

KOMMISSION DER
EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN

COMMISSION DES
COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES

UNITED STATES ENVIRONMENTAL
PROTECTION AGENCY

INTERNATIONAL SYMPOSIUM

Environmental health aspects of lead

Die gesundheitlichen Aspekte
der Umweltverschmutzung durch Blei

Les problèmes sanitaires posés par le plomb
présent dans l'environnement

EFFETS DE L'ADMINISTRATION DU

METHANDROSTENOLONE DANS L'

INTOXICATION EXPERIMENTALE AU PLOMB

GHELBERG N., BARBARINO F., NAGY S., COSTIN I.,
RUCKERT I.

Institut de Santé Publique et de Recherche Médicale
CLUJ, ROUMANIE

Amsterdam, October 2 - 6, 1972

R É S U M É

L'on a étudié l'effet d'une thérapie anabolisante au méthandrostérolone (par voie gastrique, à modalités diverses) chez des rats blancs qui ont reçu 950 mg d'acétate de plomb/kg poids corporel, en solution aqueuse, par voie intrapéritonéale, au cours de 7 mois. Le M.A.S. a réalisé des résultats favorables complexes: la diminution de la concentration du plomb dans les tissus (foie, rein, cerveau, fémur); l'amélioration du comportement des fractions protéiques sériques et des activités enzymatiques du foie et de l'intestin grêle. L'effet est plus constant et évident dans le cas d'un traitement de 21 jours.

En partant du fait que le plomb qui pénètre dans l'organisme agit sur les protéines en les dénaturant et en perturbant leur métabolisme, nous nous sommes demandé si une médication anabolisante protéique n'aurait pas un résultat favorable, en diminuant l'influence qu'exerce le plomb sur les tissus. L'effet thérapeutique pourrait être la conséquence d'une action directe sur la synthèse de certaines protéines capables de fixer le plomb, mais tout aussi bien celle d'une action indirecte, en favorisant, par exemple, la biosynthèse de certains composants fonctionnels protéiques (les enzymes) qui, en stimulant les métabolismes cellulaires, empêcheraient la rétention de plomb dans les organes.

Pour la substance anabolisante protéique de synthèse, notre choix s'est arrêté sur le méthandrostérolone (M.A.S.), connu sous diverses dénominations: Dianabol, Ciba-Geigy (Suisse), Napsin-Terapia (Roumanie), Synabol, Galenika (Yougoslavie). Comme on le sait, ce médicament sert à stimuler la synthèse protéique, à compenser les carences protéiques dues à certaines pertes, à combattre l'insappérance, l'amaigrissement etc (1,10,11,16,17).

Dans une première étape expérimentale, nous avons étudié l'effet du M.A.S. dans l'intoxication au plomb de courte durée (21 jours) sur des rats. Nous avons constaté alors le résultat favorable du M.A.S. se traduisant par la protection de l'activité de plusieurs enzymes hépatocellulaires (2,6), la diminution de la rétention de plomb dans le foie et le fémur (7) et l'amélioration de la protéinémie totale et du comportement de certaines fractions protéiques sériques (8).

Dans la présente travail, nous abordons le rôle thérapeutique du M.A.S. dans l'intoxication expérimentale au plomb de longue durée. En vue de comparer, nous avons aussi effectué des traitements au moyen d'une substance chélatante (Edetamin, en fioles contenant 10% Ca-EDTA·Na₂, fabrication Terapia-Roumanie).

Matériel et méthode

Les expériences ont été effectuées sur des lots de 7-10 rats, qui ont reçu pendant 7 mois une quantité totale de 950 mg d'acétate de plomb/kg corps (répartie en doses administrées de deux en deux semaines au début, ensuite une fois par mois) sous forme de solution aqueuse, par injection intra-péritonéale.

Nous avons étudié parallèlement les lots suivants:

- I - le lot de contrôle, animaux sains; (lot de référence);
- II - le lot qui a reçu que du plomb (lot de référence);
- III - le lot qui a reçu du plomb (tout comme le lot II) mais aussi 10 mg de M.A.S./kg corps par jour (suspension aqueuse, administrée par voie intra-gastrique, à la sonde) durant 4 jours chaque mois.
- IV - le lot qui a reçu du plomb (comme le lot II) et du M.A.S. à la même dose que ci-dessus, durant 21 jours avant la saignée.

En comparaison avec les lots suivants:

-V = lot qui a reçu du plomb (tout comme le lot II) et 100 mg d'EDMA/kg corps par jours, durant 4 jours chaque mois.

-VI = lot qui a reçu du plomb (comme le lot II) et, les quatre derniers jours avant la sacrifice, une dose quotidienne d'EDMA comme ci-dessus.

Après la sacrifice des animaux, nous avons étudié la concentration de plomb dans les tissus sous (foie, reins, cerveau) et dans le tissu osseux (fémur), par la méthode photométrique et la dichroïsme; les résultats ont été exprimés en microg/g tissu sec.

-B. La protéinémie totale (méthode de l'indice de réfraction) et les fractions protéiques sériques (par électrophorèse sur gel d'agar).

-C. L'activité de plusieurs enzymes du foie et de l'intestin: 8 oxydo-reductases, 4 phosphatases spécifiques et non-spécifiques, esterase, selon les méthodes modifiées par Charney et Kitzmeyer (4). Sur chaque support ont été accolés trois échantillons de tissu, provenant d'un rat sain, d'un autre intoxiqué et d'un animal traité par le méthylrostérolone ou l'EDMA, pour assurer des conditions techniques identiques pour toutes les étapes des réactions histo-techniques. Les tissus ont été immédiatement congelés en nitrogène liquide et sectionnés au cryostat type Siles 4-20°C.

Les concentrations de plomb dans l'organisme, constatées chez les animaux des différents lots, figurent au tableau 1. Comme on peut le voir, à la suite de l'administration du plomb, le taux de celui-ci a fortement augmenté dans l'organisme des animaux intoxiqués sans modification de référence - II), par rapport au lot I de contrôle. Le traitement au M.A.S. et à l'EDMA a diminué la concentration de plomb, ce qui rend évidente l'efficacité de ces thérapies. L'interprétation de la signification des différences trouvées entre les lots analysés parallèlement par plusieurs tests mathématiques statistiques (les tests: "t", "F" et le critère Fisher, "U" de Mann et Whitney, White) figure schématiquement dans le tableau 2, dont se détachent, tout spécialement, les constatations suivantes:

a. Dans le cas d'intoxications au plomb, de longue durée, une administration périodique, par étapes courtes (4 jours par mois), ou bien une thérapie s'étendant sur une période plus prolongée (21 jours) de M.A.S., contribue à une diminution notable de la concentration de plomb dans les tissus (foie, cerveau, rein, fémur).

b. L'influence du M.A.S. sur la baisse de la concentration de plomb dans l'organisme est d'une intensité à peu près similaire que celle de l'EDMA.

c. Le comportement de la protéinémie totale et celui des fractions protéiques sériques a été étudié sur les rats des lots IV, V et VI, comparativement avec le lot II de référence. La protéinémie a oscillé entre les extré-

mes de 5,3-0,3 g/100 ml sérum chez le lot VI et 7,0-0,35 chez le lot V, alors que 6,7-0,7 chez le lot II. Ces résultats ne peuvent être considérés comme présentant des différences à signification pathophysiologique. Rappelons que dans les expériences de courte durée, chez les animaux auxquels on a administré du M.A.S. pendant 21 jours, le niveau de la protéinémie était, de façon significative, plus élevé que chez le lot de référence, intoxicé sans anabolisant (8).

Le comportement des fractions électrophorétiques est illustré dans la fig. 3, par les valeurs moyennes obtenues pour les quatre lots (étant donné que leurs erreurs standard étaient à ce point minimes qu'elles ne peuvent être représentées sur le graphique). Si nous restons à un certain niveau de généralisation, la figure 3 nous indiquera la réponse de l'organisme intoxiqué, au traitement par le M.A.S. Ainsi, le comportement des fractions protéiques chez les rats du lot IV est l'inverse de celui constaté au lot II (de référence), que l'on sait être causé par le plomb (3,5,12,14,15,20). Cela dénote une atténuation des perturbations causées par le plomb au niveau des protéines sériques. Des résultats semblables à ceux qui ont été réalisés par le M.A.S. ont aussi été obtenus chez les rats traités à l'EDMA. Pour l'instant, il serait difficile de dire quel est, des deux traitements étudiés (M.A.S. et EDMA), celui qui prime sur l'autre quant à son effet sur les valeurs des fractions protéiques sériques.

Dans l'expérience chronique, les investigations histo-techniques du foie relevant une action protectrice contre les lésions du M.A.S. (lot IV) à l'égard des lésions causées par l'acétate de plomb (lot II). La coloration à l'hématoxyline-éosine et à l'oil red est en évidence des vacuoles xanthopigmentées et visibles seulement autour de la veine centrale. Les composants histologiques sont maintenus dans un à deux tiers du lobe hépatique. La coloration du vert de méthyle-pyronine indique un contenu hépatocellulaire en EMA pour le moins semblable à celui des rats sains (lot I).

L'activité des 8 oxydo-reductases (mitochondriales et cytoplasmiques) et celle de la MAD-diaphorase, est moins affectée chez les rats protégés. Il se réalise, pour l'ensemble du lobe, une réaction enzymatique protectrice de celle des rats sains, ce qui résulte du fait que la diminution centro-lobulaire est compensée par son intensification dans la zone périportale. La protection de la glucose-6-phosphatase est moins constante et complète que celle qui a été réalisée pour les oxydo-reductases, mais elle est toujours présente. Pour la MAD-diaphorase, mitochondriale et cytoplasmique, l'anabolisant protège aussi la réaction hépatocellulaire et l'intégrité du réseau de l'enzyme canaliculaire. L'effet est meilleur que celui qui a été observé pour la G-6-P-ase, mais moins satisfaisant que celui obtenu pour les oxydo-reductases.

Pour les enzymes de l'intestin grêle, la protection est encore plus constante et complète que pour ceux hépatocellulaires. La réaction des oxydoreductases est concentrée dans les entérocytes et garde, dans les cryptes, l'insensibilité due à l'activité de plomb. L'activité de la G-6-Pase, phosphatase alcaline et ATPase, localisée en contre-vitesse plus ou moins complète et intense, peut souvent provenir de celui des rats sains. La réaction de l'ATPase dans la lamina propria devient moins prononcée et grossière qu'après l'acétate de plomb sans acétate de plomb. La coloration au VAP atteste un contenu accru en Mitochondrie, surtout dans les cellules des cryptes, signe de vive synthèse protéique et de régénération entérocytaire.

Les investigations ont prouvé que le M.A.S. protège contre l'influence négative du plomb sur les structures et enzymes du foie et du grêle. On connaît que ce toxique et même la thérapie à l'EDTA produisent des perturbations métaboliques complexes, évidentes par les réactions histochimiques (9,13,18,19). Nos résultats justifient l'application du M.A.S. dans le saturnisme chronique pour réduire la rétention du plomb dans l'organisme, pour améliorer le comportement des protéines sériques et l'activité des enzymes hépatocellulaires et intestinales.

Conclusions

Dans l'intoxication expérimentale au plomb de longue durée (7 mois) chez des rats, le traitement au méthandrolone s'est avéré efficace. Cette thérapie a conduit à la diminution de la concentration de plomb dans l'organisme (foie, rein, cerveau), elle a amélioré la protéinémie totale et le comportement des fractions protéiques sériques et a protégé les structures et activités des enzymes étudiées au niveau du foie et de l'intestin grêle. Les résultats obtenus, par les variantes modalités de la thérapie M.A.S., sont semblables à ceux produits par l'EDTA.

Comportement des fractions des protéines sériques
(valeurs moyennes par lot d'animaux)

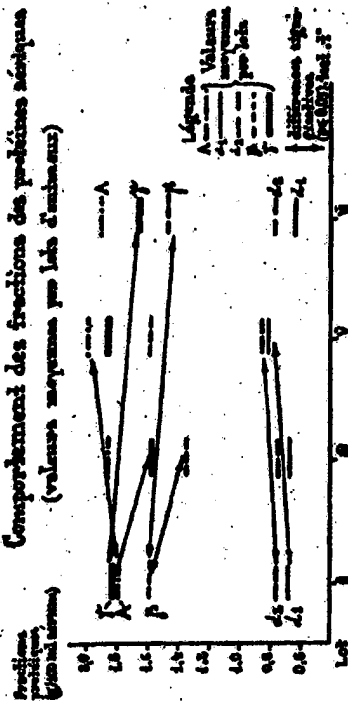


Tableau Nr. I
CONCENTRATION DE PLOMB DANS L'ORGANISME DES RATS, ET
PROTECTION DU TRAITEMENT MÉDICAMENTEUX APPLIQUÉ

Lot/ para- mètres statisti- ques	I (n=10)	II (n=7)	III (n=10)	IV (n=8)	V (n=9)	VI (n=7)
$\bar{x}$	4,43	204,52	101,07	98,53	86,93	98,08
s	2,06	110,68	53,54	45,51	22,11	37,11
Inter- valle du $\bar{x}$	96- 5,30	96- 312,06	82,03- 140,11	59,18- 137,90	69,50- 104,36	61,99- 134,17
$\bar{x}$	26,6	2361,9	1726,3	785,0	1638,8	1053,1
s	11,7	689,9	458,5	266,8	898,9	868,8
Inter- valle du $\bar{x}$	18,1- 35,2	1691,5- 3032,4	1391,9- 2060,7	554,1- 1015,9	928,3- 2345,5	213,7- 1902,5
$\bar{x}$	18,5	297,9	38,6	27,6	18,9	11,9
s	6,0	152,5	21,6	18,4	11,1	9,7
Inter- valle du $\bar{x}$	9,8- 27,2	149,7- 446,0	22,9- 54,4	15,3- 40,1	10,2- 27,7	2,4- 21,4
$\bar{x}$	12,4	987,8	768,2	643,4	492,3	518,7
s	6,5	223,7	205,0	289,6	159,8	229,1
Inter- valle du $\bar{x}$	7,7- 17,1	750,4- 1185,1	623,5- 910,8	381,5- 905,4	366,3- 618,3	250,6- 778,3

$\bar{x}$ = Intervalle de sécurité de 95% de la moyenne

s = jours/m = mois

Model no. II.

PRESENTATION SOMMAIRE DE LA SENSIBILISATION DES DIFFERENTES ESPECES DES VALEURS MOYENNES DES CONCENTRATIONS DU PLOMB, ENTER LES LOTS DE BATS PEIS DEUX PAR DEUX.

Lot	Control (g)		Ploeb (Pb)		Pb + M.a.s. 43/mois		Pb + M.a.s. 21 jours		Pb + M.a.s. 43/mois		Mau analysé
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
Pb II	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	Pole Corteam Pleur
Pb + M.a.s. 43/mois III	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	Pole Bala Corteam Pleur
Pb + M.a.s. 21 jours IV	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	Pole Bala Corteam Pleur
Pb + M.a.s. 43/mois V	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	Pole Bala Corteam Pleur
Pb + M.a.s. 43/mois VI	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	Pole Bala Corteam Pleur

Observations: ++ = p < 0.01
+ = p < 0.05
- = p > 0.10

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDRESCU M.: Viata Med. 1970, 17, 179.
2. BARBARO P., GHERBERG N.T., MOKER T.: Int. Arch. Arbeitsmed. 1972 (in press).
3. de BRUIJ A.: Arch. Environ. Health, 1971, 25, 4, 299.
4. CHAYEN J., BIRNBERG L., BROOKER H.G., POUTER L.T.: A guide to practical histocchemistry, Oliver & Boyd Ltd Edinburgh, 1969.
5. GHERBERG N.W.: II^e Session scientifique de l'Acad. Sci. Med. Bucuresti, XII, 1970.
6. GHERBERG N.W., BARBARO P., MOKER T.: Dev. Biom. Med. Int., 1971, 8, 5, 465.
7. GHERBERG N.W., MOKER T.: Dev. Biom. Med. Int., 1971, 8, 6, 577.
8. GHERBERG N.W., COSSIN I.: Dev. Biom. Med. Int., 1972, 9, 1, 75.
9. KOSCHER B.: Int. Arch. Gewerbehyg. 1963, 20, 11.
10. LEONARD J.: Biom. Med. Wash., 1960, 90, 1379.
11. LUDWIG G.W., BURKE H.A.: Int. Arch. Med. Labor., 1960, 27, 504.
12. MARICIC A., KREMER T.: Arch. Hyg. Bada 1 Pol. (Yugoslavia), 1969, 20, 4, 83.
13. MINNER E., ZBARANSKI V., NOTER H.: Int. Arch. Gewerbehyg. 1964, 20, 461.
14. POCOA L., FLOCCA P., OLIVERO F.: Folia Med. (Napoli), 1954, 37, 769.
15. RUDY E., D'ANGELO Y., GILSBERG H.: Lav. Umaz, 1964, 16, 413.
16. ROYAL D.J., KELLER A.: Ann. Biomed. 1961, 22, 65.
17. RITE J., LAMBERT P.A.: Excerpta, 1962, 17, 453.
18. BROCKMEIER J., ZATVEZ E.: Arch. Immunol. Therap. Exp. 1966, 14, 391.
19. BROCKMEIER J., ZATVEZ E.: Arch. Immunol. Therap. Exp. 1967, 15, 428.
20. SUTHER M.H.N.: Arch. Environ. Health, 1970, 21, 4, 529.