture **(Namita *et al.*, 2012)**.

3.1. Les polyphénols du thé vert

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal. **(Yusuf, 2006; Fleuriet, 1982).** Les catéchines se sont les principaux composants du thé vert ils appartiennent à la classe structurelle de composés organiques avec des cycles hydrocarbonés. Les molécules d'hydroxyle qui se trouvent aux positions 3, 5 et 7 déclencher davantage les propriétés physiques, chimiques et biologiques uniques caractéristique de la classe **(Reygaert, 2014, Yang *et al*., 2009).** Ces derniers possédant une activité antioxydante, 20 fois supérieure à celle de vitamine C, ils sont capables de piéger des radicaux libres **((Hijazi *et al*., 2015; Cao *et al*. 2007).**

3.1.1. Les catéchines du thé vert

Il existe quatre polyphénols majeurs dans le thé vert qui sont classés comme catéchines: épicatéchine **(EC)**, épigallocatéchine **(EGC)**, L'épicatéchine-3-gallate **(ECG)** et l'épigallocatéchine-3-gallate **(EGCG) (Fig.8).** Le thé vert couramment disponible sur le marché contient 6,5 à 15,4 mg d'EC, 30,9- 76,4 mg d'EGC, 3,6-15,9 mg d'ECG et 43,5-83,9 mg d'EGCG par 100 ml **(Henning *et al*., 2003).**

3.1.1.1. l'Epicatechine

EC est le plus formellement connue sous le nom de épicatéchine, prononcée «moins Épicatéchine '. Il représente environ 6,4% de la catéchine totale contenu. **EC** possède deux anneaux de benzène (appelés les anneaux A et B) et un hétérocycle dihydropyrane (le cycle C) avec un groupe hydroxyle sur Carbone 3 **(Awoniyi *et al*., 2012; Cabrera *et al*., 2006; Jung *et al*., 2003)**. Lorsqu'elle est analysée isolément, l'**EC** est un composé à haute bioactivité. Il est stable pendant le transit gastrique lorsqu'il est pris par voie orale mais devient Glucuronidés et partiellement méthylés dans l'intestin grêle ces continuent dans le foie, ne laissant qu'une petite quantité de **EC** dans la circulation mésentérique **(Fraga et Oteiza, 2011).**

3.1.1.2. Epigallocatechine

L'**EGC** est un composé chimique qui comprend 19% de la teneur totale en catéchine; le résidu gallate est dans un iso- merique. **EGC** possède deux épimères (une paire de Stéréoisomères) **(Someya *et al*., 2002).** Il a une structure de pyrogallol avec trois groupes hydroxyle aux positions C-3, C-4 et C-5 **(Fig.8).** L'**EGC** est l'un des polyphénols du thé vert qui s'est avéré inhiber la croissance de lignées cellulaires de cancer du sein (MCF-7 et MDA-MB-231) **(Vergote *et al*., 2002).**

3.1.1.3. Epicatechine-3-gallate

L'**ECG** a une structure de catéchol sur un B-ring qui a deux groupes hydroxyl aux positions C-3 et C-4. Il représente environ 13,6% de la teneur totale en catéchine **(Awoniyi *et al*., 2012).** In vitro les expériences ont montré que l'**ECG** peut inverser la résistance à la méthicilline dans des bactéries telles que *Staphylococcus aureus* **(Shiota *et al*., 1999).** Cela confirme l'observation selon laquelle l'apport d'extrait de thé contenant de l'**ECG** pourrait améliorer l'efficacité du traitement de la méthicilline contre certaines bactéries *in vivo.* L'**ECG** possède également des activités antitumorales puissantes **(Chen *et al*., 2015).**

3.1.1.4. Epigallocatéchine-3-gallate

L'**EGCG** est la catéchine la plus abondante dans les infusions du thé vert, et l'une des molécules les plus actives pour son activité antioxydante puissante **(Kim *et al*., 2013).**

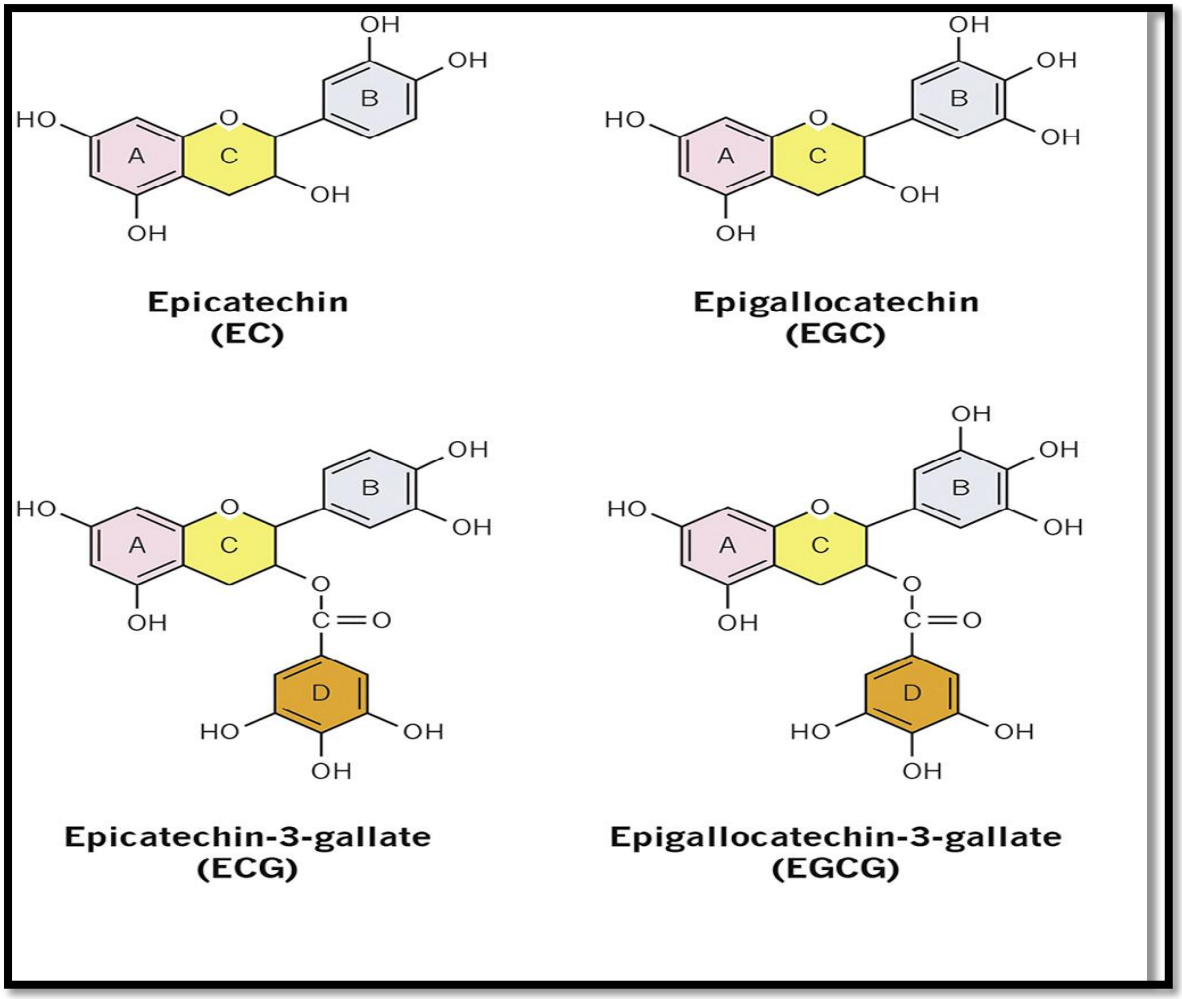


Fig.8. Polyphénols principaux de la catéchine dans le thé vert. Épicatéchine (EC), épigallocatéchine (EGC), Epicatechin-3-gallate (ECG) et épigallocatechin-3-gallate (EGCG) (Higdon et Frei, 2003)

4. L'effet bénéfiques de l'EGCG du thé vert

4.1. La prévention contre le cancer

EGCG joue un rôle très important dans la réduction de l'incidence du cancer **(Rahmani *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2009),** De nombreuses études montrent des effets anticancéreux (cancer de sein, de poumon, d'œsophage, de prostate, de foie, et de peau) d'**EGCG** chez l'animal ou sur culture cellulaire, à différentes étapes des processus de cancérisation : inhibition de la cancérogenèse, prolifération, métastase et potentialisation de traitements anticancéreux **(Khan et Mukhtar, 2010)**.

4.2. Effets contre les maladies neurologiques (Parkinson et d'Alzheimer)

Plusieurs chercheurs ont commencé à s'intéresser aux propriétés du thé vert à la suite d'études épidémiologiques montrant que des personnes qui consommaient plus de trois tasses par jour avaient moins de risque de développer les maladies de Parkinson et d'Alzheimer. Des études *in vivo* ont montré que l'accumulation d'une grande concentration de fer dans le cerveau est parmi les causes des maladies neurodégénératives. Une attention particulière a été portée sur l'étude des catéchine du thé vert et en particulier sur l'épigallocatchine-3-gallate qui possède une capacité antioxydant remarquable ainsi que la propriété de chélater les ions du fer **(Yukiaki et Yukihiko, 2004)**,*In vitro* et des études *in vivo* utilisant des modèles animaux et une culture cellulaire suggèrent que l'**EGCG** peut prévenir la maladie de Parkinson en diminuant le stress oxydatif et l'inflammation **(Pan *et al*., 2003).** Une étude humaine pilote a également soutenu ces résultats et suggèrent une étude à long terme plus suppléments d'**EGCG** modifiés afin de clarifier davantage les rôles dans la prévention de la maladie de Parkinson **(Chen, 2013). Cia *et al* (2011)** ont suggéré que l'**EGCG** peut protéger la rétine et contre les maladies associées à l'ostéosynthèse, y compris la dégénérescence maculaire liée à l'âge **(Kim *et al*., 2014).**

4.3. Effet sur les maladies cardiovasculaires et métaboliques

Un certain nombre d'études *in vitro* et études sur les modèles animaux ont également examiné leur capacité à prévenir les maladies chroniques, en particulier les maladies cardiovasculaires et le cancer **(Gupta *et al*., 2008; Basu et Lucas, 2007).** L'**EGCG** peut également avoir des effets cardioprotecteurs car il était capable de protéger l'ombilic humain des cellules endothéliales veineuses dues à des lésions du système nerveux central en activant des voies antioxydantes critiques **(Yang *et al*., 2015 ; Oliva *et al*., 2011).** Des études expérimentales sur des animaux de laboratoire ont indiqué que les catéchines sont capables de réduire significativement la tension artérielle chez des rats spontanément hypertendus **(Potenza et *al*., 2007)**, de diminuer la tolérance de glucose et amplifier la sensibilité à l'insuline chez des souris diabétiques **(Wolfram et *al*., 2006)** . Il diminue également le risque de diabète de type 2 en réduisant l'insulino-résistance **(Kim, 2008; Park *et al*., 2014).** De faibles concentrations d'**EGCG** ont des effets bénéfiques sur les fonctions métaboliques en physiologie normale **(Kim *et al*., 2014).** Des données récentes ont soutenu le rôle des catéchines dans la diminution du poids et l'inhibition du développement d'une obésité. Le thé

vert possède également une puissante activité anti-inflammatoire en réduisant l'expression des médiateurs de l'inflammation **(Cooper et *al*., 2005).** De plus, le thé vert protège le foie contre les effets néfastes de l'alcool et d'autres produits chimiques hépatotoxiques. Le métabolisme d'alcool a comme conséquence la production des ERO en grande quantité, dont un dommage hépatique s'en résulte par la suite. Le thé vert peut empêcher ce processus en neutralisant les ERO et produisant des radicaux stables beaucoup moins toxiques **(Sharangi, 2009)**. Les polyphénols de thé vert préviennent ainsi l'athérosclérose en diminuant le taux de la peroxydation des lipides, et en neutralisant les ERO **(Khalaf *et al*., 2012)**. **(Fig.9).**

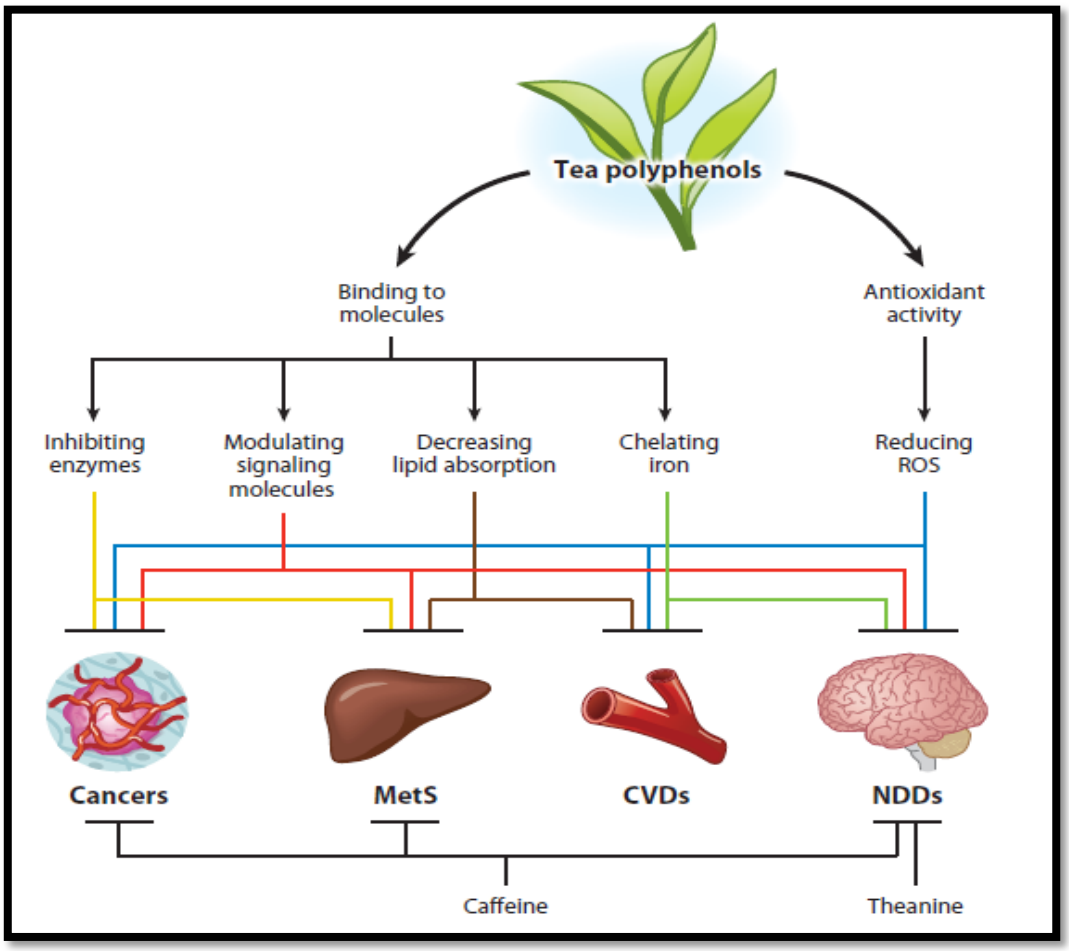


Fig.9. Les mécanismes proposés par le thé vert dont la prévention contre les maladies chroniques : (CVDs) maladies cardiovasculaires, (MetS) : syndrome métabolique, (NDDs) : maladies neurodégénératives, (ERO) : les espèces réactives de l'oxygène (Yang *et al* ., 2013)

4.4. Effets sur les métaux

L'**EGCG** peut chélate des métaux tels que le fer, le cuivre, le chrome et le cadmium (**Hyung *et al*., 2013, Mandel *et al*., 2008, Pirker *et al*., 2012).** Il réduit le Fe (III) et le Cu (II) en Fe (II) et Cu (I), respectivement. La production de radicaux libres à partir de la réaction de Fenton est donc les inhibées. Les catéchines ont la capacité d'étouffer les espèces de radicaux libres et chélate les métaux de transition, ce qui contribue à réduire les niveaux des ERO **(Hijazi *et al*., 2015 ; Mckay et Blumberg, 2002, Skrzydlewska *et al*., 2002) (Fig.10**).

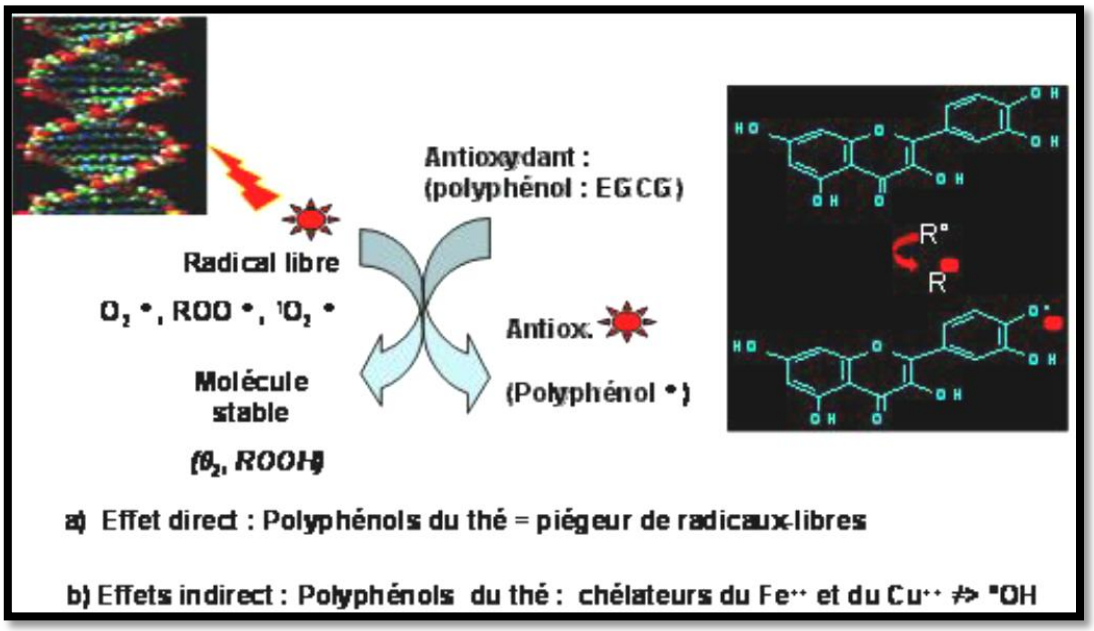


Fig.10. Mécanisme antioxydant des EGCG du thé vert (Benaraba, 2007)

4.5. Effets sur l'infertilité

L'**EGCG** peut minimiser les effets délétères des **ERO** dans un certain nombre de processus biologiques et pathologiques. Plusieurs études ont démontré une association potentielle des Catéchines (principalement **EGCG**) dans la modulation des dommages oxydatifs chez l'infertilité masculine et féminine **(Awoniyi *et al*., 2012; Sato *et al*., 2010; Spinaci *et al*., 2008; Wang *et al*., 2007; Wittayarat *et al*., 2013).**

4.6.Effets de l'extrait du thé vert sur la fonction reproductrice mâle

Différentes études examinées ont montré que l'extrait de thé vert avait des effets sur la reproduction, dans l'amélioration des paramètres de la fonction reproductrice mâle. Le plomb étant l'un des effets toxiques de la reproduction peut affecter la structure et les fonctions gonadiques et peut causer des altérations de la fertilité **(Dumitrescu *et al*., 2009; Yousif et Adbullah, 2010; Qureshi et Sharma, 2012).** Selon **Hassan *et al*. (2016)** et **Jassem *et al*. (2008)**, l'administration de thé vert augmente de manière significative le nombre de spermatozoïdes, la motilité du sperme et la testostérone sérique chez le rat traité au plomb en comparaison avec les rats témoins. De plus, les animaux traités avec de l'acétate de plomb administrés avec de l'extrait de thé vert ont montré une restauration marquée des tubules séminifères avec une spermatogenèse active dans ces tubules. L'amélioration de la motilité des spermatozoïdes des rats traités au thé vert était due à la présence d'isoflavones et d'autres polyphénols de thé vert **(Ly *et al*., 2014)**, qui sont des antioxydants très efficaces, réduisent la production de peroxyde d'hydrogène, éliminent les radicaux libres d'oxygène **(Fran *et al*., (2000), Sha'bani *et al*. (2015)** a confirmé l'effet de désintoxication de l'extrait de thé vert sur le système reproducteur chez des rats exposés à l'acétate de plomb **(Sha'bani *et al*., 2015).** Le thé vert a été trouvé pour la désintoxication des métaux lourds en inhibant son absorption et en favorisant l'excrétion **(Paul, 2008).** L'efficacité de l'extrait total de thé vert sur le stress oxydatif et la lésion des tissus testiculaires dans les troubles de l'infertilité induite par le malathion a également été étudiée. Dans cette étude, l'administration d'extrait total de thé vert améliore les blessures oxydatives telles que la peroxydation lipidique, la capacité antioxydante totale et les groupes thiol totaux dans le tissu testiculaire **(Zadkhosh *et al*., 2016).** En outre, l'administration orale de thé vert, aux rats pendant 7 semaines après ou avant et après l'injection intraveineuse du benzo (a) pyrène cancérogène puissant, a fourni un effet antimutagénique et donc une chimioprotection du cancer et prévient la dégénérescence testiculaire **(Eldebaky et al., 2015). Abshenas *et al*., 2011** ont démontré l'effet thérapeutique de l'extrait de thé vert contre les effets néfastes de la chaleur (hyperthermie) sur la qualité du sperme. Selon eux, l'extrait de thé vert améliore significativement la motilité du sperme et la concentration et l'intégrité de la membrane du sperme après 28 jours d'administration d'extrait de thé vert. Ils ont émis l'hypothèse que l'extrait contient des concentrations élevées de polyphénols qui ont de fortes propriétés antioxydantes.

Malgré que le thé ait été prouvé comme un chélateur puisant contre l'intoxication par le plomb mais la dose administrés reste une porte ouverte pour les chercheures afin de

clarifier les quantités optimales du dosage qui apporteront des avantages thérapeutiques. Sa capacité à moduler, à améliorer et à protéger la toxicité pour la reproduction rend l'extrait du thé vert un candidat prometteur pour une thérapie en toxicité pour la reproduction.

5. Toxicité de thé vert

Peu d'études ont rapporté un effet négatif de l'extrait de thé vert mais suite à la consommation des produits à base de thé à forte concentration, quelques cas seulement ont présenté une hépatotoxicité associée à une perturbation de l'activité enzymatique du foie, notamment celle de la gamma-glutamyltranspeptidase (γ-GT) et de la phosphatase alcaline (PAL). Ces observations révèlent une inflammation du foie liée à la consommation de thé, bien qu'elles tentent à disparaitre une fois le traitement est interrompu; et les valeurs des marqueurs biologiques seront désormais normales. Dans d'autres cas, et après des expositions multiples à ce type d'inflammation, le foie n'était pas capable à récupérer ses fonctions. Lors de cette étude épidémiologique, l'éventuelle coexistence d'un ou de plusieurs autres facteurs qui peuvent induire cette hépatotoxicité a été négligée, ce qui rend ces résultats incertains. En effet, la pharmacopée américaine a assuré en 2008, la sûreté de l'usage des produits à base de thé vert, en considérant le nombre de cas de toxicité quasiment négligeable et qui a été pour certains produits de 1 sur 100,000 consommateurs **(Sánchez et *al*., 2013)**.

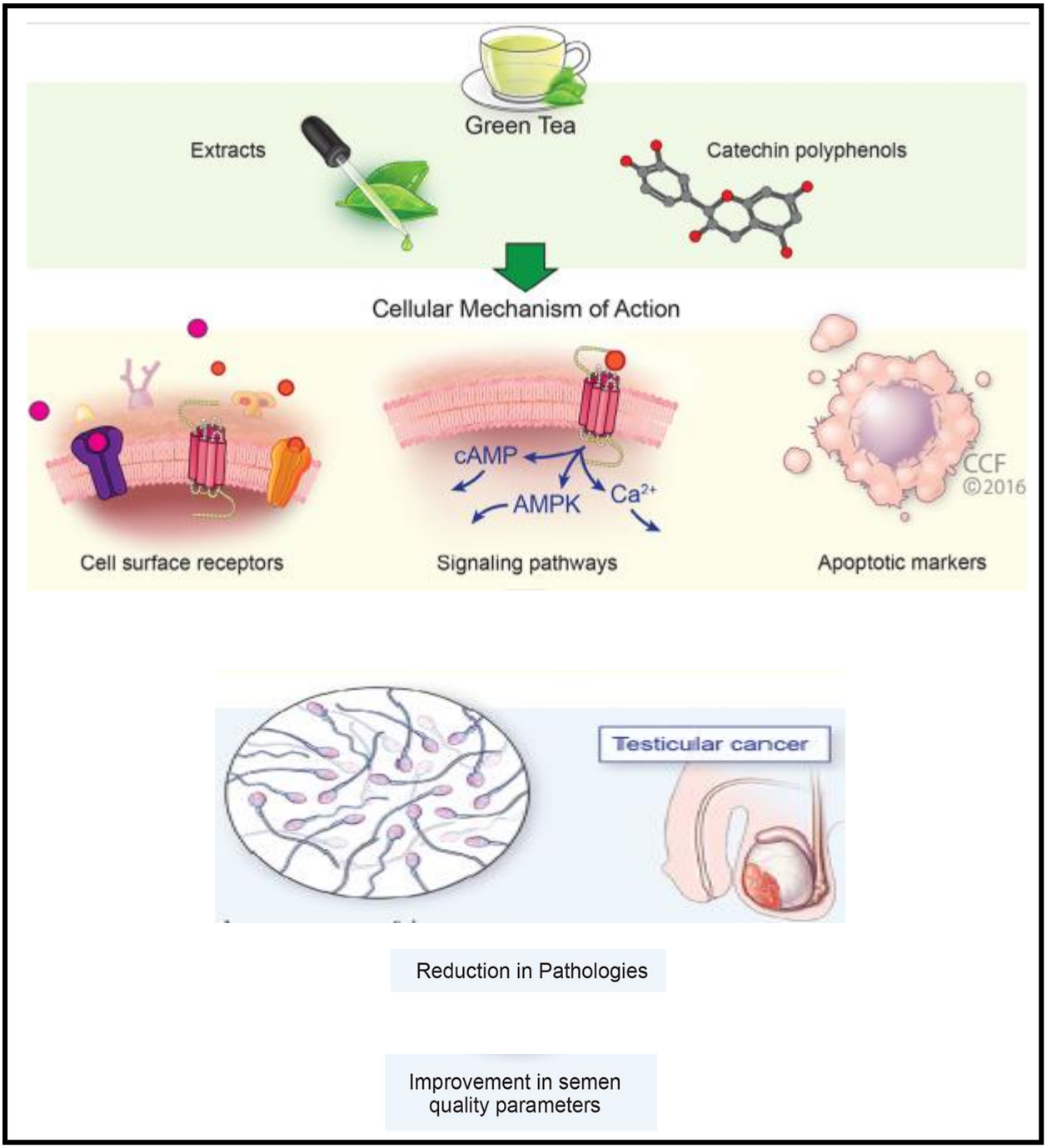


Fig.11. Rôle de l'extrait de thé vert et des polyphénols de catéchine sur les fonctions reproductives et le mécanisme d'action cellulaire (Roychoudhury *et al.*, 2017)

CHAPITRE II :

MATERIELS ET METHODES

I. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est le thé vert (*Camellia sinensis)* de type (TCHICO TEA) qui a été produit en Chine et acheté localement.

1. Préparation de l'extrait aqueux du thé vert (*Camellia sinensis)*

L'extrait de thé vert a été fraichement préparé tous les jours à raison de **6,6%** selon la technique décrite par **Soussi *et al*., 2003.** L'extrait aqueux de thé vert (**EAT**) a été préparé en ajoutant 33 g de feuilles à 500 ml d'eau bouillante, le mélange a été refroidi à une température ambiante pendant 15-20 min, puis filtré. 500 ml d'eau bouillante a été rajoutée aux feuilles déjà extraites pendant 15-20 min puis filtré pour avoir un deuxième filtrat. Les deux filtrats ont été combinés pour obtenir une concentration de **6,6%** d'extrait aqueux de thé vert **(Fig. 12).** Cette dose correspond à la consommation moyenne journalière pour un homme adulte **(Trevisanato, 2000).**

1.1.Préparation de l'extrait aqueux lyophilisé de thé vert (*Camellia sinensis)*

Le filtrat obtenu après extraction a été congelé à (-80°C), puis lyophilisé (Lyophilisateur CHRIST, ALPHA 1-2 LD, Germany). Le rendement de l'extraction pour (**EALT**) a été calculé selon la formule suivante :

$$R\ (\%) = (M_{ext} / M_{éch}) \times 100$$

- R (%) : rendement en pourcentage.
- M ex : la masse de l'extrait après lyophilisation.
- M éch : masse sèche de l'échantillon végétal.

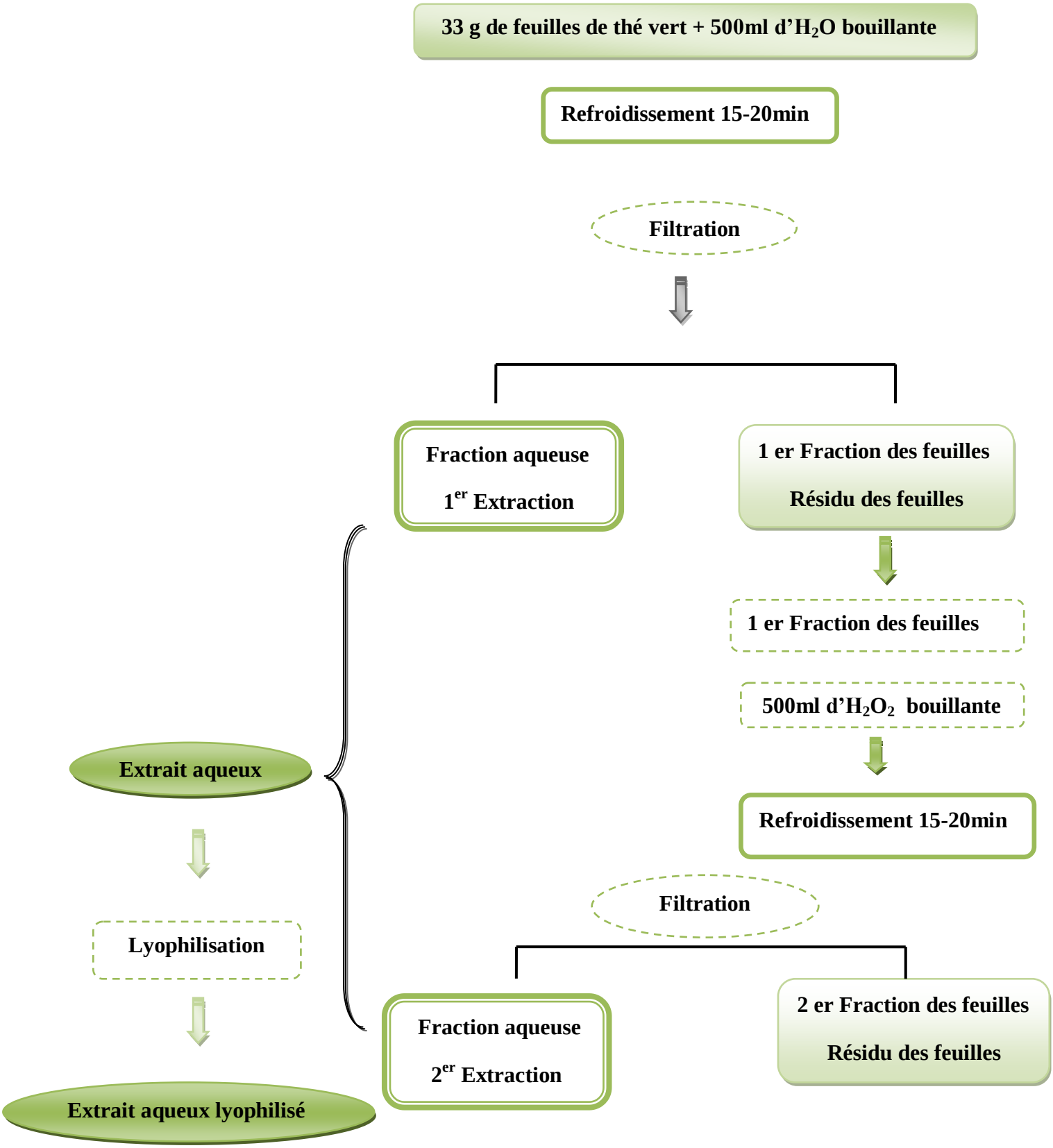


Fig.12. Préparation de l'extrait aqueux de thé vert à 6,6%

1.2.Etudes phytochimiques

Les plantes contiennent plusieurs principes actifs qui se différencient entre eux par leurs structures chimiques et leurs effets. Ces métabolites secondaires représentent un grand intérêt dans multiples secteurs industriels (pharmacie, agro-alimentation, parfumerie, cosmétiques) **(Courtois , 2010)**. Afin de rechercher les composés bioactifs présents dans les feuilles du thé vert (Camellia sinensis*)* nous avons eu recours à différents méthodes de détection sur les deux extraits : Extrait Aqueux du Thé Vert (**EAT**) et Extrait Aqueux Lyophilisé du Thé Vert (**EALT**).

1.2.1. Phytochimie qualitative (screening phytochimique)

La phytochimie qualitative consiste en la mise en évidence des différentes familles de composés par la réalisation des réactions chimiques caractéristiques.

1.2.1.1. Chélation du plomb

Cette méthode consiste à traiter 1 volume de l'échantillon (EAT et EALT) avec 1 volume de l'acétate de plomb **3 g.L^{-1}**. La présence d'un complexe blanchâtre indique l'effet chélateur des deux extraits.

1.2.1.2. Les saponines

La détection des saponines a été réalisée par la méthode de **Karumi *et al*., 2004**. L'agitation pendant 5 minutes des deux des échantillons ((EAT et EALT) et la teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif.
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif.
- Mousse de 1-2 cm = test positif.
- Mousse plus de 2 cm = test très positif.

1.2.1.3. Les Stéroïdes

2 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré et1ml d'anhydride acétique ont été ajoutés à des tubes en verre contenant 1 ml d'extrait filtré précédemment (EAT et EALT). La

présence d'une couleur brune rougeâtre sur l'interface indique la présence de stéroïdes **(Aiyegoro et Okoh, 2010).**

1.2.1.4. Les alcaloïdes

La mise en évidence des alcaloïdes se fait par la méthode de **(Aiyegoro et Okoh, 2010)**. A 0,2 ml d'échantillon, 5 ml d'HCl (10%) sont ajoutés, ainsi après filtration 150 µl de réactif de Meyer sont additionnés. L'apparition d'un trouble ou d'un précipité confirme la présence des alcaloïdes dans l'échantillon.

1.2.1.5. Les polyphénols

La présence des polyphénols est mise en évidence par l'addition à 5 ml de l'échantillon (EAT et EALT) 1 ml de $FeCl_3$ **(1%)** et 1 ml de $K_3[Fe(CN)_6]$ (1%). Le test est révélé par l'apparition d'une coloration bleue de radis frais **(Aiyegoro et Okoh, 2010).**

1.2.1.6. Les tannins

Leur détection consiste à traiter le filtrat obtenu à partir d'1 g d'échantillon (EAT et EALT) et 10 ml d'eau distillée, avec quelque goutte de FeCl3 (1%). L'apparition d'une coloration bleue noire indique la présence des tannins **(Harborne, 1998).**

1.2.1.7. Les flavonoïdes

La détection des flavonoïdes consiste à dissoudre 0,2 g de l'échantillon (EAT et EALT) dans 2 ml de méthanol. Une petite quantité de magnésium métallique a été ajouté au mélange, suivi par l'addition de quelques gouttes de HCl pure. La survenue d'une coloration orange-rouge est un indicateur des flavonoïdes **(Harborne, 1998).**

1.2.2. Phytochimie quantitative

1.2.2.1. Dosage des composés phénoliques

1.2.2.1.1. Polyphénols totaux

Les concentrations en polyphénols totaux des différents échantillons (EAT et EALT) sont déterminées par la méthode colorimétriques de Folin–Ciocalteu **(Gao *et al.*, 2000)**. 100µl de chaque échantillon ont été mélangés avec 0.2ml de réactif de Folin-Ciocalteu

et 2ml de H_2O_2 distillée. Le mélange est incubé pendant 3mn à température ambiante. 1ml de Na_2CO_3 (20%) sont additionnées au mélange précédant. Les polyphénols totaux étaient déterminés après 1 heure d'incubation à température ambiante. L'absorbance de couleur bleue résultante a été mesurée à 765 nm avec spectrophotomètre.

1.2.2.1.2. Tannins

Les tannins sont dosés par la procédure de Folin-Ciocalteu après leur précipitation à l'albumine de sérum bovin (SAB) (Sigma Chemical Company, st Louis, Mo, USA) (**Hagerman et Butler, 1978**). 20 ml de chaque échantillon sont homogénéisés avec 250 mg de SAB, le mélange est agité pendant 30mn à 4°C après ajustement du pH à 4 par une solution d'HCl (1N), la solution est centrifugée à 4000 tours /15mn. Les composés phénoliques non adsorbés (constituant le surnageant) sont dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu. 0.2 ml de surnageant sont ajoutés à 1ml de réactif de Folin (dilué 10 fois) et 0.8 ml d'une solution de carbonate de sodium (7,5 %) après agitation, laisser la coloration se développer à l'obscurité pendant 2 heure. La coloration bleue est mesurée au spectrophotomètre à 765 nm.

La quantification des polyphénols et des tannins a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire (Y=a X) réalisé par un extrait d'étalon « acide gallique » à différentes concentrations.

1.2.2.1.3. Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est effectué selon la méthode de **Djeridane *et al*., (2006)**. 1ml de chaque échantillon à analyser sont additionnés à un volume égal d'une solution de $AlCl_3$ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité .L'absorbance à 420 nm a été lue après 10 mn d'incubation. Une courbe d'étalonnage réalisée par la quercétine à différentes concentrations dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes (mg/100g extrait sec).

1.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante

Afin de déterminer le potentiel antioxydant de l'extrait aqueux de thé vert (*Camellia sinensis)* nous avons utilisé trois types de tests comme suit :

1.2.3.1.Mesure de l'activité des antioxydants totaux

L'activité des antioxydants totaux de l'extrait aqueux de thé vert a été déterminée selon la méthode décrite par **Prieto *et al*, (1999)**. Brièvement, 300 µl de l'extrait aqueux sont mélangés avec 3 ml de solution réactionnelle (0,6 M d'acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium), le mélange est incubé à 95 °C pendant 90 minutes. L'absorbance des échantillons est mesurée à 695 nm, ainsi l'activité des antioxydants totaux est exprimée par le nombre équivalent d'acide ascorbique par gramme sec de la plante.

1.2.3.2. Méthode de FRAP (Ferring Reducing Antioxidant Power)

L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée selon la méthode décrite par **Aiyegoro et Okoh, (2010).** Basée sur la réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{2+}. En Effet, 1 ml de l'échantillon est mélangé avec 2.5 ml d'une solution tampon phosphate (0.2M, pH : 6.6) et 2.5 ml d'une solution $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 mn, après, 2,5 ml d'acide trichloro-acétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10mn. 2.5 ml de surnageant est mélangé avec 2.5ml de l'eau distillé et 0,5 ml de $FeCl_3$ (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contrôle positif est représenté par une solution d'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon.

1.2.3.3. Le test du Piégeage du radical 2,2-diphénil-1-pycrylhydrazyl (DPPH)

L'activité antioxydante d'extrait aqueux et lyophilisé est évaluée par le test DPPH, en utilisant l'acide ascorbique comme standard et exprimé en $g.L^{-1}$ d'acide ascorbique **(Hua *et al*., 2008 ; Scherer et Godoy, 2009).** Cette méthode spectrophotométrique utilise le radicale DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune, en présence de capteurs de radicaux libres, et se réduit en 2,2'- diphényl-1-picrylhydrazine. 100µl de chaque échantillon à différentes concentrations est homogénéisé avec 3,9 ml de DPPH à 30 mM. Après une période d'incubation de 30 minutes à l'obscurité, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées. L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage de réduction PR (%) du radical DPPH, en utilisant la formule suivante :

PR (%) = [Absorbance C –Absorbance échantillon /Absorbance C] x 100

AC : absorbance du contrôle négatif (méthanol)

1.2.4. Activité de chélation de métaux

La chélation des ions ferreux par les deux extraits de *Camillia sinensis* a été estimée par la méthode de **Dinis *et al* (1994).** En bref, 250µl de l'échantillon a été ajouté à 500µl de $FeCl_3$ (2 mmol / L). La réaction est initiée par l'addition de 200µl de ferrozine (5 mmol / L). Le mélange a été agité vigoureusement et laissé au repos à température ambiante pendant 10 min. L'absorbance de la solution a été mesurée au spectrophotomètre à 562 nm. Le pourcentage d'inhibition de complexe formé ferrozine-Fe^{2+} a été calculé par la formule donnée ci-dessous :

% d'inhibition = (A0-A1/A0) x 100

A0: *absorbance du contrôle négatif.* ***A1:*** *absorbance du l'échantillon.*

II. Animaux et traitement

Dans cette étude, le modèle animal utilisé est le rat blanc de laboratoire, espèce *Rattus norvegicus,* souche wistar. Les expériences sont réalisées sur des rats mâles adultes pesant environ 200± 5 g, âgés de deux mois ont été groupés par dix dans des cages conventionnelles placées dans L'animalerie du Laboratoire Pharmacologie, Département de Pharmacie – Faculté de Médecine Université Oran-1-Ahmed Ben Bella, maintenue à une température ambiante. Les animaux ont été nourris par une alimentation pour rongeur commercialisé par l'ONAB (Office National de l'Alimentation de Bétail) **(Tableau 03)** et maintenus dans des cycles lumière / obscurité de 12 h et une température ambiante de 24 ± 4 ° C. Toutes les procédures effectuées sur des animaux ont été approuvées et conduites conformément au Guide de l'Institut National de la Santé (N ° 488/160/1999 / CPCSEA).

Tableau 03: Composition du régime d'entretien ONAB (régime standard).

Composition	Quantité (%)
Protéines	14,5
Lipides	7,5
Glucides	55,8
Cellulose	5,4
Humidité	11
Matière minérale	9,5
Energie métabolique (KJ/J)	14,60

L'expérience a été réalisée en répartissant les rats mâles en 4 groupes de 10 rats par groupe et en cage séparément.

- **Groupe 1** (témoin): reçoit de l'eau de robinet ad libitum.
- **Groupe 2:** (Pb): reçoit de l'acétate de plomb Pb $(C_2H_3O_2)_2$ à raison de 3 g par litre d'eau distillée pendant 30 jours.
- **Groupe 3:** (Pb + EAT): groupe intoxiqué traité à l'extrait aqueux de thé vert à raison de 6,6% pendant 30 jours.
- **Groupe 4:** (EAT): reçoit uniquement l'extrait aqueux de thé vert à 6,6% pendant 30 jours.

Une pesée hebdomadaire du poids corporel des rats de chaque lot a été exprimée en g/semaine.

1. Sacrifice des rats et prélèvement du sang et des organes

A fin de mettre en évidence les effets de l'extrait aqueux de thé vert après l'intoxication par l'acétate du plomb sur le système reproducteur chez les rats mâles, nous avons réalisé des techniques microscopiques et biochimiques. Au $30^{éme}$ jours d'expérimentation, les 04 groupes de rats sont anesthésiés, après 12 heures de jeunes, par injection intrapéritonéale d'une solution de chloral à 10% à raison de $3ml.kg^{-1}$ de poids corporel. Après incision de l'abdomen et écartement des viscères, le sang est prélevé par

ponction de l'aorte abdominale dans des tubes secs (dosage du Fer, le dosage hormonal et la plombémie). Les tubes sont centrifugées (3000g/20 minute, 4C°) pour obtenir le sérum afin de réaliser dosage du fer et les hormones alors que le sang totale à été utilisé pour le dosage de la plombémie, ces derniers sont conservés à -80C° jusqu' à son utilisation.

Les organes sexuelles (testicules, épididymes, vésicules séminales et prostate) sont soigneusement prélevés, débarrassés de leurs tissus adipeux, rincés avec une solution de NaCl à 0,9% séchés puis pesés et conservés a -80C° **(Fig.13)**.

Le poids relatif (PR) des organes a été calculé selon la formule suivante :

$$PR = [\text{Poids absolus(PA) des organes(g)} / \text{Poids corporel (g)}] \times 100$$

Les organes désignés à l'étude histologiques sont conservés dans le formol à 10%, et le reste est congelé à- 80C° pour le dosage des paramètres biochimiques et l'étude du statut oxydatif. Les épididymes sont destinés pour l'étude de spermogramme **(Fig.14)**.

L'étude des aberrations chromosomique à été realisée sur des cellules myéoblastiques de la moelle osseuse, un seule rats de chaque groupe (Témoin, Pb, Pb+EAT +EAT) a été injecté par 2 ml de colchicine 0,004% deux heures avant le sacrifice par voie intra-péritonéale, puis prélevés immédiatement les deux fémurs pour récupérer la moelle. La colchicine favorise le blocage des cellules en métaphase, c'est un poison du fuseau mitotique, qui empêche la division cellulaire de se poursuivre en retardant la séparation des centromères.

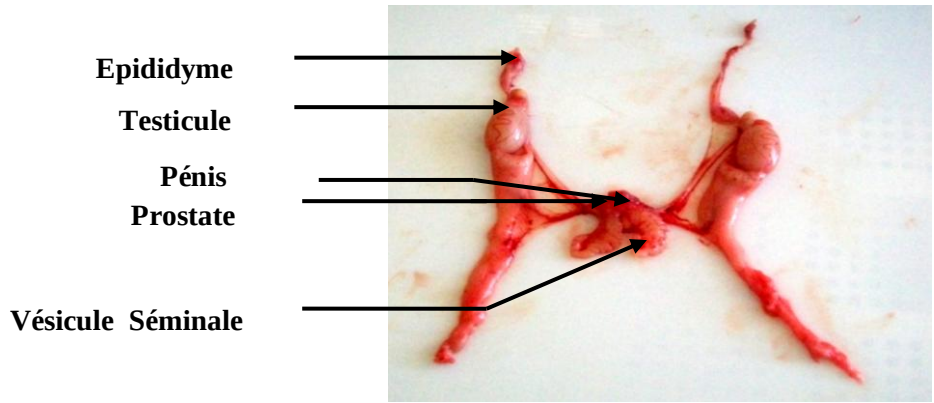


Fig.13. L'appareil génital d'un rat mâle après sacrifice

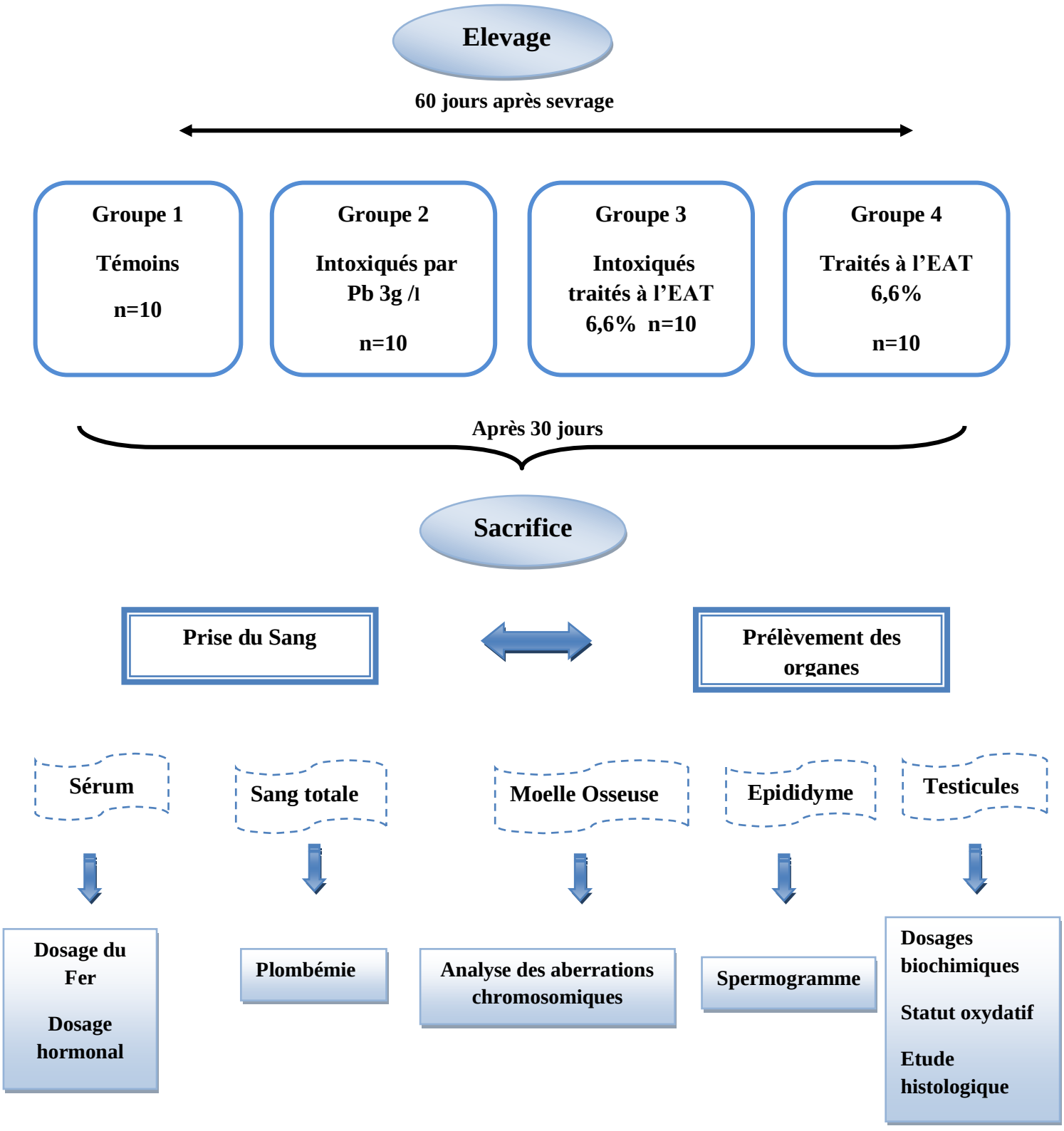


Fig.14. Organogramme récapitulant le protocole expérimental

2. Etude du spermogramme

2.1.Test de motilité des spermatozoïdes au niveau de la queue des épididymes

Selon la technique décrite par (**Mitsuhashi *et al., 2004***) une goutte de sperme a été collectée à partir de la queue de l'épididyme par perforation et à partir des testicules par incision, puis met en suspension dans 2 ml de solution saline (NaCl 9‰ complété par 1.0% w/v de la sérum albumine bovine et 100µl de bleu de trypan à 1% maintenue à 37°C. Du mélange ainsi obtenu, 20µl d'échantillon prélevé sont déposés sur une cellule de Thoma pour l'observation au microscope optique au grossissement x 400. Nous avons apprécié le pourcentage de mobilité en comptant les spermatozoïdes immobiles sur le fond de la lame par rapport aux spermatozoïdes mobiles évoluant à coté (**Smith, 1989**).

Au faible grossissement, le sperme de bonne qualité a un aspect tourbillonnant évoluant par vagues. Au fort grossissement, les mouvements des spermatozoïdes sont notés de 0 à 5 selon la grille de notation suivante (**Platz et Seager, 1978**) :

- 1 = petits mouvements sur place, de côté, sans progression.
- 2 = mouvements sur place, rapides, sans progression encore.
- 3 = mouvements, sur place, rapides. Progression intermittente, par à-coups.
- 4 = nette progression mais lente.
- 5 = progression franche et rapide.
- 0 = immobile.
- Chez l'Homme, l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) propose la classification suivante :
- type a : spermatozoïdes mobiles et progressifs dits flêchants
- type b : spermatozoïdes mobiles progressifs inefficaces dits lents
- type c : spermatozoïdes mobiles non progressifs
- type d : spermatozoïdes immobiles
- type e : spermatozoïdes hyperactifs

2.2.Détermination du pourcentage des spermatozoïdes vivants

La même solution en suspension utilisée pour la détermination de la motilité des Spermatozoïdes est utilisée pour déterminer le taux des spermatozoïdes vivants. Nous avons

mélangé 5 µl de prélèvement avec 5 µl d'éosine-nigrosine pendant 1 minute. Puis le mélange a été étalé sur une lame délicatement et séchée.

Composition de la solution éosine-nigrosine :

- 5 % w/v de nigrosine
- 0,6 % w/v éosine
- 3 % w/v de citrate de sodium dihydraté.

La solution est ajustée à pH 7 par addition de 0,1 M de NaH_2PO_4 ou 0,1 M de Na2HPO4. La solution est filtrée par papier filtre. Au microscope à immersion au Grx 1000, nous avons compté 100 spermatozoïdes en les classant en mort ou vivant : les spermatozoïdes morts ont leur membrane perméable et prennent une coloration rosée alors que les spermatozoïdes vivants ont une membrane imperméable et apparaissent donc incolores. les chiffres ont été converti en pourcentage (**Smith, 1989)**.

2.3.Evaluation de la qualité des spermatozoïdes

2.3.1. Détermination de la viabilité des spermatozoïdes

Pour déterminer le taux des spermatozoïdes vivants, quelques gouttes de sperme ont été collecté à partir de la tête de l'épididyme par perforation, mélangés dans un tube avec 2 gouttes d'éosine à 1% pendant 30 secondes puis 3 gouttes de bleu de trypan à 1% sont ajoutées durant la même période. A la fin, le mélange a été étalé sur une lame délicatement puis laissées sécher (**Miller et Pass 1952; Ait Hamadouche, 2009).** Le pourcentage de spermatozoïdes vivants est appréciés de façon approximative au microscope optique au grossissement (Grx1000), les spermatozoïdes dont la membrane est endommagée laissent pénétrer le colorant et apparaissent de couleur rose alors que les spermatozoïdes vivants ont une membrane intacte et apparaissent donc incolores.

2.3.2. Détermination des anomalies des spermatozoïdes

Afin de détecter les anomalies morphologiques des spermatozoïdes, quelques gouttes de sperme ont été étalé sur une lame et la séchée à l'air libre, puis les lames sont immergées dans un bain d'Alcool- Ether (v:v) pendant 10 minutes pour la fixation, ensuite le frottis est séché à l'air libre. Les échantillons sont prêts pour être colorée par la coloration de

Papanicolaou **(Keebler *et al*., 1983)** (**Tableau 04).** Les lames sont enrobées dans l'Eukitt et observées au grossissement x1000. Cette coloration permet d'observer les spermatozoïdes avec une tête, une pièce intermédiaire de couleur violette. les spermatozoïdes sont classé selon **Seed *et al*., 1996** en :

- Normaux.
- Anomalies de tête (malposition, tête piriforme ou ronde, allongée ou étroite, microcéphalique ou macrocéphalique, tête double, acrosome anormal, décapités).
- Anomalies de la pièce intermédiaire (coudée, double, inexistante).
- Anomalies du flagelle (enroulé, double, tordu, inexistant).

Présence des autres cellules (cristaux de spermine, cellules épithéliales, leucocytes, érythrocyte).

3. Test de génotoxicité

La colchicine (4mg / PC) a été injectée par voie intrapéritonéale 2h avant le sacrifice des animaux afin d'arrêter la mitose. Les rats sont sacrifiés, la moelle osseuse des deux fémurs a été prélevée et rincée avec du chlorure de potassium 0,075 M puis incubée à 37 °C pendant 30 minutes selon la technique décrite par **Preston *et al*., (1987)**. La moelle osseuse a été Centrifugée et fixée dans du méthanol froid / acide acétique glacial (3:1), après 2 h de fixation, les cellules ont été centrifugées et mises en suspension dans le même fixateur pendant 24 h. Les cellules fixées ont été déposées sur des lames glacées puis séchées et colorées au Giemsa à 10%. Un total de 100 plaques de métaphase bien réparties a été noté pour les aberrations chromosomiques à un Gr x1000 pour chaque groupe. Les chromosomes sont marqués et exprimés en % d'aberrations.

Tableau 04: Batterie de coloration de PAPANICOLAOU (**Keebler *et al.*, 1983)**

Les étapes	Produits	Durée
1	Alcool 80%	Immerger 10 fois
2	Alcool 70%	Immerger 10 fois
3	Alcool 50%	Immerger 10 fois
4	Eau distillée	Immerger 10 fois
5	Hématoxyline (Harris ou Mayer)	3 minutes
6	Rincer dans l'eau courante	3 à5 minutes
7	Hcl-alcool	Immerger 3 fois
8	Rincer dans l'eau courante	3 à5 minutes
9	Solution de Scott	4 minutes
10	Eau distillée	Immerger 1 fois
11	Alcool 50%	Immerger 10 fois
12	Alcool 70%	Immerger 10 fois
13	Alcool 80%	Immerger 10 fois
14	Alcool 95%	Immerger 10 fois
15	Colorant de Papanicolaou OG6	2 minutes
16	Alcool 95%	Immerger 10 fois
17	Alcool 95%	Immerger 10 fois
18	Colorant de Papanicolaou EA-50	5 minutes
19	Alcool 95%	Immerger 5 fois
20	Alcool 95%	Immerger 5 fois
21	Alcool absolu	2 minutes
22	Alcool absolu/xylène (*1 :1*)	1 minute
23	Xylène	5 minutes

4. Dosage du plomb dans le sang total (Plombémie)

Le dosage du plomb dans le sang à été réalisée au niveau du laboratoire d'analyse de la qualité AFAK (Centre Technique d'Oran, Algérie). La concentration du plomb dans le sang est mesurée dans des différents groupes de rats par utilisation de Spectre d'absorption atomique (SAA) (SHIMADZU, AA6200). Les résultats sont exprimés en µg/L.

5. Analyses biochimiques au niveau sérique

5.1.Dosage du Fer

La méthode utilisée pour le dosage du fer, est une méthode colorimétrique (Kit Chronolab Systems, Barcelona Spain). Le fer se dissocie du complexe sérique fer-transferrine en milieu acide faible. Le fer libre est réduit en un ion ferreux au contact de l'acide ascorbique. Les ions ferreux en présence de Ferrozine forment un complexe coloré. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de Fe dans l'échantillon **(Perrota, 1984; Itano, 1978)**. La lecture se fait à une longueur d'onde $\lambda = 562$ nm. Les résultats sont exprimés en mmol/L.

5.2.Dosage des hormones sexuelles (testostérone, FSH et LH)

Le dosage des hormones sexuelles est réalisé au niveau du Laboratoire Pasteur d'Oran. La concentration de la testostérone, FSH et LH est mesurée dans le sérum des différents groupes de rats par utilisation de **Kit Abott AxSYM (USA**). Les résultats sont exprimés en mUI/l, ng/ml.

6. Analyses biochimiques au niveau tissulaire

6.1.Teneurs tissulaires en protéines totales

Les protéines totales des testicules sont dosées selon la méthode de **Lowry et al. (1951).** Le dosage des protéines au niveau testiculaire est effectué sur des homogénats préparés dans le KCl 0.15% à raison de 100 mg de tissu dans 10 ml de KCl. Le sérum albumine bovine (SAB) (Sigma Chemical Company, St Louis, Mo, USA) est utilisé pour établir la courbe de référence. En milieu alcalin, le complexe formé par les ions Cu^{2+} et les groupements tyrosine et tryptophane des protéines, est réduit par le réactif de Folin. Il se développe alors une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de

protéines contenues dont l'échantillon. La lecture se fait a une longueur d'onde λ = 650 nm. Les résultats sont exprimés en mg/g de tissu.

6.2. Dosage de l'activité de lactate déshydrogénase (LDH) testiculaire

L'activité de la LDH testiculaire est mesurée par le réactif du LDH SPINREACT. Les testicules sont homogénéisés dans du tampon KCl 0,15%. La concentration du tissu est de 10mg/ml. L'homogénat est centrifugé à 10000 tours/10mn à 4°C. Le surnageant est utilisé pour le dosage de l'enzyme. L'activité de la LDH se mesure en utilisant le pyruvate comme substrat**.** La LDH catalyse la réduction du pyruvate en lactate en oxydant le nicotinamide adénine dinucléotide réduite (NADH) en NAD. L'activité de la LDH peut être déterminée par le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm pendant la production de la NAD. Les résultats sont exprimés en unité/g de tissu.

6.3.Dosage de Phosphatase alcaline (ALP) testiculaire

L'activité de l'ALP testiculaire est mesurée par le réactif de l'ALP CHRONOLAB SYSTEM. Cette réaction utilise le 4-Nitrophenylphosphate (4-NPP) comme substrat En condition optimisée, l'ALP présente dans l'échantillon catalyse la réaction de transphosphorylation suivante :

Au pH de la réaction (10.4), le 4-nitrophenoxide à une couleur jaune intense. Le réactif contient également un système de tampon d'ion métallique qui garantit la conservation des concentrations optimales en magnésium et en zinc. Le tampon d'ion métallique peut également chélater d'autres ions potentiellement inhibiteurs pouvant être présents. La réaction se suit en mesurant le taux d'augmentation de l'absorbance à 405 nm qui est proportionnelle à l'activité de l'ALP dans le surnageant. Les résultats sont exprimés en U/L.

7. Dosage des marqueurs de stress oxydatif au niveau tissulaire

7.1. Détermination de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS)

La détermination des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) est réalisée par la mesure du molondialdéhyde (MDA), principal marqueur da la détermination des radicaux libres, et des produits de dégradation des peroxydes lipidiques suite à

l'exposition à un stress oxydatif. Cette méthode repose sur une réaction en milieu acide entre le MDA et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA), et la formation d'un pigment absorbant (complexe de condensation chromogénique) à 532 nm, extractible par des solvants organiques comme le butanol. La réaction colorée obtenue avec le TBA, mesure non seulement le MDA préexistant mais aussi, le MDA formé par décomposition thermique des peroxydes et de ceux générés au cours même de la réaction.

Les homogénats tissulaires sont préparés à raison de 100 mg de tissu broyé dans 10ml de KCl 0.15%. 200µl de l'échantillon, puis 200µl de SDS (8.1%), 1500µl d'acide acétique à 20% (pH=3.5) et 1500µl d'une solution aqueuse de TBA (0.8%°), sont ajoutés. Le volume final du milieu réactionnel est ajusté à 4ml avec de l'eau distillée et chauffée à 95°C pendant 60min, puis placés dans un bain glacé pendant 5 min afin de stopper la réaction .1ml d'eau distillée et 4ml de butanol sont additionnés. Le mélange est vigoureusement agité, centrifugé à 4000 tours pendant 10min. (**Ohkawa *et al.*, 1978**). La lecture de la phase organique (supérieure) est effectuée à une longueur d'onde λ=532 nm. Les TBARS ont été mesurés en utilisant un coefficient d'extinction de 1.56×10^{5} $M^{-1}.cm^{-1}$.

7.2. Activité des enzymes antioxydants

7.2.1. Dosage de Superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD) est une metalloenzyme qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en une molécule d'oxygène et peroxyde d'hydrogène ce qui forme une partie importante dans les mécanismes de défense contre les antioxydants au niveau cellulaire **(Malmstrom et al, 1975).** La SOD est largement distribuée dans les cellules animales et végétales ainsi elle est présente en grande concentration dans le cerveau, foie, cœur, érythrocytes et riens. L'activité de SOD est déterminée par un kit Commercial (Cayman, item N °706002, USA) qui utilise le sel de tetrazolium pour la détection des radicaux superoxydes générés par l'Xanthine oxydase et l'hypoxnathine.

7.2.2. Dosage de Catalase (Cat)

CAT a été analyse par méthode de **Bergmeyer (1974).** Le mélange de la réaction (3 ml) contenant 1 ml de tampon phosphate, 1 ml de l'échantillon et 1 ml d'H_2O_2 à 2 M. La réaction a été arrêté par l'addition de 1 ml d'acide dichromate acétique (5% de dichromate de potassium et l'acide acétique glacial ont été mélangés avec un rapport de 1:3 (V/V) ; l'absorbance est déterminée à 420 nm.

7.2.3. Antioxydants totaux

Les espèces oxygénées réactives (ERO) représentent le produit normal de métabolisme aérobique ainsi l'organisme vivant développe un système antioxydant pour agir contre les effets néfastes dû à la production excessive de ces espèces. L'estimation de taux des antioxydants totaux se fait par un kit commercial (Cayman, item N° 709001, USA). L'essai permet de montrer la capacité antioxydante de l'échantillon à inhiber l'oxydation de l'ATBS* (2,2'- Azino-di-3-Ethylbenzthiazoline Sulphonatel) en ATBS *+ par le metmyoglobine. La quantité d'ATBS*+ produit peut être estimée par la lecture de l'absorbance des échantillons à 750 nm ou à 405 nm. Les résultats sont exprimés en µl/mg de protein.

8. Etude Histologique des testicules

L'étude histologique des testicules a été réalisée au niveau de Laboratoire d'Analyse Cytologique et Anatomo-pathologique de Dr.Corso, situé au centre ville de la Wilaya de Oran, Algérie.

Les organes sont soumis aux différentes étapes d'étude histologique avant l'observation sous lumière de microscope optique, comme suit :

8.1.Fixation

L'organe étudié est prélevé, rincé avec l'eau physiologique (NaCl 0,9%), ensuite fixé dans le formol tamponné à 10% (pH=7). Cette étape a pour but l'immobilisation des constituants cellulaires ou tissulaires dans un état proche à celui de l'état vivant **(Nezelof, 1972)**.Le volume de fixation est environ 20 à 50 fois plus que la masse de tissu.

8.2.Inclusion

Avant inclusion, les échantillons sont déshydratés dans des bains d'alcool (éthanol) de concentration croissante (70 % ,80%, 90% et 100 %). La paraffine est utilisée comme substance d'inclusion qui est liquide à chaud et solide à température ambiante ainsi elle est insoluble à l'eau. Cette étape permet d'éviter la fragmentation des tissus dont ces derniers vont avoir une consistance qui permet d'obtenir des coupes minces.

8.3. Coupe et Coloration

Les blocs de paraffine sont découpées par le microtome à une épaisseur de 3 à 5 µm, ainsi les coupes sont étalées et fixées sur les lames en utilisant de l'eau gélatineuse.

Les lames sont immergées dans l'Hématoxyline- Eosine, ainsi les étapes de la coloration se font comme suit :

- ✓ Déparaffiner et hydrater les lames.
- ✓ Immerger les lames dans un bain de l'Hématoxyline de Harris pendant 15 minutes qui permet de colorer les noyaux en bleu violacée.
- ✓ Bleuir les lames dans un bain d'eau ammoniacale.
- ✓ Immerger les lames dans un bain d'Eosine (15 secondes à 2 minutes) qui permet de colorer le cytoplasme.
- ✓ Enfin déshydrater, éclaircir et monter les lames à l'Eukitt.
- ✓ Examiner les lames sous la lumière de microscope optique à un grandissement de Gr×400.

III. Analyse statistique des résultats

1. Etude phtytochimique

Les résultats de l'analyse phytochimique sont exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard (M=ES) de n=3, L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel **STARISTICA** (Version 10. Stasoft. USA). Après analyse de variance. La comparaison des moyennes est effectuée par le test Student pour des échantillons appariés. Les moyenne portant les indices ($^{*,\#}$) sont significativement différentes à *(P < 0.05) ; (P < 0.01).*

2. Etudes expérimental

Les résultats de l'analyse phytochimique sont exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard (M=ES) de dix rats par groupe. T : groupe témoin, Pb : groupe intoxiquée, Pb+EAT : groupe intoxiquée et traité avec l'extrait aqueux du thé vert, EAT : groupe traitée uniquement par l'extrait aqueux du thé vert. L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel **STARISTICA** (Version 10. Stasoft. USA). Après analyse de variance. La comparaison des moyennes est effectuée par le test **ANOVA** suivi par le test de **Tukey**, Les moyenne portant les indices ($*,^{\#},^{\$}$) sont significativement différentes à *(P < 0.05*).

*différence significative *(p<0,05)*, **différence très significative *(p<0,01)*, ***différence hautement significative *(p<0,001)* groupe Pb versus Témoin.

$^{\#}$différence significative *(p<0,05)*, $^{\#\#}$différence très significative *(p<0,01)*, $^{\#\#\#}$différence hautement significative *(p<0,001)* groupe Pb+EAT versus Pb.

$^{\$}$différence significative *(p<0,05)*, $^{\$\$}$différence très significative *(p<0,01)*, $^{\$\$\$}$différence hautement significative *(p<0,001)* groupe EAT Vs Témoin.

CHAPITRE III :

RESULTATS

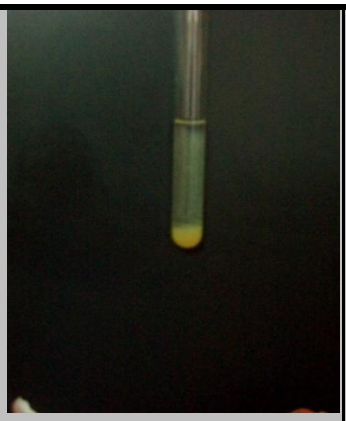
Ce chapitre illustre les résultats de l'étude expérimentale que nous avons réalisée. Cette dernière est divisée en deux parties : une étude phytochimique de l'extrait aqueux du thé vert, qui est basée sur la comparaison entre les deux extraits **EAT** et **EALT** dont le but est de rechercher une éventuelle efficacité anti-radicalaire**,** et dans une deuxième partie dont le but est de développer une approche de correction des différentes répercussions de l'acétate de plomb sur la fonction reproductrice chez les rats mâles.

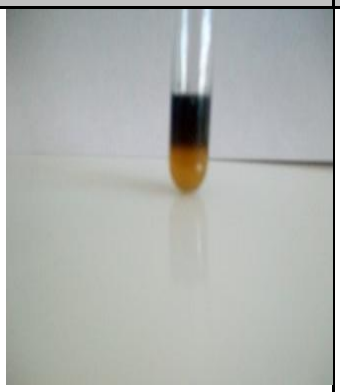
1. Etude phytochimique

1.1. Phytochimie qualitative (screening phytochimique)

L'étude phytochimique a été réalisée sur différents extraits préparés (**EAT et EALT**) à partir des feuilles de *Camellia sinensi*. Afin de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des feuilles de *Camellia sinensis*. Des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation ont été utilisés. La détection de ces composés chimiques a été basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation, de turbidité et un changement de couleur spécifique. L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des deux extraits (**EAT** et **EALT**) pour cette étude a permis de mettre en évidence la présence de composés bioactifs dans les feuilles du thé vert (Camellia sinensis) représentées dans le tableau **05**. Nous avons observé que les deux extraits (**EAT et EALT**) sont riches en Saponines, stéroïdes, alcaloïdes, polyphénols, tannins et flavonoïdes.

Tableau 05 : Résultats des tests qualitatifs sur EAT et EALT.

Les tests	Extrait aqueux		Extrait aqueux lyophilisé	
Chélatation du plomb		+++		+
Saponines		+++		+
Stéroïdes		+++		++
Alcaloïdes		+		+++

Polyphénols		++		+++
Tanins		++		+++
Flavonoïdes		++		+++

+++ : fortement présent, ++ : moyennement présent ; + : faiblement présent

1.2.Phytochimie quantitative

Les dosages quantitatifs ont été confirmés par des méthodes biochimiques colorimétriques.

1.2.1. Dosage des composés phénoliques

L'analyse quantitative des composés phénoliques de l'extrait aqueux et lyophilisé de *Camellia sinensis* est représentée dans le Tableau 06. Les résultats montrent que la concentration des polyphénols est presque similaires dans les deux extraits : **EAT** 0.037± 0.0026 et **EALT** 0.038± 0.00065 exprimé en milligramme d'acide gallique par 66 g de poids sec de la plante, alors que les teneurs en flavonoïdes et tannins sont respectivement 1,4- et 1,14- fois plus élevés chez l'extrait lyophilisé par rapport à l'extrait aqueux.

Tableau 06. Contenu en composés phénoliques dans **l'EAT** et **EALT**.

	Polyphénols [a]	**Flavonoïdes** [b]	**Tannins** [a]
Extrait aqueux	**0.037 ± 0.0026**	**0.07368 ± 0.045**	**0.890 ± 0.0951**
Extrait aqueux lyophilisé	**0.038 ± 0.00065**	**0.103 ± 0.0106** *	**1.02465 ± 0.091** *

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM ; n=3. Après l'analyse de la variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test t de Student.

* *EAT vs EALT (P < 0.05)*

a: *exprimé en milligramme d'acide gallique par 66 g de poids secs de la plante.*

b: *exprimé en milligramme de quercétine par 66 g de poids secs de la plante.*

1.3. Evaluation de l'activité antioxydante

1.3.1. Activité des antioxydants totaux et la méthode de FRAP

L'étude de l'activité réductrice du fer de nos extraits et le dosage de l'activité des antioxydants totaux montre que les deux extraits possèdent un pouvoir antioxydant puissant **(Tableau 07).**

Tableau 07. L'activité antioxydante des deux extraits

	Antioxydants totaux [c]	**Méthode de FRAP** [c]
Extrait aqueux	**2.170 ± 0.323**	**0.625 ± 0.028**
Extrait aqueux lyophilisé	**1.9122 ± 0.127**	**0.580 ± 0.030**

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM ; n=3. Après l'analyse de la variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test t de Student.

* *EAT vs EALT (P < 0.05)*

c : exprimé en milligramme d'acide ascorbique par 66 g de matière sèche.

1.3.2. Test de Piégeage de radical libre DPPH

Le DPPH est un radical libre stable qui été utilisé pour remplacer les radicaux libres produits par les cellules en réponse à des stress internes ou externes. La recherche d'une éventuelle efficacité antiradicalaire à partir des extraits aqueux et lyophilisé de *Camellia sinensis* présentent une importante activité antioxydante comparée à celle de l'acide ascorbique et présentent des pourcentages de réduction (PR) de **78%** et **49 %** respectivement. En effet, une concentration de **0.14 g.L^{-1}** de l'EAT possède une activité antioxydant similaire à **0.125 g.L^{-1}** d'acide ascorbique. Alors que l'EALT possède une activité de **0.004 g.L^{-1}** qui est très faible en comparaison avec celle de d'acide ascorbique, de plus, cette activité augmente avec les doses des extraits utilisés **(Fig.15).**

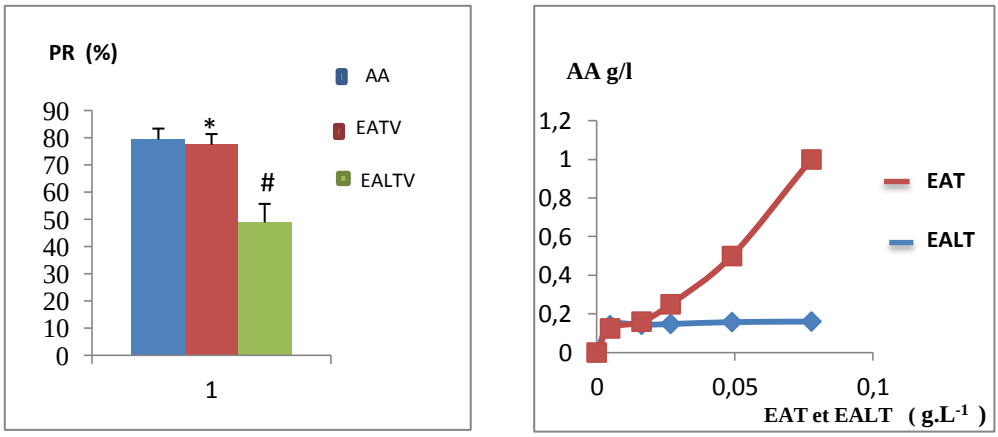


Fig.15. Activité antioxydante de l'extrait aqueux et lyophilisé de *Camellia sinensis* par le test de *DPPH.*

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM ; n=3). Après l'analyse de la variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test t de Student.

**EATV vs. AA; # EALTV vs. AA, différence significative (P < 0.05).*

1.3.3. Activité de chélation de métaux

La chélation des éléments de trace métalliques et particulièrement celui du fer des deux extraits de *Camillia sinensis* est présenté dans **Fig.16.** Nous remarquons que les deux extraits (EAT et EALT) possèdent un pouvoir chélateur très important qui est de **19%** et **15%** respectivement.

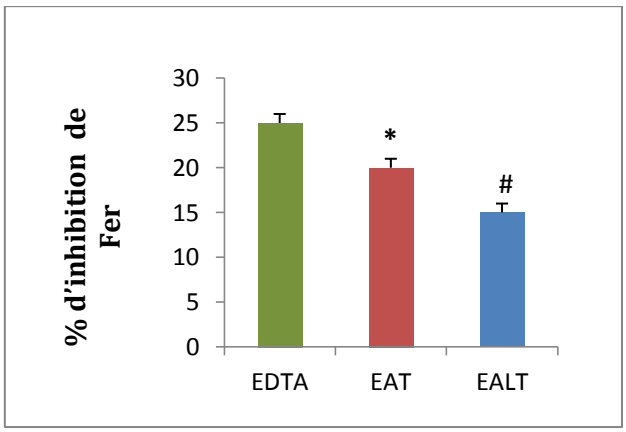


Fig.16. Activité de chélation de métaux

Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM ; n=3. Après l'analyse de la variance, la comparaison des moyennes est effectuée par le test t de Student.

** EALTV vs. EDTA, # EATV vs. EDTA, différence significative (P < 0.05).*

Au cours de notre étude phytochimique nous avons remarqué que l'extrait aqueux possède une activité antioxydante puissante par apport a l'extrait aqueux lyophilisée donc c'est pour cette raison que nous avons choisi l'extrait aqueux du thé vert pour notre étude expérimentale.

2. Effets de l'EAT sur le développement pondéral, le poids relatif et absolu des rats intoxiqués au plomb

L'évaluation du poids corporel des rats pendant 30 jours a montré une différence remarquable entre les différents groupes (**T, Pb, Pb+EAT, EAT**). L'intoxication par l'acétate de plomb a induit une diminution très significative du poids corporel final (-45%). Tandis que le groupe Pb+ EAT a montré une légère élévation de +5 % du poids corporel par rapport au rat intoxiqué. Cependant, une diminution de -24% du poids corporel des rats est notée chez le groupe traité par l'extrait aqueux de thé vert, comparé au groupe témoin. Par ailleurs, aucune significativité n'est observée chez le groupe Pb par rapport au groupe témoin. Alors que l'administration de l'EAT au groupe traité par le Pb a induit un gain de poids par rapport au groupe Pb ($p < 0,01$).

Tableau 08. Evaluation des paramètres pondéraux chez les différents groupes (**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

	Poids initial (g)	Poids final (g)	PA des testicules (g)	PR des testicules (g)
Témoin	201 ± 2,20	250 ± 10,19	1.465 ± 0,031	0, 589 ± 0,04
Pb	203 ± 5,10	138 ± 6, 21**	1.443±0.034	0,927±0.170 *
Pb+EAT	200 ± 4,17	145 ± 7,19$^{\#\#}$	1.503±0.010$^{\#\#}$	1.004±0,050$^{\#\#}$
EAT	200 ± 6,44	190 ± 3,44$^{\$}$	1.208±0.081	0.826±0.094

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. *différence significative ($p<0,05$) pour Pb Vs Témoin ** différence très significative ($p<0,01$) pour Pb Vs Témoin, $^{\#\#}$différence très significative ($p<0,01$) pour Pb+EAT Vs Pb, $^{\$}$différence significative ($p<0,05$) pour EAT Vs Témoin.*

3. Effets sur la morphologie et la taille des testicules

Les résultats de la **Fig.17** et le **Tableau 09** représentent la morphologie et la taille des testicules chez les différents groupes (**T, Pb, Pb+EAT, EAT**). Une réduction de 1,23- plus faible de la taille des testicules a été remarquée chez le groupe intoxiqué comparé au témoin.

Cependant, l'administration de l'EAT a induit une augmentation de 1-fois plus élevées de la taille des testicules ($p<0,05$) par apport au groupe intoxiqué. Par contre, une légère diminution de la taille a été observée chez le groupe traité uniquement à l'EAT par rapport au groupe témoin.

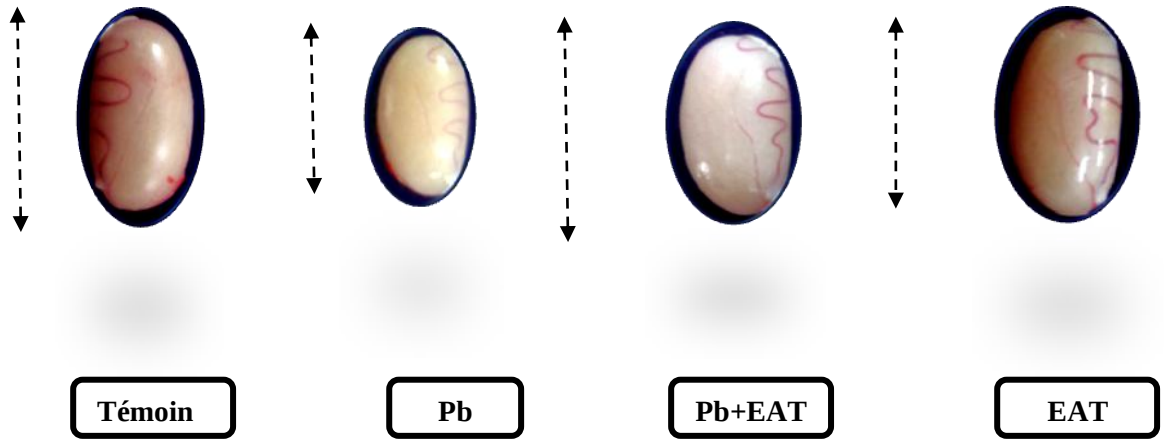


Fig.17. Morphologie brute du testicule des différents groupes **T, Pb, Pb+EAT, EAT**

Tableau 09. La taille des testicules chez les différents groupes (**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

	Témoin	Pb	Pb+EAT	EAT
Longueur (cm)	2,14 ± 0,16	1,67± 0,34**	1,82± 0,35$^{\#}$	1,90 ± 0,41$^{\$}$
Largeur (cm)	1,38± 0,083	1,12 ± 0,15*	1,35 ± 0,21$^{\#}$	1,30 ± 0.08

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. ** différence très significative ($p<0,01$) pour Pb Vs Témoin, $^{\#}$différence significative ($p<0,05$) pour Pb+EAT Vs Pb, $^{\$}$différence significative ($p<0,05$) pour EAT Vs Témoin.*

4. Etude du spermogramme

4.1.Effet de l'EAT sur le nombre, la mobilité et le taux des spermatozoïdes (SPZ) vivants :

Les résultats du spermogramme réalisé sur le sperme récolté par la dissection de l'épididyme sont notés dans le **Tableau10.** Les résultats obtenus lors de cette étude ont montré une diminution des paramètres spermatiques suite au traitement par l'acétate de plomb. La diminution du nombre des SPZ est hautement significative (P<0,001, 30%). D'autre part, la mobilité et la viabilité des SPZ sont fortement altérées chez le groupe intoxiqué (48%,51%) respectivement comparés à celles des rats témoins. Par contre, les résultats de la mobilité révèlent une asthénospermie modérée qui s'est installée suite au traitement par l'acétate de plomb. La viabilité s'est avérée, à son tour, très altérée par ce même traitement indiquant une forte toxicité sur le sperme épididymaire. L'administration de l'EAT chez le groupe intoxiqué a subi une modification au niveau des paramètres du sperme épididymaire, le nombre, la viabilité et la mobilité des SPZ ont été améliorés par le traitement de l'EAT d'une manière significative (p<0,05, 12,5%, 48%,51%) respectivement. En outre, une diminution du nombre des spermatozoïdes a été notée chez le groupe traité seulement à l'EAT (19%), en parallèle ce dernier a induit une légère augmentation (3%,4%) de la mobilité et la viabilité des SPZ qui dépasse les valeurs du groupe témoin.

Tableau 10. Le nombre**,** la mobilité et le taux des spermatozoïdes vivants Chez les différents groupes (**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

Groupes	Témoin	Pb	Pb+EAT	EAT
Nombre des spermatozoïdes (10^6/ml)	112.72 ±5.23	78±2.84***	89±1.18#	90±1.81
% des spermatozoïdes vivants	85±2,08	35±2,08***	67±1,52#	87±1
% Mobilité des spermatozoïdes	83± 2,64	31±2,88***	64±0,57#	86±1,52

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. ***différence hautement significative (p<0,001) pour Pb Vs Témoin, #différence significative (p<0,05) pour Pb+EAT Vs Pb.*

4.2.Effet du plomb sur l'analyse morphologique des spermatozoïdes :

L'étude morphologique des spermatozoïdes chez les rats témoins montre des spermatozoïdes normaux avec aucune anomalie morphologique**.** Nos résultats témoignent que le taux de la tératozoospermie (anomalie morphologique des spermatozoïdes) est plus important chez les rats intoxiqués surtout au niveau de la tête et du flagelle **Fig.18 et Fig.19**. Ces résultats confirment l'effet toxique de l'acétate de plomb.

- ✓ **Anomalies de la tète :**

La **Fig.18** représente les différentes anomalies de la tête des spermatozoïdes. Nous avons observé des spermatozoïdes composés d'une pièce intermédiaire, d'un flagelle et d'une tête présente de taille, soit petite (microcéphale) ou grande (macrocéphale), (**B** et **C)** respectivement.

Nous avons aussi observée une absence totale de la tête (**D)** et une tête enroulée avec un degré de flexion à plus de 180° **(E).**

- ✓ **Anomalies du flagelle :**

La **Fig.19** montre les différentes anomalies des flagelles qui sont les suivantes :

B : le spermatozoïde n'est composé que d'une pièce intermédiaire et d'une tête dont le flagelle est absent.

C : le spermatozoïde présente un flagelle tordu.

D : le spermatozoïde présente un flagelle fragmenté.

E: le spermatozoïde présente un flagelle multiple ou doublé.

A **B** **C** **D** **E**

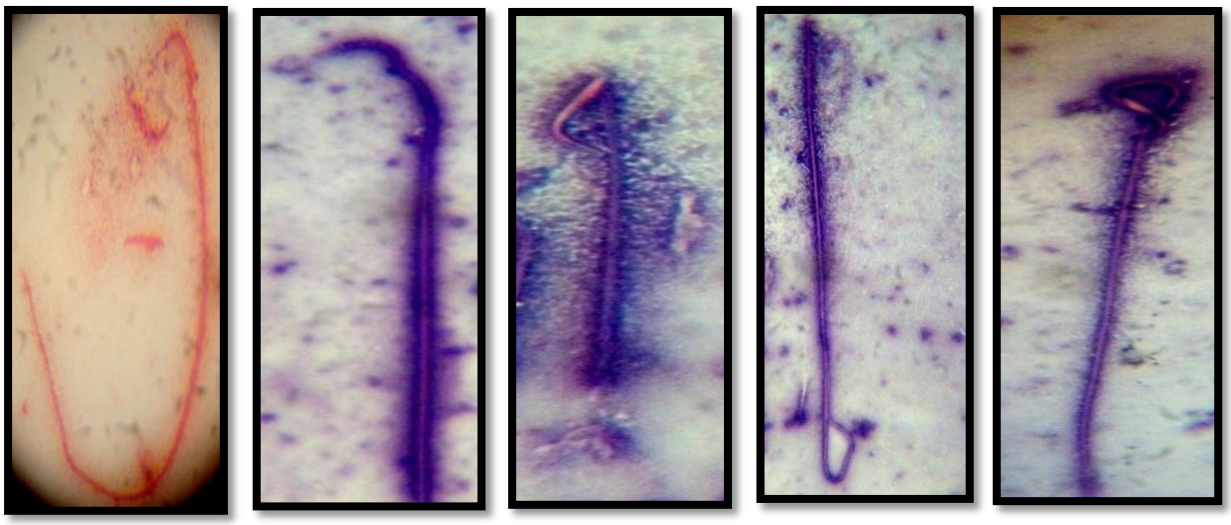


Fig.18. Anomalie de la tête chez le groupe intoxiqué par l'acétate de plomb (Gr x 1000).

A:SPZ normale, **B**: microcéphale, **C** : macrocéphale, **D** : Absence de la tête, E : tête courbée

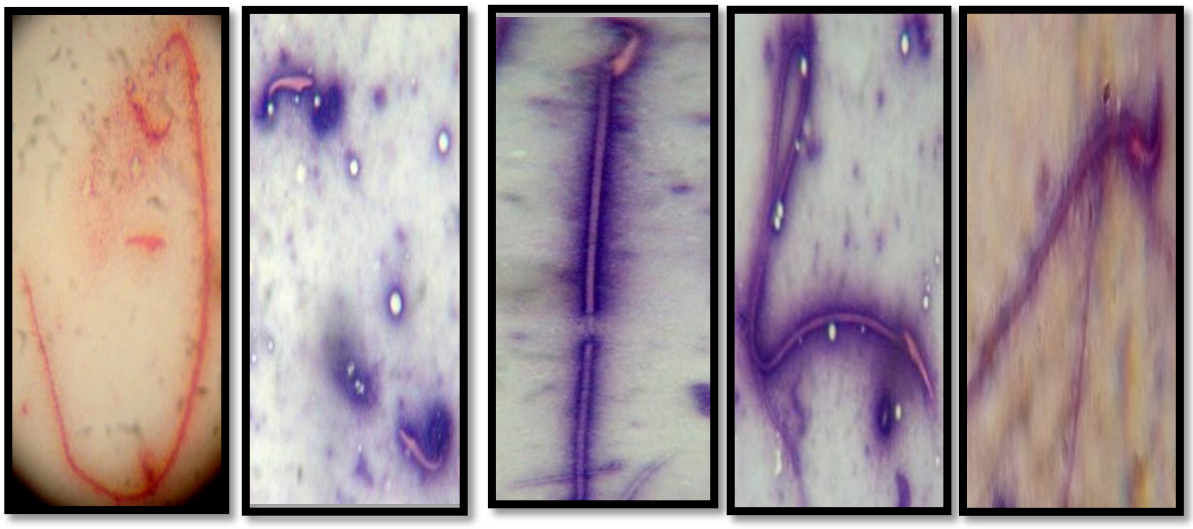


Fig.19. Anomalie du flagelle chez le groupe intoxiquée par l'acétate de plomb (Gr x 1000).

A : SPZ normale, **B**: absence du flagelle, **C**: flagelle tordu enroule, **D**: fractionnement du flagelle, **E**: flagelle doublé

5. Teste de génotoxicité

L'analyse des aberrations chromosomiques réalisée au niveau des cellules de la moelle osseuse révèlent une métaphase normale chez le groupe témoin et traité à l'EAT. Par contre l'administration de l'acétate de plomb durant 4 semaines a induit des effets génotoxiques (des aberrations chromosomiques), le plomb a induit des effets clastogénes sur les cellules de la moelle osseuse (cassure, clivage des chromosomes) sans l'induction des effets aneugénes (anomalies de nombre de chromosomes). La **Fig.20** montre différentes types d'aberrations chromosomiques, telle que les aberrations de structure inclus la suppression de chromatides (D), la fragmentation (F), l'atténuation de centromère (Cat), fusion (Fu) et des chromosomes en anneau ou en ring (R).

Chez le groupe Pb+EAT, le nombre d'aberration chromosomique à été diminuée par rapport au groupe Pb. Les résultats obtenus ont montré que l'EAT a réduit les dommages chromosomiques induits par l'acétate du plomb, mais nos résultats ne permettent pas de faire une évaluation adéquate de l'effet mutagène de ce métal.

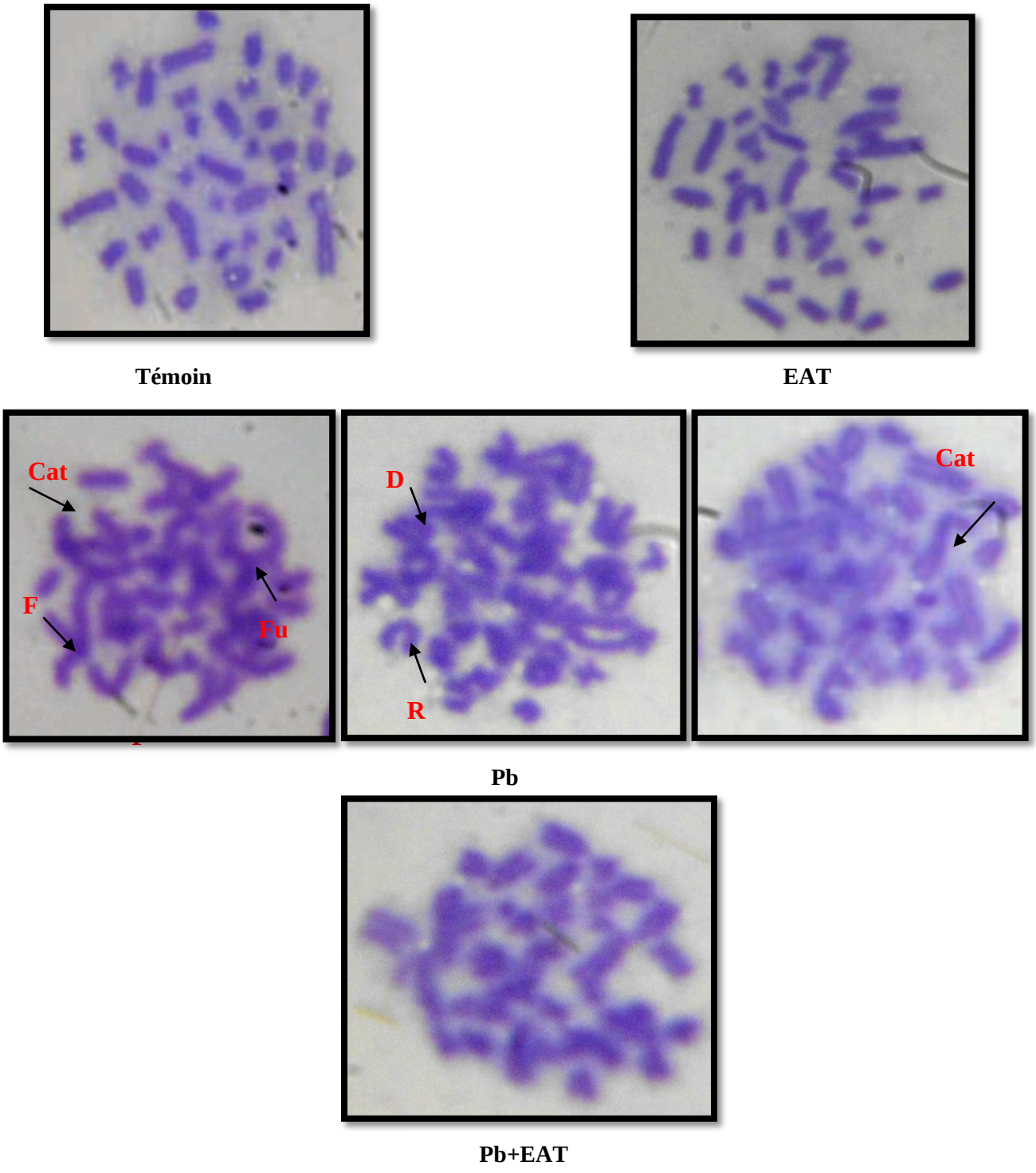


Fig.20. Structure des chromosomes de rat dans la métaphase des cellules de la moelle osseuse chez les différents groupes observées au microscope optique (Gr x1000), **Témoin, EAT** : Métaphase normale, **Pb** : métaphase avec des aberrations chromosomiques de différents types : fragmentation (F) ; centromère atténué (Cat) ; fusion; (Fu) délétion, (D);chromosome en anneau(R), **Pb+EAT** : Métaphase avec une légère modification au niveau des aberrations chromosomiques.

6. Dosage du plomb dans le sang total (Plombémie)

La plombémie est le meilleur indicateur de l'exposition récente au plomb, c'est un bon témoin de la dose interne du métal, elle est donc utilisée comme marqueur biologique de l'intoxication par le plomb.

Les résultats de la **Fig.21** montre que l'exposition orale à l'acétate de plomb pendant 4 semaines induit une augmentation hautement significative (*p<0,001*) du taux de plomb dans le sang chez le groupe Pb (+97%) par rapport aux témoins. Par contre l'administration de l'EAT a provoquée une diminution très remarquable (p<0,001) de la Pbs (-90%) comparée au groupe Pb. Tandis que le groupe qui a été traité uniquement par l'EAT a enregistré une faible concentration de la Pbs (-20%) par rapport aux témoins.

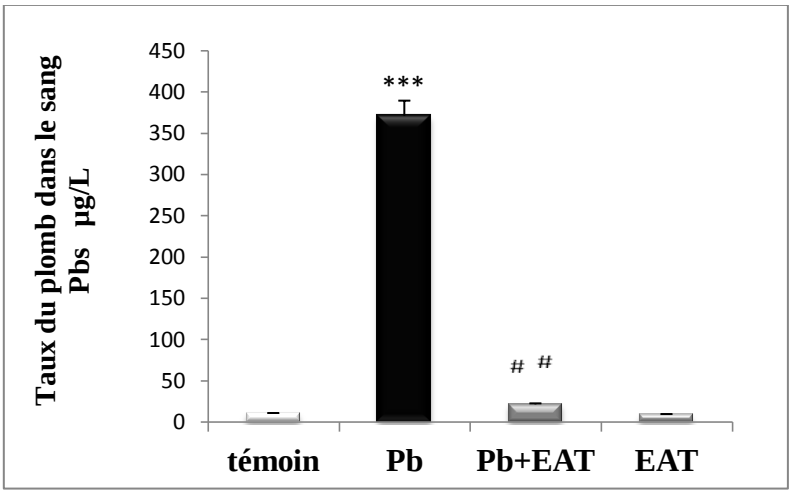


Fig.21. Concentration du plomb au niveau sanguin (Pbs) chez les différents Groupes (T, Pb, Pb+EAT, EAT).

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. ***différence hautement significative (p<0,001) pour Pb Vs Témoin, ## différence très significative (p<0,01) pour Pb+EAT Vs Pb.*

7. Effets de l'EAT sur les paramètres biochimiques au niveau sérique

7.1. La teneur en Fer :

La **Fig.22** représente la teneur en fer au niveau sérique chez les différents groupes **(T, Pb, Pb+EAT, EAT)**, une concentration du fer est 2-fois plus élevées chez le groupe intoxiqué comparés aux témoins. En revanche, le traitement par l'EAT a réduit le taux du fer sérique, la valeur est 1,6- fois plus faible chez le groupe Pb+EAT. De plus le groupe traité

uniquement par l'EAT le taux du fer sérique a subit une légère diminution de 1,1- fois plus faible par rapport aux témoins.

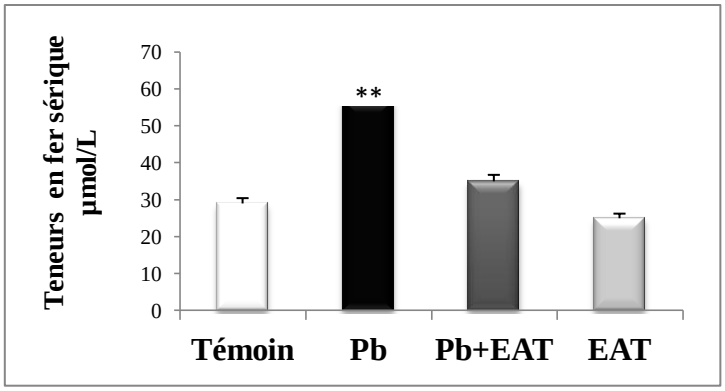


Fig.22. Teneur en Fer sériques

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. **différence très significative (p<0,01) pour Pb Vs témoin,*

7.2. Le taux des hormones sexuelles (FSH, LH et testostérone)

Le tableau ci-dessous représente le taux sérique des hormones sexuelles chez les différents groupes de rats. Les résultats du dosage de la FSH ont indiqué une réduction sévère (–94%) des taux sériques de cette hormone chez les rats intoxiqués. Cependant, le traitement par l'EAT a induit une augmentation significative du taux de la FSH (+65%, +25%) chez le groupe Pb+EAT et ETA respectivement. De même pour le taux de LH qui est 3,6-fois plus faibles chez le groupe Pb, de plus, l'administration de l'EAT induit une augmentation de +33%, +15% du taux de LH chez le groupe Pb+EAT et EAT. En outre, une diminution de -10,75 fois a été notée dans le taux de testostérone chez les rats intoxiqués par apport au témoin. Alors que l'administration de l'EAT a engendré une augmentation très significative (+77 %, +40 %) de l'hormone, mais elle reste toujours inferieure par rapport à celle du témoin.

Tableau 11. Le taux des hormones sexuelles (**FSH, LH** et **Testostérone**) Chez les différents groupes (**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

Groupes	FSH (mUI/l)	LH (mUI/ml)	Testostérone (ng/ml)
Témoins	10.98±0.58	9.36±0.40	12.90±0.009
Pb	0.67±0.05***	2.60±0.06***	1,20±0,14***
Pb+EAT	1.92±0.13#	3.89±0.17#	5,36±0,47##
EAT	8.49±0.14$	11.05±0.28$$	7,82±2,19$$

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. ***différence hautement significative (p<0,001) pour Pb Vs Témoin, #différence significative (p<0,05), ##différence très significative (p<0,01) pour Pb+EAT Vs Pb, $différence significative (p<0,05) $$différence très significative (p<0,01) pour EAT Vs Témoin.*

8. Effets de l'EAT sur les paramètres biochimiques au niveau testiculaire

8.1. Protéines totales

Une diminution très significative *(p<0,01,* –38%) des protéines totales a été observée chez le groupe intoxiqué par rapport aux témoins. Cependant, après l'administration de l'EAT, une augmentation de la teneur en protéine a été notée chez le groupe Pb+EAT et EAT (+20%, +24%) comparé aux Pb, Témoin respectivement (**Fig.23**). Par ailleurs, aucune différence significative n'est notée dans la teneur en protéine, chez le groupe EAT comparé au témoin.

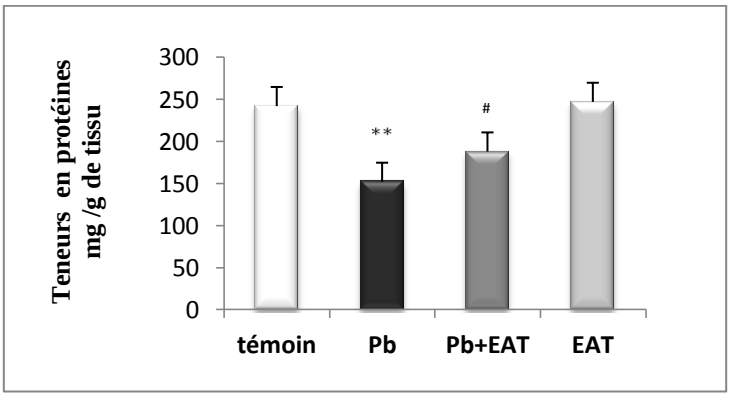


Fig.23. : Teneurs tissulaires en protéines totales chez les différents groupes (**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. **différence très significative (p<0,01) pour Pb Vs témoin, #différence significative (p<0,05) pour Pb+EAT Vs Pb.*

8.2.L'activité de lactate déshydrogénase (LDH)

L'activité de la LDH est le principal indice sensible dans la recherche de la toxicité reproductive. L'analyse de l'activité de la LDH est significativement diminuée (*p<0,01*) de –43% après l'exposition au plomb **(Fig.24).** Le traitement par l'EAT a permis d'augmenter l'activité de la LDH testiculaire d'une manière significative (p<0,05, +48%).Alors qu'aucune différence significativité n'est observée chez le groupe EAT comparé au témoin.

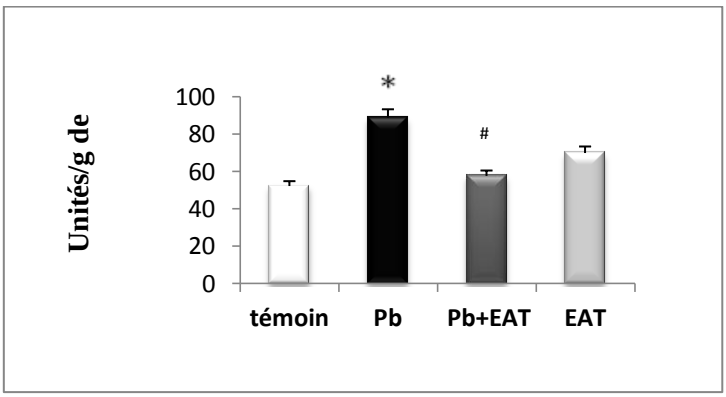


Fig.24.L'activité de la LDH chez les différents groupes

(T, Pb, Pb+EAT, EAT).

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. *différence significative (p<0,05) pour Pb Vs Témoin #différence significative (p<0,05) pour Pb+EAT Vs Pb.*

8.3.L'activité de la phosphatase alcaline (PAL)

La concentration de la phosphatase alcaline (PAL) testiculaire est représentée dans la **Fig.25** une augmentation très significative (+90%) de la PAL à été noté chez les rats intoxiqués par rapport aux témoins. Par contre le groupe de Pb+EAT, a révélé une diminution hautement significative (-86%) du taux de la PAL testiculaire, alors que chez les rats traités uniquement par l'EAT l'activité de la PAL a montré une légère augmentation (+40%) par rapport à celles des témoins.

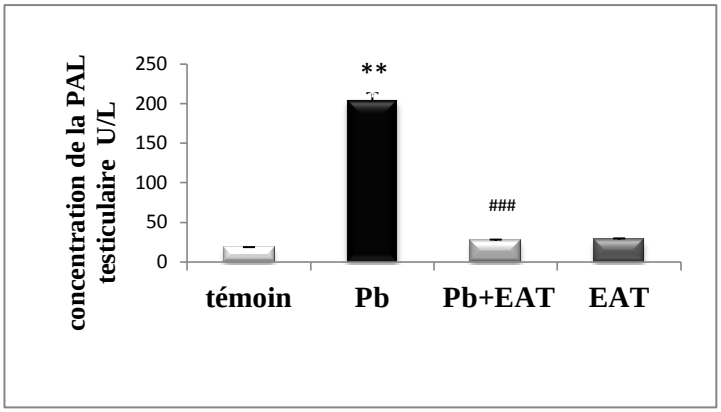


Fig.25. Concentration de la phosphatase alcaline (PAL) testiculaires
Chez les différents groupes(**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. **différence très significative (p<0,01) pour Pb Vs EAT ##différence hautement significative (p<0,001) pour Pb+EAT Vs Pb.*

9. Effet de l'EAT sur les marqueurs du stress oxydatif au niveau testiculaire

9.1.Teneurs en TBARS tissulaires

La teneur en TBARS au niveau du testicule est influencée par l'intoxication au plomb (**Fig.26**). En effet, elle est 2,2-fois plus élevées (p<0,01), chez le groupe Pb par apport aux témoins. Le traitement par L'EAT après l'intoxication montre des valeurs réduites en TBARS de -52% (p<0,01), chez le groupe Pb+EAT, comparé au groupe intoxiqué Pb.

Par ailleurs, une réduction significative de la peroxydation lipidique au niveau du testicule est notée chez les groupes traités uniquement par l'EAT (-45%) comparées au groupe témoin.

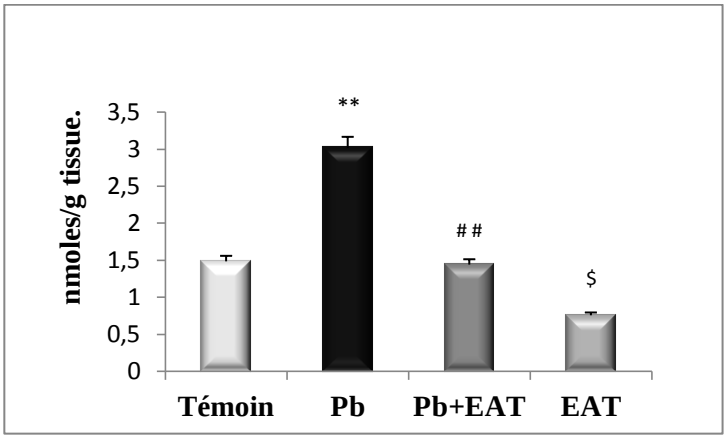


Fig.26. Teneurs en TBARS testiculaires (nmoles de MDA/g de tissu)

Chez les différents groupes(**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. ***différence très significative (p<0,01) pour Pb Vs Témoin, ## différence très significative (p<0,01) pour Pb+EAT Vs Pb, $différence significative (p<0,05) pour EAT Vs Témoin.*

9.2.Effet de l'EAT sur l'activité des enzymes antioxydants

9.2.1. Activité du superoxyde dismutase (SOD) tissulaire

Au niveau testiculaire, une réduction de l'activité de la SOD (-53%) est notée chez le groupe intoxiqué aux Pb comparé aux témoins (**Tableau. 12**). Par ailleurs, le traitement par l'EAT chez le groupe (Pb+EAT) montre une amélioration très significative (p<0,001) de l'activité de la SOD (+97%), comparée à celle du groupe Pb.

De plus, chez le groupe traité uniquement par l'extrait aqueux du thé vert comparé au groupe témoin**,** l'activité enzymatique de la SOD, est 1, 3 fois plus élevée au niveau testiculaire.

Tableau 12. La concentration du superoxyde dismutase (SOD) chez les différents groupes (**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

	Témoin	**Pb**	**Pb+EAT**	**EAT**
SOD U/mg de protéine	3,82±0,68	1,80±1,36***	3,79±0,46 ##	4,80±0,68 $$

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. ***différence hautement significative (p<0,001) pour Pb Vs Témoin, ## différence très significative (p<0,01) pour Pb+EAT Vs Pb, $différence très significative (p<0,01) pour EAT Vs Témoin.*

9.2.2. Activité de la Catalase (CAT)

Les résultats indiquent que le plomb provoque une très forte induction de l'activité de la catalase testiculaire (+55%) chez le groupe Pb comparées aux rats témoins. Cette augmentation est très significative (p<0,01). Cependant, chez le groupe Pb+EAT, cette activité est réduite de –10% au niveau du testicule par rapport au groupe intoxiquée. De plus, chez le groupe traité uniquement par l'EAT montre une augmentation de +50% de l'activité de la catalase comparées aux témoins. (**Fig.27**).

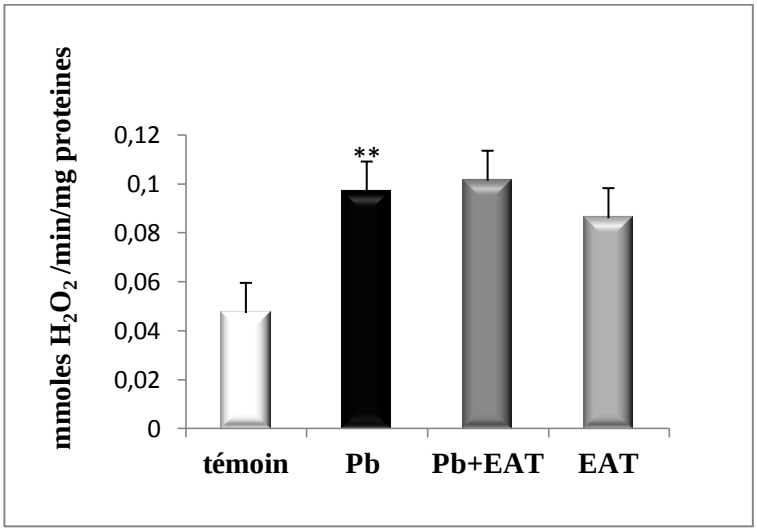


Fig.27. L'Activité de la catalase testiculaire (nmoles H2O2/min/mg protéines) Chez les différents groupes(**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. ** différence très significative (p<0,01) pour Pb Vs Témoin.*

9.2.3. Les antioxydants totaux

Les résultats du **Tableau 13** montrent une diminution non significative des antioxydants totaux testiculaires chez le groupe Pb par rapport aux groupes témoins. Cependant, le traitement par l'EAT des rats intoxiqués a permis d'augmenter le taux des antioxydants de +5%. De plus, le groupe de l'EAT montre une augmentation très significative (p<0,01), par rapport aux témoins.

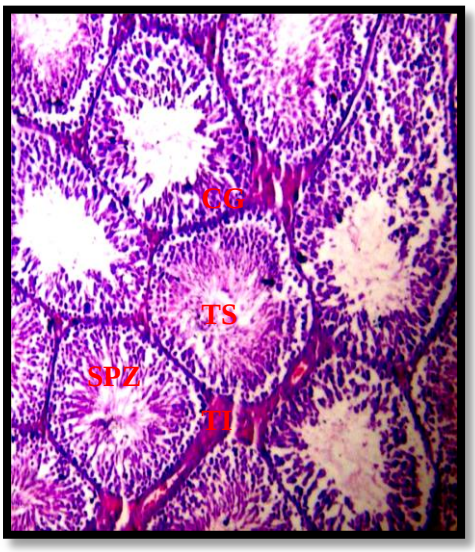
Tableau 13. Le taux des antioxydants totaux dans les testicules chez les différents groupes (**T, Pb, Pb+EAT, EAT**).

	Témoin	**Pb**	**Pb+EAT**	**EAT**
Antioxydants totaux µl/mg de protéine	2.01± 0.03	1.98±0.01	2.07± 0.05$^{\#}$	2.13±0.02$^{\$\$}$

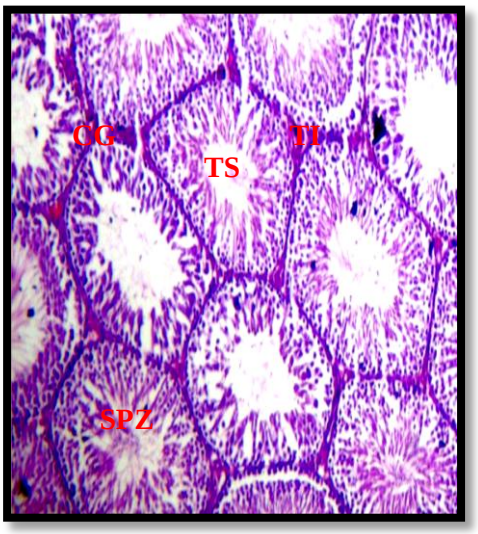
*Chaque valeur représente la moyenne ± SEM ; n=10. La comparaison des moyennes est effectuée par le test «ANOVA » suivi du test de comparaisons de Tukey. *différence significative (p<0,05) pour Pb+EAT Vs Pb,* $^{\$\$}$*différence très significative (p<0,01) pour EAT Vs Témoin.*

10. Etude histologique des testicules

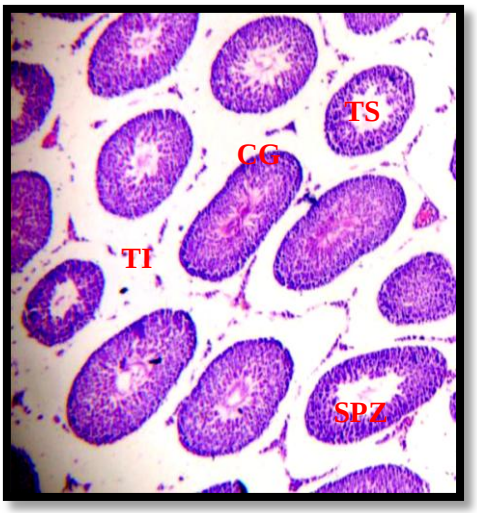
L'étude histologique réalisée au niveau de testicule révèle une architecture normale chez le groupe témoin et le groupe traité uniquement par l'EAT. La Figure du Témoin et EAT montrent des tubes séminifères serrés avec une lumière remplie de spermatozoïdes ainsi qu'une succession cellulaire représentant une évolution normale de la spermatogenèse. D'autre part, le tissu interstitiel est bien formé et vascularisé. Alors que l'analyse des coupes histologiques des testicules de rats intoxiqués au plomb **(Pb)**, montre des différents types d'altérations plus prononcées : une altération de la structure histologique à savoir une atrophie du tissu interstitiel et un espacement des tubes séminifères, une diminution de l'épaisseur de la couche germinale et du diamètre des tubes séminifères avec une réduction du nombre des spermatozoïdes. Le traitement par le thé vert chez le groupe déjà intoxiqué par le plomb **(Pb+EAT)** a montré une amélioration remarquable dans la structure histologique par rapport au groupe témoin, ces modifications sont : des tubes séminifères plus ou moins serrés avec un tissu interstitiel bien structuré. La lumière des tubes séminifères contient un nombre considérable en SPZ reflétant que le processus de la spermatogenèse a pu avoir lieu dans une grande proportion des tubes séminifères.



Témoin



EAT



Pb



Pb+EAT

Fig.28. Structure histologique des testicules de rats chez les déférents groupes (Témoin, Pb, Pb+EAT, EAT) durant 4 semaines. Colorés à l'Hématoxyline Eosine et observés sous microscope optique (G : ×100). (**Témoin, EAT)**: montrant une architecture histologique normale présentant des tubes séminifères serrés **(TS)** remplie de spermatozoïdes **(SPZ)** et un tissu interstitiel **(TI)** de structure normale**.(CG)** couche germinale épaisseur normal, **(Pb)** : montrant différents types d'altérations : une altération de la structure histologique à savoir une atrophie du tissue interstitiel et un espacement des tubes séminifères, une diminution de l'épaisseur de la couche germinale **(CG)** et du diamètre des tubes séminifères **(TS)** avec une réduction du nombre des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères**. (Pb+EAT)** : montrant différents modifications : un changement de la structure testiculaire, un tissu interstitiel modifié, des tubes séminifères serrés avec modification du diamètre et des lumières de tubes pleines de **SPZ.**

CHAPITRE IV :

DISCUSSION

La physiologie de la fertilité chez les mammifères est très sensible aux perturbations de l'organisme par les métaux lourds **(Nudell, 2002; Commenges-Ducos, 2006)**. Le plomb est un métal toxique qui envahit et persiste dans le domaine environnemental et professionnel, et son empoisonnement reste une menace pour la reproduction **(Zbakh et Abbassi, 2012).**

De nombreuses études ont rapporté les effets bénéfiques des produits naturels tels que les plantes et/ou leurs extraits sur la santé humaine **(Sadraei *et al* ., 2003).** Aujourd'hui, le thé est considéré comme une source de constituant alimentaire doué d'activité biologique et pharmacologique telle que la diminution de l'accumulation des métaux lourds dans les tissus à raison de leur activité antioxydante des polyphénols **(Ogura *et al*., 2008** ; **Mehana *et al*., 2012).**

La présente étude à pour but de mettre en évidence les effets bénéfiques de l'extrait aqueux de thé vert (*Camellia sinensis)* sur la fonction reproductrice chez les rats mâles intoxiqués par l'acétate de plomb par voie orale à raison de **3g.L^{-1}**.

1. Etude phytochimique

Le thé est l'une des boissons les plus largement utilisées dans le monde. Il contient des polyphénols, des acides aminés, des protéines, des glucides, des minéraux, de la caféine et d'autres matières volatiles, Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre, cela peut être attribué à la méthode d'extraction et la méthode de quantification **(Lee *et al*., 2003).**

L'analyse phytochimiques nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des feuilles du thé vert *Camellia sinensi*s, tel que les Saponines, stéroïdes, alcaloïdes, polyphénols, tannins et flavonoïdes. Ces résultats sont en accord avec ceux réalisés par **Shahidi, 2010** qui a démontré une teneur élevée en polyphénols (36%). D'après la littérature les polyphénols sont les principaux composants du thé vert (**Quan *et al*., 2007)**, tels la catéchine (C), en particulier l'épicatéchine (EC), l'épigallocatéchine (EGC), l'épicatéchine-3-gallate (ECG) et l'épigallocatéchine-3-gallate (EGCG), qui est la catéchine la plus active dans le thé vert **(Quan *et al*., 2007; Taheri *et al*., 2011)**. L'épigallocatéchine-3-gallate (EGCG) est considéré comme le composé bioactif le plus prometteur dans le thé vert à forte activité antioxydante **(Ayat *et al*., 2016)**. La propriété unique des catéchines du thé vert peut potentiellement améliorer la santé de la reproduction ainsi la réduction du stress oxydatif **(Shubhadeep *et al*., 2017)**.

L'analyse phytochimique a montré la présence des flavonoïdes dans l'extrait aqueux du thé vert. Les recherches récentes sur les flavonoïdes sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés, Les flavonoïdes parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, i1s sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif **(Nkhili , 2009).**

1.1. Evaluation de l'activité antioxydante de l'EAT

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation **(Rice-Evans *et al* ., 1995)**. De nombreuses méthodes sont utilisées actuellement pour évaluer cette activité. Le radical DPPH a été largement utilisé pour l'étude de l'activité antiradicalaire des différents extraits végétaux **(Sanchez-Moreno, 2002).** Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques **(Blois, 1958; Brand-Williams *et al* ., 1995).** Nos données ont démontré que l'extrait aqueux de thé vert possède un pouvoir anti-radicalaire qui a été détecté par la réduction de DPPH, dont nous avons enregistré un pourcentage d'inhibition très puissant qui augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Cette activité anti-radicalaire est presque similaire par rapport a l'antioxydant de référence (l'acide ascorbique). Nos résultats sont en accord avec plusieurs études qui ont été réalisées pour déterminer l'activité des antioxydants du thé **(Parejo *et al* ., 2000, Triantaphyllou, 2001, Ali K *et al*., 2005).** L'activité antioxydante pourrait être expliquée par la présence des composés phénoliques qui possèdent la propriété redox qui leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donneurs d'hydrogène, et les désactivateurs d'oxygène singulet **(Zheng et Wang, 2001; Parejo *et al*., 2002)**. En outre, ils ont un métal potentiel de chélation. Il a été montré que les infusions de thé sont des sources de composés phénoliques nécessaire dans notre alimentation **(Shahidi, 2000; Ali K *et al*., 2005).**

1.2. Les antioxydants totaux et méthode de FRAP *Ferric reducing antioxidant power*

C'est une méthode de mesure de la capacité des substances de nos extraits à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux $Fe^{2+.}$ C'est une technique rapide, facile et reproductible **(Karagozler *et al* ., 2008).** La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle **(Yang *et al*., 2005).** Des travaux antérieurs ont indiqué qu'il y a une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes **(Yildirim *et al*., 2001).** Dans

notre travail, nous avons testé par la méthode de FRAP l'extrait aqueux du thé vert, nous avons remarqué que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des échantillons. Cependant nos résultats sont en accord avec ceux travaux précédents **(Ozturk *et al.,* 2007; Su *et al.,* 2007).**

1.3. Activité de chélation de métaux (chélation du fer ferreux)

Parmi les espèces d'ions métalliques, les ions Fe2+ sont les pro-oxydants les plus puissants à cause de leur réactivité élevée **(Gulcin *et al.,* 2010)**. Ils catalysent la décomposition des hydroperoxydes en radicaux alkoxyle et peroxyle, amplifiant la peroxydation des lipides **(Pincemail *et al.,* 2002)**. La chélation des ions métalliques mènent à bloquer la réaction de type Fenton génératrices de radicaux OH**.**. De plus, les extraits ou les composés ayant l'activité de chélation sont censés pour empêcher la peroxydation de lipide en stabilisant les métaux de transition **(Wu et Ng, 2008)**. La ferrozine peut quantitativement former des complexes avec les ions Fe2+ libres. En présence d'autres agents de chélation, la formation du complexe Fe2+ ferrozine est perturbée. Il a été montré que les agents chélateurs sont efficaces en tant qu'antioxydants secondaires, parce qu'ils réduisent le potentiel redox stabilisant de ce fait la forme oxydée de l'ion métallique **(Suresh-Kumar *et al.,* 2008)**. C'est la raison pour laquelle une diminution de l'absorbance du complexe Fe2+_ferrozine indique la présence d'antioxydants chélateurs **(Le et *al*., 2007).**

Les résultats obtenus montrent que les extraits exercent un effet chélateur dose dépendante. Toutefois, l'effet chélateur maximal de 20% d'EAT et 15 % par EALT. L'EDTA exerce un effet chélateur de 25 %. Cela reflète simplement la nature complexe des extraits contenant un ou plusieurs chélateurs ayant des affinités différentes pour le fer, en concurrence avec la ferrozine (**Kolayli et *al,* 2004**). L'activité chélatante élevée dans nos résultats dérivée du thé vert pourrait être due au groupe fonctionnel de la structure de catéchine flavanols **(Lin et *al.,* 2008).** Nos résultats corroborent avec ceux de **Ayat *et al.,* (2016).** Selon la littérature, les composés phénoliques s'avèrent comme de bons chélateurs des ions métalliques **(Morris *et al.,* 1995; Brown *et al.,* 1998, Zerargui *et al*., 2015**).

2. Effet de l'EAT sur la croissance pondérale et le poids relatif des testicules et leurs tailles

Nos résultats montrent que l'administration par voie orale du l'acétate du plomb pendant 30 jours ralentit la croissance corporelle des rats. Ces résultats ont montré l'effet du

plomb sur la prise alimentaire. **Gautam *et al* ., 2001** ; **Smith *et al* ., 2008 ; Ait Hamdouche *et al* ., 2009 ; Chan-Min Liu *et al*., 2012; Sha'bani *et al*., 2015** suggèrent que cette diminution est en fonction de la dose administrée et la durée d'exposition et elle est directement associée à la diminution de la consommation de la nourriture et d'eau. L'étude de **Kirchgatterer *et al*., 2005** a également indiqué que l'empoisonnement peut être un facteur de risque indépendant pour la perte du poids. Nos résultats montrent que le plomb provoque un effet anorexigène ce qui permet de justifier l'implication du plomb dans la régulation du comportement digestif. De nombreux médiateurs sont impliqués dans la régulation du comportement digestif. Parmi eux la sérotonine, la dopamine, glutamate et catécholamine pouvant jouer un rôle prépondérant dans le contrôle de l'appétit ***(*Schwartz *et al*., 2000).** En effet, il est connu que le plomb interagit avec de nombreuses voies nerveuses et structures cérébrales qui sont impliquées dans le processus de régulation dans la satiété et la faim, ce qui permet de justifier l'effet anorexigène chez les rats intoxiqués par l'acétate de plomb et par modification des différents systèmes de transmissions nerveuses **(Auclair *et al* ., 2004).**

Nos résultats sont en accord avec les travaux entrepris par **Djebli *et al*., (2002); Taiwo *et al*., (2010);; kahloula *et al*., (2013)** qui ont observé une chute pondérale lorsque le plomb est administré par voie intra-péritonéale, gavage ou orale chez les rats. Cependant, l'étude du tractus génital a montré que l'exposition subchronique de plomb provoque chez le rat mâle des effets délétères sur les testicules. Nos résultats ont montré que le plomb a induit une diminution significative dans le poids absolu, relatif et la taille des testicules par rapport aux rats témoins. De même, l'étude de **Graça *et al*., (2004)** a montré que le poids des testicules, était significativement diminué par l'administration du plomb. Les travaux précédents suggèrent que la diminution du poids et de la taille des testicules peuvent être expliqués par une hypotrophie des tubes séminifères et l'altération de cellules de Leydig ce qui réduit automatiquement la spermogenèse (**Hari et Reddy., 2012; Sha'bani *et al*., 2015).** Cette hypertrophie est corrigée dés le début du traitement par l'EAT, ce qui semble être la conséquence directe de la correction du poids corporel et testiculaire **(Heba *et al*., 2016).** Donc nos résultats montrent qu'il y'a presque le retour à un état physiologique normal qui s'explique par l'activité antioxydante des principaux composés phénoliques de *Camellia sinensis* (**Sha'bani *et al*., 2015**). Ces principes actifs jouent un rôle de chélateurs des métaux lourds. Nos résultats concordent avec ceux des études de **Fraga *et al*., (2010)** qui ont démontré que les flavonoïdes peuvent agir comme briseurs des chaines des radicaux libres.

Ainsi qu'avec d'autres travaux menés par **Amudha et Pari, (2011)** qui ont montré que la quercitrine, l'un des flavonoïdes, est également un chélateur de métal très puissant.

En outre, l'administration de l'EAT uniquement aux rats a montré une diminution du poids corporel des rats ainsi le poids relatif et la taille des testicules. Cette réduction de poids et de taille peut être expliquée par l'inhibition de l'enzyme catéchol-o-méthyl transferase (COMT) par Epigallocatechin 3-gallet (EGCG) de thé **(Chantre et Lairon, 2002)**. D'après les études de **Rumpler *et al* ., (2001); Murase *et al*., (2002)** ils sont utilisé le thé vert pour empêcher le développement de l'obésité par les catéchines. Ces derniers augmentent l'activité de la β-oxydation dans le foie, connu sous le nom d'un organe actif en β -oxydation des acides gras. Cela peut contribuer à la suppression de l'accumulation de graisse du foie et des viscères et la diminution du poids corporel par conséquent.

3. Etude du spermogramme

La méthode de routine pour évaluer la fertilité potentielle d'un mâle est la réalisation d'un spermogramme au cours duquel des paramètres séminaux quantitatifs (concentration et nombre total en spermatozoïdes) et qualitatif (concentration de spermatozoïdes mobiles, vivants, de formes anormales) sont analysés. Le plomb est considéré comme un complexe spermatotoxique **(Ait Hamadouche *et al*., 2009 ; Dumitrescu *et al*., 2009; Yousif et Adbullah, 2010; Qureshi et Sharma, 2012).** L'administration de l'acétate de plomb pendant 4 semaines a induits une chute très importante au niveau du nombre, la mobilité ainsi une augmentation très remarquable des anomalies des SPZ. **Anjum *et al*., (2011**) ont noté que l'administration de l'acétate de plomb par voie orale pendant 45 jours provoque une réduction des paramètres spermatiques (le nombre, la motilité et la viabilité des spermatozoïdes) chez le rat. Nos résultats corroborent a ceux de **Johansson et Wide (1986); Murthy et al., (1995); (El-Beltagy *et al*., (2015) ;,** La plupart des études indiquent que le plomb provoque des effets néfastes sur la performance et la production des spermatozoïdes, et entraînant par la suite une infertilité. **(Al-Saleh *et al*., 2008; Hosni *et al*., 2013).** Les résultats de la présente étude ont également confirmé que le groupe exposé à l'acétate de plomb montre en plus des anomalies des SPZ qui est probablement dues à l'effet de l'acétate de plomb sur les différents niveaux de commande de la spermatogenèse et l'effet du stress oxydatif sur les spermatozoïdes (**Tremellen, 2008**). **Fahim *et al* ., (2013) et Rafique *et al*., (2009)** suggèrent que l'absorption du plomb et son trajectoire au niveau de l'épididyme affecte la mobilité des SPZ, ce qui est responsable de l'augmentation du pourcentage des SPZ morts. Les mécanismes impliqués

dans la détérioration de la motilité des spermatozoïdes par les métaux pourraient être due à une altération de certaines enzymes telles que les ATP ases, qui jouent un rôle critique dans la motilité des SPZ **(Da Costa *et al.,* 2015).** L'observation concernant les dommages de la membrane plasmatique semblerait être confirmée dans notre étude par l'entré des colorants vitaux éosine-bleu de trypan à l'intérieur de la cellule signalant ainsi la mort du spermatozoïde. Ce dernier est riche en acide gras polyinsaturé. C'est une cellule particulièrement sensible au stress oxydatif, pouvant entrainer de graves dommages, d'une part au niveau de la membrane plasmatique et d'autre part au niveau de l'ADN **(Aitken, 1999 ; Saleh et Agarwal, 2002 ; Wright *et al.,* 2014)**. Cette altération membranaire pourrait expliquer l'entrée des colorants vitaux à l'intérieur du spermatozoïde. La diminution du taux des spermatozoïdes vivants peut être le résultat de l'altération opposée du milieu intérieur de l'épididyme chez les rats intoxiqués car il est bien connu que la structure normale de l'épididyme et son microenvironnement est important pour la maturation des spermatozoïdes et leur maintien dans des conditions viables et motiles ***(*Ait Hamadouche *et al.,* 2009)**. Nous suggérons également que l'augmentation du taux des spermatozoïdes anormales (tétratospermie) chez les rats intoxiqués est peut être liée à l'effet du plomb sur les cellules de Sertoli ; compte tenu de leur rôle important dans la différenciation des spermatozoïdes et de la spermatogenèse. Le pourcentage élevé des anomalies observées surtout au niveau de la tête peut être expliqué par la cytotoxicité du plomb au moment de la spermiogenèse durant lequel se forment la tête, la pièce intermédiaire et le flagelle **(Piao *et al .,* 2007*).*** Nos résultats concordent avec ceux réalisés par **Garnier *et al., (*2013)** qui trouvent que la concentration de plombémie > 150 $\mu g.L^{-1}$ provoque une toxicité testiculaire, une réduction du nombre des spermatozoïdes, diminution de la mobilité et une augmentation des formes anormales des spermatozoïdes.

L'administration de l'extrait aqueux de thé vert a modifié le nombre, la mobilité et la qualité des spermatozoïdes. Beaucoup de recherches ont été réalisées pour prouver l'effet bénéfique du thé vert sur les paramètres spermatiques. Nos résultats ont montré également l'effet bénéfique de l'extrait aqueux de thé vert sur les spermatozoïdes, grâce à sa fonction phénolique qui est responsable de son activité antioxydante pour empêcher les spermatozoïdes d'être endommager par les radicaux libres induits par le plomb, et par conséquent les spermatozoïdes gardent leur propriétés physiologiques et donc protéger les spermatozoïdes contre le stress oxydatif **(Abshenas *et al.,* 2011).** Ces suggestions ont été confirmées par **Chandra *et al .,* (2011); Dias *et al., (*2014); Sheteifa et Morsy, (2014); El Beltagy *et al .,***

***(*2015)**. **Sha'bani *et al.*, (2015); Hassan *et al.*, (2016).** qui ont montré l'effet protecteur de *Camellia sinensis* attribué à son effet antioxydant du à la présence des polyphénols.. Les travaux réalisés par **Shubhadeep *et al.*, (2017)** ont signalé que la supplémentation en thé vert possédait des propriétés qui pourraient améliorer la qualité des gamètes mâles en raison de la capacité des polyphénols (catéchines) à piéger les EROS. Parmi les cathéchines, l'épigallocatéchine-3-gallate (EGCG) est considéré comme le composé bioactif le plus prometteur dans le thé vert à forte activité antioxydante. La propriété unique des catéchines du thé vert peut potentiellement améliorer la santé de la reproduction et poser une importante recherche **(Oluranti *et al.*, 2017).**

4. Test de génotoxicité

Les aberrations chromosomiques sont induite par de nombreux mutagènes connus et Carcinogènes **(Preston *et al* 1987 ;Kawauchi *et al.*, 2010).** L'évaluation du teste d'aberrations chromosomique a partir de la moelle osseuse peut détecter l'êtas des chromosomes dans la phase métaphasique. Les aberrations chromosomiques ont été classées Selon **Savage (1976)** comme des lacunes, délétions, fragments, anneaux, dicentriques Chromosomes, association, ruptures, des pauses.

L'administration de l'acétate de plomb par voie orale a induit des aberrations chromosomiques dans les cellules de la moelle osseuse des rats, le plomb exerce un effet clastogène (aberrations chromosomiques de structure) sur ces cellules, La génotoxicité de ce métal sur des rats intoxiqués a été estimé sur la base des aberrations chromosomiques dans différentes cellules des systèmes biologiques (**Collins, 2004**). Les changements chromosomiques structurels sont dus à des lésions (cassures ou lacunes) sont des discontinuités qui peuvent se produire à la suite de l'action chimique (**George *et al*., 1980**). Nos résultats sont en accord avec ceux **García-Lestón *et al.* (2010)**; **Ibrahim *et al*., (2016)**. Ils ont prouvé que les métaux lourds provoquent des aberrations chromosomiques dans les cellules de fibroblastes et sur la moelle osseuse. Le plomb peut inciter des aberrations chromosomiques chez les hamsters chinois dans les cellules somatiques des rats (**Hartwig, 1994**). Une étude qui été trouvée par une petite augmentation de cellules polyploïdes après 48 heures de traitement des lignées cellulaires de fibroblaste de hamster chinois par le plomb (**Manomita *et al*., 2004**). Afin de clarifié l'effet génotoxique du l'acétate du plomb, de nombreuses études ont été réalisé *in vitro et in vivo*. Les études entrepris par **Beek et Obe,**

(1974) et **Deknudt et Deminatti, (1978)** ; ont montré que le plomb induit une augmentation significative des fragmentations chromosomiques (F) dans des cultures de leucocytes et lymphocytes humains, **Lorencz *et al.,(*1996) ; Nehez *et al.*, (2000);** ont montré que l'acétate du plomb administré par voie orale induit des aberrations chromosomiques structurales et/ ou numériques dans les cellules de la moelle osseuse chez les rats et les souris. **Aboula-Ela, (2002)** a observé une augmentation significative dose dépendante des aberrations chromosomiques structurales (chromosome en gaps, délétion et fragmentation) dans les cellules de la moelle osseuse et spermatocytes, chez des souris intoxiqué au plomb à 200 et 400mg/kg par voie orale pendant 5 jours. Nos résultats sont en accords avec ceux de **Tachi *et al*., (1985)** qui ont montré l'effet clastogénique de l'acétate de plomb à 104 mg/kg administré par voie intra-péritonéale chez le rat male. Le plomb (15,20 et 30mg/kg) induit une augmentation significative dose dépendante d'aberrations chromosomiques dans les cellules de la moelle osseuse chez le lapin, comme les aberrations de structure (chromosomes en gap, fragmentation, délétion, fusion des centromères) et aberrations chromosomiques numériques comme la polyploïdie (**Ahmed *et al*., 2012**).

L'administration de l'extrait aqueux du thé vert (EAT) chez les rats intoxiquée par l'acétate de plomb a induit une légère réduction au niveau des aberrations chromosomiques, l'induction des dommages de l'ADN par le Pb et le traitement par l'EAT peut être expliquée par **Fahmy *et al* ., (2014)** qui a montré que la substance responsable de la réduction des aberrations chromosomiques c'est les polyphénols. Les polyphénols de thé sont principalement du à leur activité antioxydante qui inactive directement les mutations génétiques. L'activité antioxydante du thé vert était plus importante que les vitamines C et E (**Wiseman, 1997**). De plus il agissant comme agent d'élimination de l'oxygène réactif et les espèces d'azote, le thé vert améliore également le niveau de certaines enzymes détoxifiantes (**Sohn *et al*., 1994**). L'enzyme activatrice de pro-carcinogène c'est le cytochrome P450 est également supprimé (**Muto *et al*., 2001**). Le thé vert et EGCG se lient également aux ions métalliques et réduire encore la génération de **EROS** (**Hider *et al*., 2001; Tanaka., 2005**). Des études antérieures illustre que les catéchines de thé vert pourraient supprimer l'activité génotoxique de différents agents cancérogènes à la fois systèmes *in vitro et in vitro* (**Ito *et al*., 1989; Sasaki *et al*., 1993; Sinha *et al*., 2005 ; Zanchi *et al*., 2015**). De même les études de **Ito *et al*., (1989)** montrant que le thé vert a une activité antimutagénique sont conformes aux données épidémiologiques d**'Ogun**i ***et al.* (1981).** C'est un point intéressant de l'effet suppressif du thé vert résulte de tout Composant dans le thé vert. De ce Résultats, l'effet

suppressif du thé vert semble être dû au tanin contenu dans le thé vert. Nos résultats sont en accort avec les travaux de **Khalaf *et al* 2012** qui a montré l'effet protecteur de l'extrait aqueux du thé chez les rats intoxiqué au plomb. Les études sur les animaux ont montré que le thé vert inhibait la carcinogenèse de la peau, du poumon, de la cavité buccale, de l'œsophage, de l'estomac, du foie, Le rein, la prostate et d'autres organes (**Lambert, 2003 ; Lauri *et al.*, 2005** .Dans certaines études, L'inhibition est corrélée à une augmentation de l'apoptose des cellules tumorales et une diminution de la prolifération cellulaire (**Camen, 2006).** Plusieurs études cliniques ont examiné les effets du thé vert sur mutations génétiques (**lixia *et al* 2017**). **Lee *et al*. (1997)** A constaté que boire du thé vert a inhibé les mutations d'ADN dans les échantillons de sang chez les fumeurs et les non-fumeurs. De plus **Khalaf *et al., (*2012); Hakim *et al*., (2003) ;Tang *et al.*, (2008)** ont signalé que le thé vert diminue les biomarqueurs du dommage oxydatif de l'ADN après une exposition a un agent cancérigène.

5. Effets de l'EAT sur la plombémie

Le dosage du plomb au niveau sanguin (plombémie) est le seul paramètre qui nous confirme le diagnostique de la toxicité au plomb. Les données de la littérature ont confirmé que 90 % de plomb contenant dans le sang est absorbé par les globules rouges et 10 % seulement reste dans le plasma dont 40 % à 75% se lie aux protéines plasmatiques plus précisément à l'albumine **(Giel-Pietraszuk *et al.*, 2012 ; Ray, 2015).** Les travaux entrepris par **kopp *et al.*, (1988); Abd-El-Reheem, (2008**) ont démontré une corrélation entre les lésions pathologiques des gonades mâles et la teneur du sang en plomb. Ces auteurs suggèrent qu'il existe probablement une relation complexe entre l'ampleur de l'exposition et la durée de l'exposition. Cette relation peut être liée à la cinétique du plomb dans l'organisme. Les études réalisées par **Hami *et al.*, (2006**) ; **Moussa et Bashandy, (2008**) ont suggéré que le plomb accumulé dans les tissus mous et qui sont hypersaturés est mobilisé dans la circulation. Les résultats suggèrent qu'après 12 semaines d'intoxication le plomb des tissus mous qui sont hypersaturés est mobilisé dans la circulation. Nos résultats corroborent avec ceux de **Ait Hamadouche *et al* ., (2009); kharoubi et al., (2009) ; Kahloula et al.,(2010).**

Alors que le traitement par l'EAT chez les rats intoxiqués par le plomb a montré une réduction très remarquable de la plombémie. Cet effet pourrait être attribué aux propriétés bénéfiques de du thé vert sur la fonction reproductrice par la désintoxication (**Sha'bani *et al.*, 2015; Orulanti, 2017**). Ces résultats sont en accord avec ceux constatés dans une étude récente faite par **Soussi *et al*., (2003); El-Beltagy *et al*., (2015);** qui ont montré que

l'administration du thé vert (1,5%) pendant 2 semaines chez les rats intoxiqués par un mélange de métaux lourds augmente l'activité antioxydante en piégeant les radicaux libres.

6. Effets de l'EAT sur les paramètres biochimiques au niveau sérique

6.1. La teneur en Fer :

Le Fer est un oligoélément principal de l'organisme humain. Il joue un rôle essentiel au maintien de la vie, constituant essentiel de l'hémoglobine et de la myoglobine, ainsi que le cytochrome, il est également présent dans la circulation, lié à la transferrine, et sous forme de réserve (ferritine), principalement dans le foie (**Loréal *et al.*, 2006**). L'intoxication à l'acétate de plomb pendant une durée de 04 semaines a entraîné une augmentation très significative de la concentration de fer sérique. Ces résultats concordent avec ceux de **Djebli *et al.*, (2002); Ouldali *et al.*, (2013)** suggèrent que le plomb agit comme un antagoniste compétitif du fer au niveau de l'enzyme férrochélatase et entraine une modification de la conformation de site. Contrairement aux travaux de **Ait Hamadouche *et al* (2009)** qui ont trouvé une diminution de la concentration du fer sérique chez les rats exposés au plomb, ceci pourrait être expliqué par un dysfonctionnement de la moelle osseuse **(Herma et Geraldine., 2009).**

Le traitement avec l'EAT a diminué la concentration de Fer sérique de manière significative indiquant que cet extrait élimine les effets toxiques du plomb. En outre, les flavonoïdes du thé pourraient protéger contre la toxicité par l'intermédiaire de l'inhibition des dommages oxydatifs **(Khaled *et al.*, 2009).** Ca peut être expliqué par la capacité des catéchines du thé vert d'inhiber l'absorption du fer.

6.2. Le taux des hormones sexuelles (FSH, LH et testostérone)

L'étude hormonale a révélé une perturbation de la régulation hormonale de la fonction reproductrice chez les rats intoxiqués par l'acétate de plomb. Nos résultats ont montré une forte réduction du taux sérique de la FSH, la LH et la testostérone. Dans ce contexte, les résultats obtenus lors de l'étude des effets du plomb sur les hormones sexuelles chez les rats ont révélé une perturbation de la sécrétion des hormones hypothalamique et hypophysaire. Cette perturbation au niveau des testicules qui est l'origine d'une lésions tissulaire perturbe le mécanisme des gonades **(Stoh *et al.*, 2001 et Massanyi *et al.*, 2007).** L'Atrophie des tissus sexuels peut même touche la prostate et la libération hormonale **(El-Beltagy *et al.*, 2015).** La GnRH stimule l'antéhypophyse pour sécréter LH (Luteinzing Hormone) et la FSH (Folliculo stimulating Hormone) par modification des sites récepteurs de LH au niveau des cellules de

Leydig : le plomb entre en compétition avec LH au niveau des sites récepteurs de cellules de Leydig, ce qui provoque une perturbation de la sécrétion de la testostérone **(Schardein, 1993)**. D'autre part, le traitement par le plomb a modifié aussi la sécrétion de FSH qui est nécessaires au développement des tubes séminifères **(Mallem *et al.*, 2007).** Par ailleurs, les études réalisées par (**Ghosh *et al.*, 1990** ; **Jana *et al.*, 2005**) suggèrent que la diminution sérique de la testostérone est due à l'inhibition des enzymes stéroïdogènes testiculaires telles que delta 5,3 béta hydroxystéroïde déshydrogénase (Δ5,3β-HSD) et 17 béta hydroxystéroïde déshydrogénase (17β-HSD) responsables de la synthèse de la testostérone. De même, les expériences réalisées par **Ammany *et al.*, (2015)** chez les rats adultes avec une plombémie de 1,5 g/l ont montré que les concentrations plasmatiques de la testostérone sont diminuées après l'administration de plomb. Ces résultats sont convenus avec **Al-Attar, (2011)**, qui sont peut être attribués à la dépression de l'activité de la sécrétion des testicules et un changements dans le métabolisme périphérique **(Katsiya *et al.*, 1989).** Toutefois, l'inhibition de ces enzymes stéroïdiennes est due à la diminution de LH qui est le premier régulateur de ces enzymes **(kerr et Sharpe, 1986**. Ces auteurs suggèrent également que le plomb pourrait entraîner une atteinte de certaines enzymes de la stéroïdogènes. Le fait qu'une réduction 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.

Le traitement par l'EAT induit une modification au niveau des hormones (FSH, LH, Testostérone), ce qui améliore la compétence sexuelle chez les hommes et chez les rats mâles exposés au Pb (**Dissanayake *et al.*, 2009; Figueiroa *et al.*, 2009**; **Thuppil et Tannir, 2013)** ont également indiqué que les polyphénols d'extrait du thé vert principalement, les EGCG ont un effet inhibiteur sur la production de testostérone par les cellules de Leydig. Selon **Jassem *et al.* (2008) et Hassan *et al.* (2016).** L'administration de thé vert augmente de manière significative le nombre de spermatozoïdes, la motilité du sperme et la testostérone sérique chez les rats intoxiqués au plomb.

7. Effets de l'EAT sur les paramètres biochimiques au niveau tissulaire

7.1. Protéines totales

Les protéines sont des éléments essentiels de la vie de la cellule : elles peuvent jouer un rôle structurel (comme l'actine), un rôle dans la mobilité (comme la myosine), un rôle catalytique (les enzymes), et un rôle de régulation de la compaction de l'ADN (les histones)

ou d'expression des gènes (les facteurs de transcription). En somme, l'immense majorité des fonctions cellulaires sont assurées par des protéines **(Delattre *et al* ., 2005).** L'intoxication par l'acétate de plomb a provoqué une diminution très significative de taux de protéines, nos résultats sont en accord avec ceux de **Msc. Shatha *et al.*, (2016)** qui ont observé une nette diminution de la concentration protéiques après avoir exposés les rats mâle adulte au plomb. Cette diminution est peut être due à l'inhibition des enzymes spécifiques impliquées dans la biosynthèse des protéines. **Mandava *et al* ., (2009)** qui ont enregistré une nette diminution de la concentration protéique après avoir exposé les souris au nickel et au chrome. La liaison du nickel à certaines protéines de la chromatine dans les cellules somatiques peut entraîner des dommages oxydatifs et la structure de protéines (**Kasprazak *et al..*, 2003**). Chrome (VI) a aussi été connu pour induire un stress oxydatif a cause d'augmentation de la production des ROS conduisant à une détérioration des protéines dans les tissus **(Bagchi *et al* ., 2002),** cette diminution est un indicatif de stress oxydatif. Les acides aminés riches en groupement thiol sont les plus sensibles à ce stress.

Le traitement par *Camillia sinensis* induit une augmentation significative des protéines au niveau testiculaire. Cette élévation est due au pouvoir antioxydant de notre plante ainsi que les polyphénols, tel que l'EGCG qui ont la capacité de réduire les espèces réactives de l'oxygène issus d'un stress oxydatif généré par le plomb (**Salah *et al.*, 1995**). Les poloyphenols plus abondants tels que le gallate d'épigallocatéchine et le gallate d'épicatéchine contenues dans le thé vert piègent un large éventail de radicaux libres, y compris le radical hydroxyle le plus actif, ce qui peut initier des modifications oxydatives protéiques (**Guo *et al.*, 1996**).

7.2. L'activité de lactate déshydrogénase (LDH)

Afin de confirmer les données expérimentales, nous avons procédé au dosage de LDH. L'activité de LDH dans le tissu testiculaire est associée avec la maturation des cellules germinales de la couche épithéliale des tubes séminifères **(Pant *et al.*, 2003; Ait Hamadouche *et al.*, 2009).** LDH est présente en quantité importante dans les testicules des rats nouveau-nés et son activité diminue avec le développement des testicules **(Li *et al.*, 2009)** . Les résultats ont montré une diminution significative de LDH testiculaire chez les rats intoxiqués comparativement aux rats témoins. Cette diminution de l'activité de lactate déshydrogénase (LDH) testiculaire reflète une dégénérescence testiculaire qui est

probablement due une détérioration de l'épithélium germinal **(Pant *et al.*, 2003)** ou à une modification de métabolisme énergétique aérobie en variante de la glycolyse anaérobie due à une dysfonctionnement mitochondriale induite par le plomb (**Fantin *et al* ., 2006 ; Miskimins *et al*., 2014**). La réduction de l'activité de cette enzyme suggère que la dégradation du glucose par les deux procédés aérobies et anaérobies a été diminuée par la réduction de la prise alimentaire. Cela est probablement une réponse adaptative pour à ralentir la dégradation du glucose et le conserver **(Nelson *et al.*, 2000; Neelam-Farooq *et al.*, 2004).** Nos résultats concordent avec les travaux réalisés par **Di Zhao *et al.*, 2014.**

L'administration de EAT à des rats intoxiqués entraine une augmentation très significative de l'activité de LDH qui peut être due à une amélioration de métabolisme des glucides ou semble être un effet cellulaire adaptatif dans le métabolisme énergétique. Nos résultats est en accord avec les travaux réalisés par **Sara *et al* ., (2009).**

7.3. L'activité de la phosphatase alcaline (ALP) testiculaire

En analysant l'impact d'une intoxication au plomb sur l'activité de l'ALP nous avons remarqué une augmentation hautement significative du taux tissulaire de l'enzyme chez les rats intoxiqués. Nos résultats concordent avec ceux dles travaux réalisés par **Batra *et al.*, (2001); Kuladip *et al.*, (2006); Allouche *et al.*, (2011); Ait Hamadouche *et al.*, (2012); Sharma et Bhattacharya., (2015).** Ceci pourrait être expliqué par l'augmentation de l'activité de l'ALP résultante d'un dysfonctionnement hépatique et osseux (**Smith *et al.*, 2008**). Sachant que les phosphatases alcalines sont des enzymes du groupe des hydrolases associées à la membrane plasmatique des cellules. Elles sont libérées lors de la construction et de la destruction des membranes de différents tissus pour être ensuite catabolisées par le foie et éliminées par la bile (**Martins *et al.*, 2001; Ibrahim *et al.*, 2012).** D'après nos résultats, l'EAT a un effet positif sur l'activité de l'ALP testiculaire. L'effet antioxydant de *Camillia sinensis* a réduit les effets toxiques des métaux lourds sur quelques paramètres biochimiques au niveau tissulaire et plasmatique **(Swaran *et al.*, 2003).**

8. Effet de l'EAT sur les marqueurs du stress oxydatif au niveau testiculaire

8.1. Teneurs en TBARS tissulaires

Les lipides sont des constituants importants des organes. Le plomb inorganique est un pro-oxydant qui induit des dommages de la membrane cellulaire et des acides gras conduit à la fragilité et à la perméabilité de la membrane qui est une conséquence probable de l'intoxication au plomb **(Lim *et al.,* 2005**). Les résultats de notre étude montrent une augmentation significative des teneurs en substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS) au niveau testiculaire chez le groupe intoxiqué à l'acétate de plomb, qui sont des marqueurs les plus utilisés de la peroxydation lipidique. L'administration de l'acétate de plomb produit des dommages oxydatifs par le renforcement de la peroxydation des lipides membranaires et l'oxydation des protéines, c'est un processus délétère qui est produit uniquement par les radicaux libres (**Villeda-Hernandez *et al.,* 2001; Kang *et al.,* 2004**). Notre résultats concordent avec **Pandey *et al.,* 2003; Farombi *et al., 2007*; Yildirim *et al.,* 2011; Ramah et *al.,* 2015.** Des résultats similaires ont été retrouvées par **Guo *et al.,* (1996); Kharoubi *et al.,* (2008); Ganie et al., (2013); Annabi et al., (2015); Mabrouk et al., (2016),** suggèrent que la peroxydation lipidique cause la mort cellulaire par la perturbation de l'intégrité de la membrane cellulaire. De plus, **Cao *et al.,* (2004)** ont montré que le stress oxydant augmente la peroxydation lipidique qui touche les cellules de Leydig.

Le traitement avec l'extrait aqueux de *Camillia sinensis* entraine une nette diminution de la peroxydation lipidique au niveau des testicules des rats intoxiqués à l'acétate de plomb. Ces résultats laissent suggérer que cette réduction de la peroxydation lipidique est peut être due à l'augmentation du statut antioxydant, car l'extrait aqueux présente une importante activité antioxydante. Cet effet antioxydant est certainement dû à la richesse du thé vert en polyphénols, flavonoïdes et tanins, ainsi qu'à leur capacité de piégeage des radicaux libres (**Soussi *et al.,* 2006 ; Gomikawa *et al.,* 2008 ; Oluranti *et al.,* 2017)**.

8.2. Effet de l'EAT sur l'activité des enzymes antioxydants

Les enzymes antioxydantes sont considérées comme la première ligne de défense cellulaire contre le stress oxydatif par la suppression de la formation des espèces réactives d'oxygènes (ROS) ou en opposant leurs actions (**Zhao *et al.,* 2013; Reddyvari *et al.,* 2017)**. Se sont des métallo-enzymes qui contiennent des ions métalliques dont ils assurent la

structure et les fonctions catalytiques. D'après les résultats que nous avons obtenu le plomb provoque un déséquilibre au niveau de l'activité antioxydante, la diminution de l'activité des antioxydants suite à l'exposition au plomb pourrait être attribuée aussi à la grande affinité de Pb pour les groupements sulfhydrile (SH) ou bien aux cofacteurs métalliques de ces enzymes puisque le Pb rentre en compétition et remplace ainsi le Cu et le Zn dans leur sites de fixation **Nehru et Kanwar, 2004 ; Prasanthi *et al.*, 2010; Ko *et al.*, 2014.** Le plomb est largement connu pour ses effets néfastes sur les tissus qui pourrait être provoqué par deux principaux mécanismes **(Upasani *et al.*, 2001)**. L'augmentation de la génération des ROS tel que : hydroperoxydes, oxygène singulier et peroxyde d'hydrogène. Causer un épuisement direct des réserves antioxydantes **(Padmavathi *et al.*, 2009).** La superoxyde dismutase assure dans une partie le maintien de l'homéostasie de glutathion dans les tissus .Ces enzymes sont impliquées dans le système de défense contre les radicaux libres générés dans les tissus ou les cellules après une exposition au plomb **(Ercal *et al.*, 2001 ; Readyvary 2017).** Parmi les antioxydants enzymatiques, la SOD est le principal agent qui assure le maintien de l'homéostasie de glutathion dans les tissus .Ces enzymes sont impliquées dans le système de défense contre les radicaux libres générés dans les tissus ou les cellules après une exposition au plomb **(Ercal *et al.*, 2001).** D'après nos résultats nous avons remarqué une réduction au niveau de l'activité la SOD, cette diminution confirme l'action puissante du Pb de perturber les enzymes de défenses **(Saka *et al.*, 2011).**

Cependant l'administration de l'EAT a entrainé une amélioration de l'activité des enzymes de défenses. D'après la littérature, le thé vert comporte de nombreux composants bioactifs, principalement les catéchines, à savoir: épigallocatéchisme (EGCG), l'épigallocatéchine (EGC), l'épicatécathe (ECG) et l'épicatéchine (EC), **(Roychoudhury *et al.*, 2017).** L'activité antioxydante des polyphénols du thé vert est principalement attribuée aux catéchines. Des études antérieures ont montré que les catéchines de thé vert sont très efficaces contre les ROS, y compris les anions superoxydes **(Velayutham et al., 2009 ; EL-Shahat *et al.*, 2009 ; Vinoth *et al.*, 2010 ; Zadkhosh *et al.*, 2015; Abdelrazek, *et al.*, 2016, Reddyvary *et al.*, 2017., Olluranti., 2017).**

9. Effets de l'EAT sur l'histologie des testicules

L'étude histologique constitue un bon indicateur de l'atteinte de l'architecture et la taille des organes (**Karadeniz et Cemek, 2006** ; **Meeker *et al.*, 2007**). L'examen microscopique des coupes histologiques réalisées au niveau des testicules des rats intoxiqués a montré une atteinte de la structure testiculaire à savoir une hypotrophie du tissu interstitiel, une perturbation de la spermatogenèse, et une réduction du diamètre des tubes séminifères. Ces résultats corroborent aussi avec ceux constatés dans une étude récente **Sha'bani *et al.*, (2015)** qui a évalué les effets reprotoxiques du plomb. Nos observations s'accordent avec ceux de **Liu *et al.*,** (**2008**) qui montrent que l'exposition des rats au plomb à raison de 300 mg/l et au fluoride à raison de 150 mg/l provoque aussi une réduction de l'épaisseur et diamètre des tubes séminifères. Ceci peut être attribué à une peroxydation lipidique au niveau des testicules qui est confirmée par les fortes concentrations en TBARS que nous avons constaté à ce niveau. Ceci n'exclut pas l'existence d'autres effets inducteurs à savoir la diminution du taux de la testostérone. De plus, il a été démontré que la forte présence des ROS au niveau tissulaire est capable d'induire et d'accélérer la mort cellulaire par apoptose, ce qui peut également expliquer la forte diminution des cellules de la lignée germinale, et les cellules régulatrices de la fonction de la reproduction présentes dans les testicules **(Koksal *et al.*, 2003 ; Ait Hamadouche *et al.*, 2009).** Bien qu'il s'agisse d'un mécanisme physiologique pour éliminer les cellules défectueuses, nombreuses études expérimentales ont mis le point sur l'effet potentiel des produits toxiques, en amplifiant l'apoptose, d'engendrer des atteintes histologiques et d'éliminer les cellules fonctionnelles de la lignée germinale **(Ronis *et al.*, 1996; El-gohary *et al.*, 1999).** Chez des rats exposés au plomb, une amplification de l'apoptose des cellules de la lignée germinale a été détectée, et l'apoptose serait considérée comme l'un des mécanismes inducteurs des altérations testiculaires par le plomb sur le plan histologique **(Sashatha *et al.*, 2016).**

Le traitement par l'EAT a réduit les effets cytotoxiques de ce métal en protégeant les cellules grâce à leur caractère antioxydant**.** Elle favorise encore l'élimination par l'organisme des métaux lourds et toxiques (**Chandra *et al.*, 2011).** Nos résultats concordent avec les travaux de **(Patrick., (2006); Sha'bani *et al.*, (2015)**. De plus **Attarzadeh *et al.*, (2008)** ont révélé que le thé vert présente un avantage pour la santé, tels que la prévention de la prolifération cellulaire en induisant l'apoptose donc c'est un antioxydant puissant (**Sha'bani *et al.*, 2015; El-Beltagy., 2015).**

CONCLUSION
ET PERSPECTIVES

Notre étude a été réalisée pour évaluer l'efficacité du traitement par l'extrait aqueux du thé vert contre la reprotoxicité induite par le plomb sur un large spectre incluant la qualité du sperme, la structure histologique des testicules, le taux des hormones sexuelles, ainsi que des paramètres biochimiques en relation avec le stress oxydatif et enfin les testes de la cytogénétique.

Les résultats de screening phytochimique des deux extraits (EAT, EALT) de *Camellia sinensis*, ont montré que l'extrait aqueux de cette plante renferme une certaine quantité de métabolites secondaires et qui sont : Polyphénols, Flavonoïdes et Tannins. De plus, la détermination de l'activité antioxydante de cet extrait par des méthodes différentes (Pouvoir Réducteur, activité des antioxydants totaux et inhibition du radical DPPH, pouvoir chélateur du métal) a révélé la présence d'une forte activité antioxydante en comparaison avec l'acide ascorbique.

Après avoir induit l'intoxication par 3g/l d'acétate de plomb dans l'eau de boisson chez rats mâle adulte, nous avons enregistré les perturbations suivantes : une diminution très significative de poids absolu et relatif et la taille des testicules. Parallèlement, des anomalies et une diminution de la viabilité et du nombre des spermatozoïdes ont été observée. De plus la cytologie des testicules montre une réduction dans l'épaisseur de la couche germinale des tubes séminifères des rats intoxiqués ce qui témoigne d'une dégénérescence des cellules de Sertoli et donc l'atteinte profonde de la spermatogenèse. L'analyse d'aberrations chromosomiques a montré l'effet génotoxique du plomb sur les cellules de la moelle osseuse, le nombre de ces aberrations est plus important chez les rats intoxiqués. En revanche, les résultats des dosages biochimiques ont montré que le plomb a induit une surcharge en fer sérique, une carence en protéines testiculaire, une diminution de l'activité de LDH et une augmentation de l'activité de l'ALP, et de la plombémie. Parallèlement, nos résultats ont montré une diminution très significative de la concentration plasmatique des hormones sexuelles (FSH, LH, Testostérone,). Ainsi il a provoqué une diminution dans les concentrations des antioxydants qui a été accompagnée par une augmentation dans les taux de la peroxydation lipidique.

Le traitement oral par l'extrait aqueux du thé vert pendant quatre semaines a permet de corrigé l'effet toxique du plomb par les modifications suivantes : l'augmentation de la viabilité et le nombre des spermatozoïdes. De plus la cytologie des testicules montre un changement de la structure testiculaire et une modification du diamètre tubes séminifères. L'analyse d'aberrations chromosomiques a montré une légère modification sur les cellules de la moelle osseuse, le nombre de ces aberrations a été diminué par apport aux rats intoxiqués. Aussi nous avons observé une diminution la plombémie et le taux de la peroxydation lipidique. L'extrait aqueux du thé vert a permis d'amélioration l'activité des enzymes antioxydants dans les testicules. Alors pour les dosages biochimiques, la plante a modifié l'activité de la PAL et la LDH au niveau des testicules, Cependant la concentration plasmatique des hormones sexuelles (FSH, LH, Testostérone) a montré une augmentation très remarquée.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que le thé vert possède un effet bénéfique contre la toxicité a l'acétate de plomb par l'amélioration des paramètres biochimiques, la balance antioxydant, la structure histologique et aberrations cytogénétiques.

Notre travail laisse entrevoir de nombreuses perspectives expérimentales qui nous permet de répondre a nos questions posées, c'est pour cela il serait intéressant de :

- Déterminer les composés bioactifs du thé ver par HPLC.
- Doser le plomb au niveau tissulaire.
- Réaliser l'immunohistochimie des gonades.
- Approfondir la recherche sur les autres organes reproducteurs (Épididymes, Prostate, vésicule séminale).
- Approfondir dans le domaine de la cytogénétique (isolements des gènes responsable de la protection cellulaires à partir de la plantes du thé vert).
- Etudier l'interaction entre les gonades est le complexe hypothalamus-hypophysaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **A.A. Khalaf et al.** / NeuroToxicology 33 (2012) 280–289 The protective effect of green tea extract on lead induced oxidative and DNAdamage on rat brain A.A. Khalaf a,1, Walaa A. Moselhy b,*, Marwa I. Abdel-Hamed c,155 56 57 60.
- **Abd-El-Reheem AMA.** 2008. Effect of honeybee feeding on some physiological parameters of female rats exposed to cadmium chloride. Al-Azhar Bull Sci (Aisc) March: 29-42.
- **Abshenas J, Babaei H,Zare M, Allahbakhshi A, Sharififar F** (2011). The effects of green tea (Camellia sinensis) extract on mounse semen quality after scrotal heat stress. Veterinary Research forum; 2 (4): 242-247.
- **Aboul-Ela EI**. The protective effect of calcium against genotoxicity of lead acetate administration on bone marrow and spermatocyte cells of mice in vivo. *Mutat Res.* 2002; 516: 1–9.
- **AESA**. Scientific opinion on lead in food. Autorité européenne de sécurité des aliments. *EFSA Journal.*2010 ; 8(4) : 1570, 147 pp.
- **Agency for Toxic Substance and Disease Registry (ATSDR).** Toxicological profile for lead-update. Atlanta: U.S. Department of Health & Human Services, Public Health Service, 2007.
- **Ait Hamadouche.** N, Slimani .M and Aoues .A: Biochemical Parameters Alterations Induced by Chronic Oral Administration of Lead Acetate in Albinos Rat. American Journal of Scientific Research ISSN 1450-223X Issue 4 (2009), pp 5-16.
- **Ait Hamadouche, N**, Silmani, M, Aoues, A. Beneficial Effect Administration of Vitamin C in Amelioration of Lead Hepatotoxicity. Not Sci Biol, 2012, 4(3):07-13.
- **Ait Hamadouche N, Slimani M, Merad-Boudia B, Zaoui C.** Reproductive Toxicity of Lead Acetate in Adult Male Rats. American Journal of Scientific. 2009; 3: 38-50.
- **Ait Hamadouche N.** Effet de l'exposition chronique au plomb sur le système reproducteur et l'axe hypothalamo-hypophysaire chez le rat mâle Wistar. Etudes histologique et biochimique. Thèse de doctorat d'état Es-Science en biochimie appliquée d'Université d'Oran. 2009 ; PP : 1- 252.
- **AÏT-AÏSSA S, PALLUEL O, PORCHER JM**. Biomarqueurs précoces d'écotoxicité, Rapport final BCRD, Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, INERIS, Paris 2003, p. 51.

- **Aiyegoro O.A, Okoh A.I.** Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of Helichrysum longifolium. BMC Complementary andAlternative Medicine 2010**;** 10, 218.
- **Allouche L,** Hamadouche M, Touabti A, et al. Effect of Long-term Exposure to Low or Moderate Lead Concentrations on Growth, Lipid Profile and Liver Function in Albino Rats. Advances in Biological Research. 2011, 5 (6): 339-347.
- **Alexander BH, Checkoway H, van Netten C, Muller CH, Ewers TG, Kaufman JD, Mueller BA, Vaughan TL, et Faustman EM.** Semen quality of men employed at a lead smelter. *Occup. Environ. Med.* 1996; 53 : 411–416.
- **Amany Ramah., Ragab M., EL-shwarby., Nabila M.A., Elham A., El-shewey.** 2015 The effect of lead toxicity on male albino rat's reproduction with ameliorate by vitamin E and pumpkin seeds oil. Benha Veterinary Medical Journal. vol. 28, no. 1:43- 52.
- **Annabi A, Dhouib BI , Lasram M ,Gharbi N, El Fazaa** S.(2015).Oxidative stress , Biochemical alteration, and hyperlipidememia in female rats induced by lead chronic toxicity during puberty and post puberty periods.Iran J Basic Med Sci.18(10): 1034-1043.
- **Anjum MR, Sainath SB, Suneetha Y, Reddy PS.** Lead acetate induced reproductive and paternal mediated developmental toxicity in rats. Ecotoxicol Environ Saf 2011;74:793‑9.
- **Amudha K, Pari L.** Beneficial role of naringin, a flavonoid on nickel induced nephrotoxicity in rats. Chemico-Biological Interaction. .2011; 193: 57-64.
- **AlSaleh I, Coskun S, Mashhour A, Shinwari N, El‑ Doush I, Billedo G, *et al.*** Exposure to heavy metals (lead, cadmium and mercury) and its effect on the outcome of *in‑vitro* fertilization treatment. Int J Hyg Environ Health 2008;211:560‑ 79.
- **Ahamed M, Siddiqui MKJ.** Low level lead exposure and oxidative stress: Current opinions. *Clinica Chimica Acta.* 2007; 383: 57-64.
- **Allouche L, Hamadouche M, Touabti A.** Chronic effects of low lead levels on sperm quality, gonadotropins and testosterone in albinos rats. Exp Toxicol Pathol 2009 [Epub ahead of print].
- **Amdur MO, Doull J, Klaassen CD**. Lead. Casarett and Doull'sToxicology.New York, McGrawhill. 5th Ed 1996.

- **Ali K. Atoui a, Abdelhak Mansouri a**, **George Boskou b,1, Panagiotis Kefalas a.** Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. JOURNAL OF Food Chemistry 89 (2005) 27–36.
- **ATSDR**. Case studies in environmental medicine (CSEM). Lead toxicity exposure pathways. U.S. Agency for Toxic Substances and Disease Registry . 2007b.
- **Apostoli et al., 1999 P. Apostoli, S. Porru, L. Bisanti** Critical aspects of male fertility in the assessment of exposure to lead. Scand. J. Environ. Health, 25 (1999), pp. 40-43
- **Arun Kumar, Tamizh G. Selvan, Akanchha M. Tripathi,Sandeep Choudhary, ;hahanshah Khan, Jawahar S. Adhikari and K. Chaudhury. Sesamol attenuates genotoxicity in bone marrow cells of whole-body γ-irradiated mice.** *Mutagenesis*, 2015, 30, 651–661.
- **Assayama M, Ogawa T, Morimoto T**. Excretion of heavy metals in sweat. J Aichi Med Uni Assoc. 1975; 3 (4): 230-235.
- **Soussi Ahlem, Frangoise Croute, Jean-Pierre Soleilhavoup, Fadhel Guermazi , Kamel Jammoussi , Fatma Makni ayadi , Abdelfettah El feki 1 (2003)**impact of *camellia sinensis* green tea on the effects of vanadium on growth and the genital tract of male wlstar rats **. J of** Andrologie 2003, 13, N~ 393-402.
- **Athar M, Hasan S.K , Srivastava R.C.** Evidence for the involvement of hydroxyl radicals in nickel mediated enhancement of lipid peroxidation: implications for nickel carcinogenesis, In Biochem. Biophys. Res. Commun. 1987; vol. 147, 1987, pp. 1276–1281.
- **Attarzadeh A, Khalili MR, Mosallaei M.** The potential therapeutic effect of green tea in treatment of vernal keratoconjunctivitis. Iran J Med Hypotheses Ideas 2008;2:4‐7.
- **Ayat M. Shorbaji, Lamya A. AL-Sarori, Eman O. Baduwailan, Aisha A. Basaar, Huda A. Al Doghaither, Hala F. Al-Marzouki, Ulfat M. Omar**.Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Green Tea with and without Lemon Natural Science, 2016, 8, 247-255 Published Online June 2016 in SciRes. http://www.scirp.org/journal/ns http://dx.doi.org/10.4236/ns.2016.86029
- **Ayat B. Al-Ghafari, Ayat M. Shorbaji, Lamya A. AL-Sarori, Eman O. Baduwailan, Aisha A. Basaar, Huda A. Al Doghaither, Hala F. Al-Marzouki, Ulfat M. Omar***
- **Aitken RJ**. The amoroso lecture. The human spermatozoon-a cell in crisis? J Reprod Fertil.1999; 115: 1-7.

- **Auclair A, Drouin C, Cotecchia C, Glowinski J, Tassin JP.** 5-HT2A and α1b-adrenergic receptors entirely mediate dopamine release, locomotor response and behavioral sensitization to opiates and psychostimulants . Eur J Neurosci 2004; 20: 3073-84.
- **Awoniyi, D.O., Aboua, Y.G., Marnewick, J., Brooks, N**., 2012. The effects of Rooibos (Aspalathus linearis), Green tea (Camellia sinensis) and commercial Rooibos and Green tea supplements on epididymal sperm in oxidative stress-induced rats. Phytother. Res. 26, 1231–1239.
- **Azar A, Snee R D, Habibi K**. An epidemiologic approach to community air lead exposure using personal air samplers. *Environ Qual. Saf Sup*. 1975 ; **2** : 254-290.
- **Aziz, N., Saleh, R.A., Sharma, R.K., Lewis-Jones, I., Esfandiari, N., Thomas, A.J., Jr., Agarwal, A.**, 2004. Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. Fertil. Steril. 81, 349–354.

B

- **Bagchi D, Stohs S.J, Downs B.W, Bagchi .M**, H.G.Preus Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium.Toxicology, 2002; 180, pp. 5–22.
- **Barthelemy C, Prost G, Tolot F , Neulat G**. A propos d'un cas de pancréatite au cours d'une crise de colique de plomb. Arch Mal Prof. 1975 ; 3 : 357-360.
- **Basu, A., Lucas, E.A.,** 2007. Mechanisms and effects of green tea on cardiovascular health. Nutr. Rev. 65, 361–375.
- **Beek B, Obe G**. Effect of lead acetate on human leukocyte chromosomes in vitro. *Experientia.* 1974; 30:1006 –7.
- Batra N, Nehru B, Bansal MP. Influence of lead and zinc on rat male reproduction at biochemical and histopathological levels. *J. Applied. Toxicol*, 2001; 21: 507-512.
- **Bergmeyer HU.** Catalase. In Methods of enzymatic Analysis. 2nd ed .Verlag Chemie ,Weinheim, Germany. 1974; 2:673-684.
- **Blois M.S. (1958)** Antioxidant determinations by the use of stable free radical. Nature, 181, 1199:1200.
- **Blake KCH, Mann M.** Effect of calcium and phosphorus on the gastrointestinal absorption of ^{203}Pb in man. *Environ. Res.* 1983; 30 : 188–194.

- **Botta A, Poyen D, Sigouret M, Mathias A**. Les différents tests de dépistage d'une imprégnation saturnine applicables en médecine du travail. *Arch Mal Prof*. 1976; 37: 437-443.
- **Borovik, A. J. 1990.** Characteristics of metals in biological systems. In: Shaw AJ, ed. Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. Boca Raton: CRC Press. p. 3-5.
- **Bonde JP, Joffe M, Apostoli P, Dale A, Kiss P, Spano M, Caruso F, Giwercman A, Bisanti L, Porru S, Vanhoorne M, Comhaire F, Zschiesche W.** Sperm count and chromatin structure in men exposed to inorganic lead: lowest adverse effect levels. *Occup. Environ. Med.* 2002; 59: 234–242.
- **Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. (1995)** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmitel–Wissenschauft und Technologie, 28, 25-30.
- **Brown J.E., Khodr H., Hider R.C., Rice-Evans C.** (1998) Structural dependence of flavonoïdes interactions with Cu2+ ions : implication for their antioxidant properties. *The Biochemical journal*, **330**, 1173-1178.

C

- **Cabrera, C., Artacho, R., Gimenez, R.**, 2006. Beneficial effects of green tea–a review. J. Am. Coll. Nutr. 25, 79–99.
- **Cao, H., Hininger-Favier, I., Kelly, M.A., Benaraba, R., Dawson, H.D., Coves, S., Roussel, A.M., Anderson, R.A.**, 2007. Green tea polyphenol extract regulates the expression of genes involved in glucose uptake and insulin signaling in rats fed a high fructose diet. J. Agric. Food Chem. 55, 6372–6378.
- **Calmet D, Flüry-Herard a, Jimonet c et al**. toxicologie radiologique et chimique. 2003, clefs cea.
- **Cao, S. Leers Sucheta, S. Azhar,** Aging alters the functional expression of enzymatic and non ienzymatic antioxidant defense systems in testicular rat Leydig cells, Steroid. Biochem. Mol. Biol. 88 (2004) 61–67.
- **Castellini C, Mourvaki E, Sartini B, Cardinali R, Moretti E, Collodel G, et al.** In vitro toxic effects of metal compounds on kinetic traits and ultra structure of rabbit spermatozoa. Reprod. Toxicol, 2009; 27: 46-54.
- **Cempel M.** Effect of nickel (II) chloride on iron content in rat organs after oral administration. In Biol Trace Elem Res., 2004; vol. 102, no. 1-3, pp. 189-98.

- **Center For disease control (CDC)** .Preventing lead poisoning in young children. 1991, 87 pages.
- **Cezard C, Haguenoer JM**. Toxicologie du plomb chez l'homme. Lavoisier TEC DOC. 1992; p 350.
- **Cheng Y, Schwartz J, Sparrow D, Aro A, Weiss ST, Hu H.** Bone lead and blood lead levels in relation to baseline blood pressure and the prospective development of hypertension: the Normative Aging Study. *Am. J. Epidemiol.* 2001; 153 : 164–171.
- **Chen, S., Osaki, N., Shimotoyodome, A.,** 2015. Green tea catechins enhance norepinephrine-induced lipolysis via a protein kinase A-dependent pathway in adipocytes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 461, 1–7.
- **Chen, D.,** 2013. Green Tea Polyphenols Prevent Parkinson's Disease: In Vitro and In Vivo Studies. Graduate Theses Dissertation. Iowa State University, pp. 1–136.
- **Chantre P & Lairon D.** Green tea extract reduce body weight in obese adults-clinical trial. Phytomedicine 2002; 14: 3-8.
- **Chan-Min Liu, Yun-Zhi Sun, Jian-Mei Sun, Jie-Qiong Ma, Chao Cheng.** Protective role of quercetin against lead-induced inflammatory reponse in rat kidney through the ROS-mediated MAPKs and NF-κ Bpathway. Biochimica et Biophysica Acta. 2012; 1820: 1693-1703.
- **Chandra AK, Choudhury SR, Neela D, Mahitosh S.:** Effect of green tea *(Camellia sinensis L.)* extract on morphological and functional changes in adult male gonads of albino rats. 2011.
- **Chung S. Yang1 and Jungil Hong**. 2013 Prevention of Chronic Diseases by Tea: Possible Mechanisms and Human Relevance.The Annual Review of Nutrition. 33:161-181.
- **Christoffersson JO, Ahlgren L, Schutz A, Skerfving S, Mattsson S**. Decrease of skeletal lead levels in man after end of occupational exposure. Arch Environ Health. 1986; 41 (5): 312-318.
- **Chandra AK, Choudhury SR, Neela D, Sarkar M** (2011). Effects of green tea extract (Camellia Sinensis L.)on mophorlogical and functional changes in adult male gonads of albino rats. Indian j. of exp. biol; 49: 689-697.
- **Chaturvedula VS, Prakash I**. The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. J Med Plants Res 2011;5:2110-24.

- **Chowdhury AR.** Recent advances in heavy metals induced effect on male reproductive function- A retrospective, Al Ameen Journal of Medical Sciences, 2009; 2(2): 37-42.
- **Cia, D., Jacquemot, N., Vergnaud, J., Doly, M.,** 2011. Protective effects of epigallocatechin gallate (EGCG) against oxidative stress in cultured retinal pigment epithelial cells. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 52, 4437.
- **Cooper, R., Morré, D.J. et Morré, D.M.,** Medicinal Benefits of Green Tea: Part I. Review of Noncancer Health Benefits. *THE JOURNAL OF ALTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE*, 2005; 11(3), pp.521–28.
- **Courtois , E.,** *Le parfum de la défense des plantes en forêt amazonienne*. Thèse de Doctorat. Toulouse: l'Université Toulouse III – Paul Sabatier 2010. pp.15-16.
- **Commenges-Ducos, M.,** 2006. Clinical assessment of toxics deleterious to fertility. Gynecologie Obstetrique & Fertilite., 34: 985–989.
- **Collins A**. The comet assay for DNA damage and repair. *Mol Biotechnol.* 2004; 26: 249–61.
- **ColosimoJr, J.P., Zang, S., Weisburger, E.J.H**. 1994.Effects of green and black tea on hepatic xenobiotic metabolizing systems in the male rats. *Xenobiotica* 24: 19–127.
- **Comporti M.** Serial review: iron and cellular redox status, Free Radical . In Biol. Med., 2002; vol. 32,pp. 565–567.
- **Craft E, Abu-Qare A, Flaherty M, Garofolo M, Rincavage H. Aboudonia M**. Depleted and natural uranium chemistry and toxicological effects. *J Toxicol Environ Health Crit Rev*. 2004; **7**: 297-317.

D

- **Da Costa R, Botana D, Pinero S, et al.** (2015) Cadmium inhibits motility, activities of plasma membrane Ca2þ- ATPase and axonemal dynein-ATPase of human spermatozoa. Andrologia. Epub ahead of Print 10 August 2015. DOI: 10.1111/and.12466.
- **Delattre J, Beaudeux JL, Bonnefont-Rousselot**. Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques.Lavoisier édition TEC&DOC éditions médicales internationales Paris. 2005 ;1-405.
- **Després C, Beuter A, Richer F, Poitras K, Veilleux A, Ayotte P, Dewailly E, Saint-Amour D, Muckle G.** Neuromotor functions in Inuit preschool children exposed to Pb, PCBs, and Hg. *Neurotoxicol. Teratol.* 2005; 27: 245–257.

- **Deknudt G, Deminatti M**. Chromosome studies in human lymphocytes after in vitro exposure to metal salts. *Toxicology*. 1978; 10: 67–75.
- **Deaton C.M., Marlin D.J., Roberts C.A., Smith N., Harris P.A., Kelly F.J., Schroter R.C.** Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. Equine Vet. J., 2002, 34 : Suppl, 58-65.
- **Dietrich KN, Ris MD, Succop PA, Berger OG, Bornschein RL.** Early exposure to lead and juvenile delinquency. *Neurotoxicol. Teratol*. 2001; 23: 511–518.
- **Djeridane A, Yous M** , **Nadjemi B** , **Boutassouna D , Stocker P ,Vidal N**. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds .Food Chem. 2006; 97 :654-660.
- **Dinis TCP, Madeira VMC, Almeida LM.** Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1994; 315, 161–169.
- **Dias TR, Alves MG, Tomás GD, Socorro S, Silva BM,** Oliveira PF. White tea as a promising antioxidant medium additive for sperm storage at room temperature: A comparative study with green tea. J Agric Food Chem 2014;62:608‑ 17.
- **Dissanayake DMAB, Wijesinghe PS, Ratnasooriya WD, et al.** (2009) Effects of zinc supplementation on sexual behavior of male rats. Journal of Human Reproductive Sciences 2: 57–61.
- **Di Zhao**, **Shao-Wu Zou**, **Ying Liu**, **Xin Zhou**, **Yan Mo**, **Ping Wang**, **Yan-Hui Xu**, **Bo Dong**, **Yue Xiong**, **Qun-Ying Lei**, **Kun-Liang Guan**. Cancer Cell. 2013 April 15; 23(4):doi:10.1016/j.ccr.2013.02.005. Cancer Cell. Author manuscript; available in PMC 2014 April 15.
- **Djebli N, Aoues A, Slimani M,** (2002). Etude experimental de quelques effects toxiques du plomb chez les jeunes rats wistar.Journal of géogrphie et aménagement .10(09).ISSN :1112-282X.
- **Dumitrescu E, Trif A, Argherie D, Cristina R.T** (2009). The consequences in utero exposure to lead acetate on exposure and integrity biomarkers of reproductive system in female rats. Medicina Veterinara, XLII; (2): 295-300.
- **Durgesh Nandini Sharma & Lata Bhattacharya** / International Journal of Biomedical Research 2015; 6(11): 874-879.

- **Dumitrescu E, Trif A, Argherie D, Cristina R.T** (2009). The consequences in utero exposure to lead acetate on exposure and integrity biomarkers of reproductive system in female rats. Medicina Veterinara, XLII; (2): 295-300.

E

- **El-gohary, M., Awara, W., Nassar, S. et Hawas, S.,** Deltarmethrin-induced testicular apoptosisin rats : the protective effect of nitricoxide synthase inhibitor. *Toxicology*, 1999; 132, pp.1-8.
- **Eldebaky HA, Sabra HA, Samy AA, Eman MG, El-Khadrawy HH** (2015). Protective Effect of Green Tea (Camellia snensi) Extract on P53 Gene Mutation and Reproductive Toxicity in Male Rat Intl. J. Genet.; 5(2): 53-62
- **Eldebaky HA, Sabra HA, Samy AA, Eman MG, El-Khadrawy HH** (2015). Protective Effect of Green Tea (Camellia snensi) Extract on P53 Gene Mutation and Reproductive Toxicity in Male Rat Intl. J. Genet.; 5(2): 53-62.
- **El-Beltagy Marwa A., Saleh Sherif Y. Abd El-Rehim A. El-Ghannam Ibrahim A. Ibrahim**, Protective effect of green tea extract on heavy metals- induced oxidative testicular damage in rats indian journal of applied research volume : 5 issue: 1 | jan 2015 | issn - 2249-555x.
- **EL-SHAHAT, A. E.; GABR, A.; MEKI, A. R. & MEHANA, E. S.** Altered testicular morphology and oxidative stress induced by cadmium in experimental rats and protective effect of simultaneous green tea extract. Int. J. Morphol., 27(3):757-764, 2009.
- **Ercal N,** Gurer-orhan H , Aykin-Burns N. 2001: Toxic metals and oxidative stress. Part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. Curr Top Med Chem. 2001; 1:529-539

F

- **Fahr M, (2014).** Étude physiologique et moléculaire de la tolérance et l'accumulation du Pb chez une population métallicole et une population non métallicole d'Hirschfeldia incana (Brassicacée récoltée au Maroc) : Perspectives pour la phytoremédiation. Thèse de doctorat. Université Mohammed v - Faculté des Sciences– Rabat.
- **Fahim MA, Tariq S and Adeghate E** (2013) Vitamin E modifies the ultrastructure of testis and epididymis in mice exposed to lead intoxication. Annals of Anatomy 195: 272–277.

- **Favier A.** Oxidative stress in human disease. *Ann. Pharm. Fr.* 2006 ; 64(6) : 390-396.
- **Falcy M, Hesbert A, Jargot D, Protois JC, Reynier M, Schneider O, Serre P.** Plomb et composés minéraux. *INRS Fiche Toxicologique* N° 59, Edition 1998. Vol: 8p.
- **Farombi E-O, Adelowo O-A, Ajimoko Y-R**. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African Cat Fish (Clarias gariepinus) from Nigeria Ogun River. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2007; 4(2): 158-165.
- **Fantin VR, St-Pierre J, Leder P** (2006) Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. Cancer Cell 9: 425–434
- **Figueiroa MS, César Vieira JS, Leite DS, Filho RC, Ferreira F, Gouveia PS, Udrisar DP, Wanderley MI** (2009). Green tea polyphenols inhibit testosterone production in rat leydig cells. Asian J Androl; 11: 362-370.
- **Fisher IJ, Pain DJ, Thomas VG**. A review of lead poisoning from ammunition sources in terrestrial birds. J. Biol. Conser, 2006; 131: 421-432.
- **Fleuriet A**. Thèse Doc. Etat, Montpellier.1982.
- **Fraga CG, Galleano M, Verstraeten S, Oteiza PI**. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols, Mol. Aspects Med. 2010 31: 435-445.
- **Fraga, C.G., Oteiza, P.I.,** 2011. Dietary flavonoids: role of (−)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling. Free Radic. Biol. Med. 51, 813–823.
- **Fran K, Donald E, James G** (2000) Research trends in healthful foods. Food Tec.; 54 (10), 45–52.
- **Fraser S, Muckle G, Després C.** The relationship between lead exposure, motor function and behaviour in Inuit preschool children. *Neurotoxicol. Teratol.* 2006; 28: 18–27.
- **Friberg L, Nordberg GF, Vouk VB**. Handbook on the toxicology of metals - 2nd editions, *Elsevier Publ, Amsterdam,* 1986.

G

- **Ganis SA, Zargar BA, Masood D A, Zargar MA. (2013).** Hepatoprotective and antioxidants activity of Rhizone of Podophyllum hexanfrum against Carbon Tetra Chloride Induced Hepatotoxicity in rats .Biomed Environ Sc.26(3) 209 221.

- **Gao X, Ohlander M , Jeppsson N, Bjo¨ rk L, Trajkovski, V.** Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) during maturation. Journal of the Agricultural and Food Chemistry, 2000; 48, 1485–1490.
- **García-Lestón J, Méndez J, Pásaro E, Laffon B.** Genotoxic effects of lead: An updated review**.** *Environment International*. 2010; 36: 623–636.
- **Garnier R , Langrand J, Carré N.** Effets du plomb sur la santé, lorsque la plombémie est inférieure à 100 µg/L. Centre Antipoison de Paris, Cire Ile-de-France-Champagne-Ardenne ,JRVS Ile-de-France novembre 2013.
- **García-Lestón J, Méndez J, Pásaro E, Laffon B.** Genotoxic effects of lead: An updated review**.** *Environment International*. 2010; 36: 623–636.
- **Gadd, G. M. 2010.** Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology,* 156, 609-643.
- **Gautam AK, Agarwal K, Shah BA, Kumar S, Saiyed HN**. Lead induced spermatoxicity in mouse and MPG treatment. Environ Bio. 2001; 22 (4): 287-91.
- **Gautam AK, Agarwal K, Shah BA, Kumar S, Saiyed HN**. Lead induced spermatoxicity in mouse and MPG treatment. Environ Bio. 2001; 22 (4): 287-91.
- **George R, Douglas R.D.L,Bell, C.E.Grant, J.M.Wytsma, K.C.Bora.** 1980. Effect of lead chromate on chromosome aberration, sister-chromatid exchange and DNA damage in mammalian cells in vitro. **Mutation Research/Genetic Toxicology** Volume 77, Issue 2, February 1980, Pages 157-163
- **Geetha, S., Sai Ram, M., Singh, V., Ilavazhagan, G., Sawhney, R.C.,** 2003. Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of Sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) on chromium (VI) induced oxidative stress in male albino rats. Journal of Ethnopharmacology 87, 247–251.
- **Ghosh et al., 1990 ; Jana et al.,** 2005 (Shaw et al., 1979 ; kerr et Sharpe, 1986 ; Saez .,1994 (Schardein, 1993). (Mallem et al., 2007). VOIR mémoire de AIT hamadouche.
- **Giel-Pietraszuk M.,** Hybza K., Chełchowska M., Barciszewski J.The mechanisms of lead toxicity. Post. Biol. Kom. 2012, 39: 217-248. (in Polish)
- **Gonzalez-Fernandez, R., Hernandez, J., Martin-Vasallo, P., Puopolo, M., Palumbo, A.,** Avila, J., 2016. Expression levels of the oxidative stress response gene ALDH3A2 in granulosa-lutein cells are related to female age and infertility diagnosis. Reprod. Sci. 23, 604–609.

- **Gomikawa S, Ishikawa** Y, Hayase W, Haratake Y, Hirano N, Matuura H, Mizowaki A, Murakami A, Yamamoto M (2008). Effect of ground green tea drinking for two weeks on the susceptibility of plasma and LDL to the oxidation ex vivo in healthy volunteers. Kobe J. Med. Sci; 54(1): E62-7
- **Gomikawa S, Ishikawa Y, Hayase W, Haratake Y, Hirano N, Matuura H, Mizowaki A, Murakami A, Yamamoto M** (2008). Effect of ground green tea drinking for two weeks on the susceptibility of plasma and LDL to the oxidation ex vivo in healthy volunteers. Kobe J. Med. Sci; 54(1): E62-72.
- **Goyer RA, Clarkson TW**. In: Klaassen CD, editor. Casarett & Doull's toxicology: the basic science of poisons, 6th ed. New York: McGraw-Hill, Health Professions Division; 2001. p. 811-68.
- **Goering PL.** Lead-protein interactions as a basis for lead toxicity. *Neurotoxicology*. 1993;14: 45–60.
- **Graham, H.N.,** 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. Prev. Med. 21, 334–350.
- **Graça A, Ramalho‐Santos J,** de Lourdes Pereira M. Effect of lead chloride on spermatogenesis and sperm parameters in mice. Asian J Androl 2004;6:237‐41.
- **Guo Q, Zhao B, Li M, Shen S, Xin W** (1996). Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes. Biochim Biophys Acta; 1304: 210–22.
- **Gupta, J., Siddique, Y., Beg, T., Ara, G., Afzal, M.,** 2008. A review on the beneficial effects of tea polyphenols on human health. Int. J. Pharmacol. 4, 314–338.
- **Guo Q, Zhao B, Li M, Shen S, Xin W** (1996). Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in synaptosomes. Biochim Biophys Acta; 1304: 210–22.
- **Gulson BL, Jameson CW, Mahaffey KR, Mizon KJ, Korsch MJ, Vimpani G**. Pregnacy increase mobilization of lead from maternal skeleton. J Lab Clin Med. 1997; (1): 51-62.
- **Gulcin I., Huyut Z., Elmastas M. and Aboul-Enein H. Y.** (2010) Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, **3**, 43-53.

H

- **Haguenoer JM, Furon D**. Toxicologie et hygiène industrielles. Les dérivés minéraux, 2e partie. Paris. 1982, Paris. Technique et documentation, Tome II.
- **H.M.A. Abdelrazek, et al.,** Ameliorating effects of green tea extract on cadmium induced reproductive injury in male Wistar rats with respect to androgen receptors and caspase- 3, Reprod Biol (2016), http://dx.doi.org/10.1016/j.repbio.2016.11.001.
- **Hajdú Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. and Defraigne J.O.** (2002) Physiological action of antioxidant defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme,* **16**, 233-239.
- **Hanas JS, Rodgers JS, Bantle JA, Cheng YG.** Lead inhibition of DNA-binding mechanism of Cys(2)His(2) zinc finger proteins. *Mol. Pharmacol.* 1999; 56 : 982–988.
- **Hami J, Dashti Gh R, Nema-bkhsh M, Afshar M, Ghaffari HR**. 2006. The relationship between high dose lead exposure and serum lipids and lipoprotein levels. Shiraz E Medical Journal; 7 (2): 1-7.
- **Hakim IA, Harris RB, Brown S, Chow HH, Wiseman S, Agarwal S, et al**. Effect of increase tea consumption on oxidative DNA damage among smokers: a randomized controlled study. J Nutr 2003; 133:3303S–9S.
- **Hassan EM, Kahilo KA, Kamal TA** (2016) The Ameliorated Effect of Garlic and Green Tea on Lead Induced Testicular Toxicity in Rats Intl J. Sci. Res. (IJSR); 5 (5): 1927-1933.
- **Hartwig A.** Role of DNA repair inhibition in leadand cadmium-induced genotoxicity: a review**.** *Environmental Health Perspectives.* 1994; 102(3): 45-50.
- **Hari Priya P and Reddy PS** (2012) Effect of restraint stress on lead-induced male reproductive toxicity in rats. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology 317: 455–465.
- **Hagerman AE, Butler LG**. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins .J Agric Food Chem. 1978; 26:809-12.
- **Harborne JB**: Phytpchimical methods – A Guide to Modern Techniques of plant analysis Chapman and Hall: London; 1998.
- **Hauser R, Sergeyev O, Korrick S, Lee MM, Revich B, Gitin E, Burns JS, Williams PL**. Association of blood lead levels with onset of puberty in Russian boys. *Environ. Health Perspect.* 2008; 116: 976–980.
- **Hijazi, M.M., Khatoon, N., Azmi, M.A., Rajput, M.T., Zaidi, S.I., Azmi, M.A., Perveen, R., Naqvi, S.N., Rashid, M.,** 2015. Report: effects of Camellia sinensis L.

(green tea) extract on the body and testicular weight changes in adult Wistar rate. Pak. J. Pharm. Sci. 28, 249–253.

- **Henning, S.M., Fajardo-Lira, C., Lee, H.W., Youssefian, A.A., Go, V.L.W., Heber, D.,** 2003. Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with the antioxidant capacity. Nutr. Cancer 45, 226–235.
- **Higdon JV, Frei, B.** Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. Crit Rev Food Sci Nutr. 2003 ; 43, 89-143.
- **Hyung, S.-J., Detoma, A.S., Brender, J.R., Lee, S., Vivekanandan, S., Kochi, A., Choi, J.-S., Ramamoorthy, A., Ruotolo, B.T., Lim, M.H.,** 2013. Insights into antiamyloidogenic properties of the green tea extract (−)-epigallocatechin-3-gallate toward metal-associated amyloid-β species. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 110, 3743–3748.
- **Hua Li, Xiaoyu Wang, Peihong Li, Yong Li, Hua Wang.** Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (Vitis vinifera) Seed Powder Assessed by Different Methods. Journal of Food and Drug Analysis. 2008; 16 (6):67-73.
- **Hosni H, Selim O, Abbas M, Fathy A.** Semen quality and reproductive endocrinal function related to blood lead levels in infertile painters. Andrologia 2013;45:120‐7.
- **Hider, R.C., Liu, Z.D., Khodr, H.H.** 2001.Metal chelation of polyphenols.*Methods in Enzymology* 35: 190-203.
- **Heman D.S.M. Geraldine and T.venkatesh,2009.**Influence of minerals on lead-induced alteration in liver function inrats exposed to long term lead exposure J.Hazard Mate.,166(2-3):1410-1414.
- **Hwang KY, Schwartz BS, Lee BK, Strickland PT, Todd AC, Bressler JP.** Associations of lead exposure and dose measures with erythrocyte protein kinase C activity in 212 current Korean lead workers. *Toxicol. Sci*. 2001; 62: 280–288.

I

- **Ibrahim W. Hasania , Mohamed A. El-Desoukya , Nevin E. Sharafb , Alia A. Abdel Shakourc , Yosri A. Fahima,e, Khairy A.** Ibrahimd and Mohamed Elhamsharyb. Lead and cadmium induce chromosomal aberrations and DNA damage among foundry workers. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2016, 8(2):652-661.

- **Ibrahim NM , Eweis EA, El-Beltagy HB, Abdel Mobdy YE**.(2012). Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat. Asian Pasific J Trop Biomed 2(1): 41-46.
- **Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques** (**INERIS**). Plomb et ses dérivés. 2003, 66 pages.
- **Ito Y, Niiya Y, Otani M, Sarai S, Shima S** (1987) Effect of food intake on blood lead concentration in workers occupationally exposed to lead. Toxicol Lett 37 (2) : 105-114.
- **Ito, Y., Ohnishi, S., Fujie, K.**1989. Chromosome aberrations induced by aflatoxin B1 in rat bone marrow cells″ in vivo″ and their suppression by green tea. *Mutation Research* 222:253-261.

j

- **Jassem HM, Ismaiel HK, Jasem AY**(2008). Effect of aqueous extract of green tea on sexual efficiency in adult male rats treated with alloxan. Iraqi J. of vet. sci; 22:75-82.
- **Johansson L, Wide M.** Long-term exposure of the male mouse to lead: Effects on fertility. Environ Res. 1986;41:481–7. [PubMed]
- **J Palus, K Rydzynski, E Dziubaltowska, A.T Natarajan, R Nilsson**. 2003. Genotoxic effects of occupational exposure to lead and cadmium. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis Volume 540, Issue 1, 9 September 2003, Pages 19–28.
- **Jung, H.A., Jung, M.J., Kim, J.Y., Chung, H.Y., Choi, J.S.**, 2003. Inhibitory activity of flavonoids from Prunus davidiana and other flavonoids on total ROS and hydroxyl radical generation. Arch. Pharm. Res. 26, 809–815.

K

- **Karagôzler A., Erdag C.S., Çalmaz Emek Y.** (2008). Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*. *Food Chemistry*, 111 :400-407.
- **Khalaf, A.A., Moselhy, W.A. et Abdel-Hamed, M.I.,** The protective effect of green tea extract on lead induced oxidative and DNA damage on rat brain. NeuroToxicology, 2012; 33,pp.280–89.
- **Kawauchi S, Furuya T, Ikemoto K, Nakao M, Yamamoto S, Oka M**. DNA copy number aberrations associated with aneuploidy and chromosomal instability in breast cancers. Oncol Rep 2010; 24:875-883.

- **Kahloula, K.,** M. Slimani et Aoues A. Behavioural and Neurochemical Studies of Perinatal Lead Exposed in Rat Wistar. European Journal of Scientific Research.2009, 4 : 603-614 ISSN 1450-216X.
- **Kang JK, Sul d, Kang JK, Nam SY, Kim HJ, Lee E**. effects of lead exposure on the expression of phospholipid hydroperoxidase glutathione peroxide mrna in the rat brain. toxicol sci 2004; 82: 228-236.
- **Kasprazak KS, Bal W, Karaczyn AA** .The role of chromatin damage in nickel induced carcinogenesis. A review of recent developments. J. Environ. Monitor. 5. 2003; pp. 183–187.
- **Katsiya, G.V., Todua, T.N., Gorlushkin,bV.M., Chirkov, A.M.** 1989. Effect of immobilization stress on pituitary gonadotrophic function in male Papio hamadryas.Goncharov BiologyMeditsiny, 107(2): 231-234.
- **Khaled Hamden, Serge Carreau, Feriel Ellouz, Hatem Masmoudi ,A. El Feki**. Improvement effect of green tea on hepatic dysfunction, lipid peroxidation and antioxidant defence depletion induced by cadmium. African Journal of Biotechnology. 1 September 2009; Vol. 8 (17), pp. 4233-4238,.
- **Kalaf ová A, Kováčik J, Capcarová M, Kolesárová A, Massányi P, Lukáč N, Stawarz R, Formicki G, Laciak T**. Accumulation of zinc, nickel, lead and cadmium in some organs of rabbits after dietary nickel and zinc inclusion, Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 2012; vol. 47, , no. 9, pp. 1234-1238.
- **Karadeniz Ali, Mustafa Cemek, Nejdet Simsek.** The effects of Panax ginseng and Spirulina platensis on hepatotoxicity induced by cadmium in rat. Ecotoxicology and Environmental Safety.January 2009 ; Volume 72, Issue 1, , Pages 231-235.
- **Kharoubi Omar**. Effet prophylactique de l'extrait aqueux d'Absinthium Artemisia L sur le pouvoir pro-oxydant du plomb chez le rat Wistar en croissance . Thèse de Doctorat (2009), Université d'Oran (Algérie).
- **Kharoubi O , Slimani M, Kroub D, Seddik L, Aoues A,** (2008). Role of Wornmwood (ARTEMISIA ABSINTHIUM) Extract on oxidative stress in ameliorating lead induced hematotoxicity.AfricJ Trad CAM.53 :(2)63 -270.

- **Kahloula, K.,** Slimani M., Houari D., Rachidi S. and Boumediene D. Neuro beneficial effects of Pimpinella anisum against lead exposure. International journal of green pharmacy. 2013, 7:18-24.
- **Kalafová A, Kováčik J, Capcarová M, Kolesárová A, Massányi P, Lukáč N, Stawarz R, Formicki G, Laciak T**. Accumulation of zinc, nickel, lead and cadmium in some organs of rabbits after dietary nickel and zinc inclusion, Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 2012; vol. 47, , no. 9, pp. 1234-1238.
- **Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugbuaja** VO (2004). Identification of active principles of M. balsamina (Balsam Apple) leaf extract. J. Med. Sci. 4(3):179-182.
- **Klaassen CD.** Casarett and Doull's toxicology – The basic science of poisons. 5^{e} éditon, New York (N.Y.) : Pergamon Press, Inc. 2008.
- **Karadeniz Ali, Mustafa Cemek, Nejdet Simsek.** The effects of Panax ginseng and Spirulina platensis on hepatotoxicity induced by cadmium in rat. Ecotoxicology and Environmental Safety.January 2009 ; Volume 72, Issue 1, , Pages 231-235.

- **Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugbuaja** VO (2004). Identification of active principles of M. balsamina (Balsam Apple) leaf extract. J. Med. Sci. 4(3):179-182.
- **Klaassen CD.** Casarett and Doull's toxicology – The basic science of poisons. 5^{e} éditon, New York (N.Y.) : Pergamon Press, Inc. 2008.
- **Karadeniz Ali, Mustafa Cemek, Nejdet Simsek.** The effects of Panax ginseng and Spirulina platensis on hepatotoxicity induced by cadmium in rat. Ecotoxicology and Environmental Safety.January 2009 ; Volume 72, Issue 1, , Pages 231-235.

- **Khan N, Mukhtar H.** Cancer and metastasis: prevention and treatment by green tea. Cancer Metastasis Rev. 2010 Sep; 29(3):435-45.
- **Keebler C, et Reagen J.** A Manuel for Cytotechnology, American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago (IL).1983.
- **Kerr, J.B. & Sharpe, R.W**. (1986) Effects and interactions of LH and LHRH agonist on testicular morphology and function in hypophysectomized rats. J. Reprod. Fert. 76, 175-192.
- **Kehoe RA.** Studies of lead administration and elimination in adult volunteers under natural and experimentally induced conditions over extended periods of time. Food Chem Toxicol.1987; 25 (6): 421-493.

- **Kirchgatterer A, Rammer M, Knoflach P.** Weight loss, abdominal pain and anemia after a holiday abroad – Case report of lead poisoning. Dtsch Med Wochenschr 2005;130:2253‑6.
- **Kim, J.-A.,** 2008. Mechanisms underlying beneficial health effects of tea catechins to improve insulin resistance and endothelial dysfunction. Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets 8, 82–88.
- **Kim, H.S., Quon, M.J., Kim, J.A.,** 2014. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate. Redox Biol. 2, 187–195.
- **Kim, J.E., Shin, M.H., Chung, J.H.,** 2013. Epigallocatechin-3-gallate prevents heat shock-induced MMP-1 expression by inhibiting AP-1 activity in human dermal fibroblasts. Arch. Dermatol. Res. 305, 595– 602.
- **NKHILI , E.,** *Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant*. Thèse de Doctorat. MARRAKECH: UNIVERSITÉ CADI AYYAD 2009. pp.7-8.
- **Kopp SJ, Barron JT, Tow JP.** 1988. Cardiovascular action of lead and relationship to hypertension: a review. Environ Health Perspect; 78: 91-99.
- **Koksal, I.T., Usta, M., Orhan, I., Abbasoglu, S. et Kadioglu, A.,** Potential role of reactive oxygen species on testicular pathology associated with infertility. *Asian J. Androl*, 2003; 5, pp.95-99.
- **Ko YJ, et al.** (2014) In vitro assay using engineered yeast vacuoles for neuronal SNARE-mediated membrane fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A*111(21):7677-82
- **Kurttio P, Komulainen H, Leino A, Salonen L, Auvinen A, Saha H**. Bone as a possible target of chemical toxicity of natural lead in drinking water. Environ Health Perspect. 2005; 113: 68-72.
- **Kuladip J, Subarna J, Prabht KS.** Effects of chronic exposure to sodium arsenite on hypothalamo-pituitary-testicular activities in adult rats: possible an estrogenic mode of action. Reproductive Biology and Endocrinology. 2006; 4(9): 1-13.

L

- **Laughlin NK, Luck ML, Lasky RE.** Postnatal lead effects on the development of visual spatial acuity in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Dev. Psychobiol.* 2008; 50(6) : 608–614.

- **IARC.** Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. Some metals and metallic compounds. *Lyon, Centre international de recherche sur le cancer.*1980 ; 23 : 325-415.
- **Laguerre, M., Lacomte, J., Villeneuve, P.,** 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. Prog. Lipid Res. 46, 244–282.
- **Lackner, J.E., Agarwal, A., Mahfouz, R., Du Plessis, S.S., Schatzl, G.,** 2010. The association between leukocytes and sperm quality is concentration dependent. Reprod. Biol. Endocrinol. 8, 12.
- **Landsdown R,** Yule W, Urbanowicz MA, Hunter J. 1986. The relationship between bloodlead concentrations, intelligence, attainment and behavior in a school population : the second London study. Int Arch Occup Environ Health. 1986, 57: 225-235.
- **Lamber JD, Yang CS**: Mechanisms of cancer prevention by tea constituent. J Nutr 133:3262-3267, 2003.
- **Le K., Chiu F. and Ng K.** (2007) Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *FoodChemistry*, **105**, 353-363. Lefevre
- **Lestaevel P, Houpert P, Bussy C, Dhieux B, Gourmelon P, Paquet F**. The brain is a target organ after acute exposure to depleted lead. Toxicology. 2005a; 212: 219-226.
- **Leyral, G et Vierling, E.** Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire. 4 éditions, édition : Doin (France). 2007, 287 pages.
- **Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y.** (2003) Cocao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*., **51** : 7292-7295.
- **Lee IP, Kim YH, Kang MH, Roberts C, Shim JS, Roh JK**. Chemopreventive effect of green tea (Camellia sinensis) against cigarette smoke-induced mutations (SCE) in humans. J Cell Biochem Suppl 1997;27:68–75.
- **Lee TC, Cheng IC, Shue JJ, Wang TC.** Cytotoxicity of arsenic trioxide is enhancedby (−)-epigallocatechin-3-gallate via suppression of ferritin in cancer cells. Toxicol Appl Pharmacol 2011; 250:69–77.
- **Lissauer, T et Clayden , G .** Pédiatrie : manuel illustré. Édition : De Boeck. 1998, 325 pages.
- **Li, M.J., Yin, Y.C., Wang, J., Jiang, Y.F**., 2014a. Green tea compounds in breast cancer prevention and treatment. World J. Clin. Oncol. 5,520–528.

- **Li, Y., Zhang, C., Gao, Y., Zhang, Y., Sui, L., Zhang, X., Zhang, Y**., 2014b. Effect of epigallocatechin-3-gallate on the in vitro developmental potential of porcine oocytes and embryos obtained parthenogenetically and by somatic cell nuclear transfer. Ital. J. Anim. Sci. 13.
- **Liu D, Li T, Jin X, Yang X, Islam E, Mahmood Q (**2008) Lead induced changes in the growth and antioxidant metabolism of the lead accumulating and non-accumulating ecotypes of Sedum alfredii. J Integr Plant Biol 50(2):129–140
- **Lin W., Yuan L., Cao X., Tan W. and Feng Y. (2008)** A coumarin-based chromogenic sensor for transition-metal ions showing ion-dependent bathochromic shift. European Journal of Organic Chemistry, 29, 4981-4987.
- **Lin, S.D., Liu, E.H. and Mau, J.L.** (2008) Effect of Different Brewing Methods on Antioxidant Properties of Steaming Green Tea. *LWT—Food Science and Technology*, **41**, 1616-1623.
- **Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ.** Protein measurement with the folin phenol reagent.J.Biol.Chem. 1951; 193:265-75.
- **Loréal O, Troadec MB, Camberlein E, Fatih N, Ropert M, Brissot P**. Métabolisme du fer .La revue du Praticien ,2006 ; 56 :2111-2117
- **Lim SY, Doherty J, Salem N, Jr** .Lead exposure and (*n* - 3) fatty acid deficiency during rat neonatal development alter liver, plasma, and brain polyunsaturated fatty acid composition. J Nutr. 2005; 135:1027–33. [PubMed].
- **Lorencz R, Nehéz M, Dési I**. Investigations on the mutagenic effects of cadmium and lead on the chromosomes of the bone marrow cells in subchronic experiments. Abstracts of the XXVIIth Meeting of the Hungarian Society of Hygiene (Blatonföldvár, Hungary, September 25–27).1996; p. 116.
- **Lodhi P, Tandan N, Singh N, Kumar D, Kumar M.** *Camellia sinensis* (L.) Kuntze Extract Ameliorates Chronic Ethanol-Induced Hepatotoxicity in Albino Rats. Evid Based Complement Alternat Med 2014;ID:787153.
- **Ly C, Yockell-Lelièvre J, Ferraro ZM, Arnason JT, Ferrier J, Gruslin A** (2014). The effects of dietary polyphenols on reproductive health and early development. Human reproduction update; dmu058.

M

- **Mabrouk A, Bel Haj Salah I, Chaib W, Ben Cheikh H.** (2016). Pretective effect of thymoquinone against lead-induced hepatic toxicity in rats.Environemental Science and Pollution Research.23(12): 12206:12215.
- **Mahaffey KR, Gartside PS, Glueck CJ.** Blood lead levels and dietary calcium intake in 1- to 11-year-old children: the Second National Health and Nutrition Examination Survey, 1976 to 1980. *Pediatrics.* 1986; 78: 257–262.
- **Mandava VRAO, Sunita L, Seema R, Sharma.**Protective role of vitamin E on nickel and/or chromium induced oxidative stress in the mouse ovary.Food and chemical Toxicology. **2009;** 47:1368-1371.
- **Manomita Patra, NiladriBhowmik, BulbulBandopadhyay, ArchanaSharma**. 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environmental and Experimental Botany Volume 52, Issue 3, December 2004, Pages 199-223
- **Martins MJ, Negrao MR, Hipolito-Resis C**. Alkaline phosphatase from rat liver and kidney are differentially modulated. Clin Biochem. 2001; 34: 463-468.
- **Mandel, S.A., Amit, T., Kalfon, L., Reznichenko, L., Weinreb, O., Youdim, M.B.,** 2008. Cell signaling pathways and iron chelation in the neurorestorative activity of green tea polyphenols: special reference to epigallocatechin gallate (EGCG). J. Alzheimers Dis. 15, 211–222.
- **Massanyi, P.; Lukac, N.; Slivkova, J.; Kovacik, J.; Makarevich, A.V.; Chrenek, P.; Toman, R.; Forgacs, Z.; Somosy, Z.; Stawarz, R. and Formicki, G**. (2007): "Mercury-induced alterations in rat kidneys and testes in vivo". J. Environ. Sci. Health. 42(7):865-870. | Mc Murry, S. T.; Lochmiller, R. L.; Chandra, S.A. and Qualls, C. W. (1995): |
- **Maha A. Fahmy**[1] ,Kawthar A. E. Diab[1]*, Nagwa H. Hassan[2], Ayman A. Farghaly[1] Comunicata Scientiae 5(3): 213-221, 2014 e-ISSN: 2177-5133 www.ufpi.br/comunicata **Modulatory Effect of Green Tea against Genotoxicity Induced by Hydrocortisonein Mice**
- **Morris C.J., Earl J.R., Trenam C.W. and Blake D.R.** (1995) Reactive oxygen species and iron-adangerous partnership in inflammation. *The international journal of biochemistry and cell biology*, **27**, 109-122.
- **Malmstrom, B.,** Andreasson, L., and Reinhammar, B. *The Enzymes, 3rd Ed. Vol. 12*,P. Boyer, Academic Press, NY, 533, 1975.

- **Mandel S, Youdim MB.** Catechin polyphenols: neurodegeneration and neroprotection in neurodegenerative disease.Free Radic Biol Med, 37 .2004; pp. 304 -317.
- **Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., & Jimenez, L.** (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. American Journal of Clinical Nutrition, 79, 727–747.
- **Mallem, L., Boulakoud, M. S., Keck, G., & Khalili, K.** (2007). The effect of Maneb on implantation, fecundity rate and the thyroid activity in the rabbit. African Journal of Biotechnology , 6(18), 2114-2118.
- **Meeker JD, Rossano MG, Protas B, Diamond MP, Puscheck E, Daly D, Paneth N,** Wirth JJ. Cadmium, lead, and other metals in relation to semen quality: human evidence for Molybdenum as a male reproductive toxicant. Envron Health Persp 2008; 116:1473-1479.
- **Mekkiou R, Touahar H, Dijoux-Franca MG, Mariotte AM, Benayache S, Benayache** F(2005) A new isoflavone from Genista saharae (Fabaceae), Biochem Syst Ecol 33: 635-638.
- **Mekkiou, R.,** Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre Genista (Fabaceae) : G. saharae, G. ferox. Thèse de Doctorat. Constantine : Université Mentouri 2005. pp.1-2.
- **Meeker JD, Godfrey-Bailey L, Hauser R.** Relationships between serum hormone levels and semen quality among men from an infertility clinic. J. Androl, 2007; 28: 397- 406.
- **Mehran Mesgari Abbasi, Narjeskhaton Dadkhah,,* Mahnaz Shahnazi, and Neda Parvin 2016** Protective Effects of *Melissa officinalis* (Lemon Balm) on Sperm Parameters and Spermatogenesis Quality in Rats Exposed to Lead . Iran Red Crescent Med J. ;18(12):e31798.
- **Mehanna EE, Abdel Raheim MA, Mekib, Khalid MF**. Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats. Experimental and Toxicologic Pathology. 2012.
- **Morel I, Lescoat G, Cogrel P, Sergent O, Pasdeloup N, Brissot P, Cillard P, Cillard J** (1993) Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. Biochem Pharmacol; 45: 13–9.
- **McKay DL, Blumberg JB.** The role of tea in human health: an update. J Am CollNutr. 2002; **21**, 1-13.
- **Moussa SA, Bashandy SA**. 2008. Biophysical and biuochemical changes in the blood of rats exposed to lead toxicity. Romanian J Biophys, 18 (2): 123-133.

- **Miskimins WK, Ahn HJ, Kim JY, Ryu S, Jung Y-S.** Synergistic Anti-Cancer Effect of Phenformin and Oxamate. PLoS ONE. 2014; 9(1): e85576. Doi: 10.1371.
- **Murase, T., A. Nagasawa, J. Suzuki, T. Hase and I. Tokimitsu**,2002. Beneficial effects of tea catechins on diet-induced obesity: stimulation of lipid catabolism in the liver. Int. J.Obes.Relat.Metab.Disord., 26: 1459–1464.
- **Mossion, A**., Étude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques : Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau. Thèse de Doctorat. Toulouse: l'Université de Toulouse 2007. pp.1-10.
- **Muto, S., Fujita, K.I., Yamazaki, Y, KamatakiT .** 2001. Inhibition by green tea catechins of metabolic activation of procarcinogens by human cytochrome P450. *Mutation Research* 479: 197– 206.
- **Moore MR, Meredith PA, Watson WS, Sumner DJ, Taylor MK,Goldberg A.** The percutaneous absorption of lead-203 in humans from cosmetic preparations containing lead acetate, as assessed by whole-body counting and other techniques. *Food Cosme toxicol*. 1980; 18(4): 399-405.
- **Mushak P**. New directions in the toxicokinetics of human lead exposure. Neurotoxicology.1993; 14 (2_3): 29-42.
- **Miller AC, Mog S, Mckinney L, Luo L, Allen J, Xu J, Page N.** Neoplastic transformation of human osteoblast cells to the tumorigenic phenotype by heavy metaltungsten alloy particles : induction of genotoxic effects. Carcinogenesis. 2001a; 22: 115-125.
- **Miller PG, Pass NP.** Manual of infertility and artificial insemination in cattle. Biolliere Tindall and Cox, London, U.K **.**1952; p. 29 - 35.
- **Miquel, G.** Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Édition : office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (France), 2001.
- **Murthy RC, Gupta SK, Saxena DK.** Nuclear alterations during acrosomal cap formation in spermatids of lead-treated rats. Reprod Toxicol. 1995;9:483–9. [PubMed]
- **Mitsuhashi, W., Fukuda, H., Nicho, K., & Murakami, R.** 2004. Male-killing *Wolbachia* in the butterfly *Hypolimnas bolina*. Entomologia Experimentalis et Applicata 112: 57- 64.

- **Misra M, Rodriquez RE, Kasprzak KS**.Nickel induced lipid peroxidation in the rat: correlation with nickel effect on antioxidant defense systems. In Toxicology. 1990; vol. 64, 1990, pp. 1–17.

N

- **Namita, P., Mukesh, R. et Vijay , K.J.,** Camellia Sinensis (Green Tea): A Review. *Global Journal of Pharmacology* , 2012; 6(2), pp.52-59.
- **Namita, P., Mukesh, R. et Vijay , K.J.,** Camellia Sinensis (Green Tea): A Review. *Global Journal of Pharmacology* , 2012; 6(2), pp.52-59.
- **Navas-Acien A, Guallar E, Silbergeld EK, Rothenberg S.** Lead exposure and cardiovascular disease: a systematic review. *Environ. Health Perspect*.2007; 115: 472–482.
- **Newsome BJ, Petriello MC, Han SG, Murphy MO, Eske KE, Sunkara M, et al.** Green tea diet decreases PCB 126‐induced oxidative stress in mice by up‐regulating antioxidant enzymes. J Nutr Biochem 2014;25:126‐35.

- **Needleman H** .Lead poisoning. Annu. Rev. Med. 2004. 55:209–22. Doi : 10.1146/annurev.med.55.091902.103653
- **Neelam Farooq, Ahad Noor Khan Yusufi, Riaz Mahmood**. Effect of fasting on enzymes of carbohydrate metabolism and brush border membrane in rat intestine. Volume 24, Issue 6, June 2004, Pages 407–416.
- **Nelson DL, Cox MM**. In: Lehningers Principles of Biochemistry carbohydrate biosynthesis. Macmillan Worth Publishers New York; 2000. p. 724–27
- **Nehru, B., Kanwar, S.S.** N-acetylcysteine exposure on lead-induced lipid peroxidative damage and oxidative defense system in brain regions of rats. Biol. Trace Elem. Res. 2004,101: 257–264.

- **Nehéz M, Lorencz R, Desi I.** Simultaneous action of cypermethrin and two environmental pollutant metals, cadmium and lead, on bone marrow cell chromosomes of rats in subchronic administration. *Ecotoxicol Environ Saf* .2000;45: 55–60.

- **Nilsson U, Attewell R, Christoffersson JO, Schutz A, Ahlgren L, Skerfving S, Mattsson S**. Kinetics of lead in bone and blood after end of occupational exposure. Pharmacol Toxicol, 1991; 68 (6): 477-484.

- **NKHILI , E.,** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat. MARRAKECH: université cadi ayyad 2009. pp.7-8.
- **Nriagu, J.O.,** Blankson, M.L., Ocran, K. Childhood lead poisoning in Africa: a growing public health problem. Sci. Total Environ. 1996, 181 : 93–100.
- **Nudell, D.M., M.M. Monoski and L.I. Lipshultz,** 2002. Common medications and drugs: how they affect male fertility. Urol.Clin. N. Am., 29: 965–973.

O

- **Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K.** Assay for lipid peroxidases in animal tissues by thiobarbituric acid reaction .Anal Biochem.1978; 85:351-8.
- **Oguni, I., K. Nasu, J. Oguni, S. Kanaya, H. Tachikawa, M. Fujino, Y. Oishi, Y. Ohta, M. Usami and T. Masuki** (1981) On the regional difference in the mortality of cancer for cities, towns and villages in Shizuoka prefecture (1972- 1978), Annu. Rep. Shizuoka Women's College, 29, 49-93.
- **Ogura, R., N. Ikeda, K. Yuki, O. Morita, K. Saigo, C. Blackstock and N. Nishiy**ama, 2008. Genotoxicity studies on green tea catechin. Food Chem. Toxicol., 46: 2190–2200.
- **Ong C, Net lee WR**. Distribution of lead-203 in human peripheral blood in vitro. Br J Ind Med. 1980; 37 (1): 78-84.
- **Oliva, J., Bardag-Gorce, F., Tillman, B., French, S.W.,** 2011. Protective effect of quercetin, EGCG, catechin and betaine against oxidative stress induced by ethanol in vitro. Exp. Mol. Pathol. 90, 295–299.
- **Ozturk, M.; Ozturk, F.A.; Duru, M.E. and Topcu, G.** (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (Rheum ribes): An edible medicinal plant. Food Chem., 103: 623-630.
- **Orloff KG, Mistry K, Charp P, Metcalf S, Marino R, Shelly T, Melaro E, Donohoe AM, Jones RL.** Human exposure to lead in groundwater. Environ Res. 2004; 94: 319-326.
- **Osman K, Pawlas K, Schutz A, Gazdzi M, Sokal JA, Vahter M.** Lead exposure and hearing effects in children in Katowice, Poland. *Environ. Res.* 1999 ; 80: 1–8. and teratogenicity of lead. *Mutation Research.* 1980; 76: 115-141.
- **Ostrowska J, Luczaj W, Kasacka I, Rozanski A , Skrzydlewska E.** Green tea protects against ethanol induced lipid peroxidation in rat organs .Alcohol, 32 ,2004; pp. 25–32.

- **Ouldali O , Aoues A, Meddah B ,Kharoubi O.** (2013). The ameliorative effcct of carrot pectin against lead acetate induced renal and hepatic toxicity in rats: biochemical and histopathological study.World journal of pharmaceutical research. 2 (3):500-510.
- **Oluranti Olufemi Idowu.** Green tea extract and reproduction. (2017), A review E3 Journal of Medical Research. Vol.6(1). Pp.001-005, ISSN 2276-9900. © E3 Journals 2017 DOI: http://dx.doi.org/10.18685/EJMR (6)1_EJMR-17-011. Available online @ http://www.e3journals.org.

P

- **Pant N, Upadhyay G, Pandey S, Mathur N, Saxena DK, Srivastava SP**. Lead and cadmium concentration in the seminal plasma of men in the general population: correlation with sperm quality. Reprod Toxicol. 2003; 17:447-450.
- **Pandey S, Parvez S, Sayeed I, Haque R, Bin- Hafeez B, Raisuddin S**. Biomarkers of oxidative stress: a Comparative study of river Yamuna Fish Wallago attu (BI. & Schn.). Sci. Total Environ. 2003; 309: 105-115.
- **Parejo, I., Codina, C., Petrakis, C., & Kefalas, P. (2000).** Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminal chemiluminescence and DPPH_ free radical assay. Journal of Pharmacological & Toxicological Methods, 44, 507–512.
- **Patra RC, Rautray AK, Swarup D**. Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration, Veterinary Medicine International, 2011; 11: 1-9.
- **Pan, T., Jankovic, J., Le, W.,** 2003. Potential therapeutic properties of green tea polyphenols in Parkinson's disease. Drugs Aging 20, 711– 721.
- **Pasqualotto, F.F., Sharma, R.K., Nelson, D.R., Thomas, A.J., Agarwal, A**., 2000. Relationship between oxidative stress, semen characteristics, and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. Fertil. Steril. 73, 459–464.
- **Parenteau Z**. Diminution de la fertilité humaine. Facteurs biologiques. La fécondation au Québec ; éléments de comparaison, pistes et perspectives. 2007 ; p 1-8.
- **Paul DH** (2008). "Effect of green tea polyphenols on Cadmium toxicity in rats" Dominican. Edu. J.; 6(2):1-10.
- **Park, J.-H., Bae, J.-H., Im, S.-S., Song, D.-K.,** 2014. Green tea and type 2 diabetes. Integr. Med. Res. 3, 4–10.

- **Paquet F, Houpert P, Blanchardon E, Delissen O, Maubert C, Dhieux B, Moreels A, Frelon S, Voisin P, Gourmelon P.** An accumulation and distribution of lead in rats after chronic exposure by ingestion. Health Phys. 2005, in press.
- **Philippon JF.** Evaluation de l'exposition des enfants au plomb d'origine industrielle. Le cas de l'usine Octel de Paimboeuf. Mémoire de l'Ecole Nationale de la Santé Publique ENSP. Rennes.; 2000 ; pp 5-23.
- **Piechalak A, Malecka A, Barałkiewicz D, Tomaszewska B.** lead uptake, toxicity and accumulation in Phaseolus vulgaris.Biologia Plantarum. 2008; 52 (3): 565-568.
- **Piao F, Cheng F, Chen H, Li G, Sun X, Liu S, Yamauchi T, Yokoyama K.** Effects of Zinc Co administration on Lead Toxicities in Rats**.** Industrial Health. 2007; 45: 546–551.
- **Platz C.C., Seager S.W.** (1978). Semen collection by electro - ejaculation in the domestic cat. Journal of American Veterinary Medicine Association 173, 1353-1355.
- **Potenza , M.A., Marasciulo , F.L., Tarquinio, M., Tiravanti , E., Colantuono , G., Federici , A., Kim , J.A., Quon , M.J. et Montagnani , M.,** EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007; 292, pp.1378–87.
- **Poisson C.** 2013.Role du stress oxidant au niveau hépatique et renal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique.Université paris-sud11.Ecol doctorale: Inovation thérapeutique:du fundamental a l'appliqué.
- **Pirker, K.F., Baratto, M.C., Basosi, R., Goodman, B.A.,** 2012. Influence of pH on the speciation of copper (II) in reactions with the green tea polyphenols, epigallocatechin gallate and gallic acid. J. Inorg. Biochem. 112, 10–16.
- **Preston RJ, Dean BJ, Galloway AF, Sheldy MF.** Mammalian *in vivo* cytogenetic assay-analysis ofchromosomal aberration in bone marrow cells. Mutat Res 1987; 189:157-165. **Patrick L.** Altern Med Rev 2006; 11 :114–27.
- **Prasanthi R.P.,** Devi C.B., Basha D.C., Reddy N.S., Reddy G.R.Calcium and zinc supplementation protects lead (Pb)-induced perturbations in antioxidant enzymes and lipid peroxidation in developing mouse brain. Int. J. Dev. Neurosci. 2010,28 :161–167. 38. Padmavathi P, Reddy VD, Varadacharyulu N. Influence of chronic cigarette smoking on serum biochemical profile in male human volunteers. J Helth Sci 2009; 55:265-70.

- **Preston R J , Deen B J , Galloway , S , holden H , Mc fee A F and Shelby M (***1987*) : Mammalin in vivo- cytogenetic assay : Analysis of chromosome aberration in bone marrow cells. Mutat.Res., 21: 187-188.
- **Prior, R. L. and G. Cao**, Variability in dietary antioxidant related natural product supplements: The need for methods standardization. Journal of the American Nutraceutical Association, Vlo. 2, No. 2, 46 – 56, 1999.
- **Prieto P, Pineda M and Aguilar M.** Spectrophotometric quantitative of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. Anal. Biochem. 1999, 269:337-341.
- **Preston R J , Deen B J , Galloway , S , holden H , Mc fee A F and Shelby M** (*1987*) : Mammalin in vivo- cytogenetic assay : Analysis of chromosome aberration in bone marrow cells. Mutat.Res., 21: 187-188.

Q

- **Qureshi N, Sharma R (**2012). Lead toxicity and infertility in female swiss mice: A review. J. Chem. Biol. Phys. Sci; 2 (4): 1849-1861.
- **Qureshi N, Sharma R** (2012). Lead toxicity and infertility in female swiss mice: A review. J. Chem. Biol. Phys. Sci; 2 (4): 1849-1861.
- **Quan, P.T., Hang, T.V., Ha, N.H. and Giang, B.L.** (2007) Total Polyphenols, Total Catechins Content and DPPH Free Radical Scavenger Activity of Several Types of Vietnam Commercial Green Tea. *Science Technology Development*, **10**, 5-11.

R

- **Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K. and Kumar, M. N. V. R.** 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. Journal of Controlled Release 113 (3): 189-207.
- **Ray RR.(2015)** Haemotoxic Effect of Lead : Review.Proc Zool Soc.
- **Rahmani, A.H., Al. Shabrmi, F.M., Allemailem, K.S., Aly, S.M., Khan, M.A**., 2015. Implications of green tea and its constituents in the prevention of cancer via the modulation of cell signalling pathway. Biomed Res. Int. 2015, 925640.
- **Rabinowitz MB, Eviton A, Bellinger D.** Relationships between serial lood lead levels and exfoliated tooth dentin lead levels: models of tooth lead kinetics. Cacif Tissue Int. 1993. 53; (5): 338-341.

- **Rafique M, Khan N, Perveen K, et al.** (2009) The effects of lead and zinc on the quality of semen of albino rats. Journal of the College of Physicians and Surgery Pakistan 19: 510–513.
- **Reddyvari**, H., Govatati, S., Matha, S.K., Vahini Korla, S., Malempati, S., Pasupuleti, S.R., Bhanoori, M., Nallanchakravarthula, V., Therapeutic Effect of Green Tea Extract on Alcohol Induced Hepatic Mitochondrial DNA Damage in Albino Wistar Rats, Journal of Advanced Research (2017), doi: http://dx.doi.org/ 10.1016/j.jare.2017.02.002.
- **Renberg I,** Brannvall M.L, Bindler R., Emteryd O. Atmospheric. Lead pollution history during four millennia in Sweden (2000 BC to 2000 AD). Ambio. 2000 ; 29:150 –156.
- **Reygaert, W.C.,** 2014. The antimicrobial possibilities of green tea. Front. Microbiol. 5, 434.

Renberg I, Brannvall M.L, Bindler R., Emteryd O. Atmospheric. Lead pollution history during four millennia in Sweden (2000 BC to 2000 AD). Ambio. 2000 ; 29:150 –156.

- **Reygaert, W.C.,** 2014. The antimicrobial possibilities of green tea. Front. Microbiol. 5, 434.

- **Reddyvari, H., Govatati, S., Matha, S.K., Vahini Korla, S., Malempati, S., Pasupuleti, S.R., Bhanoori, M., Nallanchakravarthula, V**., Therapeutic Effect of Green Tea Extract on Alcohol Induced Hepatic Mitochondrial DNA Damage in Albino Wistar Rats, Journal of Advanced Research (2017), doi: http://dx.doi.org/ 10.1016/j.jare.2017.02.002.
- **Ris MD, Dietrich KN, Succop PA, Berger OG, Bornschein RL**. Early exposure to lead and neuropsychological outcome in adolescence. *J. Int. Neuropsychol. Soc*. 2004; 10: 261–270.
- **Rice-Evans C.A., Miller N.J., Bolwell P.G., Bramley P.M., Pridham J.B. (1995)** The relative antioxidant activities of plant derived polyphenolic flavonoids. Free Radical Research 22, 375 383.
- **Rodamilans M, Osaba MJ, To F, Rivera FF, Marques JM, Perez P, Corbella J**. Lead toxicity on endocrine testicular function in an occupationally exposed population. *Hum Toxicol*. 1988; **7** (2): 125-128.
- **Ronis, M.J., Badger, T.M., Shema, S.J., Roberson, P.K. et Shaikh, F.,** Reproductive toxicity and growth effects in rats exposed to lead at different periods during development. *toxicol appl pharmacol*, 1996; 136, pp.361-37.

- **Roychoudhury Shubhadeep, Ashok Agarwal, Gurpriya Virk, Chak-Lam Cho**, Potential role of green tea catechins in the management of oxidative stress-associated infertility, Reproductive BioMedicine Online (2017), doi: 10.1016/j.rbmo.2017.02.006.
- **Robinson TR**. Delta-aminolevulinic acid and lead in urine of lead antiknock orkers. Arch Environ Health. 1974; 28 (3): 133-138.
- **Rumpler,W., J. Seale, B. Clevidence, J.J udd, E. Wiley, S. Yamamoto, T. Komatsu, T. Sawaki, Y. Ishikura and K. Hosoda**, 2001. Oolong tea increases metabolic rate and fat oxidation in men. J.Nutr., 131 (11): 28488–
- **Russel, R.W** et Lattau, P.E. Behavioral measures of neurotoxicity. Édition: national academy Press. 1990.
- **Ruff HA, Markowitz ME, Bijur PE, Rosen JF**. Relationships among blood lea levels, iron deficiency, and cognitive development in two-year-old children, Environmental Health Perspectives, 1996; 104(2): 180- 185.

S

- **Shahidi, F.** (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. Nahrung, 44, 158–163.
- **Santé Canada.** Rapport provisoire sur l'état des connaissances scientifiques sur la santé humaine. 2011; p 1-93.
- **Sallmen M, Lindbohm ML, Anttila A, Taskinen H, Hemminki K.** Time to pregnancy among the wives of men occupationally exposed to lead. *Epidemiology*. 2000; 11: 141–147.
- **Saka S**, Bahi A Aouacheri W.(2011). l'effet du stress oxydant induit par l4ac2tate de plomb sur le syst2me du glutathion chez les rats.*Ann Toxicol Anl.23(3) :139-145.*
- **Sabbar M, (2013).** Conséquences de la toxicité du plomb sur l'activité des ganglions de la base et les rythmes circadiens chez le rat : approches électrophysiologique, neurochimique et anatomo-fonctionnelle. Thèse de doctorat discipline Biologie neurosciences.
- **Sala, O. E., Stuart Chapin , F., Armesto, J. J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E. & Al., E. 2000.** Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. *Science*, 287, 1770-1774.
- **Sallmen M.** Exposure to lead and male fertility. Int J Occup Med Environ Health, 2001, 14: 219-222.

- **Sanchez-Moreno C. (2002)** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Sci. Technol. Int, 8, 121-137.
- **Sanchez-Moreno C. (2002)** Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8(3) : 121-137.
- **Sato, K., Sueoka, K., Tanigaki, R., Tajima, H., Nakabayashi, A., Yoshimura, Y.,** Hosoi, Y., 2010. Green tea extracts attenuate doxorubicin-induced spermatogenic disorders in conjunction with higher telomerase activity in mice. J. Assist. Reprod. Genet. 27, 501–508.
- **Sara A. Khan, Shubha Priyamvada, Neelam Farooq, Sheeba Khan Md , Wasim Khan, Ahad NK. Yusufi** .effect of green tea extract on gentamicin-induced nephrotoxicity and oxidative damage in rat kidney. April 2009, Pharmacological Research Volume 59, Issue 4, Protective Pages 254–262.
- **Sasaki, Y.F., Yamada, H., Shimoi, K., Kator K., Kinae, N.** 1993. The clastogen-suppressing effects of green tea, Po-lei tea and Rooibos tea in CHO cells and mice.*Mutation Research* 286: 221–232.
- **Savage JR.** Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. J Med Genet 1976; 13:103-122.
- **Salah N, Miller NJ**, **Paganga G , Tijbug L, Bolwell GP, Rice-Evans C**.Polyphenolic flavonols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain–breaking antioxidant. Arch Biochem Biophys. 1995; 322:339-46.
- **Saleh RA, Agarwal A.** Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. Journal of Andrology. 2002; 23: 737-752.
- **Sadraei H, Ghannadi A, Malekshahi K.** Relaxant effect of essential oil of Melissa officinalis and citral on rat ileum contractions. *Fitoterapia.* 2003;**74**(5):445–52. [PubMed: 12837359].
- **Sánchez, E.P., Vargas, M.E. et Gutiérrez, J.R.,** 2013. Hepatotoxicity due to green tea consumption (Camellia Sinensis): A review. *Asociaciones Colombianas de Gastroenterología, Endoscopia digestiva, Coloproctología y Hepatología*, pp.43-49
- **Scherer R, Godoy H.** Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Food Chemistry. 2009; 112:654-658.

- **Schardein, J.L.,** 1993. Principles of teratogenesis applicable to drug and chemical exposure. In: Schardein, J.L. (Ed.), Chemically Induced Birth Defects, 2nd ed. Marcel Dekker, New York, pp. 1 – 63.
- **Schwartz MW, Woods SC, Porte DJR, Seeley RJ, Baskin DG.** Central nervous system control of food intake. Nature. 2000; 404**:** 661-671.
- **Schober SE, Mirel LB, Graubard BI, Brody DJ, Flegal KM.** Blood lead levels and death from all causes, cardiovascular disease, and cancer: results from the NHANES III Mortality Study. *Environ. Health Perspect.* 2006*;* 114: 1538–1541.
- **Schramm, L**., 2013. Going green: the role of the green tea component EGCG in chemoprevention. J. Carcinog. Mutagen. 4, 1000142.
- **Seed J, Chapin RE, Clegg ED, Dostal LA, Foote RH, Hurtt ME,** Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. ILSI Risk Science Institute Expert Working Group on Sperm Evaluation. Reprod Toxicol .1996; 10: 237–44.
- **Sévenet T., Tortora C**. 1994. Plantes, molécules et médicaments. Nathan, CNRS Editions Paris, 119 p.
- **Serdar, S. and Lök, A.** 2005. Seasonal variations of gonadal development of carpet shell clam (Tapes decussatus L. 1758) collected from Çakalburnu Lagoon. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 3-4: 389-397.
- **Seregin IV, Shpigun LK, Ivanov VB.** Distribution and toxic effects of Cadmium and Lead on maize roots. Russian Journal of Plant Physiology. 2004; 51 (4): 525-533.
- **Sebbah , L et al.,**Module 7 : santé et environnement , maladies transmissibles - édition : Estem , Paris (France). 2004, 372 pages.
- **Serdar Z[1], Aslan K, Dirican M, Sarandöl E, Yeşilbursa D, Serdar A.** Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. 2006. 39(8):794-803. Epub 2006 Apr 5.
- **Sha'bani N, Miraj S, Rafieian-kohpayei M, Namjoo AR** (2015). Survey of the detoxification effect of green tea extract on the reproductive system in rats exposed to lead acetate Adv. Biomed Res.; 4: 155
- **Sharangi, A.B.,** Medicinal and therapeutic potentialities of tea (Camellia sinensis L.) – A review. *Food Research International* , 2009; 42, pp.529–35.

- **Sharma DN, Battacharya L.** (2015). Enzymatic toxicity induced by lead acetate and its possible reversal by α tocopherol in testicular tissue of Swiss albino mice. / *International Journal of Biomedical Research* 6(11): 874-879.
- **Shan G, Tang T, Zhang X**. The protective effect of ascorbic acid and thiamine supplementation against damage caused by lead in the testes of mice. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci 2009;29:68‐ 72.
- **Shiota, S., Shimizu, M., Mizushima, T., Ito, H., Hatano, T., Yoshida, T., Tsuchiya, T.,** 1999. Marked reduction in the minimum inhibitory concentration (MIC) of. BETA.-lactams in methicillin-resistant staphylococcus aureus produced by epicatechin gallate, an ingredient of green tea (Camellia sinensis). Biol. Pharm. Bull. 22,1388–1390.
- **Shubhadeep Roychoudhury, Ashok Agarwal, Gurpriya Virk, Chak-Lam Cho**, Potential role of green tea catechins in the management of oxidative stress-associated infertility, Reproductive BioMedicine Online (2017), doi: 10.1016/j.rbmo.2017.02.006.
- **Sheteifa MAM, Morsy WA** (2014). Effect of green tea as dietary supplements (Camellia sinensis) on semen quality and testosterone.
- **Sinha, D., Bhattacharya, R.K., Siddiqi, M., Roy, M.** 2005. Amelioration of sodium arsenite-induced clastogenicity by tea extracts in Chinese hamster V79 cells. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 24:129–140.
- **Simon T JB**. Cellular interactions between lead and calcium. Br Med Bull. 1986a; 42: 431-434.
- **Simons TJ**. Active transport of lead by the calcium pump in human red cell ghosts. *J. Physiol.* 1988; 405 : 105–113.
- **Skrzydlewska E, Ostrowska J, Farbiszewski R, Michalak K.**Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. Phytomedicine .2002; 9, 232-8.
- **Smith DM, Mielke HW, Heneghan JB.** Subchronic lead feeding study in male rats. Arch Envion Contam Toxicol. 2008; [Epub ahead of print].
- **Smith FO**. Examining male dogs and cats for breeding soundness. Veterinary Medicine. 1989; 84 (6), 594-603.
- **Sohn OS[1], Surace A, Fiala ES, Richie JP Jr, Colosimo S, Zang E, Weisburger JH**. Effects of green and black tea on hepatic xenobiotic metabolizing systems in the male F344 rat. Xenobiotica. 1994 Feb;24(2):119-27.

- **Someya, S., Yoshiki, Y., Okubo, K.,** 2002. Antioxidant compounds from bananas (Musa Cavendish). Food Chem. 79, 351–354.
- **Sposito G, LJ Lund and AC Chang** (1982). "Trace Metal Chemistry in Arid-zone Field Soils Amended with Sewage Sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in Solid Phases." Soil Science Society American Journal 46(2): 260-264.
- **Spinaci, M., Volpe, S., De Ambrogi, M., Tamanini, C., Galeati, G.,** 2008. Effects of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on in vitro maturation and fertilization of porcine oocytes. Theriogenology 69, 877–885.
- **Stellman, M .A.** Encyclopédie de sécurité au travail. Volume III, édition : Organisation internationale de travail (Genève). 2000 ; 105 pages.
- **Stohs SJ, Bagchi D**. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. In Free Rad Biol Med., vol. 18, 1995, pp. 321 -336.
- **Suresh Kumar, K., Ganesan, K., Subba Rao, P.V.** (2008) Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - an edible seaweed. *Food Chemistry*. **107**, 289-295.
- **Su L., Yin J.J., Charles D., Zhou K., Moore J., Yu L.** (2007): Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. Food Chemistry, 100: 990–997
- **Sunderman FW. JR , Marzouk A , Hopfer SM, Zaharia O, Reid MC.** Increased lipid peroxidation in tissue of nickel chloride-treated rats. In Ann Clin Lab Sci., vol.15, 1985, pp. 229 -236.
- **Swaran JSF, Manisha P, Ashish M.** Beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication. Chemico-Biological Interactions. 2003; 145: 267-/280.

T

- **Taiwo AM, Ige SO, Babalola OO.** Assessments of Possible Gonadotoxic Effect of Lead on Experimental Male Rabbits. Global Veterinaria. 2010; 5 (5): 282-286.
- **Taheri, M., Giahi, M., Shahmohamadi, R., Ghafoori, H., Aghamaali, M.R. and Sariri, R.** (2011) Screening Antioxidant Activity of Extracts from Different Tea Samples. *Pharmacologyonline*, **3**, 442-448
- **Tanaka, R.** 2005. Protective effect of (–)-epigallocatechingallate and (+) catechin on nitrogen oxide-induced sister chromatid exchange. *Journal of Health Science* 51: 89–92.

- **Taulan M**. Etude des effets biologiques consécutifs à une accumulation chronique du plomb naturel chez les rongeurs. Doctorat de l'Université de Médecine de Montpellier, Montpellier 2004.
- **Tang L, Tang M, Xu L, Luo H, Huang T, Yu J, et al.** Modulation of aflatoxin biomarkers in human, blood and urine by green tea polyphenols intervention. Carcinogenesis 2008;29:411–7.
- **Tachi K, Nishimae S, Saito K.** Cytogenetic effects of lead acetate on rat bone marrowcells. *Arch Environ Health.* 1985; 40:144 -7.
- **Thuppil V, Tannir S** (2013). Treating lead toxicity: possibilities beyond synthetic chelation. JKIMSU; 2 (1): 4-31.
- **Tremellen, K.,** 2008. Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. Hum. Reprod. Update., 14: 243–258.
- **Triantaphyllou K., Blekas G., Boskou D.** (2001): Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. International Journal of Food Science and Nutrition, 52: 313–317
- **TREVISANATO S. : Tea and health. Nutr. Rev., 2000, 58 : 1-10.**
- **Thompson GN, Robertson EF, Fitzgerald S**. Lead mobilization during pregnancy. *Med J Austr*. 1985; 143**:** 131.
- **Traunfeld, J. H. & Clement, D. L. 2001.** Lead in Garden Soils. Home and Garden. *Maryland Cooperative Extention, University of Maryland*.

U

- **Upasani CD, Khera A, Balaraman R** (2001). Effect of lead with Vitamins E, C, or Spirulina on malondialdehyde: conjugated dienes and hydroperoxides in rats. Ind. J. Exp. Biol., 39: 70–74.
- **Undeger U., BaŸaran N., Canpinar H. and Kansu E.** Immune alterations in lead-exposed workers. Toxicology. 1996, 109, 2-3 : 167-172.

V

- **Vallee BL, Ulmer DD.** Biochemical effects of mercury, cadmium, and lead. Ann. *Rev. Biochem.* 1972; 41: 91–128.

- **Vaubourdolle M.** Toxicologie, sciences, mathématiques, physiques et chimiques. Édition : Wolters Kluwer. 2007 ,999 pages. California Environmental Protection Agency (1997) Public health goal for lead in drinking water, p17.
- **Vergote, D., Cren-Olive, C., Chopin, V., Toillon, R.-A., Rolando, C., Hondermarck, H., Le Bourhis, X.,** 2002. (−)-Epigallocatechin (EGC) of green tea induces apoptosis of human breast cancer cells but not of their normal counterparts. Breast Cancer Res. Treat. 76, 195–201.
- **Velayutham P, Babu A, Liu D.** Green tea catechins and cardiovascular health: an update. Curr Med Chem 2008;15:1840-50. Protective role of green tea on malathion-induced testicular oxidative damage in rat.
- **Villeda-Hernandez J, Barroso-Moguel R, Méndez-Armenta M, Nava-Ruîz C, Huerta-Romero R, Rîos C**. Enhanced brain regional lipid peroxidation in developing rats exposed to low level lead acetate. Brain Res Bull. 2001; 55: 247-51.
- **Vinoth S, Kanna R P, Gurusaravanan P, Jayabalan N**. Evolution of phytochemical and antimicrobial and GC-MS analysis of extracts of *Indigofera trita* L.F. SPP. *Subulata* (vahl ex poir) Int J Agri Res. 2011;6(4):358–367.
- **Yukiaki Kuroda & Yukihiko Hara**. Health Effects of tea and its catechins. Springer. 2004; 55-57.

W

- **Wang L**, **Xun P, Zhao Y, Wang X, Qian L, Chen F**. Effects of lead exposure on sperm concentrations and testes weight in male rats: a meta-regression analysis. *Toxicol Environ Healh A*. 2008; 71 (7): 454-63.
- **Wang Q, Luo W, Zheng W, Liu Y, Xu H, Zheng G, et al**. Iron supplement prevents lead-induced disruption of the blood-brain barrier during rat development. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007; 219 (1):33–41.
- **Wang, Z.-G., Yu, S.-D., Xu, Z.-R.,** 2007. Improvement in bovine embryo production in vitro by treatment with green tea polyphenols during in vitro maturation of oocytes. Anim. Reprod. Sci. 100, 22–31.
- **Wang, H., Provan, G., & Helliwell, K. (2001).** Tea flavonoids: Their functions, utilization and analysis. Trends in Food Science & Technology, 5, 152–160.
- **Wedeen RP**. Bone lead, hypertension, and lead nephropathy. Environ Health Perspect. 1988; 78: 57-60. VA Medical Center, East Orange, NJ 07019.

- **Who**. Depleted Lead: Sources, Exposure and Health Effects - Full Report. (WHO/SDE/PHE/01.1). World Health Organization. Department of Protection of the Human Environnment. Geneva. 2004.
- **Wiseman, S.A.** 1997.Antioxidants in tea.*Critical Reviews in Food Science and Nutrition*37: 705– 718.
- **Wittmers Le, Aufderheide AC, Wallgren L**. Lead in bone: IV. Distribution of lead in the human skeleton. Arch Environ Health. 1988; 43: 381 391.
- **Wittayarat, M., Ito, A., Kimura, T., Namula, Z., Luu, V.V., Do, L.T.K., Sato, Y., Taniguchi, M., Otoi, T.,** 2013. Effects of green tea polyphenol on the quality of canine semen after long-term storage at 5 C. Reprod. Biol. 13, 251–254.
- **Wolfram , S., Raederstorff , D., Preller , M., Wang , Y., Teixeira , S.R., Riegger , C. et Weber , P.,** Epigallocatechin gallate supplementation alleviates diabetes in rodents. *J Nutr*, 2006; 36, pp.2512–8.
- **Wright, C., S. Milne and H. Leeson**, 2014. Sperm DNA damage caused by oxidative stress: modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male infertility Reproductive Bio-Medicine Online., 28: 684–703.
- **Wu, S.J. and L.T. Ng.** (2008) Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (Momordica charantia Linn. var. abbreviata Ser.) in Taiwan. *LWT-Food Science Technology*, **41**, 323– 330.

Y

- **Yang, C.S.,** Lambert, J.D., Sang, S., 2009. Antioxidative and anticarcinogenic activities of tea polyphenols. Arch. Toxicol. 83, 11–21.
- **Yang, G.-Z., Wang, Z.-J., Bai, F., Qin, X.-J., Cao, J., Lv, J.-Y., Zhang, M.- S**., 2015. Epigallocatechin-3-gallate protects HUVECs from PM2. 5-induced oxidative stress injury by activating critical antioxidant pathways. Molecules 20, 6626–6639.
- **Yang CS, Chung JY, Yang G, Chhabra SK**, Lee MJ (2000). Tea and tea polyphenols in cancer prevention. J Nutr; 130: 472S–8S.
- **Yang RY, Tsou SCS, Lee TC, Hanson PM, Lai PY** (2005) Antioxidant Capacities and Daily Antioxidant Intake from Vegetables Consumed in Taiwan. Paper presented at the Symposium on Taiwan-America Agricultural Cooperative Projects, Taipei, Taiwan, 15th November 2005

- **Yildirim A., Mavi A., Kara AA.** Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry.2001; 9: 4083-4089.
- **Yildirim N-C, Benzer F, Danabas D.** Evaluation of environmental pollution at Munzur river of Tunceli applying oxidative stress biomarkers in Cappota trutta (Heckel, 1843). J. Anm. Plant Sci. 2011; 21(1): 66-71.
- **Yousif WH, Adbullah ST** (2010). Reproductive efficiency of rats whose mothers treated with lead acetate during lactation: role of vitamin E. Iraqi J. Vet. Sci; 24 (1): 27-34
- **Yoshiaki Ito ~, Sumie Ohnishi 2 and Kimiko Fujie 2** ElsevierMTR 01378**Chromosome aberrations induced by aflatoxin B 1 in rat bone marrow cells in vivo and their suppression by green tea** *Mutation Research,* 222 **(1989)** 253- 261 253
- **Yoshinaga J, Suzuki T. Morita M**. Sex-and age-related variation in element al concentrations of contemporary Japanese ribs. Sci Total Environ. 1989; 79 (3): 209- 221.

Z

- **Zawia NH, Sharan R, Brydie M, Oyama T, Crumpton T.** Sp1 as a target site for metalinduced perturbations of transcriptional regulation of developmental brain gene expression. *Dev. Brain Res.* 1998; 107: 291–298.
- **Zadkhosh N, Heidary ST, Ghafori KA, Mosavi L, Mehri N, Felegari H, Ranjbar A** (2016). Protective role of green tea on malathion-induced testicular oxidative damage in rats. Asian Pacific J. of Reproduction; 5(1): 42–45
- **Zanchi, M.M., Manfredini, V., Dos Santos Brum, D., Vargas, L.M., Spiazzi, C.C., Soares, M.B., Izaguirry, A.P., Santos, F.W.,** 2015. Green tea infusion improves cyclophosphamide-induced damage on male mice reproductive system. Toxicol. Rep. 2, 252–260.
- **Zbakh H, Abbassi AE**. Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: a review. J. Funct. Food.2012; 4: 450-458.
- **Zheng, W., & Wang, S. Y.** (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49, 5165–5170.
- **Zhao, X.,** Zhou, W., Jian-jun, L., Chen, C., Ping-chuan, Z., Lu, D., Jing-hong, C., Qun,C., Xiao-tian, Z., Zhi-lun, W. Protective effects of selenium on oxidativedamage and

oxidative stress related gene expression in rat liver under chronicpoisoning of arsenic. Food Chem. Toxicol. 2013, 58: 1-7.

- **Zheng, W., & Wang, S. Y.** (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49, 5165–5170.
- **Zimmer A.C.** Polluants chimiques : enfants en danger - édition : Atelier (France). 2008, 289 pages.

ANNEXES

■ Dosage du plomb dans le sang

Spectromètre d'absorption atomique SHIMADZU AA6200.

A> Principe et fonctionnement :

Le spectrophotomètre d'absorption atomique consiste à porter les éléments à doser à leur état atomique sur le trajet d'un rayonnement UV-visible st mesurer l'absorbance de la vapeur à une longueur d'onde spécifique.

B> Eléments constitutifs des spectromètres d'absorption atomique :

Tout instrument d'absorption atomique contient les mêmes éléments de base.

- Une source de lumière qui produit une radiation caractéristique de l'élément à doser à la longueur d'onde spécifique.
- Un système pour moduler le rayonnement provenant de la source.
- Un atomiseur dont le rôle est de produire un nuage d'atomes à l'état fondamental.
- Un monochromateur à réseau isolé ensuite la raie de résonnance à partir du rayonnement en général complexe qui lui parvient de la vapeur atomique.
- Un récepteur photométrique transforme le flux non absorbé par la vapeur atomique en un signal électrique traité afin d'afficher l'absorbance.

L'absorption atomique à flamme c'est généralement l'acétylène qui est utilisé comme combustible. Le gaz comburant est soit l'air oxygène (2800°C) soit le protoxyde d'azote N2O5 (3200°C).

Dans la flamme se produit l'évaporation du solvant (avec éventuellement combustion), la fusion puis l'évaporation des composés métalliques, et enfin une dissociation moléculaire libérant les atomes qui peuvent alors absorber.

- Plomb -

- ✓ Lampe : 6 Ma
- ✓ ʎ : 216,9
- ✓ Fente : 300µ
- ✓ Hauteur bruleur : 2
- ✓ Lampe H2 < 0,5
- ✓ C2H2 3-2,75

Solutions étalons :

Solution à 100ppm : pb : M=207,19 g/mol

- Pb(en (feuilles) : 1g/1000ml HNO3 19%.
- Nitrate de plomb pb (NO3)2 ; 33,20g HNO3à 10%

- Pour 1000 ppm pb= 1,5985/1000ml.
- Solution à 50ppm
- Solution à 1000 ppm :5ml
- HNO31% qsp à 1OO ml
- Sang total : 1 ml
- Eau distillée : 9 ml
- Laisser bien hémolyser
- Mesure : essai sur sang 1/10

Sang au 1/10	1	1	1	ml
Solution 0,5ppm	0	0,1	0,2	ml
HNO3 (1%)	1	0,9	0,8	ml
	1/2	+25	+50	µg/ml

NB : Lorsque les taux sont élevés, on fait une dilution au 1/40, 1/50, 1/500

- Injection : 3 µl
- Solution étalons pour plombémie :
- 50ppm ; 0,5ppm ; 1ppm

- **Batterie de coloration HEMALIN-EOSINE** (Hould, 1984)

Réactions	Produits	Temps (minutes)
Déparaffinage	Toluène I	10 minutes
	Toluène II	10 minutes
Réhydratation	Ethanol 96°C	30 secondes
	Ethanol 70° C	30 secondes
	Ethanol 50°C	30 secondes
	Eau courante	1 minute
Coloration	Hémalun de HARIS	05 minutes
	Eau courante	1 minute
	Eau acide	1minute
	Bicarbonate de Lithium	1 minute
	Ethanol 50° C	30 secondes
	Eosine alcoolique	1 minute
Déshydratation	Ethanol 50°C	Ethanol 50°C 30 Secondes
	Ethanol 70°C	30 secondes
	Ethanol 96°C	30 secondes
	Acétone	5 minutes
Eclaircissement	Toluène III	10 minutes
	Toluène IV	10 minutes
Montage	Lamelle montée sur lame avec la résine (l'Ekitt)	



Fig.1. Préparation de l'extrait aqueux de thé vert à 6,6%.



1er Extraction



2er Extraction

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

PUBLICATIONS

- **GUELLIL HAYET,** AIT HAMADOUCHE NADIA, KHAROUBI OMAR AND AOUES AEK. **(2016).** Green Tea Protective Effect against lead acetate inducing Reprotoxic Effects in Male Rats.Researche Journal of Pharmaceutical,Biological and Chemical Sciences.7(6): 2457- 2464.

COMMUNICATIONS

- **GUELLIL HAYET,** AIT HAMADOUCHE NADIA, KHAROUBI OMAR AND AOUES AEK. La contamination par les métaux lourds et leurs effets sur la reproduction. Etude expérimentale sur des rats mâles de souche wistar. First International Congress Global Enviromental Contamination: Challenges for the Well-Being of the Human Brain. **September 7th-10Th 2014 Luxembourg-France (Lorraine).**

- **GUELLIL HAYET,** AIT HAMADOUCHE NADIA, AOUES AEK. Effects of green tea on damage induced by lead acetate in male rat. 2ème Congrès International-Santé au Naturel.**26-28 Octobre 2014, Mostaganem, Algérie.**

- **GUELLIL HAYET,** AIT HAMADOUCHE NADIA, KHAROUBI OMAR AND AOUES. L'effet de l'extrait aqueux du thé vert sur la fertilité et le pouvoir antioxydant chez les rats males de souche Wistar.First International Congress of Biotoxicologie and Bioactivity.**26 to 27 November 2014 Oran- Algeria**.

- **GUELLIL HAYET,** AIT HAMADOUCHE NADIA, AOUES AEK. Positive effects of green tea (camellia sinensis) on testicular dysfunction induced by lead acetate in male rat wistar. The Second Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants. **Mesmap April 22nd – 25th, 2015 .Antalya –Turky.**

- **GUELLIL HAYET,** AIT HAMADOUCHE NADIA, AOUES AEK. Phytochemical study and evaluation of antioxydant activity of green tea (Camellia Sinensis) in rat intoxicated by lead. 2 ^{ém} congrés international CI-SAN 2015, **13-15 Octobre 2015. Alger-Algerie.**

ISSN: 0975-8585

Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences

Green Tea Protective Effect against lead acetate Inducing Reprotoxic Effects in Male Rats.

GUELLI Hayet[1]*, AIT Hamadouche Nadia[1], Kharoubi Omar[1], and AOUES Aek[1].

Laboratory of Experimental Biotoxicology, University of Ahmed Ben Bella "1", Oran, Algeria.

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effect of GTE on testes damage caused by Pb in male rats. Four groups of male rats were utilized as follows: Control samples, GTE treated, Pb treated and Pb + GTE, treated rats at the same doses. The rats received GTE and/or Pb orally in drinking water. After 4 weeks, the animals were sacrificed and testes were removed for microscopic and biochemical evaluation. The levels of Lipid Peroxides (LPO) and Catalase were detected in the tissue homogenates of rat testes. Marked morphological changes in the form of swelling, congestion, hemorrhage and necrosis were seen in testes of rats treated with Pb alone. Rats treated with Pb+GTE showed milder edema, congestion and minute foci of necrosis in the testes. LPO levels in Pb-treated were significantly higher as compared to control samples. The levels of catalase were significantly lower in Pb-treated rats but, when GTE was co-administrated with Pb, there was an effective reduction in oxidative stress In this study it was found that - animals treated with GTE + Pb appear to have an enhanced antioxidant/ detoxification system that reduced the oxidative stress in rat testes. The beneficial effect of GTE thus may have potential in reducing Pb toxicity in testes.

Keywords: Rat Testes; lead toxicity; Green tea extract; Lipid peroxides; Catalase.

Corresponding author

ISSN: 0975-8585

INTRODUCTION

Lead (Pb) one of the oldest and commonest environmental pollutants, is reported to cause damage in multiple body systems [1]. In developing countries, people are often exposed to lead pollution through air, water and soil [2]. It was shown that Lead toxicity affects the brain and other organ systems, notably male reproduction and fertility both in clinical and animal studies [3]. It may have direct testicular toxicity, indirect effects through targeting the endocrine control of reproduction, or both [4]. Studies in male rats have shown that lead intoxication disrupts testicular steroidogenesis by inhibiting the activities of testicular steroidogenic enzymes [4].

Traditional herbal medicine has more acceptance than prescription drugs in many cultures largely because of a patient perception of greater safety. Green tea (Camellia sinensis) is one such widely used plant-based medicine. Both green and black tea contains flavenoids such as quercetin, kaempferol and myricetin, which have potent antitoxic and anti-carcinogenic effects [5, 6]. Much research shows that green tea contains antioxidants that remove free radicals and thereby reduce the risk of heart disease, stroke, thrombosis and elevated blood sugar levels. Green tea has been found to aid in heavy metal detoxification by inhibiting its absorption and promoting excretion. . Green tea polyphenols, such as catechin, bind with Pb ions to form an insoluble complex –ionic salt that has been used to remove Pb. Catechin normalizes testicular metabolic disorders in Pb – poisoned rats [7]. The antioxidant action of phenol rich tea extracts reduced the ability of humans to utilize dietary iron. Epigallocatechin 3-gallet (EGCG) inhibits type I 5α reductase activity in vitro, which is partially responsible for conversion of testosterone to dihydrotestosterone [8].

The aim of the present study was to throw a light the protective effect of green tea extract as a model of powerful antioxidant against the toxic effects of lead acetate on the testes of male albino rats.

MATERIALS AND METHODS

Green Tea Extracts (GTE) preparation

Green tea used in this study was of the type (TCHICO TEA) which was produced in China and purchased locally. The dispensed green tea extract was prepared according to Khan [9]. By adding 30g of green tea – to 500 ml of boiling water, steeped for 15–20 min. The infusion was cooled to room temperature and then filtered. The tea leaves were extracted a second time with 500ml of boiling water and filtered, and the two filtrates were combined to obtain a concentration of 6.6% green tea extract (6,6 g tea leaves/100 ml water). The resulting clear solution is similar to tea brews consumed by humans. The prepared dietary treatment is equivalent to a daily consumption of 3 cups of green tea by an adult weighing 70 kg. The male rats were given the freshly prepared tea every morning via a feeding bottle.

Animals and treatments

Male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) weighing approximately 200 ± 5 g were provided with animal feed and water ad-libitum and maintained in a 12 h light/dark cycles and an environmental temperature of 24 ± 4°C. All procedures performed on animals were approved and conducted in accordance with the National Institute of Health Guide (Reg. No. 488/160/1999/CPCSEA). The experiment was conducted by dividing the male rats into 4 groups of 10 rats per group and caged separately. Each group was then treated as follows:

Group 1 (control): this group of animals was given standard diet and tap water.
Group 2: (Pb): this group of male rats was intoxicated by treating it with lead acetate Pb $(C_2H_3O_2)_2$ in doses of 3% (Pb weight to distillate water volume) for a duration of 30 days.
Group 3: (Pb+GTE): this group of male rats was given lead acetate Pb $(C_2H_3O_2)_2$ and 6.6% green tea extract instead of drinking water for a same period of 30 days.
Group 4: (GTE): this group was treated only with the prepared 6.6% green tea extract.

On completing the treatment, the animals were lightly anesthesitized with (Chloral 10% at 3ml/kg) and terminated by cervical dislocation. The testes were bilaterally/ excised immediately and divided into two parts, one for biochemical investigation and the other for histological examination.

Body and organ weight

The body weight of all animals was recorded one day prior to commencement of the treatment with GTE (initial weight) and on the day of sacrifice (final weight). The testes were dissected out, trimmed from the attached tissues and weighed. The relative weight of the organs was expressed as a ratio of the animal's body weight.

Sperm count

The sperm count was measured according to the method described by Majumdar and Biswas [10].In which a semen sample of 0.1 ml was placed in 0.9 ml of normal saline for sperm cells to swim out in a Petri-dish equipped with a counting chamber (haemocytometer). After the sperm cells have settled on the grid, the number spermatozoa in five haemocytomete squares was determined microscopically and multiplied by 10^6 to determine the number of sperm per ml.

Biochemical analysis

The removed testicular tissue was homogenized in ice-cold 100mM phosphate buffer with a pH of 7.4. The homogenates were centrifuged at 11,000 x g for 20 min and the resulting supernatants divided into aliquots and stored at –80° C. The levels of lipid peroxides (LPO) were measured in tissue homogenates as Thiobarbituric acid reactivity (TBARS). The product of the reaction between Malondialdehyde and Thiobarbituric acid was measured as described by Thayer [11]. Similarly, Catalase (CAT) activity was measured using the method of Aeibi [12]. This was conducted by adding 20 µl of the supernatant to a cuvette containing 780 µl of 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.4) and then the reaction was initiated at 25 °C by adding 200 µl of 500 mM H_2O_2 to make a final volume of 1 ml. The decomposition rate of H_2O_2 was measured at 240 nm for 1 min on a spectrophotometer. A molar extinction coefficient of 0.0041 mM–1 was used to determine CAT activity. The activity was defined as an n moles H_2O_2 decrease/min/mg protein.

Histological studies

The histological part of this work was conducted using dissected rats testis after trimming off any excess fat. Then, the testis was fixed in 10% buffered formalin and processed for paraffin sectioning by dehydration in different concentrations of alcohol, cleared with xylol and embedded in paraffin blocks. Sections of about 5 µm thickness were stained with Harris haematoxylin and Eosin (H&E) for histological study [13].

Statistical analysis

The results of the analyzed samples were presented using a one-way Analysis Of Variance (ANOVA). A comparison difference within groups was considered statistically significant at $p<0.05$. All the analyzed data were expressed as mean ±SD of number of experiments.

RESULTS

Body weight changes

Table 1: Body weight (g) of rats treated with/out lead and Green Tea Extract (GTE) for 30 days

Groups	Initial BW (g)	Final BW (g)
Control	201 ± 2,20	250 ± 10,19
Pb	203 ± 5,10	138 ± 6, 21**
Pb+GTE	200 ± 4,17	145 ± 7,19**
GTE	200 ± 6,44	190 ± 3,44*

The values represent the mean (± SD, n =5), * significant difference (P ≤ 0.05), ** very significant difference (p<0.01) for comparison Pb, Pb+GTE, GTE groups versus controls group.

ISSN: 0975-8585

The results of the experiment after a period of 30 days show that (Table 1) the mean body weight of rats in the Control group had increase by about 25% whereas the animals in the groups that were treated by lead acetate and PB+GTE had lost weight by 31 and 27.5 % respectively ($p<0.01$). It was also shown that the mean body weight loss of rats that received green tea treatment was lower relative to that of animals treated with Pb alone ($P \leq 0.05$).

Organs weight

In Table 2, it was also shown that the index weight of testis was significantly decreased ($P \leq 0.05$) in rats treated with lead compared to the Control group. The administration of GTE to Pb-treated groups also improved the toxic effect (p<0, 01).

Table 2: Weight of testis for rats treated with green tea extract (GTE) for 30 days.

Groups	Control	Pb	Pb+GTE	GTE
Testis weight	1.465 ± 0,031	1.443±0.034*	1.503±0.010**	1.208±0.081

The values represent the mean (± SD, n =5), * significant difference ($P \leq 0.05$), ** very significant difference ($p<0.01$) for comparison Pb, Pb+GTE, GTE groups versus controls group.

Sperm count

Epididymal sperm concentration is shown in Table 3. Pb group had a highly significant ($p<0.001$) lower sperm count than the control group. However, the Pb **+** GTE group was significantly increased the sperm concentration ($p<0.05$) when compared to the Pb group.

Table 3: Green Tea Extract (GTE) induced alteration on sperm count

Groups	Control	Pb	Pb+GTE	GTE
Sperm count (10^6/ml)	112.72 ± 5.23	78±2.84***	89±1.18*	90±1.81

The values represent the mean (± SD, n =5), * significant difference ($P \leq 0.05$), ** very significant difference ($p<0.01$), ***highly significant difference ($p<0.001$), for comparison Pb, Pb+GTE, GTE groups versus controls group.

Biochemical results

The levels of LPO in the tissues homogenates of testes were very significantly higher in Pb-group than the Control group. In the Pb+GTE group, the levels of LPO were significantly reduced, as shown in Fig. 1. Similarly, Fig. 2 illustrates that in GTE+Pb group, the levels of catalase were significantly elevated in comparison with Control group.

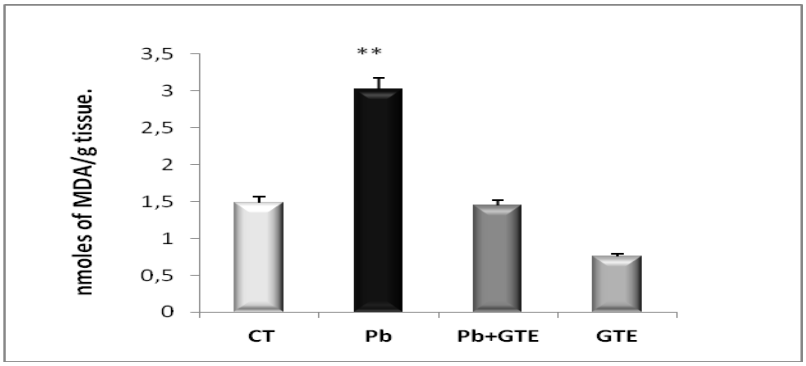


Fig. 1: Levels of lipid peroxidation in tissue homogenates of rat testes of different treated groups.
The values represent the mean (± SD, n =5), * significant difference ($P \leq 0.05$), ** very significant difference ($p<0.01$) for comparison Pb, Pb+GTE, GTE groups versus controls group.

ISSN: 0975-8585

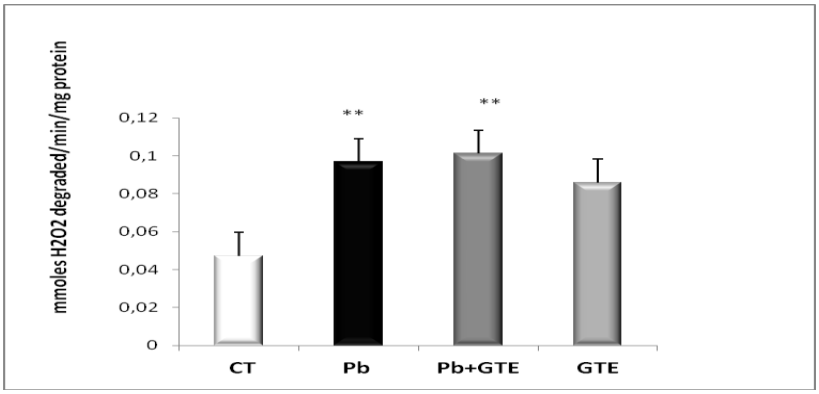


Fig. 2: Levels of catalase in tissue homogenates of rat testes of different treated groups
The values represent the mean (± SD, n =5), * significant difference (P ≤ 0.05), ** very significant difference (p<0.01) for comparison Pb, Pb+GTE, GTE groups versus controls group.

Histopathological results

The histological study in the control and GTE group showed normal appearance of the germinal epithelium and and regular organization of seminiferous tubules primary spermatocytes, spermatids and leydig cells (Figure1,2).The histological study in the Pb traited group showed disorganization of the tubules, an increased intestinal tissue was observed (Figure 3).The treatment with Pb and green tea extract revealed different degrees of amelioration compared to the intervals of Pb group. Interstitial spaces were within normal limits and Leydig cells normal appearance and distribution compared to the Pb group (Figure4).

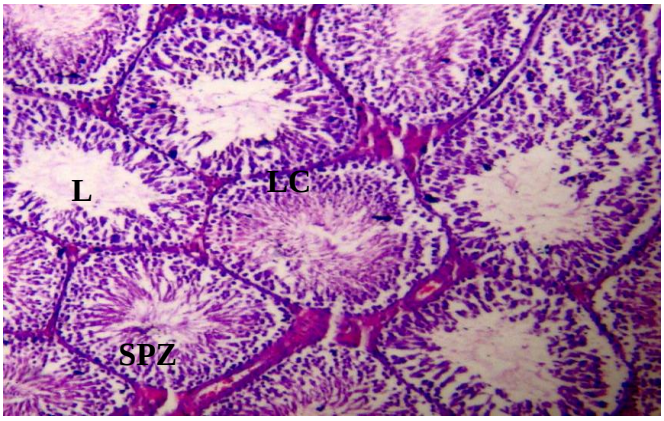


Fig 3: Micrograph of testis section in control group, showing normal architecture of semniferous tubules (S.T.) Leydig cells have normal appearance (L.C.) (H&E., 400X).

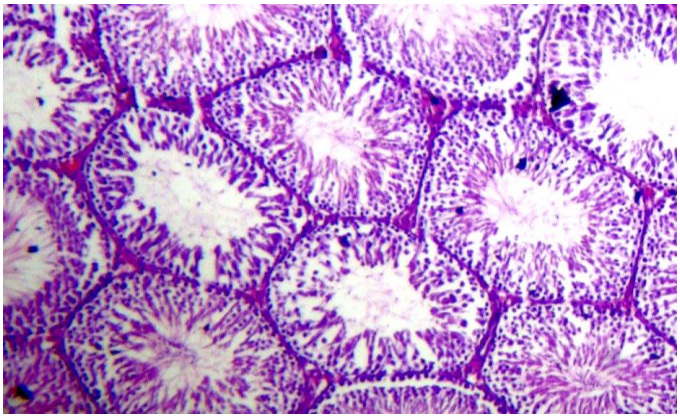


Fig 4: Micrograph of testis section treated with green tea showing a normal testis structure, complete spermatogenesis (S.T.) and normal appearance of Leydig cells (arrow) H &E, 400 X).

ISSN: 0975-8585

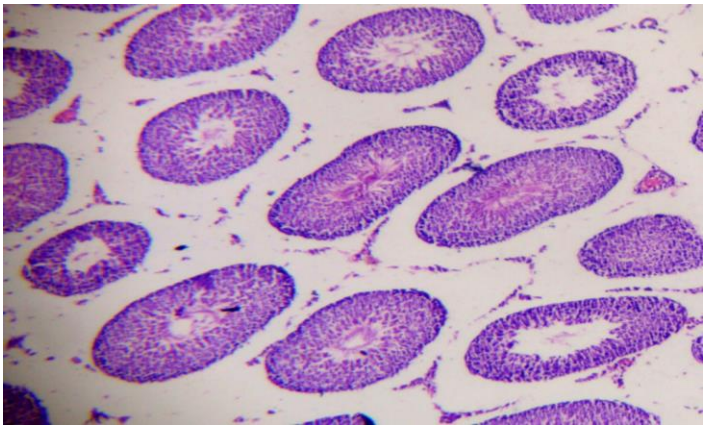


Fig 5: Micrograph of testis section of a rat treated with Pb for four weeks showing damage of seminiferous tubules , moderate reduction in spermatogenic series and few number of Leydig cells are appeared(L.C.). (H&E., 400X).

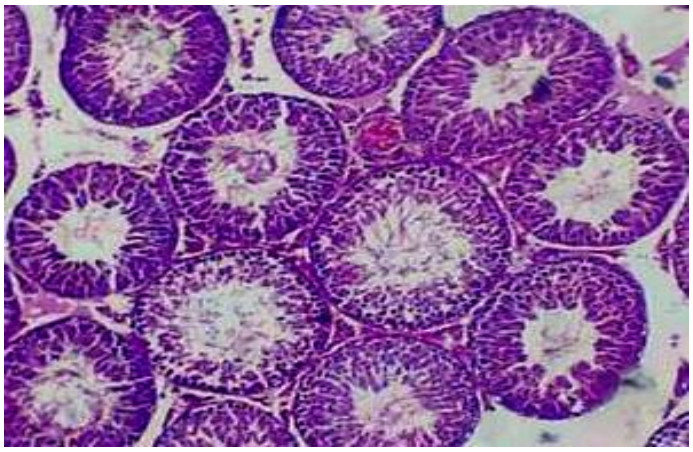


Fig 6: Micrograph of testis section of a rat treated with green tea and Pb for four weeks showing a little change in architecture of somniferous tubules with normal and well-ordered sperm (S.T.). (H&E, 400X).

DISCUSSION

Herbal medicines derived from plant extracts are widely used as an inexpensive method to treat a wide variety of clinical diseases. More attention has been paid to the protective effects of natural antioxidants against chemically induced toxicities [14]. Nowadays, tea is considered as a source of dietary constituents endowed with biological and pharmacological activities with potential benefits to human health. The increasing interest in the health properties of tea extract and its main catechin polyphenols have led to a significant rise in scientific investigation for prevention and therapeutics in several diseases[15,16]. Crespy and Williamson [17] reported that green tea extract (GTE) displays antioxidants and free radicals scavenger properties. Mohamadin et al found that supplementation of GTE attenuates cyclosporine A induced oxidative stress in rats [18].

The present study demonstrates the protective effect of green tea against testicular damage induced by Lead Acetate toxicity in experimental animals. The effect of Lead Acetate on the mean body weight of intoxicated rats was significantly lower than that of the healthy normal control group. These results clearly indicated that Lead caused a significant decrease in body weight. Nabil et al. found that lead caused decrease in growth rate in rats when fed lead[19].

The action of green tea in reducing body weight might result from inhibition of the catechol-o- methyl transferase (COMT) enzyme by Epigallocatechin 3-gallet (EGCG) of tea [20,21]. It has been shown that thermogenesis and fat oxidation are stimulated by norepinephrine, the action of which is degraded COMT [20]. Therefore, the inhibition of COMT enzyme activity by EGCG reduces the body weight.

Along with the decrease in body weight, a significant reduction in testicular weight was also found in lead-treated animals. The weight of the testis is largely dependent on the mass of differentiated spermatogenic cells. Hence a reduction in testes weight might be due to the decreased number of germ cells and elongated spermatids [22].

The present study demonstrated that the levels of catalase in the tissue homogenates of testes were significantly declined in Pb-group comparing with controls. Various mechanisms may be suggested to be responsible for the Pb toxicity. One of these mechanisms includes Pb binding to–SH groups from cell membrane proteins, cytoplasmic proteins, and enzymes. In addition, Pb can reduce activities of several enzymes including enzymeatic antioxidants and increase lipid peroxidation [23]. In agreement with previous results, we found that the levels of LPO were significantly higher in Pb group than control group in the tissues homogenates of testes. Aruldhas et al. reported that oxidative stress by free radical toxicity caused by Pb affected fertility [24]. Moreover, Gupta et al. found a significant elevation of LPO in testis tissue of rat treated with Pb [25]. Stajn and Patra [26,27] reported that different doses of Pb increase organ lipid peroxidation (LPO) in many organs, including male sex organs, and brought about changes in the antioxidant defense system.

The histological examination of testis sections taken from rats treated with Pb for four weeks showed mild to moderate reduction in spermatogenic series and reduction in sperm count in some seminiferous tubules. This was accompanied with scattered nuclear pyknotic change in the basal cell layers, Prominent degenerative changes were also noticed in few seminiferous tubules , This was in agreement with the work done by Danial [28] who stated that administration of different doses of Pb reduces the weight of the testis, and the number of spermatocytes and spermatids and Sertoli cells accompanied by thickening of the tunica propria with a daily treatment with Pb. the damage in testicular tissue to the direct cytotoxic effects of nicotine on spermatogenic cells or via inhibition of prostaglandin synthesis, which plays a functional role in the initiation and completion of spermatogenesis and steroidgenesis in the testis. Patrick [29] revealed that Pb can inhibit the neural stimulus essential for the release of pituitary gonadotrophins. In the present study the combined treatment of Pb and green tea extract ameliorated the histological changes in testicular tissue induced by Pb alone. This was evidenced by normal appearance of spermatogenic layers and sperm in the seminiferous tubules. The interstitial spaces and Leydig cells appeared normal.

CONCLUSION

In conclusion, the results of the present study indicate that GTE is a potential formulation which can be used for treatment reprotoxicity. It shows more efficient recovery from the toxicant-induced oxidative damage, histopathological changes in rat testes.

More studies, must be conducted to prove that GTE had a reproprotective proprieties on normal and intoxicated rats, beside isolation of the bioactive compound (s) must done to determine its effect separately on animal model.

REFERENCES

[1] Meyer PA, Brown MJ, Falk H. Mutation Researche 2008;659 :166–75.
[2] Kazmi T, Omair A. J Pak Med Assoc 2005; 55:410–3
[3] El-Sayed YS, El-Neweshy MS. Toxical Environ Chem 2010; 92:765–74.
[4] Biswas NM, Ghosh PK. Kathmandu Uni Med J 2006; 14:1218–21.
[5] Hertog MGL, Hollman PCH, van de Putte B. J Agric Food Chem1993; 41:1242-6.
[6] Challa, A.; Rao, D. R. & Reddy, B. S. Carcinogenesis, 18:2023-6, 1997.
[7] Paul DH. Edu J 2008; 6 :1-10.
[8] Hiipakka RA, Zhang Z, Wei D, Qing D, Liao S. Biochem Pharmacol 2002; 63: 11-65.
[9] Khan S A ,Priyamvada S ,Farooq N, Khan S,Khan MW,Yusufi A.N.K .Pharmacologie Resaech.2009;59:254-262.
[10] Majumdar GC, Biswas R. Biochem J 1979; 183: 737.
[11] Thayer WS. Biochem Pharmacol 1984; 33:2259-63.
[12] Aebi H. Catalase in vitro. Methods. Enzymol. 1984; 105: 121–126.
[13] Delafield, F. Oxford University Press, London ;1984.

[14] Fre, B, Higdon J. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. J Nutr 2003; 133: 3275-3284.
[15] Mandel S, Weinreb O, Reznichenk L, Kafon L, Amit T. J Neural Transm 2006; 71: 249–57.
[16] Ostrowska J, Skrzydlewska E. Adv Med Sci 2006; 51: 298–303.
[17] Crespy V, Williamson G. A review of the health effects of green tea catechins in vivo animal models. J Nutr 2004; 134: 3431S–40S.
[18] Mohamadin A, El-Beshbishy H, El-Mahdy M. Pharm Res 2005; 51: 51–7.
[19] Nabil MI, Esam AE, Hossam SE, Yasmine EAM. Asian Pacific J Tropical Biomedecine 2012; 41-46.
[20] Chantre P & Lairon D. Green tea extract reduce body weight in obese adults-clinical trial. Phytomedicine 2002; 14: 3-8.
[21] Kao YH, Hiipakka R A & Liao S. Endocrinol 2000; 141: 980-7.
[22] Chapin RE, Harris Davis MW, Ward BJ, Wilson SM, Mauney RE, Lockhart MA, Smialowicz AC, Moser RJ, Burka VC, Collins BJ. National Toxicology Program, NIEHS, North Carolina, USA. Fundam Appl Toxicol 1997; 40:138-57.
[23] Xiao P, Jia XD, Zhong W J, Jin X P, Nordberg G. Biomed Environ Sci 2002; 15:67-74.
[24] Aruldhas M, Subramanian M, Seker S, Vengatesh P, Chandrahasan G, Govindarajulu G, Akbarasha M.study in a non-human primate (Macaca radiata Geoffroy). Hum Reprod , 2005; 20:2801-13.
[25] Gupta RS, Gupta ES, Dhakal BK, Thakur AR, Ahnn J.Mol Cells 2004; 17:132-2.
[26] Patra, R. C.; Swarup, D. & Senapati. S. K. Vet. Hum. Toxicol 1999; 41:65-7.
[27] Stajn A, Zikic R, Ognjanovic V B, Saicic ZS, Pavlovic SZ, Kostic MM, Petrovic VM.Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol 1997; 117C:167-72.
[28] Danial, R.R, Gholameraza &Mohammad GJ. Pak. J Biol Sci 2006 ; 7: 1310-4.
[29] Patrick L. Altern Med Rev 2006; 11 :114–27.

Résumé

Divers accidents de contaminations toxiques ont mis en évidence de façon indiscutable l'influence de l'environnement sur l'organisme humain. Les métaux lourds tels que le plomb sont susceptibles de générer un stress oxydant et d'altérer les fonctions sexuelles et reproductrices mâles. L'apport d'antioxydants dans la nourriture semble être un moyen de limiter les effets cytotoxiques du stress oxydant. L'objectif de la présente étude est de mettre en évidence les effets bénéfiques de l'extrait aqueux de ***Camellia sinensis*** sur la fonction reproductrice chez les rats intoxiqués par le plomb. Les rats mâles adultes n=10 ont été exposés pendant 4 semaines à l'acétate de plomb à raison de **3 g/l** dans l'eau de boisson, après cette période les rats ont été traités par l'extrait aqueux du thé vert **(6,6%)** par voie orale, pendant 4 semaines.L'analyse phytochimique réalisée sur les deux extraits, aqueux et lyophilisé de *Camellia sinensis* a montré leur richesse en composés phénoliques tels que les tanins et les flavonoïdes. Par ailleurs, l'effet contre les radicaux libres à révélé une activité antioxydante dépendante de la concentration des deux extraits de thé vert. Durant les 4 semaines d'expérimentation, une baisse très significative du poids corporel est observée chez les rats intoxiqués. L'exposition au plomb induit également une diminution très significative de poids absolu et relatif et la taille des testicules. Parallèlement, des anomalies et une diminution de la viabilité et du nombre des spermatozoïdes ont été observées. De plus la cytologie des testicules montre une réduction dans l'épaisseur de la couche germinale des tubes séminifères des rats intoxiqués ce qui témoigne d'une dégénérescence des cellules de Sertoli et donc l'atteinte profonde de la spermatogenèse. L'analyse d'aberrations chromosomiques a montré l'effet génotoxique du plomb sur les cellules de la moelle osseuse, le nombre de ces aberrations est plus important chez les rats intoxiqués. En revanche, les résultats des dosages biochimiques ont montré que le plomb a induit une surcharge en fer sérique, une carence en protéines testiculaire, une diminution de l'activité de LDH et une augmentation de l'activité de l'ALP, et une augmentation du plomb dans le sang (plombémie). Parallèlement, nos résultats ont montré une diminution très significative de la concentration plasmatique des hormones sexuelles (FSH, LH, Testostérone,). Ainsi l'acétate de plomb a provoqué une diminution dans les concentrations des antioxydants qui a été accompagnée par une augmentation dans les taux de la peroxydation lipidique. Il faut cependant noter que la plupart de ces perturbations morphologiques, biochimiques et cytogénétiques, sont partiellement réduits après l'administration de l'extrait aqueux du thé vert. Nos résultats sont en faveur d'un effet thérapeutique du ***Camellia sinensis*** pris par voie orale vis à vis du plomb. Le thé vert est riche en polyphénols qui peuvent chélater le plomb et former des complexes insolubles. Ce qui pourrait expliquer la diminution et/ou la disparition des effets nocifs de ce métal en présence de l'extrait aqueux du thé vert.

Mots clés :

Camellia sinensis; Thé vert; Phytothérapie; Phytochimie; Acétate de plomb; Reprotoxicité; Rats mâle Wistar; Stress oxydatif; Testicules; Antioxydants.