

# Impact du thé vert "*Camellia sinensis*" sur les effets du vanadium sur la croissance et l'appareil génital du rat *Wistar* mâle

Ahlem SOUSSI 1, Françoise CROUTE 2, Jean-Pierre SOLEILHAVOUP 2, Fadhel GUERMAZI 3, Kamel JAMMOUSSI 4, Fatma MAKNI AYADI 4, Abdelfettah EL FEKI 1

<sup>1</sup> Laboratoire d'Ecophysiologie Animale, Faculté des Sciences de Sfax, Tunisie <sup>2</sup> Laboratoire de Biologie cellulaire et Pollution Atmosphérique, Faculté de Médecine, Toulouse, France <sup>3</sup> Laboratoire de Biophysique, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie <sup>4</sup> Laboratoire de Biochimie, Faculté de Médecine de Sfax, Tunisie

## RESUME

Certains métaux lourds 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.

Dans ce cadre nous nous sommes proposés d'explorer l'impact de la consommation du thé vert « *Camellia sinensis* » riche en antioxydants (poly phénols...) sur les effets du vanadium sur la croissance corporelle et l'appareil génital du rat mâle.

Pour cela, nous avons soumis pendant 90 jours des rats mâles de souche *Wistar* à un traitement par le méta vanadate d'ammonium (0,46g/l) en présence ou en absence de thé vert.

Chez les rats exposés au toxique seul, l'absorption chronique, par voie orale, de vanadium a induit un ralentissement de la croissance corporelle et des organes génitaux (testicule, épидидyme, prostate et vésicules séminales). Parallèlement, une diminution de la motilité et du nombre des spermatozoïdes a été observée. L'étude histologique des testicules a montré que les tubes séminifères étaient atrophiés, les différents stades de la spermatogénèse étaient perturbés, ce qui conduisait à une absence de spermatozoïdes dans plus de la moitié des tubes séminifères. Par ailleurs, nos résultats montrent que les taux de testostérone sérique, évalués par un dosage radio-immunologique, étaient diminués du 2<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jour de traitement.

Ces taux sont, chez les témoins, de  $0,717 \pm 0,107$  ng/ml de sérum ;  $4,366 \pm 0,666$  et  $1,979 \pm 0,42$  respectivement à 2j, 10j et 20j. Après traitement par le vanadium, ces taux passent à  $0,043 \pm 0,012$  ;  $2,494 \pm 0,17$  et  $1,086 \pm 0,53$  respectivement pour les mêmes dates de traitement.

Il faut cependant noter que la plupart de ces perturbations morphologiques (poids), histologiques et fonctionnelles (spermatozoïdes immatures, baisse du taux de testostérone) ne sont significatives qu'au début du traitement (2<sup>ème</sup> au 10<sup>ème</sup> jour). Du 30<sup>ème</sup> au 90<sup>ème</sup> jour, ces perturbations tendent à disparaître, ce qui est en faveur d'un phénomène d'adaptation.

L'absorption orale de vanadium chez des rats buvant du thé n'a pas entraîné de modification de la croissance corporelle. Au niveau du tractus génital, seule l'étude histologique a mis en évidence une augmentation modérée de la fréquence de tubes séminifères atrophiés avec absence de spermatozoïdes.

Nos résultats sont en faveur d'un effet protecteur du thé vis à vis du vanadium lorsqu'ils sont pris par voie orale. Le thé vert est riche en poly phénols qui peuvent chélater le fer et former des complexes insolubles. Nous suggérons que ces poly phénols

Correspondance :

Dr Abdelfettah EL FEKI - Faculté des Sciences de Sfax, BP 802, 3018, Laboratoire d'Eco Physiologie Animale, Tunisie - Tel 216.74.276.400 - Fax 216 74 274 437

**peuvent également former avec le vanadium des complexes insolubles qui sont éliminés au niveau des fèces, ce qui pourrait expliquer la diminution et/ou la disparition des effets nocifs du vanadium en présence du thé.**

**Mots clés :** *appareil génital, vanadium, thé vert, testostérone, croissance*

## I. INTRODUCTION

Au cours de ces dernières décennies, diverses études ont mis en évidence une baisse de la quantité et de la qualité du sperme [9]. Ceci est dû essentiellement à la sensibilité des fonctions sexuelles et de la reproduction à des polluants qui sont de plus en plus présents dans notre environnement. On peut citer les pesticides organochlorés, certaines drogues et solvants organiques, les métaux lourds (Pb, Cd, Hg..) [18].

Parmi les métaux lourds, le vanadium est un contaminant non biodégradable qui a été peu étudié. Or, des concentrations non négligeables de ce métal ont été trouvées dans l'atmosphère des grandes villes ( $10\mu\text{g}/\text{m}^3$  dans la ville de New York) [12] et surtout dans l'environnement des travailleurs (50 à 500 mg/m<sup>3</sup>). Les principaux organes qui accumulent le vanadium sont le cœur, la rate, le foie et les reins. Le maximum de concentration au niveau de ces organes, est atteint entre 4 et 24 heures après une exposition au vanadium [7].

Divers travaux ont montré que le vanadium induit, chez la souris, une diminution du nombre et de la motilité des spermatozoïdes [2, 11] ainsi qu'une augmentation de la fréquence des spermatozoïdes anormaux [3].

Il semble que le vanadium agisse, du moins pour une part, en générant un stress oxydant. En effet, divers auteurs ont montré que ce métal induisait une peroxydation lipidique chez la souris [10] ou la formation d'espèces réactives de l'oxygène [4] ; ces phénomènes pourraient expliquer, du moins en partie, les effets sexuels et cancérigènes du vanadium [8].

L'enrichissement de la nourriture en antioxydants peut être un moyen de prévenir les effets du stress oxydant [6]. Parmi les composés antioxydants, on peut citer les polyphénols (flavonoïdes, tanins et anthocyanes) qui sont présents dans les légumes verts, les fruits, le fenugrec (*Trigonella Poenum Graecum*), le thé... et qui sont bénéfiques à des doses adéquates.

Les effets bénéfiques du thé (*Camellia sinensis*) sur les appareils cardio-vasculaire et rénal sont bien démontrés [16], ceci est dû à sa richesse en polyphénols.

Dans ce cadre, nous nous sommes proposés d'explorer l'impact de la consommation de thé vert sur les effets cytotoxiques du vanadium sur l'appareil génital ainsi que sur la croissance corporelle chez le rat. Pour cela, nous avons soumis pendant trois mois des rats mâles blancs de souche *Wistar* à un traitement par le vanadium en présence ou en absence de thé vert.

La croissance corporelle a été analysée par le suivi de l'évolution du poids des animaux chaque jour et pendant toute la période de traitement.

La fonction génitale a été évaluée par le suivi de la croissance des organes sexuels, la numération et la détermination de la motilité des spermatozoïdes, l'étude histologique des testicules et le dosage de la testostérone sérique.

## II. MATERIEL ET METHODES

### 1. Animaux

200 rats mâles blancs de souche *Wistar* (Pharmacie Centrale, Tunisie) pesant environ 100g ont été placés dans une animalerie ventilée, maintenue entre 22° et 24°C avec une hygrométrie stable et munie d'un système réglant les périodes d'obscurité (10h) et de lumière (14h). La nourriture standard était constituée de granulés vitaminés (SICO, Sfax, Tunisie).

### 2. Protocole expérimental

Les animaux ont été répartis en 4 groupes de 50 rats chacun : un groupe témoin (T) qui recevait de l'eau de robinet comme eau de boisson ; un groupe (V) recevant du méta vanadate d'ammonium dans l'eau de boisson (0,46g/l), un groupe (TH) recevant une décoction de thé vert à une concentration de 66g/l ; un groupe (TH+V) recevant un mélange thé + vanadium aux concentrations déjà citées. Ce traitement a été maintenu pendant 2, 10, 20, 30, 60 et 90 jours. Le vanadium est pris à l'état de sel de méta vanadate pour faciliter son absorption intestinale. La dose du vanadium a été choisie en se référant à la bibliographie [7]. Il s'agit d'une dose environnementale. Celle du thé a été choisie aussi selon les auteurs [16]. Cette dose correspond à la consommation moyenne journalière pour un homme adulte.

Tous les animaux ont été pesés chaque matin. Etant donné que le thé est un diurétique, et afin de prévenir une déshydratation, les animaux traités ont eu accès à l'eau de robinet chaque jour pendant 15 min, pendant toute la durée du traitement.

### 3. Prélèvement des échantillons

Le sacrifice des animaux a toujours eu lieu le matin par décapitation rapide pour éviter l'effet de stress. Le sang artérioveineux a été centrifugé après coagulation et le sérum a été stocké à  $-20^{\circ}\text{C}$  pour le dosage ultérieur de la testostérone. Les testicules, les épидидymes, les vésicules séminales et la prostate ont été prélevés, débarrassés de leur tissu adipeux, puis pesés. Le testicule droit a été fixé dans le liquide de Bouin pour l'étude histologique ultérieure.

### 4. Analyse des spermatozoïdes épидидymaires

Pour le comptage des spermatozoïdes, la queue de l'épididyme et la partie initiale du canal déférent ont été prélevés et placés ensemble dans 1ml de tampon de Earles à  $35^{\circ}\text{C}$  puis dilacérés dans ce tampon à l'aide de pinces Brucelles. Après 10 à 15 mn, la dispersion spontanée des spermatozoïdes était suffisante pour qu'ils puissent être comptés. La détermination du nombre et de la motilité des spermatozoïdes a été réalisée à l'aide d'une cellule de Malassez sous microscope optique. Un spermatozoïde dont le flagelle bouge est compté comme mobile, sinon il est immobile ; la motilité a toujours été évaluée par le même observateur dans les 15 minutes suivant la dilacération de l'épididyme dans le tampon ( $\text{pH} = 7 ; 35^{\circ}\text{C}$ ).

### 5. Dosage de la testostérone sérique

La testostérone sérique a été mesurée par un dosage radio-immunologique (RIA) par compétition (Kit Immunotech). La testostérone à doser (échantillon ou standard) et la testostérone marquée à l'iode 125 (traceur) ont été ajoutés simultanément aux tubes renfermant l'anticorps anti-testostérone fixé à la paroi.

Après homogénéisation et incubation, la fraction liée (fixée sur l'anticorps) a été mesurée à l'aide d'un compteur Gamma relié à un ordinateur. Elle est inversement proportionnelle aux taux de la testostérone ajoutée (échantillon ou standard). La concentration en testostérone de l'échantillon est donnée directement en ng/ml.

### 6. Etude histologique

Nous avons suivi les étapes classiques de l'histologie : à savoir, une fixation par le liquide de Bouin, une déshydratation par l'alcool éthylique 70 puis 95 puis butylique, une inclusion dans la paraffine ( $58^{\circ}\text{C}$ ) enrichie en cire d'abeille (5,5%), une confection de coupes à l'aide d'un microtome (Leica) à une épaisseur de  $6\mu\text{m}$ , une coloration double et une conservation par le baume de Canada. Pour la coloration, nous avons utilisé la technique à l'hématoxyline éosine (H E), comportant un bain de 5 mn d'hématoxyline (Merck) qui colore en bleu violacé les structures basophiles (noyaux), un bain de HCl 1% pour différencier les cou-

pes et obtenir une coloration rose, un bain de 3 mn de carbonate de lithium pour colorer en bleu les coupes et un bain de 5 mn d'éosine qui colore les structures acidophiles (cytoplasme). Tous ces bains sont séparés par des lavages à l'eau de robinet.

### 7. Statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  SEM. Les comparaisons intergroupes témoins et traités sont réalisées par un test « t » de Student.  $P < 0.05$  est considéré comme significatif.

## III. RESULTATS

### 1. Effets du vanadium et du thé vert sur la croissance corporelle

Nos résultats montrent que le poids des rats traités au vanadium (V) est plus faible que celui des rats témoins (T) tout au long de l'expérimentation. Cette perte de poids était associée à des diarrhées chez 25% des rats traités et nous avons eu un taux de mortalité de 20% au cours de la 1ère semaine de traitement. Les rats traités avec du thé (TH) ou du thé + Vanadium (TH+V) ont présenté un poids similaire, intermédiaire entre celui des rats (T) et (V).

Comme le montrent les pentes de croissance calculées chaque 15 jours (Tableau 1), le ralentissement de croissance induit par les différents traitements (V, TH, TH+V) intervient au cours des 30 premiers jours de l'expérimentation. Au delà du 30<sup>ème</sup> jour, les valeurs sont comparables.

### 2. Effets du vanadium et du thé vert sur l'appareil génital mâle

#### a) Croissance des organes sexuels

Durant les 30 premiers jours de traitement, les poids absolus des testicules, de l'épididyme, de la prostate et des vésicules séminales des rats traités au vanadium sont inférieurs à ceux des rats témoins, ce qui est en corrélation avec la perte de poids corporel des rats (V). Mais, si l'on calcule le poids relatif de ces organes sexuels, par rapport au poids des animaux, les variations de poids des testicules (Figure 1A) et de l'épididyme (Figure 1B) ne sont plus significatives. Par contre, les poids relatifs de la prostate (Figure 2A) et surtout des vésicules séminales (Figure 2B) restent significativement plus faibles.

Chez les rats buvant du thé ou un mélange thé + vanadium (Figures 1 et 2) les variations de poids des organes sexuels ne sont pas significatives.

#### b) Numération et mobilité des spermatozoïdes

Le méta vanadate d'ammonium, présent dans l'eau de boisson, a induit pendant les 20 premiers jours de traite-

Tableau 1: Pentes de l'évolution du poids corporel des rats durant le traitement (a) et augmentation en pourcentage du poids initial (% Pi).

Durée du traitement (jours)	1-15		16-30		31-45		46-60		61-75		76-90	
	a	% Pi	a	% Pi	a	% Pi	a	% Pi	a	% Pi	a	% Pi
T	4,405	67,75	2,093	20,78	1,622	11,18	0,104	0,59	1,063	6,25	1,34	7,59
	0,998		0,841		0,83		0,999		0,972		0,98	
V	2,37	29,09	1,305	15,616	2,713	24,65	0,147	1,08	1,013	6,69	1,135	7,85
	0,961		0,975		0,85		1		0,97		0,99	
TH	3,69	55,13	1,164	12,79	1,64	13,03	0,138	0,49	0,931	6,58	1,228	8,91
	x		x		x				0,92		0,98	
TH + V	4,13	52,98	1,477	13,15	1,60	12,43	0,145	1,01	1,205	8,74	1,044	5,53
	x		x		x				0,95		0,98	
	0,94		0,92		0,88		1				0,98	

r : coefficient de corrélation ;  
 \* : p < 0.05 par comparaison avec les rats témoins ;  
 x : p < 0.05 par comparaison avec les rats V.  
 Nombre de déterminations par cas = 8.

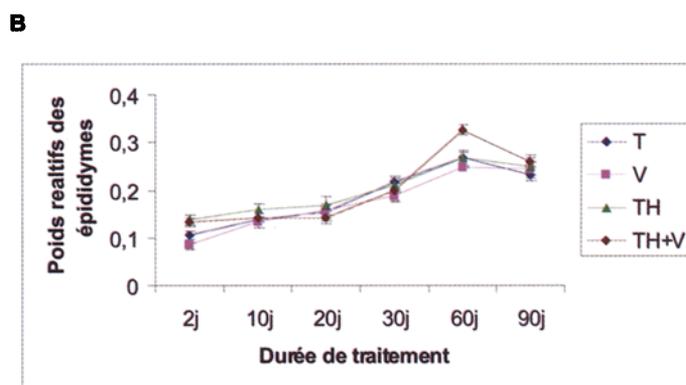
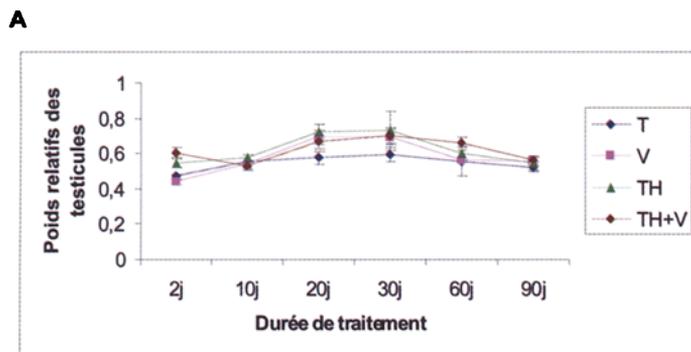


Figure 1 : Evolution du poids relatif (g/100 g de poids corporel) des testicules (A) et de l'épididyme (B) chez les rats traités durant 2, 10, 20, 30, 60 et 90 jours. Nombre de détermination par cas = 8.

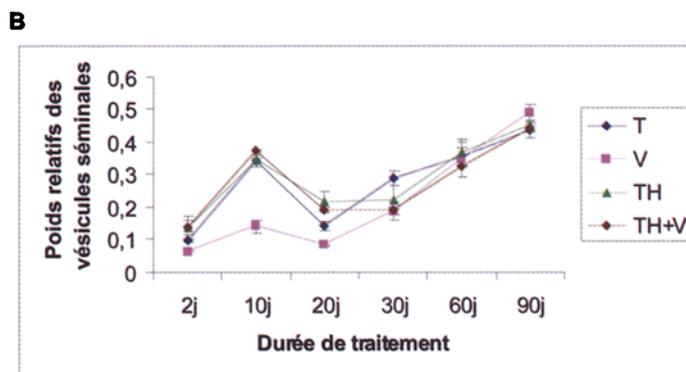
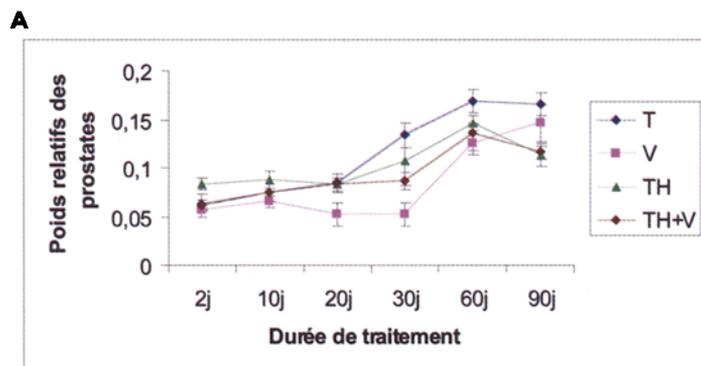


Figure 2 : Evolution du poids relatif (g/100 g de poids corporel) de la prostate (A) et des vésicules séminales (B) chez les rats traités durant 2, 10, 20, 30, 60 et 90 jours. Nombre de détermination par cas = 8.

ment, une baisse significative du nombre ( $p < 0,05$ ) des spermatozoïdes par rapport aux témoins (Tableau 2). La mobilité a été également fortement perturbée, une diminution significative ( $p < 0,01$ ) du nombre de spermatozoïdes mobiles a été mise en évidence du 10<sup>ème</sup> au 3<sup>ème</sup> jour de traitement (Figure 3). Ces perturbations n'ont pas été observées au 90<sup>ème</sup> jour de traitement.

Chez les rats traités avec du thé, concernant le nombre (Tableau 2) et la motilité (Figure 3) des spermatozoïdes, les valeurs étaient comparables à celles des témoins, et l'administration de vanadium n'a pas entraîné de modification significative de ces valeurs.

### c) Etude histologique des testicules

Comme le montrent les coupes histologiques, les testicules témoins (Figure 4) sont constitués de tubes séminifères serrés avec des espaces interstitiels étroits. Chez les rats traités (V), les espaces interstitiels sont plus larges et la moitié des tubes séminifères apparaissent vides et de diamètre réduit (Figure 5).

L'épithélium des tubes séminifères témoins (Figure 4) montre les différents stades de la spermatogenèse qui s'y déroulent d'une façon centripète, avec des spermatogonies de petite taille en périphérie, des spermatocytes I et II de plus grande taille avec des noyaux volumineux parfois en mitose, des spermatides plus petites situées vers l'intérieur des tubes et enfin des spermatozoïdes mûrs munis de flagelles qui remplissent presque la totalité de la lumière de ces tubes.

Chez les rats (V), traités pendant 20 jours au vanadium (Figure 5), les différents stades de la spermatogenèse apparaissent fortement perturbés. On peut observer des tubes séminifères atrophiés présentant des travées sans cellules, des spermatozoïdes sans flagelles (Figure 5B) ou totalement absents (Figure 5A). Dès le 2<sup>ème</sup> jour de traitement on note une absence importante de spermatozoïdes qui se poursuit jusqu'au 20<sup>ème</sup> jour (70-80% de tubes

séminifères vides) puis diminue progressivement (Tableau 3). Il faut noter que l'atrophie des tubes séminifères persiste jusqu'au 90<sup>ème</sup> jour de traitement bien que la spermatogenèse se remette en place à partir du 30<sup>ème</sup> jour (Tableau 3). Ces perturbations histologiques sont absentes chez les rats (TH) recevant le thé, et très faiblement présentes chez les rats recevant thé + vanadium (Tableau 3).

### d) Dosage de la testostérone sérique

Les résultats montrent que le vanadium induit une diminution significative du taux de la testostérone sérique du 2<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour de traitement. Pour des temps plus longs, les concentrations de testostérone retrouvent des valeurs normales et dépassent parfois celles des témoins, malgré la poursuite du traitement au vanadium. Chez les groupes recevant du thé ou du thé + vanadium, les concentrations de testostérone sérique sont comparables à celles des témoins (Figure 6).

## IV DISCUSSION

Nos résultats montrent que l'administration chronique par voie orale de méta vanadate d'ammonium (0,46g/l), ralentit la croissance corporelle des rats, par rapport aux témoins. Cette perte de poids était associée à des diarrhées chez 25% des rats traités et nous avons eu un taux de mortalité de 20% au cours de la 1<sup>ère</sup> semaine de traitement. Ceci est en accord avec les travaux des auteurs [14] qui ont observé que l'administration de sulfate de vanadium chez des rats mâles diabétiques entraînait 50% de diarrhée. De même, une diminution du poids corporel de souris gestantes nourries par gavage avec du vanadium a été rapportée [13]. Ces effets pourraient être à l'origine des effets sexuels négatifs du vanadium (effets indirects).

En 2001, on a montré que le vanadium entraînait une diminution de l'appétit associée à une perte de poids [17]. Pour notre part, nous n'avons pas fait une telle observation, les rats de tous les lots ayant consommé la même quantité de

Tableau 2 : Variations du nombre de spermatozoïdes en millions par épидидyme chez les rats traités durant 2, 10, 20, 30 et 90 jours.

Durée du traitement	2j	10j	20j	30j	90j
T	16,33 ± 0,72	18,83 ± 0,49	17,20 ± 0,00	18,70 ± 0,08	25,75 ± 0,16
V	11,22 ± 0,08**	13,44 ± 0,63	**15,70 ± 0,30	*18,13 ± 0,22	25,69 ± 0,69
TH	17,00 ± 0,47xx	19,91 ± 0,69	xx16,80 ± 0,65	19,73 ± 0,64	26,95 ± 0,55
TH+V	16,46 ± 0,23 xx	18,10 ± 0,08	xx16,96 ± 0,47	17,20 ± 0,05	27,47 ± 1,32

\* :  $p < 0,05$  par comparaison avec les rats témoins ;

\*\* :  $p < 0,01$  par comparaison avec les rats témoins ;

xx :  $p < 0,01$  par comparaison avec les rats V.

Nombre de déterminations par cas = 8.

**Tableau 3 : Pourcentages de tubes séminifères dépourvus de spermatozoïdes par rapport au nombre total des tubes séminifères chez les rats traités pendant 2, 10, 20, 30, 60 et 90 jours.**

Durée du traitement	2 j		10j		20j		30j		60j		90j	
	% des TS sans spermatozoïdes	Nature des TS	% des TS sans spermatozoïdes	Nature des TS	% des TS sans spermatozoïdes	Nature des TS	% des TS sans spermatozoïdes	Nature des TS	% des TS sans spermatozoïdes	Nature des TS	% des TS sans spermatozoïdes	Nature des TS
T	4.167±0.027 (n=3)	+	2.350±0.085 (n=3)	+	0.000±0.000 (n=3)	+	1.090±0.003 (n=3)	+	0.000±0.000 (n=3)	+	2.703±0.142 (n=3)	+
V	70.129±0.029 (n=3) **	-	81.159±0.040 (n=3) **	-	21.530±0.021 (n=3) **	-	7.692±0.006 (n=3) *	--	10.869±0.190 (n=3) *	--	4.545±0.185 (n=3)	--
TH	4.938±0.331 (n=3) **	+	5.797±0.264 (n=3) **	+	0.000±0.000 (n=3) **	+	0.000±0.000 (n=3) **	+	4.878±0.049 (n=3) **	+	2.325±0.138 (n=3)	+
TH+V	14.084±0.015 (n=3) ** **	+	16.363±0.272 (n=3) ** **	+	2.898±0.214 (n=3) *	+	1.044±0.270 (n=3) **	-	1.016±0.001 (n=3) **	-	1.224±0.100 (n=3)	-

Les valeurs représentent la moyenne ± SEM ;

n = Nombre de déterminations par cas.

(+) : tubes normaux ;

(-) : tubes atrophiés ;

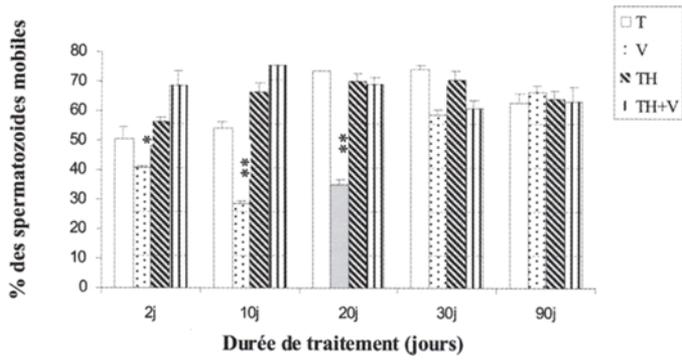
(-- ) : tubes très atrophiés ;

\* : p < 0.05 par comparaison avec les rats témoins ;

\*\* : p < 0.01 par comparaison avec les rats témoins ;

x : p < 0.05 par comparaison avec les rats V ;

xx : p < 0.01 par comparaison avec les rats V.

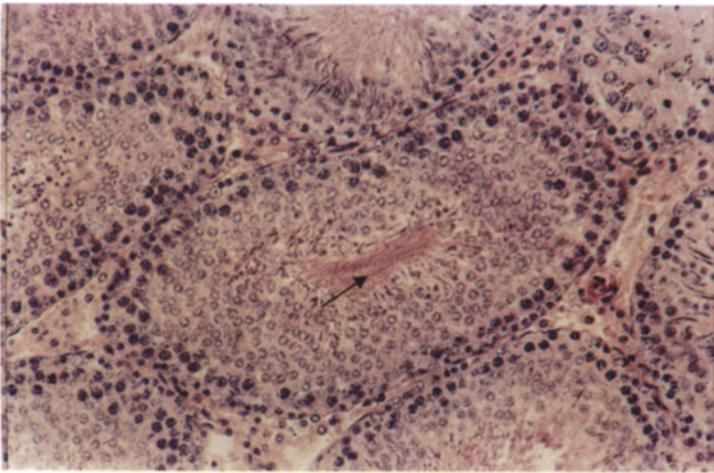


**Figure 3 : Variations du pourcentage des spermatozoïdes mobiles chez les rats traités durant 2, 10, 20, 30 et 90 jours.**

**\* :  $p < 0.05$  par comparaison avec les rats témoins ;**

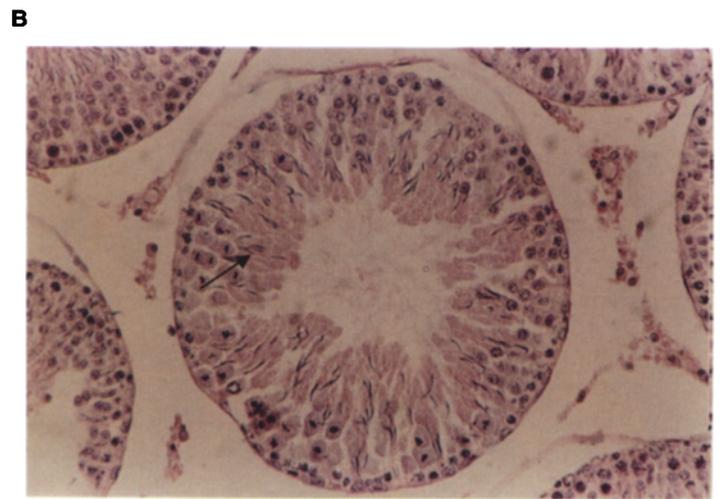
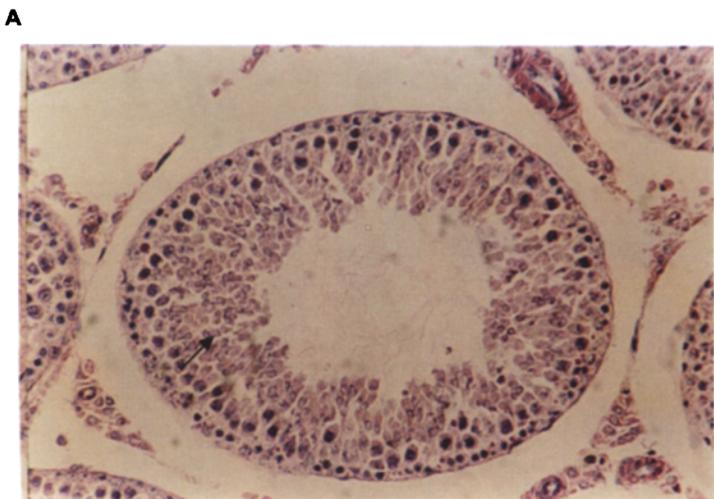
**\*\* :  $p < 0.01$  par comparaison avec les rats témoins ;**

**Nombre de détermination par cas = 8.**



**Figure 4 : Structure histologique de testicule d'un rat témoin. Coloration à l'hématoxyline-éosine (Grx200).**

**La flèche indique la présence de spermatozoïdes dans la lumière d'un tube séminifère.**

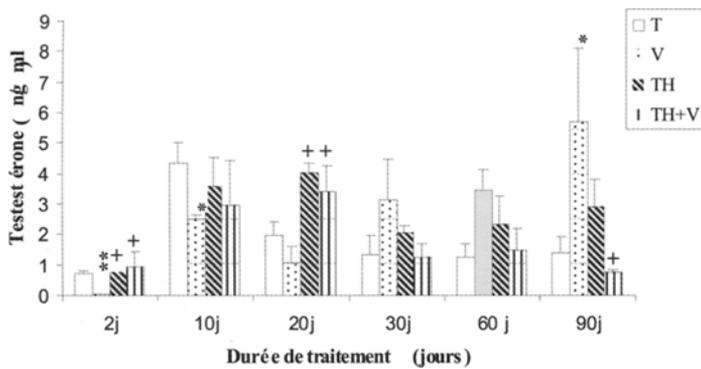


**Figure 5 : Structures histologiques de testicules de rats traités par le vanadium durant 20 jours montrant des tubes séminifères atrophiés avec (flèche) soit :**

**A- absence totale de spermatozoïdes,**

**B- présence de spermatozoïdes immatures (sans flagelles).**

**Coloration : hématoxyline-éosine (Grx200).**



**Figure 6 :** Variations du taux de testostérone sérique (ng/ml) chez les rats traités durant 2, 10, 20, 30, 60 et 90 jours.

Nombre de déterminations par cas = 8

\* :  $p < 0.05$  par comparaison avec les rats témoins ;

\*\* :  $p < 0.01$  par comparaison avec les rats témoins ;

+ :  $p < 0.05$  par comparaison avec les rats V.

nourriture. D'après d'autres auteurs [15], le vanadium provoque des problèmes d'ordre métabolique en inhibant l'activité de l'ATPase Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup> ainsi que l'ATPase H<sup>+</sup> K<sup>+</sup>.

Les rats ayant du thé comme eau de boisson (TH) ont présenté un taux de croissance intermédiaire, plus rapide que celui des rats (V) mais plus faible que celui des témoins. Cet effet inhibiteur du thé vert pourrait être dû à son action diurétique et aux poly phénols contenus dans les feuilles. En effet, ces poly phénols, grâce à leur noyau catéchol, sont de puissants chélateurs du fer. Dans l'intestin, ils se lient au fer apporté par l'alimentation et forment des complexes insolubles qui ne peuvent être absorbés par l'organisme [16].

L'administration de vanadium aux rats buvant du thé (TH) n'a pas entraîné de modification de la croissance corporelle. De même, aucune mortalité ou diarrhée n'est apparue. Ceci suggère que les poly phénols peuvent également se comporter comme des chélateurs du vanadium et former des complexes insolubles qui sont éliminés au niveau intestinal. Ceci pourrait expliquer l'absence d'effet du vanadium en présence de thé.

L'étude du tractus génital a montré que l'absorption chronique de méta vanadate d'ammonium, induisait chez le rat mâle, une diminution du poids absolu des testicules et de l'épididyme ainsi qu'une diminution du nombre et du taux de la motilité des spermatozoïdes. Par ailleurs, nous avons observé que le vanadium entraînait une diminution du poids absolu, mais également du poids relatif des vésicules séminales et de la prostate. Ceci suggère que ces deux glandes annexes sont plus sensibles au polluant que les testicules ou l'épididyme dont les poids relatifs/poids corporel ne sont pas significativement modifiés chez les rats (V).

Les travaux de certains auteurs [11] ont également mis en évidence une diminution du nombre des spermatozoïdes, mais pas de leur motilité, chez des rats traités au vanadium. En 1998, on a montré que le vanadium, en inhibant la motilité des spermatozoïdes, diminuait le potentiel de fertilité [2]. De même, on a montré que les polluants environnementaux altèrent la quantité et la qualité des spermatozoïdes touchant essentiellement la phase de spermiogénèse et donnant lieu à des spermatozoïdes immobiles ou même sans flagelles [9].

Notre étude histologique a confirmé ces observations en montrant que le vanadium induisait une atrophie des tubes séminifères ainsi qu'un arrêt de la spermatogénèse caractérisée par des spermatozoïdes immatures et même une absence totale de spermatozoïdes. Des travées vides (acellulaires) sont également apparues au niveau de l'épithélium séminal des tubes séminifères atrophiés. Elles témoignent sans doute d'une disparition des cellules de Sertoli et/ou des cellules germinales.

Des résultats comparables ont été trouvés par divers auteurs qui ont montré que l'intoxication par divers métaux lourds (Pb, Cd, Ni, V...) induisait chez les rats mâles un blocage de la spermiogénèse [5, 9].

Le vanadium affecte aussi la fonction endocrine en induisant une diminution du taux de la testostérone aux 2<sup>e</sup> et 10<sup>e</sup> jours de traitement. La variation du taux de la testostérone sérique dans le groupe des témoins est expliquée par l'avancement de l'âge des rats en fonction des périodes d'exposition.

La baisse du taux de la testostérone sérique chez les rats soumis au vanadium pourraient être à l'origine de la baisse du poids du tractus génital observée chez ce groupe. Cette baisse pourrait être expliquée aussi par une éventuelle diminution de l'affinité et de la capacité des récepteurs des stéroïdes sexuels à la suite de l'administration du vanadium. Il serait intéressant donc de tester ces récepteurs par méthode Scatchard dans nos conditions expérimentales.

Il faut cependant noter que la plupart de ces perturbations morphologiques (poids), histologiques et fonctionnelles (spermatozoïdes immatures, baisse du taux de testostérone) ne sont significatives qu'en début de traitement, c'est à dire pendant les 30 premiers jours d'exposition au vanadium. Ensuite ces perturbations tendent à disparaître, ce qui est en faveur d'un phénomène d'adaptation.

Le thé vert n'a pas induit de modification au niveau du tractus génital. Les effets du vanadium chez les rats traités au thé sont apparus beaucoup plus faibles que chez rats ne consommant pas de thé. Cet effet protecteur pourrait être dû aussi à la richesse du thé en poly phénols à rôle antioxydant.

Ces résultats sont en faveur d'un effet protecteur du thé. Cependant, il faut être prudent dans l'interprétation de ces résultats, cet effet pouvant être en rapport avec une diminution de l'absorption intestinale de ce métal. Toutefois, on peut affirmer que le thé a un effet bénéfique lorsque le vanadium est pris par voie orale.

D'après certains auteurs [1] le vanadium est faiblement absorbé au niveau du tractus gastro-intestinal. Par contre, 25% des composés solubles inhalés seraient absorbés. Des recherches sont en cours afin de vérifier si le thé est capable de protéger des effets du vanadium, lorsque ce dernier est administré par injection intra péritonéale.

## REFERENCES

1. ALESSIO L., MARONI M., DELL'ORTO A. : Biological monitoring of vanadium. In : Clarkson T.W., Fiberg L., Nordberg G.F., Sager R, eds. Biological monitoring of toxic metals. New York ; Plenum Press, 1988 : 427-436.
2. ALTAMIRANO-LOZANO M., ALVAREZ-BARRERA L., BASURTO-ALCANTARA F., VALVERDE M., ROJAS E. : Reprotoxic and genotoxic studies of vanadium pent oxide in male mice. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, 1996, 16 : 7-17.
3. ARAGON A.M., ALTAMIRANO-LOZANO M. : Sperm and testicular modification induced by sub chronic treatments with vanadium (IV) in CD-1 mice. *Reprod. Toxicol.*, 2000, 15 : 145-151.
4. CORTIZO A.M., BRUZZONE L., MOLINUEVO S., ETCHEVERRY S.B. : A possible role of oxidative stress in the vanadium-induced cytotoxicity in the MC3T3E1 osteoblast and UMR106 osteosarcoma cell lines. *Toxicology*, 2000, 147 : 89-99.
5. DOMINGO J.L. : Vanadium: a review of the reproductive and developmental toxicity. *Reprod. Toxicol.*, 1996, 10 : 175-182.
6. FLUBERT J.C., CALS M.J. : Les radicaux libres en biologie clinique : origine, rôle pathogène et moyens de défense. *Path. Biol.*, 1992, 40 : 66-77.
7. HAGUNOER J.M., FURON D. : Toxicologie et hygiène industrielles. Les dérivés minéraux. Tome II. Paris, Technique et documentation, 1982 : 131-153.
8. HIROMU S. : Molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenicity. *Environ. Health. Perspect.*, 1994, 102 : 35-36.
9. JEGOU B. : Les hommes deviennent-ils infertiles. Moins de spermatozoïdes et de qualité moindre ? L'environnement en question. *La Recherche*, 1996, 96 : 60-65.
10. JOUNES M., STROBELT O. : Vanadate induced toxicity towards isolated perfused rat livers : the role of lipid peroxidation. *Toxicology*, 1991, 61 : 63-74.
11. LIOBET J.M., COLOMINA M.T., DOMINGO J.L., CORBELLA J. : Reproductive toxicity evaluation of vanadium in male mice. *Toxicology*, 1993, 80 : 199-206.
12. MAMMANE Y., PIRRONE N. : Vanadium in the atmosphere. In : Nriagu J.O. ed. Vanadium in the environment, part 2 : health effects. John Wiley & Sons, Inc., 1998 : 37-71.

13. PATERMAIN J.L., DOMINGO J.L., GOMEZ M., ORTEGA L.F., CORBELLA J. : Development toxicity of vanadium in mice after oral administration. *J. Appl. Toxicol.*, 1990, 10 : 181-186.
14. REUL B.A., AMIN S.S., BUCHET J.P., ONGEMBA L.N., CRANC D.C., BRICHARD S.M. : Effects of vanadium complexes with organic ligands on glucose metabolism : a comparison study in diabetic rats. *Br. J. Pharmacol.*, 1999, 126 : 467-477.
15. SITPRUJA V., TUNGSANGA K., TOSUKHOWONG P. et al. : Metabolic problems in northeastern Thailand : possible role of vanadium. *Miner. Elec. Metab.*, 1993, 19 : 51-56.
16. TREVISANATO S. : Tea and health. *Nutr. Rev.*, 2000, 58 : 1-10.
17. WANG J., YUEN V.G., MCNEULL J.H. : Effects of vanadium on insulin sensitivity and appetite. *Metabolism*, 2001, 50 : 667-673.
18. YVES L. : Les micro polluants à effets modulateurs endocriniens. *Spectra Analyses*, 1999, 208 : 19-22.

## ABSTRACT

### IMPACT OF *CAMELLIA SINENSIS* GREEN TEA ON THE EFFECTS OF VANADIUM ON GROWTH AND THE GENITAL TRACT OF MALE WISTAR RATS

Ahlem SOUSSI, Françoise CROUTE, Jean-Pierre SOLEILHAVOUP, Fadhel GUERMAZI, Kamel JAMMOUSSI, Fatma MAKNI AYADI, Abdelfettah EL FEKI

**Some heavy metals are known to exert harmful effects by generating an oxidative stress which, in turn, can affect the sexual and reproductive functions of male animals. The addition of antioxidants to the diet could decrease the cytotoxic effect related to oxidative stress (in the presence of heavy metals as food or water contaminants).**

**As a contribution to this problem, the protective effect of *Camellia sinensis* green tea, which is known to be rich in antioxidant compounds (polyphenols, etc.), was studied in vanadium-treated adult male rats, with particular attention to growth and genital tract function.**

**White male Wistar rats were given ammonium metavanadate in drinking water (0.46 g/L) for 90 days. One group of animals received green tea supplement in drinking water and the control group did not.**

Chronic vanadium intoxication (without green tea supplement) induced a low growth rate and relative atrophy of the testes, epididymis, prostate and seminal vesicles. Motility and number of spermatozoa were also decreased. Histological examination of the testes revealed atrophy of the seminiferous tubules and defects of spermatogenesis leading to the absence of spermatozoa in 50% of seminiferous tubules. Blood testosterone levels, evaluated by radioimmunoassay, were also decreased from day 2 to day 20. In control animals, these levels were  $0.717 \pm 0.107$  ng/ml;  $4.366 \pm 0.666$  ng/ml and  $1.979 \pm 0.42$  ng/ml on day 2, day 10 and day 20, respectively. After vanadium treatment, they were reduced to  $0.043 \pm 0.012$  ng/ml,  $2.494 \pm 0.17$  ng/ml and  $1.086 \pm 0.53$  ng/ml, respectively, at the same periods.

These morphological, histological and functional disorders mostly occurred during the first phase of the intoxication period (day 2 to day 10) and were subsequently attenuated, indicating adaptation to the poisoning.

In rats receiving green tea, vanadium ingestion did not modify growth rate compared to control animals. Very minor changes were observed in the genital tract. Testicular atrophy and absence of spermatozoa were observed in only some seminiferous tubules.

Our results underscore the protective effect of green tea on vanadium poisoning. Polyphenols, which are abundant in green tea, are known to chelate iron. It is proposed that polyphenols may also form insoluble complexes with vanadium, allowing it to be eliminated in the feces. This could explain the decreased effects of vanadium poisoning under our experimental conditions.

**Key words:** *genital tract, vanadium, green tea, growth rate*

---

Manuscrit reçu : mai 2003 ; accepté août 2003.